



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년07월08일
(11) 등록번호 10-2274003
(24) 등록일자 2021년07월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 19/00 (2006.01) A61K 38/17 (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) C07K 14/00 (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 19/00 (2013.01)
A61K 38/17 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7036654(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2008년01월22일
심사청구일자 2020년01월10일
- (85) 번역문제출일자 2019년12월11일
- (65) 공개번호 10-2019-0140111
- (43) 공개일자 2019년12월18일
- (62) 원출원 특허 10-2017-7024556
원출원일자(국제) 2008년01월22일
심사청구일자 2017년10월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2008/051706
- (87) 국제공개번호 WO 2008/089491
국제공개일자 2008년07월24일
- (30) 우선권주장
60/881,419 2007년01월19일 미국(US)
60/945,285 2007년06월20일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020050085130 A
KR1020020081330 A
JP2005527209 A
KR1019980700415 A
- (73) 특허권자
카이 파마슈티컬즈
미국 캘리포니아 94080 사우스 샌프란시스코 리틀
필드 애비뉴 270
- (72) 발명자
맥클린 데렉
미국 캘리포니아주 94022 로스 앨터스 조단 애비
뉴 750
- (74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 17 항

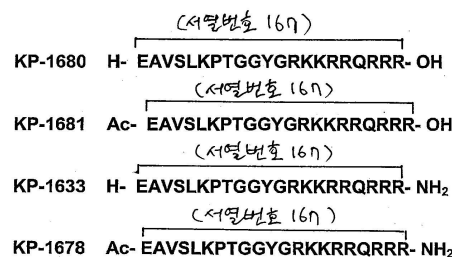
심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 **안정성 및 전달 효율을 증가시키기 위한 펩타이드 조성물의 변형**

(57) 요약

본 발명은 안정성 및 전달 효율을 증가시키기 위해 펩타이드 조성물을 변형시키는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 단백질 키나제 C (PKC) 조절 펩타이드 조성물의 안정성 및 전달 효율을 증가시키는 방법에 관한 것이다. "치료 펩타이드 조성물"은 "캐리어 펩타이드"와 "카고 펩타이드"를 포함한다. "캐리어 펩타이드"는 치 (뒷면에 계속)

대표도



료 펩타이드 조성물의 세포 흡수를 촉진시키는 펩타이드 또는 펩타이드 내의 아미노산 서열이다. "카고 펩타이드"는 PKC 조절 펩타이드이다. 본원에 기술된, 캐리어 펩타이드, 카고 펩타이드 또는 이들 모두에 대한 펩타이드 변형은, 디설파이드 결합 교환의 감소, 물리적 안정성, 단백질분해적 분해의 감소 및 세포 흡수 효율의 증가에 의해 치료 펩타이드 조성물의 안정성 및 전달 효율을 증가시킨다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/64 (2017.08)

A61K 47/645 (2017.08)

C07K 14/00 (2013.01)

C07K 7/06 (2013.01)

C12Y 207/11013 (2013.01)

C07K 2319/31 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

제1 시스테인 잔기를 포함하는 카고 펩타이드 및 제2 시스테인 잔기를 포함하는 캐리어 펩타이드를 포함하는 단백질 키나제 C (PKC) 조절 조성물로서,

상기 카고 펩타이드가 상기 제1 시스테인 잔기에 바로 인접한 제1 지방족 잔기 및 서열번호 2 내지 163 및 165로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 추가로 포함하고,

상기 캐리어 펩타이드가 Tat-유래 펩타이드, 안테나페디아(*Antennapedia*)-유래 펩타이드 및 폴리-아르기닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 추가로 포함하고,

상기 캐리어 펩타이드 및 카고 펩타이드는 제1 시스테인 잔기 및 제2 시스테인 잔기 사이의 디설파이드 결합에 의해 연결되는, 단백질 키나제 C (PKC) 조절 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 상기 제2 시스테인 잔기에 바로 인접한 제2 지방족 잔기를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1 지방족 잔기가 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 제2 지방족 잔기가 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 시스테인 잔기가 시스테인 유사체인, 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 시스테인 유사체가 호모시스테인, D-시스테인 및 알파-메틸 시스테인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 카고 펩타이드가 아미노산 서열 YGRKKRRQRRR (서열번호 166)을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 8

제1 시스테인 잔기를 포함하는 카고 펩타이드 및 제2 시스테인 잔기를 포함하는 캐리어 펩타이드를 포함하는 단백질 키나제 C (PKC) 조절 조성물로서,

상기 카고 펩타이드가 서열번호 2 내지 163 및 165로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 추가로 포함하고,

상기 캐리어 펩타이드가 Tat-유래 펩타이드, 안테나페디아(*Antennapedia*)-유래 펩타이드 및 폴리-아르기닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 추가로 포함하고,

상기 카고 펩타이드 및 캐리어 펩타이드는 제1 시스테인 잔기 및 제2 시스테인 잔기 사이의 디설파이드 결합에 의해 연결되고,

상기 캐리어 펩타이드가 아실, 알킬 또는 설폰닐 그룹에 의해 이의 N-말단 끝에서 치환되는, 단백질 키나제 C (PKC) 조절 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 서열 YGRKKRRQRRR (서열번호 166)을 포함하는, 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 서열 CYGRKKRRQRRR (서열번호 164)을 포함하는, 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 이의 N-말단 끝에서 아실화되는, 조성물.

청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 이의 C-말단 끝에서 추가로 치환되는, 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 이의 C-말단 끝에서 아미드화되는, 조성물.

청구항 14

제10항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드의 N-말단 시스테인은 아실화되는, 조성물.

청구항 15

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드의 상기 C-말단 아르기닌은 일차 카복사미드인, 조성물.

청구항 16

제8항에 있어서, 상기 캐리어 펩타이드가 Ac-CYGRKKRRQRRR-NH₂인, 조성물.

청구항 17

제8항에 있어서, 제2 캐리어 펩타이드를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

- 청구항 24
- 삭제
- 청구항 25
- 삭제
- 청구항 26
- 삭제
- 청구항 27
- 삭제
- 청구항 28
- 삭제
- 청구항 29
- 삭제
- 청구항 30
- 삭제
- 청구항 31
- 삭제
- 청구항 32
- 삭제
- 청구항 33
- 삭제
- 청구항 34
- 삭제
- 청구항 35
- 삭제
- 청구항 36
- 삭제
- 청구항 37
- 삭제
- 청구항 38
- 삭제
- 청구항 39
- 삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 생물학적 활성제의 살아있는 조직의 세포로의 운반을 개선시키기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 상기 조성물 및 방법은, 접합체에 개선된 혈장 안정성을 부여하는 변형된 tat 펩타이드에 접합된 PKC 조절 펩타이드를 포함하여, PKC 조절 펩타이드의 세포로의 흡수를 보다 효율적이게 한다.

배경 기술

[0002] 연구자들은 치료 조성물로서 잠재력을 갖는 많은 펩타이드들을 생성하였다. 하지만, 세포내 표적물에 대해 지시되는 펩타이드의 완전한 치료적 잠재력을 실현시키고 활용하는 것이 다양한 이유로 인해 달성되지 못하고 있다. 이들 중 가장 중요한 것 중의 하나는, 대부분의 치료 펩타이드가 이들의 치료 표적물에 도달하도록 세포막을 통과하는 능력을 갖지 못한다는 것이다. 이러한 문제점에 대한 하나의 해법은 카고 (cargo) 펩타이드를 표적 세포로 운반하는 작용을 하는 캐리어 (carrier) 펩타이드를 사용하는 것이다.

[0003] 카고 펩타이드에 의한 표적 세포막의 통과를 촉진시키는데 효과적인 캐리어 펩타이드에 대한 다수의 주목할 만한 예들이 있다. 하나의 예는 HIV 바이러스의 TAT 단백질로부터 유도되는 펩타이드 서열이다 [참조: 미국 특허 제6,316,003호, 본원에 전부 참조로 삽입됨]. 또 다른 널리 공지된 캐리어 펩타이드 서열은 "폴리-Arg" 서열이다 [참조: 미국 특허 제6,306,993호].

[0004] 많은 경우에서, 캐리어와 카고 펩타이드를 연결하여 치료 펩타이드 제작물을 생성하도록 디설파이드 결합을 이용하는 것이 세포내 표적물에 가용성 펩타이드를 표적하는 문제를 해결하는 효과적인 전략이다. 디설파이드 결합의 유용성을 설명하는 하나의 이론은, 일단 캐리어-카고 제작물이 표적 세포에 들어간 후, 2개의 펩타이드가 디설파이드 결합 환원을 통해 분리될 수 있다는 것이다. 세포내 환경에서의 이러한 분리는, 캐리어-카고 링크를 유지시키는 다른 연결 기작과는 반대로, 세포 내에서 카고 펩타이드의 보다 큰 확산을 가능하게 할 수 있다. 그러나, 이와 관련하여, 치료 펩타이드의 투여는 여전히 디설파이드 결합 교환, 단백질분해적 분해 및 세포 흡수 효율과 같은 다수의 도전을 겪는다. 이러한 문제를 다루는 것에 대한 방법이 치료 펩타이드의 안정성 및 효능을 증가시킬 것이다.

[0005] 카고 펩타이드에 디설파이드 결합된 캐리어 펩타이드를 포함하는 치료 펩타이드의 효능을 증가시키는 하나의 방법은, 디설파이드 결합 교환을 감소시키는 것이다. 디설파이드 결합 교환은, 캐리어 펩타이드가 이의 카고 펩타이드를 또 다른 캐리어 펩타이드로 교체시켜 캐리어-캐리어 제작물 및 카고-카고 제작물이 생성됨으로써 지정된 샘플에서 캐리어-카고 펩타이드 제작물의 양을 감소시킨다. 캐리어만의 제작물은 치료 효과가 없을 것이다. 캐리어 펩타이드가 카고의 이의 세포내 표적물로의 전달을 가능하게 하므로, 카고-카고 제작물은 완전히 제거된 효과는 아닐지라도 상당히 감소된 효과를 가질 것이다. 이와 같이, 디설파이드 결합 교환을 조절하는 문제는 캐리어-카고 펩타이드 제작물의 치료 잠재능을 최대화하는데 중요하다.

[0006] 치료 펩타이드의 사용과 직면하는 또 다른 문제는 단백질분해적 분해이다. 펩타이드는 매우 불안정한 분자이며, 피험자에게 투여되는 경우 빈번히 단백질분해적 공격을 받기 쉽다. 카고 펩타이드가 세포내 표적물에 도달하는데 있어서 캐리어 펩타이드에 의존적이기 때문에, 투여시 분해되는 불안정한 캐리어 펩타이드는 카고 펩타이드의 효율을 감소시키거나 심지어는 제거시킬 것이다. 따라서, 치료 펩타이드의 불안정한 특성을 조

절하거나 제거시키는 방법도 캐리어-카고 펩타이드의 치료 잠재능을 최대화시키는데 중요하다.

[0007] 치료 펩타이드의 세포 흡수 효율의 증가는 치료 펩타이드의 효율 또는 효능을 감소시킬 수 있는 또 다른 문제이다. 캐리어 펩타이드 서열의 최적화 및 카고 펩타이드에 대한 배치가 치료 펩타이드 제작물의 안정성 및 효능을 증가시키는 방법을 제공한다.

발명의 내용

[0008] 발명의 개시

[0009] 본 발명은 캐리어 펩타이드 및 PKC 활성 조절 카고 펩타이드를 포함하여 비변형 치료 펩타이드에 비해 안정성 및 효능을 증가시킨 치료 펩타이드 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 하나의 양태는, 제1 시스템인 잔기를 포함하는 캐리어 펩타이드 및 제2 시스템인 펩타이드를 포함하는 PKC 활성 조절 카고 펩타이드를 포함하고, 캐리어 펩타이드와 카고 펩타이드가 제1 시스템인 잔기와 제2 시스템인 잔기 사이의 시스템인-시스템인 디설파이드 결합에 의해 연결되는 치료 펩타이드 조성물을 제공하고, 제1 시스템인 잔기, 제2 시스템인 잔기 또는 이들 모두에 바로 인접하게 하나 이상의 지방족 잔기를 도입하여 디설파이드 결합 교환율을 비변형 치료 펩타이드 조성물에 비해 감소시키는 것을 포함하여, 치료 펩타이드 조성물에서 디설파이드 결합 교환을 감소시키는 방법이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 양태는, 캐리어 펩타이드 및 PKC 활성 조절 카고 펩타이드를 포함하고, 캐리어 펩타이드가 카고 펩타이드에 연결된 치료 펩타이드 조성물을 제공하고, 캐리어 펩타이드, 카고 펩타이드 또는 이들 모두에서 단백질분해에 불안정한 부위를 확인하며, 상기 부위에서의 단백질분해적 분해율이 비변형 치료 펩타이드 조성물에 비해 감소되도록 단백질분해를 억제할 아미노산 서열을 변형시키는 것을 포함하여, 치료 펩타이드 조성물의 단백질분해적 분해를 감소시키는 방법에 관한 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 양태는, 캐리어 펩타이드 및 PKC 활성 조절 카고 펩타이드를 포함하고, 캐리어 펩타이드가 카고 펩타이드에 연결된 치료 펩타이드 조성물을 제공하고, 치료 펩타이드 조성물의 혈장 안정성이 비변형 치료 펩타이드 조성물에 비해 증가되도록 캐리어 펩타이드, 카고 펩타이드 또는 이들 모두의 아미노 말단, 카복시 말단 또는 이들 모두의 잔기를 변형시키는 것을 포함하여, 치료 펩타이드 조성물의 혈장 안정성을 증가시키는 방법에 관한 것이다.

[0012] 또한, 본원에 기술된 조성물도 고려된다. 본 발명의 조성물의 하나의 양태는 세포내 캐리어 펩타이드에 공유 결합에 의해 연결된 PKC 조절 펩타이드를 포함하고, 세포내 캐리어 펩타이드, 조절 펩타이드 또는 이들 모두가 N-말단에서 변형되는, 단백질 키나제 C (PKC) 조절 펩타이드 조성물을 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 치료 펩타이드 KAI-9706 및 KAI-1455의 농도에 대한 CK 방출을 플로팅한 그래프를 나타낸다.
- 도 2는 증가하는 농도의 치료 펩타이드 KAI-9706 및 KAI-1455에 대한 경색 비율 (%)을 플로팅한 그래프를 나타낸다.
- 도 3A 내지 3B는 사람 혈청 (3A), 피그 혈청 (3B) 및 래트 혈청 (3C)에서 시간 경과에 따라 잔존하는 온전한 치료 펩타이드 KAI-9803, KAI-9706 및 KAI-1455의 비율 (%)을 플로팅한 그래프를 나타낸다.
- 도 4는 디설파이드 결합을 통해 연결된 캐리어 펩타이드와 카고 펩타이드를 포함하는 치료 펩타이드의 선형 형태의 치료 펩타이드로의 전환을 도시한다. 이러한 선형 펩타이드 (KP-01547)는 이의 아미노 및 카복시 말단에서 캡핑되었으며 짧은 아미노산 서열 링커를 포함한다.
- 도 5는 시간 (일수) 경과에 따른 온전한 치료 펩타이드 (선형 및 비-선형)의 비율 (%)을 플로팅한 그래프를 나타낸다.
- 도 6은 시간 (일수) 경과에 따른 치료 펩타이드의 안정성을 비교하는 그래프를 나타낸다.
- 도 7은 도해된 2개의 선형 펩타이드를 나타낸다.
- 도 8은 시간 경과에 따른 다양한 PKC-β_I 치료 펩타이드의 안정성을 비교하는 그래프를 나타낸다.
- 도 9는 시간 경과에 따른 다양한 PKC-β_{II} 치료 펩타이드의 안정성을 비교하는 그래프를 나타낸다.

도 10A 내지 10D는 26℃ (10A) 및 37℃ (10B)에서의 KAI-9706의 안정성 및 26℃ (10C) 및 37℃ (10D)에서의 KAI 1455의 안정성에 대한 온도의 영향을 설명하는 그래프를 나타낸다.

도 11은 10분의 관류와 함께 랑겐도르프 시험관내 허혈후 검정에서 증가하는 농도의 KAI-9803 또는 KAI-1355 펩타이드 존재 하에서의 크레아틴 키나제의 방출을 플로팅한 그래프를 나타낸다.

도 12는 KAI-1479의 제작물을 나타내는 도해이다.

도 13A 및 13B는 재관류 조사로부터의 결과를 나타내는 막대 그래프로서, 13A는 실험 동안 사건에 대한 시간선 (time line)을 설명하며, 13B는 다양한 치료 펩타이드 (KAI-9803, KAI-1479 및 KAI-1482)의 보호 특성을 설명하는 막대 그래프를 나타낸다.

도 14는 펩타이드의 아미노 말단에 시스테인 잔기를 갖는 서열번호 33의 카고 펩타이드의 도해를 나타낸다.

도 15A 내지 15D는 치료 펩타이드 다량체의 4가지의 상이한 가능한 배열을 나타낸다.

도 16은 선형 펩타이드 KP-1680, KP-1681, KP-1633 및 KP-1678을 나타낸다.

도 17a 내지 17d는 시간 경과에 따른 시험 용액 중에 잔류하는 펩타이드의 비율 (%)에 대한 그래프를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 발명은 안정성 및 전달 효율을 증가시키기 위해 펩타이드 조성물을 변형시키는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 단백질 키나제 C (PKC) 조절 펩타이드 조성물의 안정성 및 전달 효율을 증가시키는 방법에 관한 것이다. "치료 펩타이드 조성물"은 "캐리어 펩타이드"와 "카고 펩타이드"를 포함한다. "캐리어 펩타이드"는 치료 펩타이드 조성물의 세포 흡수를 촉진시키는 펩타이드 또는 펩타이드 내의 아미노산 서열이다. "카고 펩타이드"는 PKC 조절 펩타이드이다. 본원에 기술된, 캐리어 펩타이드, 카고 펩타이드 또는 이들 모두에 대한 펩타이드 변형은, 디설파이드 결합 교환의 감소, 물리적 안정성, 단백질분해적 분해의 감소 및 세포 흡수 효율의 증가에 의해 치료 펩타이드 조성물의 안정성 및 전달 효율을 증가시킨다.

[0015] 디설파이드 결합 교환

[0016] 본 발명의 치료 펩타이드 조성물의 바람직한 양태는, 카고 펩타이드로부터의 하나의 연결 황-함유 잔기와 캐리어 펩타이드로부터의 하나의 황-함유 잔기 사이에서 디설파이드 결합을 통해 캐리어 펩타이드에 커플링된 카고 펩타이드를 제공한다. 이러한 양태의 디설파이드 결합은 치료 펩타이드 조성물이 용액, 동결건조, 침전, 결정 또는 분무 건조 상태 중 어떠한 상태일지라도 불안정하여, 캐리어-카고 조합물을 불활성인 캐리어-캐리어 조성물 및 불활성이고 빈번히 불용성인 카고-카고 조성물로 분해시킬 수 있다. 본 발명의 치료 펩타이드 조성물의 안정성은 화학적 변형을 이용하고 사용 전에 펩타이드 조성물의 물리적 환경을 조절함으로써 개선된다.

[0017] 화학적 변형

[0018] 연결 황-함유 잔기는 캐리어 펩타이드 또는 카고 펩타이드의 서열 중 어디에도 위치될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 치료 펩타이드 조성물의 바람직한 양태는 통상적으로 캐리어 및 카고 펩타이드의 아미노 말단에서 연결 황-함유 잔기를 갖는다. 연결-황 함유 잔기는 펩타이드의 카복시 말단에 위치되거나, 달리 하나의 펩타이드의 아미노 말단과 다른 펩타이드의 카복시 말단에 위치될 수 있다. 추가로, 연결 황-함유 잔기는 펩타이드 중 어느 하나 또는 둘 모두의 서열 내에 어디에서든 위치될 수 있다. 캐리어 펩타이드 내, 카고 펩타이드 내 또는 이들 모두에 연결 황-함유 잔기를 위치시키는 것이 디설파이드 결합 교환율을 감소시키는 것으로 관측되었다.

[0019] 치료 펩타이드 조성물의 디설파이드 결합을 안정화시키는데 유용한 화학적 변형에 대한 예는 캐리어 및 카고 펩타이드를 연결하는데 사용되는 황-함유 잔기에 바로 인접한 아미노산 잔기 또는 잔기들을 최적화시키는 것을 수반한다. 디설파이드 결합을 안정화시키는 바람직한 방법은 캐리어 및/또는 카고 펩타이드의 황-함유 잔기에 바로 인접하게 지방족 잔기를 위치시키는 것을 수반한다. 지방족 잔기는 알라닌, 발린, 류이신 및 이소류이신을 포함한다. 따라서, 연결 황-함유 잔기가 펩타이드의 아미노 말단에 위치되는 경우, 지방족 잔기는 디설파이드 결합 교환율을 감소시키도록 펩타이드의 끝에서부터 두 번째 아미노 말단 위치에 놓인다. 연결 황-함유 잔기가 펩타이드의 카복시 말단에 위치되는 경우, 지방족 잔기는 디설파이드 결합 교환율을 감소시키도록 펩타이드의 끝에서부터 두 번째 카복시 말단 위치에 놓인다. 연결 황-함유 잔기가 펩타이드의 서열 내에 위치되는 경우, 지방족 잔기는 잔기의 아미노 말단 또는 카복시 말단측 또는 양측에 위치될 수 있다.

[0020] 본 발명에서 사용하기 위한 많은 황-함유 잔기가 고려된다. 시스테인 및 시스테인 유사체도 펩타이드 조성물의

연결 시스템인 잔기로서 사용될 수 있다. 특정 시스템인 유사체는 D-시스템인, 호모시스템인, 알파-메틸 시스템인, 머캅토프로피온산, 머캅토아세트산, 페니실라민, 아세틸 그룹을 수용할 수 있는 이들 유사체의 아세틸화된 형태, 및 기타 차단 그룹으로 변형된 시스템인 유사체를 포함한다. 예를 들어, 카고 펩타이드, 캐리어 펩타이드 또는 이들 모두에서 이들 호모시스템인, 아세틸화된 호모시스템인, 페니실라민 및 아세틸화된 페니실라민의 사용이 펩타이드 조성물을 안정화시키고 디설파이드 결합 교환을 감소시키는 것으로 나타났다. 알파-메틸 시스템인은 하나의 시스템인으로부터의 알파 수소의 염기-매개된 제거가 황 원자에 의해 방지되기 때문에 디설파이드 분해를 억제한다. 디설파이드 결합에 의해 연결된 카고/캐리어 펩타이드 접합체는 비변형 펩타이드보다 글루타타온 환원에 보다 저항력이 있는 것으로 나타났다. 기타 시스템인 유사체도 연결 시스템인으로서 유용하다. 마찬가지로, 시스템인의 입체이성체가 디설파이드 결합 교환을 억제할 것이다.

[0021] 디설파이드 결합 교환은 캐리어 펩타이드와 카고 펩타이드를 연결하여 단일한 선형 펩타이드를 형성함으로써 완전히 제거될 수 있다. 이러한 방법이 후술된다.

[0022] 물리적 안정성

[0023] 디설파이드의 물리적 환경은 안정성에 영향을 끼친다. 도 10에 나타난 바와같이 (부분적), 용액의 pH가 감소할수록 (염기성보다 산성 환경이 보다 우수함), 용액의 온도가 낮아질수록, 용액 중의 펩타이드 조성물의 농도가 감소할수록, 용액중에서 안정성이 증가한다. 동결건조된 형태에서는, pH가 감소할수록, 온도가 낮아질수록, 부형제에 대한 펩타이드 조성물의 비율이 증가할수록, 안정성이 증가한다. 바람직한 부형제는 미국 특허원 제 11/240,962호 (2005년 9월 30일 출원, 본원에 전부 참조로 삼입됨)에 기술되어 있다.

[0024] 예기치 못한 "부형제 효과"는 고도의 결정성 부형제인 만니톨에 대해 가장 현저하였다. 덜 결정성인 부형제 (예: 슈크로스)를 사용하거나 심지어는 부형제를 사용하지 않는 경우, 펩타이드 조성물의 양에 훨씬 더 적게 의존적이었다. 특정 이론에 구애됨이 없이, 비-결정성 부형제의 사용이 무정형 매트릭스를 생성하고, 이것이 분자간 회합을 막는 것을 도울 것으로 생각된다. 이론적으로는, 결정성 매트릭스에서, 펩타이드 조성물은 배제되고 바이알의 벽으로 몰려, 아마도 높은 국소 농도를 야기시킬 것이다. 소량의 API의 사용에 의해, 생성된 박막은 높은 펩타이드-유리 접촉 면적을 갖고, 실리카는 탈안정화된다.

[0025] 치료 펩타이드 조성물이 표적 세포에 의해 흡수되는 효율에 많은 요인이 영향을 끼친다. 예를 들어, 치료 펩타이드의 가용성이, 치료 펩타이드 조성물이 표적 세포에 의해 흡수되는 효율에 영향을 끼친다. 이어, 캐리어 또는 카고 펩타이드의 아미노산 서열이 사용되는 펩타이드 조성물의 가용성을 크게 결정한다. 일부 펩타이드, 특히 카고 펩타이드는, "지퍼" 기작에 의한 분자간 상호작용을 가능하게 하여 응집을 유도하는 일정한 간격을 두고, 소수성 잔기 (예: Phe, Tyr, Leu)를 포함할 것이다. 이러한 잠재적인 문제의 펩타이드에 대한 예가 도 14에 나타나 있다. 도시된 서열은 δ PKC의 V1 도메인에서 베타-가닥을 형성하는 것으로 믿어진다. 이러한 펩타이드는 불용성 침전물을 형성하는 경향을 갖는다.

[0026] 이러한 펩타이드의 가용성은 카고 펩타이드 서열에 특정한 변형을 가해 개선시킬 수 있다. 예를 들어, 아미노 및 카복시 말단에 또는 내부 잔기에 가용성 그룹, 예를 들어 수화 그룹, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 고도로 하전된 그룹, 예를 들어 4급 암모늄 염, 또는 특정 아미노산 잔기의 거대한 분지쇄의 도입은 도 14에 나타난 것과 같은 펩타이드의 가용성을 개선시킬 것이다. 추가로, 활성에 필요하지 않은 것으로 나타난 이들 소수성 측쇄는 결실 또는 보존적 또는 비-간섭 잔기, 예를 들어 알라닌, 글리신 또는 세린으로의 치환에 의해 제거되어, 펩타이드의 가용성을 개선시킬 수 있다.

[0027] 단백질분해적 분해: 혈장 안정성

[0028] 혈액 및 혈장은 본원에 기술된 단백질 키나제 C 조절 펩타이드, 펩타이드 조성물의 세포 흡수를 촉진시키는 캐리어 펩타이드 또는 이들 모두를 분해시킬 수 있는 프로테아제를 포함한다. 캐리어 또는 카고 펩타이드의 단백질분해적 분해를 감소시키기 위한 하나의 방법은 치료 펩타이드 조성물에 의해 제시되는 프로테아제의 표적물을 차폐시키는 것이다.

[0029] 일단 치료 펩타이드가 피험자의 혈장에 들어가면, 펩티다제에 의해 공격을 받기 쉽다. 엑소펩티다제 (펩타이드쇄의 말단 아미노산에 의해 형성되는 펩타이드 결합을 가수분해시키는 일 그룹의 효소) 또는 엔도펩티다제 (단백질 분자의 장쇄 내의 펩타이드 결합을 가수분해시키는 일 그룹의 효소)에 의해 야기되는 펩타이드 분해를 검토하는 전략이 제공된다. 엑소펩티다제는 펩타이드 또는 단백질의 아미노 또는 카복시 말단으로부터의 아미노산 잔기를 절단하고 특정 부위 또는 비-특정 부위에서 절단할 수 있는 효소이다. 아미노산 서열 내를 절단하는 엔도펩티다제도 비-특이적일 수 있으나, 엔도펩티다제는 빈번히 특정 아미노산 서열 (인식 부위)을 인식하고 이

러한 부위에서 또는 가까이서 펩타이드를 절단한다.

[0030] 단백질분해적 분해로부터 펩타이드 조성물을 보호하는 방법은 펩타이드의 아미노 및/또는 카복시 말단을 "캡핑"하는 것을 수반한다. 용어 "캡핑"은 공유결합적 변형을 통해 펩타이드의 말단에 차단 그룹을 도입하는 것을 언급한다. 적합한 차단 그룹은 펩타이드의 생물학적 활성을 감소시키지 않으면서 펩타이드의 말단을 캡핑하는 것을 돕는다. 본원에 기술된 펩타이드의 아미노 말단의 아세틸화가 단백질분해적 분해로부터 펩타이드를 보호하는 바람직한 방법이다. 기타 캡핑 잔기도 가능하다. 아세틸화 잔기의 선택은 펩타이드를 "캡핑"하는 기회를 제공할 뿐만 아니라 화합물의 소수성을 조절한다. 예를 들어, 포르밀, 아세틸, 프로파노일, 헥사노일, 미리스토일의 아실 그룹 시리즈는 소수성을 증가시키며, 또한 캡핑 잔기로도 고려된다. 본원에 기술된 펩타이드의 카복시 말단의 아미드화도 단백질분해적 분해로부터 펩타이드를 보호하는 바람직한 방법이다.

[0031] 엔도펩티다제로부터 펩타이드를 보호하는 것은 통상적으로 펩타이드로부터 엔도펩티다제 인식 부위를 확인하고 제거하는 것을 수반한다. 프로테아제 인식 부위는 당업자에게 널리 공지되어 있다. 따라서, 잠재적인 엔도펩티다제 인식 부위를 확인한 후, 인식 부위 내의 아미노산 서열을 변형시킴으로써 그 부위를 제거시킬 수 있다. 인식 서열 내의 잔기는 인식 부위를 파괴하도록 이동되거나 제거될 수 있다. 바람직하게는, 확인된 프로테아제 인식 부위를 포함하는 하나 이상의 아미노산으로의 보존적 치환이 수행된다. 이들 아미노산의 측쇄는 다양한 화학적 특성을 갖는다. 본 발명의 목적 상, 가장 일반적인 아미노산은 하기와 같이 9개의 그룹으로 분류된다. 이들 그룹 내에서의 치환은 보존적 치환으로 고려된다.

[0032] **보존적 아미노산 치환**

작은/지방족 잔기:	Gly, Ala, Val, Leu, Ile
사이클릭 이미노산:	Pro
하이드록실 잔기:	Ser, Thr
산성 잔기:	Asp, Glu
아미드 잔기:	Asn, Gln
염기성 잔기:	Lys, Arg
이미다졸 잔기:	His
방향족 잔기:	Phe, Tyr, Trp
황-함유 잔기:	Met, Cys

[0033]

[0034] **세포 흡수 효율**

[0035] 상술된 변형에 추가하여, 본원에 기술된 치료 펩타이드 조성물에 대한 유용성의 개선은 캐리어 및 카고 펩타이드의 연결을 변형시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 하나의 양태에서, 캐리어 및 카고 펩타이드는 펩타이드 결합에 의해 연결되어 선형 펩타이드를 형성한다. 또한, 치료 펩타이드의 안정성 및 효능은 펩타이드 다량체의 제작을 통해 증가될 수 있으며, 이때 다수의 카고 펩타이드가 하나 이상의 캐리어 펩타이드에 연결된다. 또한, 절단가능한 링커 서열을 수반하는 본 발명의 추가의 양태가 기술된다.

[0036] **선형 펩타이드**

[0037] 펩타이드 조성물의 안정성을 개선시키기 위한 또 다른 전략은, 디설파이드 결합을 통해 펩타이드들을 연결하는 것과는 대조적으로, 카고 및 캐리어 펩타이드를 단일 펩타이드로 연결하는 것을 수반한다. 예를 들어, 도 4A에 나타난 양태에서, 카고 펩타이드 (서열번호 13)는 아미노 말단 시스테인을 통해 연결된다. 카고 및 캐리어 펩타이드의 선형 버전이 도 4B에 나타나 있으며, 이때 카고 및 캐리어 펩타이드는 짧은 디펩타이드 링커 (예: Ser-Gly)를 통해 연결된다. 이러한 링커는 예시적이다.

[0038] 설명된 실시예에서, 카고의 C-말단은 링커를 통해 캐리어의 N-말단에 연결된다. 그러나, C-말단, N-말단을 통해 펩타이드를 연결하는 것을 포함하여, 기타 가능한 변경 (permutation)도 고려되며, 이때 캐리어 펩타이드는 펩타이드 조성물의 N-말단부에 위치된다.

[0039] 추가로, 디설파이드 결합 연결된 펩타이드 조성물을 안정화시키기 위한 상술된 단계는, 적절한 경우, 선형 펩타이드 조성물과 함께 이용될 수 있다. 예를 들어, 도 4B에 나타난 선형 펩타이드 조성물은 이의 아미노 및 카복시 말단 모두에서 캡핑되었다. 또한, 펩타이드 내의 서열은 D-아미노산으로 불규칙하게 되거나 (scrambled) 치환될 수 있다.

[0040] 도 7에 나타난 바와 같이, β-I의 위치 7에 있는 Asn의 탈아미드화는 Asn-Gly에 의해 연결된 펩타이드 조성물의

선형화된 버전에서 상당한 불안정화를 초래하는 것으로 관측되었다. Gly의 Leu로의 변화는 이러한 선형 펩타이드 조성물을 안정화시켰다. 마찬가지로, β -II 조성물의 위치 2에 있는 Gln 잔기의 탈아미드화는 상당한 불안정화를 초래하는 것으로 관측되었다. Glu로의 치환은 선형 조성물의 안정성을 개선시켰다. 이들 펩타이드의 변형된 버전을 비교하는 자료가 도 8 및 9에 나타나 있다.

[0041] 특정 이론에 구애됨이 없이, Asn 잔기에 대한 알파 또는 주쇄 아미드 HN-C-말단의 공격으로부터 Asn의 측쇄 아미드에 발생하는 탈아미드화는 아스파르트산 잔기로 가수분해될 수 있는 사이클릭 아스파라미드 중간체를 생성하는 것으로 생각된다. Asn에 대한 잔기 C-말단의 크기를 증가시키면 주쇄 아미드에 대한 입체 장애를 증가시킴으로써 탈아미드화를 상당히 지연시킬 수 있다고 생각된다.

[0042] 펩타이드 다량체

[0043] 안정성 및 효능을 개선시키는 또 다른 방법은 하나 이상의 캐리어 펩타이드와 화합된 다수의 카고 펩타이드를 갖는 다량체를 형성함으로써 이용가능하다. 이러한 제형의 예가 도 15에 나타나 있다. 분지된 다가의 펩타이드 조성물은 조성물의 결합활성 (avidity), 효능 및 안정성을 증가시킬 것이다. 절단 부위 또는 기타 방출 기작을 다량체 조성물에 설계함으로써, 다수의 접합체가 거의 동시에 표적 세포의 내부로 PKC 조절 카고 펩타이드를 방출할 수 있다. 다량체 펩타이드의 예가 문헌 [참조: Yu et al. JBC 275(6):3943-9 (2000)]에 기술되어 있다.

[0044] 절단가능 서열

[0045] 통상적으로, 캐리어 및 카고는 편재하는 효소, 예를 들어 에스테라제, 아미다제 등에 의해 절단될 수 있는 연결물에 의해 연결된다. 이러한 효소의 농도는 세포의 환경에서보다는 세포 내에서 보다 높을 것으로 추정된다. 따라서, 일단 접합체가 세포 내에 놓이면, 카고와 캐리어 사이의 연결을 절단할 수 있는 효소를 마주칠 것 같다. 따라서, 효소는 세포 내에 생물학적 활성 카고를 방출할 수 있으며, 추측컨대 이것이 가장 유용하다.

[0046] 단백질 키나제 C 조절 펩타이드

[0047] 용어 단백질 키나제 C 조절 펩타이드는 PKC 이소자임- 및/또는 가변 영역으로부터 유도되는 펩타이드를 언급한다. 다양한 PKC 이소자임- 및 가변 영역-특이적 펩타이드가 기술되어 있으며, 본원에 기술된 발명에도 이용될 수 있다. 바람직하게는, PKC 조절 펩타이드는 V1, V3 또는 V5-유도된 펩타이드이다. (용어 "VI" 및 "C2"는 동의어이다.) 하기 미국 특허 또는 특허원은 본원에 기술된 발명과 함께 사용될 수 있는 다양한 적합한 펩타이드를 기술한다: 미국 특허 제5,783,405호, 제6,165,977호, 제6,855,693호, 제US2004/0204364호, 제US2002/0150984호, 제US2002/0168354호, 제US2002/057413호, 제US2003/0223981호, 제US2004/0009922호 및 제10/428,280호 (각각의 문헌이 전부 본원에 참조로 삽입됨). 표 1은 본 발명에 사용하기에 바람직한 PKC 조절 펩타이드의 목록을 제공한다.

표 1

PKC 이소자임으로부터 유도된 카고 펩타이드

펩타이드	서열번호	서열
α V3-1	서열번호 2	I-P-E-G-D-E-E-G
α V5-1	서열번호 3	Q-L-V-I-A-N
α V5-1.1	서열번호 4	G-L-G-A-E-N
α V5-1.2	서열번호 5	A-R-G-A-E-N
α V5-1.3	서열번호 6	C-G-K-G-A-E-N
α V5-1.4	서열번호 7	C-G-K-G-A-E-N
β C2-1	서열번호 8	K-Q-K-T-K-T-I-K
β C2-2	서열번호 9	M-D-P-N-G-L-S-D-P-Y-V-K-L
β C2-3	서열번호 10	I-P-D-P-K-S-E
β C2-4	서열번호 11	S-L-N-P-E-W-N-E-T
β V3-1	서열번호 12	V-P-P-E-G-S-E-A
β IV5-1	서열번호 13	K-L-F-I-M-N
β IV5-2	서열번호 14	R-D-K-R-D-T-S
β IV5-2.1	서열번호 15	C-A-R-D-K-R-D-T-S
β IV5-2.2	서열번호 16	G-R-D-K-R-D-T-S
β IV5-2.3	서열번호 17	A-R-D-K-R-D-T-S
β IV5-3	서열번호 18	A-R-D-K-R-D-T-S-N-F-D-K
β IV5-4	서열번호 19	A-G-F-S-Y-T-N-P-E-F-V-I-N-V
β IIV5-1	서열번호 20	Q-E-V-I-R-N
β IIV5-2	서열번호 21	C-G-R-N-A-E
β IIV5-3	서열번호 22	A-C-G-R-N-A-E
β IIV5-3.1	서열번호 23	A-C-G-K-N-A-E
β IIV5-4	서열번호 24	K-A-C-G-R-N-A-E
β IIV5-5	서열번호 25	C-G-R-N-A-E-N
β IIV5-6	서열번호 26	A-C-G-R-N-A-E
β IIV5-7	서열번호 27	S-F-V-N-S-E-F-L-K-P-E-V-L-S
γ V3-1	서열번호 28	V-A-D-A-D-N-C-S
γ V5-1	서열번호 29	G-R-S-G-E-N
γ V5-1.1	서열번호 30	G-L-S-G-E-N
γ V5-2	서열번호 31	R-L-V-L-A-S
γ V5-3	서열번호 32	P-C-G-R-S-G-E-N
δ V1-1	서열번호 33	C-S-F-N-S-Y-E-L-G-S-L
Leu-결단물	서열번호 165	C-S-F-N-S-Y-E-L-G-S
δ V1-1.1	서열번호 34	S-F-N-S-Y-E-L-G-S-L
δ V1-1.2	서열번호 35	T-F-N-S-Y-E-L-G-S-L
δ V1-1.3	서열번호 36	A-F-N-S-N-Y-E-L-G-S-L

[0048]

팰타이드	서열번호	서열
δV1-1.4	서열번호 37	S-F-N-S-Y-E-L-G-T-L
δV1-1.5	서열번호 38	S-T-N-S-Y-E-L-G-S-L
δV1-1.6	서열번호 39	S-F-N-S-F-E-L-G-S-L
δV1-1.7	서열번호 40	S-N-S-Y-D-L-G-S-L
δV1-1.8	서열번호 41	S-F-N-S-Y-E-L-P-S-L
δV1-1.9	서열번호 42	T-F-N-S-Y-E-L-G-T-L
δV1-1.10	서열번호 43	S-F-N-S-Y-E-I-G-S-V
δV1-1.11	서열번호 44	S-F-N-S-Y-E-V-G-S-I
δV1-1.12	서열번호 45	S-F-N-S-Y-E-L-G-S-V
δV1-1.13	서열번호 46	S-F-N-S-Y-E-L-G-S-I
δV1-1.14	서열번호 47	S-F-N-S-Y-E-I-G-S-L
δV1-1.15	서열번호 48	S-F-N-S-Y-E-V-G-S-L
δV1-1.16	서열번호 49	A-F-N-S-Y-E-L-G-S-L
δV1-1.17	서열번호 50	Y-D-L-G-S-L
δV1-1.18	서열번호 51	F-D-L-G-S-L
δV1-1.19	서열번호 52	Y-D-I-G-S-L
δV1-1.20	서열번호 53	Y-D-V-G-S-L
δV1-1.21	서열번호 54	Y-D-L-P-S-L
δV1-1.22	서열번호 55	Y-D-L-G-L-L
δV1-1.23	서열번호 56	Y-D-L-G-S-I
δV1-1.24	서열번호 57	Y-D-L-G-S-V
δV1-1.25	서열번호 58	I-G-S-L
δV1-1.26	서열번호 59	V-G-S-L
δV1-1.27	서열번호 60	L-P-S-L
δV1-1.28	서열번호 61	L-G-L-L
δV1-1.29	서열번호 62	L-G-S-I
δV1-1.30	서열번호 63	L-G-S-V
δV1-2	서열번호 64	A-L-S-T-E-R-G-K-T-L-V
δV1-2.1	서열번호 65	A-L-S-T-D-R-G-K-T-L-V
δV1-2.2	서열번호 66	A-L-T-S-D-R-G-K-T-L-V
δV1-2.3	서열번호 67	A-L-T-T-D-R-G-K-S-L-V
δV1-2.4	서열번호 68	A-L-T-T-D-R-P-K-T-L-V
δV1-2.5	서열번호 69	A-L-T-T-D-R-G-R-T-L-V
δV1-2.6	서열번호 70	A-L-T-T-D-K-G-K-T-L-V
δV1-2.7	서열번호 71	A-L-T-T-D-K-G-K-T-L-V
δV1-3	서열번호 72	V-L-M-R-A-A-E-E-P-V
δV1-4	서열번호 73	Q-S-M-R-S-E-D-E-A-K
δV1-5	서열번호 163	A-F-N-S-Y-E-L-G-S
δV3-1	서열번호 74	Q-G-F-E-K-K-T-G-V
δV3-2	서열번호 75	D-N-N-G-T-Y-G-K-I

[0049]

팰타이드	서열번호	서열
δV5-1	서열번호 76	K-N-L-I-D-S
δV5-2	서열번호 77	V-K-S-P-R-D-Y-S
δV5-2.1	서열번호 78	V-K-S-P-C-R-D-Y-S
δV5-2.2	서열번호 79	I-K-S-P-R-L-Y-S
δV5-3	서열번호 80	K-N-L-I-D-S
δV5-4	서열번호 81	P-K-V-K-S-P-R-D-Y-S-N
εV1-1	서열번호 82	N-G-L-L-K-I-K
εV1-2	서열번호 83	E-A-V-S-L-K-P-T
εV1-3	서열번호 84	L-A-V-F-H-D-A-P-I-G-Y
εV1-4	서열번호 85	D-D-F-V-A-N-C-T-I
εV1-5	서열번호 86	W-I-D-L-E-P-E-G-R-V
εV1-6	서열번호 87	H-A-V-G-P-R-P-Q-T-F
εV1-7	서열번호 88	N-G-S-R-H-F-E-D
εV1-7.1	서열번호 89	H-D-A-P-I-G-Y-D
εV1-7.2	서열번호 90	H-D-A-P-I-G
εV1-7.3	서열번호 91	H-D-A-A-I-G-Y-D
εV1-7.4	서열번호 92	H-D-A-P-I-P-Y-D
εV1-7.5	서열번호 93	H-N-A-P-I-G-Y-D
εV1-7.6	서열번호 94	H-A-A-P-I-G-Y-D
εV1-7.7	서열번호 95	A-D-A-P-I-G-Y-D
εV1-7.8	서열번호 96	H-D-A-P-A-G-Y-D
εV1-7.9	서열번호 97	H-D-A-P-I-G-A-D
εV1-7.10	서열번호 98	H-D-A-P-I-A-Y-D
εV1-7.11	서열번호 99	H-D-A-P-I-G-Y-A
εV3-1	서열번호 100	S-S-P-S-E-E-D-R-S
εV3-2	서열번호 101	P-C-D-Q-E-I-K-E
εV3-3	서열번호 102	E-N-N-I-R-K-A-L-S
εV3-4	서열번호 103	G-E-V-R-Q-G-Q-A
εV5-1	서열번호 104	E-A-I-V-K-Q
εV5-2	서열번호 105	I-K-T-K-R-D-V
εV5-2.1	서열번호 106	I-K-T-K-R-L-I
εV5-3	서열번호 107	C-E-A-I-V-K-Q
εV5-4	서열번호 108	T-K-R-D-V-N-N-F-D-Q
ζV1-1	서열번호 109	V-R-L-K-A-H-Y
ζV1-2	서열번호 110	V-D-S-E-G-D
ζV1-3	서열번호 111	V-F-P-S-I-P-E-Q
ζV3-1	서열번호 112	S-Q-E-P-P-V-D-D-K-N-E-D-A-D-L
ζV3-2	서열번호 113	I-K-D-D-S-E-D
ζV3-3	서열번호 114	P-V-I-D-G-M-D-G-I
ζV5-1	서열번호 115	E-D-A-I-K-R

[0050]

펩타이드	서열번호	서열
ζV5-1.1	서열번호 116	E-D-A-I-R
ζV5-2	서열번호 117	I-T-D-D-Y-G-L-D
ζV5-2.1	서열번호 118	I-T-D-D-Y-G-D-L
ζV5-3	서열번호 119	D-D-Y-G-L-D-N
ηV1-1	서열번호 120	N-G-Y-L-R-V-R
ηV1-2	서열번호 121	E-A-V-G-L-Q-P-T
ηV1-3	서열번호 122	L-A-V-F-H-E-T-P-L-G-Y
ηV1-4	서열번호 123	D-F-V-A-N-C-T-L
ηV1-5	서열번호 124	W-V-D-L-E-P-E-G-K-V
ηV1-6	서열번호 125	H-S-L-F-K-K-G-H
ηV1-7	서열번호 126	T-G-A-S-D-T-F-E-G
ηV5-1	서열번호 127	E-G-H-L-P-M
ηV5-1.1	서열번호 128	E-G-H-D-P-M
ηV5-2	서열번호 129	I-K-S-R-E-D-V-S
ηV5-3	서열번호 130	V-R-S-R-E-D-V-S
ηV5-4	서열번호 131	P-R-I-K-S-R-E-D-V
λV1-1	서열번호 132	H-Q-V-R-V-K-A-Y-Y-R
λV1-2	서열번호 133	Y-E-L-N-K-D-S-E-L-L-I
λV3-1	서열번호 134	M-D-Q-S-S-M-H-S-D-H-A-Q-T-V-I
λV3-2	서열번호 135	L-D-Q-V-G-E-E
λV3-3	서열번호 136	E-A-M-N-T-R-E-S-G
λV5-1	서열번호 137	D-D-I-V-R-K
μV5-2	서열번호 138	V-K-L-C-D-F-G-F
μV5-2.1	서열번호 139	I-R-L-C-D-F-A-F
μV5-3	서열번호 140	Q-V-K-L-C-D-F-G-F-A
μV1-1	서열번호 141	M-S-V-P-P-L-L-R-P
μV1-2	서열번호 142	K-F-P-E-C-G-F-Y-G-L-Y
μV3-1	서열번호 143	D-P-D-A-D-Q-E-D-S
μV3-2	서열번호 144	S-K-D-T-L-R-K-R-H
μV3-3	서열번호 145	I-T-L-F-Q-N-D-T-G
μV3-4	서열번호 146	G-S-N-S-H-K-D-I-S
μV5-1	서열번호 147	S-D-S-P-E-A
θV1-1	서열번호 148	G-L-S-N-F-D-C-G
θV1-2	서열번호 149	Y-V-E-S-E-N-G-Q-M-Y-I
θV1-3	서열번호 150	I-V-K-G-K-N-V-D-L-I
θV1-4	서열번호 151	D-M-N-E-F-E-T-E-G-F
θV3-1	서열번호 152	C-S-I-K-N-E-A-R-L
θV3-2	서열번호 153	G-K-R-E-P-Q-G-I-S
θV3-3	서열번호 154	D-E-V-D-K-M-C-H-L
θV5-1	서열번호 155	R-A-L-I-N-S

[0051]

펩타이드	서열번호	서열
θV5-2	서열번호 156	V-K-S-P-F-D-C-S
θV5-2.1	서열번호 157	V-R-S-P-F-D-C-S
θV5-3	서열번호 158	D-R-A-L-I-N-S
iV5-1	서열번호 159	I-S-G-E-F-G-L-D
iV5-1.1	서열번호 160	C-S-G-E-F-G-L-D
iV5-2	서열번호 161	D-D-D-I-V-R-K
iV5-3	서열번호 162	D-D-I-V-R-K

[0052]

표 2

캐리어 펩타이드

TAT 캐리어 펩타이드	서열번호 166	YGRKKRRQRRR
N-말단 Cys를 갖는 TAT 캐리어 펩타이드	서열번호 164	CYGRKKRRQRRR

[0053]

[0054] 캐리어의 기타 예는 옥타-Arg, 옥타-D-Arg 및 안테나페디아 (*Antennapedia*) 유도된 펩타이드 (당 기술 분야에 공지됨)을 포함한다.

[0055] 하기 실시예는 설명을 위해 제공되는 것으로서 본 발명을 제한하지 않는다.

[0056] [실시예]

[0057] 실시예 1

[0058] 엑소펩티다제 보호: 캡핑된 펩타이드의 혈장 안정성

[0059] 캡핑된 펩타이드의 혈장 안정성을 비교하였다. KAI-9706을 이의 아미노 및 카복시 말단에서 단계적으로 변형시켰다. 혈장 안정성을 15분 후 잔류하는 펩타이드 조성물의 비율 (%)에 의해 측정하였다. 그 결과가 표 3에 제공된다.

표 3

KAI-9706의 혈장 안정성

		카고			
		H-OH	Ac-OH	H-NH ₂	Ac-NH ₂
캐리어	H-OH	1	1	0	0
	Ac-OH	57	nd	nd	48
	H-NH ₂	60	nd	nd	51
	Ac-NH ₂	92	93	90	90
15분에 잔류하는 모 (parent)의 비율 (%)					
레트 혈장에서의 t _{1/2} = 가장 길게 잔류된 유도체의 경우 40 내지 45분					

[0060]

[0061] 상기 제공된 자료는 비변형 카고 및 캐리어 펩타이드를 포함하는 펩타이드 조성물이 가장 덜 안정하였다는 것을 나타낸다. 또한, 캐리어 펩타이드 단독의 보호도 혈장 중 펩타이드 조성물의 반감기를 증가시키지 못했다. 또한, 비변형 캐리어 펩타이드로의 카고 펩타이드의 변형도 혈장 중 반감기 안정성에 뚜렷한 효과를 나타내지 않았다. 그러나, 아미노 또는 카복시 말단에서 보호기를 캐리어 펩타이드에 부가하는 경우, 펩타이드 조성물에 대한 혈장 안정성을 현저하고 거의 동일하게 증가시킨다. 캐리어 펩타이드에서 2개의 그룹 모두에서의 보호는 부가적인 보호를 제공하였다. 흥미롭게도, 카고 펩타이드의 보호는 조성물의 안정성에 거의 또는 전혀 효과를 나타내지 못하였다.

[0062] 실시예 2

[0063] 혈장 안정성에 대한 D-펩타이드의 효과

[0064] 펩타이드 조성물의 안정성에 대한 영향을 측정하기 위해서 KAI-9706을, D-아미노산을 사용하여 설계하였다. 비변형 KAI-9706을, 동일한 아미노산 서열은 가지나 사용되는 아미노산이 L-아미노산 대신 d-에난티오머인 펩타이드 조성물과 비교하였다. 또한, 펩타이드 조성물의 레트로-인버소 (retro-inverso) 버전 및 불규칙 (scrambled) 버전도 제조하였다. 실험 자료가 표 4에 나타나 있다.

표 4

KAI-9706의 혈장 안정성

		카고			
		모두-L	모두-D	불규칙 버전	R/I
캐리어	모두-L	1	0	2	
	모두-D	88	100	67	
	R/I				100
15분에 잔류하는 모 비율 (%)					

[0065]

[0066] 캐리어의 변형은 조성물의 반감기를 개선시키는 경향이 컸으나, 카고의 변형은 거의 영향을 끼치지 않았다.

[0067] 실시예 3

[0068] 캡핑된 KAI-9706의 시험관 내 효능 유지

[0069] KAI-9706의 캐리어 펩타이드 부분 캡핑 (KAI-1455)은 펩타이드 조성물의 혈장 반감기를 증가시키는 것으로 나타났다. 캡핑된 조성물이 래트 열 모델 (rat heat model) (랑겐도르프 검정)에서 허혈 손상을 억제시키는 능력을 캡핑되지 않은 형태와 대비해서 평가하였다. 그 결과가 도 1에 나타나 있다.

[0070] 실시예 4

[0071] 캡핑된 KAI-9706의 증가된 효능

[0072] KAI-1455를 졸중 (stroke) 모델에서 시험하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 펩타이드 조성물의 캡핑된 버전은, 경색 (infact) 비율 (%)로 판단시, 뇌조직에 대해 증가된 보호를 제공하였다. 이러한 자료는 뇌조직의 유의한 보호가 보다 낮은 용량에서 달성되었다는 것을 나타낸다.

[0073] 실시예 5

[0074] 종과 무관하게 증가되는 펩타이드 안정성

[0075] 변형된 KAI-9706 펩타이드 (KAI-1455)의 안정성을 사람 (도 3A), 피그 (도 3B) 및 래트 혈청 (도 3C)에서 KAI-9706 및 KAI-9803에 대해 비교하였다. 캡핑된 버전 KAI-1455는 3가지의 모든 종류에서 증가된 혈장 안정성을 나타내었다.

[0076] 실시예 6

[0077] 캡핑된 KAI-9706의 증가된 효능

[0078] KAI-1455를 졸중 모델에서 시험하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 펩타이드 조성물의 캡핑된 버전은, 경색 비율 (%)로 판단시, 뇌조직에 대해 증가된 보호를 제공하였다. 이러한 자료는 뇌조직의 유의한 보호가 보다 낮은 용량에서 달성되었다는 것을 나타낸다.

[0079] 실시예 7

[0080] 종과 무관하게 증가되는 펩타이드 안정성

[0081] 변형된 KAI-9706 펩타이드 (KAI-1455)의 안정성을 사람 (도 3A), 피그 (도 3B) 및 래트 혈청 (도 3C)에서 KAI-9706 및 KAI-9803에 대해 비교하였다. 캡핑된 버전 KAI-1455는 3가지의 모든 종류에서 증가된 혈장 안정성을 나타내었다.

[0082] 실시예 8

[0083] 선형 펩타이드의 안정성

[0084] KAI-9803 및 BC2-4의 선형 버전을 제작하여 이러한 펩타이드 조성물 및 다른 펩타이드 조성물의 디설파이드 결합 연결된 버전과 비교하여 안정성을 평가하였다. 펩타이드를 37°C의 PBS (pH 7.4)에 0.1 mg/ml으로 용액에 가

하였다. 도 5에 나타난 바와 같이, KAI-9803 및 BV2-4의 선형 버전은 증가된 안정성을 나타내었다.

[0085] 실시예 9

[0086] 디설파이드 연결 조성물 이상으로 증가된 안정성을 나타내는 선형 PKC-β_I 및 PKC-β_{II} 펩타이드 조성물

[0087] PKC-β_I 및 PKC-β_{II} 펩타이드 조성물의 선형 및 디설파이드 결합 연결된 버전을 실시예 8에 기술된 조건 하에서 항온처리하였다. 도 6에 나타난 바와 같이, PKC-β_I 및 PKC-β_{II} 펩타이드의 선형 형태가 비-선형 상대물과 비교하여 증가된 안정성을 나타내었다.

[0088] 실시예 10

[0089] 선형 PKC-β_I 및 PKC-β_{II} 펩타이드 조성물의 개선된 안정성

[0090] PKC-β_I 및 PKC-β_{II} 펩타이드 조성물의 선형 버전은 개선된 안정성을 나타내었으나, 또한 탈아미노 작용도 받았다. 특히, β-I 및 β-II 펩타이드의 위치 7에 있는 Asn 잔기 및 β-II 펩타이드의 위치 2에 있는 Gln 잔기가 그러하다. 이들 선형 펩타이드 조성물은 β-I 펩타이드 조성물에서는 Asn에 대해 바로 C-말단인 Gly를 Leu로 치환시키거나, β-II 펩타이드 조성물에서는 Gly를 Ile로 치환시킴으로써 변형되었다. 또한, β-II 펩타이드 조성물의 위치 2에 있는 Gln도 Glu 잔기로 치환되었다. 펩타이드의 안정성을 실시예 8에 기술된 조건 하에서 조사하였다. 도 8 및 9에 나타난 바와 같이, 상술된 아미노산 치환은 이러한 선형 펩타이드 조성물을 안정화시키는 것에 기여하였다.

[0091] 실시예 11

[0092] KAI-9803 유도체 (KAI-1355)의 효능 유지

[0093] 카복시 말단 류이신이 제거된, KAI-9803의 절단된 버전인 KAI-1355의 효능을 시험하였다. KAI-1355를 사용한 안정성 조사로, C-말단 Leu 잔기의 결실이 이러한 카고 펩타이드의 안정성을 증가시키는 것으로 나타났다. 유도체 펩타이드 조성물의 효능을 랭겐도르프 시험관내 허혈후 모델에서 전장 버전인 KAI-9803의 효능과 비교하였다. 실험 결과가 도 11에 나타나 있다. 이에 나타난 바와 같이, KAI-1355 (KAI-9803의 변형된 버전)은 전장 KAI-9803에 필적하는 효능으로 허혈로부터 심장 조직을 보호할 수 있다.

[0094] 실시예 12

[0095] KAI-1479를 생성하기 위한 KAI-9803의 최적화

[0096] KAI-9803의 카고 펩타이드의 절단은 펩타이드 조성물은 안정시키나 효능에는 거의 또는 전혀 효과가 없었다. 도 12에 나타난 바와 같이, TAT 캐리어 펩타이드의 캡핑된 버전을 KAI-1355의 절단된 카고 펩타이드에 결합시켜, 절단된 9803 카고 펩타이드 및 완전히 캡핑된 TAT 캐리어 펩타이드를 포함하는 KAI-1479를 생성하였다.

[0097] 펩타이드 조성물이 경색 크기를 억제하는 능력을 측정하기 위해 래트 중대뇌동맥 폐색 (middle cerebral artery occlusion: MCAO) 졸중 모델에서 변형된 KAI-1479, KAI-9803 및 KAI-1482 펩타이드 조성물을 검정하였다. 래트를 2시간 동안 대뇌동맥 폐색시켰다. 각각의 펩타이드 조성물 또는 식염수를 22시간의 재관류 기간 직전에 시험 동물에게 투여하고, 재관류 후 동물을 희생시켜 경색 크기를 측정하였다. 도 13에 나타난 바와 같이, 변형된 KAI-1479 펩타이드 조성물은 KAI-9803과 비교하여 경색 크기를 감소시키는 능력이 증가된 것으로 나타났으며, KP-01482는 N-말단 Cys와 함께 TAT 펩타이드에 연결된 카고 서열 (CELGSLQAEDD)을 가지며, 이는 2개의 말단 모두에서 캡핑되고 카고에 디설파이드 접합된다.

[0098] 실시예 13

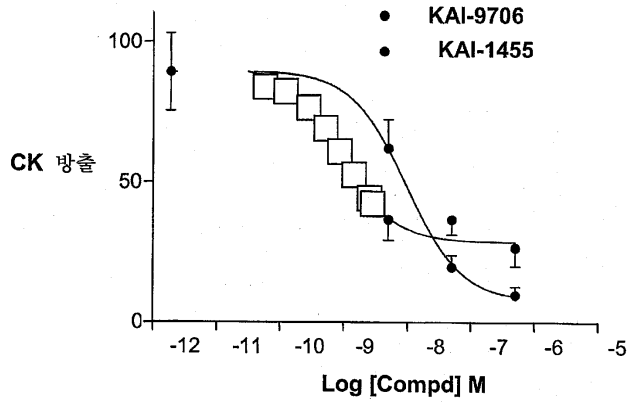
[0099] 일련의 선형 엡실론 PKC 억제제의 시험관 내에서의 생물학적 안정성

[0100] 래트 및 사람으로부터의 혈장 및 혈청에서 화합물의 안정성에 대한 N-말단 아세틸화 및 C-말단 아미드화의 효과를 조사하였다. 조사된 선형 펩타이드가 도 16에 나타나 있다. 화합물을 100 μg/ml의 농도로 혈장/혈청 중에서 시험하였다. 용액을 실온에서 항온처리하고, 5% TCA로 침전시킨 후, 상등액을 아세트산암모늄으로 중화시켰다. 이어서, 펩타이드를 LC/MS로 분석하였다. 도 17a 내지 17d에 나타난 자료로부터 알 수 있는 바와 같이, 모든 시험된 화합물은 사람 혈장에서 상대적으로 안정하였으나, C-말단 아미드를 포함하는 KP-1633 및 KP-1678은 사람 혈장에서 증가된 안정성을 나타내었다. N-말단 아세틸화 단독은 펩타이드를 안정화시키지 않았다.

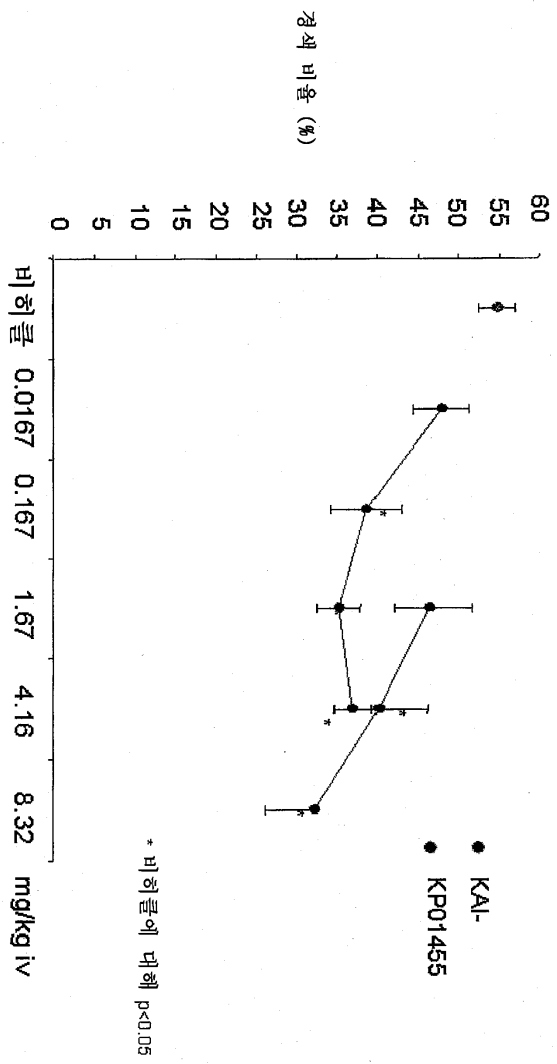
흥미롭게도, KP-1680의 아미노산 서열 및 이의 분해 산물은, 펩타이드의 대사된 형태가 C-말단으로부터 아르기닌 잔기의 순차적인 분해를 나타낸다는 것을 보였다. 혈청 (혈장은 아님)에서의 카복시펩티다제 N 활성이 관측된 안정성에서의 차이를 설명할 수 있었다. 이러한 아연 메탈로프로테아제를 억제하는 것으로 알려진 EDTA를 사용하여 혈장 샘플을 수집하였다.

도면

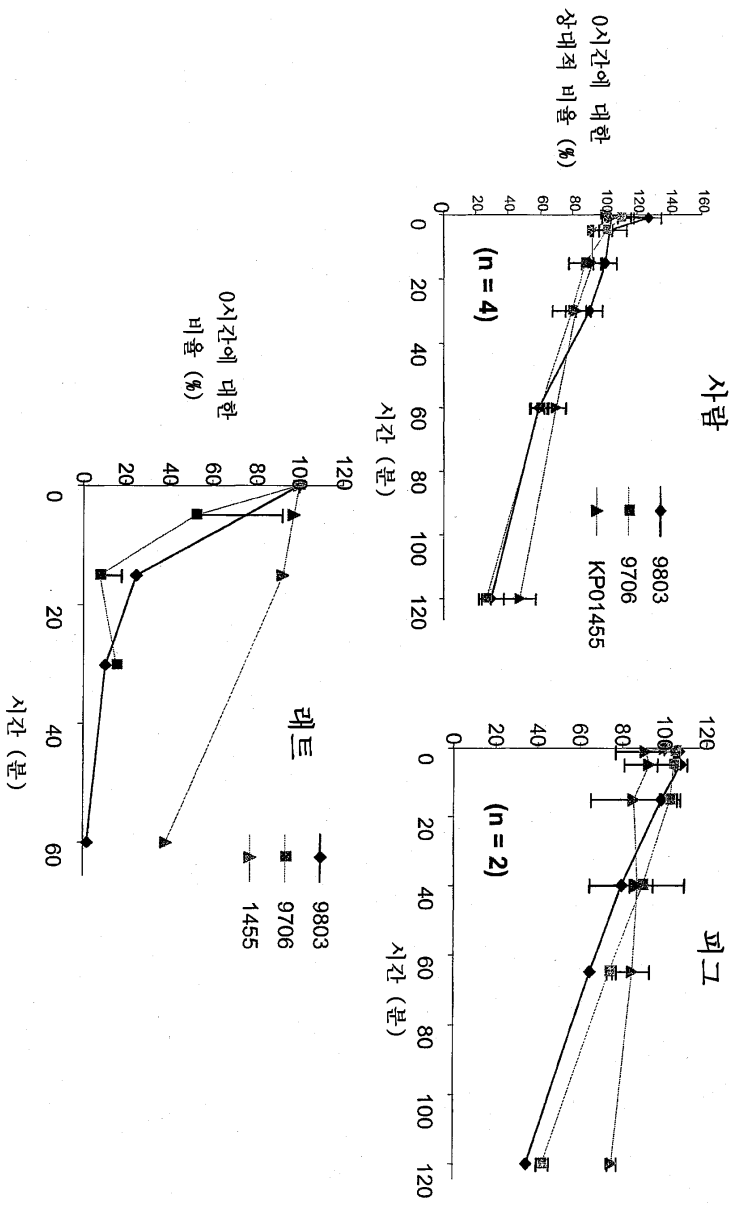
도면1



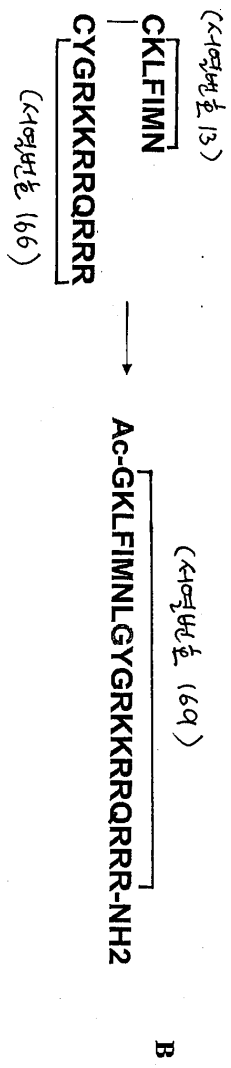
도면2



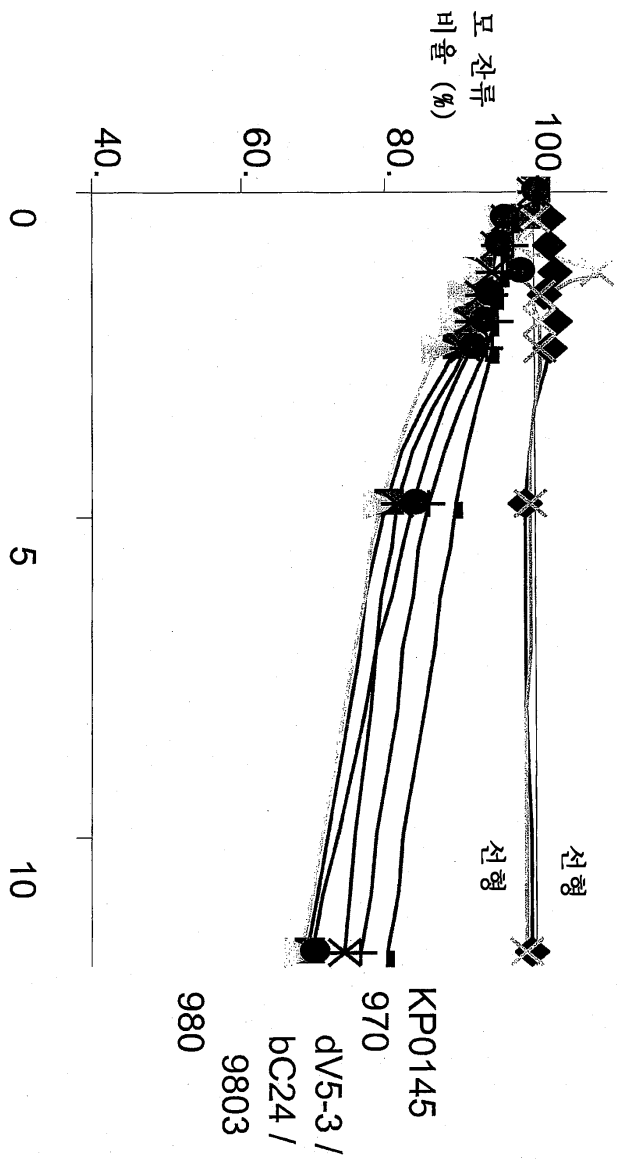
도면3



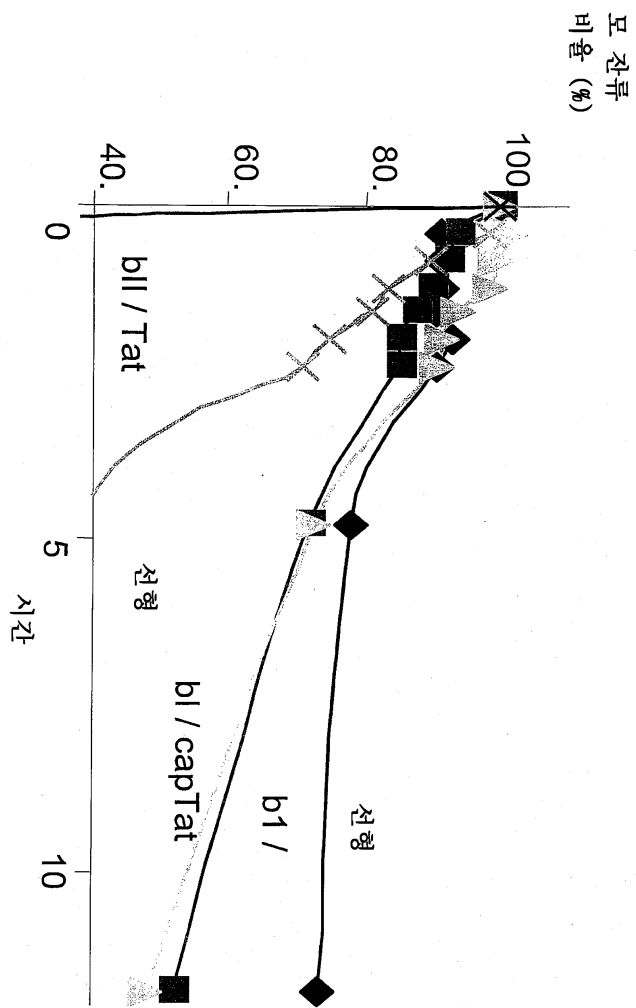
도면4



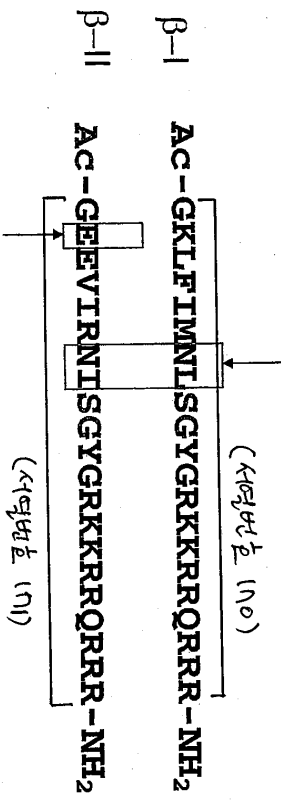
도면5

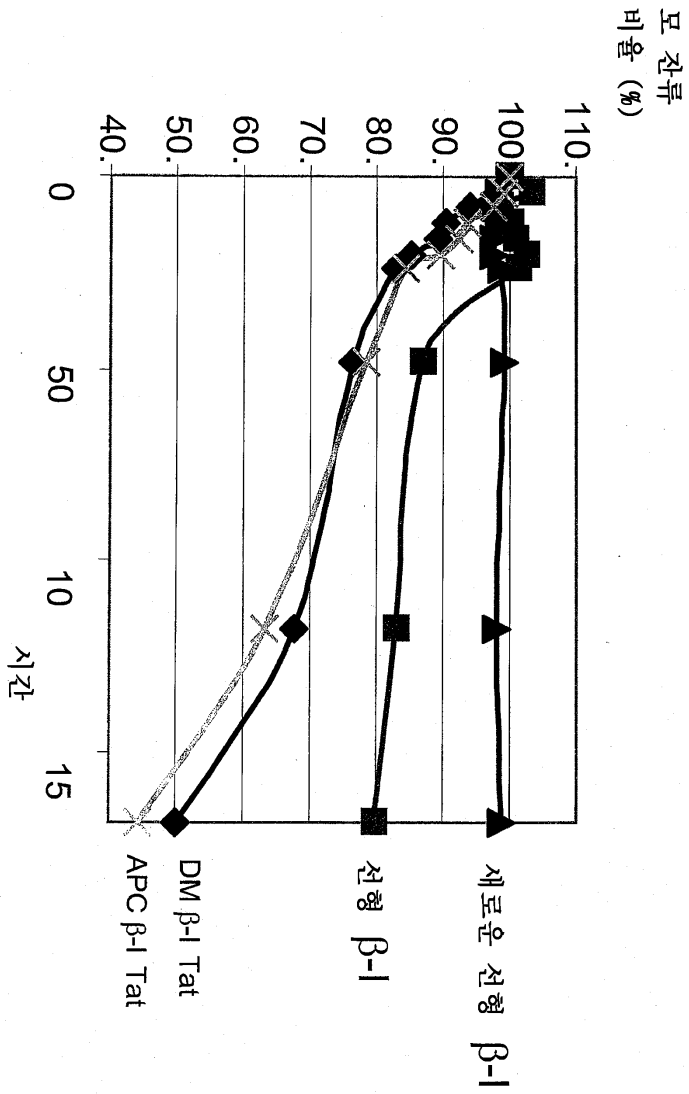


도면6



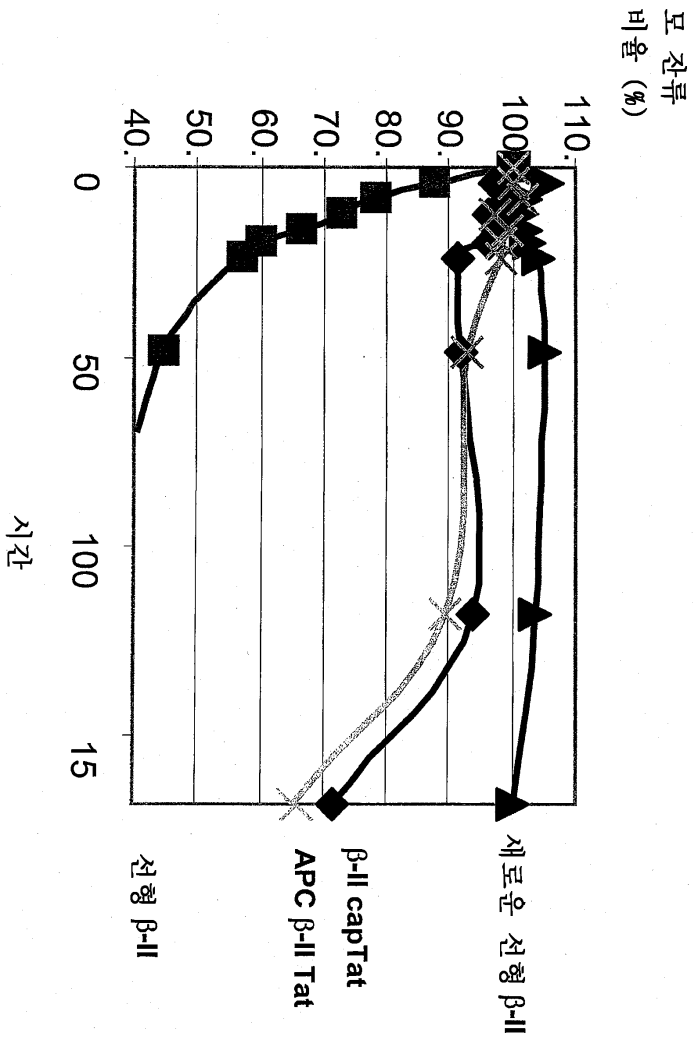
도면7



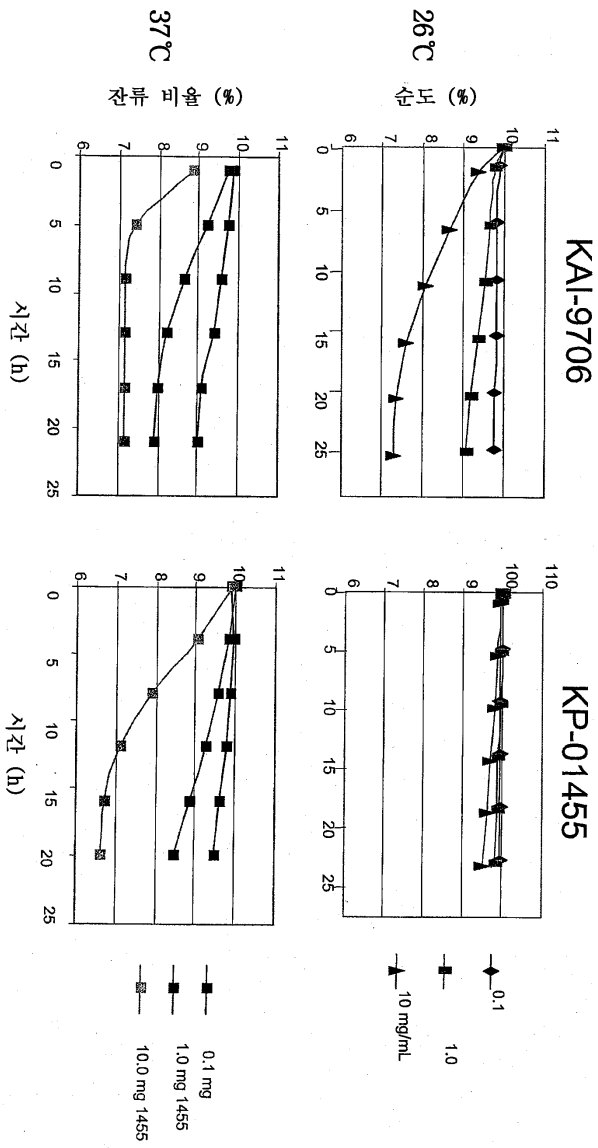


도면8

도면9

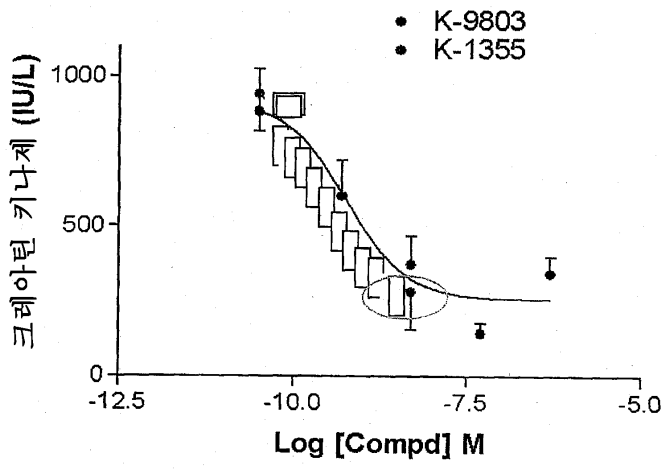


도면10

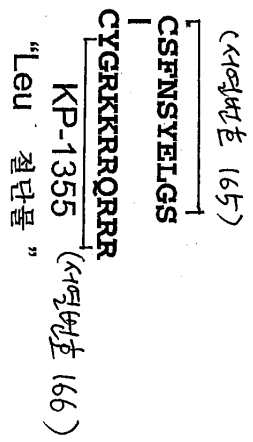
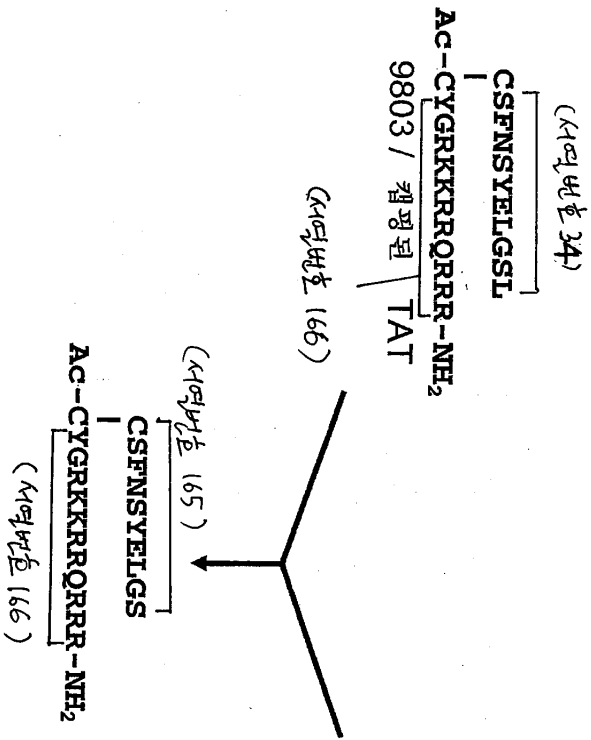


도면11

랑겐도르프 : 시험관내
 허혈후, 10분 관류

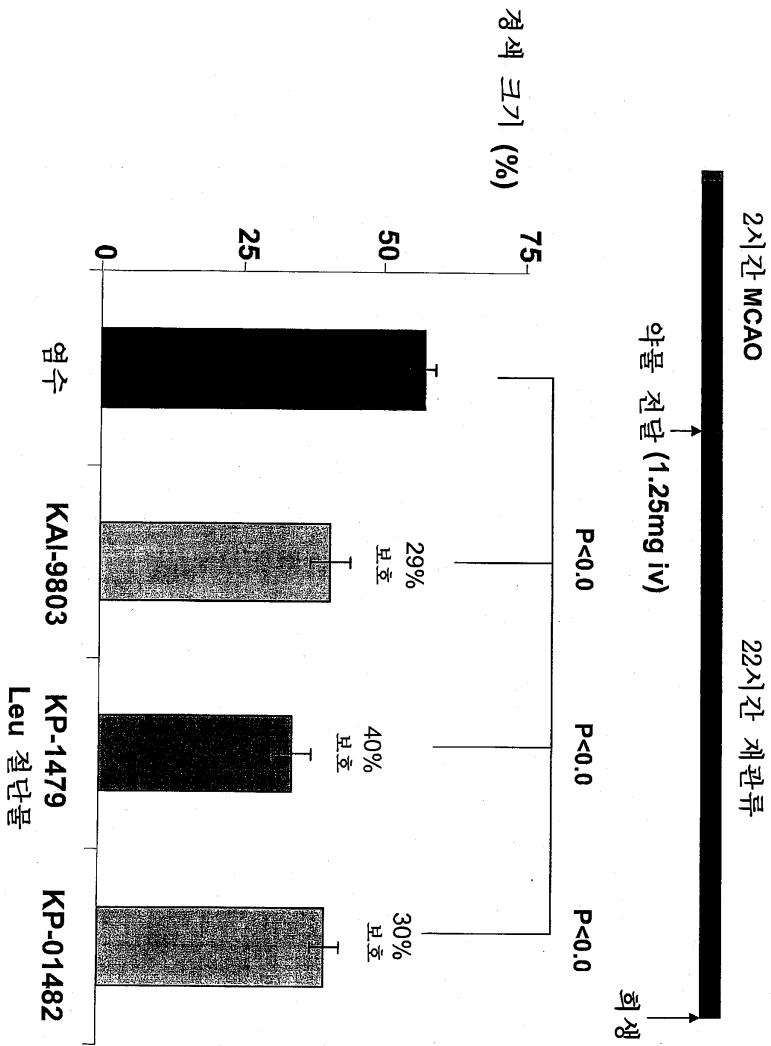


도면12

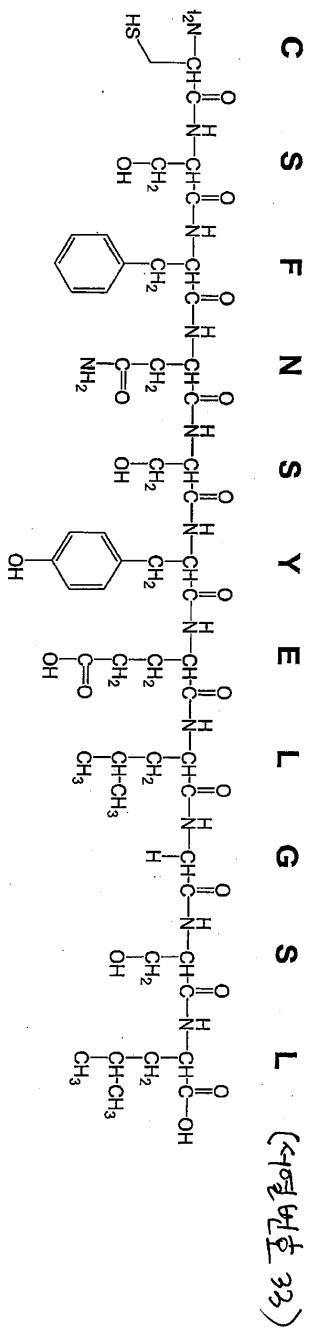


KP-1479

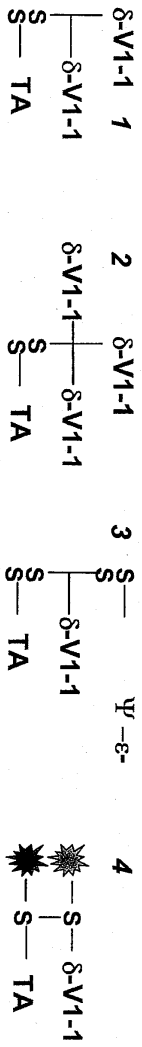
도면13



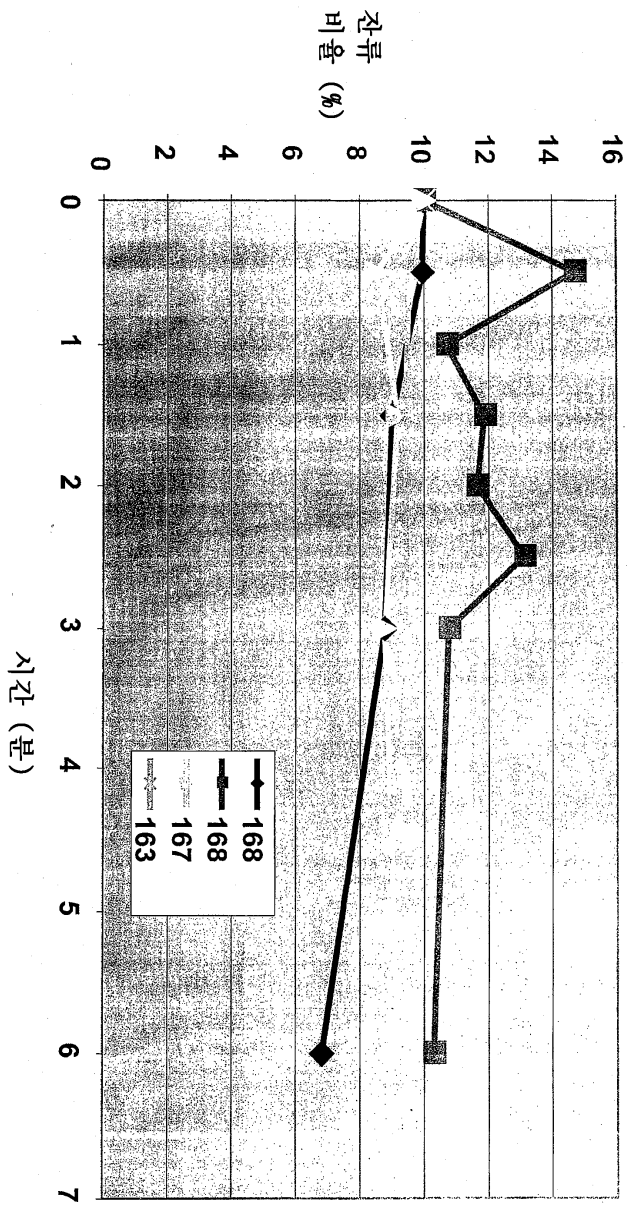
도면14



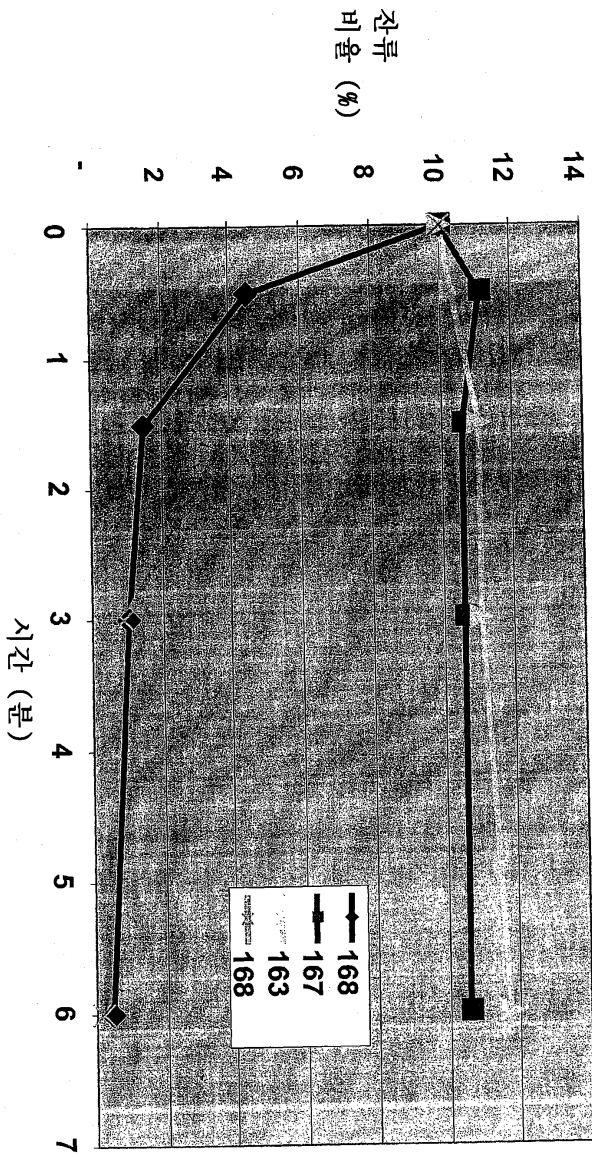
도면15



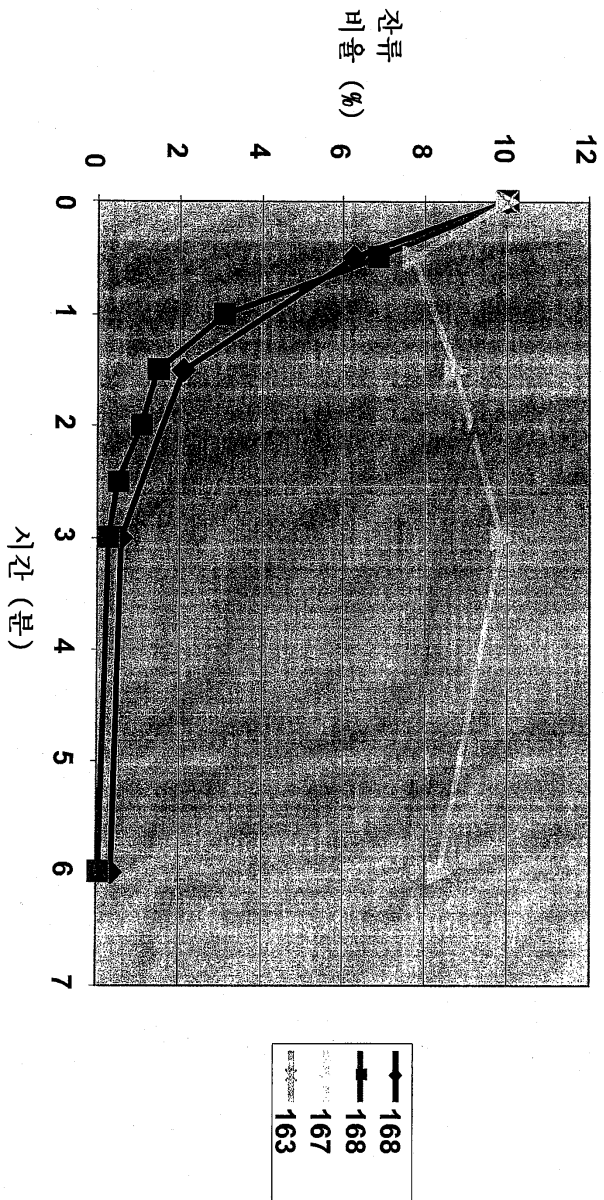
도면17a



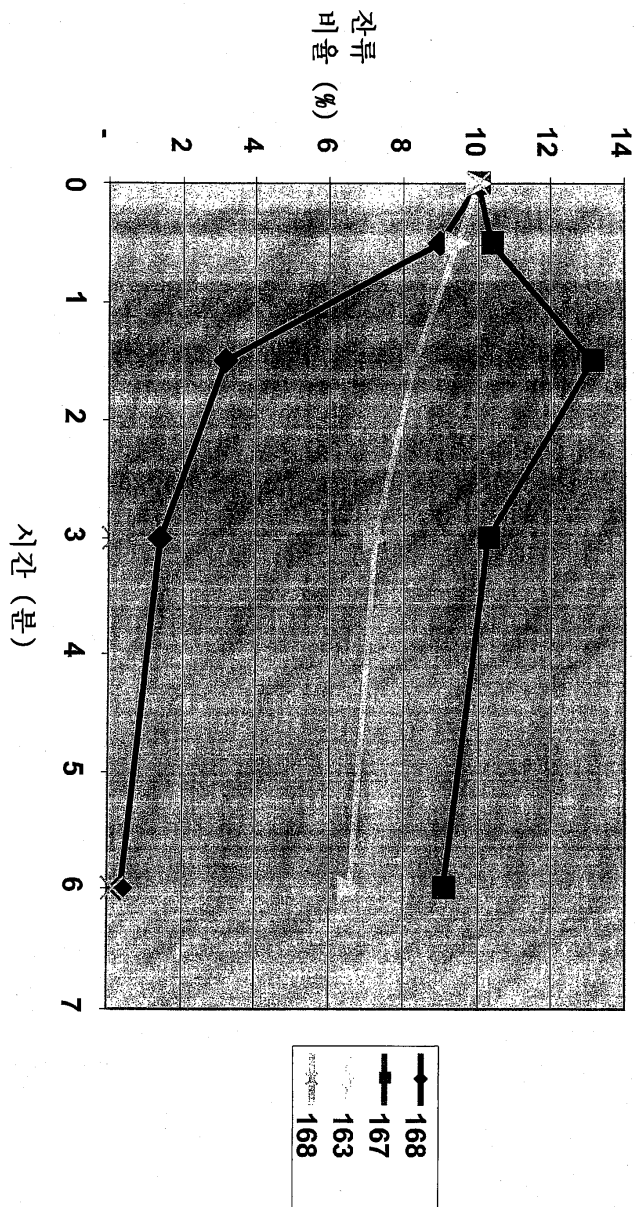
도면17b



도면17c



도면17d



서열목록

- <110> KAI Pharmaceuticals, Inc.
- <120> Modifications of peptide compositions to increase stability and delivery efficiency
- <130> 578422001544
- <150> US 60/881,419
- <151> 2007-01-19
- <150> US 60/945,285
- <151> 2007-06-20
- <160> 171

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 1

Cys Glu Leu Gly Ser Leu Gln Ala Glu Asp Asp

1 5 10

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 2

Ile Pro Glu Gly Asp Glu Glu Gly

1 5

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 3

Gln Leu Val Ile Ala Asn

1 5

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 4

Gly Leu Gly Ala Glu Asn

1 5

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 5

Ala Arg Gly Ala Glu Asn

1 5

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222

> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 6

Cys Gly Lys Gly Ala Glu Asn

1 5

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 7

Cys Gly Lys Gly Ala Glu Asn

1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 8

Lys Gln Lys Thr Lys Thr Ile Lys

1 5
 <210> 9
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(13)
 <223> Cargo peptide
 <400> 9

Met Asp Pro Asn Gly Leu Ser Asp Pro Tyr Val Lys Leu

1 5 10
 <210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(7)
 <223> Cargo peptide
 <400> 10

Ile Pro Asp Pro Lys Ser Glu

1 5
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(9)
 <223> Cargo peptide
 <400> 11
 Ser Leu Asn Pro Glu Trp Asn Glu Thr
 1 5

<210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(8)
 <223> Cargo peptide
 <400> 12
 Val Pro Pro Glu Gly Ser Glu Ala
 1 5

<210> 13
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(6)
 <223> Cargo peptide
 <400> 13
 Lys Leu Phe Ile Met Asn
 1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 14

Arg Asp Lys Arg Asp Thr Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 15

Cys Ala Arg Asp Lys Arg Asp Thr Ser

1 5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 16

Gly Arg Asp Lys Arg Asp Thr Ser

1 5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 17

Ala Arg Asp Lys Arg Asp Thr Ser

1 5

<210> 18

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(12)

<223> Cargo peptide

<400> 18

Ala Arg Asp Lys Arg Asp Thr Ser Asn Phe Asp Lys

1 5 10

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(14)

<223> Cargo peptide

<400> 19

Ala Gly Phe Ser Tyr Thr Asn Pro Glu Phe Val Ile Asn Val

1 5 10

<210> 20

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 20

Gln Glu Val Ile Arg Asn

1 5

<210> 21

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 21

Cys Gly Arg Asn Ala Glu

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 22

Ala Cys Gly Arg Asn Ala Glu

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 23

Ala Cys Gly Lys Asn Ala Glu

1 5

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 24

Lys Ala Cys Gly Arg Asn Ala Glu

1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 25

Cys Gly Arg Asn Ala Glu Asn

1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 26

Ala Cys Gly Arg Asn Ala Glu

1 5

<210> 27

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(14)

<223> Cargo peptide

<400> 27

Ser Phe Val Asn Ser Glu Phe Leu Lys Pro Glu Val Leu Ser

1

5

10

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 28

Val Ala Asp Ala Asp Asn Cys Ser

1

5

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 29

Gly Arg Ser Gly Glu Asn

1 5

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 30

Gly Leu Ser Gly Glu Asn

1 5

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 31

Arg Leu Val Leu Ala Ser

1 5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 32

Pro Cys Gly Arg Ser Gly Glu Asn

1 5

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 33

Cys Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222>

> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 34

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 35

Thr Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 36

Ala Phe Asn Ser Asn Tyr Glu Leu Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 37
 Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Thr Leu
 1 5 10

<210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>

<221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 38
 Ser Thr Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Leu
 1 5 10

<210> 39
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>

<221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 39
 Ser Phe Asn Ser Phe Glu Leu Gly Ser Leu
 1 5 10

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 40

Ser Asn Ser Tyr Asp Leu Gly Ser Leu

1 5

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 41

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Pro Ser Leu

1 5 10

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 42
 Thr Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Thr Leu
 1 5 10
 <210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 43
 Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Ile Gly Ser Val
 1 5 10
 <210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 >
 <221> DOMAIN
 <222> (1)...(10)
 <223> Cargo peptide
 <400> 44
 Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Val Gly Ser Ile
 1 5 10
 <210> 45
 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 45

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Val

1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 46

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Ile

1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 47

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Ile Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 48

Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Val Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 49

Ala Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 50

Tyr Asp Leu Gly Ser Leu

1 5

<210> 51

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 51

Phe Asp Leu Gly Ser Leu

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 52

Tyr Asp Ile Gly Ser Leu

1 5
<210> 53
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(6)
<223> Cargo peptide
<400> 53

Tyr Asp Val Gly Ser Leu

1 5
<210> 54
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(6)
<223> Cargo peptide
<400> 54

Tyr Asp Leu Pro Ser Leu

1 5

<210> 55
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 55

Tyr Asp Leu Gly Leu Leu

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 56

Tyr Asp Leu Gly Ser Ile

1 5

<210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 57

Tyr Asp Leu Gly Ser Val

1 5

<210> 58

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 58

Ile Gly Ser Leu

1

<210> 59

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 59

Val Gly Ser Leu

1

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 60

Leu Pro Ser Leu

1

<210> 61

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 61

Leu Gly Leu Leu

1

<210> 62

<211> 4

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 62

Leu Gly Ser Ile

1

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(4)

<223> Cargo peptide

<400> 63

Leu Gly Ser Val

1

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 64

Ala Leu Ser Thr Glu Arg Gly Lys Thr Leu Val

1

5

10

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 65

Ala Leu Ser Thr Asp Arg Gly Lys Thr Leu Val

1

5

10

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<

220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 66

Ala Leu Thr Ser Asp Arg Gly Lys Thr Leu Val

1 5 10

<210> 67

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<400> 67

Ala Leu Thr Thr Asp Arg Gly Lys Ser Leu Val

1 5 10

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 68

Ala Leu Thr Thr Asp Arg Pro Lys Thr Leu Val

1 5 10

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 69

Ala Leu Thr Thr Asp Arg Gly Arg Thr Leu Val

1 5 10

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 70

Ala Leu Thr Thr Asp Lys Gly Lys Thr Leu Val

1 5 10

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 71

Ala Leu Thr Thr Asp Lys Gly Lys Thr Leu Val

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<

220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 72

Val Leu Met Arg Ala Ala Glu Glu Pro Val

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 73

Gln Ser Met Arg Ser Glu Asp Glu Ala Lys

1 5 10

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 74

Gln Gly Phe Glu Lys Lys Thr Gly Val

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 75

Asp Asn Asn Gly Thr Tyr Gly Lys Ile

1 5

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221

> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 76

Lys Asn Leu Ile Asp Ser

1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 77

Val Lys Ser Pro Arg Asp Tyr Ser

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 78

Val Lys Ser Pro Cys Arg Asp Tyr Ser

1 5

<210> 79

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 79

Ile Lys Ser Pro Arg Leu Tyr Ser

1 5

<210> 80

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 80

Lys Asn Leu Ile Asp Ser

1 5

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 81

Pro Lys Val Lys Ser Pro Arg Asp Tyr Ser Asn

1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 82

Asn Gly Leu Leu Lys Ile Lys

1 5

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 83

Glu Ala Val Ser Leu Lys Pro Thr

1 5

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(11)
<223> Cargo peptide
<400> 84
Leu Ala Val Phe His Asp Ala Pro Ile Gly Tyr
1 5 10

<210>
> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(9)
<223> Cargo peptide
<400> 85

Asp Asp Phe Val Ala Asn Cys Thr Ile
1 5

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(10)
<223> Cargo peptide
<400> 86

Trp Ile Asp Leu Glu Pro Glu Gly Arg Val
1 5 10

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 87

His Ala Val Gly Pro Arg Pro Gln Thr Phe

1 5 10

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 88

Asn Gly Ser Arg His Phe Glu Asp

1 5

<210> 89

<211> 8

<

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 89

His Asp Ala Pro Ile Gly Tyr Asp

1 5

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 90

His Asp Ala Pro Ile Gly

1 5

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 91

His Asp Ala Ala Ile Gly Tyr Asp

1 5

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 92

His Asp Ala Pro Ile Pro Tyr Asp

1 5

<210> 93

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<

220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 93

His Asn Ala Pro Ile Gly Tyr Asp

1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 94

His Ala Ala Pro Ile Gly Tyr Asp

1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 95

Ala Asp Ala Pro Ile Gly Tyr Asp

1 5

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 96

His Asp Ala Pro Ala Gly Tyr Asp

1 5

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 97

His Asp Ala Pro Ile Gly Ala Asp

1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 98

His Asp Ala Pro Ile Ala Tyr Asp

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 99

His Asp Ala Pro Ile Gly Tyr Ala

1 5
<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(9)
<223> Cargo peptide
<400> 100
Ser Ser Pro Ser Glu Glu Asp Arg Ser

1 5
<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(8)
<223> Cargo peptide
<400> 101
Pro Cys Asp Gln Glu Ile Lys Glu

1 5
<210> 102
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 102

Glu Asn Asn Ile Arg Lys Ala Leu Ser

1 5

<210> 103

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 103

Gly Glu Val Arg Gln Gly Gln Ala

1 5

<210> 104

<211>

6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 104

Glu Ala Ile Val Lys Gln

1 5

<210> 105

<211> 7

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(7)
<223> Cargo peptide
<400> 105
Ile Lys Thr Lys Arg Asp Val
1 5
<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(7)
<223> Cargo peptide
<400> 106
Ile Lys Thr Lys Arg Leu Ile
1 5
<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(7)
<223> Cargo peptide

<400> 107

Cys Glu Ala Ile Val Lys Gln

1 5

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 108

Thr Lys Arg Asp Val Asn Asn Phe Asp Gln

1 5 10

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 109

Val Arg Leu Lys Ala His Tyr

1 5

<210> 110

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<

222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 110

Val Asp Ser Glu Gly Asp

1 5

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 111

Val Phe Pro Ser Ile Pro Glu Gln

1 5

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(15)

<223> Cargo peptide

<400> 112

Ser Gln Glu Pro Pro Val Asp Asp Lys Asn Glu Asp Ala Asp Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 113

Ile Lys Asp Asp Ser Glu Asp

1	5		
---	---	--	--

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 114

Pro Val Ile Asp Gly Met Asp Gly Ile

1	5		
---	---	--	--

<210> 115

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 115

Glu Asp Ala Ile Lys Arg

1 5

<210> 116

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(5)

<223> Cargo peptide

<400> 116

Glu Asp Ala Ile Arg

1 5

<210> 117

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 117

Ile Thr Asp Asp Tyr Gly Leu Asp

1 5

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 118

Ile Thr Asp Asp Tyr Gly Asp Leu

1 5

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 119

Asp Asp Tyr Gly Leu Asp Asn

1 5

<210> 120

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 120

Asn Gly Tyr Leu Arg Val Arg

1 5

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 121

Glu Ala Val Gly Leu Gln Pro Thr

1 5

<210> 122

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 122

Leu Ala Val Phe His Glu Thr Pro Leu Gly Tyr

1 5 10

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 123

Asp Phe Val Ala Asn Cys Thr Leu

1 5

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 124

Trp Val Asp Leu Glu Pro Glu Gly Lys Val

1 5 10

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 125

His Ser Leu Phe Lys Lys Gly His

1 5
<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(9)
<223> Cargo peptide
<400> 126
Thr Gly Ala Ser Asp Thr Phe Glu Gly

1 5
<210> 127
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> DOMAIN
<222> (1)...(6)
<223> Cargo peptide
<400> 127
Glu Gly His Leu Pro Met

1 5
<210> 128
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 128

Glu Gly His Asp Pro Met

1 5

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 129

Ile Lys Ser Arg Glu Asp Val Ser

1 5

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 130

Val Arg Ser Arg Glu Asp Val Ser

1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 131

Pro Arg Ile Lys Ser Arg Glu Asp Val

1 5

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 132

His Gln Val Arg Val Lys Ala Tyr Tyr Arg

1 5 10

<210> 133

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 133

Tyr Glu Leu Asn Lys Asp Ser Glu Leu Leu Ile

1 5 10

<210> 134

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(15)

<223> Cargo peptide

<400> 134

Met Asp Gln Ser Ser Met His Ser Asp His Ala Gln Thr Val Ile

1 5 10 15

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<

<400> 135

Leu Asp Gln Val Gly Glu Glu

1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 136

Glu Ala Met Asn Thr Arg Glu Ser Gly

1 5

<210> 137

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 137

Asp Asp Ile Val Arg Lys

1 5

<210> 138

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 138

Val Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe

1 5

<210> 139

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 139

Ile Arg Leu Cys Asp Phe Ala Phe

1 5

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 140

Gln Val Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe Ala

1 5 10

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 141

Met Ser Val Pro Pro Leu Leu Arg Pro

1 5

<210> 142

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 142

Lys Phe Pro Glu Cys Gly Phe Tyr Gly Leu Tyr

1 5 10

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 143

Asp Pro Asp Ala Asp Gln Glu Asp Ser

1 5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 144

Ser Lys Asp Thr Leu Arg Lys Arg His

1 5

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 145

Ile Thr Leu Phe Gln Asn Asp Thr Gly

1 5

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 146

Gly Ser Asn Ser His Lys Asp Ile Ser

1 5

<210> 147

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 147

Ser Asp Ser Pro Glu Ala

1 5

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 148

Gly Leu Ser Asn Phe Asp Cys Gly

1 5

<210> 149

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Cargo peptide

<400> 149

Tyr Val Glu Ser Glu Asn Gly Gln Met Tyr Ile

1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 150

Ile Val Lys Gly Lys Asn Val Asp Leu Ile

1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 151

Asp Met Asn Glu Phe Glu Thr Glu Gly Phe

1 5 10

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 152

Cys Ser Ile Lys Asn Glu Ala Arg Leu

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 153

Gly Lys Arg Glu Pro Gln Gly Ile Ser

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 154

Asp Glu Val Asp Lys Met Cys His Leu

1 5

<210> 155

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 155

Arg Ala Leu Ile Asn Ser

1 5

<210> 156

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 156

Val Lys Ser Pro Phe Asp Cys Ser

1 5

<210> 157

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 157

Val Arg Ser Pro Phe Asp Cys Ser

1 5

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 158

Asp Arg Ala Leu Ile Asn Ser

1 5

<210> 159

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 159

Ile Ser Gly Glu Phe Gly Leu Asp

1 5

<210> 160

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(8)

<223> Cargo peptide

<400> 160

Cys Ser Gly Glu Phe Gly Leu Asp

1 5

<210> 161

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(7)

<223> Cargo peptide

<400> 161

Asp Asp Asp Ile Val Arg Lys

1 5

<210> 162

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(6)

<223> Cargo peptide

<400> 162

Asp Asp Ile Val Arg Lys

1 5

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(9)

<223> Cargo peptide

<400> 163

Ala Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser

1 5

<210> 164

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(12)

<223> Carrier peptide

<400> 164

Cys Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 165

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(10)

<223> Cargo peptide

<400> 165

Cys Ser Phe Asn Ser Tyr Glu Leu Gly Ser

1 5 10

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(11)

<223> Carrier peptide

<400> 166

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 167

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

1 5 10 15
 Gln Arg Arg Arg

20

<210> 170

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(21)

<223> Linear peptide

<400> 170

Gly Lys Leu Phe Ile Met Asn Leu Ser Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg

1 5 10 15

Arg Gln Arg Arg Arg

20

<210> 171

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)...(21)

<223> Linear peptide

<400> 171

Gly Glu Glu Val Ile Arg Asn Ile Ser Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg

1 5 10 15

Arg Gln Arg Arg Arg

20