

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.⁷
A61K 38/16

(11) 공개번호 10-2004-0008177
(43) 공개일자 2004년01월28일

(21) 출원번호	10-2003-7014850		
(22) 출원일자	2003년11월14일		
번역문 제출일자	2003년11월14일		
(86) 국제출원번호	PCT/CA2002/000712	(87) 국제공개번호	WO 2002/92115
(86) 국제출원출원일자	2002년05월16일	(87) 국제공개일자	2002년11월21일

(30) 우선권주장	60/290,971	2001년05월16일	미국(US)
(71) 출원인	니목스 코포레이션 캐나다 에이치4엠 2브이2 퀘벡주 세인트 로렌트 스위트 306 카벤디쉬 불러바드 9900		
(72) 발명자	애버백,폴,에이. 캐나다에이치9더블유4제이1퀘벡주비컨스필드레이크쇼어로드383		
(74) 대리인	장수길 김영		

심사청구 : 없음

(54) 신경 사 단백질 세그먼트를 사용하여 세포 사멸을억제하는 방법

요약

생조직을, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키기에 충분한 양으로 존재하는 하나 이상의 NTP 세그먼트, 또는 그의 동족체, 변이체, 유도체 또는 모방체와 접촉시킴으로써, 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키는 방법이 개시되어 있다. 당해 방법은 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사의 억제, 저해 및(또는) 경감을 필요로 하는 상태를 치료할 수 있다.

대표도

도 1

색인어

신경 사 단백질 세그먼트, 세포 사멸, 조직 괴사, 혈액-뇌 장벽, 신경퇴행성 장애

명세서

본원은 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 미국 가특허원 제60/290,971호 (발명의 명칭: 'Method of Preventing Cell Death Using Segment of Neural Thread Proteins')를 우선권으로 주장한다.

발명의 배경

기술분야

본 발명은 세포 사멸을 억제하는 방법, 및 세포 사멸 및 조직 괴사의 억제, 저해 및(또는) 경감을 필요로 하는 상태를 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 신경 사 단백질 (NPT: neural thread protein) 세그먼트, 또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체를 세포 사멸을 겪는 포유동물에게 투여하는 것을 포함한다. 세그먼트를 단독으로 또는 담체와 함께 근육내, 경구, 정맥내, 복막내, 뇌내 (실질내), 뇌실내, 종양내, 병소내, 피내, 경막내, 비내, 안구내, 동맥내, 국소, 경피, 에어로졸, 주입, 볼루스 주사, 이식 장치, 지속 방출형 장치 등을 통해 투여할 수 있다. 달리, 세그먼트는 당해 세그먼트를 발현시키는 유전자를 투여하거나, 이의 생산을 유도하는 백신을 투여하거나, 유전자 변형으로 인해 또는 다른 방식으로 당해 세그먼트를 생체내에서 발현시키는 세포, 박테리아 또는 바이러스를 도입 함으로써 생체내에서 발현시킬 수 있다.

배경기술

알츠하이머병 (AD)은 기억력, 행동, 언어능력 및 시공간 능력에서의 진행성 손상을 특징으로 하며, 결국에는 죽음에 이르게 하는 복합적 신경퇴행성 장애이다. 손상받기 쉬운 부위내의 특징적 병리학은 세포외 β -아밀로이드 침착, 세포내 신경원섬유 농축체, 시냅스 손실 및 막대한 신경 세포 사멸을 포함한다. 알츠하이머병의 원인 및 치료법에 대한 연구는 연구자들에게 다수의 방법을 제공하였다. 상당한 증거는 질환의 병인학에서 인간 아밀로이드 전구체 단백질 (APP: amyloid precursor protein)의 생성 또는 프로세싱과 관련된 변형을 포함한다. 그러나, 집중적인 연구는 AD가 다수의 상이한, 아마도 중복되는 병인을 갖는 다인성 질환임을 입증하였다.

이로 인해, 당업자들은 뇌내 및 신경 세포의 상이한 군집내에서의 구조적 결함, 화학적 변화 및 기능 이상을 연구하기 위해 유의한 연구 및 임상 조사를 수행하였다. 이러한 조사 및 연구의 심도는 다음의 문헌에 의해 나타나 있으며, 이는 당해 분야에서의 방대한 보고서 중 단지 소수만을 제시한다: 문헌 [Neurobiology of Alzheimer's Disease (D. Dawbarn and S. J. Allen, Editors), Bios, Oxford 1995; Dementia, (J. Whitehouse, Ed.), F. A. Davis Company, Philadelphia, 1993; Alzheimer's Disease: Senile Dementia and Related Disorders (Katzman, R. and R. L. Bick, Eds.), Raven Press, New York, 1994, pages 47-51; Alzheimer's Disease and Related Disorders, Etiology, Pathogenesis and Therapeutics (Iqbol, K., et al., Eds.), Wiley, Chichester, 1999; Alzheimer's Disease: Advances in Clinical and Basic Research (Corain, B, Ed.), Wiley, New York, 1993; Alzheimer's Disease: Clinical and Treatment Perspectives (Cutler, N. R., et al., Eds.), Wiley, Chichester, 1995; Alzheimer's Disease: Therapeutic Strategies (Giacobini, E., Becker, R., Eds.), Birkhauser, Boston, 1994; Paykel, et al., Arch. Gen. Psychiat., **51** :325-332 (1994); Amaducci, et al., Neurology, **36** :922-931 (1986); McKhann, et al., Neurology **34** :939-944 (1984), Heston et al., Arch. Gen. Psychiatry **38** :1085-1090 (1981); Aging of the Brain (Gispén and Trabert, editors), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983, pages 275-282; Heyman et al., Ann. Neurol **15** :335-341 (1984); Brayne C. and P. Calloway, Lancet **1**:1265-1267 (1988); Roth et al., Br. J. Psychiatry **149**:698-709 (1986); Medical Research Council, Report from the NRC Alzheimer's Disease Workshop, London, England, 1987; Morris et al., Neurology **41** :469-478 (1991)]; 및 이들 문헌 각각에 인용된 참고문헌.

지금까지, 알츠하이머병은 사회에 매년 약 천억 달러의 손해를 초래하는 미국에서 세 번째로 가장 비용이 많이 드는 질환이다. 이는 노인 집단에서 가장 널리 퍼진 질환 중 하나이며, 사회의 고령화에 따라 보다 더 중요하게 될 것이다. AD와 관련된 비용은 가정 간호와 같은 직접적 의료 비용, 재가 주간 보호와 같은 직접적 비의료 비용, 및 사망 환자 및 간병인 생산성과 같은 간접 비용을 포함한다. 의료적 치료 및 행동 수정은 인지력 쇠퇴 속도를 늦추고, 수용화를 지연시키고, 간병인 시간을 감소시키고, 삶의 질을 향상시킴으로써 경제적 이득을 가질 수 있다. 약물경제적 평가는 요양소 배치, 인지력, 및 간병인 시간에 대한 약물 치료 및 행동 수정의 효과와 관련하여 긍정적 결과를 나타내었다.

신경 사 단백질 (NTP)은 최근에 특징규명된 뇌 단백질 부류이다. 이들 부류의 일원인 AD7C-NTP는 신경염 발병소와 관련된 작용을 갖는 약 41 kD 막 결합된 인단백질이다 [de la Monte et al., J. Clin. Invest., **100**:3093-3104 (1997); de la Monte et al., Alz. Rep., **2**:327-332 (1999); de la Monte SM and Wands JR, Journal of Alzheimer's Disease, **3**:345-353 (2001)]. AD7C-NTP 및 AD7C-NTP에 대한 예측된 단백질 서열을 코딩하는 유전자가 동정되어 기재되어 있다 [de la Monte et al., J. Clin. Invest., **100**:3093-3104 (1997)]. 약 41 kD 중 이외에, 다른 종의 신경 사 단백질 (약 26 kD, 약 21 kD, 약 17 kD 및 약 15 kD)이 동정되었으며, 신경외배엽 종양, 성상세포종 및 교모세포종과 관련되고, 저산소증, 허혈 또는 뇌경색으로 인한 손상과 관련된다 [Xu et al., Cancer Research, **53**:3823-3829 (1993); de la Monte et al., J. Neuropathol. Exp. Neurol., **55**(10):1038-50 (1996), de la Monte et al., J. Neurol. Sci., **138**(1-2):26-35 (1996); de la Monte et al., J. Neurol. Sci., **135**(2):118-25 (1996); de la Monte et al., J. Clin. Invest., **100**:3093-3104 (1997); 및 de la Monte et al., Alz. Rep., **2**:327-332 (1999)].

신경 사 단백질의 종이 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호 및 동 제5,830,670호(모두의 발명의 명칭: 'Neural Thread Protein Gene Expression and Detection of Alzheimer's Disease') 및 미국 특허 제6,071,705호(발명

의 명칭: 'Method of Detecting Neurological Disease or Dysfunction')에 기재되어 있다. 이들 특허의 방법 및 명세서는 전체 내용이 본원에 참고로 구체적으로 인용되어 있다. 본원에 기재된 바와 같이, NTP는 세포 사멸 동안 상향조절되고 생산된다. 이와 같이, 사멸되고 사멸되어 가는 신경 세포는 과생성 NTP로서 기재되어 있고, 따라서, 이의 존재는 신경 세포의 사멸 및 알츠하이머병 (AD)의 발병을 지시한다.

신경 사 단백질의 다른 종은 AD7C-NTP 유전자의 다른 산물 (예를 들어, NCBI 엔트레츠-프로테인 (Entrez-Protein) 데이터베이스 기탁 번호 XP_032307 PID g15928971에 기재된 112개 아미노산 단백질) 또는 신경 사 단백질과 유사한 것 (예를 들어, NCBI 엔트레츠-프로테인 데이터베이스 기탁 번호 AAH14951 PID g15928971에 기재된 106개 아미노산 단백질, NCBI NCBI 엔트레츠-프로테인 데이터베이스 기탁 번호 XP_039102 PID g18599339에 기재된 또 다른 106개 아미노산 단백질 및 NCBI NCBI 엔트레츠-프로테인 데이터베이스 기탁 번호 AAH02534 PID g12803421에 기재된 61개 아미노산 단백질)으로서 동정되었다.

신경 사 단백질의 AD7C-NTP 종을 특히 AD와 관련시키는 강력한 증거가 존재하며, 이는 AD에서의 세포 사멸 동안 상향조절된다. AD7C-NTP mRNA는 대조군에 비해 AD 뇌에서 상향조절되고; 뇌 및 CSF에서의 AD7C-NTP 단백질 수준은 대조군보다 AD에서 더 높고; AD7C-NTP 면역반응성은 노인반, 신경원섬유 농축체 (NFT), 퇴행성 신경세포, 신경망사, 및 AD 및 다운 증후군 뇌에서의 퇴행위축성 신경증 발병소에서 발견된다 [Ozturk et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 86:419-423 (1989); de la Monte et al., J. Clin Invest., 86(3):1004-13 (1990); de la Monte et al., J. Neurol. Sci., 113(2):152-64 (1992); de la Monte et al., Ann. Neurol., 32(6):733-42 (1992); de la Monte et al., J. Neuropathol. Exp. Neurol., 55(10):1038-50 (1996), de la Monte et al., J. Neurol Sci, 138(1-2):26-35 (1996); de la Monte et al., J. Neurol Sci., 135(2):118-25 (1996); de la Monte et al., J. Clin. Invest., 100:3093-3104 (1997); 및 de la Monte et al., Alz. Rep., 2:327-332 (1999)]. 면역세포화학은 AD7C-NTP 단백질이 세포내, 신경망내 미세 돌기내에 위치하거나, AD 및 다운 증후군 둘 다의 뇌에 세포외 존재한다 [de la Monte et al., Ann Neurol, 32(6):733-42 (1992)]. 2종의 세포는 NTP: 신경세포 및 정상세포를 함유한다 [상기 문헌 참조]. 질환에 걸린 신경 세포는 전형적으로 AD 뇌에서 익히 공지된 신경원섬유 농축체를 함유하는 대형 추체외로 유형이다 [상기 문헌 참조].

AD7C-NTP 단백질의 상승된 수준은 AD 환자의 CSF 및 뇌 둘 다에서 발견되었으며, 이는 상기 파괴적인 질환에 대한 생화학적 마커로서의 이의 정확성을 제시한다 [de la Monte and Wands, Front Biosci 7:989-96 (2002); de la Monte and Wands, Journal of Alzheimer's Disease 3:345-353 (2001); Munzar et al, Alzheimer's Reports 4:61-65 (2001); Kahle et al, Neurology 54:1498-1504 (2000) 및 Averback Neurology 55:1068 (2000); Munzar et al, Alzheimer Reports 3:155-159 (2000); de la Monte et al, Alzheimer's Reports 2:327-332 (1999); Ghanbari et al, J Clin Lab Anal 12:285-288 (1998); Ghanbari et al, J Clin Lab Anal 12:223-226 (1998); Ghanbari et al, Journal of Contemporary Neurology 1998; 4A:2-6 (1998); 및 de la Monte et al, J Clin Invest 100:3093-3104 (1997)].

AD7C-NTP 유전자의 과발현은 또한 알츠하이머병에서의 세포 사멸 과정과 관련되었다 [de la Monte and Wands, J. Neuropathol. and Exp. Neuro., 60:195-207 (2001); de la Monte and Wands, Cell Mol Life Sci 58:844-49 (2001)]. AD7C-NTP는 또한 다운 증후군 뇌 조직내에서 동정되었다 [Wands et al., International Patent Publication No. WO 90/06993; de la Monte et al, J Neurol Sci 135:118-25 (1996); de la Monte et al., Alz. Rep., 2:327-332 (1999)]. AD7C-NTP 유전자의 과발현이 또한 녹내장과 관련될 수 있다는 특정한 증거가 존재한다 [Golubnitschaja-Labudova et al, Curr Eye Res 21:867-76 (2000)].

본 발명자들은, 본원에 전체 개시내용이 참고로 인용되어 있는 미국 특허원 제 호 (발명의 명칭: 'Methods of Treating Tumors and Related Conditions Using Neural Thread Proteins')에 개시되어 있는 바와 같이, (사멸되어 가는 세포 자체에 의해 생산된 상향조절된 AD7C-NTP와 비교하여) 방출된 AD7C-NTP 단백질이 세포독성이며 조직내에서의 다른 세포에 세포 사멸을 유도할 수 있음을 최근에 발견하였다. 따라서, 특히 AD 뇌에서의 신경 사 단백질과 관련된 세포 사멸 및 조직 괴사를 억제, 저해, 조절 또는 경감시키는 것이 바람직할 것이다.

또한, 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 계류 중인 미국 특허원 제09/697,590호 (발명의 명칭: 'Preferred Segments of Neural Thread Protein and Methods of Using the Same')에 개시된 바와 같이, NTP 세그먼트를 결합 검정법, NTP의 정제에서, 및 NTP 대체용 진단제로서 사용할 수 있음을 최근에 발견하였다.

관련된 기술의 상술한 기술을 포함한 이들 기술을 통해, 특정의 모든 미국 특허를 비롯한 본원에 기재된 공개적으로 입수가능한 특정의 모든 문헌은 전체 내용이 본원에 참고로 구체적으로 인용되어 있다. 관련된 기술의 상술한 기술은 어떠한 방식으로든 계류 중인 미국 특허원을 비롯한 본원에 기재된 특정한 문헌이 본 발명에 대한 선행 기술이라는 승인으로서 고려되지 않는다.

발명의 요약

세포 사멸 및 조직 괴사를 억제, 저해, 조절 및(또는) 경감시키는 방법을 개발할 필요가 있다. 특히, 뇌내에서 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시킬 수 있는 방법을 개발할 필요가 있다. 또한, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법을 개발할 필요가 있다. 또한, 포유동물 뇌 생조직내에서 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시킴으로써 AD와 같은 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법을 개발할 필요가 있다. 또한, 인간에 있어서 양성 또는 악성 종양과 같은 유해하거나 불필요한 조직 또는 세포 요소를 제거하거나 파괴하기 위해, 투여된 NTP에 의해 유발되는 생조직내에서의 세포 사멸 및 조직 괴사를 제어, 저해, 조절 또는 경감시키는 방법을 개발할 필요가 있다.

따라서, 본 발명의 실시양태의 특징은 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키는 방법을 제공하는 것이다. 당해 방법은 생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 당해 세그먼트는 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해, 감소, 제어 및(또는) 경감시키기에 충분한 양으로 존재한다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 포유동물 뇌 생조직을 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키기에 충분한 양으로 존재하는 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 함유하는 성분과 접촉시킴으로써 포유동물 뇌 생조직내에서 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키는 방법을 제공한다. 당해 성분은 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 포유동물 뇌 생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 함유하는 성분과 접촉시킴으로써 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 당해 성분은 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 당해 NTP 세그먼트는 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재한다. 당해 방법에 따라서, 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 보유하는 포유동물에게 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 투여한다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체), 및 당해 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)가 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있도록 하는 성분을 포함하는 조성물을 제공한다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 발현시키는 유전자를 투여함으로써, 생조직과 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와의 접촉을 야기하는 것을 포함하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 당해 유전자는 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)가 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재하도록 하는 방식으로 투여한다.

본 발명의 실시양태의 부가의 특징에 따라, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 포유동물이 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 발현시키거나 달리 이를 생산하도록 유도하는 백신을 투여함으로써, 생조직과 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와의 접촉을 야기하는 것을 포함하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 당해 백신은 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)가 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재하도록 하는 방식으로 투여한다.

본 발명의 실시양태의 또 다른 특징에 따라, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)를 생체내에서 발현시킬 수 있는 세포, 박테리아 또는 바이러스를 도입, 투여 또는 이식함으로써, 생조직과 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와의 접촉을 야기하는 것을 포함하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 당해 세포, 박테리아 또는 바이러스는 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)가 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시키기에 충분한 양으로 존재하도록 하는 방식으로 도입, 투여 또는 이식한다.

본 발명의 상기 및 다른 특징은 하기한 상세한 설명을 읽을 때 당업자에게 쉽사리 자명할 것이다. 그러나, 본 발명의 바람직한 실시양태를 제시하는 상세한 설명 및 구체적인 실시예는 단지 예시를 위해 제공되는 것임을 인지하여야 하는데, 이는 본 발명의 취지 및 범주내에서 다양한 변화 및 변형이 상기 설명으로부터 당업자에게 자명하게 될 것이기

때문이다. 달리 명시하지 않는 한, 본원에 인용된 문헌의 각각의 내용은 전체 내용이 참고로 본원에 인용되어 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 완전한 AD7C-NTP 서열 및 완전한 AD7C-NTP 서열내에서의 하를릴 (Harlil) 서열의 위치 [de la Monte et al., J. Neuropathol. Exp. Neurol., 55:1038-1050 (1996)]를 도시한다.

도 2는 122개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (미국 특허 제5,948,634호로부터의 서열 40; NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25447)을 도시한다.

도 3은 112개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 XP_032307)을 도시한다.

도 4는 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAH14951 PID g15928971에 기재된 106개 아미노산 신경 사 단백질을 도시한다.

도 5는 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 XP_039102, PID g18599339에 기재된 106개 아미노산 신경 사 단백질을 도시한다.

도 6은 98개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (미국 특허 제5,830,670호로부터의 서열 30; NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE13612)을 도시한다.

도 7은 75개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (미국 특허 제5,948,634호로부터의 서열 48; NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25448)을 도시한다.

도 8은 68개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (미국 특허 제5,948,634호로부터의 서열 36; NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25446)을 도시한다.

도 9는 61개 아미노산 신경 사 단백질의 완전한 아미노산 서열 (NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAH02534)을 도시한다.

발명의 상세한 설명

용어 'AD7C-NTP'는 약 41 kD 단백질을 의미하며, 이를 코딩하는 유전자 및 핵산 서열은 문헌 [de la Monte et al., J. Clin. Invest., 100:3093-104 (1997)], 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호 및 동 제5,830,670호의 서열 120 및 서열 121, 및 NCBI 엔트레츠-프로테인 데이터베이스 기탁 번호 AF010144에 기재되어 있다.

이들 설명 전체에 걸쳐, 용어 'NTP' 또는 '신경 사 단백질'은 신경 사 단백질 및 관련 분자 (채장 사 단백질을 포함함) 및 이들 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 의미하며, (비제한적으로) 다음의 단백질, 및 이들 단백질의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다:

(a) AD7C-NTP;

(b) 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호, 동 제5,830,670호 및 동 제6,071,705호, 및 문헌 [de la Monte et al., J. Neuropathol. Exp. Neurol., 55(10):1038-50 (1996), de la Monte et al., J. Neurol. Sci., 138(1-2):26-35 (1996); de la Monte et al., J. Neurol. Sci., 135(2):118-25 (1996), de la Monte et al., J. Clin. Invest., 100:3093-3104 (1997) 및 de la Monte et al., Alz. Rep., 2:327-332 (1999)]에 기재된 바와 같은 약 42, 약 26, 약 21, 약 17, 약 14 및 약 8 kD 종의 신경 사 단백질;

(c) 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (American Type Culture Collection, Manassas, VA)에 기탁 번호 HB-12546으로 기탁된 모노클로날 항체 #2 또는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (Manassas, VA)에 기탁 번호 HB-12545로 기탁된 모노클로날 항체 #5에 의해 특이적으로 인식되는 단백질;

(d) AD7C-NTP 유전자에 의해 코딩되는 단백질;

(e) 미국 특허 제5,830,670호, 동 제5,948,634호 및 동 제5,948,888호로부터의 서열 40에 기재되어 있고 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25447, PID g10048540에 기재되어 있는 122개 아미노산 신경 사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 2에 제시되어 있음);

(f) NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 XP_032307, PID g14725132에 기재되어 있는 112개 아미노산 신경 사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 3에 제시되어 있음);

(g) NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAH14951 PID g15928971에 기재되어 있는 106개 아미노산 신경 사 단백질-유사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 4에 제시되어 있음);

(h) NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 XP_039102, PID g18599339에 기재되어 있는 106개 아미노산 신경 사 단백질-유사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 5에 제시되어 있음);

(i) 미국 특허 제5,830,670호, 동 제5,948,634호 및 동 제5,948,888호로부터의 서열 30에 기재되어 있고 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE13612, PID g10048538에 기재되어 있는 98개 아미노산 신경 사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 6에 제시되어 있음);

(j) 미국 특허 제5,830,670호, 동 제5,948,634호 및 동 제5,948,888호로부터의 서열 48에 기재되어 있고 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25448, PID g10048541에 기재되어 있는 아미노산 75개 신경 사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 7에 제시되어 있음);

(k) 미국 특허 제5,830,670호, 동 제5,948,634호 및 동 제5,948,888호로부터의 서열 36에 기재되어 있고 NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAE25446, PID g10048539에 기재되어 있는 68개 아미노산 신경 사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 8에 제시되어 있음);

(l) NCBI 엔트레츠-프로테인 기탁 번호 AAH02534, PID g12803421에 기재되어 있는 61개 아미노산 신경 사 단백질-유사 단백질 (이에 대한 아미노산 서열은 도 9에 제시되어 있음);

(m) 채장 사 단백질;

(n) 미국 특허 제6,071,705호에 기재된 신경 채장 사 단백질 (nPTP); 및

(o) 아메리칸 타입 컬처 콜렉션에 기탁된 HB 9934, HB 9935 및 HB 9936으로 이루어진 군으로부터의 하이브리도마에 의해 생산되는 항체에 의해 특이적으로 인식되는 단백질.

용어 'NTP'는 또한 포유동물 조직으로부터 유도되거나 재조합 기술을 이용하여 생산된 NTP를 포함하고, NTP의 단편, 변이체, 유도체 및 동족체를 포함한다.

본원에 기재된 아미노산 및 아미노산 잔기는 아래 표에 제시되어 있는 허용된 1문자 또는 3문자 코드에 따라 인용할 수 있다. 달리 명시하지 않는 한, 이들 아미노산 또는 잔기는 자연 발생 L 입체이성질체 형태이다.

[표 1]

아미노산	1문자 기호	3문자 기호
알라닌	A	Ala
아르기닌	R	Arg
아스파라긴	N	Asn
아스파르트산	D	Asp
시스테인	C	Cys
글루타민	Q	Gln
글루탐산	E	Glu
글리신	G	Gly
히스티딘	H	His

이소루이신	I	Ile
루이신	L	Leu
라이신	K	Lys
메티오닌	M	Met
페닐알라닌	F	Phe
프롤린	P	Pro
세린	S	Ser
트레오닌	T	Thr
트립토판	W	Trp
티로신	Y	Tyr
발린	V	Val

본원에 사용된 바와 같은 용어 '하를릴 서열' 또는 '하를릴 펩티드'는 하기 서열 중 하나 이상을 포함하거나 함유하는 생물학적 활성 펩티드를 의미한다:

1. 도 1에 개시된 바와 같은 T H A R L I L ; H H A R L C L ; M F A R L I L ; 및 H H A R L I F ;
2. H H A R L ; H A R L ; H A R L I ; H A R L I L ; H H A R L C L ; A R L I L ; H H A R L I F ; T H A R L I L ; A R L I ; A R L ; H A R L C L ; A R L C L ; A R C L ; M F A R L I L ; F A R L I L ; F A R L I ; F A R L ; H A R L I F ; 및 A R L I F ;
3. L H A R L C L A N F C G R N R V ('NTP-1');
4. L A R L C L A N F C G N N N V ('NTP-2');
5. C A R Y R T G H H A R L M ('NTP-3');
6. H H A R L P L A N F C G ('NTP-4');
7. R T G H H A R L C L A N F C ('NTP-5');
8. C E S A R Y R T G H H A R L C ('NTP-6');
9. D N T H H A R L I L ('NTP-7');
10. S H H A R L I L ('NTP-8'); 및
11. H A R L M L , H A R L V L 및 H A K L I L

본원에 사용된 바와 같은 용어 '하를릴 서열' 또는 '하를릴 펩티드'는 또한 하를릴 서열 또는 하를릴 펩티드의 생물학적 활성 변이체, 동족체, 유도체 및 펩티드 모방체를 포함하고, 링커 펩티드 상의 하를릴 서열 앞 또는 뒤에 추가의 아미노산 잔기를 갖는 상기 서브패러그래프 1 내지 11에 나열된 임의의 서열들 중 하나의 서열을 함유하는 생물학적 활성 펩티드를 포함한다.

본원에서 사용되는 바와 같은 용어 'NTP 세그먼트'는 NTP, 바람직하게는 AD7C-NTP 종의 생물학적 활성 단편을 의미하고, 구체적으로는 하를릴 서열 및 하를릴 펩티드를 (비제한적으로) 포함한다.

용어 '생물학적 활성'은 NTP 또는 다른 분자에 결합하는 능력을 보유하는 단백질, 펩티드, 하를릴 펩티드 또는 NTP 세그먼트를 의미한다.

용어 '단편'은 NTP 단백질 또는 NTP 세그먼트의 아미노산 서열의 연속 서열로 이루어진 단백질 또는 폴리펩티드를

의미하고, 자연 발생 단편, 예를 들어, 스플라이스 변이체 및 자연 발생 생체내 프로테아제 활성으로부터 생성되는 단편을 포함한다. 이러한 단편은 아미노 말단, 카르복시 말단에서 및(또는) 내부에서 (예를 들어, 자연적인 스플라이싱에 의해) 절단될 수 있다. 이러한 단편은 아미노 말단 메티오닌의 존재 또는 부재하에 제조할 수 있다. 용어 '단편'은, 동일하든지 상이하든지 간에, 직접 또는 링커를 통해 함께 연결되는 공통적이거나 그렇지 않은 연속적인 아미노산 서열을 갖는 동일한 NTP 단백질 또는 NTP 세그먼트로부터 유래하는 단편을 포함한다.

용어 '변이체'는 NTP 단백질 또는 NTP 세그먼트의 아미노산 서열에 비해 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 및(또는) 삽입이 존재하는 단백질 또는 폴리펩티드를 의미하고, NTP 단백질 또는 NTP 세그먼트의 자연 발생적인 대립유전자 변이체 또는 다른 스플라이스 변이체를 포함한다. 용어 '변이체'는 펩티드 서열에서 하나 이상의 아미노산이 유사하거나 상동성인 아미노산(들) 또는 유사하지 않은 아미노산(들)로 치환된 것을 포함한다. 아미노산을 유사하거나 상동성인 것으로 등급화할 수 있는 다수의 기준이 존재한다 [Gunnar von Heijne, Sequence Analysis in Molecular Biology, p. 123-39 (Academic Press, New York, NY 1987)]. 바람직한 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서의 알라닌 치환을 포함한다. 다른 바람직한 치환은 단백질의 전체 순 전하, 극성 또는 소수성에 거의 또는 전혀 영향을 주지 않는 보존적 치환을 포함한다. 보존적 치환은 하기 표 2에 기재되어 있다.

[표 2]

염기성	아르기닌, 라이신, 히스티딘
산성	글루탐산, 아스파르트산
비하전 극성	글루타민, 아스파라긴, 세린, 트레오닌, 티로신
비극성	페닐알라닌, 트립토판, 시스테인, 글리신, 알라닌, 발린, 프롤린, 메티오닌, 루이신, 이소루이신

표 3은 아미노산 치환의 또 다른 개요를 제시한다.

[표 3]

본래 잔기	치환체
Ala	gly; ser
Arg	lys
Asn	gln; his
Asp	glu
Cys	ser
Gln	asn
Glu	asp
Gly	ala; pro
His	asn; gln
Ile	leu; val
Leu	ile; val
Lys	arg; gln; glu
Met	leu; tyr; ile
Phe	met; leu; tyr
Ser	thr
Thr	ser
Trp	tyr

Tyr	trp; phe
Val	ile; leu

다른 변이체는 (a) 치환 부위에서 폴리펩티드 골격의 구조를, 예를 들어, 시트 또는 나선 입체형태로 유지하거나, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성을 유지하거나, 또는 (c) 측쇄의 크기를 유지하는 효과에서 상당한 차이가 있는 잔기를 선택하는 것과 같이 덜 보존적인 아미노산 치환들로 이루어질 수 있다. 일반 적으로 기능에 대하여 보다 큰 효과를 나타낼 것으로 예상되는 치환은 (a) 글리신 및(또는) 프롤린이 다른 아미노산에 의해 치환되거나 결실 또는 삽입되는 것; (b) 친수성 잔기, 예를 들어, 세릴 또는 트레오닐이 소수성 잔기, 예를 들어, 루이실, 이소루이실, 페닐알라닐, 발릴 또는 알라닐로 (또는 이것에 의해) 치환되는 것; (c) 시스테인 잔기가 임의의 다른 잔기로 (또는 다른 잔기에 의해) 치환되는 것; (d) 양전기성 측쇄, 예를 들어, 라이실, 아르기닐 또는 히스티딜을 갖는 잔기가 음전기성 전하를 갖는 잔기, 예를 들어, 글루타밀 또는 아스파르틸로 (또는 이것에 의해) 치환되는 것; 또는 (e) 큰 측쇄를 갖는 잔기, 예를 들어, 페닐알라닌이 이러한 측쇄를 갖지 않는 것, 예를 들어, 글리신으로(또는 이것에 의해) 치환되는 것이 있다. 다른 변이체로는 새로운 글리코실화 및(또는) 인산화 부위(들)을 생성시키도록 설계된 것들, 또는 기존의 글리코실화 및(또는) 인산화 부위(들)을 결실시키도록 설계된 것들이 포함된다. 변이체는 글리코실화 부위, 단백질분해 절단 부위 및(또는) 시스테인 잔기에서 하나 이상의 아미노산의 치환을 포함한다. 변이체는 또한 링커 펩티드 상의 NTP 아미노산 서열의 앞 또는 뒤에서 추가의 아미노산 잔기를 갖는 NTP 단백질 또는 NTP 세그먼트를 포함한다. 예를 들어, 시스테인 잔기를 NTP 세그먼트의 아미노 및 카르복시 말단의 모두에 부가하여 디-설피드 결합의 형성에 의해 NTP 세그먼트를 고리화할 수 있다. 용어 '변이체'는 또한 하를릴 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹시키는 하나 이상 및 26개 이하의 추가의 아미노산을 갖는 하를릴 펩티드의 아미노산 서열을 보유하는 폴리펩티드를 포함한다.

용어 '유도체'는 자연적인 과정, 예를 들어, 프로세싱 및 기타 해독후 변형 뿐 아니라, 예를 들어, 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자, 당, 포스페이트 및(또는) 다른 분자의 부가에 의한 것과 같은 화학적 변형 기술에 의해 화학적으로 변형된, 생물학적으로 활성인 단백질 또는 폴리펩티드를 의미하며, 여기서 당해 분자 또는 분자들은 천연적으로 야생형 NTP 단백질 또는 세그먼트에는 부착되어 있지 않다. 유도체는 염을 포함한다. 이와 같은 화학적 변형은 기초 문헌 및 보다 상세한 논문뿐 아니라, 방대한 연구 문헌에 충분히 기재되어 있으며, 당업자에게 익히 공지되어 있다. 동일한 유형의 변형이 제공된 단백질 또는 폴리펩티드의 여러 부위들에 동일하거나 상이한 정도로 존재할 수 있음을 숙지할 것이다. 또한, 제공된 단백질 또는 폴리펩티드는 다수의 유형의 변형을 함유할 수 있다. 변형은 펩티드 골격, 아미노산 측쇄, 및 아미노 또는 카르복실 말단을 비롯하여 단백질 또는 폴리펩티드의 어느 곳에서나 발생할 수 있다. 변형은, 예를 들어, 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 잔기의 공유 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교결합, 고리화, 디설피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교결합의 형성, 시스테인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 히드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질분해 과정, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 글리코실화, 지질 부착, 황산화, 글루탐산 잔기의 감마-카르복실화, 히드록실화 및 ADP-리보실화, 셀레노일화, 황산화, 트랜스퍼-RNA 매개에 의한 아미노산의 단백질에의 부가, 예를 들어, 아르기닐화 및 우비퀴틴화를 포함한다 [참조예: Proteins-Structure And Molecular Properties, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993); Wold, F., 'Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects,' pgs. 1-12 in Posttranslational Covalent Modification Of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York (1983); Seifter et al., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990) 및 Rattan et al., 'Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging,' Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48-62 (1992)]. 용어 '유도체'는 분지화되거나, 분지화의 존재 또는 부재하에 고리화되는 단백질 또는 폴리펩티드를 생성시키는 화학적 변형을 포함한다. 고리형, 분지형 및 분지된 환형 단백질 또는 폴리펩티드는 해독후 자연적인 과정으로부터 생성될 수 있으며, 또한 단지 합성 방법만으로도 제조할 수 있다.

용어 '동족체'는, 이 경우 두 폴리펩티드의 아미노산 위치에서의 유사성을 비교하는데 통상적으로 이용되는 표준 방법에 의해 결정된 바로는, NTP 단백질, AD7C-NTP, 또는 NTP 세그먼트의 아미노산 서열에서 75% 이상이 동일한 단백질을 의미한다. 두 단백질 사이의 유사성 또는 상동성 정도는 문헌 [Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; 및 Carillo H. and Lipman, D., SIAM, J : Applied Math., 48: 1073 (1988)]에 기재된 것들을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는 공지된 방법에 의해 용이하게 계산할 수 있다. 상동성을 결정하는 바람직한 방법은 시험되는 서열들 사이에서 가장 큰 매치를 제공하도록 설계된다. 상동성 및 유사성을 결정하는 방법은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 프로그램으로 분류된다.

두 서열들 사이의 상동성 및 유사성을 결정하는 바람직한 컴퓨터 프로그램 방법으로는 GCG 프로그램 패키지 [Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research*, 12(1):387 (1984), BLASTP, BLASTN, 및 FASTA [Atschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215: 403-410 (1990)]가 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. **BLAST** X 프로그램은 NCBI 및 다른 공급원 [**BLAST** Manual, Altschul, S., et al., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., *J. Mol. Biol.*, 215:403-410 (1990)]으로부터 공개적으로 입수가 가능하다. 예를 들어, GAP (Genetic Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.)와 같은 컴퓨터 알고리즘을 이용하여, 서열 상동성 백분율이 결정될 두 단백질 또는 폴리펩티드를 이들의 각 아미노산들이 최적으로 매치되도록 정렬시킨다 (알고리즘에 의해 결정된 바와 같은 '매치된 스펠').

갭 개방 패널티 ($3 \times (\text{배})$ 평균 대각선으로 계산됨; '평균 대각선'이란 사용되는 비교 매트릭스의 대각선의 평균임; '대각선'은 특정의 비교 매트릭스에 의해 각각의 완전한 아미노산에 배정된 점수 또는 숫자임) 및 갭 연장 패널티 (일반적으로 갭 개방 패널티의 1/10배임), 및 PAM 250 또는 BLOSUM 62와 같은 비교 매트릭스를 알고리즘과 함께 이용한다. 표준 비교 매트릭스 {PAM250 비교 매트릭스에 대하여는 문헌 [Dayhoff et al. in: *Atlas of Protein Sequence and Structure*, vol. 5, supp. 3 [1978]]을 참조; BLOSUM 62 비교 매트릭스에 대하여는 문헌 [Henikoff et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:10915-10919 (1992)]을 참조}를 또한 알고리즘에 의해 이용할 수 있다. 이어서, 상동성 백분율을 알고리즘에 의해 계산한다. 동족체는 전형적으로 NTP, AD7c-NTP, NTP 세그먼트 또는 하를릴 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 및(또는) 삽입을 보유할 것이다.

용어 '펩티드 모방체' 또는 '모방체'는 펩티드 또는 단백질의 생물학적 활성을 모방하지만 화학적 구조에 있어서 펩티드는 아닌, 즉 임의의 펩티드 결합 (즉, 아미노산 사이의 아미드 결합)을 포함하지 않는 생물학적으로 활성인 화합물을 의미한다. 본원에서 용어 펩티드 모방체는 본래 완전하게 펩티드는 아닌 분자, 예를 들어, 슈도-펩티드, 세미-펩티드 및 펩토이드를 포함하는 넓은 의미로 사용된다. 이러한 넓은 의미의 펩티드 모방체 (펩티드의 일부는 펩티드 결합이 결여된 구조에 의해 대체됨)의 예는 아래에 기재되어 있다. 완전하게 또는 부분적으로 비-펩티드이든 아니든 본 발명에 따른 펩티드 모방체는 당해 펩티드 모방체를 기초로 하는 NTP 세그먼트내의 활성기의 3차원 배열과 매우 유사한 반응성 화학 잔기의 공간적인 배열을 제공한다. 이러한 활성-부위 기하구조의 유사성의 결과로서, 펩티드 모방체는 펩티드의 생물학적 활성과 유사한 생물학적 시스템에 영향을 준다.

본 발명의 펩티드 모방체는 바람직하게는 본원에 기재된 NTP 세그먼트와 3차원 형태 및 생물학적 활성 모두에 있어서 실질적으로 유사하다. 펩티드 모방체를 형성시키는, 당업계에 공지된 펩티드 구조 변형 방법의 예로는 활성에 불리한 영향을 주지 않으면서 특히 N-말단에서 단백질분해에 대한 증가된 안정성을 나타내는 D-아미노산 잔기 구조를 유도하는 골격 키랄 중심의 역위를 포함한다. 일례가 논문 ['Tritiated D-ala¹-Peptide T Binding', Smith C. S. et al., *Drug Development Res.*, 15, pp. 371-379 (1988)]에 제시되어 있다. 제2의 방법은 안정성을 위해 고리형 구조, 예를 들어, N 내지 C쇄내 이미드 및 락탐을 변형시키는 것이다 [Ede et al. in Smith and Rivier (Eds.) '*Peptides: Chemistry and Biology*', Escom, Leiden (1991), pp. 268-270]. 이의 예는 입체형태적으로 제한된 티모펜틴-유사 화합물, 예를 들어, 본원에 전체 개시내용이 참고로 인용되어 있는 미국 특허 제4,457,489호 (1985) (Goldstein, G. et al.)에 개시된 것들에서 제시되어 있다. 제3의 방법은 NTP 세그먼트내의 펩티드 결합을 단백질분해에 대한 내성을 부여하는 슈도펩티드로 치환하는 것이다.

일반적으로 펩티드 구조 및 생물학적 활성에 영향을 주지 않는 다수의 슈도펩티드 결합이 기재되어 있다. 이러한 방법의 일례는 레트로인버소 (retroinverso) 슈도펩티드 결합을 치환하는 것이다 ['Biologically active retroinverso analogues of thymopentin', Sisto A. et al in Rivier, J. E. and Marshall, G. R. (eds) '*Peptides, Chemistry, Structure and Biology*', Escom, Leiden (1990), pp. 722-773 및 Dalpozzo, et al. (1993), *Int. J. Peptide Protein Res.*, 41:561-566, 본원에 참고로 인용되어 있음]. 이러한 변형에 따라, 펩티드의 아미노산 서열은 하나 이상의 펩티드 결합이 레트로-인버소 슈도펩티드 결합에 의해 대체되는 것을 제외하고는 상기한 NTP 세그먼트의 서열과 동일할 수 있다. 바람직하게는, 대부분의 N-말단의 펩티드 결합이 치환되는데, 이는 이러한 치환이 N-말단에 작용하는 엑소펩티다제에 의한 단백질분해에 대해 내성을 부여하기 때문이다. 또한, 아미노산의 화학기들을 유사한 구조의 다른 화학기들로 대체하여 추가의 변형을 수행할 수 있다. 생물학적 활성이 전혀 또는 거의 손상되지 않는 효소적 절단에 대해 안정성을 증가시키는 것으로 알려진 다른 적합한 슈도펩티드 결합은 환원된 등가체 (isostere) 슈도펩티드 결합이다 [Coudier, et al. (1993), *Int. J. Peptide Protein Res.*, 41:181-184, 본원에 전체 내용이 참고로 인용되어 있음].

따라서, 이들 펩티드의 아미노산 서열은 하나 이상의 펩티드 결합이 등가체 슈도펩티드 결합에 의해 대체되는 것을 제외하고는 NTP 세그먼트 또는 하를릴 서열의 서열들과 동일할 수 있다. 바람직하게는, 대부분의 N-말단의 펩티드 결합이 치환되는데, 이는 이러한 치환이 N-말단에 작용하는 엑소펩티다제에 의한 단백질분해에 대한 내성을 부여할 것이기 때문이다. 하나 이상의 환원된 등가체 슈도펩티드 결합을 갖는 펩티드의 합성은 당업계에 공지되어 있다 [Coudier, et al. (1993), 상기에서 인용됨]. 다른 예로는 케토메틸렌 또는 메틸술피드 결합을 도입하여 펩티드 결합을 대체하는 것이 포함된다.

NTP 세그먼트 또는 하를릴 서열의 펩토이드 유도체는 생물학적 활성을 위한 중요한 구조적 결정인자를 보유하나 펩티드 결합을 제거함으로써 단백질분해에 대한 내성을 부여하는 다른 종류의 펩티드 모방체를 나타낸다 [Simon, et al.

l., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 9367-9371, 이의 전체 내용이 본원에 참고로 인용됨]. 펩토이드는 N-치환된 글리신의 올리고머이다. 각각 천연 아미노산의 측쇄에 상응하는 다수의 N-알킬기가 기재되어 있다 [Simon, et al. (1992), 위에서 인용되어 있음]. NTP 세그먼트 또는 하릴릴 서열의 아미노산의 일부 또는 전부는 대체된 아미노산에 상응하는 N-치환된 글리신으로 대체된다.

용어 '펩티드 모방체' 또는 '모방체'는 또한 하기한 리버스-D 펩티드 및 에난티오머를 포함한다.

용어 '리버스-D 펩티드'는 NTP 세그먼트 또는 하릴릴 서열의 L-아미노산 서열과 비교하여 역순으로 배열된 D-아미노산으로 구성된 생물학적 활성 단백질 또는 펩티드를 의미한다. 따라서, NTP의 L-아미노산 세그먼트의 카르복시 말단 잔기는 D-아미노산 펩티드 등의 아미노 말단으로 된다. 예를 들어, AD7C-NTP 단편, HARLIL은 $L_d I_d L_d R_d A_d H_d$ (여기서, A_d , H_d , I_d , L_d 및 R_d 는 L-아미노산, A, H, I, L 및 R 각각에 상응하는 D-아미노산임)로 된다.

용어 '에난티오머'는 NTP 세그먼트의 아미노산 서열에서 하나 이상의 L-아미노산 잔기가 상응하는 D-아미노산 잔기(들)로 대체된 생물학적 활성 단백질 또는 펩티드를 의미한다.

본 명세서 전반에서, 용어 '신경퇴행성 장애'는 다음을 의미한다:

1. 하기 징후: 뇌 위축, 세포 손실, 신경원섬유 농축체, 아밀로이드 플라크, 및(또는) 조직 및(또는) 체액에서의 NTP의 존재 중 하나 이상을 특징으로 하는 병리학적 질환;
2. 알츠하이머 군의 질환들, 즉, 알츠하이머병 (초로성 치매, 노인성 치매); 다운 증후군과 관련된 알츠하이머병; 가족성 알츠하이머병; 프레세닐린 1, 프레세닐린 2 등과 같은 돌연변이로 인한 유전적 알츠하이머병; 파킨슨병, 루이 소체 병 및 뇌혈관 질환 등과 같은 다른 중추신경계 질환과 관련된 알츠하이머병;
3. (가족성이거나 가족성이 아닌 알츠하이머병과 관련되거나 관련되지 않은) 콩고친화성 혈관병증;
4. 비정상 원섬유 ('아밀로이드 원섬유') 및(또는) 관련된 비-원섬유 아밀로이드 전구체 또는 비-전구체 분자(들)의 침착을 특징으로 하는 병리학적 상태;
5. 전두측두형 치매, 진행성 핵상 마비 (PSP), 피질기저 신경절 변성 (CBD) 및 tau 유전자의 변이와 관련된 상태를 비롯한 tau의 비정상 침착을 특징으로 하는 병리학적 상태; 및(또는)
6. 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 미국 특허 제6,001,331호에서 개시된 것과 같은 기타 장애 및 질환.

본 명세서 전반에서, 표현 '아밀로이드 플라크' 및 '아밀로이드 섬유'는 노인성 플라크, 신경염 플라크, 아밀로이드 플라크, 아밀로이드 스타, 아밀로이드 코어, 원시 플라크, 고전 플라크, 소모성 플라크, 확산성 플라크, 그림자 플라크, 신경원섬유 농축체, 아밀로이드 섬유, 이중 나선형 필라멘트 등을 나타낸다.

본 명세서 전반에서, 용어 '포유동물'은 모든 포유동물을 나타내고, 바람직 하게는 양, 소, 개, 고양이, 유인원, 원숭이, 마우스, 랫트 및 인간을 나타내며, 가장 바람직하게는 인간을 나타낸다.

본 명세서 전반에서, 표현 'NTP 세그먼트', '하릴릴 서열' 및 '하릴릴 펩티드'는 호환적으로 사용된다. 'NTP 세그먼트', '하릴릴 서열' 또는 '하릴릴 펩티드'가 사용되면, 본 발명은 그의 적합한 동족체, 변이체, 유도체 및 펩티드 모방체를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

본 명세서 전반에서, 표현 'NTP를 함유하는 조직'은 NTP의 전부 또는 일부, 그를 함유할 수 있거나 달리 함유하지 않을 수 있는 NTP와의 세포질 커뮤니케이션에서의 조직, NTP와 접촉하였지만 그를 그의 원형으로 더 이상 함유하지 않는 조직, 및 NTP와 접촉하는 특정 시점에 존재할 수 있는 조직을 의미한다.

본 발명은 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제하는 방법에 관한 것이다. NTP는 상기 문헌에 공지되고 기재되었으나, NTP가 NTP 생산 세포 이외의 세포들의 세포 사멸을 유발한다는 것은 지금까지 공지되지 않았다. 임의의 이론에 구속되려는 의도는 없으나, 본 발명자는 생조직내에서의 NTP의 존재가 기존에 보고된 바와 같이 특정 신경 세포 사멸의 징조일 뿐만 아니라, 다른 생조직 세포의 사멸을 유발하는 한에서 독성인 것으로 간주한다. 본 발명자는 특히 포유동물 뇌 생조직에 존재하는 AD7C-NTP가 알츠하이머병 (AD)에 대한 마커이고, 그것이 존재하는 생조직내에서 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 유발함으로써 AD를 악화시키는 것으로 간주한다.

따라서, 포유동물이 AD에 걸리면, 신경 세포 사멸이 AD7C-NTP를 생산하는 유 전자를 상향조절시키고, 이로 인해 그 부위에서 AD7C-NTP가 생산되는 것으로 간주된다. 이와 같이 AD7C-NTP가 생산되면, 그 주변의 다른 생조직 (예를 들어, 다른 신경 세포, 아교 세포 등)을 파괴하기 시작하고, 그로 인해 질환의 진행이 악화된다. 따라서, 본 발명자는 AD7C-NTP의 효과를 중화시키는 것이 AD7C-NTP를 함유하는 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사의 억제, 저해 및(또는) 경감을 보조할 것으로 간주한다. NTP 세그먼트가 AD7C-NTP에 결합하여, AD7C-NTP를 함유하는 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 및(또는) 경감시킬 수 있는 것은 놀라웠다.

NTP는, 예를 들어, 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호, 동 제5,830,670호 및 동 제6,071,705호에 개시되어 있고, 이의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다. 재조합으로 또는 별법으로 NTP를 제조하는 방법은 위에서 언급된 문헌에 개시되어 있다. 또한, AD 및 다른 관련 장애 및 질환을 진단할 수 있도록 NTP에 대한 항체를 제조하는 것도 상기 문헌에 개시된다. NTP 단편, 동족체, 유도체 및 변이체뿐만 아니라, 다양한 공급원 (예를 들어, 천연, 추출, 정제, 합성 또는 시험관내 여러가지 발현 시스템 등)의 NTP를 사용하여 본 발명에 유용한 임의의 세그먼트를 제조할 수 있음은 당업자에게 명백할 것이다.

본 발명은 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하는 방법에 관한 것이다. 당해 방법은 생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 당해 세그먼트는 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재한다. NTP 세그먼트는 바람직하게는 AD7C-NTP의 서열이고, 가장 바람직하게는 AD7C-NTP의 하기 반복 서열 중 하나 이상을 함유한다:

(a) 45-51 T H A R L I L

(b) 90-96 H H A R L C L

(c) 263-269 M F A R L I L

(d) 291-297 H H A R L I F

도 1 참조.

본 발명은 임의의 영역 (a), (b), (c), (d)의 서열을 보유하는 펩티드, 또는 그들의 동족체, 유도체, 변이체 및 모방체 ('H A R L M L'을 비제한적으로 포함함)를 포함한다. 하릴릴 펩티드는 또한 링커 펩티드 상의 하릴릴 서열 앞 또는 뒤에 추가의 아미노산 잔기를 보유할 수 있다. 추가의 아미노산 잔기 또는 링커 펩티드는 하릴릴 서열의 앞 및 뒤의 NTP 서열에서 발견되는 것들일 수 있다. 예를 들어, 아미노산 잔기 G I T G M C T는 잔기 46번 앞에서 나타나며, 아미노산 잔기 Y F F L V는 NTP 서열에서 아미노산 51번 뒤에 나타난다. 이와 같이, 본 발명에서 NTP 세그먼트로서 유용한 하릴릴 펩티드는 NTP 펩티드 G I T G M C T H A R L I L Y F F L V를 포함할 수 있다. (b), (c) 및 (d)에 언급된 하릴릴 펩티드의 경우에, 추가의 아미노산 잔기는 바람직하게는 NTP 서열에서 하릴릴 서열을 플랭킹하는 것들이다. 바람직하게는, 추가의 아미노산 잔기를 보유하는 하릴릴 펩티드는 전체 아미노산 잔기가 25개를 초과하지 않는 길이이다.

하릴릴 반복 서열은 바람직하게는 NTP에 결합하는 특유한 특징을 보유한다. NTP에 결합하는 이러한 능력은 하릴릴 반복 서열이 NTP를 함유하는 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 저해 또는 경감시키는데 유용하다는 것을 제시한다.

본 발명은 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하기 위한 NTP 및 다른 분자의 친화성 결합 파트너로서의 하릴릴 서열 펩티드 및 그들의 동족체, 유도체, 변이체 및 펩티드 모방체의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법뿐만 아니라, bbb를 횡단할 수 있는 하릴릴 펩티드 또는 그들의 동족체, 유도체, 변이체 및 펩티드 모방체를 함유하는 조성물에 관한 것이다.

하릴릴 펩티드, 및 그의 동족체, 유도체 및 변이체는 통상의 펩티드 합성 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 하릴릴 펩티드의 모방체는 조합 화학 기술을 이용하여 개발할 수 있다.

하릴릴 펩티드에 상응하는 핵산은, 예를 들어, (a) 표준 재조합 방법, (b) 합성 기술 또는 (c) 이들의 조합을 이용하여 제조할 수 있다.

하릴릴 서열은 AD7C-NTP 및 다른 분자에 결합한다. 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 미국 특허원 제 09/697,590호 (발명의 명칭: 'Preferred Segments of Neural Thread Protein and Methods of Using the Same')를 참조한다.

본 발명은 AD7C-NTP에 결합할 수 있는 하를릴 서열이 AD7C-NTP를 함유하는 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 또는 저해할 수 있다는 놀라운 발견을 포함한다.

AD7C-NTP가 신경퇴행성 캐스케이드에 참여한다는 증거가 존재한다. AD7C-NTP를 표적화시킴으로써 캐스케이드를 방해하거나 재지시하는 능력은 치료학적 기회를 제공한다. 예를 들어, AD7C-NTP 결합 부위와 결합하여, AD7C-NTP 상의 잠재적 반응 부위를 차단하는 하를릴 펩티드의 능력을 이용함으로써 치료학적으로 중재하는 것이 가능할 수 있다.

달리, 본 발명의 하를릴 펩티드는 하를릴 서열을 발현시키는 세포에 약물을 표적화시키거나 생체내에서 하를릴 서열의 발현을 유도하는 유전자 또는 백신을 생성시키는데 유용할 수 있다.

하를릴 서열이 작동하는 실제 메커니즘이 아직 밝혀지지 않았음에도 불구하고, 본 발명자는 하를릴 서열의 AD7C-NTP 함유 생조직에의 투여가 다른 방식으로 하를릴 서열의 부재하에 발생하는 세포 사멸 및 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해 및(또는) 경감시키는 것을 밝혀내었다.

'HARLIL' 부위는 다른 뇌 단백질과 상호작용하여 AD7C-NTP 및(또는) 다른 NTP 또는 다른 분자의 기능성에 작용할 수 있는 것이 가능하다.

하를릴 서열, 또는 그의 기능성 동족체 또는 유사체를 제조하고 검출하는 방법은 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 공계류 중인 미국 특허원 제09/697,590호 (발명의 명칭: 'Preferred Segments of Neural Thread Protein and Methods of Using the Same')에 개시되어 있다.

본 발명의 범주에서 특히 유용한 NTP의 펩티드 세그먼트는 AD7C-NTP의 HARLIL 아미노산 서열의 적어도 일부를 포함하는 상기한 것들이다. 유용한 하를릴 서열은 하기 리스트로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

- (a) H H A R L ;
- (b) H A R L ;
- (c) H A R L I ;
- (d) H A R L I L ;
- (e) H H A R L C L ;
- (f) A R L I L ;
- (g) H H A R L I F ;
- (h) T H A R L I L ;
- (i) A R L I ;
- (j) A R L ;
- (k) H A R L C L ;
- (l) A R L C L ;
- (m) A R C L ;
- (n) M F A R L I L ;
- (o) F A R L I L ;
- (p) F A R L I ;
- (q) F A R L ;

(r) H A R L I F;

(s) A R L I F; 및

그들의 동족체, 변이체, 유도체 및 모방체.

상기 리스트로부터 선택된 다양한 펩티드, 및 그들의 동족체, 변이체, 유도체 및 모방체는 NTP 세그먼트로서 본 발명에서 사용할 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 아미노산 서열 A R L I를 보유하고, 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹하는 하나 이상 및 25개 이하의 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 당해 펩티드는 또한 아미노산 서열 H A R L을 보유하고, 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹하는 하나 이상 및 25개 이하의 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 당해 펩티드는 아미노산 서열 F A R L을 보유하고, 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹하는 하나 이상 및 25개 이하의 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 당해 펩티드는 또한 아미노산 서열 A R L을 보유하고, 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹하는 하나 이상 및 25개 이하의 추가의 아미노산을 포함하는 것으로부터 선택할 수 있다. 본 발명에서 유용한 또 다른 펩티드는 아미노산 서열 A R L C를 보유하고, 펩티드의 3' 또는 5' 말단을 플랭킹하는 하나 이상 및 25개 이하의 추가의 아미노산을 포함하는 것들을 포함한다. 마지막으로, NTP 세그먼트는 펩티드의 2개 이상의 반복을 포함하는 하를릴 펩티드 서열의 중합체일 수 있다.

하를릴 서열이 하기 아미노산 서열을 보유하는 펩티드인 것이 본 발명에서 보다 더 바람직하다.

1. (NTP-1) L H A R L C L A N F C G R N R V

2. (NTP-2) L A R L C L A N F C G N N N V

3. (NTP-3) C A R Y R T G H H A R L M

4. (NTP-4) H H A R L P L A N F C G

5. (NTP-5) R T G H H A R L C L A N F C

6. (NTP-6) C E S A R Y R T G H H A R L C

7. (NTP-7) D N T H H A R L I L

8. (NTP-8) S H H A R L I L

상기 서열은 시스테인을 통해 담체 단백질에 접합시킬 수 있다. 이와 같이, 펩티드 NTP-1 및 NTP-2는 하나 이상의 시스테인 잔기의 존재로 인해 혼합된 접합체 결과를 야기한다. 따라서, 펩티드 NTP-5 및 NTP-6의 경우에, 2차 시스테인은 아세트아미도 메틸 (C_3H_6NO) (ACM)로 차단된다.

AD7C-NTP에서의 동정된 서열의 위치는 도 1로부터 알 수 있다. 모든 하를릴 유사체는 특정한 반응성을 나타내지만, 특히 바람직한 하를릴 유사체는 NTP-1, NTP-3 및 NTP-7로부터 선택된 것이다. 하를릴 유사체 NTP-1에 있어서, 제1 아미노산 'L'은 라이신, 또는 'K'로 치환될 수 있음을 주지하여야 한다.

하를릴 서열, 또는 NTP 세그먼트를 바람직하게는 NTP를 함유하는 생조직과 접촉시킨다. NTP에 의해 접촉되고, NTP가 더 이상 존재하지 않거나 그의 본래 형태로 존재하지 않거나, 일부 시점에서 NTP를 함유할 수도 있는 임의의 생조직은 본 발명에 의해 포함된다. 바람직하게는, 조직은 포유동물 조직으로부터 선택된 조직이다.

본 발명의 실시양태는 NTP를 함유하는 생조직의 괴사에 의해 유발되는 상태를 치료하는 방법을 포함한다. 이러한 문맥에서, 생조직의 괴사 및 세포 사멸은 NTP를 생산하는 사멸되어 가는 세포 이외의 세포들의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 의미한다. 당해 방법에 있어서, NTP 세그먼트 또는 하를릴 서열을 상기 상태를 앓고 있는 포유동물에게 투여한다. 하를릴 서열은 생조직 괴사의 억제 및(또는) 저해에 충분한 양으로 이에 충분한 기간 동안 투여한다.

당업자는 하를릴 서열을 직접 투여하는 대신에, 유전자 발현 (예를 들어, 유전자 요법)을 통하여 또는 백신을 통하여 포유동물이 하를릴 서열, 또는 그의 동족체, 변이체, 유도체 또는 모방체를 생산하거나 발현시킬 수 있음을 인식할 것이다. 당업자는 본원에 제공한 지침을 이용하여 하를릴 서열, 또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체에 유용한 적합한 유전자 또는 백신을 생성, 단리 및 정제할 수 있다.

예를 들어, 유전자 요법은 다양한 포유동물 질환을 치료하고 특이적 단백질 또는 기타 세포 생성물의 생산을 향상시키는 방법으로서 주목되어 왔다. 일반적으로 유전자 요법은 외인성 유전 물질을 포유동물 환자의 세포로 도입시켜 달성한다. 도입되는 유전 물질은 포유동물 환자의 비정상 (결함) 유전자를 교체하도록 고안될 수 있거나 ('유전자 대체 요법'), 어떠한 결함 유전자도 교체하지 않고 코딩된 단백질 또는 다른 치료학적 생성물이 발현되도록 고안될 수 있다 ('유전자 증대'). 다수의 선천성 및 후천성 의료 장애가 다양한 유전자 생성물의 부적합한 생산으로부터 야기되므로, 유전자 요법은 치료학적 생성물을 코딩하는 외인성 핵산의 일시적 또는 안정된 발현을 통해 상기 질환들을 치료하는 수단을 제공한다.

유전자 요법은 포유동물 대상체내의 표적 세포의 직접적인 형질전환 (생체내 유전자 요법) 또는 시험관내 세포의 형질전환 후 형질전환된 세포의 포유동물 대상체로의 이식 (생체외 유전자 요법)으로 달성할 수 있다. 생체내 유전자 요법이 본 발명의 용도에 특히 바람직하다. 생체내 유전자 요법은 체세포의 복구 이외에, 유전자 요법이 광범위하게 적용되는 영역인 전신성 치료에도 사용할 수 있음은 일반적으로 공지되어 있다. 전신성 치료에는 관심 DNA를 보유하는 표적 세포의 형질 감염, 상기 세포에서의 코딩된 단백질의 발현 및 이후 혈액으로 제조된 단백질을 분비하는 형질전환된 세포의 능력이 포함된다.

기계적 수단 (예를 들어, 표적 세포로의 핵산의 직접 주사 또는 입자 충격), 재조합 바이러스, 리포솜 및 수용체-매개 세포내이입 (Receptor-Mediated Endocytosis; RME)을 비롯한 다양한 방법을 개발하여 생체내 형질전환을 달성하였다 [개관을 위한 참조: Chang et al. 1994 Gastroenterol. 106:1076-84; Morsy et al. 1993 JAMA 270:2338-45; 및 Ledley 1992 J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 14:328-37].

하를릴 서열 또는 NTP 세그먼트, 또는 그의 동족체, 변이체, 유도체 또는 변이체의 생체내 발현을 유도하기에 적합한 유전자 및 백신의 개발 및 투여에 적합한 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제6,210,919호 및 동 제6,225,290호에 개시되어 있다. 상기 특허의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다.

생조직의 세포 사멸 및 괴사와 관련된 임의의 상태는 본 발명에 따라 치료할 수 있다. 바람직하게는, 상기 상태는 AD, 픽병, 루이 소체병 또는 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환 및 발작, 뇌 종양 및 기타 뇌 질환 및 녹내장으로부터 선택된다.

본 발명의 바람직한 실시양태에 따라, 상기 방법은 생조직을 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제하기에 충분한 양으로 하나 이상의 NTP 세그먼트 (또는 그의 동족체, 유도체, 변이체 또는 모방체)와 접촉시키는 것을 포함한다. NTP 세그먼트의 투여 방법은 NTP 세그먼트를 단독으로 또는 담체와 함께 근육내, 경구, 정맥내, 복막내, 뇌내 (실질내), 뇌실내, 종양내, 병소내, 피내, 경막내, 비내, 안구내, 동맥내, 국소, 경피, 에어로졸, 주입, 볼루스 주사, 이식 장치, 지속 방출형 장치 등을 통해 투여하는 것을 포함한다. 또한, NTP 세그먼트는 당해 단백질을 발현시키는 유전자를 투여하거나, 이의 생산을 유도하는 백신을 투여하거나, 상기한 바와 같이 당해 세그먼트를 생체내에서 발현시키는 세포, 박테리아 또는 바이러스를 도입함으로써 생체내에서 발현시키거나 생산할 수 있다.

신경계 장애 또는 다른 뇌-관련 장애의 치료는 동물 또는 환자에서 신경계 기능 또는 기능장애에 영향을 주는 약물을 투여함으로써 달성할 수 있다. 전형적으로, 이러한 약물은 경구 또는 전신적 경로를 통하여 말초 적용으로 투여된다. 일부 약물들이 혈액 뇌 장벽 (bbb: blood brain barrier)을 통과할 수 있는 반면, 다른 약물들은 bbb를 효과적으로 통과할 수 없거나 전혀 통과할 수 없고 뇌내로 직접 제공한 경우에만 효과적이다. 본원에서 사용된 '혈액-뇌 장벽' 또는 용어 'bbb'는 고유의 bbb뿐만 아니라, 혈액-척수 장벽도 의미한다. 뇌 혈관 내피, 기저막 및 신경아교 세포로 구성된 혈액-뇌 장벽은 뇌로의 물질 침투를 제한하는 작용을 한다. 때때로 bbb의 구조는 2가지 요소, 즉, 내피 또는 모세관 장벽 및 뇌실막 장벽으로 분화된다 [Banks, W. A., Kastin, A. J., Barrera, 'Delivering Peptides to the central nervous system: Dilemmas and strategies,' Pharm. Res. 8:1345-1350 (1991)].

bbb를 통한 물질 침투의 특성은 아직 결정되지 않았으나, 사이토킨, 트랜스페린, 엔세팔린 및 엔도르핀 등과 같은 다수의 뇌 기능 조절자는 bbb를 통해 혈관에서 뇌로 통과할 수 있다고 공지되어 있다 [Raeissi, S., Audus, J., 'In vitro characterization of blood-brain barrier permeability to delta sleep-inducing peptide.' J. Pharm. Phy. 41:848-852 (1989); Zlokovich, B., Susie, V. T., Davson, H. Begley, D. J., Jankov, R. M., Mitrovic, B. M., Lipovac, M. N., 'Saturable mechanism for delta sleep-inducing peptide (DSIP) at the blood-brain barrier of the vascularly perfused guinea pig brain.' Peptides 10:249-254 (1989) 및 Zlokovich, B., 'In vivo approaches for studying peptide interaction at the blood-brain barrier.' J. Control. Rel. 13:185-201 (1990)]. 그러나, 아데노신, β -엔도르핀, 내인성 펩티드의 합성 유사체 등과 같이 중추 신경계 (또는 CNS)에 영향을 줄 수 있는 다수의 물질들 [Houghten, R. A. Swann, R. W., Li, C. H., ' β -Endorphin: Stability, clearance behavior and entry into the central nervous system after intravenous injection of the tritiated peptide in rats and rabbits.' Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4588-4591 (1980); Levin, E. R., Frank, H. J. K., Weber, M. A., Ismail, M., Mills M., 'Studies on penetration of the blood-brain barrier by atrial natriuretic factor.' Biochem. Biophys. Res. Commun. 147:1226-1231 (1987); Sakane, T., Tanaka, C., Yamamoto, A., Hashida, M., Sesaki, H., Ueda, H., Takagi, H., 'The effect of polysorbate 80 on brain uptake and analgesic effect of D-kyoto.' Int. J. Pharm. 57:77-83 (1989)]뿐만 아니라, 일부 흥

분성 및 억제성 아미노산 및 영양성 인자는 bbb 침투가 불량하거나 bbb를 전혀 통과할 수 없다. 현재, bbb 비침투 약물 또는 bbb 침투가 불량한 약물만을 직접적인 CNS 주입 또는 제어-방출 중합체의 이식에 의해 제공할 수 있다 [참조예: 사벨 (Sabel) 등의 미국 특허 제4,883,666호].

전통적인 약물 요법의 한계 중 일부를 극복하는 한가지 방법은 bbb를 통과하는 약물의 상대량을 증가시키는 것이다. 제공된 약물 또는 진단 물질의 말초 투여량을 감소시키면서 bbb를 통과하는 약물의 양을 증가시킬 수 있다면, 약물의 말초 부작용은 또한 덜 심해지고 동시에 뇌에서의 목적하는 효과가 유지되는 것으로 간주된다. bbb를 통한 약물 침투를 증가시키는데 효과적인 다수의 접근법들이 기재되어 있다.

한가지 접근법은 bbb 자체의 기능을 변경하는 것이다. 예를 들어, 삼투화제는 말초적으로 (예를 들어, 정맥내 주사에 의해) 제공된 경우 bbb의 개방을 야기한다. 추가로, CNS에 작용하는 일부의 약물은 다른 물질에 대한 bbb 투과성을 변화시킬 수 있으며, 예를 들어, 콜린자극성 아레콜린은 bbb를 통한 약물 침투에 변화를 유도한다고 보고되어 있다 [Saija, A., Princi, P., De Pasquale, R., Costa, G., 'Arecoline but not haloperidol produces changes in the permeability of the blood-brain barrier in the rat.' J. Pharm. Pha. 42:135-138 (1990)].

bbb의 투과성을 변화시키기 위해 투여할 수 있는 다른 약물들은 모두 이. 에이. 뉴웰트 (E. A. Neuwelt)에게 허여된 미국 특허 제5,059,415호 및 동 제5,124,146호에 개시되어 있다. 브래디키닌은 이러한 효과가 있는 구체적인 약물 중 하나이다 [맬프로이-카민 (Malfroy - Camine)에게 허여된 미국 특허 제5,112,596호]. 다른 방법은 A-7 또는 그의 입체형태 유사체와 같은 투과제 펩티드를 투여하는 단계를 포함한다 [제이. 더블유. 코자리치 (J. W. Kozarich) 등의 출원 WO 92/18529]. 상대적으로 침입성인 방법은 bbb를 개방시키기 위하여 스트렙토코코스 뉴모니아 (*Streptococcus pneumoniae*) 등과 같은 진정세균의 정제된 세포벽 또는 세포벽 단편의 비경구 주사를 투여한 에이. 토마스츠 (A. Tomasz) 및 이. 투오마넨 (E. Tuomanen) (WO 91/16064)에 의해 제안되었다.

엘. 엘. 루빈 (L. L. Rubin) 등에게 허여된 미국 특허 제5,260,210호는 시클릭 AMP 농도를 감소시키거나 방해하거나 시클릭 GMP 농도를 증가시키는 작용제를 투여함으로써 혈액-뇌 장벽의 투과성을 증가시키는 방법을 개시한다.

다른 접근법은 약물 분자 자체의 변형이다. 예를 들어, 단백질 등과 같은 고분자는 bbb를 전혀 통과할 수 없거나, 간신히 통과하거나 단백질 효능에 반대 영향을 미치도록 변형되어 통과할 수 있다. 예를 들어, 먼저 고분자 활성 부위, 즉, 생물학적으로 목적하는 사건을 유발시키는 분자의 부분을 단리시킨 후, 상기 활성 부위만을 사용할 수 있다. 크기는 bbb의 투과를 허용하는 요인들 중 하나이므로, 더욱 작은 분자가 bbb를 통과하도록 크기를 감소시켜 사용할 수 있다. 따라서, 이러한 맥락에서 항체 단편을 사용하는 것이 바람직하다. bbb 통과를 시도하는 고분자의 다른 변형법에는 단백질의 당화로 인한 단백질의 bbb 투과성 향상 또는 전구약물 형성이 포함된다. 제이. 에프. 포두시오 (J. F. Podusio) 및 쥐. 엘. 쿠란 (G. L. Curran)에게 허여된 미국 특허 제5,260,308호는 단백질의 당화를 논의한 반면, 모두 브이. 이. 샤쇼와 (V. E. Shashoua)의 출원인 미국 특허 제4,933,324호 및 WO 89/07938은 전구약물의 형성을 개시한다. 이들 전구약물들은 그들 자체가 bbb를 통과할 수 없는 지방산 담체 및 신경활성 약물로부터 형성된다. 유사한 시스템이 WO 89/07938에 개시되어 있다.

또 다른 접근법은 매트릭스-시스템으로부터 신경 조직으로 활성 성분을 직접 방출시키는 제어 방출 중합체의 이식이다. 그러나, 상기 접근법은 침입성이고, 뇌 또는 척수로 직접 이식된다면 외과적 기술이 요구된다 [참조: 사벨 등의 미국 특허 제4,883,666호 및 사벨 등의 미국 특허 제07/407,930호]. 또한, 전체 개시내용이 본원에 참고로 인용되어 있는 미국 특허 제5,800,390호에 개시된 바와 같이, 뇌의 내부로 직접 투여한다고도 공지되어 있다. 이들 방법은 서방성 고형 제제 및 반-고형 제제의 뇌 조직으로의 직접 전달을 가능하게 한다.

이들 한계점을 극복하기 위하여, 리포솜, 적혈구 고스트, 항체-접합체 및 모노클로날 항체 접합체와 같은 약물 담체 시스템을 사용하는 다른 접근법이 시도되어 왔다. 표적화된 약물 전달의 주요 문제점 중 하나는 간 및 비장에서의 망상내피계 (RES), 특히 대식세포에 의한 주사된 담체의 신속한 흡수 및 침입이다. 상기 장애는 리포솜의 경우 포스파티딜이노시톨, 모노시알로강글리오시드 또는 술 포갈락토실세라미드와 같은 소위 '비밀 (stealth)' 지질의 혼입에 의해 부분적으로 극복될 수 있다.

모두 피. 엠. 프리덴 (P. M. Friden)에게 허여된 미국 특허 제5,182,107호 및 동 제5,154,924호는 트랜스페린 수용체와 반응성인 항체와 약물의 접합 방법을 교시한다. 트랜스페린 수용체는 뇌 모세관 내피 세포에 위치하므로, 신경 성장 인자 등과 같은 약물을 bbb를 통과하여 수송할 수 있다. 미국 특허 제5,004,697호 (파드릿지 (Pardridge)에게 허여됨)는 특정 등전점을 갖는 양이온화 항체를 제공함으로써 이러한 항체-접합체 방법을 개선시킨다 (또한 파드릿지의 WO 89/01343 참조).

다른 접근법은 활성화제를 접합시킨 키메라 펩티드를 생성하는 것이다 (또한 파드릿지에게 허여된 미국 특허 제4,801,575호). 또한, 이러한 시스템은 파드릿지 및 스킴멜 (Schimmel)에게 허여된 미국 특허 제4,902,505호에 추가로 논의되며, 여기서 히스톤 등과 같은 키메라 펩티드는 소포이동 (transcytosis)에 의해 bbb를 통과할 수 있다.

모두 엔. 에스. 보더 (N. S. Bodor)에게 허여된 미국 특허 제5,187,158호 및 동 제5,017,566호는 중추 작용 약물이 도파민 등과 같은 디히드로피리딘 반응-피리딘 염 산화환원 담체의 환원된 산화성 지질 형태로 제공되는 뇌-특이적 약물 전달 방법을 개시한다 (또한 보더에게 허여된 미국 특허 제4,880,816호 참조).

다소 침입성인 접근법은 뇌로 유전 물질을 전달하는 것이다. 이는, 예를 들어, bbb를 화학적으로 붕괴시킨 후에 bbb를 통해 유전자를 전달하는 바이러스를 사용하여 수행된다 (이. 에이. 뉴웰트에게 허여된 미국 특허 제4,866,042호 참조). 여기서, 교정된 유전 물질을 바이러스에 혼입시킨 후, 상기 바이러스를 혈류로 주사한다.

최종적으로, bbb를 통과하여 약물을 전달하는 다른 담체 시스템은 에프. 디. 콜린스 (F. D. Collins) 및 알. 씨. 톰슨 (R. C. Thompson)에 의해 개시된 바와 같이 (WO 91/04014) 리포솜의 사용이다. 여기서, 리포솜은 bbb를 통과하는 특이 리간드를 수송하는 특이적 내인성 뇌 수송 시스템에 표적화된다.

또 다른 접근법은 크레우터 (Kreuter) 등의 미국 특허 제6,117,454호에 개시되어 있다. 크레우터 특허의 주제에는 bbb를 통과하는 약물 또는 진단제의 침투를 향상시키기 위한 광범위한 약물에 대한 약물 담체 (또는 표적화 분자)로서 계면활성제 코팅된 나노입자를 사용하는 방법, 조성물 및 약물 표적 시스템이 포함된다.

또 다른 접근법은 약물을 비내로 투여하여, 비내로 뇌에의 직접 접근을 가능하게 하고 혈류를 통과시키는 것이다. 이는 3종의 뉴로펩티드, 멜라노코르틴, 바소프레신 및 인슐린에 대한 실험 모델에서 성공적으로 수행되었다 [Born J et al. 'Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain' Nature Neuroscience Advance online publication: 6 May 2002, DOI:10.1038/nn849].

경구 투여용 고체 제형으로는 캡슐제, 정제, 환제, 산제 및 과립제 등이 있다. 이러한 고체 제형에서, 활성 화합물은 통상적으로 하기의 것 중 하나 이상과 혼합된다: (a) 시트르산나트륨 또는 제2인산칼슘과 같은 1종 이상의 불활성 부형제 (또는 담체), (b) 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산과 같은 충전제 또는 증량제, (c) 카르복시메틸셀룰로스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스 및 아카시아와 같은 결합제, (d) 글리세롤과 같은 습윤제, (e) 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염 복합체 및 탄산나트륨과 같은 붕해제, (f) 파라핀과 같은 용해 지연제, (g) 4가 암모늄 화합물과 같은 흡수 가속화제, (h) 아세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 습윤제, (i) 카올린 및 벤토나이트 등과 같은 흡착제, 및 (j) 활석, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고형 폴리에틸렌 글리콜, 라우릴황산나트륨과 같은 윤활제; 또는 이들의 혼합물. 캡슐제, 정제 및 환제의 경우, 제형은 완충화제도 포함할 수 있다.

경구 투여용 액체 제형으로는 제약상 허용가능한 에멀전, 용액제, 현탁액제, 시럽제 및 엘릭서제 등이 있다. 활성 화합물 이외에도, 액체 제형은 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제와 같은 당업계에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제를 포함할 수 있다. 유화제의 예로는 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 디메틸포름아미드, 면실유, 낙화생유, 옥수수 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유와 같은 오일, 글리세롤, 테트라히드로푸르푸릴 알콜, 폴리에틸렌글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 또는 상기 물질들의 혼합물 등이 있다. 이러한 불활성 희석제 이외에, 상기 조성물은 습윤제, 유화제 및 현탁화제, 감미제, 풍미제 및 향미제 등과 같은 보조제도 포함할 수 있다.

NTP 세그먼트를 투여하는 다른 방법은 경피 또는 피부통과 경로에 의한 방법이다. 이러한 실시양태의 일례는 패치의 사용이다. 특히, 패치는, 예를 들어, 디메틸설폭시드 (DMSO) 또는 DMSO와 면실유의 혼합물 중 NTP 세그먼트의 미세한 현탁액으로 제조하여, 치료 부위에서 먼 포유동물의 피부에 접촉시킬 수 있다. 조성물은 피낭 내부에 존재할 수 있다. 다른 매질 또는 그의 다른 용매 및 고형 지지물과의 혼합물도 또한 동일하게 작용할 것이다. 패치는 NTP 세그먼트를 용액 또는 현탁액의 형태로 함유할 수 있다. 그 후, 패치는, 예를 들어, 접어서 형성한 환자의 피낭에 패치를 삽입하고, 스티치, 클립 또는 다른 보유 장치를 이용하여 피부와 함께 보유시킴으로써 환자의 피부에 적용시킬 수 있다. 상기 피낭은 피부와의 연속적인 접촉이 포유동물에게서 방해없이 보장되는 방식으로 사용되어야 한다. 피낭의 사용 외에도, 피부와 접촉시 패치의 고정 배치를 보장하는 임의의 장치를 사용할 수 있다. 예를 들어, 점착성 봉대를 사용하여 패치를 피부에 보유시킬 수 있다.

본 발명의 조성물에서 활성 성분의 실질적인 투여량 수준은 특정 조성물 및 투여 방법에 대해 목적하는 조직 괴사-억제 치료학적 반응을 얻기에 효과적인 NTP-함유 조성물을 수득하기 위하여 달라질 수 있다. 따라서, 선택되는 투여량 수준은 목적하는 치료학적 효과, 투여 경로, 목적하는 치료 지속 기간 및 다른 요인에 따라 달라진다.

인간을 비롯한 포유동물에서, 체표면적을 기준으로 유효량이 투여될 수 있다. 다양한 크기와 종의 동물 및 인간과 투여량의 상호관계 (체표면적의 mg/M² 를 기준으로 함)가 이. 제이. 프라이라이치 (E. J. Freireich) 등에 의해 문헌 [Cancer Chemother. Rep., 50(4):219 (1966)]에 기재되어 있다. 체표면적은 개인의 신장 및 체중으로부터 대략 결정될 수 있다 [참조예: Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N. Y. pp. 537-538 (1970)].

숙주에 투여되는 NTP 세그먼트의 총 1일 투여량은 단일 투여량 또는 분할 투여량일 수 있다. 투여량 단위 조성물은 1일 투여량을 구성하기 위해 사용할 수 있는 이러한 약수배의 양을 함유할 수 있다. 그러나, 임의의 특정 환자에 대한 구체적인 투여량 수준은 체중, 일반적 건강, 성별, 식단, 투여 시간 및 경로, 투여된 약물의 효능, 흡수 및 배출의 속도, 다른 약물과의 배합 및 치료될 특정 질환의 중증도를 비롯한 다양한 요인에 의해 달라질 수 있음을 이해할 것이다.

본 발명의 NTP 세그먼트-함유 조성물은 뇌 생조직을 치료하기 위해 NTP 세그먼트가 혈액-뇌 장벽을 횡단하도록 할 수 있는 성분을 함유하는 것이 바람직하다. 상기한 임의의 다양한 성분들을 사용하여 NTP 세그먼트가 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있도록 할 수 있다. 예를 들어, NTP 세그먼트는 혈액-뇌 장벽을 횡단하기에 충분히 작다. 상기의 경우, 부가 성분은 필요하지 않을 것이다.

bbb의 투과성을 향상시키기 위해 NTP 세그먼트를 미국 특허 제5,260,308호에 개시된 바와 같이 당화시키거나, 미국 특허 제4,933,324호 및 WO 89/07938에 개시된 바와 같이 전구약물로 형성시킬 수 있다. 그 자체로는 bbb를 통과할 수 없는 지방산 담체 및 항체로부터 상기 전구약물들을 형성하는 것이 바람직하다.

또 다른 접근법은 매트릭스-시스템으로부터 직접적으로 신경 조직으로 NTP 세그먼트를 방출시키는 제어 방출 중합체의 이식이다 [사벨 등의 미국 특허 제4,883,666호 및 사벨 등의 미국 특허원 제07/407,930호]. 리포솜, 적혈구 고스트, 항체-접합체 및 모노클로날 항체 접합체 등과 같은 약물 담체 시스템을 사용하는 것도 가능하다. 본 발명의 상기 실시양태에 따라, 포스파티딜이노시톨, 모노시알로강글리오사이드 또는 술포갈락토실세라마이드 등과 같은 소위 '비밀' 지질을 사용하여 상기 항체 및 항체 접합체를 함유하는 리포솜을 형성할 수 있다.

미국 특허 제5,182,107호 및 동 제5,154,924호에 개시된 바와 같이, NTP 세그먼트를 트랜스페린 수용체로 재할성되는 다른 항체와 접합시킬 수 있다. 트랜스페린 수용체는 뇌 모세관 내피 세포에 위치하므로, 신경 성장 인자 등과 같은 약물 또는 NTP 세그먼트와 같은 약물을 bbb를 통해 수송한다. 미국 특허 제5,004,697호 및 WO 89/01343에 개시된 바와 같이, 상기한 NTP-항체 접합체는 특정 등전점을 보유하는 양이온화 항체를 제공하여 더욱 향상시킬 수 있다.

본 발명의 또 다른 실시양태는 미국 특허 제4,801,575호에 개시된 바와 같이, NTP의 활성 세그먼트가 접합된 키메라 펩티드 생성을 포함한다. 미국 특허 제4,902,505에 개시된 바와 같이, 키메라 펩티드는 소포이동에 의해 bbb를 횡단할 수 있는 히스톤인 것이 바람직하다. 미국 특허 제4,880,816호, 동 제5,187,158호 및 동 제5,071,566호에 개시된 바와 같이, 본 발명의 추가의 실시양태는 도파민과 같은 디히드로피리딘 반응-피리딘 염 산화환원 담체의 환원된 산화성 지질 형태와 함께 NTP 세그먼트를 제공하는 것을 포함한다.

또한, 또 다른 접근법은 NTP 세그먼트를 뇌에 전달하는 것일 수 있다. 이는 미국 특허 제4,866,042호에 개시된 바와 같이, bbb를 화학적으로 파괴한 후 바이러스를 사용하여 bbb를 통해 NTP 세그먼트를 전달함으로써 수행할 수 있다. 여기서, 교정된 유전 물질을 바이러스로 혼입시킨 후, 바이러스를 혈류로 주사하는 것이 바람직하다. bbb를 통해 NTP 세그먼트를 전달하기 위해 사용할 수 있는 또 다른 담체 시스템은 에프. 디. 콜린스 및 알. 씨. 톰슨 (WO 91/04014)이 개시한 바와 같은 리포솜의 사용이다. 여기서, 리포솜은 특이적 리간드를 bbb를 통해 수송하는 특이적 내인성 뇌 수송 시스템에 표적화되는 것이 바람직하다. 또한, 미국 특허 제6,117,454호에 개시된 바와 같이, 계면활성제로 코팅한 나노입자를 본 발명의 NTP 세그먼트에 대한 약물 담체 (또는 표적화 분자)로서 사용하여 bbb를 통한 그의 침투를 향상시킬 수 있으며, 이의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다.

또 다른 접근법은 L-아미노산 옥시다제를 사용하여 NTP 세그먼트의 혈장 수준을 감소시키고, bbb를 통한 NTP 세그먼트의 수송을 허용하는 것이다. 이러한 접근법은 미국 특허 제5,695,751호에 더욱 상세하게 기재되어 있고, 이의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다.

본 발명에 따른 또 다른 접근법은 NTP 세그먼트를 포함하는 조성물을 국소적으로 투여하는 것이다. 뇌의 내부에 조성물을 투여하기에 유용한 장치는, 예를 들어, 미국 특허 제5,800,390호에 기재되어 있고, 이의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다. 서방성 고형 제제 및 반-고형 제제는 뇌 조직으로 직접 투여할 수 있다. 임의로 두부에 이식시켜 가이드의 말단 끝이 투여 부위에 위치하도록 하는 뇌내 장치의 니들형 부재를 삽입함으로써 이러한 투여를 달성할 수 있다.

세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 질환을 앓고 있는 포유동물에 투여하기 위한 본 발명의 바람직한 조성물은 NTP 세그먼트, 및 당해 NTP 세그먼트가 bbb를 횡단할 수 있도록 하는 성분을 함유한다. 본 발명의 다른 바람직한 조성물은 NTP 세그먼트를 발현시키는 유전자, 및 당해 유전자가 bbb를 횡단할 수 있도록 하는 성분을 포함한다. 본 발명의 추가의 바람직한 조성물은 NTP 세그먼트의 발현을 유도하는 백신, 및 당해 백신이 bbb를 횡단할 수 있도록 하는 성분을 포함한다.

본 발명에서는 생조직과 접촉하는 NTP 세그먼트의 양이 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사의 저해, 억제 및(또는) 경감에

충분한 양인 것이 바람직하다. 당업자는 본원에 제시한 지침을 이용하여 구체적인 양을 결정할 수 있다. NTP 세그먼트는 NTP 세그먼트가 존재하지 않고 세포 사멸이 억제되지 않은 대조군에 비해 세포 사멸 또는 조직 괴사가 50% 초과까지 감소되도록 투여하는 것이 바람직하다. NTP 세그먼트는 NTP 세그먼트가 존재하지 않고 세포 사멸 또는 조직 괴사가 억제되지 않은 대조군에 비해 세포 사멸 또는 조직 괴사가 60% 초과까지 감소되도록 투여하는 것이 더욱 바람직하고, 70% 초과까지 감소되도록 투여하는 것이 보다 더 바람직하며, 75% 초과까지 감소되도록 투여하는 것이 가장 바람직하다.

이러한 양은 조직의 특정한 유형, 사용한 NTP 세그먼트뿐만 아니라, NTP 또는 다른 분자 표적의 양에 따라 일정하게 달라질 것이다. 상기 언급한 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호, 동 제5,830,670호 및 동 제6,071,705호 중 어느 하나에 개시된 방법을 사용하여 존재하는 NTP 또는 다른 분자 표적의 상대량을 추정한 후, 상기 미국 특허에 개시된 임의의 출처 등의 다양한 출처로부터 수득한 포유동물 조직을 사용하고 조직내에서의 NTP 또는 다른 분자 표적의 양을 결정한 후, 필요한 정도 (즉, 바람직하게는 대조군에 비해 60% 초과)의 세포 사멸 또는 조직 괴사 억제를 수득하기 위해 요구되는 NTP 세그먼트의 필요량을 결정하여 일련의 시험관내 실험을 수행할 수 있다. 당업자는 당업계에 공지된 기술을 이용할 뿐만 아니라, 본원에서 제시한 지침을 이용하여, 과도한 실험작업없이 상기 실험들을 수행할 수 있다.

그 후, 포유동물에게 투여할 NTP 세그먼트의 양은 포유동물의 체중 및 조직으로의 예상 전달량을 기초로 하여 용이하게 결정할 수 있다. 포유동물의 뇌 조직으로 전달될 것으로 예상되는 NTP 세그먼트의 양은 당해 NTP 세그먼트가 bbb를 횡단할 수 있도록 하기 위해 사용하는 특정 메카니즘에 따라 달라질 것이다. 이는 NTP 세그먼트를 발현시키는 유전자의 투여 또는 NTP 세그먼트의 발현 또는 생산을 유도하는 백신의 투여에서도 마찬가지이다. 또한, 당업자는 과도한 실험작업없이 본원에 전체 내용이 참고로 인용되어 있는 상기 언급한 특허들에 기재된 기술을 이용하고 본원에 제공된 지침을 이용하여, 포유동물에게 투여하는 NTP 세그먼트의 적절한 투여량을 결정할 수 있다.

하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위해 제공한다. 그러나, 본 발명은 본 실시예에서 기재한 구체적인 상태 또는 세부 사항에 제한되지 않음을 이해해야 한다.

실시예

실시예 1

본 실시예는 AD7C-NTP의 존재로 인한 생조직 (생체내)에서의 세포 사멸을 증명한다.

AD7C-NTP는 미국 특허 제5,948,634호, 동 제5,948,888호, 동 제5,830,670호 및 동 제6,017,705호 중 임의의 하나에 개괄된 절차에 따라 수득하였다.

8마리의 정상 래트에서, 농도가 0.1 내지 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 인 염수 중의 정제 재조합 AD7C-NTP를 스테인리스 강철 26 게이지 니들을 통하여 플라스틱 시린지로 전달시켜 각각 3개의 상이한 병소에 피부 및 피하 주사하였다.

상기 동물을 24시간 동안 관찰하고 24시간에 무통 희생시켰다. 24개의 개별 침윤 병소를 절제하고 10% 포르말린으로 고정시키고, 파라핀에 매봉하고, 염색하여 표준 조직병리학적 방법으로 검사하였다.

유사 그룹의 대조군 래트를 (1) 염수 중의 소 혈청 알부민, (2) 정상 인간 혈청 및 (3) 생리 염수로 주사하고, 상기와 같이 검사하고 희생시키고, 절제한 주사 병소를 상기와 같이 처리하였다.

모든 실시예에서 AD7C-NTP의 주사는 주사 부위에서의 조직의 급성 괴사를 초래하였다. 괴사는 AD7C-NTP를 주사한 부위에서의 근육 조직, 피하 결합 조직 및 진피에서 명백하였다. 24시간째에, 세포는 불활성이고 위축되고 괴저성인 것으로 보였고, 염증성 세포의 침윤이 존재하였다. 괴사는 주사 영역과 관련되며 주사 부위를 넘어 확산된 것으로 보이지는 않았다.

대조군은 괴사 또는 세포 손실의 증거를 나타내지 않았다. 대조군 주사에서는 최소의 급성 염증 및 니들에 의한 국소 미세출혈이 경미하게 존재하였다.

실시예 2

본 실시예의 목적은 AD7C-NTP 신경 사 단백질의 수개의 하를릴 서열을 동정하고 그들의 AD7C-NTP와의 반응성을 결정하기 위한 것이다.

하기 하를릴 서열을 합성하고 (Synpep, Dublin CA), 말레이미드 활성화 토끼 IgG (Jackson ImmunoResearch, West Grove PA)에 접합시키고, 그들의 NTP 면역반응성에 대해 검정하였다. 링커를 첨가하였으며, 이는 AD7C-NTP의 90-96번 H H A R L C L 서열의 앞 및 뒤에 나타나는 단백질의 서열의 반복이었다.

1. (NTP-1) L H A R L C L A N F C G R N R V

2. (NTP-2) L A R L C L A N F C G N N N V

3. (NTP-3) C A R Y R T G H H A R L M

4. (NTP-4) H H A R L P L A N F C G

5. (NTP-5) R T G H H A R L C L A N F C

6. (NTP-6) C E S A R Y R T G H H A R L C

7. (NTP-7) D N T H H A R L I L

8. (NTP-8) S H H A R L I L

담체 단백질에의 접합은 시스테인을 통해 수행하였다. 이와 같이, 펩티드 NTP-1 및 NTP-2는 하나 이상의 시스테인 잔기의 존재로 인해 혼합된 접합체 결과를 야기하였다. 따라서, 펩티드 NTP-5 및 NTP-6의 경우에, 2차 시스테인을 아세트아미도 메틸 (C_3H_6NO) (ACM)로 차단시켰다.

AD7C-NTP에서의 동정된 서열의 위치는 도 1로부터 알 수 있다. 위에서 언급한 바와 같이, 하를릴 펩티드의 동족체, 유도체, 모방체 및 변이체는 또한 본 발명의 범주에 의해 포함된다. 본 실시예의 상동성 펩티드의 작제의 경우에, 상동성 아미노산을 사용하였다. 사용된 치환 기준은 전하 및(또는) 크기였다. 이와 같이, NTP 펩티드 3에서 시스테인을 메티오닌으로 치환하기 위한 선택은 이들 두 아미노산 사이의 전체적인 유사성 및 아미노산의 이러한 특유한 연장으로부터 반응성 시스테인을 제거하고자 하는 요구를 기초로 하였다. 시스테인을 프롤린으로 치환하기 위한 선택은 그것이 단백질에 존재하고 시스테인이 디설피드 결합으로 존재하는 경우에 펩티드의 입체구조적 형태를 모방할 수 있는지를 확인하기 위한 시도였다.

친화성 상호작용을 작용시키거나 연구하기 위해 당업자에게 공지된 다른 변화는, 예를 들어, 루이신의 소수성 아미노산, 예를 들어, 이소로이신, 발린, 알라닌 또는 글리신으로의 치환; 산성 아미노산 또는 염기성 아미노산의 치환; 전하 대 공간의 효과를 측정하기 위한 히스티딘의 페닐알라닌으로의 치환; 전하 대 공간의 효과를 평가하기 위한 아스파라긴의 아스파르트산으로의 치환 또는 글루타민의 글루탐산으로의 치환; 및 세린의 트레오닌으로의 치환, 트레오닌의 시스테인으로의 치환, 아스파르트산의 글루탐산으로의 치환, 아르기닌의 라이신 또는 히스티딘으로의 치환, 및 티로신의 트립토판 또는 페닐알라닌으로의 치환을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 플랭킹 서열에 도입된 변화를 수행하여 펩티드를 보다 덜 염기성이거나 소수성으로 만들었다.

실시예 3

본 실시예는 NTP에 결합하는 NTP 세그먼트 또는 그의 동족체, 변이체, 모방체 또는 유도체를 NTP를 함유하는 조직에 투여함으로써 생조직 (생체내) 과사의 억제 및(또는) 저해를 증명한다.

AD7C-NTP는 실시예 1에서 상기한 바와 같이 수득하였다.

실시예 2에 따라 제조된 하를릴 서열 NTP-1, NTP-3 및 NTP-7을 본 실시예에 사용하였다.

재조합 AD7C-NTP 샘플 100 ng/mL 내지 10 μ g/mL을 실온에서 5분 내지 1시간 동안 위에서 언급한 하를릴 서열과 함께 인큐베이션한 후, 실시예 1에서 기재한 바와 같이 래트에 주사하였다.

달리, 하를리 서열의 용액을 1 마이크로그램/mL 내지 1 밀리그램/mL 범위의 농도로 제조하였다. 재조합 AD7C-NTP를 함유하는 용액을 또한 하를리 서열의 첨가없이 상기한 바와 같이 제조하였다. 동물에게 AD7C-NTP 용액 약 100 마이크로리터 및 하를리 용액 약 100 마이크로리터를 주사하였다.

동물을 24시간 동안 관찰하고 24시간에 무통 희생시켰다. 24개의 개별 침윤 병소를 절제하고 10% 포르말린으로 고정시키고, 파라핀에 매봉하고, 염색하여 표준 조직병리학적 방법으로 검사하였다.

유사 그룹의 대조군 래트를 (1) 실시예 1에서 기재한 바와 같은 단독의 AD7C-NTP, (2) 염수 중의 소 혈청 알부민, (3) 정상 인간 혈청 및 (4) 생리 염수로 주사하고, 상기와 같이 검사하고 희생시키고 절제한 주사 병소를 상기와 같이 처리 하였다.

AD7C-NTP 단독의 대조군 주사는 실시예 1에서 기재한 바와 같이 조직 괴사를 유발시켰다. 소 혈청 알부민 (BSA), 정상 인간 혈청 및 생리 염수의 대조군 주사는 모두 괴사 또는 세포 손실의 증거를 나타내지 않았다. 상기 대조군 주사에서는 최소의 급성 염증 및 니들에 의한 국소 미세출혈이 경미하게 존재하였다.

하를리 서열 NTP-1, NTP-3 및 NTP-7 각각과 함께 주사한 AD7C-NTP 샘플은 AD7C-NTP 단독으로 주사한 대조군 샘플에 비해 조직 괴사에서 95% 초과 감소를 나타내었다. AD7C-NTP와 하를리 서열의 응집에 의한 것으로 보이는 미세결절이 형성된 염증성 세포 병소의 우발적인 병소 결절이 존재하였다. NTP 세그먼트 (또는 하를리 서열)의 투여로 인해 전체적인 조직 손상은 AD7C-NTP만을 주사한 대조군에 비해 95% 초과로 감소되었다.

본 발명은 특히 바람직한 실시양태 및 실시예와 관련하여 상세하게 기재하였으나, 당업자는 본 발명의 취지 및 범주에서 벗어나지 않는 한 본 발명을 다양하게 변형할 수 있음을 숙지할 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 당해 NTP 세그먼트는 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재하는, 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하는 방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

a) T H A R L I L; H H A R L C L; M F A R L I L; 및 H H A R L I F;

b) H H A R L; H A R L; H A R L I; H A R L I L; H H A R L C L; A R L I L; H H A R L I F; T H A R L I L; A R L I; A R L; H A R L C L; A R L C L; A R C L; M F A R L I L; F A R L I L; F A R L I; F A R L; H A R L I F; 및 A R L I F;

c) L H A R L C L A N F C G R N R V;

d) L A R L C L A N F C G N N N V;

e) C A R Y R T G H H A R L M;

f) H H A R L P L A N F C G;

g) R T G H H A R L C L A N F C;

h) C E S A R Y R T G H H A R L C;

i) D N T H H A R L I L;

j) S H H A R L I L; 및

k) H A R L M L; H A R L V L; 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 방법.

청구항 3.

생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 당해 NTP 세그먼트는 세포 사멸 및(또는)

조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태를 치료하는 방법.

청구항 4.

제3항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

- a) T H A R L I L; H H A R L C L; M F A R L I L; 및 H H A R L I F;
- b) H H A R L; H A R L; H A R L I; H A R L I L; H H A R L C L; A R L I L; H H A R L I F; T H A R L I L; A R L I; A R L; H A R L C L; A R L C L; A R C L; M F A R L I L; F A R L I L; F A R L I; F A R L; H A R L I F; 및 A R L I F;
- c) L H A R L C L A N F C G R N R V;
- d) L A R L C L A N F C G N N N V;
- e) C A R Y R T G H H A R L M;
- f) H H A R L P L A N F C G;
- g) R T G H H A R L C L A N F C;
- h) C E S A R Y R T G H H A R L C;
- i) D N T H H A R L I L;
- l) S H H A R L I L; 및
- m) H A R L M L; H A R L V L; 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 방법.

청구항 5.

포유동물 뇌 생조직을, 하나 이상의 NTP 세그먼트를 함유하고, 당해 NTP 세그먼트가 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있도록 하는 성분을 추가로 포함하는 조성물과 접촉시킴으로써, 포유동물 뇌 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제 및(또는) 저해하는 방법.

청구항 6.

제5항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

- a) T H A R L I L; H H A R L C L; M F A R L I L; 및 H H A R L I F;
- b) H H A R L; H A R L; H A R L I; H A R L I L; H H A R L C L; A R L I L; H H A R L I F; T H A R L I L; A R L I; A R L; H A R L C L; A R L C L; A R C L; M F A R L I L; F A R L I L; F A R L I; F A R L; H A R L I F; 및 A R L I F;
- c) L H A R L C L A N F C G R N R V;
- d) L A R L C L A N F C G N N N V;
- e) C A R Y R T G H H A R L M;
- f) H H A R L P L A N F C G;
- g) R T G H H A R L C L A N F C;

h) C E S A R Y R T G H H A R L C ;

i) D N T H H A R L I L ;

n) S H H A R L I L ; 및

o) H A R L M L ; H A R L V L 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 방법.

청구항 7.

포유동물 뇌 생조직을, 하나 이상의 NTP 세그먼트를 함유하고, 당해 NTP 세그먼트가 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있도록 하는 성분을 추가로 포함하는 조성물과 접촉시킴으로써, 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

a) T H A R L I L ; H H A R L C L ; M F A R L I L ; 및 H H A R L I F ;

b) H H A R L ; H A R L ; H A R L I ; H A R L I L ; H H A R L C L ; A R L I L ; H H A R L I F ; T H A R L I L ; A R L I ; A R L ; H A R L C L ; A R L C L ; A R C L ; M F A R L I L ; F A R L I L ; F A R L I ; F A R L ; H A R L I F ; 및 A R L I F ;

c) L H A R L C L A N F C G R N R V ;

d) L A R L C L A N F C G N N N V ;

e) C A R Y R T G H H A R L M ;

f) H H A R L P L A N F C G ;

g) R T G H H A R L C L A N F C ;

h) C E S A R Y R T G H H A R L C ;

i) D N T H H A R L I L ;

p) S H H A R L I L ; 및

q) H A R L M L ; H A R L V L 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 방법.

청구항 9.

제7항에 있어서, 신경퇴행성 장애가 알츠하이머병인 방법.

청구항 10.

제8항에 있어서, 신경퇴행성 장애가 알츠하이머병인 방법.

청구항 11.

NTP 세그먼트, 및 당해 NTP 세그먼트가 혈액-뇌 장벽을 횡단할 수 있도록 하는 성분을 포함하는, 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사와 관련된 상태 치료용 조성물.

청구항 12.

제11항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

- a) T H A R L I L; H H A R L C L; M F A R L I L; 및 H H A R L I F;
- b) H H A R L; H A R L; H A R L I; H A R L I L; H H A R L C L; A R L I L; H H A R L I F; T H A R L I L; A R L I; A R L; H A R L C L; A R L C L; A R C L; M F A R L I L; F A R L I L; F A R L I; F A R L; H A R L I F; 및 A R L I F;
- c) L H A R L C L A N F C G R N R V;
- d) L A R L C L A N F C G N N N V;
- e) C A R Y R T G H H A R L M;
- f) H H A R L P L A N F C G;
- g) R T G H H A R L C L A N F C;
- h) C E S A R Y R T G H H A R L C;
- i) D N T H H A R L I L;
- r) S H H A R L I L; 및
- s) H A R L M L; H A R L V L 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 조성물.

청구항 13.

생조직을 하나 이상의 NTP 세그먼트와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 당해 NTP 세그먼트는 NTP의 치료학적 투여에 의해 유발되는 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 조절, 제어, 경감 및(또는) 저해하기에 충분한 양으로 존재하는, 치료 목적으로 NTP를 투여한 부위 또는 그 부근에서 생조직내에서의 세포 사멸 및(또는) 조직 괴사를 억제, 조절, 제어, 경감 및(또는) 저해하는 방법.

청구항 14.

제13항에 있어서, 하나 이상의 NTP 세그먼트가

- a) T H A R L I L; H H A R L C L; M F A R L I L; 및 H H A R L I F;
- b) H H A R L; H A R L; H A R L I; H A R L I L; H H A R L C L; A R L I L; H H A R L I F; T H A R L I L; A R L I; A R L; H A R L C L; A R L C L; A R C L; M F A R L I L; F A R L I L; F A R L I; F A R L; H A R L I F; 및 A R L I F;
- c) L H A R L C L A N F C G R N R V;
- d) L A R L C L A N F C G N N N V;
- e) C A R Y R T G H H A R L M;
- f) H H A R L P L A N F C G;
- g) R T G H H A R L C L A N F C;
- h) C E S A R Y R T G H H A R L C;

i) D N T H H A R L I L ;

t) S H H A R L I L ; 및

u) H A R L M L ; H A R L V L 및 H A K L I L

및 그의 변이체, 동족체, 유도체 및 모방체

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 함유하는 것인 방법.

도면

도면1

1	1	ttttttttttttgag	ATG GAG TTT TCG CTC TTG TTG CCC AGG CTG GAG TGC AAT GGC GCA ATC	62
			M E F S L L L P R L E C N G A I	16
63	17	TCA GCT CAC CGC AAC CTC CGC CTC CGG GGT TCA AGC GAT TCT CCT GCC TCA GCC TCC CCA	122	
		S A H R N C L C P G S A S D S P A S A S P	36	
123	37	GTA GCT GGG ATT ACA GGC ATG TGC ACC CAC GCT CGG CTA ATT TTG TAT TTT TTT TTA GTA	182	
		V A G I T G M C T H A R L I L Y F F L V	56	
183	57	GAG ATG GAG TTT CTC CAT GTT GGT CAG GCT GGT CTC GAA CTC CGG ACC TCA GAT GAT CCC	242	
		E M E F L H V G Q A G L E L P T S D D P	76	
243	77	TCC GTC TCG GCC TCC CAA AGT GCT AGA TAC AGG ACT GGC CAC CAT GCC CGG CTC TGC CTG	302	
		S V S A S Q S A R Y R T G H H A R L C L	96	
303	97	GCT AAT TTT TGT GGT AGA AAC AGG GTT TCA CTG ATG TGC CCA AGC TGG TCT CCT GAG CTC	362	
		A N F C G R N R V S L M C P S W S P E L	116	
363	117	AAG CAG TCC ACC TGC CTC AGC CTC CCA AAG TGC TGG GAT TAC AGG CGT GCA GCC GTG CCT	422	
		K Q S T C L S L P K C W D Y R R A A V P	136	
423	137	GGC CTT TTT ATT TTA TTT TTT TTA AGA CAC AGG TGT CCC ACT CTT ACC CAG GAT GAA GTG	482	
		G L F I L F F L R H R C P T L T Q D E V	156	
483	157	CAG TGG TGT GAT CAC AGC TCA CTG CAG CCT TCA ACT CCT GAG ATC AAG CAT CCT CCT GCC	542	
		Q W C D H S S L Q P S T P E I K H P P A	176	
543	177	TCA GCC TCC CAA GTA GCT GGG ACC AAA GAC ATG CAC CAC TAC ACC TGG CTA ATT TTT ATT	602	
		S A S Q V A G T K D M H H Y T W L I F I	196	
603	197	TTT ATT TTT AAT TTT TTG AGA CAG AGT CTC AAC TCT GTC ACC CAG GCT GGA GTG CAG TGG	662	
		F I F N F L R Q S L N S V T Q A G V Q W	216	
663	217	CGC AAT CTT GGC TCA CTG CAA CCT CTG CCT CCC GGG TTC AAG TTA TTC TCC TGC CCC AGC	722	
		R N L G S L Q F L P P G F K L F S C F S	236	
723	237	CTC CTG AGT AGC TGG GAC TAC AGG CGC CCA CCA CGC CTA GCT AAT TTT TTT GTA TTT TTA	782	
		L L S S W D Y R R P P R L A N F F V F L	256	
783	257	GTA GAG ATG GGG TTC ACC ATG TTC GCC AGS TTG ATC TTG ATC TCT GGA CCT TGT GAT CTG	842	
		V E M G F T M F A R L I L I S G P C D L	276	
843	277	CCT GCC TCG GCC TCC CAA AGT GCT GGG ATT ACA GGC GTG AGC CAC CAC GCC CGG CTT ATT	902	
		P A S A S Q S A G I T G V S H H A R L I	296	
903	297	TTT AAT TTT TGT TTG TTT GAA ATG GAA TCT CAC TCT GTT ACC CAG GCT GGA GTG CAA TGG	962	
		F N F C L F E M E S H S V T Q A G V Q W	316	
963	317	CCA AAT CTC GGC TCA CTG CAA CCT CTG CCT CCC GGG CTC AAG CGA TTC TCC TGT CTC AGC	1022	
		P N L G S L Q P L P P G L K R F S C L S	336	
1023	337	CTC CCA AGC AGC TGG GAT TAC GGG CAC CTG CCA CCA CAC CCC GCT AAT TTT TGT ATT TTC	1082	
		L P S S W D Y G H L P P H P A N P C I F	356	
1083	357	ATT AGA GGC GGG GTT TCA CCA TAT TTG TCA GGC TGG TCT CAA ACT CCT GAC CTC AGG	1143	
		I R G G V S P Y L S G W S Q T P D L R	375	
1144		ccacctgcctcagccctccaaagtgtggtggtattacaggcgtgagccacctcaccagccggctaattagataaaaaaat	1223	
1224		atgtagcaatgggggtctgtgctatgttgcacaggctgggtctcaacttctggtcttcagcaatccttccaaatgagcca	1303	
1304		caacacccagccagtcacatctttttaaacagttacatcttttttttagtatactagaaagtaatacaataaacatgtcaa	1383	
1384		acctgcaaatcagtagtaacagagttctttttataaacttttaacaaagcttttagagca	1442	

도면2

NTP[122]

```

1   Met-Met-Val-Cys-Trp-Asn-Arg-Phe-Gly-Lys-
    M  M  V  C  W  N  R  F  G  K

11  Trp-Val-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-Ile-Phe-Asn-
    W  V  Y  F  I  S  A  I  F  N

21  Phe-Gly-Pro-Arg-Tyr-Leu-Tyr-His-Gly-Val-
    F  G  P  R  Y  L  Y  H  G  V

31  Pro-Phe-Tyr-Phe-Leu-Ile-Leu-Val-Arg-Ile-
    P  F  Y  F  L  I  L  V  R  I

41  Ile-Ser-Phe-Leu-Ile-Gly-Asp-Met-Glu-Asp-
    I  S  F  L  I  G  D  M  E  D

51  Val-Leu-Leu-Asn-Cys-Thr-Leu-Leu-Lys-Arg-
    V  L  L  N  C  T  L  L  K  R

61  Ser-Ser-Arg-Phe-Arg-Phe-Trp-Gly-Ala-Leu-
    S  S  R  F  R  F  W  G  A  L

71  Val-Cys-Ser-Met-Asp-Ser-Cys-Arg-Phe-Ser
    V  C  S  M  D  S  C  R  F  S

81  Arg-Val-Ala-Val-Thr-Tyr-Arg-Phe-Ile-Thr-
    R  V  A  V  T  Y  R  F  I  T

91  Leu-Leu-Asn-Ile-Pro-Ser-Pro-Ala-Val-Trp-
    L  L  N  I  P  S  P  A  V  W

101 Met-Ala-Arg-Asn-Thr-Ile-Asp-Gln-Gln-Val-
    M  A  R  N  T  I  D  Q  Q  V

111 Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-
    L  S  R  I  K  L  E  I  K  R

121 Cys-Leu
    C  L
  
```

도면3

NTP[112]

```

1   Met-Ala-Gln-Ser-Arg-Leu-Thr-Ala-The-Ser-
    M  A  Q  S  R  L  T  A  T  S

11  Ala-Ser-Arg-Val-Gln-Ala-Ile-Leu-Leu-Ser-
    A  S  R  V  Q  A  I  L  L  S

21  Gln-Pro-Pro-Lys-Gln-Leu-Gly-Leu-Arg-Ala-
    Q  P  P  K  Q  L  G  L  R  A

31  Pro-Ala-Asn-Thr-Pro-Leu-Ile-Phe-Val-Phe-
    P  A  N  T  P  L  I  F  V  F

41  Ser-Leu-Glu-Ala-Gly-Phe-His-His-Ile-Cys-
    S  L  E  A  G  F  H  H  I  C

51  Gln-Ala-Gly-Leu-Lys-Leu-Leu-Thr-Ser-Gly-
    Q  A  G  L  K  L  L  T  S  G

61  Asp-Pro-Pro-Ala-Ser-Ala-Phe-Gln-Ser-Ala-
    D  P  P  A  S  A  F  Q  S  A

71  Gly-Ile-Thr-Gly-Val-Ser-His-Leu-Thr-Gln-
    G  I  T  G  V  S  H  L  T  Q

81  Pro-Ala-Asn-Leu-Asp-Lys-Lys-Ile-Cys-Ser-
    P  A  N  L  D  K  K  I  C  S

91  Asn-Gly-Gly-Ser-Cys-Tyr-Val-Ala-Gln-Ala-
    N  G  G  S  C  Y  V  A  Q  A

101 Gly-Leu-Lys-Leu-Leu-Ala-Ser-Cys-Asn-Pro-
    G  L  K  L  L  A  S  C  N  P

111 Ser-Lys
    S  K
  
```

도면4

NTP[106]

```

1   Met-Trp-Thr-Leu-Lys-Ser-Ser-Leu-Val-Leu-
    M  W  T  L  K  S  S  L  V  L

11  Leu-Leu-Cys-Leu-Thr-Cys-Ser-Tyr-Ala-Phe-
    L  L  C  L  T  C  S  Y  A  F

21  Met-Phe-Ser-Ser-Leu-Arg-Gln-Lys-Thr-Ser-
    M  F  S  S  L  R  Q  K  T  S

31  Glu-Pro-Gln-Gly-Lys-Val-Pro-Cys-Gly-Glu-
    E  P  Q  G  K  V  P  C  G  E

41  His-Phe-Arg-Ile-Arg-Gln-Asn-Leu-Pro-Glu-
    H  F  R  I  R  Q  N  L  P  E

51  His-Thr-Gln-Gly-Trp-Leu-Gly-Ser-Lys-Trp-
    H  T  Q  G  W  L  G  S  K  W

61  Leu-Trp-Leu-Leu-Phe-Ala-Val-Val-Pro-Phe-
    L  W  L  L  F  A  V  V  P  F

71  Val-Ile-Leu-Lys-Cys-Gln-Arg-Asp-Ser-Glu-
    V  I  L  K  C  Q  R  D  S  E

81  Lys-Asn-Lys-Val-Arg-Met-Ala-Pro-Phe-Phe-
    K  N  K  V  R  M  A  P  F  F

91  Leu-His-His-Ile-Asp-Ser-Ile-Ser-Gly-Val-
    L  H  H  I  D  S  I  S  G  V

101 Ser-Gly-Lys-Arg-Met-Phe
    S  G  K  R  M  F
  
```

도면5

NTP[106]

```

1   Met-Phe-Phe-Val-Leu-Tyr-Arg-Phe-Cys-Phe-
    M  F  F  V  L  Y  R  F  C  F

11  Cys-Phe-Phe-Glu-Thr-Glu-Ser-His-Ser-Leu-
    C  F  F  E  T  E  S  H  S  L

21  Thr-Gln-Ala-Gly-Val-Gln-Trp-Cys-Glu-Leu-
    T  Q  A  G  V  Q  W  C  E  L

31  Gly-Ser-Pro-Gln-Pro-Leu-Pro-Ser-Gly-Phe-
    G  S  P  Q  P  L  P  S  G  F

41  Lys-Arg-Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Leu-Ser-
    K  R  F  S  C  L  S  L  L  S

51  Ser-Trp-Asp-Tyr-Ser-His-Glu-Pro-Pro-His-
    S  W  D  Y  S  H  E  P  P  H

61  Pro-Val-Ile-Cys-Ser-Phe-Leu-Met-Glu-Lys-
    P  V  I  C  S  F  L  M  E  K

71  Cys-Leu-Ile-Leu-Tyr-Lys-Pro-Asn-Gly-Asp-
    C  L  I  L  Y  K  P  N  G  D

81  Thr-Ile-Gly-Pro-Ile-Leu-Val-Gln-Gln-Gly-
    T  I  G  P  I  L  V  Q  Q  G

91  Lys-Arg-Gln-Lys-Leu-Tyr-Ile-Ser-Ala-Asp-
    K  R  Q  K  L  Y  I  S  A  D

100 Leu-Val-His-Leu-Ile-Ala
    L  V  H  L  I  A
  
```

도면6

NTP[98]

```

1   Glu-Ala-Tyr-Tyr-Thr-Met-Leu-His-Leu-Pro-
    E  A  Y  Y  T  M  L  H  L  P

11  Thr-Thr-Asn-Arg-Pro-Lys-Ile-Ala-His-Cys
    T  T  N  R  P  K  I  A  H  C

21  Ile-Leu-Phe-Asn-Gln-Pro-His-Ser-Pro-Arg-
    I  L  F  N  Q  P  H  S  P  R

31  Ser-Asn-Ser-His-Ser-His-Pro-Asn-Pro-Leu-
    S  N  S  H  S  H  P  N  P  L

41  Lys-Leu-His-Arg-Arg-Ser-His-Ser-His-Asn-
    K  L  H  R  R  S  H  S  H  N

51  Arg-Pro-Arg-Ala-Tyr-Ile-Leu-Ile-Thr-Ile-
    R  P  R  A  Y  I  L  I  T  I

61  Leu-Pro-Ser-Lys-Leu-Lys-Leu-Arg-Thr-His-
    L  P  S  K  L  K  L  R  T  H

71  Ser-Gln-Ser-His-His-Asn-Pro-Leu-Ser-Arg-
    S  Q  S  H  H  N  P  L  S  R

81  Thr-Ser-Asn-Ser-Thr-Pro-Thr-Asn-Ser-Phe-
    T  S  N  S  T  P  T  N  S  F

91  Leu-Met-Thr-Ser-Ser-Lys-Pro-Arg
    L  M  T  S  S  K  P  R
  
```

도면7

NTP[75]

```

1   Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-
    S  S  S  L  G  L  P  K  C  W

11  Asp-Tyr-Arg-His-Glu-Leu-Leu-Ser-Leu-Ala-
    D  Y  R  H  E  L  L  S  L  A

21  Leu-Met-Ile-Asn-Phe-Arg-Val-Met-Ala-Cys
    L  M  I  N  F  R  V  M  A  C

31  Thr-Phe-Lys-Gln-His-Ile-Glu-Leu-Arg-Gln-
    T  F  K  Q  H  I  E  L  R  Q

41  Lys-Ile-Ser-Ile-Val-Pro-Arg-Lys-Leu-Cys-
    K  I  S  I  V  P  R  K  L  C

51  Cys-Met-Gly-Pro-Val-Cys-Pro-Val-Lys-Ile-
    C  M  G  P  V  C  P  V  K  I

61  Ala-Leu-Leu-Thr-Ile-Asn-Gly-His-Cys-Thr-
    A  L  L  T  I  N  G  H  C  T

71  Trp-Leu-Pro-Ala-Ser
    W  L  P  A  S
  
```

도면8

NTP[68]

```

1   Met-Phe-Val-Phe-Cys-Leu-Ile-Leu-Asn-Arg-
    M  F  V  F  C  L  I  L  N  R

11  Glu-Lys-Ile-Lys-Gly-Gly-Asn-Ser-Ser-Phe-
    E  K  I  K  G  G  N  S  S  F

21  Phe-Leu-Leu-Ser-Phe-Phe-Phe-Ser-Phe-Gln-
    F  L  L  S  F  F  F  S  F  Q

31  Asn-Cys-Cys-Gln-Cys-Phe-Gln-Cys-Arg-Thr-
    N  C  C  Q  C  F  Q  C  R  T

41  Thr-Glu-Gly-Tyr-Ala-Val-Glu-Cys-Phe-Tyr-
    T  E  G  Y  A  V  E  C  F  Y

51  Cys-Leu-Val-Asp-Lys-Ala-Ala-Phe-Glu-Cys-
    C  L  V  D  K  A  A  F  E  C

61  Trp-Trp-Phe-Tyr-Ser-Phe-Asp-Thr
    W  W  F  Y  S  F  D  T
  
```

도면9

NTP[61]

```

1   Met-Glu-Pro-His-Thr-Val-Ala-Gln-Ala-Gly-
    M   E   P   H   T   V   A   Q   A   G

11  Val-Pro-Gln-His-Asp-Leu-Gly-Ser-Leu-Gln-
    V   P   Q   H   D   L   G   S   L   Q

21  Ser-Leu-Leu-Pro-Arg-Phe-Lys-Arg-Phe-Ser-
    S   L   L   P   R   F   K   R   F   S

31  Cys-Leu-Ile-Leu-Pro-Lys-Ile-Trp-Asp-Tyr-
    C   L   I   L   P   K   I   W   D   Y

41  Arg-Asn-Met-Asn-Thr-Ala-Leu-Ile-Lys-Arg-
    R   N   M   N   T   A   L   I   K   R

51  Asn-Arg-Tyr-Thr-Pro-Glu-Thr-Gly-Arg-Lys-
    N   R   Y   T   P   E   T   G   R   K

61  Ser
    S
  
```

<110> NYMOX CORPORATION

AVERBACK, PAUL

<120> METHOD OF PREVENTING CELL DEATH USING SEGMENTS OF
NEURAL THREAD PROTEINS

<130> 10107-37

<140> PCT/CA02/00712

<141> 2002-05-16

<150> US 60/290,971

<151> 2001-05-16

<160> 43

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1442

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (15)..(1139)

<400> 1

tttttttttt tgag atg gag ttt tcg ctc ttg ttg ccc agg ctg gag tgc 50

Met Glu Phe Ser Leu Leu Leu Pro Arg Leu Glu Cys

1

5

10

aat ggc gca atc tca gct cac cgc aac ctc cgc ctc ccg ggt tca agc 98

Asn Gly Ala Ile Ser Ala His Arg Asn Leu Arg Leu Pro Gly Ser Ser	
15 20 25	
gat tct cct gcc tca gcc tcc cca gta gct ggg att aca ggc atg tgc	146
Asp Ser Pro Ala Ser Ala Ser Pro Val Ala Gly Ile Thr Gly Met Cys	
30 35 40	
acc cac gct cgg cta att ttg tat ttt ttt tta gta gag atg gag ttt	194
Thr His Ala Arg Leu Ile Leu Tyr Phe Phe Leu Val Glu Met Glu Phe	
45 50 55 60	
ctc cat gtt ggt cag gct ggt ctc gaa ctc ccg acc tca gat gat ccc	242
Leu His Val Gly Gln Ala Gly Leu Glu Leu Pro Thr Ser Asp Asp Pro	
65 70 75	
tcc gtc tcg gcc tcc caa agt gct aga tac agg act ggc cac cat gcc	290
Ser Val Ser Ala Ser Gln Ser Ala Arg Tyr Arg Thr Gly His His Ala	
80 85 90	
cgg ctc tgc ctg gct aat ttt tgt ggt aga aac agg gtt tca ctg atg	338
Arg Leu Cys Leu Ala Asn Phe Cys Gly Arg Asn Arg Val Ser Leu Met	
95 100 105	
tgc cca agc tgg tct cct gag ctc aag cag tcc acc tgc ctc agc ctc	386
Cys Pro Ser Trp Ser Pro Glu Leu Lys Gln Ser Thr Cys Leu Ser Leu	
110 115 120	
cca aag tgc tgg gat tac agg cgt gca gcc gtg cct ggc ctt ttt att	434
Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu Phe Ile	
125 130 135 140	
tta ttt ttt tta aga cac agg tgt ccc act ctt acc cag gat gaa gtg	482
Leu Phe Phe Leu Arg His Arg Cys Pro Thr Leu Thr Gln Asp Glu Val	
145 150 155	
cag tgg tgt gat cac agc tca ctg cag cct tca act cct gag atc aag	530
Gln Trp Cys Asp His Ser Ser Leu Gln Pro Ser Thr Pro Glu Ile Lys	
160 165 170	
cat cct cct gcc tca gcc tcc caa gta gct ggg acc aaa gac atg cac	578
His Pro Pro Ala Ser Ala Ser Gln Val Ala Gly Thr Lys Asp Met His	
175 180 185	
cac tac acc tgg cta att ttt att ttt att ttt aat ttt ttg aga cag	626
His Tyr Thr Trp Leu Ile Phe Ile Phe Ile Phe Asn Phe Leu Arg Gln	

190	195	200	
agt ctc aac tct gtc acc cag gct gga gtg cag tgg cgc aat ctt ggc	674		
Ser Leu Asn Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Arg Asn Leu Gly			
205	210	215	220
tca ctg caa cct ctg cct ccc ggg ttc aag tta ttc tcc tgc ccc agc	722		
Ser Leu Gln Pro Leu Pro Pro Gly Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser			
225	230	235	
ctc ctg agt agc tgg gac tac agg cgc cca cca cgc cta gct aat ttt	770		
Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe			
240	245	250	
ttt gta ttt tta gta gag atg ggg ttc acc atg ttc gcc agg ttg atc	818		
Phe Val Phe Leu Val Glu Met Gly Phe Thr Met Phe Ala Arg Leu Ile			
255	260	265	
ttg atc tct gga cct tgt gat ctg cct gcc tcg gcc tcc caa agt gct	866		
Leu Ile Ser Gly Pro Cys Asp Leu Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser Ala			
270	275	280	
ggg att aca ggc gtg agc cac cac gcc cgg ctt att ttt aat ttt tgt	914		
Gly Ile Thr Gly Val Ser His His Ala Arg Leu Ile Phe Asn Phe Cys			
285	290	295	300
ttg ttt gaa atg gaa tct cac tct gtt acc cag gct gga gtg caa tgg	962		
Leu Phe Glu Met Glu Ser His Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp			
305	310	315	
cca aat ctc ggc tca ctg caa cct ctg cct ccc ggg ctc aag cga ttc	1010		
Pro Asn Leu Gly Ser Leu Gln Pro Leu Pro Pro Gly Leu Lys Arg Phe			
320	325	330	
tcc tgt ctc agc ctc cca agc agc tgg gat tac ggg cac ctg cca cca	1058		
Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr Gly His Leu Pro Pro			
335	340	345	
cac ccc gct aat ttt tgt att ttc att aga ggc ggg gtt tca cca tat	1106		
His Pro Ala Asn Phe Cys Ile Phe Ile Arg Gly Gly Val Ser Pro Tyr			
350	355	360	
ttg tca ggc tgg tct caa act cct gac ctc agg tgaccacact gcctcagcct	1159		
Leu Ser Gly Trp Ser Gln Thr Pro Asp Leu Arg			
365	370	375	

tccaaagtgc tgggattaca ggcgtgagcc acctcaccca gccggctaatt ttagataaaa 1219
 aaatatgtag caatgggggg tcttgctatg ttgccagggc tggctctcaaa cttctggctt 1279
 catgcaatcc ttccaaatga gccacaacac ccagccagtc acatttttta aacagttaca 1339
 tctttatattt agtatactag aaagtaatac aataaacatg tcaaacctgc aaattcagta 1399
 gtaacagagt tcttttataa cttttaaaca aagcttttaga gca 1442

<210> 2

<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Phe Ser Leu Leu Leu Pro Arg Leu Glu Cys Asn Gly Ala Ile

1 5 10 15

Ser Ala His Arg Asn Leu Arg Leu Pro Gly Ser Ser Asp Ser Pro Ala

20 25 30

Ser Ala Ser Pro Val Ala Gly Ile Thr Gly Met Cys Thr His Ala Arg

35 40 45

Leu Ile Leu Tyr Phe Phe Leu Val Glu Met Glu Phe Leu His Val Gly

50 55 60

Gln Ala Gly Leu Glu Leu Pro Thr Ser Asp Asp Pro Ser Val Ser Ala

65 70 75 80

Ser Gln Ser Ala Arg Tyr Arg Thr Gly His His Ala Arg Leu Cys Leu

85 90 95

Ala Asn Phe Cys Gly Arg Asn Arg Val Ser Leu Met Cys Pro Ser Trp

100 105 110

Ser Pro Glu Leu Lys Gln Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp

115 120 125

Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu Phe Ile Leu Phe Phe Leu

130 135 140

Arg His Arg Cys Pro Thr Leu Thr Gln Asp Glu Val Gln Trp Cys Asp

145 150 155 160

His Ser Ser Leu Gln Pro Ser Thr Pro Glu Ile Lys His Pro Pro Ala

165 170 175

Ser Ala Ser Gln Val Ala Gly Thr Lys Asp Met His His Tyr Thr Trp

180 185 190

Leu Ile Phe Ile Phe Ile Phe Asn Phe Leu Arg Gln Ser Leu Asn Ser
 195 200 205
 Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Arg Asn Leu Gly Ser Leu Gln Pro
 210 215 220
 Leu Pro Pro Gly Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser
 225 230 235 240
 Trp Asp Tyr Arg Arg Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe Phe Val Phe Leu
 245 250 255
 Val Glu Met Gly Phe Thr Met Phe Ala Arg Leu Ile Leu Ile Ser Gly
 260 265 270
 Pro Cys Asp Leu Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser Ala Gly Ile Thr Gly
 275 280 285
 Val Ser His His Ala Arg Leu Ile Phe Asn Phe Cys Leu Phe Glu Met
 290 295 300
 Glu Ser His Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Pro Asn Leu Gly
 305 310 315 320
 Ser Leu Gln Pro Leu Pro Pro Gly Leu Lys Arg Phe Ser Cys Leu Ser
 325 330 335
 Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr Gly His Leu Pro Pro His Pro Ala Asn
 340 345 350
 Phe Cys Ile Phe Ile Arg Gly Gly Val Ser Pro Tyr Leu Ser Gly Trp
 355 360 365
 Ser Gln Thr Pro Asp Leu Arg
 370 375

<210> 3

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Met Val Cys Trp Asn Arg Phe Gly Lys Trp Val Tyr Phe Ile Ser
 1 5 10 15
 Ala Ile Phe Asn Phe Gly Pro Arg Tyr Leu Tyr His Gly Val Pro Phe
 20 25 30
 Tyr Phe Leu Ile Leu Val Arg Ile Ile Ser Phe Leu Ile Gly Asp Met

35 40 45
 Glu Asp Val Leu Leu Asn Cys Thr Leu Leu Lys Arg Ser Ser Arg Phe
 50 55 60
 Arg Phe Trp Gly Ala Leu Val Cys Ser Met Asp Ser Cys Arg Phe Ser
 65 70 75 80
 Arg Val Ala Val Thr Tyr Arg Phe Ile Thr Leu Leu Asn Ile Pro Ser
 85 90 95
 Pro Ala Val Trp Met Ala Arg Asn Thr Ile Asp Gln Gln Val Leu Ser
 100 105 110
 Arg Ile Lys Leu Glu Ile Lys Arg Cys Leu
 115 120

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Gln Ser Arg Leu Thr Ala Thr Ser Ala Ser Arg Val Gln Ala
 1 5 10 15
 Ile Leu Leu Ser Gln Pro Pro Lys Gln Leu Gly Leu Arg Ala Pro Ala
 20 25 30
 Asn Thr Pro Leu Ile Phe Val Phe Ser Leu Glu Ala Gly Phe His His
 35 40 45
 Ile Cys Gln Ala Gly Leu Lys Leu Leu Thr Ser Gly Asp Pro Pro Ala
 50 55 60
 Ser Ala Phe Gln Ser Ala Gly Ile Thr Gly Val Ser His Leu Thr Gln
 65 70 75 80
 Pro Ala Asn Leu Asp Lys Lys Ile Cys Ser Asn Gly Gly Ser Cys Tyr
 85 90 95
 Val Ala Gln Ala Gly Leu Lys Leu Leu Ala Ser Cys Asn Pro Ser Lys
 100 105 110

<210> 5

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

```

Met Trp Thr Leu Lys Ser Ser Leu Val Leu Leu Leu Cys Leu Thr Cys
 1           5           10           15
Ser Tyr Ala Phe Met Phe Ser Ser Leu Arg Gln Lys Thr Ser Glu Pro
          20           25           30
Gln Gly Lys Val Pro Cys Gly Glu His Phe Arg Ile Arg Gln Asn Leu
        35           40           45
Pro Glu His Thr Gln Gly Trp Leu Gly Ser Lys Trp Leu Trp Leu Leu
        50           55           60
Phe Ala Val Val Pro Phe Val Ile Leu Lys Cys Gln Arg Asp Ser Glu
        65           70           75           80
Lys Asn Lys Val Arg Met Ala Pro Phe Phe Leu His His Ile Asp Ser
          85           90           95
Ile Ser Gly Val Ser Gly Lys Arg Met Phe
        100           105

```

<210> 6

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

```

Met Phe Phe Val Leu Tyr Arg Phe Cys Phe Cys Phe Phe Glu Thr Glu
 1           5           10           15
Ser His Ser Leu Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Cys Glu Leu Gly Ser
          20           25           30
Pro Gln Pro Leu Pro Ser Gly Phe Lys Arg Phe Ser Cys Leu Ser Leu
        35           40           45
Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Ser His Glu Pro Pro His Pro Val Ile Cys
        50           55           60
Ser Phe Leu Met Glu Lys Cys Leu Ile Leu Tyr Lys Pro Asn Gly Asp
        65           70           75           80
Thr Ile Gly Pro Ile Leu Val Gln Gln Gly Lys Arg Gln Lys Leu Tyr
          85           90           95
Ile Ser Ala Asp Leu Val His Leu Ile Ala
        100           105

```

<210> 7

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Glu Ala Tyr Tyr Thr Met Leu His Leu Pro Thr Thr Asn Arg Pro Lys

1 5 10 15

Ile Ala His Cys Ile Leu Phe Asn Gln Pro His Ser Pro Arg Ser Asn

20 25 30

Ser His Ser His Pro Asn Pro Leu Lys Leu His Arg Arg Ser His Ser

35 40 45

His Asn Arg Pro Arg Ala Tyr Ile Leu Ile Thr Ile Leu Pro Ser Lys

50 55 60

Leu Lys Leu Arg Thr His Ser Gln Ser His His Asn Pro Leu Ser Arg

65 70 75 80

Thr Ser Asn Ser Thr Pro Thr Asn Ser Phe Leu Met Thr Ser Ser Lys

85 90 95

Pro Arg

<210> 8

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ser Ser Ser Leu Gly Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg His Glu Leu

1 5 10 15

Leu Ser Leu Ala Leu Met Ile Asn Phe Arg Val Met Ala Cys Thr Phe

20 25 30

Lys Gln His Ile Glu Leu Arg Gln Lys Ile Ser Ile Val Pro Arg Lys

35 40 45

Leu Cys Cys Met Gly Pro Val Cys Pro Val Lys Ile Ala Leu Leu Thr

50 55 60

Ile Asn Gly His Cys Thr Trp Leu Pro Ala Ser

65 70 75

<210> 9

<211> 68

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Phe Val Phe Cys Leu Ile Leu Asn Arg Glu Lys Ile Lys Gly Gly

1 5 10 15

Asn Ser Ser Phe Phe Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ser Phe Gln Asn Cys

20 25 30

Cys Gln Cys Phe Gln Cys Arg Thr Thr Glu Gly Tyr Ala Val Glu Cys

35 40 45

Phe Tyr Cys Leu Val Asp Lys Ala Ala Phe Glu Cys Trp Trp Phe Tyr

50 55 60

Ser Phe Asp Thr

65

<210> 10

<211> 61

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Glu Pro His Thr Val Ala Gln Ala Gly Val Pro Gln His Asp Leu

1 5 10 15

Gly Ser Leu Gln Ser Leu Leu Pro Arg Phe Lys Arg Phe Ser Cys Leu

20 25 30

Ile Leu Pro Lys Ile Trp Asp Tyr Arg Asn Met Asn Thr Ala Leu Ile

35 40 45

Lys Arg Asn Arg Tyr Thr Pro Glu Thr Gly Arg Lys Ser

50 55 60

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Ile Thr Gly Met Cys Thr

1 5

<210> 12

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Gly Ile Thr Gly Met Cys Thr His Ala Arg Leu Ile Leu Tyr Phe Phe

1 5 10 15

Leu Val

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Tyr Phe Phe Leu Val

1 5

<210> 14

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Arg Cys Leu

1

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

His His Ala Arg Leu

1 5

<210> 16

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

His Ala Arg Leu

1

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

His Ala Arg Leu Ile

1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

His Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

His His Ala Arg Leu Cys Leu

1 5

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

His His Ala Arg Leu Ile Phe

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Thr His Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 23

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Arg Leu Ile

1

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

His Ala Arg Leu Cys Leu

1 5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ala Arg Leu Cys Leu

1 5

<210> 26

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Arg Cys Leu

1

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Phe Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Phe Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Phe Ala Arg Leu Ile

1 5

<210> 30

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Phe Ala Arg Leu

1

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

His Ala Arg Leu Ile Phe

1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Ala Arg Leu Ile Phe

1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Leu His Ala Arg Leu Cys Leu Ala Asn Phe Cys Gly Arg Asn Arg Val

1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Leu Ala Arg Leu Cys Leu Ala Asn Phe Cys Gly Asn Asn Asn Val

1 5 10 15

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Cys Ala Arg Tyr Arg Thr Gly His His Ala Arg Leu Met

1 5 10

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

His His Ala Arg Leu Pro Leu Ala Asn Phe Cys Gly

1 5 10

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Arg Thr Gly His His Ala Arg Leu Cys Leu Ala Asn Phe Cys

1 5 10

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Cys Glu Ser Ala Arg Tyr Arg Thr Gly His His Ala Arg Leu Cys

1 5 10 15

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Asp Asn Thr His His Ala Arg Leu Ile Leu

1 5 10

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Ser His His Ala Arg Leu Ile Leu

1 5

<210> 41

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

His Ala Arg Leu Met Leu

1 5

<210> 42

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

His Ala Arg Leu Val Leu

1 5

<210> 43

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

His Ala Lys Leu Ile Leu

1 5