



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0108963
(43) 공개일자 2018년10월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/08 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/08 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0037330
(22) 출원일자 2017년03월24일
심사청구일자 2017년03월24일

(71) 출원인
대한민국(환경부 국립생물자원관장)
인천 서구 환경로 42, 종합환경연구단지 국립생물
자원관 (경서동)
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
방우영
인천광역시 서구 승학로495번길 7, 서해그랑블아
파트 103동 1402호
배창환
경기도 수원시 영통구 봉영로1517번길 30, 603동
1901호(영통동 극동 풍림아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안창우

전체 청구항 수 : 총 7 항

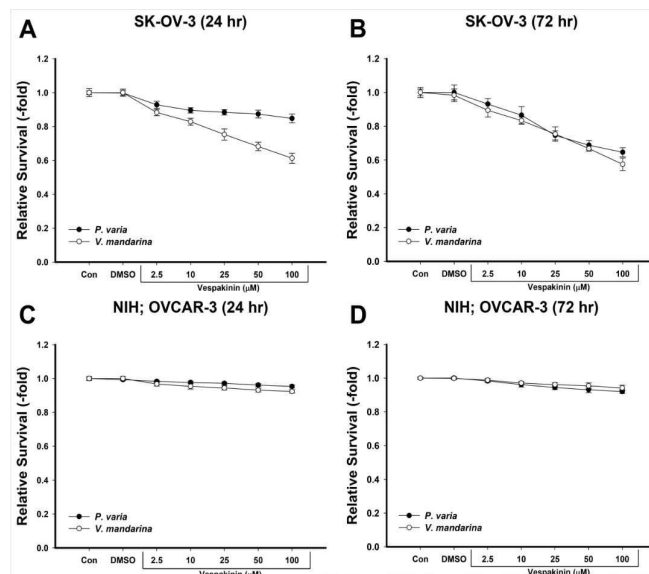
(54) 발명의 명칭 항암 활성을 갖는 뱀허물쌍살벌 유래 펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 항암 활성을 갖는 뱀허물쌍살벌 유래 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

본 발명에 따른 펩타이드는 정상세포에 대한 용혈활성이 없으면서도 우수한 항암 활성을 보유하여 항암 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

C07K 2319/01 (2013.01)

(72) 발명자

고영호

경기도 안양시 동안구 흥안대로223번길 47(호계동)
샘마을대우아파트 101-1404

이시혁

서울시 관악구 대학동 서울대학교 200 동 농업생명
과학대학 생명관 6104호

윤경재

서울시 관악구 대학동 서울대학교 200 동 농업생명
과학대학 생명관 6104호

박영한

서울특별시 강남구 영동대로 640, 103-204

김아영

인천광역시 남동구 호구포로739번길 82-1 (구월동,
롯데환타빌) 3-202

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 암 치료 및 예방용 펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 펩타이드는 뱀허물쌍살벌 유전체에서 유래한 것을 특징으로 하는 펩타이드.

청구항 3

상기 펩타이드는 추가적으로 세포 내재화 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

청구항 4

서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 암은 난소암(ovarian cancer)인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 난소암(ovarian cancer)은 항암제 내성 난소암인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 치료를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 동물의 난소암을 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항암 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 뱀허물쌍살벌 유래 펩타이드 및 이를 유효성분으로 함유하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 생물체의 항상성(homeostasis)을 유지하기 위한 과정에서 중요한 역할을 담당하고 있는 물질들 중 일부가 각종 생물체 유래의 생리 활성 물질이다. 지금까지 수많은 생리 활성 물질에 대해 많은 연구가 진행되고 있으며, 그 중, 항암 펩타이드의 연구는 생명과학 및 의학 분야에서 매우 중요한 영역이다.

[0005] 동물 독은 아민, 리피드, 프로테인, 펩타이드 및 기타 작은 분자들을 포함한 다양한 기능성 물질을 함유하고 있다. 이들 중에서 펩타이드는 타겟 물질에 높은 특이성과 낮은 비특이적 독성을 갖기 때문에 약물 개발에 중요한 자원으로 생각되고 있다(크레이크 등, 2013; Fosgerau and Hoffmann, 2015). 따라서, 이들의 장점을 활용하여

암, 당뇨, 심혈관계 질환, 통증, 간질 등의 질환에 대해 펩타이드 약물을 개발하는 것은 약물 개발 연구의 중요한 목표이다. 전세계 펩타이드 치료제 시장은 2011년 141억불에서 2018년 254억불로 성장할 것으로 추정되는데 (Fosgerau and Hoffmann, 2015), 대략 140여개의 펩타이드 치료제가 임상에서 사용되고 있고, 대략 500개 이상의 펩타이드 치료제가 2015년 기준으로 전임상 단계에 있는 것으로 추정되고 있다(Fosgerau and Hoffmann, 2015).

[0006] 최근 연구에 따르면, 단일 종의 개체에서 100종 이상의 기능성 펩타이드들이 함유되어 있는 것으로 알려져 있고 (Fosgerau and Hoffmann, 2015), 절지동물류의 독은 염증, 관절염, 다발성 경화증, 통증 등의 폭넓은 질환의 치료에 다양하게 임상적으로 혜택을 줄 수 있는 신규한 펩타이드를 제공하는 것으로 알려져 있다(Cherniack, 2010). 동물의 독에 포함된 기능성 펩타이드들에 대한 대부분의 연구는 개구리, 뱀, 전갈, 거미, 복족류 등에 맞춰져 있는데, 이는 이들의 독을 적절하게 치료하지 않으면 인간의 건강과 생명을 위협하기 때문이며, 이들 동물들이 생화학적인 방법으로 분석될 수 있을 만큼 충분히 많은 양의 독을 생산하기 때문이다.

[0008] 한편, 벌목류(Hymenoptera)에 속하는 개미, 벌, 말벌(hornets), 및 와스프(wasps) 등은 포식자로부터 자신을 방어하거나 먹이를 사냥하는 등의 다양한 목적을 위해 독을 생산하는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2016). 벌목류 독의 주요 성분으로 마스토파란(mastoparan), 주화성 펩타이드(chemotactic peptide), 키닌 등의 다양한 종류의 펩타이드들이 있는데, 이들은 양친매성(amphipathic) 알파 헬릭스 구조를 공유하는 것으로 알려져 있다 ((Lee et al., 2016)). 마스토파란은 말벌과(Vespidae)에 속하는 말벌들에서 가장 많이 분비되는 펩타이드이다. 프리마스토파란을 암호화하는 유전자는 말벌(Vespacrabro)에서 가장 많이 전사되며, 좀말벌(Vespa analis)에서 두 번째로 많이 전사되는 것으로 알려져 있고, 상기 말벌 및 좀말벌의 마스토파란은 항균, 항진균, 항종양, 및 용혈 활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Yoon et al., 2015b).

[0009] 또한, 프리마스토파란(premastoparan)과 함께, VCP(vespid chemotactic precursor)와 vespakinin(이하 약어로 'Vespk' 를 사용함)은 말벌과 좀말벌의 독선에서 가장 많이 발현되는 3가지 종류의 단백질 중 하나로 알려져 있다.

[0010] 그러나, 아주 가까운 유연관계 있는 종들의 독 펩타이드들은 아미노산 서열에 일부 변이를 나타내고 있으며, 단 하나의 아미노산 또는 일부 아미노산 서열에 차이가 있는 경우, 발현된 최종 펩타이드의 물리 화학적인 성질 및 화학적 속성이 상당히 변화하는 경우가 발생하기도 한다(Kaas and Craik, 2015).

[0011] 따라서, 다양한 종의 벌이 분비하는 독에 함유된 펩타이드의 다양한 활성에 대해 연구할 필요가 있다.

[0013] 한편, 뱀허물쌍살벌(lesser paper wasp, *Parapolybia varia*)은 중앙아시아와 인도-파푸아뉴기니 지역, 및 동아시아에 널리 서식하는 군집생활을 하는 중형 사이즈의 말벌이다(Katada et al., 2007; Saito-Morooka et al., 2015).

[0014] 상기 뱀허물쌍살벌은 자연계에서 풍부하게 존재하여 이들이 분비하는 독에 포함되어 있는 펩타이드를 다양한 질환의 치료제 생산에 활용하는 경우 장점이 있으나, 종래 뱀허물쌍살벌의 뱀독을 구성하는 펩타이드의 종류나 기능성 펩타이드의 종류에 대해서는 전혀 알려진 바 없으며, 특히, 뱀허물쌍살벌 속(genus)에 속하는 VCP 펩타이드나 Vespakinin(Vespk) 펩타이드의 관련 기능에 대해서는 아직까지 알려진 바 없다.

[0016] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 항암 활성을 갖는 신규 펩타이드를 찾기 위해 예의 노력한 결과, 뱀허물쌍살벌의 독액에서 분리된 신규 펩타이드가 정상세포에는 아주 낮은 용혈 활성을 보이면서도 종양세포에는 우수한 항종양 효과를 보여 항암 치료제로 유용하게 활용할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0018] (특허문헌 0001) 특허공개 제10-2012-0062328호

비특허문헌

[0019] (비특허문헌 0001) Kyungjae Andrew Yoon et. al., Selective anti-tumor activities of venom peptides from the lesser paper wasp *Parapolybia varia*, Journal of Asia-Pacific Entomology 19 (2016) 821.828

발명의 내용

해결하려는 과제

[0020] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 항암 활성을 갖는 뱀허물쌍살벌 유래 펩타이드를 제공하는 데 있다.

[0021] 본 발명의 다른 목적은 상기 뱀허물쌍살벌 유래 펩타이드를 이용한 항암용 조성물을 제공하는데 있다.

[0022] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명 및 청구범위에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0024] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 나타내는 암 치료 및 예방용 펩타이드를 제공한다.

[0025] 본 발명에서 상기 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 나타내는 암 치료 및 예방용 펩타이드는 뱀허물쌍살벌 유전체에서 유래한 것을 특징으로 한다.

[0027] 본 발명자들은 신규 항암제의 개발을 위해 곤충류의 독액에 존재하는 기능성 펩타이드의 발현 유전체와 단백질체를 수년간 조사 분석하였고, 그 결과 한국 자생 뱀허물쌍살벌의 독선 발현 전체 발현 유전체와 단백질체를 분석하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드의 기능성을 검증하였다.

[0028] 본 발명에서 용어, “펩타이드(peptide)”란 아미드 결합(또는 펩타이드 결합)으로 연결된 아미노산으로 이루어진 폴리머를 의미한다. 본 발명의 목적상, 암세포에 대해 높은 종양억제 능력을 나타내는 펩타이드를 의미한다.

[0029] 본 발명의 상기 서열번호 1의 아미노산 서열로 나타내는 펩타이드(*Parapolybia varia* vespide chemotactic precursor, 이하 약어로 ‘PvVCP’라 함)는 뱀허물쌍살벌에서 분리된 벌독 화학주성 전구체 단백질로, 최초 번역될 때에는 76개의 미성숙 펩타이드(immature peptide)로 번역(translation)되어 전사 후 조절(post-transcription modification) 과정을 거쳐 최종 13개의 아미노산으로 생성되며, 장수말벌(*Vespa magnifica*)의 VCP 펩타이드와 76%의 서열상동성을 갖는다(도 1A 내지 도 1C 참조).

[0030] 상기 미성숙 PvVCP 펩타이드의 서열분석 결과, 분자량은 7.72kDa 이고, pI 값은 3.96이며, 상기 미성숙 PvVCP 펩타이드의 1 내지 25번째 아미노산 서열은 시그널 펩타이드로 추정되고, 미성숙 PvVCP 펩타이드에는 glycosylation이 일어나지 않는 것으로 추정된다.

[0031] 또한, 성숙한 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드는 하나의 양전하로 하전된 아미노산 잔기 및 다수의 소수성 잔기를 포함하는 트리데카펩타이드(tridecapeptide, FWPGLILKGLGAL)를 포함하여 구성된다. 또한, PvVCP 펩타이드의 전구체는 여러 개의 AXP(X=leucine, glutamic acid, glycine 또는 aspartic acid) 잔기의 반복 서열을 갖는다. PvVCP 펩타이드는 소수성 환경에서 다양한 β -sheet 구조 함량(0.2% ~ 27.6%)과 함께, 높은 α -helix 구조 함량(> 29.0%)을 갖는 것으로 나타났다.

[0033] 본 발명의 상기 서열번호 2의 아미노산 서열로 나타내는 펩타이드(*Parapolybia varia* vespakinin, 이하 약어로 ‘PvVespk’라 함)는 뱀허물쌍살벌에서 분리된 vespakinin 단백질이다. 최초 번역된 미성숙 PvVespk 펩타이드는 38개의 아미노산으로 구성되어 있고, 땅벌(*Vespa tropica*)의 vespakinin 펩타이드와 38%의 서열상동성을 갖는다

(도 1D 내지 도 1F 참조).

- [0034] 미성숙 PvVCP 펩타이드의 서열분석 결과, 4.12kDa 이고, pI 값은 12.11이며, 상기 PvVespk 펩타이드의 1 내지 21번째 아미노산 서열은 시그널 펩타이드로 추정되고, PvVespk 펩타이드의 시그널 펩타이드 부위에 N-glycosylation 부위가 한군데 존재하는 것으로 예측된다.
- [0035] 또한, 성숙한 PvVespk 펩타이드는 두개의 양전하로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 도데카펩타이드(dodecapeptide, GRPPGFSPFRSG)를 포함하여 구성된다.
- [0037] 한편, 상기 VCP 펩타이드와 vespakinin 펩타이드의 항암 활성에 대해 종래 연구된 바 없으므로, 본 발명에서는 장수말벌(*Vespa mandarina*) VCP 및 vespakinin 펩타이드와 비교하여 항암 활성에 대해 연구를 수행하였다.
- [0038] 그 결과, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드는 장수말벌(*Vespa mandarina*) VCP 및 vespakinin 펩타이드와 비교하여 난소암 세포주인 SK-OV-3 세포주에 모두 강력한 항암 활성을 갖는 것으로 관찰되었다.
- [0039] 특히, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드는 200 mM 농도에서 VmVCP 펩타이드와 비교하여 12.4배 낮은 용혈 활성을 갖는 것으로 나타나 생체 투여 시에도 일반세포에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 또한, PvVCP 펩타이드는 24시간 및 72시간 경과 시점에서 대조군인 장수말벌 VCP 펩타이드와 비교하여 10 mM 이상의 농도에서 난소암 세포주인 SK-OV-3 세포주와 항암제 내성 난소암 세포주인 NIH-OVCAR-3 세포주에 모두 강력한 항암 활성을 갖는 것으로 관찰되었다.
- [0040] 상기와 같은 결과를 토대로, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드는 강력한 항암활성이 있으며, 암 치료를 위한 치료제로 효과적으로 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다.
- [0041] 한편, 본 발명의 펩타이드는 효과적으로 세포 내로 들어가기 위해 추가적으로 내재화 서열 혹은 단백질 변환 도메인에 연결될 수 있다.
- [0042] 최근의 연구 보고에 의하면 다양한 세포 내재화 서열, 예를 들어, HIV 바이러스의 TAT 전이활성 도메인, 안테나 페디아(antennapedia) 등을 원형질막을 가로질러 수송할 수 있는 트랜스포탄(transportan)이 알려져 있다. 또한, 폴리아르기닌은 원형질막을 가로질러 펩타이드와 단백질을 훨씬 더 효율적으로 수송함으로써 펩타이드를 세포 내로 수송하는 매력적인 도구로 알려져 있다.
- [0043] 따라서, 본 발명의 펩타이드는 세포 내재화 수송물질 또는 서열을 포함할 수 있다. 세포 내재화 서열은 공지되어 있거나 새롭게 당해 기술 분야에서 발견된 임의의 내재화 서열, 또는 그것의 보존성 변이체일 수 있다. 세포 내재화 수송물질 및 서열의 비-제한적인 예로는 폴리아르기닌(예컨대 R9), 안테나페디아 서열, TAT, HIVtat, 페네트라틴(Penetratin), Antp-3A(Antp 돌연변이체), Buforin II, 트랜스포탄, MAP(모델 양친매성 펩티드), KFGF, Ku70, 프리온, pVEC, Pep-1, SynB1, Pep-7, HN-1, BGSC(비스-구아니디늄-스퍼미딘-콜레스테롤) 및 BGTC(비스-구아니디늄-트렌-콜레스테롤)가 포함된다.
- [0044] 추가적으로, 본 발명의 펩타이드는 표적화 서열, 캡핑 모티프(capping motif), 태그(tag), 표지된 잔기, 반감기 또는 펩타이드의 안정성을 증가시키기 위한 특정 목적으로 고안된 추가의 아미노산 서열도 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 펩타이드는 이펙터(effectors), 약물, 프로드럭, 독소, 펩타이드, 전달 분자 등의 커플링 파트너와 연결될 수 있다.
- [0045] 또한, 본 발명의 펩타이드는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 제조될 수 있다. 구체적으로 산을 첨가함으로써 염을 형성할 수 있고, 예를 들어 무기산(예: 염산, 히드로브롬산, 인산, 질산, 황산 등), 유기 카르복실산(예: 아세트산, 트리플루오로아세트산과 같은 할로 아세트산, 프로피온산, 말레산, 숙신산, 말산, 시트르산, 타르타르산, 살리실산), 및 산성 당(글루쿠론산, 갈락투론산, 글루콘산, 아스코르브산), 산성 폴리사카리드(예: 히알루론산, 콘드로이틴 술페이트, 아르기닌산), 콘드로이틴 설페이트와 같은 술폰산 당 에스테르를 포함하는 유기 술폰산(예: 메탄, 술폰산, p-톨루엔 술폰산) 등을 첨가하여 염을 형성할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 펩타이드는 당 분야에 널리 공지된 다양한 방법으로 획득할 수 있다. 상세하게는 시험관 내에서 합성하는 방법, 및 무세포 단백질 합성법 등과 같은 화학적 합성 또는 단백질 발현 시스템을 이용한 유전공학적 방법 등으로 제조될 수 있으나, 하기 펩타이드의 제조방법을 통해 기술하는 바와 같이 화학적 합성 방법을 이용하여 제조하는 것이 바람직하다.

- [0047] 또한, 본 발명의 펩타이드는 게놈 정보를 통해 얻어진 PvVCP 펩타이드와 PvVespk 펩타이드에서 유래된 서열번호 1 및 서열번호 2로 나타내는 아미노산 서열 또는 이를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 이용하여 유전공학적 방법을 통해 생산될 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 "발현벡터"란 적당한 숙주세포에서 목적 펩타이드를 발현할 수 있는 재조합 벡터로서, 유전자 삽입물이 발현되도록 작동하게 연결된 필수적인 조절 요소를 포함하는 유전자 제작물을 말한다. 본 발명의 발현벡터는 적합한 발현벡터가 일반적으로 가지고 있는 요소로서 프로모터, 오퍼레이터, 개시코돈 같은 발현조절 요소들을 포함한다. 개시 코돈 및 종결 코돈은 일반적으로 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 일부로 간주되며, 유전자 제작물이 투여되었을 때 개체에서 반드시 작용을 나타내야 하며 코딩 서열과 인프레임(in frame)에 있어야 한다. 벡터의 프로모터는 구성적 또는 유도성일 수 있다.
- [0049] 또한, 세포 배양액으로부터 단백질의 분리를 촉진하기 위하여 융합 폴리펩타이드의 배출을 위한 시그널 서열을 포함할 수 있다. 특이적인 개시 시그널은 또한 삽입된 핵산 서열의 효율적인 번역에 필요할 수도 있다. 이들 시그널은 ATG 개시코돈 및 인접한 서열들을 포함한다. 어떤 경우에는, ATG 개시 코돈을 포함할 수 있는 외인성 번역 조절 시그널이 제공되어야 한다. 이들 외인성 번역 조절 시그널들 및 개시 코돈들은 다양한 천연 및 합성 공급원일 수 있다. 발현 효율은 적당한 전사 또는 번역 강화 인자의 도입에 의하여 증가될 수 있다.
- [0050] 발현벡터는 통상의 모든 발현벡터를 다 사용할 수 있다. 예를 들어, 플라스미드 DNA, 파아지 DNA 등이 사용될 수 있다. 플라스미드 DNA의 구체적인 예로는 pUC18, pIDTSAMRT-AMP 같은 상업적인 플라스미드를 포함한다. 본 발명에 사용될 수 있는 플라스미드의 다른 예로는 대장균 유래 플라스미드(pYG601BR322, pBR325, pUC118 및 pUC119), 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)-유래 플라스미드(pUB110 및 pTP5) 및 효모-유래 플라스미드(YEp13, YEp24 및 YCp50)가 있다. 파아지 DNA의 구체적인 예로는 λ -파아지(Charon4A, Charon21A, EMBL3, EMBL4, λ gt10, λ gt11 및 λ ZAP)가 있다. 또한, 리트로바이러스(retrovirus), 아데노바이러스(adenovirus) 또는 백신시아 바이러스(vaccinia virus)와 같은 동물 바이러스, 바큘로바이러스(baculovirus)와 같은 곤충 바이러스가 또한 사용될 수 있다. 이러한 발현벡터는 숙주 세포에 따라서 단백질의 발현량과 수식 등이 다르게 나타나므로, 목적에 가장 적합한 숙주세포를 선택하여 사용하면 된다.
- [0051] 또한, 본 발명에서 용어, "형질전환"은 상기 뉴클레오타이드 절편이 숙주유기체의 게놈 안으로 이동하여 목적하는 펩타이드를 발현할 수 있도록, 유전적으로 안정한 유전을 일으키는 것을 말한다.
- [0052] 본 발명의 형질전환 방법은 임의의 형질전환 방법이 사용될 수 있으며, 당업계의 통상적인 방법에 따라 용이하게 수행할 수 있다. 일반적으로 형질전환 방법에는 CaCl_2 침전법, CaCl_2 방법에 DMSO(dimethyl sulfoxide)라는 환원물질을 사용함으로써 효율을 높인 Hanahan 방법, 전기천공법(electroporation), 인산칼슘 침전법, 원형질 융합법, 실리콘 카바이드 섬유를 이용한 교반법, 아그로박테리아 매개된 형질전환법, PEG를 이용한 형질전환법, 텍스트란 설페이트, 리포펙타민 및 건조/억제 매개된 형질전환 방법 등이 있다.
- [0053] 숙주는 본 발명의 펩타이드를 발현하도록 하는 한 특별히 제한되지는 않는다. 본 발명에 사용될 수 있는 숙주의 특정한 예로는 대장균(*E. coli*)과 같은 에스케리키아(*Escherichia*)속 세균 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)같은 바실러스(*Bacillus*)속 세균 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*)같은 슈도모나스(*Pseudomonas*)속 세균 사카로마이세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*), 스킴조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*)같은 효모 동물세포 및 곤충 세포가 있다.
- [0055] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0056] 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에서, 상기 암은 암종(carcinoma), 림프종(lymphoma), 모세포종(blastoma), 육종(sarcoma), 지방육종(liposarcoma), 신경내분비종(neuroendocrine tumor), 중피종(mesothelioma), 신경초종(schwannoma), 수막종(meningioma), 샘암종(adenocarcinoma), 흑색종(melanoma), 백혈병(leukemia), 악성 림프종(lymphoidmalignancy), 편평세포암종(squamous cell cancer), 편평상피세포암(epithelial squamous cell cancer), 폐암(lung cancer), 소세포폐암(small-cell lung cancer), 비소세포폐암(non-small cell lung cancer), 폐샘암종(adenocarcinoma of the lung), 폐편평암종(squamous carcinoma of the lung), 복막종(cancer of the peritoneum), 간세포성종(hepatocellular cancer), 위암(gastric or stomach cancer), 위장관종(gastrointestinal cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 뇌암(brain cancer), 아교모세포종(glioblastoma), 자궁경부암(cervical cancer), 난소암(ovarian cancer), 간암(liver cancer), 방광암

(bladder cancer), 간암(hepatoma), 유방암(breast cancer), 결장암(colon cancer), 직장암(rectal cancer), 결장직장암(colorectal cancer), 자궁내막 또는 자궁암(endometrial or uterine carcinoma), 침샘암(salivary gland carcinoma), 신장암(kidney and renal cancer), 전립선암(prostate cancer), 외음암(vulval cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 간암종(hepatic carcinoma), 항문암종(anal carcinoma), 음경암종(penile carcinoma), 고환암(testicular cancer), 식도정맥류암(esophageal cancer), 담도암(biliary tract) 및 두경부암(head and neck cancer)을 들 수 있으며, 보다 바람직하게는 난소암(ovarian cancer)을 들 수 있다.

[0057] 본 발명에서 용어, "예방"이란 본 발명에 따른 펩타이드 또는 조성물의 투여로 암을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0058] 본 발명에서 용어, "치료"란 본 발명에 따른 펩타이드 또는 조성물의 투여로 암이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0059] 본 발명에서 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 성별, 연령, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물은 경구투여 또는 정맥투여가 바람직하다.

[0060] 본 발명의 약학적 조성물에 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 칼슘 카보네이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 팜유 등을 들 수 있다.

[0061] 본 발명의 약학적 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 강황 또는 울금 추출물, 이로부터 분리된 리나로를 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로즈 또는 락토스, 젤라틴 등을 혼합하여 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0062] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물을 치료를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 동물의 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0063] 본 발명에 따른 상기 치료방법은 비록 인간을 제외한 동물을 치료하는 방법이나, 인간에 있어 이러한 치료방법이 효과가 없음을 의미하는 것은 아니다. 또한, 인간의 경우 있어서 본 발명에 따른 치료용 조성물의 투여에 의해 증상이 호전될 수 있는 암을 가지는 것을 고려할 때, 인간의 치료에 있어서도 충분히 사용될 수 있다.

[0064] 본 발명에서 용어 "인간을 제외한 동물"은 본 발명에 따른 치료용 조성물의 투여에 의해 증상이 호전될 수 있는 암을 가진 인간만을 제외한 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개 등의 동물을 의미한다. 본 발명에 따른 치료용 조성물을 인간을 제외한 동물에게 투여함으로써, 대장암을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.

[0065] 본 발명에서 용어 "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 동물에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명에 따른 치료용 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 치료용 조성물은 유효성분이 표적 세포로 이동할 수 있는 임

의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0066] 본 발명에 따른 치료용 조성물의 바람직한 투여량은 환자 또는 치료 대상 동물의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 약학적 조성물은 1일 0.01 내지 10 mg/kg으로, 바람직하게는 0.1 내지 5 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

발명의 효과

[0067] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명의 펩타이드는 암 세포에 대하여 우수한 항암 활성을 보유하여 이를 이용한 항암 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0069] 도 1은 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드의 일차구조를 비교한 그림으로, 각각 PvVCP 펩타이드 전구체의 일차구조를 비교한 그림(도 1A), PvVCP 성숙 펩타이드의 일차구조를 비교한 그림(도 1B), PvVCP 펩타이드의 계통도(도 1C), PvVespk 펩타이드 전구체의 일차구조를 비교한 그림(도 1D), PvVespk 성숙 펩타이드의 일차구조를 비교한 그림(도 1E), PvVespk 펩타이드의 계통도(도 1C)이다.

도 2는 PvVCP 펩타이드와 PvVespk 펩타이드의 용혈 활성을 측정한 그래프이다.

도 3은 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드가 24시간 및 72시간 경과 시점에서 SK-OV-3 및 NIH-OVCAR-3 세포주에 작용하는 항암활성을 측정한 그래프이다.

도 4는 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드가 24시간 및 72시간 경과 시점에서 SK-OV-3 및 NIH-OVCAR-3 세포주에 작용하는 항암활성을 측정한 그래프이다.

도 5는 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드의 원편광 이색 스펙트럼 분석 결과를 나타낸 그래프이다(도 5A 및 5D: 10 mM SPB; 도 5B 및 5E: 30mM SDS; 도 5C 및 5F: 50% TFE).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0070] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0072] 실시예 1. 활성 펩타이드의 분리, 동정, 및 합성

[0073] 1-1. 벌 독선과 독샘 적출, cDNA 및 gDNA 합성

[0074] 경기도 광주 태화산, 경기도 군포시 수리산, 강원도 치악산, 경상북도 안동시 송천동 등지에서 뱀허물쌍살벌(*Parapolybia varia*)을 채집하였다. 채집된 뱀허물쌍살벌을 살아있는 상태로 실험실로 운반을 하여 바로 CO₂로 마취를 한 후에 슬라이드 글라스 위에서 1X PBS 버퍼를 사용하여 겹자(forcep)로 벌침을 당겨주면서 독낭과 독선을 분리하였다.

[0075] 30마리 벌의 독선을 전체 mRNA를 추출하기 위하여 독낭에서 바로 분리하여 제조사 프로토콜에 따라 Trizol 시약(200 µl, MRC, Cincinnati, OH, USA)을 이용하여 전체 mRNA를 합성하였다.

[0076] 뱀허물쌍살벌의 몸통 전체로부터 DNA 추출 키트(DNeasyOBlood & Tissue Kit, Qiagen, Valencia, CA, USA)를 사용하여 제조사 프로토콜에 따라 유전체 DNA(gDNA)를 추출하였다.

[0077] PvVCP 및 PvVespk 유전자의 cDNA 서열은 뱀허물쌍살벌의 전체 전사체 분석 결과를 토대로 획득하였다.

[0078] 전체 RNA에 gDNA의 제거를 위해 DNase I(Ambion, Austin, TX, USA) 효소로 처리하였고, 역전사 효소(SuperScriptIII reverse transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 cDNA를 합성하였다.

[0079] 뱀허물쌍살벌의 gDNA 및 cDNA를 주형으로 사용하여 하기 [표 1]의 프라이머 세트를 사용하여 PCR 반응을 수행하

였다.

[표 1]

종류	방향	서열번호	프라이머 서열
PvVCP	forward	서열번호 1	5'-ATGAAGTTCAATATCGTAGC-3'
	reverse	서열번호 2	5'-TCACTTTTCCAAGGGAGC-3'
PvVespk	forward	서열번호 3	5'-TCACTTTTCCAAGGGAGC-3'
	reverse	서열번호 4	5'-TTAGCCACTTCTGAATG-3'

PCR 반응은 95℃에서 1분 동안 pre-incubation 한 뒤, denaturation; 95℃, 30초, annealing; 50℃(PvVCP) 또는 45℃(PvVespk), 20초, 및 polymeration; 68℃, 1분의 조건으로 제조사 프로토콜(Advantage 2 Polymerase Mix, Clontech, PaloAlto, CA, USA)에 따라 35 사이클의 PCR을 진행하였다.

PCR 반응 산물은 겔을 이용하여 분리하였고, 서열분석을 위해 Qiagen 사의 QIAquick 겔 추출키트를 이용하여 추출하였다.

1-2. 펩타이드 합성 및 정제

서열번호 1의 PvVCP 펩타이드, 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드와 비교예로 사용된 장수말벌의 VmVCP 펩타이드와 VmVespk 펩타이드의 성숙 펩타이드(Mature peptides)는 GenScript(GenScript, Piscataway, NJ, USA)를 이용하여 합성하였고, 생리 활성 실험을 위해 사용될 때까지 -80℃에서 보관하였다. 펩타이드들은 다양한 농도에서 1% DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해되어 보관되었다.

1-3. PvVCP and PvVespk 펩타이드 특성 분석

PvVCP 및 PvVespk 유전자의 gDNA 및 cDNA 서열을 분석한 결과 유전자에 포함된 인트론 구조를 알 수 있었다.

미성숙 PvVCP 펩타이드는 76의 아미노산으로 구성되어 있고, 장수말벌(Vespa magnifica)의 VCP와 76%의 서열상동성을 가지며, 미성숙 PvVespk 펩타이드는 38개의 아미노산으로 구성되어 있고, 땅벌(Vespa tropica)의 vespakinin과 38%의 서열상동성을 갖는 것으로 나타났다.

PvVCP 펩타이드와 PvVespk 펩타이드의 일차분석 결과를 토대로 추정되는 미성숙 PvVCP 펩타이드의 분자량은 7.72kDa 이고, pI 값은 3.96이며, PvVespk 펩타이드의 분자량은 4.12kDa 이고, pI 값은 12.11이다.

또한, 상기 PvVCP 펩타이드의 1 내지 25번째 아미노산 서열은 시그널 펩타이드로 추정되고, 상기 PvVespk 펩타이드의 1 내지 25번째 아미노산 서열은 시그널 펩타이드로 추정된다. 그리고, PvVespk 펩타이드의 시그널 펩타이드 부위에 한 개의 추정되는 N- glycosylation 부위가 있는 것으로 예측되며, PvVCP 펩타이드에는 glycosylation 이 일어나지 않는 것으로 예상된다.

아미노산 서열을 토대로 한 일차구조 분석 결과, 성숙한 PvVCP 펩타이드는 하나의 양전하로 하전된 아미노산 잔기 및 다수의 소수성 잔기를 포함하는 트리데카펩타이드(tridecapeptide, FWPGLILKGLGAL)를 포함하여 구성된다. 또한, PvVCP 펩타이드의 전구체는 여러 개의 AXP (X=leucine, glutamic acid, glycine 또는 aspartic acid) 잔기의 반복 서열을 갖는다.

또한, 성숙한 PvVespk 펩타이드는 두개의 양전하로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 도데카펩타이드(dodecapeptide, GRPPGFSPFRSG)를 포함하여 구성된다.

실시예 2. 용혈 활성(Hemolytic activity)

상기 실시예 1-2에서 합성된 펩타이드들의 용혈 활성은 대한적십자사에서 구매한 인간 적혈구를 이용하여 분석하였다. 적혈구들을 동일 부피의 PBS 완충용액으로 세척하고, 960rpm, 15분 조건으로 원심분리 하였다. 상기 과정을 3회 반복한 후, 10% PBS 완충용액에 재현탁하여 최종 농도 2%(v/v)의 적혈구를 사용하였다. 다양한 농도

(10 내지 200mM)의 합성 펩티드 10 μ l를 37℃에서 30분 동안 세척한 적혈구 100ul와 함께 배양하였다.

- [0099] 상기 배양 혼합물을 960rpm에서 5분간 원심분리 한 후, 상층액의 OD 값(540nm)을 마이크로 플레이트 리더 (VersaMax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정하였다.
- [0100] 상대적인 용혈 활성은 1% DMSO 용액의 활성을 0%로, 0.1%의 트리톤 X-100 용액에서의 활성을 100%로 설정하여 측정하였다.
- [0101] 실험 프로토콜은 임상연구심의위원회(IRB#E1508/001-005, Seoul National University IRB)에서 승인된 프로토콜을 사용하였고, 실험결과는 3회 반복 측정된 값의 평균 $\pm$ SE로 표현하였다.
- [0102] 기능성 독 펩타이드의 알려진 문제 중 하나는 아나필락시스(anaphylaxis)를 유도할 가능성이 있는 혈액세포의 용혈 현상이다(Lee and Vadas, 2011).
- [0103] 따라서, 본 연구진은 합성 PvVCP 및 PvVespk 펩타이드가 인간 적혈구에 용혈현상을 일으키는지를 시험하였다. 용혈시험에서는 종래 용혈현상을 일으키는 것으로 알려진 장수말벌의 VmVCP 및 VmVespk 펩타이드를 양성대조군으로 사용하였다.
- [0104] 시험 결과, 낮은 농도에서 PvVCP 및 VmVCP 펩타이드는 매우 낮은 용혈 활성을 보이는 것으로 관찰되었다. 특히, PvVCP펩타이드는 200 mM 농도에서 VmVCP 펩타이드와 비교하여 12.4배 낮은 용혈 활성을 갖는 것으로 나타났다 (도 2 참조).
- [0105] 한편, VCP 펩타이드와는 달리, PvVespk 및 VmVespk 펩타이드는 모두 200 mM 농도에서 매우 낮은 용혈활성을 갖는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과를 통해 본 발명의 PvVCP 및 VmVCP 펩타이드는 매우 낮은 용혈 활성을 보이며, 생체 투여 시에도 정상세포에 영향을 주지 않으며, 아나필락시스(anaphylaxis)를 유도하지 않을 것으로 사료된다.

[0107] **실시예 3. 항암 활성(Antitumor activity)**

- [0108] 실시예 1-2에서 합성된 본 발명의 활성 펩타이드가 항암 활성이 있음을 규명하기 위하여 인간의 ovarian cancer cell line 중 하나인 SK-OV-3 균주(ATCC HTB-77)와 약물 내성 인간 난소 선암 세포주(drug-resistant human ovarian adenocarcinoma cell line)인 NIH-OVCAR-3(ATCC HTB-161) 균주에 활성 펩타이드를 처리하여 항암효과를 구명하였다.
- [0110] ovarian cancer cell line은 실험 전날 seeding(1×10^4)하여 하루 정도 배양하여 준비하였다. 준비된 ovarian cancer cell line 2종에 각각 본 발명의 활성 펩타이드를 2.5 mM에서 100 mM의 농도로 처리하였다. 아무런 처리를 하지 않은 무처리군과 0.001% DMSO 처리한 DMSO 처리군을 대조군으로 사용하여 본 발명의 활성 단백질의 항암 효과를 관찰하였다.
- [0111] 상기 처리군과 무처리군을 각각 24 시간 경과 후 및 72시간 경과 후, 배양액을 제거하고, 새로운 100ml의 배양액과 10ml의 MTT(5mg/ml)를 well plate에 투입하고, 37℃, 5% CO₂ 조건에서 4시간 동안 배양하였다. 배양 후, 상층액을 제거한 후, 100ul의 DMSO를 넣어주고, 540nm에서 Optical Density를 측정하였다.
- [0112] 실험 결과, 그 결과, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드는 장수말벌(Vespa mandarina) VCP 및 vespakinin 펩타이드와 비교하여 난소암 세포주인 SK-OV-3 세포주에 모두 강력한 항암 활성을 갖는 것으로 관찰되었다.
- [0113] 특히, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드는 200 mM 농도에서 VmVCP 펩타이드와 비교하여 12.4배 낮은 용혈 활성을 갖는 것으로 나타나 생체 투여 시에도 일반세포에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.
- [0114] 또한, PvVCP 펩타이드는 24시간 및 72시간 경과 시점에서 대조군인 장수말벌 VCP 펩타이드와 비교하여 10 mM 이상의 농도에서 난소암 세포주인 SK-OV-3 세포주와 항암제 내성 난소암 세포주인 NIH-OVCAR-3 세포주에 모두 강력한 항암 활성을 갖는 것으로 관찰되었다.
- [0116] 상기와 같은 결과를 토대로, 본 발명의 상기 서열번호 1의 PvVCP 펩타이드와 서열번호 2의 PvVespk 펩타이드는

강력한 항암활성이 있으며, 암 치료를 위한 치료제로 효과적으로 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

실시예 4. 원편광 이색성 분광법(Circular dichroism spectroscopy)

PvVCP, PvVespk, VmVCP, 및 VmVespk 펩타이드의 이차구조 분석을 위한 원편광 이색성 스펙트럼 분석은 10 mM SPB(sodium phosphate buffer, pH 7.2), 30mM SDS, 및 50% TFE(trifluoroethanol)의 3가지 조건에서 측정하였다.

스펙트럼은 0.1cm 패스 길이의 석영 큐벳을 이용하여 298 K에서 JASCO J-715 스펙트로 폴라리미터(JASCO, Easton, MD, USA) 를 이용하여 3회 측정하여 평균값을 사용하였다.

단백질 샘플 농도는 0.1 mg/ml 이었고, 데이터는 0.1 nm 대역폭, 1초 반응, 및 0.1nm 분해능의 스캔 속도로 측정되었고, 알파 헬릭스, 베타 시트, 턴, 및 랜덤 코일 구조의 비율을 계산하였다.

상기 실시예 1-2에서 합성된 펩타이드들의 원편광 이색성(CD) 스펙트럼 분석을 통한 이차구조분석 결과를 도 5에 도시하였다. 그 결과, 모든 펩타이드들은 10 mM SPB 용액에서 주로 무질서한 구조를 갖는 것으로 나타났다(도 5A 및 도 5D 참조). 이와 반대로, 30mM SDS 및 50% TFE 용액 하에서는 뚜렷하게 구분되는 이차 구조를 갖는 것으로 나타났다.

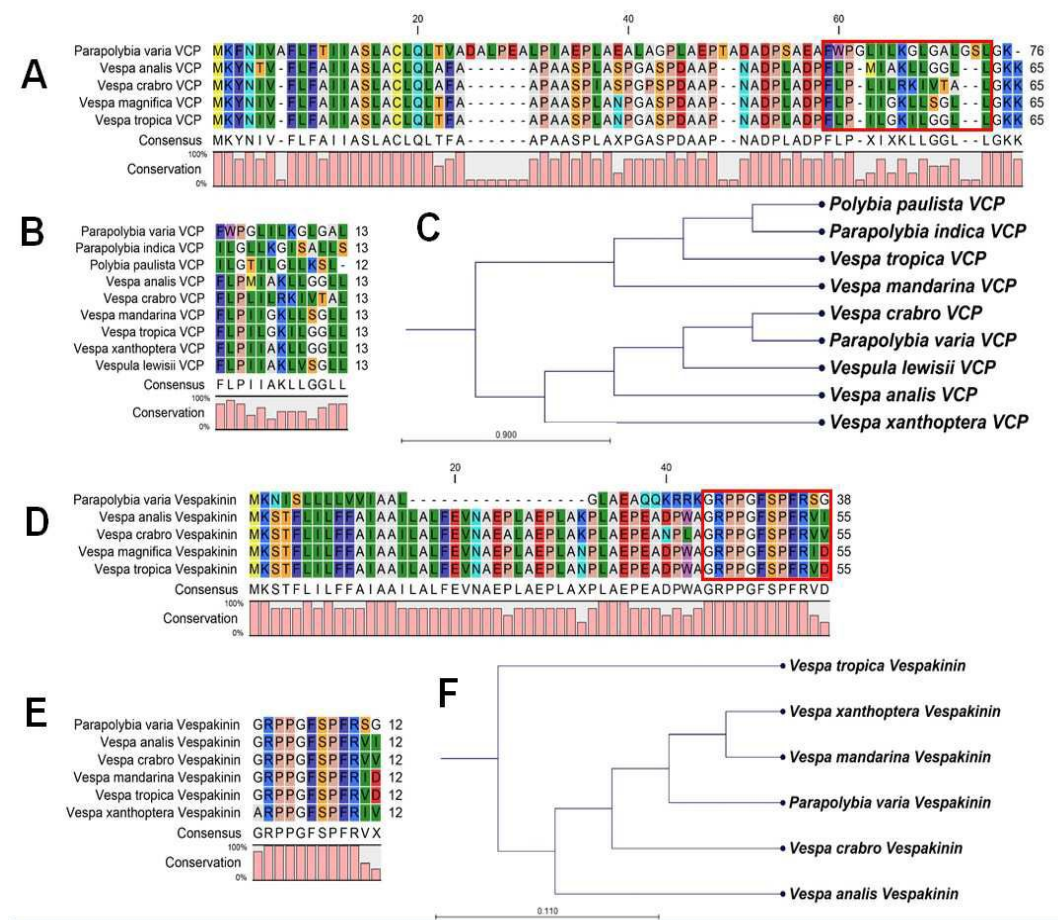
VCP 펩타이드는 소수성 환경에서 다양한 β -sheet 구조 함량(0.2% ~ 27.6%)과 함께, 높은 α -helix 구조 함량(> 29.0%)를 갖는 것으로 나타났다. 또한, Vespk 펩타이드는 소수성 환경에서 거의 낮은 함량의 α -helix 구조를 갖고, 높은 함량의 β -sheet 구조를 갖는 것으로 나타났다(표 2 참조).

[표 2]

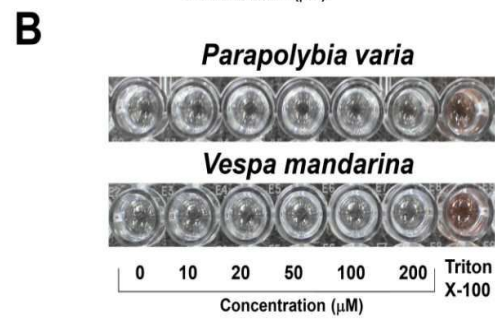
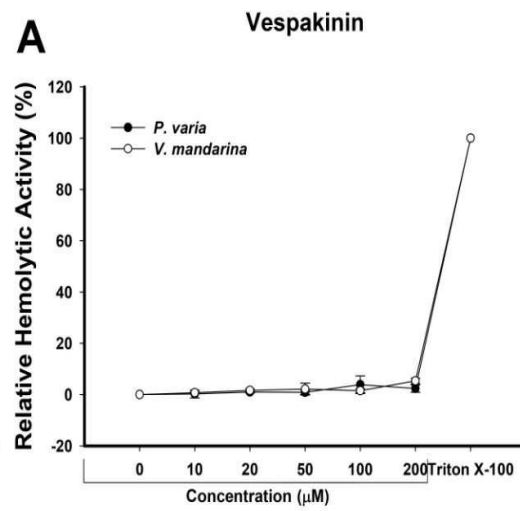
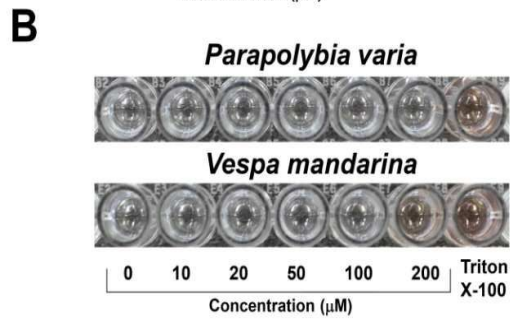
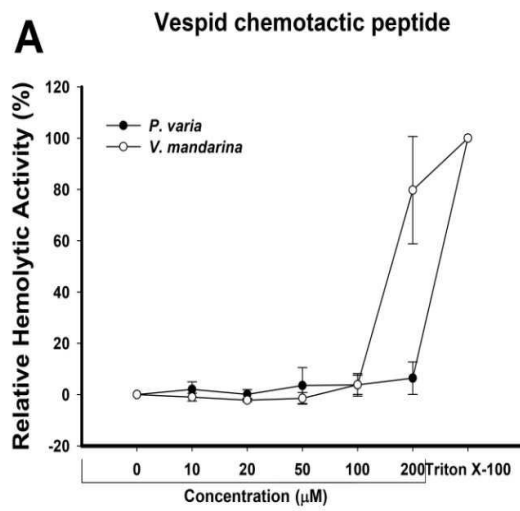
Peptides	30 mM SDS				50% TFE			
	α -helix	β -sheet	Turn	Random	α -helix	β -sheet	Turn	Random
PvVCP	31.2	0.2	27.6	41.1	29.4	24.7	10.6	35.2
VmVCP	38.2	11.2	18.7	32	30	27.6	9.2	33.2
PvVespk	0	46	0	54	0.1	43.7	4.5	51.6
VmVespk	0	45.8	0	54.2	0.8	39	7	53.2

도면

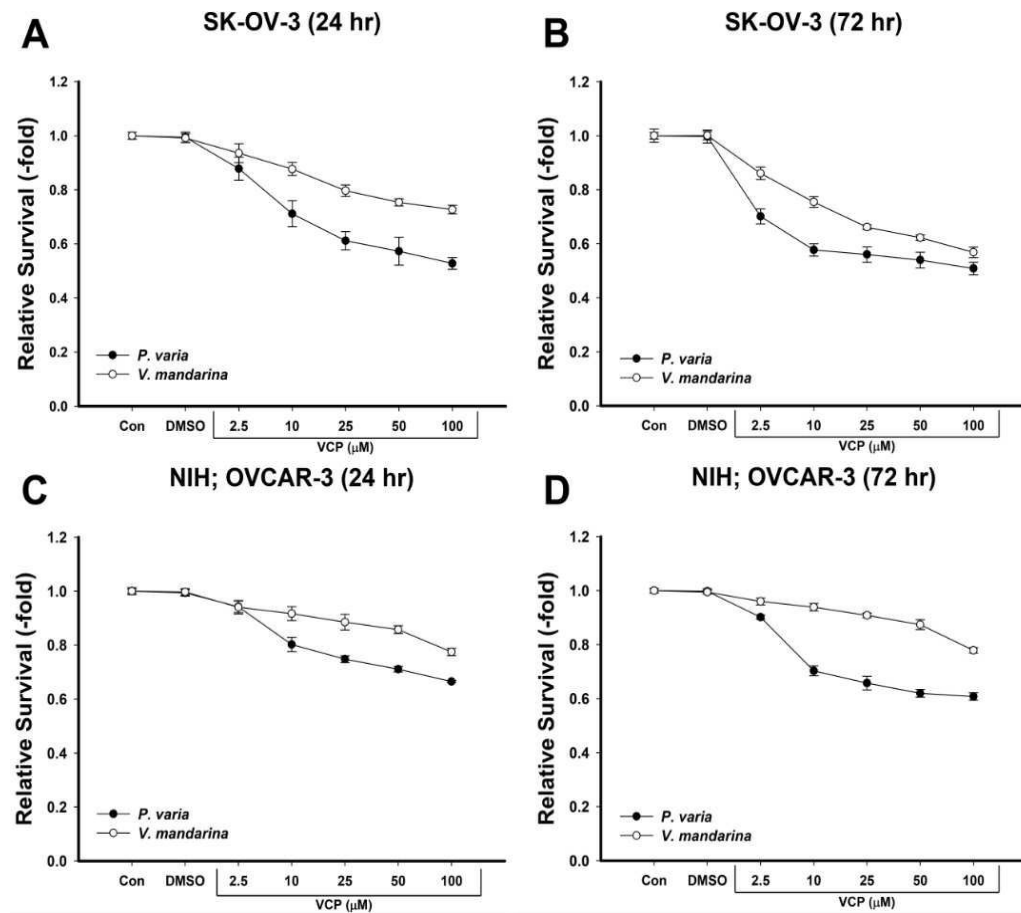
도면1



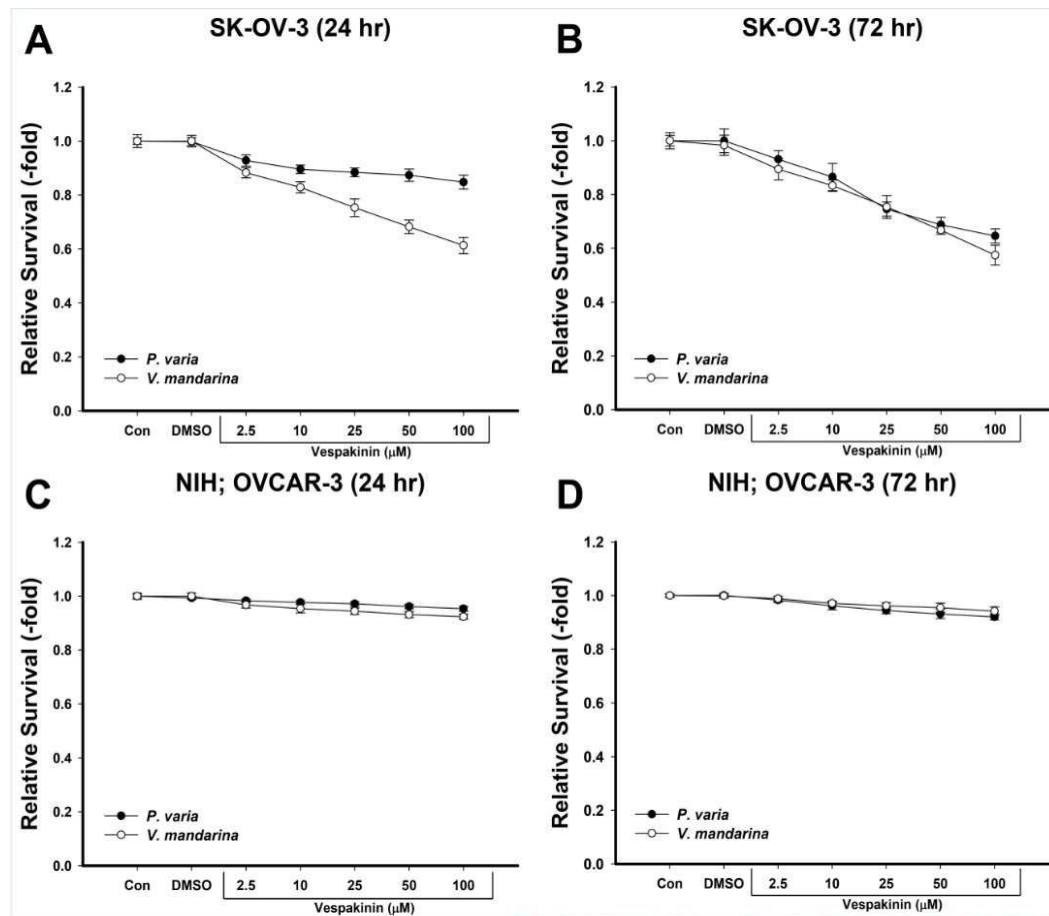
도면2



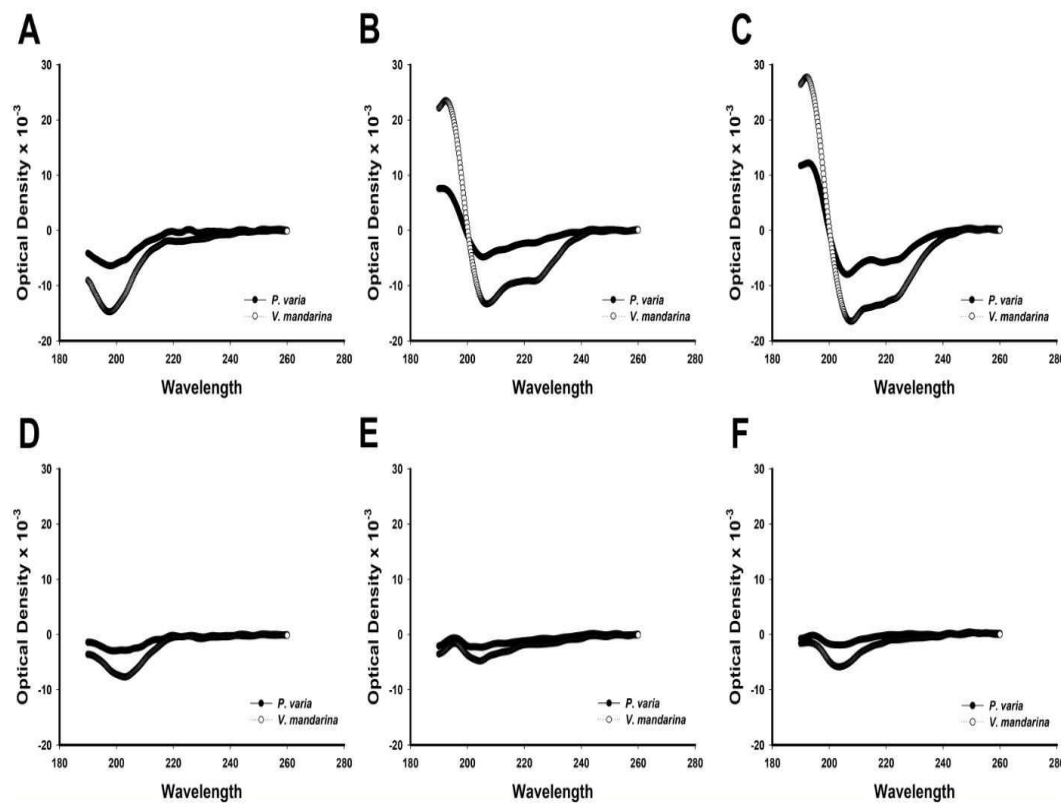
도면3



도면4



도면5



서열목록

- <110> NATIONAL INSTITUTE OF BIOLOGICAL RESOURCES
Industry Academic Cooperation Foundation, Hallym University
- <120> Peptide from Parapolybia varia having antitumor activity and uses thereof
- <130> PN170006AN
- <160> 2
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 13
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> peptide of Parapolybia varia
- <400> 1

Phe Trp Pro Gly Leu Ile Leu Lys Gly Leu Gly Ala Leu

1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide of Parapolybia varia

<400> 2

Gly Arg Pro Pro Gly Phe Ser Pro Phe Arg Ser Gly

1

5

10