



등록특허 10-2556485



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년07월17일
(11) 등록번호 10-2556485
(24) 등록일자 2023년07월12일

- (51) 국제특허분류 (Int. Cl.)
C07K 14/47 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01) *A61K 47/50* (2017.01)
C07K 14/74 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/4713 (2013.01)
A61K 39/0008 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7012944
- (22) 출원일자(국제) 2015년10월16일
 심사청구일자 2020년08월26일
- (85) 번역문제출일자 2017년05월12일
- (65) 공개번호 10-2017-0069266
- (43) 공개일자 2017년06월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2015/074063
- (87) 국제공개번호 WO 2016/059236
 국제공개일자 2016년04월21일
- (30) 우선권주장
 1418433.7 2014년10월17일 영국(GB)
- (56) 선행기술조사문현
 WO2008017517 A1
 WO2013113076 A1

(73) 특허권자
 임시스 에스에이
 벨기에 4031 리에주 애비뉴 프래-아일리 14

(72) 발명자
 생-레미 장-마리
 벨기에 베-1390 그레-도이세우 뤼 두 람바이스 79
 카를리에 빙상
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인
 특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 40 항

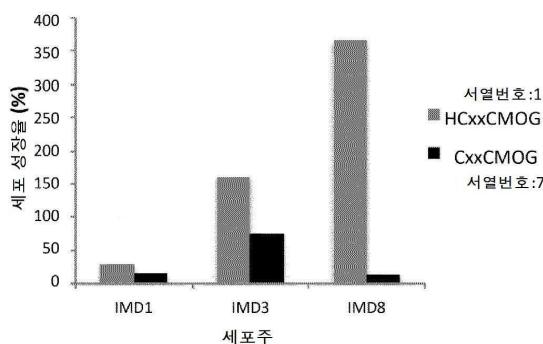
심사관 : 김종호

(54) 발명의 명칭 신규 면역원성 웨პ티드

(57) 요 약

본 발명은 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프에 바로 인접하여 또는 분리되어 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H 산화환원 모티프를 포함하는 단리된 면역원성 웨პ티드에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/385 (2013.01)

A61K 47/646 (2017.08)

C07K 14/70539 (2013.01)

A61K 2039/572 (2013.01)

A61K 2039/6031 (2013.01)

A61K 2039/64 (2013.01)

(72) 발명자

판더 엘스트 루크

벨기에 베-6230 오바익스 뤼 두 빌라지 48

버크하트 레이비드

미국 59875 엠티 빅터 시프멘 크리크 알디 307

명세서

청구범위

청구항 1

항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프와, 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되었거나 이에 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열 번호 78], [서열 번호 90] 또는 [서열 번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열 번호 79], [서열 번호 92] 또는 [서열 번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하는, 약제로 사용하기 위한 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 단리된 면역원성 웨티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항원은 상기 에피토프의 10개의 아미노산 거리 내에 상기 모티프를 그 서열에 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항원은 그 서열에 상기 모티프를 함유하지 않는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 4

제1항에 있어서, 모티프는 H-X-C-X(2)-[CST] [서열번호 90] 또는 [CST]-X(2)-C-X-H [서열번호 92] 산화환원 모티프 서열인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 5

제1항에 있어서, 모티프는 H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78] 또는 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79] 산화환원 모티프 서열인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 6

제1항에 있어서, 모티프는 H-X(0,2)-C-X(2)-C ([서열번호 80], [서열번호 96] 또는 [서열번호 97]), 또는 C-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 83], [서열번호 94] 또는 [서열번호 95])인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 7

제1항에 있어서, 모티프는 H-C-X(2)-C [서열번호 80] 또는 C-X(2)-C-H [서열번호 83]인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 웨티드는 13 내지 75개의 아미노산 길이를 갖는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 웨티드는 13 내지 50개의 아미노산 길이를 갖는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 웨티드는 13 내지 30개의 아미노산 길이를 갖는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 11

제1항에 있어서, MHC 클래스 II T 세포 에피토프는 최대 4개 아미노산의 서열에 의해 상기 모티프로부터 분리되는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 12

제1항에 있어서, MHC 클래스 II T 세포 에피토프는 2개의 아미노산 서열에 의해 상기 모티프로부터 분리되는 것

을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 13

제1항에 있어서, 산화환원 모티프 내의 X는 Gly 또는 Pro인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 다발성 경화증 (MS)의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 웨티드.

청구항 15

제14항에 있어서, 항원은 다발성 경화증과 관련된 자가-항원인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 16

제15항에 있어서, 자가-항원이 MOG인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 17

제14항에 있어서, 웨티드가 에피토프 서열 VVHLYRNGK [서열번호 3]을 포함하는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 18

제17항에 있어서, 웨티드가 서열 HCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 1], HxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 115], 또는 HxxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 116]를 가지는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 19

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 당뇨병의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 웨티드.

청구항 20

제19항에 있어서, 항원은 프로인슐린인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 21

항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프와, 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되었거나 이에 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78] 또는 [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93] 산화환원 모티프 서열을 포함하되, 상기 항원은 상기 에피토프의 10개의 아미노산 거리 내에 상기 모티프를 그의 서열에 포함하지 않는 것인, 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 단리된 면역원성 웨티드.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 항원은 그의 서열에 상기 모티프를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 23

제21항에 있어서, 모티프는 H-X-C-X(2)-[CST] [서열번호 90] 또는 [CST]-X(2)-C-X-H [서열번호 92] 산화환원 모티프 서열인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 24

제21항에 있어서, 모티프는 H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78] 또는 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79] 산화환원 모티프 서열인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 25

제21항에 있어서,

- 상기 모티프가 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91]인 경우, 모티프는 웨티드 내에서 T 세포

에피토프로부터 N 말단에 위치하고,

- 상기 모티프가 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93]인 경우, 모티프는 T 세포 에피토프로부터 C 말단에 위치하는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 26

제21항에 있어서, 모티프는 H-X(0,2)-C-X(2)-C ([서열번호 80], [서열번호 96] 또는 [서열번호 97]), 또는 C-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 83], [서열번호 94] 또는 [서열번호 95])인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 27

제21항에 있어서, 모티프는 H-C-X(2)-C [서열번호 80] 또는 C-X(2)-C-H [서열번호 83]인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 28

제21항에 있어서, 상기 모티프는 T 세포 에피토프로부터 N 말단에 위치하는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 29

제21항에 있어서, 13 내지 75개의 아미노산 길이를 가지는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 30

제29항에 있어서, 13 내지 50개의 아미노산 길이를 가지는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 31

제30항에 있어서, 13 내지 30개의 아미노산 길이를 가지는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 32

제21항에 있어서, MHC 클래스 II T 세포 에피토프가 최대 4개의 아미노산 서열에 의해 상기 모티프로부터 분리된 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 33

제21항에 있어서, MHC 클래스 II T 세포 에피토프가 2개의 아미노산 서열에 의해 상기 모티프로부터 분리된 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 34

제21항에 있어서, 산화환원 모티프 내 X는 Gly 또는 Pro인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 35

제21항에 있어서, 자가-항원이 MOG 또는 프로인슐린인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 36

제35항에 있어서, 에피토프 서열 VWHLYRNGK [서열번호 3]를 포함하는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 37

제35항에 있어서, 서열 HCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 1], HxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 115], 또는 HxxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 116]를 가지는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 38

제21항 내지 제37항 중 어느 한 항에 따른 펩티드를, 항원 특이적 CD4+ 세포용해성 T 세포의 생성을 위해 사용하는, 시험관 내 방법.

청구항 39

- 말초 혈액 세포를 제공하는 단계;
- 상기 세포를, 시험관 내에서 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되거나 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78], [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하는 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 면역원성 펩티드와 접촉시키는 단계; 및
상기 세포를 IL-2의 존재하에 확장하는 단계를 포함하는,
세포 항원에 대해 세포용해성인 CD4+ T 세포 집단을 수득하는 방법.

청구항 40

약제로서 사용하기 위한, 제39항의 방법으로 수득가능한 세포 집단.

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

본 발명은 면역원성 펩티드에 관한 것이다. 이 펩티드는 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포를 생성하기 위해 시험관 내 및 생체 내 시스템에서 사용된다. 이 펩티드와 이를 펩티드로 얻은 세포는 다발성 경화증과 같은 자가면역 질환을 비롯해 다양한 질환에 대한 약학적 활성 펩티드로서 사용된다.

배경 기술

[0002]

WO2008/017517호는 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프 및 산화환원 모티프 서열을 포함하는 신규 펩티드 클래스를 개시한다.

[0003]

산화환원 모티프 서열은 문헌[Fomenko *et al.* (2003) *Biochemistry* 42, 11214-11225]에서 검토되었다. 산화환원 모티프 서열의 상이한 대안은 C(X)2C [서열번호 71], C(X)2S [서열번호 72], C(X)2T [서열번호 73], S(X)2C [서열번호 74], 및 T(X)2C [서열번호 75]이다. 산화환원 모티프 서열에 관한 다른 선행 기술은 산화환원 모티프 서열 내 히스티딘의 관련성에 대해 논했다 [Kortemme *et al.* (1996) *Biochemistry* 35, 14503-14511].

[0004]

WO2008/017517호는 펩티드 내의 서로 근접한 T 세포 에피토프와 산화환원 모티프 서열의 조합이 전에는 인식되지 않은 특성을 제공한다고 설명한다. 즉, 이러한 펩티드는 펩티드에 존재하는 T 세포 에피토프를 포함하는 항원을 제시하는 항원 제시 세포를 특이적으로 사멸시키는 CD4+ 세포용해성 T 세포 집단을 유도할 수 있는 능력을 갖는다.

[0005]

따라서 이들 펩티드는 매우 초기 단계, 즉 항원 제시 수준에서 면역 반응을 차단하기 위해 사용될 수 있다. WO2008/017517호는 알레르기 및 면역 장애의 치료 및 예방에서 이들 펩티드의 의학적 사용을 입증한다. 발명의 개념은 나중에 [Carlier *et al.* (2012) *Plos one* 7, 10 e45366]에서 공개되었다. 다른 특허 출원은 그러한 펩티드가 종양, 이식 거부, 가용성 알로인자 (allofactor)에 대한 면역 반응, 바이러스 백터의 백본에 의해 코딩된 바이러스 단백질에 대한 면역 반응의 치료와 같이, 면역 반응을 피하는 다른 의학적 응용에 사용될 수 있음을

입증했다.

[0006] 상기 문헌들은 산화환원 모티프 서열의 유형 및 산화환원 모티프와 T 세포 에피토프 서열 사이의 간격에 대해 검토하였다. 웨티드에 개선된 특성을 제공할 수 있는 웨티드의 추가 결정 인자는 보고되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

발명의 요약

[0008] 도입부에서 언급한 4가지 아미노산 산화환원 모티프 서열의 다른 대안은 [CST]-X(2)-C [서열번호 76] 또는 C-X(2)-[CST] [서열번호 77]로서 또한 표현될 수 있다. 본 발명은 모티프 외부에 바로 인접한 추가의 히스티딘 아미노산 (모티프의 N 말단 (위치 -1) 또는 모티프의 C-말단 (위치 +5))의 존재가 산화환원 모티프의 안정성을 증가시킨다는 것을 밝혀내었다. 따라서, 본 발명은 일반적인 구조 또는 H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78] 또는 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79]를 갖는 변형된 산화환원 모티프에 관한 것이다.

[0009] 이러한 향상된 안정성으로 웨티드의 특이적 환원 활성이 증가하여, 예를 들어 추가 히스티딘이 존재하지 않는 웨티드와 비교하여 더 적은 웨티드가 사용될 수 있거나 주입 횟수가 감소될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 제1 측면은 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되거나 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78], [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하는, 약제로서 사용하기 위한 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 단리된 면역원성 웨티드에 관한 것이다.

[0011] 특정 구체예에서, 상기 항원은 상기 에피토프의 10개의 아미노산 거리 내에 상기 모티프를 그의 서열에 포함하지 않거나, 또는 상기 모티프를 그의 서열에 포함하지 않는다.

[0012] 특정 구체예에서, 모티프는 H-X-C-X(2)-[CST] [서열번호 90] 또는 [CST]-X(2)-C-X-H [서열번호 92] 산화환원 모티프 서열이거나, 또는 H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78] 또는 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79] 산화환원 모티프 서열이다.

[0013] 다른 구체예에서, 모티프는 H-X(0,2)-C-X(2)-C ([서열번호 80], [서열번호 96] 또는 [서열번호 97]), 또는 C-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 83], [서열번호 94] 또는 [서열번호 95])이다.

[0014] 또 다른 구체예에서, 모티프는 H-C-X(2)-C [서열번호 80] 또는 C-X(2)-C-H [서열번호 83]이다.

[0015] 특정 구체예에서, 웨티드는 13 내지 75개 아미노산, 13 내지 50개 아미노산, 또는 13 내지 30개 아미노산의 길이를 갖는다.

[0016] MHC 클래스 II T 세포 에피토프는 최대 4개의 아미노산 서열, 또는 2개의 아미노산 서열에 의해 상기 모체로부터 분리될 수 있다.

[0017] 특정 구체예에서, 산화환원 모티프 내 X는 Gly 또는 Pro이거나, 또는 산화환원 모티프 내 X는 Cys가 아니다.

[0018] 다른 특정 구체예에서, 산화환원 모티프 외부의 X는 Cys, Ser 또는 Thr가 아니다.

[0019] 웨티드는 다발성 경화증 (MS)의 예방 또는 치료에 사용될 수 있으며, 여기서 항원은 MOG와 같은 다발성 경화증과 관련된 자가 항원이다.

[0020] MS에 대한 웨티드의 특정 구체예는 에피토프 서열 VVHLYRNGK [서열번호 3], 예컨대 HCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 1], HxCPTYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 115], 또는 HxxCPTYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 116]을 포함한다.

[0021] 웨티드는 당뇨병의 예방 또는 치료에 사용될 수 있으며, 여기서 항원은 예를 들어 프로인슐린이다.

[0022] 또 다른 측면은 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되거나 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78] 또는 [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하

되, 상기 항원은 상기 에피토프의 10개 아미노산의 거리 내에 상기 모티프를 그의 서열에 포함하지 않는, 단리된 면역원성 웨티드에 관한 것이다. 특정 구체예에서, 항원은 그의 서열에 상기 모티프를 포함하지 않는다.

[0023] 모티프의 특정 구체예는 H-X-C-X(2)-[CST] [서열번호 90], [CST]-X(2)-C-X-H [서열번호 92], H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78] 또는 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79], X(0,2)-C-X(2)-C ([서열번호 80], [서열번호 96] [서열번호 97]), C-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 83], [서열번호 94] [서열번호 95]), H-C-X(2)-C [서열번호 80] 또는 C-X(2)-C-H [서열번호 83]이다.

[0024] 웨티드의 특정 구체예에서, 상기 모티프가 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91]이면, 모티프는 웨티드 내에서 T 세포 에피토프로부터 N 말단에 위치하고, 상기 모티프가 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93]이면, 모티프는 T 세포 에피토프로부터 C 말단에 위치한다.

[0025] 모티프는 T 세포 에피토프로부터 N 말단에 위치할 수 있다. 웨티드는 13 내지 75개 아미노산, 13 내지 50개 아미노산, 13 내지 30개 아미노산의 길이를 갖는다.

[0026] 특정 구체예에서, MHC 클래스 II T 세포 에피토프는 상기 모티프로부터 최대 4개의 아미노산 서열에 의해 분리되거나, 또는 상기 모티프로부터 2개의 아미노산 서열에 의해 분리된다.

[0027] 특정 구체예에서, 산화환원 모티프 내 X는 Gly 또는 Pro이거나, 또는 산화환원 모티프 내 X는 Cys가 아니다.

[0028] 특정 구체예에서, 산화환원 모티프 외부의 X는 Cys, Ser 또는 Thr가 아니다.

[0029] 특정 웨티드는 자가-항원 유래이고 MOG 또는 프로인슐린이다.

[0030] 특정 웨티드는 에피토프 서열 VVHLYRNGK [서열번호 3], 예컨대 HCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 1], HxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 115], 또는 HxxCPYCSRVVHLYRNGKD [서열번호 116]를 포함한다.

[0031] 또 다른 측면은 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되거나 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78], [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하는 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 면역원성 웨티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 치료 또는 예방 방법이다.

[0032] 본 발명의 또 다른 측면은 항원 특이적 CD4+ 세포용해성 T 세포를 생성하기 위한, 상술된 것의 시험관 내 용도에 관한 것이다.

[0033] 다른 측면은 말초 혈액 세포를 제공하는 단계; 상기 세포를, 시험관 내에서 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프, 및 상기 에피토프로부터 최대 7개의 아미노산에 의해 분리되거나 바로 인접하여 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] ([서열번호 78], [서열번호 90] 또는 [서열번호 91]) 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H ([서열번호 79], [서열번호 92] 또는 [서열번호 93]) 산화환원 모티프 서열을 포함하는 13 내지 100개의 아미노산으로 이루어진 면역원성 웨티드와 접촉시키는 단계; 및 상기 세포를 IL-2의 존재하에 확장하는 단계를 포함하는, 세포 항원에 대해 세포 용해성인 CD4+ T 세포 집단을 수득하는 방법에 관한 것이다.

[0034] 다른 측면은 약제로서 사용하기 위한, 상기 방법으로 수득가능한 세포 집단에 관한 것이다.

[0035] 또 다른 측면은 전술한 바와 같이 세포의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 치료 및 예방 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1: 추가 히스티딘 부재 (오른쪽 바) [서열 번호: 7] 및 존재 (왼쪽 바) [서열번호 1] 하의 MOG의 T 세포 에피토프 및 산화환원 모티프를 가진 웨티드에 대한 나이브 (naive) 인간 CD4 + T 세포주의 반응.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 상세한 설명

[0038] 정의

[0039] 본원에서 사용된 "웨티드"라는 용어는, 웨티드 결합에 의해 연결된 2 내지 200개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 포함하는 문자를 의미하지만, 이는 비-아미노산 구조도 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 웨티드는

통상의 20종의 아미노산 또는 그의 변형된 버전 중 임의의 것을 포함할 수 있거나, 화학적 웹티드 합성에 의해 또는 화학적 또는 효소적 변형에 의해 도입된 비-자연적으로 발생된 아미노산을 포함할 수 있다.

[0040] 본원에서 사용된 "항원"이라는 용어는, 거대분자, 전형적으로 (폴리사카라이드를 포함하거나 포함하지 않는) 단백질로 이루어지거나, 또는 하나 이상의 합텐(들)을 포함하고 T 세포 에피토프를 포함하는 단백질 조성물로 제조된 구조체를 의미한다.

[0041] 본원에서 사용된 "항원 단백질"이라는 용어는 하나 이상의 T 세포 에피토프를 포함하는 단백질을 의미한다. 본원에서 사용된 자가항원 또는 자가항원 단백질이란 동일 인간 또는 동물 체내에서 면역 반응을 유도하는, 체내에 존재하는 인간 또는 동물 단백질을 의미한다.

[0042] "식품 또는 약학 항원 단백질"이라는 용어는 식품 또는 약학 제품, 예컨대 백신에 자연적으로 존재하는 항원 단백질을 의미한다.

[0043] "에피토프"라는 용어는, 항체 또는 그의 일부 (Fab', Fab2' 등), 또는 B 또는 T 세포 림프구의 세포 표면에 존재하는 수용체에 의해 특이적으로 인식되고, 결합되며, 상기 결합에 의해 면역 반응을 유도할 수 있는, 항원 단백질의 (입체형태적 에피토프를 정의할 수 있는) 한 부분 또는 여러 부분을 의미한다.

[0044] 본 발명과 관련하여 "T 세포 에피토프"라는 용어는 우세, 준우세(sub-dominant) 또는 열세(minor) T 세포 에피토프, 즉, T 림프구의 세포 표면에서 수용체에 의해 특이적으로 인식되고 결합되는 항원 단백질의 일부를 의미한다. 에피토프가 우세 에피토프인지, 준우세 에피토프인지, 또는 열세 에피토프인지의 여부는 에피토프에 대해 유도되는 면역 반응에 의존한다. 우세 정도는 상기 에피토프가 단백질의 모든 가능한 T 세포 에티오프들 중에서 T 세포에 의해 인식되고, 그를 활성화시킬 수 있는 빈도에 의존한다.

[0045] T 세포 에피토프는 MHC II 분자의 그루브에 맞는(fit) +/- 9개의 아미노산 서열로 구성된, MHC 클래스 II 분자에 의해 인식된 에피토프이다. T 세포 에피토프를 나타내는 웹티드 서열 내에서 에피토프 중의 아미노산은 P1 내지 P9로 번호가 매겨지는데, 에피토프의 아미노산 N-말단은 P-1, P-2 등으로 번호가 매겨지고, 에피토프의 아미노산 C-말단은 P+1, P+2 등으로 번호가 매겨진다. MHC 클래스 II 분자에 의해 인식되지만 MHC 클래스 I 분자에 의해 인식되지 않는 웹티드는 MHC 클래스 II 제한 T 세포 에피토프로 지칭된다.

[0046] 용어 "MHC"는 "주요 조직적합성 항원"을 의미한다. 인간에서, MHC 유전자는 HLA ("인간 백혈구 항원") 유전자로 알려져 있다. 일관되게 따르는 관례는 없지만, 일부 문헌은 HLA 단백질 분자를 지칭하기 위해 HLA를 사용하고, MHC는 HLA 단백질을 코딩하는 유전자를 지칭하기 위해 사용된다. 이와 같이 "MHC" 및 "HLA"라는 용어는 본원에서 사용되는 경우 등가적이다. 인간의 HLA 시스템은 마우스, 즉 H2 시스템에 해당하는 시스템을 가지고 있다. 가장 심도있게 연구된 HLA 유전자는 다음 9개의 소위 고전적인 MHC 유전자이다: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLAs DQB1, HLA-DRA, 및 HLA-DRB1. 인간에서는 MHC가 클래스 I, II 및 III의 세 영역으로 구분된다. A, B 및 C 유전자는 MHC 클래스 I에 속하며, 6개의 D 유전자는 클래스 II에 속한다. MHC 클래스 I 유전자는 세포 표면에서 베타 2 마이크로글로불린과 결합하는 3개의 도메인 (알파 1, 2 및 3)을 포함하는 단일 다형체로 구성된다. 클래스 II 유전자는 2개의 다형체로 이루어져 있으며 각각 2개의 쇄 (알파 1과 2, 및 베타 1과 2)를 포함한다.

[0047] 클래스 I MHC 유전자는 실질적으로 모든 핵생성 세포에서 발현된다.

[0048] 클래스 I MHC 유전자는 관계하여 제시된 웹티드 단편은 CD8 + T 림프구 (세포용해성 T 림프구 또는 CTL)에 의해 인식된다. CD8 + T 림프구는 종종 자극 항원을 갖는 세포를 용해시킬 수 있는 세포용해 이펙터로 성숙한다. 클래스 II MHC 유전자는 주로 활성화된 림프구 및 항원 제시 세포에서 발현된다. CD4 + T 림프구 (헬퍼 T 림프구 또는 Th)는 대식세포 또는 수지상 세포와 같은 항원 제시 세포에서 통상 발견되는 클래스 II MHC 유전자에 의해 제시된 독특한 웹티드 단편의 인식으로 활성화된다. CD4 + T 림프구는 항체 매개 및 세포 매개 반응을 지지하는 IL-2, IFN-γ 및 IL-4와 같은 사이토카인을 증식 및 분비한다.

[0049] 기능성 HLA는 내인성 및 외래성, 잠재적으로 항원성 웹티드가 결합하는 깊은 결합 그루브를 특징으로 한다. 그루브는 잘 정의된 모양과 물리화학적 특성으로 추가 특정된다. 웹티드 말단이 그루브의 말단에 고정되어 있기 때문에 HLA 클래스 I 결합 부위는 단혀 있다. 그들은 또한 보존 HLA 잔기가 있는 수소 결합의 네트워크에 관여한다. 이러한 억제의 관점에서, 결합된 웹티드의 길이는 8-10 잔기로 제한된다. 그러나, 12개 까지의 아미노산 잔기의 웹티드가 또한 HLA 클래스 I에 결합할 수 있음이 입증되었다. 상이한 HLA 복합체의 구조 비교로 웹티드가 비교적 선형의 확장된 형태를 채택하는 일반적인 결합 방식이거나, 중앙 잔기가 그루브 밖으로 튀어나오게

포함할 수 있음을 확인하였다.

[0050] HLA 클래스 I 결합 부위와 달리, 클래스 II 부위는 양단이 개방되어 있다. 이것은 웨티드가 실제 결합 영역으로부터 확장되어 양쪽 단부에서 "유지되는 (hangin out)" 것을 허용한다. 따라서 클래스 II HLA는 9개에서 25개 초과의 아미노산 잔기에 이르는 가변 길이의 웨티드 리간드에 결합할 수 있다. HLA 클래스 I와 유사하게, 클래스 II 리간드의 친화성은 "불변" 및 "가변" 성분에 의해 결정된다. 불변 부분은 다시 HLA 클래스 II 그루브의 보존된 잔기와 결합된 웨티드의 주 쇄간에 형성된 수소 결합의 네트워크에 기인한다. 그러나, 이러한 수소 결합 패턴은 웨티드의 N- 및 C-말단 잔기에 국한되지 않고 전체 쇄에 분포된다. 후자는 복합화된 웨티드의 구조를 엄격하게 선형 결합 방식으로 제한하기 때문에 중요하다. 이것은 모든 클래스 II 알로타입에 공통적이다. 웨티드의 결합 친화성을 결정하는 제2 성분은 클래스 II 결합 부위 내 다형성의 특정 위치로 인해 가변적이다. 상이한 알로타입은 그루브 내에서 상이한 상보적 포켓을 형성함으로써, 웨티드의 아형 의존성 선택 또는 특이성을 설명 한다. 중요하게, 클래스 II 포켓 내에서 유지되는 아미노산 잔기에 대한 제약은 일반적으로 클래스 I에 대한 것보다 "약하다". 다른 HLA 클래스 II 알로타입 중에서 웨티드의 교차 반응이 훨씬 더 많다. MHC II 분자의 그루브에 들어 맞는 MHC 클래스 II T 세포 에피토프의 +/- 9 아미노산 서열은 일반적으로 P1 내지 P9로 번호가 매겨진다. 에피토프의 추가 아미노산 N-말단은 P-1, P-2 등으로 번호가 매겨지고, 에피토프의 아미노산 C 말단은 P+1, P+2 등으로 번호가 매겨진다.

[0051] 에피토프와 관련하여 본원에서 사용된 "상동체"라는 용어는 자연적으로 발생된 에피토프와 50% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 98% 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지며, 이로써 B 및/또는 T 세포의 세포 표면 수용체 또는 항체에 결합할 수 있는 에피토프의 능력을 유지하는 분자를 의미한다. 에피토프의 특정 상동체는 최대 3개, 더욱 특히, 최대 2개, 가장 특히 1개의 아미노산에서 변형된 천연 에피토프에 상응한다.

[0052] 웨티드와 관련하여 본원에서 사용된 "유도체"라는 용어는 적어도 웨티드 활성부 (즉, 세포용해 CD4+ T 세포 활성을 유도할 수 있는 부분)를 함유하고, 그 이외에도, 다른 목적을 가질 수 있는, 예컨대 웨티드를 안정화시키거나 또는 웨티드의 약동학적 또는 약력학적 특성을 변경시키고자 하는 목적을 가진 상보적인 부분을 포함하는 분자를 의미한다.

[0053] 본원에서 사용되는 두 서열의 용어 "서열 동일성"은 두 서열이 정렬될 때 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산을 갖는 위치의 수를 두 더 짧은 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 수로 나눈 것을 가리킨다. 특히, 서열 동일성은 70% 내지 80%, 81% 내지 85%, 86% 내지 90%, 91% 내지 95%, 96% 내지 100% 또는 100%이다.

[0054] 본원에 사용된 용어 "웨티드-코딩 폴리뉴클레오티드 (또는 핵산)" 및 "폴리뉴클레오티드 (또는 핵산) 코딩 웨티드"는 적절한 환경에서 발현될 때 관련 웨티드 서열 또는 그의 유도체 또는 상동체를 생성하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 이러한 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 웨티드를 코딩하는 정상 서열뿐만 아니라 요구되는 활성을 갖는 웨티드를 발현할 수 있는 이들 핵산의 유도체 및 단편을 포함한다. 본 발명에 따른 웨티드 또는 이의 단편을 코딩하는 핵산은 포유동물 유래 또는 포유동물에 상응하는 웨티드, 가장 특히 인간 웨티드 단편 또는 그 단편을 코딩하는 서열이다.

[0055] "면역 장애" 또는 "면역 질환"이라는 용어는 면역계의 반응이 유기체에서 기능장애 또는 비생리학적인 상황의 원인이 되거나, 또는 그를 지속시키는 질환을 의미한다. 그 중에서도 특히, 알레르기성 장애 및 자가면역 질환이 면역 질환에 포함된다.

[0056] 본원에서 사용된 "알레르기성 질환" 또는 "알레르기성 장애"라는 용어는 알레르겐 (예컨대, 꽃가루, 쏘임, 약물, 또는 식품)이라 불리는 특이 물질에 대한 면역계의 과민성 반응을 특징으로 하는 질환을 의미한다. 알레르기는 개인 아토피성 환자를 감작화시켰던 알레르겐이 상기 환자와 접하게 될 때에는 언제든지 관찰되는 징후 및 증상의 집합체(ensemble)로서, 이를 통해 각종 질환, 특히 호흡기 질환 및 증상, 예컨대 기관지 천식이 발병될 수 있는 것이다. 다양한 유형의 분류가 존재하며, 대개 알레르기성 장애는 그가 발생된 포유동물 모체의 위치에 따라 다른 명칭을 가진다. "과민성"은 개체가 감작화되었었던 항원에 노출되었을 때 개체에서 발생되는 바람직하지 못한 (손상성, 불쾌감 초래, 및 때때로 치명적인) 반응이다; "즉시형 과민증"은 IgE 항체 생성에 의존하고, 따라서, 알레르기와 등가이다.

[0057] "자가면역 질환" 또는 "자가면역 장애"라는 용어는 유기체가 (분자 수준 이하에 이르기까지의) 그 자신의 구성 성분을 "자가"인 것으로 인식하지 못함에 따라 발생되는 그 자신의 세포 및 조직에 대한 비정상적인 면역 반응으로부터 유발되는 질환을 의미한다. 상기 질환 군은 2개의 카테고리, 기관-특이적 질환 및 전신 질환으로 분류될 수 있다. "알레르겐"은 소인을 가진, 특히 유전적으로 소인을 가진 개인 (아토피) 환자에서 IgE 항체의 생성

을 유도하는 물질, 일반적으로 거대분자 또는 단백질성 조성물로 정의된다. 유사한 정의는 문헌 [Liebers et al., (1996) *Clin. Exp. Allergy* 26, 494-516]에 제시되어 있다.

[0058] "치료 유효량"이라는 용어는 환자에서 원하는 치료적 또는 예방적 효과를 일으키는 본 발명의 웨티드 또는 그의 유도체의 양을 의미한다. 이는 예를 들어, 질환 또는 장애와 관련하여, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상을 어느 정도 감소시키는 양, 및 더욱 특히, 질환 또는 장애와 관련되거나, 또는 그의 원인이 되는 생리학적 또는 생화학적 파라미터를 부분적으로 또는 완전하게 정상 수준으로 회복시키는 양이다. 전형적으로, 치료 유효량은 정상적인 생리학적 상황으로 개선 또는 회복될 수 있도록 하는 본 발명의 웨티드 또는 그의 유도체의 양이다. 예를 들어, 면역 장애를 앓는 포유동물을 치료학적으로 치료하는 데 사용될 때, 이는 포유동물 체중 1 kg당 1일 웨티드 양이다. 대안적으로, 투여가 유전자 요법을 통해 이루어지는 경우, 나 DNA 또는 바이러스 벡터의 양은 본 발명의 웨티드, 이의 유도체 또는 상동체의 관련 투여량의 국부적인 생성을 보장하도록 조정된다.

[0059] 본원에서 웨티드를 언급할 때, "천연"이라는 용어는 서열이 자연적으로 발생된 단백질 (야생형 또는 돌연변이)의 단편과 동일하다는 것과 관련된다. 상기와 달리, "인공"이라는 용어는 자연상에는 존재하지 않는 서열을 의미한다. 인공 서열은 자연 발생 서열 내 하나 이상의 아미노산을 변경/결실/삽입하거나, 자연 발생 서열의 아미노산 N- 또는 C-말단을 첨가/제거하는 것과 같은 제한된 변형에 의해 천연 서열로부터 얻어진다.

[0060] 이와 관련하여, 웨티드 단편은 전형적으로 에피토프 스캐닝 상황하에 항원으로부터 생성되는 것이 실현된다. 우연적으로, 그러한 웨티드는 그들의 서열 중에 MHC 클래스 II 에피토프를 포함할 수 있고 그에 근접해 변형된 산화환원 모티프 산화환원 모티프 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93]를 가지는 서열을 포함할 수 있다. 여기서 "근접성"은 MHC 클래스 II 에피토프 서열 사이 및 상기 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93] 모티프 사이에 최대 7개의 아미노산, 최대 4개의 아미노산, 최대 2개의 아미노산 또는 심지어 0개의 아미노산 (다시 말해 에피토프와 모티프 서열은 서로 인접해 있다)이 있을 수 있다.

[0061] 따라서, 본 발명의 특정 구체예는 MHC 클래스 T 세포 및 서로 바로 인접하거나 또는 2, 4 개 또는 7개 까지의 아미노산 서열에 의해 분리된 산화환원 모티프 서열을 우연적으로 포함하는 항원의 웨티드 단편은 배제한다.

[0062] 본 발명의 다른 구체예는 에피토프와 모티프 변형된 산화환원 모티프 사이의 간격에 관계없이, MHC 클래스 II T 세포 에피토프 및 산화환원 모티프 서열을 우연히 포함하는 항원의 웨티드 단편을 배제한다.

[0063] 항원의 웨티드 단편은 면역원성에 대해 연구되었지만 일반적으로 치료제로 사용되지는 않았다 (알레르기 및 종양 예방접종 분야는 제외). 따라서, 본 발명의 웨티드의 개선된 특성에 대한 지식을 가지고, 약제로서 이러한 웨티드를 사용한 전례는 없다.

[0064] 본원에서 아미노산은 그의 전체 명칭, 그의 3문자 약어 또는 그의 1문자 약어로 지칭된다.

[0065] 아미노산 서열의 모티프는 본원에서 Prosite 형식에 따라 기재되어 있다. 모티프는 서열의 특정 부분에서 특정 서열의 다양성을 설명하기 위해 사용된다. 기호 X는 임의의 아미노산이 허용되는 위치에 사용된다. 대괄호 ('[]') 사이에 주어진 위치에 허용되는 아미노산을 나열하여 표시하는 대안이 있다. 예를 들어, [CST]는 Cys, Ser 또는 Thr 중에서 선택된 아미노산을 나타낸다. 대안으로서 배제되는 아미노산은 중괄호 ('{}') 사이에 이들을 기입하여 표시한다. 예를 들어, {AM}은 Ala 및 Met을 제외한 임의의 아미노산을 나타낸다. 모티프의 다른 요소는 하이픈 -으로 서로 구분된다. 모티프 내의 동일한 요소의 반복은 해당 요소 뒤에 숫자 값 또는 팔호 사이에 숫자 범위를 배치하여 나타낼 수 있다. 예를 들어, X(2)는 X-X에 해당하고; X(2,5)는 2, 3, 4 또는 5개의 X 아미노산에 해당하고, A(3)은 A-A-A에 해당한다.

[0066] 따라서, H-C-X(2)-C [서열 번호 80]는 HCXXC [서열 번호 80]으로 기재될 수 있다.

[0067] 마찬가지로 C-X(2)-C-X(0,2)는 H와 C 사이에 존재하는 3가지 가능성을 나타내며, 즉, 0개, 1개 또는 2개의 아미노산이 존재함을 나타낸다; 즉 CXXCH [서열번호 83], CXXCXH [서열번호 94] 및 CXXCXXH [서열번호 95].

[0068] 마찬가지로 H-X(0,2)-C-X(2)-C는 H와 C 사이에 존재하는 3가지 가능성을 나타내며, 즉, 0개, 1개 또는 2개의 아미노산이 존재함을 나타낸다; HCXXC [서열번호 80], HXXCXXC [서열번호 96] 및 HXXXCXXC [서열번호 97].

[0069] 아미노산 X를 구별하기 위해, H와 C 사이의 것은 외부 아미노산 X (위의 서열에서 하나의 밑줄이 쳐짐)로 칭하고, 산화환원 모티프 내의 것은 내부 아미노산 X (위의 서열에서 이중 밑줄이 쳐짐)로 칭한다.

[0070] X는 임의의 아미노산, 특히 L-아미노산, 더욱 특히 20개 천연 L-아미노산 중 하나를 나타낸다.

- [0071] 환원 활성을 갖는, T 세포 에피토프 및 변형된 웨티드 모체 서열을 포함하는 웨티드는 항원-제시 세포에 대한 항원 특이적 세포용해성 CD4 + T 세포 집단을 생성할 수 있다.
- [0072] 따라서, 가장 넓은 의미에서, 본 발명은 면역 반응을 유발할 잠재력을 갖는 항원 (자가 또는 비자가)의 적어도 하나의 T-세포 에피토프 및 웨티드 디설파이드 결합에 대해 환원 활성을 갖는 변형된 티오리덕타아제 서열 모티프를 포함하는 웨티드에 관한 것이다. T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프 서열은 웨티드에서 서로 인접하거나, 또는 선택적으로 하나 이상의 아미노산 (소위 링커 서열)에 의해 분리될 수 있다. 선택적으로, 웨티드는 추가로 엔도솜 표적 서열 및/또는 추가적인 "플랭킹 (flanking)" 서열을 포함한다.
- [0073] 본 발명의 웨티드는 면역 반응을 유발할 잠재력을 갖는 항원 (자가 또는 비 자기)의 MHC 클래스 II T-세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 포함한다. 웨티드 내 모티프 서열의 환원 활성을 예컨대 인슐린 용해도 분석에서 설프하이드릴기를 활원시키는 능력에 대해 분석될 수 있으며, 여기서, 인슐린의 용해도는 활원시에 또는 인슐린과 같은 형광표지된 기질로 변경된다. 이러한 분석의 일례는 본 출원의 실험 부문에서 보다 상세하게 기술된다.
- [0074] 변형된 산화환원 모티프는 T 세포 에피토프의 아미노 말단 측 또는 T 세포 에피토프의 카복시 말단에 위치할 수 있다.
- [0075] 환원 활성을 갖는 웨티드 단편은 글루타레독신 (glutaredoxin), 뉴클레오레독신 (nucleoredoxin), 티오레독신 (thioredoxin) 및 다른 티올/디설파이드 옥시도리덕타아제를 비롯한 소 디설파이드 환원 효소인 티오리덕타아제에서 발견된다 (Holmgren (2000) *Antioxid. Redox Signal.* **2**, 811-820; Jacquot *et al.* (2002) *Biochem. Pharm.* **64**, 1065-1069). 이들은 다기능성이며 유비쿼터스적이고 많은 원핵생물 및 진핵생물에서 발견된다. 이들은 보존된 활성 도메인 공통 서열 내에서 산화환원 활성 시스테인을 통해 단백질 (예컨대 효소) 상의 디설파이드 결합에 대해 환원 활성을 발휘한다: C-X(2)-C [서열번호 71], C-X(2)-S [서열번호 72], C-X(2)-T [서열번호 73], S-X(2)-C [서열번호 74], T-X(2)-C [서열번호 75] (Fomenko *et al.* (2003) *Biochemistry* **42**, 11214-11225; Fomenko *et al.* (2002) *Prot. Science* **11**, 2285-2296), 여기서 X는 임의의 아미노산을 나타낸다. 상기 도메인은 단백질 디설파이드 이성화 효소 (PDI) 및 포스포이노시티드 특이적 포스포리파아제 C와 같은 보다 큰 단백질에서도 발견된다.
- [0076] 예를 들어, 문헌 [Fomenko] 및 WO2008/017517로부터 공지된 4 아미노산 산화환원 모티프는 1 및/또는 4 위치에 시스테인을 포함하고; 따라서 모티프는 C-X(2)-[CST] [서열번호 77] 또는 [CST]-X(2)-C [서열번호 76]이다. 이러한 테트라웨티드 서열은 "모티프"로 지칭될 것이다. 웨티드 내의 모티프는 대안적인 C-X(2)-C [서열번호 71], S-X(2)-C [서열번호 74], T-X(2)-C [서열번호 75], C-X(2)-S [서열번호 72] 또는 C-X(2)-T [서열번호 73] 중 어느 것일 수 있다. 특히, 웨티드는 서열 모티프 C-X(2)-C [서열번호 71]을 함유한다.
- [0077] 본 발명의 웨티드의 "변형된" 산화환원 모티프는 바로 인접한 시스테인 및 모티프 외부에 히스티딘이 존재한다는 점에서 종래 기술과 다르다. 즉, 변형된 환원환원 모티프는 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93]로서 표시된다.
- [0078] 그의 구체예는 H-XX-C-X(2)-[CST] [서열번호 91], H-X-C-X(2)-[CST] [서열번호 90], H-C-X(2)-[CST] [서열번호 78], [CST]-X(2)-C-XX-H [서열번호 93] [CST]-X(2)-C-X-H [서열번호 92], 및 [CST]-X(2)-C-H [서열번호 79]이고,
- [0079] 보다 특정한 구체예는 다음과 같다:
- [0080] H-C-X(2)-S [서열번호 81],
- [0081] H-X-C-X(2)-S [서열번호 98],
- [0082] H-XX-C-X(2)-S [서열번호 99],
- [0083] H-C-X(2)-T [서열번호 82],
- [0084] H-X-C-X(2)-T [서열번호 100],
- [0085] H-XX-C-X(2)-T [서열번호 101],
- [0086] S-X(2)-C-H [서열번호 84],
- [0087] S-X(2)-C-X-H [서열번호 102],

- [0088] S-X(2)-CXX-H [서열번호 103],
- [0089] T-X(2)-C-H [서열번호 85],
- [0090] T-X(2)-C-X-H [서열번호 104],
- [0091] T-X(2)-C-XX-H [서열번호 105],
- [0092] C-X(2)-C-H [서열번호 83],
- [0093] C-X(2)-C-X-H [서열번호 94],
- [0094] C-X(2)-C-XX-H [서열번호 95],
- [0095] H-C-X(2)-C [서열번호 80],
- [0096] H-X-C-X(2)-C [서열번호 96],
- [0097] H-XX- C-X(2)-C [서열번호 97].
- [0098] 본 발명의 특정 구체예에서, H-C-X(2)-C-H [서열번호 86] 모티프를 갖는 웨티드는 본 발명의 범위에서 제외된다.
- [0099] 다른 특정 구체예는 HCHxC [서열번호 106] 또는 CxxHCH [서열번호 107]와 같이, 산화환원 모티프의 시스테인 아미노산이 2개의 히스티딘 서열에 의해 플랭킹된 웨티드이다.
- [0100] 이후에 상세히 설명하는 바와 같이, 본 발명의 웨티드는 비 천연 아미노산의 도입을 허용하는 화학적 합성에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 상기 언급된 산화환원 변형된 산화환원 모티프에서의 "C"는 시스테인 또는 티올기를 갖는 다른 아미노산, 예컨대 머캅토발린, 호모시스테인 또는 티올 작용기를 갖는 다른 천연 또는 비 천연 아미노산을 나타낸다. 환원 활성을 갖기 위해, 변형된 산화환원 모티프에 존재하는 시스테인은 시스틴 디설파이드 브릿지의 일부로서 발생하여서는 안된다. 그럼에도 불구하고, 변형된 산화환원 모티프는 생체 내에서 자유 티올기를 갖는 시스테인으로 전환되는 메틸화된 시스테인과 같은 변형된 시스테인을 포함할 수 있다. X는 S, C 또는 T를 포함한 20개의 천연 아미노산 중 어느 것일 수 있거나, 비 천연 아미노산일 수 있다. 특정 구체예에서, X는 Trp와 같은 별기 한 측쇄를 갖는 아미노산이 아니다. 추가의 특정 구체예에서, X는 시스테인이 아니다. 추가의 특정 구체예에서, 변형된 산화환원 모티프에서 적어도 하나의 X는 His이다. 다른 추가적인 특정 구체예에서, 변형된 산화환원 모티프에서 적어도 하나의 X는 Pro이다.
- [0101] 웨티드는 N 말단 NH₂ 기 또는 C 말단 COOH 기의 변형 (예를 들어, COOH가 CONH₂기로 변형)과 같이, 안정성 또는 용해도를 증가시키기 위한 변형을 추가로 포함할 수 있다.
- [0102] 변형된 산화환원 모티프를 포함하는 본 발명의 웨티드에서, 모티프는 에피토프가 MHC 그루브에 들어맞는 경우 모티프가 MHC 결합 그루브의 외부에 남아 있도록 위치한다. 변형된 산화환원 모티프는 웨티드 내의 에피토프 서열에 바로 인접하여 위치 [다시 말해, 모티프와 에피토프 사이에 0개의 아미노산으로 이루어진 링커 서열]에 위치하거나, 또는 7개 이하의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 포함하는 링커에 의해 T 세포 에피토프로부터 분리된다. 보다 구체적으로, 링커는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산을 포함한다. 특정 구체예는 에피토프 서열과 변형된 산화환원 모티프 서열 사이에 0, 1 또는 2개의 아미노산 링커를 갖는 웨티드이다. 대안적으로, 링커는 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. 변형된 산화환원 모티프 서열이 에피토프 서열에 인접한 웨티드에서, 이는 에피토프 서열과 비교하여 위치 P-4 내지 P-1 또는 P+1 내지 P+4로 표시된다. 웨티드 링커와는 별도로, 다른 유기 화합물이 웨티드의 부분을 서로 연결시키는 (예를 들어, T 세포 에피토프 서열에 변형된 산화환원 모티프 서열) 링커로서 사용될 수 있다.
- [0103] 본 발명의 웨티드는 T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 포함하는 서열의 N- 또는 C-말단적인 추가의 짧은 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 아미노산 서열은 일반적으로 본원에서 '플랭킹 서열'이라 칭한다. 플랭킹 서열은 에피토프와 엔도솜 표적 서열 사이 및/또는 변형된 산화환원 모티프와 엔도솜 표적 서열 사이에 위치할 수 있다. 엔도솜 표적화 서열을 포함하지 않는 특정 웨티드에서, 짧은 아미노산 서열은 웨티드 내에 N- 및/또는 C-말단적인 변형된 산화환원 모티프 및/또는 에피토프 서열을 제공할 수 있다. 특히, 플랭킹 서열은 1 내지 7개의 아미노산 서열, 특히 2개의 아미노산 서열이다.

- [0104] 변형된 산화환원 모티프는 에피토프로부터 N-말단에 위치할 수 있다.
- [0105] 변형된 산화환원 모티프가 하나의 시스테인을 함유하는 특정 구체예에서, 이 시스테인은 에피토프로부터 떨어진 위치에서 변형된 산화환원 모티프에 존재하며, 따라서 변형된 산화환원 모티프는 예를 들어 에피토프의 N-말단적인 H-C-X(2)-T [서열번호 82] 또는 H-C-X(2)-S [서열번호 81] 또는 에피토프의 C-말단적인 T-X(2)-C-H [서열번호 85] 또는 S-X(2)-C-H [서열번호 84]로서 발생할 수 있다.
- [0106] 본 발명의 특정 구체예에서, 하나의 에피토프 서열 및 변형된 산화환원 모티프 서열을 포함하는 웨티드가 제공된다. 추가의 특정 구체예에서, 변형된 산화환원 모티프는 웨티드에서 수회 (1, 2, 3, 4회 또는 심지어 그 이상), 예를 들어, 하나 이상의 아미노에 의해 서로 이격될 수 있는 변형된 산화환원 모티프의 반복체 또는 서로 인접한 반복체로서 존재할 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 변형된 산화환원 모티프는 T 세포 에피토프 서열의 N 및 C 말단 모두에 제공된다.
- [0107] 본 발명의 웨티드에 대해 예상되는 다른 변형은 T 세포 에피토프 서열의 반복을 포함하는 웨티드를 포함하며, 여기서 각 에피토프 서열은 변형된 산화환원 모티프가 선행되고/되거나 이어진다 (예를 들어, "변형된 산화환원 모티프-에피토프"의 반복체 또는 "변형된 산화환원 모티프-에피토프-변형된 산화환원 모티프"의 반복체). 여기서, 변형된 산화환원 모티프는 모두 동일한 서열을 가질 수 있지만, 반드시 그려해야 하는 것은 아니다. 자체로 변형된 산화환원 모티프를 가지는 에피토프를 포함하는 웨티드의 반복 서열은 또한 '에피토프' 및 '변형된 산화환원 모티프'를 모두 가지는 서열로 이어질 것이라는 점에 유의바란다. 이러한 웨티드에서, 제1 에피토프 서열 내의 변형된 산화환원 모티프는 제2 에피토프 서열 외부의 변형된 산화환원 모티프로서 기능한다.
- [0108] 전형적으로, 본 발명의 웨티드는 단 하나의 T 세포 에피토프만을 포함한다. 하기 기술된 바와 같이, 단백질 서열에서의 T 세포 에피토프는 기능 분석 및/또는 실리카 예측 분석에서 하나 이상으로 동정될 수 있다. T 세포 에피토프 서열의 아미노산은 MHC 단백질의 결합 그루브 내에서 그들의 위치에 따라 번호가 매겨진다. 웨티드 내에 존재하는 T-세포 에피토프는 8 내지 25 개의 아미노산, 보다 특히 8 내지 16개의 아미노산, 가장 특히 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개의 아미노산으로 구성된다.
- [0109] 보다 특별한 구체예에서, T 세포 에피토프는 9개의 아미노산 서열로 구성된다. 추가의 특정 구체예에서, T-세포 에피토프는 MHC-클래스 II 분자에 의해 T 세포에 제시되는 에피토프 [MHC 클래스 II 제한 T 세포 에피토프]이다. 전형적으로, T 세포 에피토프 서열은 MHC II 단백질의 틈새에 맞는 옥타웨티드 또는 보다 구체적으로 노나웨티드 서열을 지칭한다.
- [0110] 본 발명의 웨티드의 T 세포 에피토프는 단백질의 천연 에피토프 서열 중 어느 하나에 상응할 수 있거나, 그의 변형된 버전일 수 있으되, 단 변형된 T 세포 에피토프는 천연 T 세포 에피토프 서열과 유사한 MHC 틈새 내에서 결합하는 능력을 보유하여야 한다. 변형된 T 세포 에피토프는 천연 에피토프와 동일한 MHC 단백질에 대한 결합 친화력을 가질 수 있지만, 감소된 친화성을 가질 수도 있다. 특히, 변형된 웨티드의 결합 친화성은 원래의 웨티드보다 10배 이상 작지 않고, 특히 5배 이상 작지 않다. 본 발명의 웨티드는 단백질 복합체에 대해 안정화 효과를 갖는다. 따라서, 웨티드-MHC 복합체의 안정화 효과는 MHC 분자에 대한 변형된 에피토프의 낮은 친화성을 보상한다.
- [0111] 웨티드 내에 환원성 화합물 및 T 세포 에피토프를 포함하는 서열은 MHC 클래스 II 결정기 내에서 프로세싱 및 제시를 위해 후기 엔도솜으로의 웨티드의 흡수를 용이하게 하는 아미노산 서열 (또는 다른 유기 화합물)에 추가로 연결될 수 있다. 후기 엔도솜 표적화는 단백질의 세포질 꼬리에 존재하는 신호에 의해 매개되며, 디류신-기반 [DE]XXXL[LI] [서열번호 87] 또는 DXXLL [서열번호 88] 모티프, 티로신 기반 YXXΦ [서열번호 89] 모티프 또는 소위 산성 클러스터 모티프와 같은 잘 규명된 웨티드에 상응한다. 기호 Φ는 Phe, Tyr 및 Trp와 같은 별기한 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기를 나타낸다. 후기 엔도솜 표적화 서열은 MHC-클래스 II 분자에 의한 항원 유래 T-세포 에피토프의 프로세싱 및 효율적인 제시를 허용한다. 이러한 엔도솜 표적화 서열은 예를 들어, gp75 단백질 (Vijayasaradhi *et al.* (1995) *J. Cell. Biol.* **130**, 807-820), 인간 CD3 감마 단백질, HLA-BM 11 (Copier *et al.* (1996) *J. Immunol.* **157**, 1017-1027), DEC205 수용체의 세포질 꼬리 (Mahnke *et al.* (2000) *J. Cell Biol.* **151**, 673-683) 내에 함유된다. 엔도솜으로의 선별 신호로서 기능하는 웨티드의 다른 예는 [Bonifacio and Traub (2003) *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 395-447]의 리뷰편에 기재되었다. 대안적으로, 서열은 항원에 대한 T 세포 반응의 압도 없이 후기 엔도솜에서의 흡수를 용이하게 하는, 단백질로부터의 준우세 또는 열세 T 세포 에피토프의 것일 수 있다. 후기 엔도솜 표적화 서열은 효율적인 흡수 및 프로세싱을 위해 항원 유래 웨티드의 아미노 말단부 또는 카복시 말단부에 위치할 수 있으며, 또한 10개 이하의 아미노산으로 이루어진 웨티드 서열과 같은 프랭킹 서열을 통해 결합될 수 있다. 표적화 목적을 위한 열세 T 세포 에피토프를 사용하는

경우, 후자는 전형적으로 항원 유래 펩티드의 아미노 말단부에 위치한다.

[0112] 따라서, 본 발명은 항원 단백질의 펩티드 및 특이적 면역 반응을 유도하는데 그의 용도를 구상한다. 이들 펩티드는 그 서열 내에, 최대 10개, 바람직하게는 7개 이하의 아미노산에 의해 분리된 T 세포 에피토프 및 환원성 화합물을 포함하는 단백질 단편에 상응할 수 있다. 대안적으로, 대부분의 항원 단백질에 대해, 본 발명의 펩티드는 환원성 화합물, 보다 구체적으로는 본원에 기재된 바와 같은 환원성 변형 산화환원 모티프를 항원 단백질의 T 세포 에피토프 (그에 직접 인접하거나 또는 10개 이하, 보다 특히 7개 이하의 아미노산 링커를 가지는)에 N-말단 또는 C-말단으로 커플링함으로써 생성된다. 또한, 자연 발생 서열과 비교하여 단백질 및/또는 변형된 산화환원 모티프의 T 세포 에피토프 서열이 변형될 수 있고/있거나, 하나 이상의 플랭킹 서열 및/또는 표적화 서열이 도입 (또는 변형)될 수 있다. 따라서, 본 발명의 특징이 대상 항원 단백질의 서열 내에서 발견될 수 있는지의 여부에 따라, 본 발명의 펩티드는 '인공적' 또는 '자연적으로 존재하는' 서열을 포함할 수 있다.

[0113] 본 발명의 펩티드는 실질적으로 길이가 변할 수 있다. 펩티드의 길이는 13 또는 14개의 아미노산 (즉, 8 내지 9 개 아미노산의 에피토프, 그에 인접하여 히스티딘을 가지는 5개 아미노산의 변형된 산화환원 모티프로 이루어짐)에서부터 20, 25, 30, 40, 50, 75, 100 또는 200개 이하의 아미노산까지로 변할 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 40개 아미노산의 엔도솜 표적화 서열, 약 2개의 아미노산의 플랭킹 서열, 5개 아미노산의 본원에 기재된 모티프, 4개 아미노산의 링커 및 9개 아미노산의 T 세포 에피토프 펩티드를 포함할 수 있다.

[0114] 따라서, 특정 구체예에서, 완전한 펩티드는 13개 아미노산 내지 50개, 75개, 100개 또는 200개 까지의 아미노산으로 이루어진다. 더욱 특히, 환원성 화합물이 본원에 기재된 바와 같은 변형된 산화환원 모티프인 경우, 엔도솜 표적화 서열없이 링커에 의해 임의로 연결된 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 포함하는 (인공 또는 천연) 서열 (본원에서 '에피토프-변형된 산화환원 모티프' 서열로 칭해짐)의 길이가 중요하다. '에피토프-변형된 산화환원 모티프'는 특히 13, 14, 15, 16, 17, 18 또는 19개의 아미노산 길이를 갖는다. 이러한 13 또는 14 내지 19개의 아미노산으로 이루어진 펩티드는 임의로 크기가 덜 중요한 엔도솜 표적화 신호에 결합될 수 있다.

[0115] 상술한 바와 같이, 특정 구체예에서, 본 발명의 펩티드는 T 세포 에피토프 서열에 연결된 본원에 기재된 바와 같은 환원성 변형 산화환원 모티프를 포함한다.

[0116] 적은 수의 단백질 서열, 단백질 단편 또는 합성 펩티드는 우연적으로 변형된 산화환원 모티프 서열을 포함할 수 있다. 그러나 이들 단백질이 변형된 산화환원 서열에 근접하여 MHC 클래스 T 세포 에피토프를 포함할 가능성은 매우 낮다. 존재한다면, 그러한 펩티드는 아마도 중첩 펩티드 단편의 세트들이 합성되는 에피토프 스캐닝 실험을 통해서 알려졌을 것이다. 그러한 보고에서 관심 대상은 에피토프에게 있으며, 변형된 산화환원 모티프와 히스티딘의 관련성 및 의학 응용에서 그러한 펩티드의 관련성을 언급하지 않았다.

[0117] 따라서, 이러한 펩티드는 본 발명의 독창적인 개념과 무관한 우연히 밝혀진 것이다.

[0118] 추가의 특정 구체예에서, 본 발명의 펩티드는 그들의 천연 서열 내에 산화환원 특성을 갖는 아미노산 서열을 포함하지 않는 T 세포 에피토프를 포함하는 펩티드이다.

[0119] 그러나, 대안적인 구체예에서, T 세포 에피토프는 MHC 틈새에 에피토프의 결합을 보장하는 아미노산의 임의의 서열을 포함할 수 있다. 항원 단백질의 관심 에피토프가 그의 에피토프 서열 내에 본원에 기재된 바와 같은 변형된 산화환원 모티프를 포함하는 경우, 본 발명에 따른 면역원성 펩티드는 (틈새 내에 묻힌 에피토프 내에 존재하는 변형된 산화환원 모티프와 달리) 부착된 변형된 산화환원 모티프가 환원 활성을 보장할 수 있도록 본원에 기재된 바와 같은 변형된 산화환원 모티프의 서열 및/또는 에피토프 서열에 N-말단 또는 C-말단으로 커플링된 다른 환원성 서열을 포함한다.

[0120] 따라서, T 세포 에피토프 및 모티프는 서로 인접하거나 또는 서로 분리되어 중첩되지 않는다. "바로 인접한" 또는 "분리된"의 개념을 평가하기 위해, MHC 틈새에 맞는 8 또는 9개 아미노산 서열을 결정하고, 이 옥타펩티드 또는 노나펩티드와 변형된 산화환원 모티프 펜타펩티드 간의 거리를 결정한다.

[0121] 일반적으로, 본 발명의 펩티드는 천연의 것이 아니라 (따라서 그러한 단백질 단편이 없음), T 세포 에피토프 이외에, 본원에 기재된 바와 같은 변형된 산화환원 모티프를 함유함으로써 변형된 산화환원 모티프가 7개 이하, 가장 특히 4개 또는 2개 이하의 아미노산으로 이루어진 링커에 의해 T 세포 에피토프로부터 즉시 분리되는 인공 펩티드이다.

[0122] 본 발명에 따른 펩티드 (또는 이러한 펩티드를 포함하는 조성물)를 포유동물에 투여 (즉, 주사)하는 경우, 펩티드는 항원 유래 T 세포 에피토프를 인식하는 T 세포의 활성화를 유도하고, 표면 수용체의 환원을 통해 T 세포에

추가적인 신호를 제공하는 것으로 입증되었다. 이러한 준최적 활성화는 T 세포 에피토프를 제시하는 세포에 대해 세포용해 특성뿐만 아니라 방관 T 세포에 대한 억제 특성을 획득한 T 세포로 이어진다. 이러한 방식으로, 항원 유래 T 세포 에피토프 및 에피토프 외부에 변형된 산화환원 모티프를 함유하는 웨티드 또는 본 발명에 기재된 웨티드를 포함하는 조성물은 인간을 비롯한 포유동물의 직접 면역화에 사용될 수 있다. 이에 따라, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한, 본 발명의 웨티드 또는 그의 유도체를 제공한다. 따라서, 본 발명은 본 발명에 따른 하나 이상의 웨티드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다.

[0123] 본 발명은 소 웨티드로 면역화하여 세포용해 특성이 부여된 항원 특이적 T 세포를 유도할 수 있는 방법을 제공한다. (i) 항원으로부터 T 세포 에피토프를 코딩하는 서열 및 (ii) 산화환원 특성을 갖는 공통 서열을 포함하고, 또한 임의로 효율적인 MHC-클래스 II 제시를 위해 웨티드의 후기 엔도솜으로의 흡수를 용이하게 하는 서열을 포함하는 웨티드가 억제 T 세포를 유도한다는 것이 발견되었다.

[0124] 본 발명의 웨티드의 면역원성은 면역 반응의 치료 및 예방에 특히 중요하다.

[0125] 본원에 기재된 웨티드는 약제로 사용되며, 보다 특히 포유동물, 특히 인간에서 면역 장애의 예방 또는 치료용 약제의 제조에 사용된다.

[0126] 본 발명은 본 발명의 웨티드, 그의 상동체 또는 유도체를 사용하여 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물의 면역 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 기술하며, 이 방법은 면역 장애로 고통받거나 그의 위험이 있는 상기 포유동물에게 예컨대 면역 장애의 증상을 감소시키기 위해 치료적 유효량의 본 발명의 웨티드, 상동체 또는 이의 유도체를 투여하는 단계를 포함한다. 인간과 애완 동물 및 농장 동물과 같은 동물 모두의 치료가 고려된다. 일구체예에서, 치료될 포유동물은 인간이다. 특정 구체예에서 상기 언급된 면역 장애는 알레르기 질환 및 자가면역 질환 중에서 선택된다. 알레르기 질환은 통상적으로 1형 매개 질환 또는 1gE 매개 질환으로 기술되어 있다. 알레르기 질환의 임상 증상으로는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 음식 과민증 및 곤충 자상이나 약물에 대한 아나필락시스 반응이 있다. 알레르기 질환은 알레르겐 (예컨대 꽃가루, 젤리, 약물 또는 음식)으로 불리는 특정 물질에 대한 면역 체계의 과민 반응에 의해 유발된다. 가장 심한 형태의 알레르기 질환은 의학적 응급 상황인 아나필락시스 쇼크 (anaphylactic shock)이다. 알레르겐은 집먼지 진드기, 애완 동물 및 꽃가루와 같은 공기 매개 알레르겐을 포함한다. 알레르겐은 또한 과일, 채소 및 우유를 포함한 음식 과민증을 일으키는 섭취 알레르겐을 포함한다. 상기 질환을 치료하기 위해, 본 발명에 따른 웨티드는 질병의 원인 인자로 알려져 있거나 또는 여겨지는 항원 단백질 또는 알레르겐으로부터 생성된다. T-세포 에피토프의 선별에 사용될 수 있는 알레르겐은 전형적으로 땅콩, 생선, 예를 들면 대구, 계란 흰자, 갑각류, 예를 들면 새우, 밀크, 예를 들면 우유, 밀, 곡물, 장미과 과일 (사과, 자두, 딸기), 백합과, 십자화과, 가지과 및 산형과 야채, 각과류, 참깨, 땅콩, 대두 및 기타 콩과 알레르겐, 향신료, 멜론, 아보카도, 망고, 무화과, 바나나 등의 음식 알레르겐, ... *Dermatophagoides spp* 또는 *D. pteronyssinus*, *D. farinae* 및 *D. microceras*, *Euroglyphus maynei* 또는 *Blomia sp.*에서 얻은 집먼지 진드기 알레르겐, 바퀴벌레 또는 막시류에 존재하는 곤충 유래 알레르겐, 꽃가루, 특히, 나무, 풀 및 잡초 꽃가루 유래 알레르겐, 동물, 특히 고양이, 개, 말 및 설치류에서의 알레르겐, 진균, 특히 *Aspergillus*, *Alternaria* 또는 *Cladosporium* 유래 알레르겐 및 라텍스, 아밀라아제 등과 같은 제품에 존재하는 직업 알레르겐으로 구성된 군으로부터 선택되는 알레르겐이다.

[0127] 본 발명과 관련하여, 알레르겐의 일례로서, derp 2 웨티드 CGFSSNYCQIYPPNANKIR [서열번호 9]은 HCGFSSNYCQIYPPNANKIR [서열번호 10] 또는 HCGFCSNYCQIYPPNANKIR [서열번호 11]로 변형된다. 알레르겐에 대한 추가의 예로서, der p 2 웨티드 CHGSEPCI IHRGKPF [서열번호 12]는 HCHGSEPCI IHRGKPF [서열번호 13], HCHGCEPCI IHRGKPF [서열번호 14], 보다 전형적으로 HCxGSEPCI IHRGKPF [서열번호 15] 또는 x는 His 또는 Cys가 아닌 HCxGCEPCI IHRGKPF [서열번호 16]로 변형된다.

[0128] 알레르겐에 대한 추가의 예로서, 베타 락토글로불린 웨티드 CHGCAQKKIIAEK [서열번호 17]는 HCHGCAQKKIIAEK [서열번호 18], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCAQKKIIAEK [서열번호 19]로 변형된다.

[0129] 자가 면역 질환의 일례로서, 갑상선 퍼옥시다제 웨티드 CGPCMNEELTERL [서열번호 20]은 HCGPCMNEELTERL [서열번호 21]로 변형된다.

[0130] 자가 면역 질환의 일례로서, 티로글로불린 웨티드 CGPSAALTWVQTH [서열번호 22]는 HCGPCAALTWVQTH [서열번호 23]로 변형된다.

[0131] 본 발명은 또한 유전자 요법 및 유전자 예방접종에 사용되는 바이러스 백터의 백분에 의해 코딩되는 바이러스 단백질의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프를 포함하는 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드에 관한 것이다. 본

발명은 또한 바이러스 백터에 대한 면역원성 반응의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 바이러스 백터 (예를 들어, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스 또는 폭스바이러스, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 유래) 및 바이러스 단백질 (예를 들어, 캡시드 단백질)의 예가 WO2009101204호에 개시되어 있다.

- [0132] 본 발명의 교시의 일례로서, 아데노바이러스 웨티드 CHGCPTLLYVLFEV [서열번호 24]는 HCHGCPTLLYVLFEV [서열번호 25], X는 Cys 또는 His가 아닌 보다 전형적인 HCxGCPYVYVLF [서열 번호 26]로 변형된다.
- [0133] 추가의 예로서, 아데노바이러스 후기 단백질 2 웨티드 CGPCGGYVVFHIQVP [서열번호 27]은 HCGPCGGYVVFHIQVP [서열번호 28]로 변형된다.
- [0134] 본 발명은 또한 세포 내 병원체 단백질의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프를 포함하는 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 세포 내 병원체에 의한 감염의 치료 및 예방 방법에 관한 것이다. 세포 내 병원체 (바이러스 [DNA vs RNA 바이러스, ss 바이러스 vs ds 바이러스, 박테리아, 마이코박테리아 또는 세포 내 생활주기를 갖는 기생충] 및 항원의 예는 WO2009101208호에서 논의되었다 (예를 들어, 헤르페스바이러스과, 플라비바이러스과 및 피코나바이러스과, 인플루엔자, 홍역 및 면역결핍 바이러스, 파필로바이러스, *Mycobacterium tuberculosis*를 비롯한 박테리아 및 마이코박테리아, 및 인간 또는 동물에 대한 기타 마이코박테리아 병원체, 예컨대 예르시니아 (Yersiniae), 브루셀라에 (Brucellae), 클라미디아에 (Chlamydiae), 마이코플라스마에 (Mycoplasmae), 리케차에 (Rickettsiae), 살모넬라에 (Salmonellae) 및 시겔라에 (Shigellae)). 기생충은 말라리아원충 (Plasmodiums), 레이슈마니아 (Leishmanias), 트리파노소마 (Trypanosomas), *Toxoplasma gondii*, *Listeria* sp., *Histoplasma* sp.를 포함한다.
- [0135] 추가의 예로서, 말라리아의 CSP 항원 CGHCDKHIEQYLK [서열번호 29]는 HCGHCDKHIEQYLK [서열번호 30], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCDKHIEQYLK [서열번호 31]로 변형된다.
- [0136] 추가적인 예로서, 동일 항원의 CGHCEKKICKMEK [서열번호 32] 웨티드는 HCGHCEKKICKMEK [서열 번호 33], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCEKKICKMEK [서열번호 34]로 변형된다.
- [0137] 추가적인 예로서, 인플루엔자 헤마글루티닌 유래 웨티드는 CGHCKYVKQNTLK [서열번호 35]로부터 HCGHCKYVKQNTLK [서열번호 36]로, 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCKYVKQNTLK [서열번호 37]로 변형된다.
- [0138] 추가적인 예로서, 리슈마니아 결핍 항원 CGHCEHPIVVSGS [서열번호 38]은 HCGHCEHPIVVSGS [서열번호 39], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCEHPIVVSGS [서열번호 40]로 변형된다.
- [0139] 추가적인 예로서, HIV의 Env 단백질의 gp120 서브유닛의 웨티드는 CGHCRAMYAPPIA [서열번호 41]로부터 HCGHCRAMYAPPIA [서열번호 42], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCRAMYAPPIA [서열번호 43]로 변형된다.
- [0140] 본 발명은 또한 대체 요법에 사용되는 것과 같은 가용성 알로인자의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프를 포함하는 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 가용성 알로인자에 대한 면역 반응의 치료 및 예방 방법에 관한 것이다. 가용성 알로인자의 예가 WO2009101206호에 개시되어 있다.
- [0141] 본 발명의 일례로서, 인자 VIII에 대한 B02C11 항체의 VH 영역의 상보성 결정 영역 (CDR) 3의 웨티드 CHGCYCAVPDDPDA [서열번호 44]는 HCHGCYCAVPDDPDA [서열번호 45], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCGYCAVPDDPDA [서열번호 46]로 변형된다.
- [0142] 추가의 예로서, 다른 항-인자 VIII 항체 유래 웨티드 CGHCGGIRLHPTHYSIR [서열번호 47]는 HCGHCGGIRLHPTHYSIR [서열번호 48], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCGGIRLHPTHYSIR [서열번호 49]로 변형된다.
- [0143] 본 발명은 또한 종양 관련 항원의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프를 포함하는 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 종양의 치료 및 예방 방법에 관한 것이다. 관련 종양 (예를 들어, 종양 유전자, 원발암 유전자, 바이러스 단백질, 생존 인자, 클로노타입 결정 인자) 및 종양 관련 항원의 예는 WO2009101205호에 개시되어 있다. 이러한 종양 관련 항원은 HPV와 같은 바이러스를 유발하는 종양의 바이러스 항원, 암생형 서열을 가지나 종양에서 증가된 발현을 갖는 환자의 종양 관련 항원 또는 점 돌연변이, 결실, 프레임 시프트 또는 염색체 재배열에 의해 돌연변이화 서열을 갖는 항원을 포함한다.
- [0144] 본 발명의 교시의 일례로서, MAGE-3 웨티드 CHGCYRQVPGSDP [서열번호 50]는 HCHGCYRQVPGSDP [서열번호 51], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCYRQVPGSDP [서열번호 52]로 변형된다.
- [0145] 추가적인 예로서, 사이클린 D 웨티드 CHGCFVALCATDV [서열번호 53]는 HCHGCFVALCATDV [서열번호 54], 보다 전

형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCFVALCATDV [서열번호 55]로 변형된다.

[0146] 추가의 예로서, 생존 웨티드 CHGCFKELEGWEP [서열번호 56]는 HCHGCFKELEGWEP [서열번호 57], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCFKELEGWEP [서열번호 58]로 변형된다.

[0147] 추가의 예로서, 앱스타인 바 바이러스 웨티드 CHGCVASSYAAQ [서열번호 59]는 HCHGCVASSYAAQ [서열번호 60], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCVASSYAAQ [서열번호 61]로 변형된다.

[0148] 본 발명은 또한 동종이식편의 동종항원 단백질의 MHC 클래스 II T 세포 에피토프를 포함하는 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드에 관한 것이다. 본 발명은 동종 이식거부의 치료 및 예방 방법에 관한 것이다. 예로는 골수 이식편, 신장, 폐, 심장, 간, 췌장, 뼈 또는 피부와 같은 고형 장기 이식편 또는 제대혈 세포 이식편, 줄기 세포 이식편 또는 췌장 섬세포 이식편과 같은 세포 이식편이 있다. 동종항원 단백질의 예는 WO2009100505에 개시되어 있으며, 예컨대 부 조직적합성 항원, 주요 조직적합성 항원 또는 조직 특이적 항원이 있다.

[0149] 본 발명의 일례로서, 뮤린 Dby 항원 유래 웨티드 CHGCFNSRANSS [서열번호 62]는 HCHGCFNSRANSS [서열번호 63], 보다 특히 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCxGCFNSRANSS [서열번호 64]로 변형된다.

[0150] 다른 예로서, 인간 Dby CGHCLVLAPTRREL 유래 서열 [서열번호 65]은 HCGHCLVLAPTRREL [서열번호 66], 보다 특히 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCLVLAPTRREL [서열번호 67]로 변형된다.

[0151] 또 다른 예로서, 뮤린 블랙 6 균주 특이적 웨티드 CGHCPEFLEQKRA [서열번호 68]는 HCGHCPEFLEQKRA [서열번호 69], 보다 전형적으로 x는 Cys 또는 His가 아닌 HCGxCPEFLEQKRA [서열번호 70]로 변형된다.

[0152] 상기 모든 웨티드에 대해, 히스티딘과 시스테인 사이에 1 또는 2 개의 아미노산 X가 존재하는 추가의 변이체가 구상된다. 전형적으로 이러한 외부 아미노산(들) X는 His, Cys, Ser 또는 Thr이 아니다.

[0153] 본 발명의 웨티드는 또한 샘플에서 클래스 II 제한 CD4 + T 세포를 검출하기 위한 시험관 내 진단 방법에 사용될 수 있다. 이 방법에서, 샘플은 MHC 클래스 II 분자와 본 발명에 따른 웨티드의 복합체와 접촉된다. CD4 + T 세포는 샘플에서 복합체와 세포와의 결합을 측정함으로써 검출되며, 여기서 세포에 대한 복합체의 결합은 샘플 중 CD4 + T 세포의 존재를 나타낸다.

[0154] 상기 복합체는 웨티드와 MHC 클래스 II 분자의 융합 단백질일 수 있다.

[0155] 대안적으로, 복합체 내의 MHC 분자는 테트라머이다. 복합체는 가용성 분자로서 제공될 수 있거나, 담체에 부착될 수 있다.

[0156] 본 발명과 관련하여 사용하기에 적합한 항원 단백질 (또는 면역원)에 상응하는 T 세포 에피토프는 전형적으로 보편 또는 혼합 T 세포 에피토프 (즉, MHC 클래스 II 분자의 대다수에 결합할 수 있는 T 세포 에피토프), 특히 공기 중의 알레르겐 또는 식인성 알레르겐에 존재한다. 특정 구체예에서, 알레르겐은 코-부비동염 알레르겐, 알레르기성 기관지 천식 알레르겐 및 아토피성 피부염 알레르겐으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 알레르겐은 또한 곰팡이나 호르몬, 항생제, 효소 등과 같은 다양한 약물에 존재하는 주요 알레르겐일 수도 있다 (*Clin. Exp. Allergy* 26, 494-516 (1996) 및 *in Molecular Biology of Allergy and Immunology*, Ed. R. Bush (1996) 참조). 특정 알레르기 질환과 관련된 다른 알레르겐은 또한 당해 기술분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 인터넷 상, 예를 들어 www.allergome.org에서 확인할 수 있다.

[0157] 자가면역 질환은 크게 기관특이적 (organ-specific) 질환 및 전신성 (systemic) 질환의 두 범주로 분류된다. 전신성 자가면역 질환의 정확한 병인은 규명되지 않았다. 대조적으로, 기관 특이적 자가면역 질환은 기관을 표적으로 하여 만성적인 국소 염증 상태를 유도하고 유지시키는 B 및 T 세포를 포함하는 특이적 면역 반응과 관련된다. 기관 특이적 자가면역 질환의 예로는 제1형 당뇨병, 중증 근무력증, 갑상선염 및 다발성 경화증이 있다. 이들 각 상태에서 각각 인슐린, 아세틸콜린 근육 수용체, 갑상선 퍼옥시다아제 및 주요 염기성 단백질을 포함하여 하나 또는 소수의 자가항원이 동정되었다. 이러한 기관 특이적 면역 반응의 억제는 유익하며 기관 기능의 부분적 또는 완전한 회복으로 이어진다는 것은 잘 알려져 있다. 그러나 항원 특이적 방식으로 그러한 면역 반응을 억제할 수 있는 치료법은 없다. 현재의 치료법은 오히려 코르티코스테로이드와 면역억제제의 사용으로 얻은 비특이적 억제를 이용하며, 이들 모두는 특이성 부재와 관련된 현저한 부작용을 나타내어 그의 사용 및 전반적인 효능을 제한한다. 본 발명의 내용 안에서 구상되는 기관 특이적 자가면역 장애 및 자가항원의 비제한적인 예는 다음과 같다:

[0158] 갑상선 질환: 티로글로불린, 갑상선 퍼옥시다아제, TSH 수용체

- [0159] 제1형 당뇨병: 인슐린 (프로인슐린), 글루탐산 탈카복실라아제 (GAD),
- [0160] 티로신 포스파타아제 IA-2, 열 쇼크 단백질 HSP65,
- [0161] 섬 특이적 글루코스6-포스파타아제 촉매 서브유닛 관련
- [0162] 단백질 (IGRP)
- [0163] 부신염: 21-OH 하이드록실라아제
- [0164] 다내분비성 증후군: 17-알파 하이드록실라아제,
- [0165] 히스티딘 탈카복실라아제,
- [0166] 트립토판 하이드록실라아제,
- [0167] 티로신 하이드록실라아제
- [0168] 위염 및 악성 빈혈: H⁺/K⁺ ATPase 고유 인자
- [0169] 다발성 경화증: 미엘린 희돌기교세포 당단백질 (MOG),
- [0170] 미엘린 염기성 단백질 (MBP), 단백지질 (PLP)
- [0171] 중증 근무력증: 아세틸콜린 수용체
- [0172] 안 질환: 레티놀-결합 단백질 (RBP)
- [0173] 내이 질환: II형 및 IX형 콜라겐
- [0174] 만성소화 장애증: 조직 트랜스글루타미나아제
- [0175] 염증성 장 질환: pANCA 히스톤 H1 단백질
- [0176] 죽상동맥경화증: 열 충격 단백질 HSP60.
- [0177] 본 발명에 따라, 면역 반응을 촉발할 잠재력을 갖는 항원 (자가 또는 비자가)의 T-세포 에피토프를 포함하는 면역원성 웨티드가 제공된다. 특정 구체예에서, T-세포 에피토프는 우세한 T-세포 에피토프이다.
- [0178] 따라서, 특정 구체예에서, 본 발명의 치료 및 예방 방법은 치료하고자 하는 질환 (예를 들면, 상술한 바와 같은 것)에서 작용을 하는 항원 단백질의 T 세포 에피토프를 포함하는 본원에 기재된 바와 같은 면역원성 웨티드의 투여를 포함한다. 추가의 특정 구체예에서, 사용된 에피토프는 우세한 에피토프이다.
- [0179] 본 발명은 또한 MHC 클래스 II T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨티드의 생성 방법에 관한 것이다.
- [0180] 상기 방법은 제1 단계에서, 관심 항원 단백질의 서열을 제공하고 항원에서 MHC 클래스 II T 세포 에피토프 서열을 동정하는 단계를 포함한다. 에피토프 서열은 고려중인 항원 단백질에 대해 이미 기술되었을 수 있다. 선택적으로, 이들은 인 실리코 (in silico) 방법, 시험관 내 방법 또는 생체 내 방법에 의해 결정된다. 또한 항원 단백질이 변형된 산화환원 모티프의 존재 여부에 대해 스크리닝되며, 이는 특이적인 인 실리코 방법을 필요로 하지 않는다.
- [0181] 항원 단백질이 그 서열 내에 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열 번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열 번호 79, 92 또는 93] 모티프를 T 세포 에피토프 서열에 근접하여 (즉, T 세포 에피토프로부터 7개 이하의 아미노산에 의해 분리됨) 포함할 수 있는 기회는 있기는 하지만 매우 작다. 그렇다면, T 세포 에피토프 및 모티프를 포함하는 항원 단백질의 단편은 본 발명의 방법 및 용도에 사용될 수 있다. 그러한 단백질 내의 에피토프는 선행 기술에서 논의되었을 수도 있지만, 그러한 변형된 산화환원 모티프의 존재는 커녕 관련성도 논의되지 않았다. 따라서, 그러한 웨티드 단편을 선택하거나, 본원에 기술된 방법을 위해 그러한 웨티드 단편을 사용하는 것과 관련하여 선행 기술에서 제공한 혜택은 없다. 웨티드가 MHC 클래스 II T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 함유하는 단백질의 단편을 기반으로 하는 특정 구체예에서, 그러한 웨티드 서열은 에피토프와 변형된 사이의 서열의 길이를 변화시키거나, 링커 서열의 아미노산을 변경하거나, 모티프 내 Ser 또는 Thr을 시스테인으로 변경시키거나 또는 모티프 내의 X 위치 중 하나 또는 둘 모두에서 아미노산을 변경시킴으로써 추가로 변형될 수 있다.

- [0182] 웨პ티드 설계에 사용되는 다른 항원 단백질은 MHC 클래스 II T 세포 에피토프로부터 더 멀리 떨어진 (에피토프 서열로부터의 7개 초과 아미노산) 그의 서열에 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93] 서열을 포함한다.
- [0183] 이 경우, 에피토프와 모티프 사이의 거리만이 짧아지고 모티프와 이웃하는 아미노산의 서열은 보존된 웨პ티드가 생성될 수 있다. 적합하다고 여겨지면, 모티프 외부의 아미노산, 모티프 내 세린 또는 트레오닌 또는 하나 또는 두 X 위치가 변경된다.
- [0184] 보다 일반적으로, 웨პ티드의 설계에 사용되는 항원 단백질은 H그의 단백질 서열 내에 H-X(0,2)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93] 서열을 포함하지 않을 것이다. 본 발명에 따른 웨პ티드는 T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프가 0 내지 7개의 아미노산에 의해 분리된 웨პ티드를 합성함으로써 제조될 것이다. 특정 구체예에서, 변형된 산화환원 모티프는 에피토프 서열 외부에 1, 2 또는 3개의 돌연변이를 도입하여 단백질에서 발생하는 서열 컨텍스트를 보존함으로써 수득될 수 있다. 전형적으로, 천연 서열의 일부인 노나웨პ티드에 대해 P-2 및 P-1뿐만 아니라 P+10 및 P+11에서의 아미노산이 웨პ티드 서열에서 보존된다. 이들 플랭킹 잔기는 일반적으로 MHC 클래스 II에 대한 결합을 안정화시킨다. 다른 구체예에서, 에피토프의 서열 N 말단 또는 C 말단은 T 세포 에피토프 서열을 함유하는 항원 단백질의 서열과 무관할 것이다.
- [0185] 다른 특정 구체예에서, 웨პ티드는 웨პ티드들을 WO2008/017517호에 기재된 바와 같이 T 세포 에피토프 및 C-X(2)-[CST] [서열번호 77] 또는 [CST]-X(2)-C [서열번호 76] 모티프로 변경함으로써 제조된다. 히스티딘의 첨가 또는 아미노산의 히스티딘으로의 변형은 H-X(2,0)-C-X(2)-[CST] [서열번호 78, 90 또는 91] 또는 [CST]-X(2)-C-X(0,2)-H [서열번호 79, 92 또는 93] 서열을 가지는 본 발명의 웨პ티드로 이어진다.
- [0186] 따라서, 웨პ티드를 설계하기 위한 상기 방법에 기초하여, 웨პ티드는 화학 웨პ티드 합성, 재조합 발현 방법 또는 보다 예외적인 경우 단백질의 단백질 분해 또는 화학적 단편화에 의해 생성된다.
- [0187] 상기 방법으로 제조된 웨პ티드는 시험관 내 및 생체 내 방법에서 T 세포 에피토프의 존재에 대해 시험될 수 있고, 시험관 내 분석에서 이들의 환원 활성에 대해 시험될 수 있다. 최종 품질 관리로서, 웨პ티드는 웨პ티드가 변형된 산화환원 모티프를 갖는 웨პ티드에 또한 존재하는 에피토프 서열을 가지는 항원을 제시하는 항원 제시 세포에 대한 세포자멸 경로를 통해 세포용해성인 CD4 + T 세포를 생성할 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 시험관 내 분석법으로 시험될 수 있다.
- [0188] 본 발명과 관련하여 사용하기 위한, 항원 단백질로부터 T-세포 에피토프의 동정 및 선별은 당업자에게 공지되어 있다.
- [0189] 본 발명과 관련하여 사용하기에 적합한 에피토프를 동정하기 위해, 항원 단백질의 단리된 웨პ티드 서열은, 예를 들어 웨პ티드 서열이 T 세포 반응을 유도하는지의 여부를 결정하기 위해 T 세포 생물학 기술에 의해 시험된다. T 세포 반응을 유도하는 것으로 밝혀진 웨პ티드 서열은 T 세포 자극 활성을 갖는 것으로 정의된다.
- [0190] 인간 T 세포 자극 활성을 예를 들어, 진드기 알레르겐에 민감한 개체 (즉, 진드기 알레르겐에 IgE 매개 면역 반응을 가지는 개체)로부터 수득한 T 세포를 알레르기 항원으로부터 유래된 웨პ티드/에피토프와 배양하고 T 세포의 증식이 (예를 들어 삼중수소화 티미딘의 세포 흡수에 의해 측정되는) 웨პ티드/에피토프에 반응하여 일어나는지의 여부를 결정하여 시험할 수 있다. 웨პ티드/에피토프에 대한 T 세포에 의한 반응에 대한 자극 지수는 웨პ티드/에피토프에 대한 반응의 최대 CPM을 대조 CPM으로 나누어 계산될 수 있다. 백그라운드 수준의 2배 이상인 T 세포 자극 지수 (S.I.)는 "양성"으로 간주된다. 양성 결과는 시험된 웨პ티드/에피토프 그룹에 대한 각각의 웨პ티드/에피토프에 대한 평균 자극 지수를 계산하는데 사용된다.
- [0191] 비 천연 (또는 변형된) T-세포 에피토프는 MHC 클래스 II 분자에 대한 이들의 결합 친화성에 대해 임의로 추가로 시험될 수 있다. 이것은 상이한 방식으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 가용성 HLA 클래스 II 분자는 주어진 클래스 II 분자에 대해 동형 접합인 세포의 용해에 의해 얻어진다. 후자는 친화성 크로마토 그래피로 정제된다. 가용성 클래스 II 분자를 클래스 II 분자에 대한 그의 강한 결합 친화성에 따라 생성된 비오틴 표지된 참조 웨პ티드와 함께 인큐베이션한다. 이어서 클래스 II 결합에 대해 평가될 웨პ티드를 상이한 농도에서 인큐베이션하고, 그의 클래스 II 결합으로부터 참조 웨პ티드를 치환시키는 능력이 뉴트라비딘의 첨가에 의해 계산된다. 방법은 예를 들어 [Texier et al., (2000) *J. Immunology* 164, 3177-3184]에서 찾을 수 있다.
- [0192] 본 발명에 따라, T 세포 에피토프의 면역원성은 환원성을 향상시키는 변형된 산화환원 모티프에 연결시킴으로써

증가된다. 특히, 본원에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 T 세포 에피토프 및 변형된 산화환원 모티프를 포함하는 본 발명의 펩티드는 평균 T 세포 자극 지수가 2.0 이상이다. 2.0 이상의 T 세포 자극 지수를 갖는 펩티드는 치료제로서 유용하다고 여겨진다. 특히, 본 발명에 따른 펩티드는 적어도 2.5, 적어도 3.5, 적어도 4.0, 또는 적어도 5.0의 평균 T 세포 자극 지수를 갖는다. 또한, 펩티드는 전형적으로 적어도 약 100, 적어도 150, 적어도 약 200 또는 적어도 약 250의 양성 지수 (PI)를 갖는다. 펩티드에 대한 양성 지수는 면역 반응 (예컨대 집먼지 진드기에 민감함)을 가지는 개체 (예를 들면, 적어도 9 개체, 적어도 16 개체 또는 적어도 29 또는 30, 또는 그 이상의 개체)의 집단에서 펩티드에 반응하는 T 세포를 가지는 개체 퍼센트를 평균 T 세포 자극 지수에 곱해 결정된다 (따라서 펩티드/에피토프의 혼합성을 곱한 SI에 해당함). 따라서, 양성 지수는 (예를 들어) 집먼지 진드기에 민감한 면역 반응을 갖는 개체의 집단에서 펩티드에 대한 T 세포 반응의 강도 (S.I.) 및 펩티드에 대한 T 세포 반응의 빈도를 모두 나타낸다.

[0193] 예를 들어, 미세 매핑 기술에 의해 최적의 T 세포 에피토프를 결정하기 위해, T 세포 자극 활성을 가지며 따라서 T 세포 생물학 기술에 의해 결정된 바와 같은 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 포함하는 펩티드를 펩티드의 아미노- 또는 카복시 말단 중 하나에 아미노산 잔기를 첨가 또는 결실시켜 변형시키고, 변형된 펩티드에 대한 T 세포 반응성의 변화를 결정하기 위한 시험을 하였다. 천연 단백질 서열에서 중첩 영역을 공유하는 2 이상의 펩티드가 T 세포 생물학 기술에 의해 결정된 바와 같이 인간 T 세포 자극 활성을 갖는 것으로 밝혀지면, 이러한 펩티드의 전부 또는 일부를 포함하는 추가적인 펩티드를 생성할 수 있고, 이를 추가적인 펩티드를 유사한 절차에 의해 시험할 수 있다. 이 기술에 따라, 펩티드는 재조합 또는 합성적으로 선택 및 생성된다. T 세포 에피토프 또는 펩티드는 펩티드/에피토프에 대한 T 세포 반응의 강도 (예를 들어, 자극 지수) 및 개체 집단에서의 펩티드에 대한 T 세포 반응의 빈도를 비롯한 다양한 인자에 기초하여 선택된다.

[0194] 추가적으로 및/또는 선택적으로, 항원 단백질 내의 T 세포 에피토프 서열을 동정하기 위해 하나 이상의 시험관내 알고리즘을 사용할 수 있다. 적절한 알고리즘으로는 Zhang *et al.* (2005) *Nucleic Acids Res* **33**, W180-W183 (PREDBALB); Salomon & Flower (2006) *BMC Bioinformatics* **7**, 501 (MHCBN); Schuler *et al.* (2007) *Methods Mol. Biol.* **409**, 75-93 (SYFPEITHI); Donnes & Kohlbacher (2006) *Nucleic Acids Res.* **34**, W194-W197 (SVMHC); Kolaskar & Tongaonkar (1990) *FEBS Lett.* **276**, 172-174, Guan *et al.* (2003) *Appl. Bioinformatics* **2**, 63-66 (MHCPred) 및 Singh and Raghava (2001) *Bioinformatics* **17**, 1236-1237 (Propred)에 설명된 것을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0195] 더욱 특히, 이러한 알고리즘은 항원 단백질 내에서 MHC II 분자의 그루브에 맞을 하나 이상의 옥타- 또는 노나 펩티드 서열 및 이의 상이한 HLA 유형의 예측을 가능케 한다.

[0196] 본 발명의 펩티드는 박테리아, 효모, 곤충 세포, 식물 세포 또는 포유동물 세포에서 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 제한된 길이의 펩티드를 고려해, 이들은 화학적 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있으며, 여기서 펩티드는 상이한 아미노산을 서로 커플링시켜 제조된다. 화학적 합성은 예를 들어, D-아미노산, 자연적으로 발생하지 않는 측쇄를 갖는 아미노산 또는 메틸화된 시스테인과 같은 변형된 측쇄를 갖는 천연 아미노산을 포함시키는데 특히 적합하다.

[0197] 화학적 펩티드 합성 방법은 잘 설명되어 있으며, 펩티드는 Applied Biosystems와 같은 회사 및 다른 회사에서 주문할 수 있다.

[0198] 펩티드 합성은 고상 펩티드 합성 (SPPS)으로 또는 반대로 용액상 펩티드 합성으로 수행될 수 있다. 가장 잘 알려진 SPPS 방법은 t-Boc 및 Fmoc 고상 화학법이다:

[0199] 펩티드 합성 동안 몇몇 보호기가 사용된다. 예를 들어, 하이드록실 및 카복실 작용기는 t-부틸기에 의해 보호되고, 리신 및 트립토판은 t-Boc기에 의해 보호되며, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인 및 히스티딘은 트리틸기에 의해 보호되고, 아르기닌은 pbf기에 의해 보호된다. 적절한 경우, 이러한 보호기는 합성 후 펩티드 상에 남아있을 수 있다. 펩티드는 켄트 (Kent) (Schnelzer & Kent (1992), *J. Pept. Protein Res.* **40**, 180-193)에 의해 최초 기술되고, 예를 들어 [Tam *et al.* (2001) *Biopolymers* **60**, 194-205]에서 검토된 바와 같이, 결찰 전략 (두 개의 비보호된 펩티드 단편의 화학선택적 커플링)을 이용하여 더 긴 펩티드를 형성하도록 서로 연결될 수 있으며, SPPS의 범위를 벗어나는 단백질 합성을 달성할 엄청난 잠재력을 제공한다. 100-300 잔기의 크기를 갖는 많은 단백질이 이 방법으로 성공적으로 합성되었다. 합성 펩티드는 SPPS의 엄청난 발전으로 인해 생화학, 약리학, 신경생물학, 효소학 및 분자 생물학 분야의 연구 분야에서 끊임없이 중요한 역할을 계속해 왔다.

[0200] 대안적으로, 펩티드는 코딩 뉴클레오티드 서열을 포함하는 적절한 발현 벡터에서 본 발명의 펩티드를 코딩하는

핵산 분자를 사용하여 합성될 수 있다. 그러한 DNA 분자는 자동화 DNA 합성기 및 유전자 코드의 잘 알려진 코돈-아미노산 관계를 이용하여 용이하게 제조할 수 있다. 이러한 DNA 분자는 또한 올리고뉴클레오티드 프로브 및 통상적인 혼성화 방법을 사용하여 게놈 DNA 또는 cDNA로서 수득될 수 있다. 이러한 DNA 분자는 박테리아, 예를 들어 대장균 (*Escherichia coli*), 효모 세포, 동물 세포 또는 식물 세포와 같은 적합한 숙주에서 DNA의 발현 및 폴리펩티드의 생성에 적합한 플라스미드를 포함하는 발현 벡터에 도입될 수 있다.

[0201] 웨티드가 치료 조성물에 사용하기에 적합한지의 여부를 결정하기 위해 대상 웨티드의 물리적 및 화학적 성질 (예를 들어 용해도, 안정성)이 조사된다. 전형적으로 이는 웨티드의 서열을 조절함으로써 최적화된다. 임의로, 웨티드는 당 업계에 공지된 기술을 사용하여 합성 후에 변형 (화학적 변형, 예를 들어, 작용기의 첨가/제거)될 수 있다.

[0202] T 세포 에피토프 자신이 항원 제시 세포의 표면상의 적절한 HLA 분자에 결합하여 관련 T 세포 아집단을 자극함으로써 T 헬퍼 세포의 수준에서 초기 이벤트를 촉발시키는 것으로 생각된다. 이러한 이벤트는 T 세포 증식, 림포카인 분비, 국소 염증 반응, 부위로의 추가 면역 세포의 동원 및 항체 생성을 유도하는 B 세포 캐스케이드의 활성화로 이어진다. 이러한 항체의 한 아이소타입 (isotype)인 IgE는 알레르기 증상의 발생에 근본적으로 중요하며, 그 생성은 분비되는 림포카인의 성질에 의해 T 헬퍼 세포의 수준으로 이벤트의 캐스케이드에서 초기에 영향을 받는다. T 세포 에피토프는 T 세포 수용체에 의한 인식의 기본 요소 또는 최소 단위이며, 여기서의 에피토프는 수용체 인식에 필수적인 아미노산 잔기를 포함하며 이 잔기는 단백질의 아미노산 서열에 인접한다.

[0203] 그러나, T-세포 에피토프 및 산화환원 모티프를 갖는 웨티드의 투여 시, 다음과 같은 이벤트가 발생할 것으로 예상되며:

[0204] MHC-클래스 II 분자에 의해 제시된 항원-유래 웨티드와의 동족 상호작용으로 유도되는 항원 (i) 특이적 T 세포의 활성화;

[0205] 리덕타아제 서열은 CD4 분자와 같은 T 세포 표면 단백질을 환원시킨다. 그의 제2 도메인은 제한된 디설파이드 브릿지를 포함한다. 이것은 신호 T를 세포로 전달한다. 증가된 산화 경로와 관련된 일련의 결과 중 중요한 이벤트는 칼슘 유입의 증가와, NF-κB 전사인자의 핵으로의 전좌이다. 후자는 IFN-감마 및 그란자임의 증가된 전사를 초래하여, 세포가 세포자멸-유도 메카니즘을 통해 세포용해성을 획득하게 한다; 세포용해성은 그랜자임 B 분비 및 Fas-FasL 상호작용을 포함하는 메카니즘에 의해 웨티드를 제시하는 세포에 영향을 미친다. 세포자멸 효과는 세포자멸 경로를 통해 얻어지기 때문에, 이를 세포에 대해서는 세포독성 세포보다 사이톨릭 (cytolic) 세포가 더 적절한 용어이다. 항원 제시 표적 세포의 파괴는 동일한 항원, 또는 동일한 항원 제시 세포에 의해 프로세싱 될 비관련 항원상에 위치하는 에피토프에 특이적인 다른 T 세포의 활성화를 방지한다; T 세포 활성화의 추가적인 결과는 세포-세포 접촉 의존성 메카니즘에 의한 방관자 T 세포의 활성화 억제이다. 이 경우, 양 세포용해성 및 방관자 T 세포가 근접하여 존재한다면, 상이한 항원 제시 세포에 의해 제시된 항원에 의해 활성화된 T 세포가 또한 억제되며, 즉 동일한 항원 제시 세포의 표면상에서 활성화된다.

[0206] 전술한 작용 메카니즘은 상기 인용된 PCT 출원 및 본 발명자의 공보에 개시된 실험 데이터로 입증된다.

[0207] 본 발명은 생체 내 또는 시험관 내에서 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포를 생성시키는 방법 및 이와 독립적으로 특징적인 발현 데이터에 기초하여 Foxp3 + Tregs와 같은 다른 세포 집단으로부터 세포용해성 CD4+ T 세포를 구별하는 방법을 제공한다.

[0208] 본 발명은 항원 특이적인 CD4+ T 세포의 생성을 위한 생체 내 방법을 기술한다. 특정 구체예는 동물 (사람 포함)을 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 웨티드로 면역화시킨 후, 면역화된 동물로부터 CD4+ T 세포를 단리함으로써 CD4+ T 세포를 생성 또는 단리하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 APC에 대한 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포의 생성을 위한 시험관 내 방법을 기술한다. 본 발명은 APC에 대한 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포를 생성하는 방법을 제공한다.

[0209] 일 구체예에서, 말초 혈액 세포의 단리, 본 발명에 따른 면역원성 웨티드에 의한 시험관 내 세포 집단의 자극 및 자극된 세포 집단의 확장 (보다 특히는 IL-2의 존재하에서)을 포함하는 방법이 제공된다. 본 발명에 따른 방법은 많은 수의 CD4+ T 세포가 생성되고 (항원 특이적 에피토프를 포함하는 웨티드를 사용함으로써) 항원 단백질에 특이적인 CD4+ T 세포가 생성될 수 있다는 이점을 갖는다.

[0210] 대안적인 구체예에서, CD4+ T 세포는 생체 내에서, 즉 본원에 기술된 면역원성 웨티드를 대상으로 주입하고 생체 내에서 생성된 세포용해성 CD4+ T 세포를 수집하여 생성할 수 있다.

- [0211] 본 발명의 방법에 의해 얻을 수 있는 APC에 대한 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포는 알레르기 반응의 예방 및 자가면역 질환의 치료에서 면역 요법을 위해 포유동물에 투여하는데 특히 중요하다. 동종 및 자가생성 세포의 사용이 모두 고려된다.
- [0212] 세포용해성 CD4+ T 세포 집단은 본원에서 하기에 기술된 바와 같이 수득된다.
- [0213] 본원에 기재된 바와 같은 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포는 약제로서, 특히 양자 세포 요법, 보다 특히 급성 알레르기 반응 및 다발성 경화증과 같은 자가면역 질환의 치료에 사용하기 위한 약제로서 사용될 수 있다. 단리된 세포용해성 CD4+ T 세포 또는 세포 집단, 보다 특히 기술된 바와 같이 생성된 항원 특이적 세포용해성 CD4+ T 세포 집단은 면역 질환의 예방 또는 치료용 약제의 제조에 사용된다. 단리되거나 생성된 세포용해성 CD4+ T 세포를 사용한 치료 방법이 개시된다.
- [0214] WO2008/017517호에 설명된 바와 같이, APC에 대한 세포용해성 CD4+ T 세포는 세포의 발현 특성에 기초하여 천연 Treg 세포와 구별될 수 있다. 보다 구체적으로, 세포용해성 CD4+ T 세포 집단은 천연 Treg 세포 집단과 비교하여 하기 특성 중 하나 이상을 나타낸다:
- [0215] 활성화 시 CD103, CTLA-4, FasI 및 ICOS를 포함하는 표면 마커의 증가된 발현,
- [0216] CD25의 중간 발현,
- [0217] CD4, ICOS, CTLA-4, GITR의 발현 및 CD127 (IL7-R)의 저발현 또는 비발현, CD27의 비발현.
- [0218] 전사 인자 T-bet 및 egr-2 (Krox-20)는 발현하나 전사 억제 인자 Foxp3은 발현하지 않음,
- [0219] IFN-감마의 고 생산 및 IL-10, IL-4, IL-5, IL-13 또는 TGF- β 는 비생산 또는 단지 미량 생산.
- [0220] 또한 세포용해성 T 세포는 CD45RO 및/또는 CD45RA를 발현하고 CCR7, CD27을 발현하지 않으며, 높은 수준의 그랜자임 B 및 기타 그랜자임뿐만 아니라 Fas 리간드를 나타낸다.
- [0221] 본 발명의 웨პ티드는 살아있는 동물, 전형적으로 인간에게 투여 시, 방관자 T 세포에 억제 활성을 발휘하는 특이적 T 세포를 유도할 것이다.
- [0222] 이러한 메카니즘은 또한 특정 항원의 특이적 T 세포 에피토프를 포함함에도 불구하고 본 발명의 웨პ티드가 동일 항원의 다른 T 세포 에피토프에 대한 면역 반응에 의해 유발되는 장애의 예방 또는 치료에 사용될 수 있거나, 또는 특정 상황에서 이들이 본 발명의 웨პ티드에 의해 활성화되는 T 세포 근처에서 MHC 클래스 II 분자에 의해 동일한 메커니즘을 통해 제시될 수 있다면, 심지어 다른 상이한 항원의 다른 T 세포 에피토프에 대한 면역 반응에 의해 유발되는 장애의 치료에 사용될 수 있음을 함축하고 실험 결과는 이를 보여준다.
- [0223] 또한 항원 특이적인, 즉 항원 특이적 면역 반응을 억제할 수 있는, 전술한 특성을 갖는 세포 유형의 단리된 세포 집단이 개시된다.
- [0224] 본 발명의 웨პ티드는 또한 당 업계에서 주지인 유전자 치료법에 사용될 수 있으며, 본 발명에 따른 웨პ티드의 사용을 설명하는데 본원에서 사용된 용어는 또한 본 발명에 따른 면역원성 웨პ티드를 코딩 또는 발현하는 핵산의 사용을 포함한다.
- [0225] 본 발명은 본 발명의 웨პ티드를 코딩하는 핵산 서열 및 그의 사용 방법을 기술한다. 유전자 요법을 통해 포유동물에서 생체 내로 본 발명에 따른 웨პ티드, 상동체 또는 이의 유도체의 수준을 달성하는 상이한 방법이 본 발명의 내용 내에서 고려된다.
- [0226] 단백질 서열을 코딩하는 재조합 핵산 분자는 표적 세포로의 전달을 위해, 나 (naked) DNA로서 또는 리포좀 또는 다른 지질 시스템에 사용될 수 있다. 세포 내로 플라스미드 DNA를 직접 전달하기 위한 다른 방법은 인간 유전자 요법에서의 사용을 위해 당업자에게 잘 알려져 있으며, 플라스미드 DNA를 단백질과 복합체화함으로써 DNA를 세포상의 수용체로 표적화하는 것을 포함한다. 그의 가장 간단한 형태로, 유전자 전달은 마이크로주입 (microinjection) 과정을 통해 세포의 핵에 미량의 DNA를 단순히 주입하는 것만으로 수행될 수 있다. 일단 재조합 유전자가 세포 내로 도입되면, 이들은 세포의 전사 및 번역에 대한 정상적인 메카니즘에 의해 인식될 수 있으며, 유전자 산물이 발현될 것이다. 더 많은 수의 세포에 DNA를 도입하기 위한 다른 방법도 시도되어 왔다. 이러한 방법은 다음과 같다: DNA가 인산칼슘과 함께 침전되고 음세포 작용에 의해 세포 내로 도입되는 형질감염; 세포가 큰 전압 펄스에 노출되어 막에 구멍을 도입하는 전기천공법; DNA가 표적 세포와 융합하는 친유성 소포로 팩킹되는 리포펙션/리포좀 융합; 및 작은 발사체에 결합된 DNA를 이용한 입자 충격. DNA를 세포에 도입하는 또

다른 방법은 DNA를 화학적으로 변형된 단백질에 커플링시키는 것이다. 아데노바이러스 단백질은 엔도솜을 불안정화시키고 세포로의 DNA 흡수를 증진시킬 수 있다. DNA 복합체를 함유하는 용액에 아데노바이러스를 혼합하거나, 단백질 가교결합제를 사용하여 아데노바이러스에 공유결합된 폴리리신에 DNA를 결합시키는 것은 재조합 유전자의 흡수 및 발현을 실질적으로 향상시킨다. 아데노-관련 바이러스 백터는 또한 혈관 세포로의 유전자 전달에 사용될 수 있다. 본원에 사용된 "유전자 전달"은 외래 핵산 분자를 세포 내로 도입하는 과정을 의미하며, 이는 일반적으로 유전자에 의해 코딩된 특정 산물의 발현이 가능하도록 이행된다. 산물은 단백질, 폴리펩티드, 암티센스 DNA 또는 RNA, 또는 효소적으로 활성인 RNA를 포함할 수 있다. 유전자 전달은 배양 세포에서, 또는 포유동물에 직접 투여함으로써 수행될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명에 따른 웨პ티드 코딩 핵산 분자 서열을 포함하는 백터가 제공된다. 특정 구체예에서, 백터는 핵산 분자 서열이 특정 조직에서만 발현되도록 생성된다. 조직 특이적인 유전자 발현을 달성하는 방법은 당업계에 의해 알려졌다. 이는 예를 들어, 하나 이상의 특정 조직에서 발현을 지시하는 프로모터의 조절하에 본 발명에 따른 웨პ티드 코딩 서열을 배치함으로써 달성될 수 있다.

[0227] 레트로바이러스, 우두 바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스, RNA 바이러스 또는 소 유두종 바이러스와 같은 바이러스로부터 유래된 발현 백터는 본 발명에 따른 웨პ티드, 이의 상동체 또는 유도체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, cDNA)을 표적화된 조직 또는 세포 집단으로 전달하는데 사용될 수 있다. 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 그러한 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 백터를 작제할 수 있다.

[0228] 따라서, 본 발명은 외래 또는 자가-항원에 대한 면역 반응에 의해 유발되는 질환의 치료 및/또는 예방을 위한, 생체 내에서 본 발명의 웨პ티드를 발현할 수 있는 핵산의 용도를 개시한다. 일 구체예에 따라, 본 발명에 따른 웨პ티드를 생체 내에서 발현할 수 있는 핵산은 프로모터에 작동 가능하게 연결된 그러한 웨პ티드를 코딩하는 서열이다. 이러한 서열은 직접 또는 간접적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 웨პ티드의 코딩 서열을 함유하는 발현 백터를 세포에 삽입한 후, 세포를 시험관 내에서 증식시키고, 이어 환자에게 주사 또는 주입할 수 있다. 대안적으로, 생체 내에서 본 발명에 따른 웨პ티드를 발현할 수 있는 핵산은 세포의 내인성 발현을 변형시키는 서열이다. 유전자 치료법은 본 발명에 따른 웨პ티드, 그의 상동체 또는 유도체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 또는 본 발명에 따른 웨პ티드를 코딩하는 나 핵산 분자를 포함하는 아데노바이러스 백터의 사용을 포함할 수 있다. 선택적으로, 본 발명에 따른 웨პ티드를 코딩하는 핵산 분자를 함유하는 조작된 세포가 주입될 수 있다.

[0229] 본 발명에 따른 하나 이상의 웨პ티드의 투여가 유전자 전달 (즉, 투여시 생체 내에서 본 발명에 따른 웨პ티드의 발현을 보장하는 핵산의 투여)을 통해 보장되는 경우, 핵산의 결과로서 발현된 웨პ티드의 양에 기초하여, 예를 들어 투여 후 혈액 중의 웨პ티드 농도를 측정함으로써 핵산의 적절한 투여량을 결정할 수 있다. 따라서, 특정 구체예에서, 본 발명의 웨პ티드는 발현 백터에 관계없이 웨პ티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 사용을 통해 투여되며, 따라서 본 발명은 또한 유전자 치료 방법에 관한 것이다. 또 다른 특정 구체예는 면역 장애의 치료 또는 예방을 위해 본 발명의 웨პ티드의 국소적 과발현을 유도하기 위한 방법의 용도에 관한 것이다.

[0230] 본 발명은 본 발명에 따른 하나 이상의 웨პ티드를 포함하고 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 상기에서 상세히 설명한 바와 같이, 본 발명은 또한 약제로서 사용하기 위한 조성물 및 상기 조성물을 사용한 면역 장애 포유동물의 치료 방법, 및 면역 장애의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 상기 조성물의 용도에 관한 것이다. 약제학적 조성물은, 예를 들어 면역 장애, 특히 공기로 운반되는 알레르기 및 식인성 알레르기뿐만 아니라 알레르기 기원의 질환을 치료 또는 예방하기에 적합한 백신일 수 있다. 본원에서 약학 조성물로 기술된 예로서, 본 발명에 따른 웨პ티드는 수산화알루미늄 (알룸)과 같은 포유동물에 투여하기에 적합한 애쥬번트에 흡착된다. 전형적으로, 알룸에 흡착된 50 μg 의 웨პ티드가 2주 간격으로 3회 피하 경로로 주입된다. 구강, 비강 내 또는 근육 내를 포함하는 다른 투여 경로가 가능하다는 것이 당업자에게 명백하다. 또한, 주입 횟수 및 주입량은 치료 상태에 따라 달라질 수 있다. 또한, MHC-클래스 II 제시 및 T 세포 활성화에서 웨პ티드 제시를 촉진한다면, 알룸 이외의 다른 보조제가 사용될 수 있다. 따라서, 활성 성분을 단독으로 투여하는 것이 가능하지만, 전형적으로는 약제학적 제형으로서 제공된다. 본 발명의 수의학적 용도 및 인간 용도 모두를 위한 제형은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 상기한 바와 같은 적어도 하나의 활성 성분을 포함한다. 본 발명은 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께, 활성 성분으로서 본 발명에 따른 하나 이상의 웨პ티드를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 약학적 조성물은 치료 또는 예방의 방법과 관련하여 이후에 나타낸 바와 같은 치료 유효량의 활성 성분을 포함해야 한다. 임의로, 조성물은 다른 치료 성분을 추가로 포함한다. 적합한 다른 치료 성분뿐만 아니라 이들이 속한 부류에 따른 그들의 일반적인 투여량은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 면역 질환 치료에 사용되는 다른 공지된 약물로부터 선택될 수 있다.

[0231]

본원에서 사용된 "약학적으로 허용 가능한 담체"라는 용어는 활성 성분이 예를 들어 조성물을 용해, 분산 또는 확산시킴으로써 치료할 장소로의 적용 또는 전파를 용이하게 하고/하거나, 효과를 저해하지 않고 그의 저장, 운반 또는 취급을 용이하게 하도록 제형화된 임의의 재료 또는 물질을 의미한다. 이들은 임의의 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균 및 항진균제 (예를 들어, 페놀, 소르브산, 클로로부탄올), 등장제 (예를 들어 당 또는 염화나트륨) 등을 포함한다. 조성물 중 면역원성 펩티드의 작용 지속 시간을 조절하기 위해 추가 성분이 포함될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 고체 또는 액체를 형성하도록 압축된 기체일 수 있으며, 즉 본 발명의 조성물은 농축물, 에멀젼, 용액, 과립제, 더스트, 스프레이, 에어로졸, 혼탁액, 연고, 크림, 정제, 알약 또는 분말로서 적절히 사용될 수 있다. 약학 조성물 및 그의 제형에 사용하기에 적합한 약학적 담체는 당업자에게 공지되어 있으며, 본 발명의 범위 내에서 이들의 선택에 특별한 제한은 없다. 이들은 또한 습윤제, 분산제, 중점제, 접착제, 유화제, 용매, 코팅, 항균 및 항진균제 (예를 들어 페놀, 소르브산, 클로로부탄올), 등장제 (예를 들어 당 또는 염화나트륨) 등과 같은 첨가제를 포함할 수도 있으며, 단 이들은 제약 관행에 따라야 하며, 즉 담체 및 첨가제는 포유동물에 영구적인 손상을 주지 않아야 한다. 본 발명의 약학적 조성물은 임의의 공지된 방식으로, 예를 들면, 활성 성분을 선택된 담체 물질 및 적절한 경우, 계면활성제와 같은 다른 첨가제와 함께 단일 단계 또는 복수 단계의 절차로 균질하게 혼합, 코팅 및/또는 분쇄하여 제조할 수 있다. 이들은 또한 예를 들어 일반적으로 약 1 내지 10 μm 의 직경을 갖는 미소구 형태를 수득하기 위한 관점에서, 즉 활성 성분의 조절 방출 또는 지속 방출을 위한 마이크로캡슐의 제조를 위해 미소화에 의해 제조될 수 있다.

[0232]

본 발명의 약학 조성물에 사용하기에 적합한, 에멀젼 또는 유화제로도 알려진 적합한 계면활성제는 양호한 유화, 분산 및/또는 습윤성을 갖는 비이온성, 양이온성 및/또는 음이온성 물질이다. 적합한 음이온성 계면활성제는 수용성 비누 및 수용성 합성 계면활성제 모두를 포함한다. 적합한 비누는 알칼리 또는 알칼리 토금속염, 고급 지방산 (C10-C22)의 비치환되거나 치환된 암모늄염, 예를 들면, 올레산 또는 스테아르산의 나트륨 또는 칼륨염, 또는 코코넛오일 또는 우지로부터 수득할 수 있는 천연 지방산 혼합물이다. 합성 계면활성제는 폴리아크릴산의 나트륨 또는 칼슘 염; 지방 설포네이트 및 설페이트; 설폰화 벤즈이미다졸 유도체 및 알킬아릴설포네이트를 포함한다. 지방 설포네이트 또는 설페이트는 통상 알칼리 또는 알칼리 토금속 염, 비치환 암모늄 염 또는 8 내지 22개의 탄소 원자를 갖는 알킬 또는 아실 라디칼로 치환된 암모늄 염, 예를 들어, 리그노설폰산 또는 도데실설폰산의 나트륨 또는 칼슘 염 또는 천연 지방산으로부터 수득된 지방 알콜 설페이트의 혼합물, 황산 또는 설폰산 에스테르 (예컨대 나트륨 라우릴 설페이트) 및 지방 알콜의 설폰산/에틸렌 옥사이드 부가물의 알칼리 또는 알칼리 토금속 염의 형태이다. 적합한 설폰화 벤즈이미다졸 유도체는 전형적으로 8 내지 22개의 탄소 원자를 함유한다. 알킬아릴설포네이트의 예로는 도데실벤젠 설폰산 또는 디부틸-나프탈렌설폰산 또는 나프탈렌-설폰산/포름알데히드 축합 생성물의 나트륨, 칼슘 또는 알칸올아민 염이 있다. 또한, 상응하는 포스페이트, 예를 들어 인산 에스테르 및 p-노닐페놀과 에틸렌 및/또는 프로필렌 옥사이드의 부가물, 또는 인지질의 염이 적합하다. 이러한 목적에 적합한 인지질은 천연 (동물 또는 식물 세포 유래) 또는 예를 들어, 세팔린 또는 레시틴 유형의 합성 인지질, 예컨대 포스파티딜-에탄올, 포스파티딜세린, 포스파티딜글리세린, 리소레시틴, 카디오리핀, 디옥타닐포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜콜린 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0233]

적합한 비이온성 계면활성제는 분자 내에 적어도 12개의 탄소 원자를 함유하는 알킬 페놀, 지방 알콜, 지방산, 지방족 아민 또는 아미드의 폴리에톡실화 및 폴리프로포실화 유도체, 알킬아렌 설포네이트 및 디알킬설포숙시네이트, 예컨대 지방족 및 지환식 알콜의 폴리글리콜 에테르 유도체, 포화 및 불포화 지방산 및 알킬 페놀을 포함하며, 유도체는 전형적으로 (지방족) 탄화수소 잔기에 3 내지 10개의 글리콜 에테르기 및 8 내지 20개의 탄소 원자와 알킬 페놀의 알킬 잔기에 6 내지 18개의 탄소 원자를 함유한다. 추가의 적합한 비이온성 계면활성제는 폴리에틸렌 옥사이드와 폴리프로필렌 글리콜, 알킬 쇄에 1 내지 10개의 탄소 원자를 함유하는 에틸렌디아미노폴리프로필렌 글리콜의 수용성 부가물이며, 상기 부가물은 20 내지 250개의 에틸렌글리콜 에테르기 및/또는 10 내지 100개의 프로필렌글리콜 에테르기를 함유한다. 이러한 화합물은 일반적으로 프로필렌글리콜 단위당 1 내지 5 개의 에틸렌글리콜 단위를 함유한다. 비이온성 계면활성제의 대표적인 예로는 노닐페놀-폴리에톡시에탄올, 피마자유 폴리글리콜 에테르, 폴리프로필렌/폴리에틸렌 옥사이드 부가물, 트리부틸페녹시폴리에톡시에탄올, 폴리에틸렌글리콜 및 옥틸페녹시폴리에톡시에탄올이 있다. 폴리에틸렌 소르비탄의 지방산 에스테르 (예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비탄 트리올레이트), 글리세롤, 소르비탄, 수크로스 및 펜타에리트리톨이 또한 적합한 비이온성 계면활성제이다. 적합한 양이온성 계면활성제는 할로, 페닐, 치환된 페닐 또는 하이드록시로 임의로 치환된 4개의 탄화수소 라디칼을 갖는 4급 암모늄 염, 특히 할로겐화물; 예를 들어 N-치환체로서 적어도 하나의 C8-C22 알킬 라디칼 (예를 들어, 세틸, 라우릴, 팔미틸, 미리스틸, 올레일 등) 및 추가의 치환체로서 비치환 또는 할로겐화 저급 알킬, 벤질 및/하이드록시-저급 알킬 라디칼을 가지는 4급 암모늄 염을 포함한다.

[0234]

이 목적에 적합한 계면활성제의 보다 상세한 설명은 예를 들어 "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" (MC Publishing Crop., Ridgewood, New Jersey, 1981), "Tensid-Taschenbuch", 2d ed. (Hanser Verlag, Vienna, 1981) 및 "Encyclopaedia of Surfactants, (Chemical Publishing Co., New York, 1981)에 기술되어 있다. 본 발명에 따른 웹티드, 그의 상동체 또는 유도체 (및 이들의 생리학적으로 허용 가능한 염 또는 약학 조성물 - 모두 용어 "활성 성분"에 포함됨)는 치료할 상태에 적절하고 화합물, 여기에서는 투여되는 단백질 및 단편에 적절한 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 가능한 경로는 국부, 전신, 구강 (고체 형태 또는 흡입), 직장, 비강, 국소 (안구, 협축 및 설하 포함), 질 및 비경구 (피하, 근육 내, 정맥 내, 피 내, 동맥 내, 척수강 내 및 경막 외 포함)를 포함한다. 바람직한 투여 경로는 예를 들어 수용자의 상태 또는 치료할 질환에 따라 달라질 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 담체(들)는 최적으로는 제형의 다른 성분과 양립할 수 있고 수용자에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용 가능하다". 제형은 경구, 직장, 비강, 국소 (협축 및 설하 포함), 질 또는 비경구 (피하, 근육 내, 정맥 내, 피 내, 동맥 내, 경막 내 및 경막 외 포함) 투여에 적합한 것들을 포함한다. 제형은 단위 투약 형태로 편리하게 제공될 수 있으며, 제약 분야에 주지인 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 활성 성분을 하나 이상의 보조 성분을 구성하는 담체와 결합하는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 성분을 액체 담체 또는 미세하게 분할된 고체 담체 또는 둘 다와 균일하고 친밀하게 결합시킨 다음, 필요하다면 생성물을 성형하여 제조된다. 경구 투여에 적합한 본 발명의 제형은 소정량의 활성 성분을 각각 함유하는 캡슐, 카세제 또는 정제와 같은 분리된 단위; 분말 또는 과립; 수성 액체 또는 비수성 액체 중 용액 또는 혼탁액; 또는 수중유 액체 에멀젼 또는 유중수 에멀젼으로서 존재할 수 있다. 활성 성분은 또한 볼러스 (bolus), 연약 또는 페이스트로 제공될 수 있다. 정제는 임의로 하나 이상의 보조 성분과 함께 압축 또는 성형하여 제조될 수 있다. 압축 정제는 임의로 결합제, 윤활제, 불활성 희석제, 방부제, 표면활성제 또는 분산제와 혼합된 분말 또는 과립과 같은 자유 유동 형태의 활성 성분을 적합한 기계에서 압축하여 제조할 수 있다. 성형 정제는 불활성 액체 희석제로 습윤화된 분말화 화합물의 혼합물을 적합한 기계에서 성형하여 제조할 수 있다. 정제는 임의로 코팅되거나 분할될 수 있으며, 그 안에 활성 성분이 서서히 또는 조절 방출되도록 제형화될 수 있다.

[0235]

예를 들어, 관절 부위와 같은 피부 상에서의 국소적 치료를 위해, 제형은 임의로, 예를 들어 0.075 내지 20% w/w, 특히 0.2 내지 15% w/w 및 보다 특히 0.5 내지 10% w/w의 양으로 활성 성분(들) (0.1% w/w의 중분으로 0.1% 내지 20% 범위, 예컨대 0.6% w/w, 0.7% w/w의 활성 성분(들)을 포함함)을 함유하는 국소 연고 또는 크림으로서 도포된다. 연고에서 제형화되는 경우, 활성 성분은 파라핀계 또는 수흔화성 연고 베이스와 함께 사용될 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 수중유 크림베이스와 함께 크림으로 제형화될 수 있다. 원한다면, 크림 기재의 수성상은, 예를 들어 적어도 30% w/w의 다가 알콜, 즉 2개 이상의 하이드록실기를 갖는 알콜, 예컨대 프로필렌 글리콜, 부탄 1,3-디올, 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG400 포함) 및 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 국소 제제는 바람직하게는 피부 또는 다른 질병 부위를 통해 활성 성분의 흡수 또는 침투를 증진시키는 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 피부 침투 증진제의 예로는 디메틸실록시드 및 관련 유사체가 포함된다. 본 발명의 에멀젼의 유상은 공지 성분으로부터 공지된 방식에 의해 구성될 수 있다. 상은 단지 유화제 (다르게는 에멀젼으로도 공지됨) 만을 포함할 수 있지만, 바람직하게는 적어도 하나의 유화제와 지방 또는 오일, 또는 지방 및 오일 둘 다와의 혼합물을 포함한다. 임의로, 친수성 유화제는 전형적으로 오일 및 지방 둘 다를 포함함으로써 안정화제로서 작용하는 친유성 유화제와 함께 포함된다. 함께, 안정화제가 있거나 없는 유화제(들)는 소위 유화 왁스를 구성하고, 오일 및 지방과 함께 왁스는 크림 제형의 유성 분산상을 형성하는 소위 유화 연고 베이스를 구성한다.

[0236]

제형에 적합한 오일 또는 지방의 선택은 약학적 에멀젼 제형에 사용되는 것과 같은 대부분의 오일에서 활성 화합물의 용해도가 매우 낮기 때문에 목적하는 미용적 특성의 달성을 기초한다. 따라서 크림은 임의로, 튜브 또는 다른 용기로부터의 누출을 피하기 위해 적절한 점도를 지닌 비기름성이고 비착색성이며 세탁가능한 제품이어야 한다. 직쇄 또는 분지쇄, 일- 또는 이염기성 알킬 에스테르, 예컨대 디이소아디페이트, 이소세틸 스테아레이트, 코코넛 지방산의 프로필렌 글리콜 디에스테르, 이소프로필 미리스테이트, 데실 올레아이트, 이소프로필 팔미테이트, 및 특히 부틸 스테아레이트, 2-에틸헥실 팔미테이트 또는 Crodamol CAP로 알려진 분지쇄 에스테르의 블렌드가 사용될 수 있다. 이들은 요구되는 특성에 따라 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 대안적으로, 백색 연질 파라핀 및/또는 액체 파라핀 또는 다른 광물성 오일과 같은 고용접 지질이 사용될 수 있다. 눈의 국소 투여에 적합한 제형은 또한 활성 성분이 적합한 담체, 특히 활성 성분용 수성 용매에 용해되거나 혼탁된 점안제를 포함한다. 활성 성분은 상기 제형에 임의로 0.5 내지 20%, 유리하게는 0.5 내지 10%, 특히 약 1.5% w/w의 농도로 존재한다. 구강 내 국소 투여에 적합한 제형은 향미 베이스, 일반적으로 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸트 중에 활성 성분을 포함하는 로젠판; 젤라틴 및 글리세린 또는 수크로스 및 아카시아와 같은 불활성 기제

중에 활성 성분을 포함하는 향정; 및 적합한 액체 담체 중에 활성 성분을 포함하는 구강세정제를 포함한다. 직장 투여용 제형은 예를 들어 코코아 버터 또는 살리실레이트를 포함한 적합한 베이스를 가지는 좌제로서 제공될 수 있다. 담체가 고체인 비강 투여에 적합한 제형은, 예를 들어 20 내지 500 미크론 범위의 입자 크기 (예컨대 30 미크론, 35 미크론 등과 같이 5 미크론의 중분을 가지는 20 내지 500 미크론 범위의 입자 크기 포함)를 가지는 조 분말을 포함하며, 이는 코로 들이쉬는, 즉 분말 용기를 코에 바싹 들이대어 비강 통로를 통해 신속 흡입되는 방식으로 투여된다. 예를 들어 비강 스프레이 또는 점비액으로 투여하기 위해 담체가 액체인 적합한 제형은 활성 성분의 수성 또는 유성 용액을 포함한다. 에어로졸 투여에 적합한 제형은 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있으며 다른 치료제와 함께 전달될 수 있다. 질내 투여에 적합한 제형은 활성 성분 외에 당 업계에 적절한 것으로 알려진 담체를 함유하는 페서리, 탬пон, 크림, 젤, 페이스트, 발포체 또는 스프레이 제형으로 제공될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 제형은 항산화제, 완충액, 정균제 및 제형을 의도된 수용자의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 주사 용액; 및 혼탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 혼탁액을 포함한다. 제형은 단위 용량 또는 다중 용량 용기, 예를 들어 밀봉 앰플 및 바이알에 제공될 수 있으며, 사용 직전 멸균 액체 담체, 예를 들어 주사용수의 첨가만을 필요로 하는 냉동 건조 (동결 건조) 상태로 저장될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 혼탁액은 전술한 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다.

[0237] 전형적인 단위 용량 제형은 활성 성분을 상기 언급된 바와 같이 1일 용량 또는 단위 1일 아용량 또는 이의 적절한 소부분을 함유하는 제형이다. 특히 상기 언급된 성분 이외에, 본 발명의 제형은 해당 제형의 티입을 고려하여 당 업계에서 통상적인 다른 제제를 포함할 수 있으며, 예를 들어 경구 투여에 적합한 것은 향미제를 포함할 수 있는 것으로 이해하여야 한다. 본 발명에 따른 웨티드, 그의 상동체 또는 유도체는 보다 적은 투여 빈도를 허용하거나 주어진 본 발명 화합물의 약동학 또는 독성 프로파일을 개선하도록 활성 성분의 방출을 제어 및 조절할 수 있는 하나 이상의 본 발명의 화합물 ("방출 조절 제형")을 활성 성분으로 함유하는 방출 조절 약학 제형을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 하나 이상의 화합물을 포함하는 개별 단위인 경구 투여에 적합한 조절 방출 제형은 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 조성물 중의 활성 성분의 작용 지속 시간을 조절하기 위해 추가의 성분이 포함될 수 있다. 따라서, 예를 들어 폴리에스테르, 폴리아미노산, 폴리비닐 피롤리돈, 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체, 메틸셀룰로오스, 카복시메틸셀룰로오스, 프로타민 황산염 등과 같은 적당한 중합체 담체를 선택함으로써 방출 조절 조성물을 수득할 수 있다. 약물 방출 속도 및 작용 지속 시간은 또한 활성 성분을 하이드로겔, 폴리락트산, 하이드록시메틸셀룰로오스, 폴리에틸 메타크릴레이트 및 기타 상기 기재된 폴리머와 같은 폴리머 물질의 입자, 예를 들어 마이크로캡슐에 도입시킴으로써 제어할 수 있다. 그러한 방법은 리포솜, 마이크로스피어, 마이크로에멀젼, 나노입자, 나노캡슐 등과 같은 콜로이드 약물 전달 시스템을 포함한다. 투여 경로에 따라, 약학 조성물은 보호 코팅을 필요로 할 수 있다. 주사에 적합한 약학 형태는 멸균 수용액 또는 분산액 및 그의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 따라서, 이러한 목적에 전형적인 담체는 생체적 합성 수성 완충액, 에탄올, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등 및 이들의 혼합물을 포함한다. 다수의 활성 성분을 조합하여 사용하는 경우, 이들은 치료하고자 하는 포유동물에서 동시에 공동 치료 효과를 직접적으로 발휘할 필요가 없다는 사실에 비추어 볼 때, 해당 조성물은 또한 분리되었지만 인접한 저장소 또는 구획에 두 가지 성분이 들어 있는 의학적 키트 또는 패키지의 형태일 수 있다. 따라서, 후자와 관련하여, 각 활성 성분은 다른 성분의 것과 상이한 투여 경로에 적합한 방식으로 제형화될 수 있으며, 예를 들어 그 중 하나는 경구 또는 비경구 제형의 형태일 수 있고, 다른 하나는 정맥 내 주사용 앰플 또는 에어로졸 형태이다.

[0238] 본 발명에서 수득된 세포용해성 CD4+ T 세포는 시험관 내 및 생체 내에서 입증된 바와 같이, 수지상 세포 및 B 세포 모두에 영향을 미치는 MHC-클래스 II 의존성 동족 활성화 후 APC 세포자멸을 유도하며, (2) IL-10 및/또는 TGF- β 의 부재하에서 접촉 의존성 메카니즘에 의해 방관자 T 세포를 억제한다. 세포용해성 CD4+ T 세포는 WO2008/017517호에 상세히 논의된 바와 같이, 천연 및 입양성 Tregs 양자와 구별될 수 있다.

[0239] 본 발명은 이제 어떤 제한의 의도도 없이 제공되는 하기 실시예에 의해 예시될 것이다. 또한, 여기에 기술된 모든 참조문헌은 본원에 참조로서 명시적으로 포함된다.

0240] 실시예

0241] 실시예 1: 웨티드의 환원 활성을 평가하기 위한 방법

웨티드의 리덕타아제 활성은 문헌[Tomazzolli *et al.* (2006) *Anal. Biochem.* 350, 105-112]에 기술된 형광체를 사용하여 결정된다. FITC 표지된 두 개의 웨티드는 디설파이드 브릿지를 통해 서로 공유결합하는 경우 자체 소멸된다. 본 발명에 따른 웨티드에 의한 환원 시, 환원된 개별 웨티드는 다시 형광성으로 된다.

[0243] 대조군 실험은 "일반적인" 환원 웨티드를 가지는 웨티드, 즉 산화환원 모티프를 가지지만 추가적인 히스티딘이 없는 웨티드 및 산화환원 모티프를 포함하지 않는 웨티드로 수행하였다.

실시예 2: 세포의 활성화 측정

[0245] 본 발명의 웨티드에 의해 수득된 항원 특이적 세포용해성 세포는 항원 제시 세포를 세포 자멸사하도록 유도할 수 있다. 활성화를 평가하고 스스로 세포 자멸사를 유도하는 세포용해 세포의 실질적인 과활성화를 방지하기 위해, Akt와 Shp의 인산화 상태는 세포의 활성화 (세포사멸 가능)와 세포의 과활성화 (자기-세포 자멸) 사이에 상관관계를 끌어낸다.

실시예 3: MOG 유래 웨티드의 설계

[0247] 본 발명의 웨티드의 일례는 서열 HCPYCSR VVHLYRNGKD [서열번호 1]를 갖는 웨티드이다. 이 웨티드는 자체가 VVHLYRNGK 노나웨티드 MHC 클래스 II T 세포 에피토프 서열 [서열 번호 3]을 함유하는 인간 MOG 단백질 (미엘린 회돌기교세포 당단백질) (uniprot Q16653 수여 번호)의 SRVHLYRNGKD [서열번호 2] 단편을 포함한다. 본 출원에 언급된 정의에 따라, 이 17AA 웨티드는 다음을 포함한다:

- Pro 및 Tyr을 x로 하는 변형된 산화환원 모티프 H-C-X(2)-C [서열번호 80],

- 모티프와 T 세포 에피토프 서열 사이에 2개의 아미노산 (Ser, Arg)의 링커,

- 서열 VVHLYRNGK [서열번호 3]를 갖는 9개 아미노산의 MHC 클래스 T 세포 에피토프,

- 에피토프의 하나의 아미노산 플랭킹 서열 (Asp) c 말단.

[0252] MOG 웨티드 단편 YRPPFSRVVHLYRNGKD [서열번호 4]의 서열과 비교하여, 서열 내 YRPPF [서열번호 5]가 서열 HCPYC [서열 번호 6]로 대체되었다.

[0253] 대조 웨티드는 다음과 같다:

YRPPFSRVVHLYRNGKD [서열번호 4], 즉 MOG의 상기 단편.

CPYCSR VVHLYRNGKD [서열번호 7], C(X)2C 모티프 [서열번호 71]를 가지지만 추가적인 히스티딘은 없음.

SRVHLYRNGKD [서열번호 2], 또한 C(X)2C 모티프 [서열번호 71]가 없음.

[0257] 웨티드는 CONH₂ 변형된 카복시 말단을 가지고 웨티드 합성에 의해 제조되고 질량 분광법 및 HPLC에 의해 순도에 대해 시험되었다.

실시예 4: 세포주의 시험관 내 확장

[0259] 추가의 히스티딘 부재하 (도 1에서 오른쪽 바) [서열번호 7] 및 존재하 (도 1에서 왼쪽 막대) [서열번호 1]에 산화환원 모티프 및 T 세포 에피토프 MOG를 가지는 웨티드에 대한 나이브 인간 CD4+ T 세포주의 반응.

[0260] 동일한 양의 두 웨티드를 상이한 나이브 인간 CD4+ T 세포주에 첨가하였다. 그 결과 임상 규모 과정의 마지막에 세포용해성을 갖는 분화된 T 세포의 생성을 유도하는 세포수 (시드된 초기 세포의 %로서)를 나타낸다.

[0261] 시험관 내에서 이와 같은 세포 전환의 현저한 증가는 추가 히스티딘이 첨가되는 경우 얻어지는데, 단 DR2 단상형을 나타내는 사람의 세포주에 대해서만 그러하고, 다른 단상형에 대해서는 그렇지 않다.

[0262] 따라서 이러한 웨티드의 사용은 DR2+ 집단에 대해 특히 흥미로우며 (다시 MS 집단의 70%), 히스타민 함유 웨티드를 사용함으로써 확실하고 (예상치 못한) 이점이 있는 것으로 보인다.

실시예 5: 다발성 경화증에 대한 생체 내 모델에서 MOG 단백질의 T 세포 에피토프의 사용.

[0264] 다발성 경화증은 T 세포 에피토프를 가진 미엘린 회돌기교세포 당단백질 (MOG) 웨티드로 면역화하여 실험 모델에서 유도할 수 있다.

[0265] C57BL/6 마우스 그룹에 다발성 경화증 유사 증후군을 유도하기 위한 프로토콜에 따라 CD4+ MOG-특이적 이펙터 T 세포 클론을 입양적으로 전달하였다. 이것은 완전 프로인트 보조제에 MOG 웨티드를 투여하고 백일해 독소를 2회 주사하는 것을 포함한다. 이 프로토콜은 이펙터 T 세포 클론의 확장을 유도하고, 그 결과 MOG 웨티드 투여 후 12일 이내에 다발성 경화증에 대한 징후가 생긴다. C57BL/6 마우스의 제2 그룹에 우선 MOG-특이적 세포용해성 T 세포 클론 [서열 번호 1]을 입양적으로 전달하고, 하루 후에 질병 유도의 전체 프로토콜을 이행하였다.

[0266] 서열 번호 2, 4 및 7의 웨티드가 대조군으로 사용되었다.

실시예 6: 다발성 경화증의 예방 및 억제

[0267] C57BL/6 마우스 그룹을 수산화알루미늄 상에 흡착된 변형된 서열 모티프 [서열 번호 1] 또는 대조 웨티드 [서열 번호 2, 4 또는 7]를 함유하는 실시예 1의 웨티드로 피하 ($20 \mu\text{g}$)로 면역화하였다. 3회 주사를 2주 간격으로 수행하였다. 최종 면역화 10일 후, 마우스를 희생시키고, 자기 비드를 사용하여 비장으로부터 $CD4^+ \text{ T 세포} (2 \times 10^6 \text{ 세포})$ 를 준비하였다. 이어 $CD4^+ \text{ T 세포}$ 를 부착성 비장 세포 ($2 \times 10^6 \text{ 세포}$)에 의해 제시되는 MOG T 세포에 피토프 ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$)에 의해 시험관 내에서 자극하였다.

[0268] 4회의 재자극 후, T 세포주를 EAE (실험적 자가면역 뇌염)가 유효한 동물로부터 수득된 다클론성 $CD4^+ CD25^-$ 세포를 표적 세포로 하여 방관자 억제 분석법으로 시험하였다. HC(X)2C [서열 번호 80] 또는 C(X)2C [서열 번호 71] 서열 모티프를 포함하는 서열 번호 1 및 7의 웨티드로 면역화된 동물로부터 수득한 세포 만이 EAE 동물 유래의 이펙터 $CD4^+ CD25^-$ 로 구성된 대조군과 비교하여 표적 세포에서 사멸을 유도하는 능력을 가졌다.

[0269] C57BL/6 마우스 그룹에 $CD4^+ MOG$ -특이적 $CD4^+ \text{ T 세포}$ 클론을 입양적으로 전달하고, 하루 후에 다발성 경화증 유사 증후군을 유발하는 프로토콜을 이행하였다. 이것은 완전 프로인트 보조제에 MOG 웨티드를 투여하고 백일해 독소를 2회 주사하는 것을 포함한다. 이 프로토콜은 이펙터 T 세포 클론의 확장을 유도하고, 그 결과 MOG 웨티드 투여 후 12일 이내에 다발성 경화증에 대한 징후가 생긴다. 세포용해성 T 세포 클론으로 전처리된 마우스에 의해 발생한 임상 점수가 질병 유도의 전체 프로토콜만을 따른 마우스와 비교되었다.

실시예 7: 웨티드 면역화에 의한 다발성 경화증의 예방

[0270] 모델 그룹에는, C57BL6 마우스에 0일째, CFA 중 $100 \mu\text{g}$ 의 MOG 웨티드/ $400 \mu\text{g}$ 의 *Mycobacterium butyricum*을 피하 주사하고 NaCl 중 $300 \mu\text{g}$ 의 *Bordetella pertussis*를 복강 내 주사하였다. +2일에 *Bordetella pertussis*를 이차 주사하였다.

[0271] 예방 그룹에는 모델 그룹에서와 같이 질병을 유도하기 전에 14일째에 IFA 중 서열 모티프 HC(X)2C [서열 번호 80]를 함유하는 서열 번호 1의 웨티드 $20 \mu\text{g}$ 을 5회 주사하여 C57BL/6 마우스를 면역화시켰다. 대조 실험은 서열 번호 2, 4 및 7을 갖는 웨티드로 수행되었다.

[0272] 점수는 0: 질병 없음, 1: 축 처진 꼬리, 2: 축 처진 꼬리 및 10% 초과 체중 감소, 3: 뒷다리 부분 마비로서 이루어진다.

실시예 9

합성 웨티드에서 리덕타아제의 활성 평가

[0273] FITC -NH-Gly-Cys-Asp-COOH 웨티드를 합성하고 (Eurogentec, Belgium), DMSO에 용해시켜 자가 켄칭시켰다 ((FITC-Gly-Cys-Asp)_{ox}). $2.5 \mu\text{M}$ (FITC-Gly-Cys-Asp)_{ox}의 환원을, 다음 표에 나열된 웨티드 ($25 \mu\text{M}$) 또는 2 mM 디티오프레이탈 (DTT)과 함께 PBS에서 인큐베이션한 후, 96 웨일 플레이트에서 40 분 (25°C) 동안 수행하였다. 환원은 CytoFluor[®] 멀티플레이트 판독기 (Applied Biosystems)를 사용하여 494 nm 에서 여기 후 530 nm 에서 기록된 형광 증가의 함수로 측정되었다. 결과를 실시예 10의 표에 "리덕타아제 활성" 표제하에 나타내었다.

실시예 10

인간 재조합 CD4의 중합

[0274] 인간 재조합 CD4 (300 ng)를 Hepes 완충액에서 68°C 에서 15분 동안 표에 열거된 웨티드 $50 \mu\text{M}$ 과 함께 인큐베이션하였다. $50 \mu\text{M}$ 의 DTT가 동일한 조건에서 양성 대조군으로 사용되었다. 이어 LDS 샘플 완충액 ($7.5 \mu\text{l}$, 비환원)을 $15 \mu\text{l}$ 의 웨티드/CD4 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 비환원성 PAGE에 적용하였다. 쿠마시 블루 염색 후, 단백질 랜드를 겔로의 이동성 감소로 확인되는 바와 같이 단량체, 이량체 또는 다량체 recCD4의 존재에 대해 분석하였다. 표는 중합이 일어났는지의 여부를 나타낸다 (+).

서열 번호	N-말단	모티프	링커	에피토프	C-말단	리덕타아제 활성 (%)	CD4 중합
-------	------	-----	----	------	------	--------------	--------

108	H	CPYC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	68	+
109	HAA	CPYC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	0	+
110	AHA	CPYC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	13	+
111	AAA	CPYC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	6	+
112	AAA	CHPC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	75	+
113	AAH	CHPC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	64	+
114	AAA	CHGC	VRSLQP	LAEGSLQK	RG	22	낮음

[0281]

상기 표는 인간 프로인슐린의 클래스 II-제한 에피토프의 아미노 말단에 첨가된 아미노산 서열의 다양한 조합을 제공한다. 이들 서열은 티오리덕타아제 함유 모티프의 첫 번째 시스테인 앞쪽에 아미노 말단 서열 (N-term), 모티프 자체, 링커, 에피토프 및 C-말단 (C-term)으로 구성된다. 리덕타아제 활성은 실시예 1에서 기술된 바와 같이 %로 표현된다. 인간 재조합 CD4의 중합은 실시예 2에 따라 측정된다.

[0282]

본 출원에 개시된 펩티드

[0283]

하기 서열 1 내지 70에서, x가 존재하는 경우, x는 시스테인이나 히스티딘이 아니다.

[0285] 개시된 웹티드 서열의 개요.

HCPYCSRVVHLYRNGKD	[서열 번호 1]
SRVVHLYRNGKD	[서열 번호 2]
VVHLYRNGK	[서열 번호 3]
YRPPFSRVVHLYRNGKD	[서열 번호 4]
YRPPF	[서열 번호 5]
HCPYC	[서열 번호 6]
CPYCSRVVHLYRNGKD	[서열 번호 7]
HCPYCSRVVHLYRNGK	[서열 번호 8]
CGFSSNYCQIYPPNANKIR	[서열 번호 9]
HCGFSSNYCQIYPPNANKIR	[서열 번호 10]
HCGFCSNYCQIYPPNANKIR	[서열 번호 11]
CHGSEPCIIHRGKPF	[서열 번호 12]
HCHGSEPCIIHRGKPF	[서열 번호 13]
HCHGCEPCIIHRGKPF	[서열 번호 14]
HCxGSEPCIIHRGKPF	[서열 번호 15]
HCxGCEPCIIHRGKPF	[서열 번호 16]
CHGCAQKKIIAEK	[서열 번호 17]
HCHGCAQKKIIAEK	[서열 번호 18]
HCxGCAQKKIIAEK	[서열 번호 19]
CGPCMNEELTERL	[서열 번호 20]
HCGPCMNEELTERL	[서열 번호 21]
CGPSAALTWVQTH	[서열 번호 22]
HCGPSAALTWVQTH	[서열 번호 23]
CHGCPPTLLYVLFEV	[서열 번호 24]
HCHGCPPTLLYVLFEV	[서열 번호 25]
HCxGCPPTLLYVLFEV	[서열 번호 26]
CGPCGGYVPFHIQVP	[서열 번호 27]
HCGPCGGYVPFHIQVP	[서열 번호 28]
CGHCDKHIEQYLK	[서열 번호 29]
HCHGCDKHIEQYLK	[서열 번호 30]
HCxCDKHIEQYLK	[서열 번호 31]
CGHCEKKICKMEK	[서열 번호 32]
HCHGCEKKICKMEK	[서열 번호 33]
HCxCEKKICKMEK	[서열 번호 34]
CGHCKYVKQNTLK	[서열 번호 35]
HCGHCKYVKQNTLK	[서열 번호 36]

[0286]

HCGxCKYVKQNTLK	[서열 번호 37]
CGHCEHPIVVSGS	[서열 번호 38]
HCGHCEHPIVVSGS	[서열 번호 39]
HCGxCEHPIVVSGS	[서열 번호 40]
CGHCRAMYAPPIA	[서열 번호 41]
HCGHCRAMYAPPIA	[서열 번호 42]
HCGxCRAMYAPPIA	[서열 번호 43]
CHGCYCAVPDDPDA	[서열 번호 44]
HCHGCYCAVPDDPDA	[서열 번호 45]
HCxGCYCAVPDDPDA	[서열 번호 46]
CGHCGGIRLHPTHYSIR	[서열 번호 47]
HCGHCGGIRLHPTHYSIR	[서열 번호 48]
HCGxCGGIRLHPTHYSIR	[서열 번호 49]
CHGCYRQVPGSDP	[서열 번호 50]
HCHGCYRQVPGSDP	[서열 번호 51]
HCxGCYRQVPGSDP	[서열 번호 52]
CHGCFVALCATDV	[서열 번호 53]
HCHGCFVALCATDV	[서열 번호 54]
HCxGCFVALCATDV	[서열 번호 55]
CHGCFKELEGWEP	[서열 번호 56]
HCHGCFKELEGWEP	[서열 번호 57]
HCxGCFKELEGWEP	[서열 번호 58]
CHGCVASSYAAQ	[서열 번호 59]
HCHGCVASSYAAQ	[서열 번호 60]
HCxGCVASSYAAQ	[서열 번호 61]
CHGCFNSNRANSS	[서열 번호 62]
HCHGCFNSNRANSS	[서열 번호 63]
HCxGCFNSNRANSS	[서열 번호 64]
CGHCLVLAPTREL	[서열 번호 65]
HCGHCLVLAPTREL	[서열 번호 66]
HCGxCLVLAPTREL	[서열 번호 67]
CGHCPEFLEQKRA	[서열 번호 68]
HCGHCPEFLEQKRA	[서열 번호 69]
HCGxCPEFLEQKRA	[서열 번호 70]
CXXC	[서열 번호 71]
CXXS	[서열 번호 72]

[0287]

CXXT	[서열 번호 73]
SXXC	[서열 번호 74]
TXXC	[서열 번호 75]
XXXC	[서열 번호 76]
CXXX	[서열 번호 77]
HCXXX	[서열 번호 78]
XXXCH	[서열 번호 79]
HCXXC	[서열 번호 80]
HCXXS	[서열 번호 81]
HCXXT	[서열 번호 82]
CXXCH	[서열 번호 83]
SXXCH	[서열 번호 84]
TXXCH	[서열 번호 85]
HCXXCH	[서열 번호 86]
XXXXLX	[서열 번호 87]
DXXXL	[서열 번호 88]
YXXX	[서열 번호 89]

HX(0, 2)CXX[CST] :

H CXX[CST]	[서열 번호 78]
HX CXX[CST]	[서열 번호 90]
HXXCXX[CST]	[서열 번호 91]

[CST]xxC(0, 2)H:

[CST]XXCH	[서열 번호 79]
[CST]XXCXH	[서열 번호 92]
[CST]XXCXXH	[서열 번호 93]

CXXCX(0, 2)H:

CXXC H	[서열 번호 83]
CXXCX H	[서열 번호 94]
CXXCXXH	[서열 번호 95]

H(0, 2)CXXC:

H CXXC	[서열 번호 83]
H XCXXC	[서열 번호 96]
HXXCXXC	[서열 번호 97]

HX(0, 2)XCXXS:

H CXXS	[서열 번호 81]
H XCXXS	[서열 번호 98]
HXXCXXS	[서열 번호 99]

HX(0, 2)XCXXT:

H CXXT	[서열 번호 82]
H XCXXT	[서열 번호 100]
HXXCXXT	[서열 번호 101]

[0288]

SXXCX(0, 2)H	[서열 번호 84]
SXXC H	[서열 번호 102]
SXXCX H	[서열 번호 103]

TXXCX(0, 2)H:

TXXC H	[서열 번호 85]
TXXCX H	[서열 번호 104]
TXXCXXH	[서열 번호 105]

HCHXC	[서열 번호 106]
CXXHCH	[서열 번호 107]

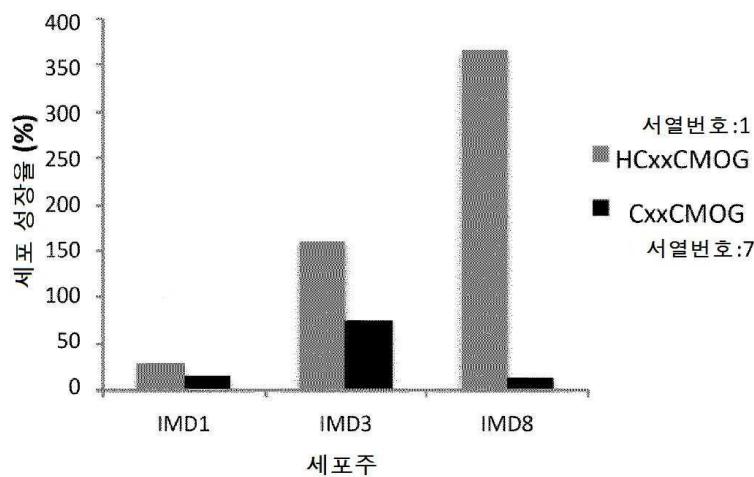
H CPYCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 108]
HAACPYCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 109]
AHACPYCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 110]
AAACPYCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 111]
AAACHPCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 112]
AAHCHPCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 113]
AAACHGCVRSLQPLALEGSLQKRG	[서열 번호 114]

HX CPYCSRVVHLYRNGKD	[서열 번호 115]
HXXCPYCSRVVHLYRNGKD	[서열 번호 116]

[0289]

도면

도면1



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ImCyse S.A.

Saint-Remy, Jean-Marie

Vander Elst, Luc

Carlier, Vincent

Burkhart, David J.

<120> Novel immunogenic peptides

<130> IMC2637PCT

<150> GB1418433.7

<151> 2014-10-17

<160> 116

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic peptide

<400> 1

His Cys Pro Tyr Cys Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 2
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220><223> synthetic peptide
 <400> 2

Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys Asp

1 5 10

<210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220><223> synthetic peptide
 <400> 3

Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys

1 5

<210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220><223> synthetic peptide
 <400> 4

Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 5

Tyr Arg Pro Pro Phe

1 5

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 6

His Cys Pro Tyr Cys

1 5

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 7

Cys Pro Tyr Cys Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys Asp

1 5 10

15

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 8

His Cys Pro Tyr Cys Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys

1 5 10 15

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 9

Cys Gly Phe Ser Ser Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Ala Asn

1 5 10 15

Lys Ile Arg

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 10

His Cys Gly Phe Ser Ser Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Ala

1 5 10 15

Asn Lys Ile Arg

20

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 11

His Cys Gly Phe Cys Ser Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Ala

1 5 10 15

Asn Lys Ile Arg

20

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 12

Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe

1 5 10 15

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 13

His Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe

1 5 10 15

<210> 14

<211

> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 14

His Cys His Gly Cys Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 15

His Cys Xaa Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe

1 5 10 15

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 16

His Cys Xaa Gly Cys Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe

1 5 10 15

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 17

Cys His Gly Cys Ala Gln Lys Lys Ile Ile Ala Glu Lys

1 5 10

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 18

His Cys His Gly Cys Ala Gln Lys Lys Ile Ile Ala Glu Lys

1 5 10

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 19

His Cys Xaa Gly Cys Ala Gln Lys Lys Ile Ile Ala Glu Lys

1 5 10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 20

Cys Gly Pro Cys Met Asn Glu Glu Leu Thr Glu Arg Leu

1 5 10

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 21

His Cys Gly Pro Cys Met Asn Glu Glu Leu Thr Glu Arg Leu

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 22

Cys Gly Pro Ser Ala Ala Leu Thr Trp Val Gln Thr His

1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 23

His Cys Gly Pro Ser Ala Ala Leu Thr Trp Val Gln Thr His

1 5 10

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 24

Cys His Gly Cys Pro Thr Leu Leu Tyr Val Leu Phe Glu Val

1 5 10

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 25

His Cys His Gly Cys Pro Thr Leu Leu Tyr Val Leu Phe Glu Val

1 5 10 15

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 26

His Cys Xaa Gly Cys Pro Thr Leu Leu Tyr Val Leu Phe Glu Val

1 5 10 15

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 27

Cys Gly Pro Cys Gly Gly Tyr Val Pro Phe His Ile Gln Val Pro

1 5 10 15

<210> 28

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 28

His Cys Gly Pro Cys Gly Gly Tyr Val Pro Phe His Ile Gln Val Pro

1 5 10 15

<210> 29

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 29

Cys Gly His Cys Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu Lys

1 5 10

<210> 30

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 30

His Cys Gly His Cys Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu Lys

1 5 10

<210> 31

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 31

His Cys Gly Xaa Cys Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu Lys

1 5 10

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 32

Cys Gly His Cys Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys

1 5 10

<210> 33

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 33

His Cys Gly His Cys Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys

1 5 10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 34

His Cys Gly Xaa Cys Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys

1 5 10

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 35

Cys Gly His Cys Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys

1 5 10

<210> 36

<211

> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 36

His Cys Gly His Cys Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys

1 5 10

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 37

His Cys Gly Xaa Cys Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys

1 5 10

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 38

Cys Gly His Cys Glu His Pro Ile Val Val Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 39

His Cys Gly His Cys Glu His Pro Ile Val Val Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 40

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 40

His Cys Gly Xaa Cys Glu His Pro Ile Val Val Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 41

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 41

Cys Gly His Cys Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala

1 5 10

<210> 42

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 42

His Cys Gly His Cys Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 43

His Cys Gly Xaa Cys Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala

1 5 10

<210> 44

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 44

Cys His Gly Cys Tyr Cys Ala Val Pro Asp Asp Pro Asp Ala

1 5 10

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 45

His Cys His Gly Cys Tyr Cys Ala Val Pro Asp Asp Pro Asp Ala

1 5 10 15

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 46

His Cys Xaa Gly Cys Tyr Cys Ala Val Pro Asp Asp Pro Asp Ala

1 5 10 15

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 47

Cys Gly His Cys Gly Gly Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile

1 5 10 15

Arg

<210> 48

<211> 18

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 48

His Cys Gly His Cys Gly Gly Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser

1 5 10 15

Ile Arg

<210> 49

<211> 18

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 49

His Cys Gly Xaa Cys Gly Gly Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser

1 5 10 15

Ile Arg

<210> 50

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 50

Cys His Gly Cys Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro

1 5 10

<210> 51

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 51

His Cys His Gly Cys Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro

1 5 10

<210> 52

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 52

His Cys Xaa Gly Cys Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro

1 5 10

<210> 53

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 53

Cys His Gly Cys Phe Val Ala Leu Cys Ala Thr Asp Val

1 5 10

<210> 54

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 54

His Cys His Gly Cys Phe Val Ala Leu Cys Ala Thr Asp Val

1 5 10

<210> 55

<211> 14

<212>

> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 55

His Cys Xaa Gly Cys Phe Val Ala Leu Cys Ala Thr Asp Val

1 5 10

<210> 56

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 56

Cys His Gly Cys Phe Lys Glu Leu Glu Gly Trp Glu Pro

1 5 10

<210> 57

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 57

His Cys His Gly Cys Phe Lys Glu Leu Glu Gly Trp Glu Pro

1 5 10

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 58

His Cys Xaa Gly Cys Phe Lys Glu Leu Glu Gly Trp Glu Pro

1 5 10

<210> 59

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 59

Cys His Gly Cys Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln

1 5 10

<210> 60

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 60

His Cys His Gly Cys Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln

1 5 10

<210> 61

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 61

His Cys Xaa Gly Cys Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln

1 5 10

<210> 62

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 62

Cys His Gly Cys Phe Asn Ser Asn Arg Ala Asn Ser Ser

1 5 10

<210> 63

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 63

His Cys His Gly Cys Phe Asn Ser Asn Arg Ala Asn Ser Ser

1 5 10

<210> 64

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 64

His Cys Xaa Gly Cys Phe Asn Ser Asn Arg Ala Asn Ser Ser

1 5 10

<210> 65

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 65

Cys Gly His Cys Leu Val Leu Ala Pro Thr Arg Glu Leu

1 5 10

<210> 66

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 66

His Cys Gly His Cys Leu Val Leu Ala Pro Thr Arg Glu Leu
 1 5 10

<210> 67

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is not His or Cys

<400> 67

His Cys Gly Xaa Cys Leu Val Leu Ala Pro Thr Arg Glu Leu
 1 5 10

<210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 68

Cys Gly His Cys Pro Glu Phe Leu Glu Gln Lys Arg Ala
 1 5 10

<210> 69

<211

> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 69

His Cys Gly His Cys Pro Glu Phe Leu Glu Gln Lys Arg Ala
 1 5 10

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 70

His Cys Gly Xaa Cys Pro Glu Phe Leu Glu Gln Lys Arg Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> xaa can be any amino acid

<400> 71

Cys Xaa Xaa Cys

1

<210> 72

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 72

Cys Xaa Xaa Ser

1

<210> 73

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 73

Cys Xaa Xaa Thr

1

<210> 74

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 74

Ser Xaa Xaa Cys

1

<210> 75

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 75

Thr Xaa Xaa Cys

1

<210> 76

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 76

Xaa Xaa Xaa Cys

1

<210> 77

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<400> 77

Cys Xaa Xaa Xaa

1

<210> 78

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<400> 78

His Cys Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220>

><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 79

Xaa Xaa Xaa Cys His

1 5

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 80

His Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 81

His Cys Xaa Xaa Ser

1 5

<210> 82

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 82

His Cys Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 83

Cys Xaa Xaa Cys His

1 5

<210> 84

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 84

Ser Xaa Xaa Cys His

1 5

<210> 85

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 85

Thr Xaa Xaa Cys His

1 5

<210> 86

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 86

His Cys Xaa Xaa Cys His

1 5

<210> 87

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> late endosome targeting sequence

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Asp or Glu

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(4)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be Ile or Leu

<400> 87

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa

1 5

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> late endosome targeting sequence

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 88

Asp Xaa Xaa Leu Leu

1 5

<210> 89

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> late endosome targeting motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be Phe, Tyr or Trp

<400> 89

Tyr Xaa Xaa Xaa

1

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(5)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<400> 90

His Xaa Cys Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<400> 91

His Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acids

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any amino acids

<400> 92

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa His

1 5

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Cys, Ser or Thre

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 93

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa His

1 5

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 94

Cys Xaa Xaa Cys Xaa His

1 5

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 95

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa His

1 5

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(5)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 96

His Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any amino acid

<400> 97

His Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 98

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> VARIANT

<222>

> (2)..(2)

<223> Xaa can be any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 98

His Xaa Cys Xaa Xaa Ser

1 5

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 99

His Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Ser

1 5

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 100

His Xaa Xaa Cys Xaa Thr

1 5

<210> 101

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 101

His Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 102

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 102

Ser Xaa Xaa Cys Xaa His

1 5

<210> 103

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 103

Ser Xaa Xaa Cys Xaa Xaa His

1 5

<210> 104

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 104

Thr Xaa Xaa Cys Xaa His

1 5

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 105

Thr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa His

1 5

<210> 106

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 106

His Cys His Xaa Cys

1 5

<210> 107

<211> 6

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified redox motif

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 107

Cys Xaa Xaa His Cys His

1 5

<210> 108

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> proinsulin

<400> 108

His Cys Pro Tyr Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Gln Lys Arg Gly
 20

<210> 109
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> proinsulin
 <400> 109

His Ala Ala Cys Pro Tyr Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly
 20

<210> 110
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> proinsulin
 <400> 110

Ala His Ala Cys Pro Tyr Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu
 1 5 10 15

Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly

20
 <210> 111
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> proinsulin
 <400> 111

Ala Ala Ala Cys Pro Tyr Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly

20

<210> 112

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> proinsulin

<400> 112

Ala Ala Ala Cys His Pro Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu

1 5 10 15

Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly

20

<210> 113

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> proinsulin

<400> 113

Ala Ala His Cys His Pro Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu

1 5 10 15

Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly

20

<210> 114

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> proinsulin

<400> 114

Ala Ala Ala Cys His Gly Cys Val Arg Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu

1 5 10 15

Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly

20

<210> 115

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mog peptide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 115

His Xaa Cys Pro Tyr Cys Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly

1 5 10 15

Lys Asp

<210> 116

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mog peptide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 116

His Xaa Xaa Cys Pro Tyr Cys Ser Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn

1 5 10 15

Gly Lys Asp