

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2020년 6월 4일 (04.06.2020)



(10) 국제공개번호

WO 2020/111753 A1

(51) 국제특허분류:

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2019/016419

(22) 국제출원일:

2019년 11월 27일 (27.11.2019)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2018-0149345 2018년 11월 28일 (28.11.2018) KR

(71) 출원인: 포항공과대학교 산학협력단 (POSTECH RESEARCH AND BUSINESS DEVELOPMENT FOUNDATION) [KR/KR]; 37673 경상북도 포항시 남구 청암로 77, Gyeongsangbuk-do (KR). 재단법인대구경북과학기술원 (DAEGU GYEONGBUK INSTITUTE OF

SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 42988 대구시 달성군 현풍면 테크노중앙대로 333, Daegu (KR).

(72) 발명자: 황일두 (HWANG, Il Doo); 37673 경상북도 포항시 남구 지곡로 155, 8동 502호, Gyeongsangbuk-do (KR). 조현우 (CHO, Hyun Woo); 28609 충청북도 청주시 서원구 경신로 67, 111동 1802호, Chungcheongbuk-do (KR). 이성배 (LEE, Sung Bae); 05837 서울시 송파구 송파대로 111, 202동 C508호, Seoul (KR). 조현섭 (CHO, Hyun Seob); 39179 경상북도 구미시 흥안로 63, 102동 907호, Gyeongsangbuk-do (KR).

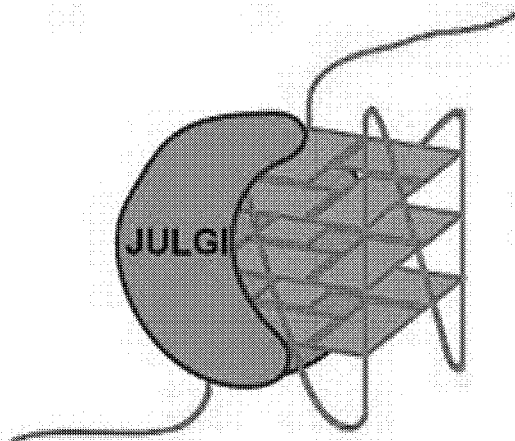
(74) 대리인: 특허법인 아이시스 (ISIS IP LAW LLC); 06160 서울시 강남구 테헤란로 63길 14, 8층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU,

(54) Title: USE OF JULGI IN DIAGNOSING AND TREATING GUANINE-QUADRUPLEX-RELATED DISEASE

(54) 발명의 명칭: JULGI의 구아닌-사중합체 관련 질환의 진단 및 치료 용도

G-quadruplex binding



Neurodegenerative disease

Cancer

Viral infection

(57) Abstract: The present invention relates to a use of JULGI in diagnosing and treating guanine-quadruplex-related disease and, more particularly, to a guanine-quadruplex (G-quadruplex) detecting composition comprising JULGI protein or a protein having a homology of 80% or higher to the JULGI protein, a diagnostic composition comprising the detecting composition, a diagnostic kit comprising the diagnostic composition, a method for providing information for diagnosis of a neurodegenerative disease, cancer, or a viral infection disease which are in pathological correlation with G-quadruplex, and a pharmaceutical composition for prevention or treatment of a neurodegenerative disease, cancer, or a viral infection disease, the pharmaceutical composition comprising JULGI protein, a protein having a homology of 80% or more with the JULGI protein, or a mutant protein thereof. Thanks to the activity of binding to the G-quadruplex structure, JULGI according to the present invention is expected to be advantageously used in diagnosing or treating various diseases that are in pathological correlation with the abnormal formation and dissociation of the G-quadruplex structure.

[다음 쪽 계속]

ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수
하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(57) 요약서: 본 발명은 JULGI의 구아닌-사중합체 관련 질환의 진단 및 치료 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물, 상기 검출용 조성물을 포함하는 진단용 조성물 및 상기 진단용 조성물을 포함하는 진단 키트, 구아닌-사중합체와 병리적 상관관계를 가지는 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염 질환의 진단을 위한 정보제공방법, JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질, 또는 이의 돌연변이 단백질을 포함하는 퇴행성 신경질환, 암, 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 JULGI은 G-quadruplex 구조에 결합하는 활성에 기인하여 G-quadruplex 구조의 비정상적인 형성 및 해리와 병리학적인 상관관계를 가지는 다양한 질환의 진단 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

명세서

발명의 명칭: JULGI의 구아닌-사중합체 관련 질환의 진단 및 치료 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 JULGI의 구아닌-사중합체 관련 질환의 진단 및 치료 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물, 상기 검출용 조성물을 포함하는 진단용 조성물 및 상기 진단용 조성물을 포함하는 진단 키트, 구아닌-사중합체와 병리적 상관관계를 가지는 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염 질환의 진단방법, JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질, 또는 이의 돌연변이 단백질을 포함하는 약학적 조성물의 퇴행성 신경질환, 암, 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용도에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 퇴행성 신경질환 및 암은 유전적 원인부터 환경까지 광범위한 영향들에 의한 주요 유전자의 기능적 돌연변이의 축적으로 발병하게 된다. 현재까지 상기 질환들과 병리적 상관관계를 가지는 다양한 유전자들이 규명되었으나 여전히 정확한 발병 기작이나 원인에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않고, 특히 퇴행성 신경질환의 경우 질병을 치료하는 방법이 전무한 실정이며 증상의 진행을 지연시키는 정도의 치료가 시행되고 있다. 따라서 상기 질환들의 근본적인 치료를 위해서는 분자생물학적 원인부터 진단과 치료에 이르기까지 다양한 측면에서 연구 및 개발이 필요하다.
- [3] 한편, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조는 4개의 구아닌(Guanine) 염기가 Hoogsteen-base pairing을 이룸으로써 형성되는 이차구조이다. 상기 구조의 비정상적 형성 또는 해리는 퇴행성 신경질환 및 암과 같은 주요 질병을 유발시키는 것으로 보고되고 있으며, 그 외의 다양한 질병과도 밀접한 병리적 상관관계를 가진다고 알려져 있다. 보다 구체적으로, 퇴행성 신경질환인 근위축성 측색경화증(Amyotrophic lateral sclerosis; ALS) 및 전측두엽 치매(Frontotemporal dementia; FTD)에서 C9orf72 유전자의 첫 번째 인트론에 존재하는 GGGGCC 반복 염기서열의 증가가 공통적으로 관찰되며, 전사체로부터 형성된 G-quadruplex 구조 및 그로부터 번역되어 생성된 펩타이드가 상기 질환의 발병과 밀접한 연관이 있음이 보고된바 있다. 또한, C9orf72 유전자 외에도 다양한 퇴행성 신경질환과 관련된 유전자 및 non-coding RNA들에서도 G-quadruplex 형성 반복 염기서열이 관찰되고 있으며, 이는 G-quadruplex 구조와 퇴행성 신경질환이 병리적으로 밀접한 상관관계가 있음을 보여주는 것이다(Reberto Simone et al., 2015, FEBS Letters).

- [4] 또한, 암 유발과 밀접한 관련이 있는 원발암유전자(proto-oncogene)들 역시 유전자 발현을 조절하는 주요 조절 부위에 G-quadruplex 형성 염기서열을 가지며, 이는 유전자 발현 조절에 중요한 기능을 한다고 알려져 있다. 원발암유전자인 NRAS(Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog)의 경우 5'UTR에 G-quadruplex 형성 염기서열을 가지는데, G-quadruplex 형성 염기서열의 결실(deletion) 또는 돌연변이(mutation)에 의해 상기 유전자의 발현(번역)이 유의미하게 증가됨이 보고되어 있다. 많은 원발암유전자들의 DNA상의 프로모터 영역(promoter region) 또는 RNA 상의 5'UTR 부위에 G-quadruplex가 존재한다는 것은 암의 발생에 있어서 G-quadruplex 구조 형성 조절을 통한 유전자 발현 조절이 중요함을 의미하는 것이다. 또한, G-quadruplex 구조 형성을 조절하는 나선효소(helicase) 및 단백질 샤페론(protein chaperone)의 기능적 돌연변이 발생이 암 발생에 영향을 준다는 연구 결과 또한 암과 G-quadruplex 구조 형성의 조절이 밀접한 관련이 있음을 보여주는 것이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명자들은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조의 비정상적인 형성 또는 해리가 퇴행성 신경질환 및 암과 같은 주요 질병의 발병과 상관관계가 있다는 종래 연구결과에 근거하여, G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조와 결합하는 식물체 유래의 JULGI 단백질을 상기 관련 질환들의 진단 또는 치료에 이용할 수 있음을 실험적으로 확인하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.
- [6] 이에, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [7] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, JULGI 단백질의 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 결합 활성에 기인하여 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환을 진단하기 위한 조성물 및 상기 진단용 조성물을 포함하는 진단 키트를 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.
- [8] 또한, 본 발명은 피검체 유래의 생물학적 시료에서 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질의 활성을 측정하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [9] 또한, 본 발명은 JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [10] 또한, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 또

다른 목적으로 한다.

[11]

[12] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

[13] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물을 제공한다.

[14] 본 발명의 일구현예로, 상기 JULGI 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있다.

[15] 본 발명의 다른 구현예로, JULGI 단백질은 구아닌-rich 서열 또는 RNA 구아닌-사중합체에 결합하는 것일 수 있다.

[16] 또한, 본 발명은 상기 검출용 조성물을 포함하는, JULGI 단백질의 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 결합 활성에 기인하여 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환을 진단하기 위한 조성물 및 상기 진단용 조성물을 포함하는 진단 키트를 제공한다.

[17] 또한, 본 발명은 피검체 유래의 생물학적 시료에서 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질의 활성을 측정하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[18] 본 발명의 일구현예로, 상기 활성 측정은 JULGI 단백질과 구아닌-사중합체의 결합 여부를 측정하는 것일 수 있다.

[19] 또한, 본 발명은 JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[20] 본 발명의 일구현예로, 상기 JULGI 돌연변이 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내 20번, 80번, 또는 146번째 아르기닌(Arginine) 잔기가 알라닌(Alanine) 잔기로 치환되어 RNA 결합 활성이 결실된 것일 수 있다.

[21] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 JULGI 돌연변이 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내 20번, 79번, 또는 152번째 아르기닌(Arginine) 잔기가 알라닌(Alanine) 잔기로 치환되어 RNA 결합 활성이 결실된 것일 수 있다.

[22] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 퇴행성 신경질환은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조에 기인하여 발생하는 것일 수 있다.

[23] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 퇴행성 신경질환은 근위축성

측색경화증(Amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 전측두엽 치매(Frontotemporal dementia; FTD), 제1형 진행성 근간대성 간질(Progressive myoclonus epilepsy type 1; EPM1), 취약 X 증후군(Fragile X syndrome), 척수소뇌성 운동실조증(Spinocerebellar ataxia; SCA36) 및 가족성 크로이츠펔트 야콥병(Familial Creutzfeldt-Jakob disease; CJD)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있다.

- [24] 또한, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [25] 본 발명의 일구현예로, 상기 암 또는 바이러스 감염질환은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조에 기인하여 발생하는 것일 수 있다.
- [26] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 암은 췌장암, 위암, 간암, 대장암, 결장암, 직장암, 뇌암, 유방암, 신장암, 갑상선암, 방광암, 식도암, 인두암, 구강암, 설암, 자궁암, 난소암, 백혈병, 전립선암, 고환암, 담도암, 담낭암, 육종, 피부암 및 폐암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [27] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 바이러스 감염질환은 인간 면역결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus)로 인한 후천성 면역결핍 증후군(Acquired immunodeficiency syndrome), 인유두종 바이러스(Human papilloma virus)로 인한 자궁경부암(cervical cancer), 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus)로 인한 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 버킷림프종(Burkitt's lymphoma) 및 비인두암(nasopharyngeal carcinoma)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [28] 또한, 본 발명은 JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [29] 또한, 본 발명은 JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [30] 또한, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [31] 또한, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

발명의 효과

- [32] 본 발명에서는 G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조에 결합하는 활성을 가지고 있는 식물체 유래 JULGI 단백질이 퇴행성 신경질환 또는 암과

병리학적인 상관관계를 가지는 G-quadruplex 형성 염기서열을 포함하는 유전자와 결합하는 것을 확인하였고, 실제로 근위축성 측색경화증 초파리 모델에서 JULGI 단백질이 상기 질환의 병증에 미치는 영향을 확인하였는바, JULGI 또는 이와 상동성을 갖는 단백질이 G-quadruplex 구조에 결합하는 활성에 기인하여 G-quadruplex 구조의 비정상적인 형성 및 해리와 병리학적인 상관관계를 가지는 다양한 질환의 진단 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [33] 도 1a는 JULGI 단백질의 결합 표적인 G-quadruplex 모티프를 확인하기 위해 JULGI 단백질의 구조를 그림으로 도시한 것이다.
- [34] 도 1b는 JULGI 단백질이 G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조에 특이적으로 결합하는지 여부를 알아보기 위해 SELEX 분석을 실시한 결과이다.
- [35] 도 2a는 JULGI 단백질이 RNA G-quadruplex 모티프와 직접적으로 결합함을 확인하기 위해, JUL1 및 이의 변이체인 JUL1(RA)에 대하여 식물 유래의 G-quadruplex 형성이 가능한 G-rich 염기서열을 갖는 SMXL5를 이용하여 EMSA 분석을 실시한 결과이다.
- [36] 도 2b는 JUL1과 SMXL5 5'UTR 결합의 해리 상수(Kd)를 측정한 결과이다.
- [37] 도 2c는 SMXL5 5'UTR G-quadruplex와 JUL1 단백질 사이의 상호 작용을 시각화하기 위해 표면 상호작용 분석을 실시한 결과이다.
- [38] 도 3a는 퇴행성 신경질환과 병리학적 상관관계를 갖는 C9orf72 유전자 및 선별된 4개의 원발암유전자인 THRA, NRAS, FLI1 및 BCL2 내 G-quadruplex-형성 서열을 나타낸 것이다.
- [39] 도 3b는 상기 각 유전자 내 G-quadruplex-형성 서열과 GST-JUL1 단백질이 결합함을 보여주는 결과이다.
- [40] 도 4는 JULGI 단백질이 근위축성 측색경화증(ALS) 병증 유발에 미치는 영향을 분석한 결과로서, 초파리 근위축성 측색경화증 모델에서 JUL1 단백질 또는 JUL1 변이체 단백질(JUL1^{R20/80/145A})을 발현시킨 후 근위축성 측색경화증 정도를 비교한 결과이다.
- [41] 도 5는 JULGI 단백질이 RNA G-quadruplex 모티프와 직접적으로 결합하는 특성을 이용해 이와 관련된 퇴행성 신경질환, 암 및 바이러스 감염질환의 진단 및 치료 등에 적용될 수 있음을 그림으로 도시한 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [42] 본 발명자들은 RNA 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조의 비정상적인 형성 또는 해리가 퇴행성 신경질환 및 암과 같은 주요 질병의 발병과 상관관계가 있다는 종래 연구결과에 근거하여, G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조와 결합하는 식물체 유래의 JULGI 단백질을 상기 관련 질환들의 진단 또는 치료에 이용할 수 있음을 확인함으로써, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

- [43] 이에, 본 발명은 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, RNA 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물을 제공한다.
- [44] 또한, 본 발명은 상기 검출용 조성물을 포함하는, JULGI 단백질의 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 결합 활성에 기인하여 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환을 진단하는 것을 특징으로 하는 진단용 조성물 및 상기 진단용 조성물을 포함하는 진단 키트를 제공한다.
- [45] 본 발명에 있어서, 상기 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조는 4개의 구아닌 염기가 Hoogsteen-base pairing을 이룸으로써 형성되는 RNA 이차구조로서, 상기 구조의 비정상적 형성 또는 해리는 퇴행성 신경질환 및 암과 같은 주요 질병을 유발시키는 것으로 보고되고 있으며, 그 외의 다양한 질병과도 밀접한 병리적 상관관계를 가진다고 알려져 있다.
- [46] 본 발명에 있어서, 상기 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질은 RNA G-quadruplex에 결합하는 활성을 가지며, 상기 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있고, 보다 바람직하게는 서열번호 1 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 JUL1 단백질 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 JUL2 단백질, 및 상기 단백질들의 기능적 동등물을 포함한다. “기능적 동등물”이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. “실질적으로 동질의 생리활성”이란 식물체에서 체관 형성에 대한 활성을 의미한다.
- [47] 본 발명에서 사용되는 용어, “진단(diagnosis)”이란 넓은 의미로는 환자의 병의 실태를 모든 면에 걸쳐서 판단하는 것을 의미한다. 판단의 내용은 병명, 병인, 병형, 경중, 병상의 상세한 양태, 및 합병증의 유무 등이다. 본 발명에서 진단은 JULGI 단백질의 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 결합 활성에 기인하여 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 발병 여부 및 진행단계 수준 등을 판단하는 것이다.
- [48] 본 발명의 진단용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치로 구성된다.
- [49] 본 발명의 진단용 키트는 JULGI와 G-quadruplex의 특이적 결합을 이용한 다양한 접근법들을 모두 포함할 수 있으며, 당업자가 적절히 선택하여 제조할 수 있다. 예컨대, JULGI 단백질이 도포된 진단용 칩에 피검자의 혈액 또는 조직 그 자체, 이로부터 추출한 RNA 샘플 또는 PCR을 통해 증폭된 DNA 샘플을 적용하고, 상기 피검자 유래 샘플에 존재하는 G-quadruplex 구조를 추적할 수 있는 티오플라빈 T(Thioflavin T)나 NMM과 같은 추적 물질을 도포, 형광 신호를

정량함으로 해당 질환의 유발 및 진행 정도를 진단할 수 있을 것이며, 상기 실시예 1-2에서 실시한 비드 표면 상호작용 분석법(Bead surface interaction assay)이 상기 진단 키트의 기본 모티브가 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [50] 본 발명자들은 구체적인 실시예를 통해 JULGI 단백질을 RNA G-quadruplex 구조의 비정상적인 형성 또는 해리와 병리적 상관관계를 갖는 다양한 질환의 진단 또는 치료에 이용할 수 있음을 확인하였다.
- [51] 본 발명의 일실시예에서는, JULGI 단백질에 대하여 다양한 RNA 프로브를 이용한 SELEX 분석을 실시함으로써 JULGI 단백질의 결합 표적으로써 G-quadruplex 모티프를 확인하였고(실시예 1-1 참조), 나아가 식물 유래의 G-quadruplex 형성이 가능한 G-rich 염기서열을 갖는 SMXL5를 이용하여 EMSA 및 표면 결합 시스템을 이용한 분석을 통해 JULGI 단백질의 RanBP2-type ZnF 모티프와 G-quadruplex 간의 직접적인 결합을 이루는 것을 확인하였다(실시예 1-2 참조).
- [52] 본 발명의 다른 실시예에서는, JULGI가 퇴행성 신경질환과 병리적 상관관계를 가지는 C9orf72 유전자 및 선별된 4개의 원발암유전자인 THRA, NRAS, FLI1 및 BCL2의 5'UTR에 존재하는 RNA G-rich 염기서열에 결합하는지 여부를 검증하기 위해 비드 표면 상호작용 분석을 실시한 결과, JULGI 단백질이 상기 각 유전자들과 결합한 것을 확인하였다(실시예 2 참조).
- [53] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, JULGI가 근위축성 측색경화증의 병증 유발에 미치는 영향을 알아보기 위해 근위축성 측색경화증의 초파리 모델에서 JUL1 단백질 또는 상기 단백질의 RNA 결합 활성을 없앤 JUL1(RA) 변이체 단백질을 각각 발현시킨 결과, 야생형 JUL1 단백질을 발현시킨 경우 근위축성 측색경화증 병증이 유의하게 증가한 반면, JUL1(RA)을 발현시킨 경우에는 근위축성 측색경화증의 병증이 대조군(G4C2)₃₀과 비교하여 유의하게 감소한 것을 확인하였다(실시예 3 참조).
- [54] 상기 본 발명의 실시예 결과들은 JULGI를 이용하여 G-quadruplex 구조와 병리학적 상관관계를 가지는 퇴행성 신경질환, 암, 바이러스 감염질환 등에 대하여 증가된 G-quadruplex 구조를 특이적으로 검출하고, 이와 관련된 다양한 질환의 진단에 이용할 수 있으며, JULGI 또는 이의 변이체를 이용해 관련된 상기 질환들의 치료에도 유용하게 이용할 수 있음을 입증하는 것이다.
- [55] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 피검체 유래의 생물학적 시료에서 JULGI 단백질 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질의 활성을 측정하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [56] 본 발명에서 사용되는 용어 “진단을 위한 정보제공방법”은 진단을 위한 예비적 단계로써 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 진단 또는 예후 예측을 위하여 필요한 객관적인 기초정보를 제공하는 것이며 의사의 임상학적 판단

또는 소견은 제외된다.

[57] 상기 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환은 G-quadruplex 구조와 병리적 상관관계를 가지는 것을 특징으로 한다.

[58] 상기 퇴행성 신경질환은 바람직하게는 근위축성 측색경화증(Amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 전측두엽 치매(Frontotemporal dementia; FTD), 제1형 진행성 근간대성 간질(Progressive myoclonus epilepsy type 1; EPM1), 취약 X 증후군(Fragile X syndrome), 척수소뇌성 운동실조증(Spinocerebellar ataxia; SCA36) 및 가족성 크로이츠펔트 야콥병(Familial Creutzfeldt-Jakob disease; CJD)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[59] 상기 암은 바람직하게는 췌장암, 위암, 간암, 대장암, 결장암, 직장암, 뇌암, 유방암, 신장암, 갑상선암, 방광암, 식도암, 인두암, 구강암, 설암, 자궁암, 난소암, 백혈병, 전립선암, 고환암, 담도암, 담낭암, 육종, 피부암 및 폐암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[60] 상기 바이러스 감염질환은 바람직하게는 인간 면역결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus)로 인한 후천성 면역결핍 증후군(Acquired immunodeficiency syndrome), 인유두종 바이러스(Human papilloma virus)로 인한 자궁경부암(cervical cancer), 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus)로 인한 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 버킷림프종(Burkitt's lymphoma) 및 비인두암(nasopharyngeal carcinoma)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[61] 본 발명에 있어서, 상기 JULGI 단백질 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질의 활성 측정은 JULGI 또는 이의 상동단백질과 G-quadruplex의 결합 여부를 측정하는 것일 수 있으며, 단백질과 RNA 또는 DNA를 포함하는 핵산 간의 상호작용을 분석할 수 있는 방법이라면 그 종류에 제한되지 않고 당업자가 적절히 선택하여 실시할 수 있다.

[62] 본 발명에 있어서, 상기 피검체 유래의 생물학적 시료는 조직, 세포, 전혈, 혈액, 타액, 객담, 뇌척수액 및 뇨 등을 포함할 수 있으나, 이것으로 제한되는 것은 아니다.

[63] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[64] 상기 JULGI 돌연변이 단백질은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질(JUL1 단백질)의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내 20번, 80번, 또는 146번째 아르기닌(Arginine) 잔기; 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질(JUL2 단백질)의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내 20번, 79번, 또는 152번째 아르기닌 잔기가 다른 아미노산, 보다 바람직하게는 알라닌(Alanine) 잔기로 치환되어 RNA 결합 활성이 결실된 것일

수 있으며, 바람직하게 JULGI 돌연변이 단백질은 각각 서열번호 5 또는 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있다.

[65] 또한, 본 발명은 JULGI 단백질 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[66] 상기 퇴행성 신경질환, 암 및 바이러스 감염질환은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조와 병리적 상관관계를 가지는 것을 특징으로 한다.

[67] 본 발명에서 사용되는 용어, “예방”이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 퇴행성 신경질환, 암, 또는 바이러스 감염질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[68] 본 발명에서 사용되는 용어, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[69] 본 발명에 있어서 상기 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 암호화하는 유전자는 상기 단백질을 코딩하는 게놈 DNA와 cDNA를 모두 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 유전자는 서열번호 3으로 표시되는 염기서열로 이루어진 JUL1 유전자 또는 서열번호 4로 표시되는 염기서열로 이루어진 JUL2 유전자일 수 있다. 서열번호 3의 염기서열은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 단백질을 암호화하는 서열이며, 서열번호 4의 염기서열은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 단백질을 암호화하는 서열이다. 또한, 상기 염기 서열의 변이체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 3 또는 서열번호 4의 염기 서열과 각각 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 염기 서열을 포함할 수 있다.

[70] 폴리뉴클레오티드에 대한 “서열 상동성의 %”는 두 개의 최적으로 배열된 서열과 비교 영역을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열(추가 또는 삭제를 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제(즉, 갭)를 포함할 수 있다.

[71]

[72] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[73]

[74] [실시예]

[75] 실시예 1. JULGI 단백질과 G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조와의 결합 확인

[76] **1-1. JULGI의 결합 표적으로 G-quadruplex 모티프 확인**

[77] 도 1a에 도시된 바와 같이 JULGI 단백질은 3개의 RanBP2-type ZnF 도메인을 가지고 있으며, 상기 도메인 각각은 RNA 결합에 필요한 보존된 아르기닌 잔기(ZnF1, ZnF2 및 ZnF3에 각각 R20, R80 및 R146 존재)를 가지고 있다. 따라서 본 발명자들은 상기와 같은 구조를 갖는 JULGI 단백질이 G-rich 염기서열 및 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조에 특이적으로 결합하는지 여부를 알아보기 위해, SELEX 분석을 실시하였다. JULGI 단백질에 결합된 RNA 프로브를 선택적으로 농축하고 염기서열을 확인한 결과, 도 1b에 나타난 바와 같이 JULGI에 결합된 RNA는 G(구아닌)이 풍부한 서열을 포함하고 있었으며, 대부분이 G-quadruplex를 형성하였고(61개 RNA 중에서 57개에서 G-score가 높음(G-score > 20)), 2차 구조는 Hoogsteen-bonded G-quartet stacks을 형성하는 것을 확인하였다.

[78]

[79] **1-2. JULGI 단백질과 RNA G-quadruplex 모티프 간의 직접적 결합을 통한 G-quadruplex 형성 확인**

[80] 상기 결과를 바탕으로, 식물 유래의 G-quadruplex 형성이 가능한 G-rich 염기서열을 갖는 SMXL5를 이용하여 JULGI 단백질이 상기 SMXL5의 단일가닥 mRNA 또는 RNA G-quadruplex에 직접적으로 결합하는지 여부를 알아보기 위해, G-quadruplex 형성에 필요한 칼륨이 존재하거나 또는 존재하지 않는 조건에서 GST-JUL1 및 GST-JUL2 단백질을 이용하여 EMSA를 수행하였다. 그 결과, 도 2a에 나타난 바와 같이 JUL1이 양성 대조군으로 사용된 G-quadruplex 형성 모티프를 갖는 SMXL5 5'UTR 프로브와 결합함으로써 G-quadruplex 형성 모티프의 이동이 지연된 것을 관찰하였다. 그러나 G-quadruplex 형성 모티프가 없는 mSMXL5 5'UTR (1), mSMXL5 5'UTR (3)의 경우에는 상기와 같은 결과가 나타나지 않았다. 이에 반해, G-quartet의 두 개 층을 생성하는 변이체인 mSMXL5 5'UTR (2)의 경우에는 SMXL5 5'UTR 보다는 덜 효율적이지만 JUL1 단백질과 결합하는 것을 확인하였다. 또한, 상기 JUL1과 SMXL5 5'UTR 결합의 해리 상수(Kd)를 측정한 결과, 도 2b에서 볼 수 있는 바와 같이 칼륨의 존재하지 않을 때에는 130 nM, 칼륨의 존재 시에는 230 nM로 추정되었으며, 이는 JUL1이 우선적으로 1차 SMXL5 5'UTR 서열에 결합한다는 것을 의미하는 것이다.

[81] 다음으로, SMXL5 5'UTR G-quadruplex와 JUL1 단백질 사이의 상호 작용을 시각화하기 위해 단백질이 코팅된 비드 표면의 액체-고체 계면에서 RNA 프로브에 대해 G-quadruplex를 강하게 안정화시키는 칼륨, 약하게 안정화시키는 나트륨, 또는 G-quadruplex를 안정화시키지 않는 리튬과 응축시킨 표면 결합 시스템을 이용하여 실험하였다. 이를 위해, 구체적으로 도 2c에 도시된 바와 같이 Cy5로 표지된 RNA 프로브인 SMXL5 5'UTR을 GST-JUL1으로 코팅된 글루타티온-세파로오스(glutathione-sepharose) 비드에 처리하고, 결과적으로 비드 표면에 형성된 G-quadruplex를 Cy5 및 G-quadruplex 센서인 Thioflavin

T(ThT)를 사용하여 동시에 시각화하였다. 그 결과, 도 2c에 나타낸 바와 같이 ThT에 의해 방출된 형광 신호는 칼륨 존재(+KCl) 하에 JUL1이 코팅된 비드 표면과 완전히 중첩되어 나타났으나, 나트륨(+NaCl) 또는 리튬(+LiCl)의 존재 시에는 형광 신호가 감소하였고, 반면에 비드 표면과 중첩되는 Cy5 형광은 나트륨 또는 리튬 존재 시 증가하였다. 이러한 결과는 SMXL5 5'UTR의 G-quadruplex에서 JUL1의 RanBP2-type ZnF와 직접적인 결합이 일어난다는 것을 의미한다.

[82]

[83] **실시예 2. JULGI 단백질의 퇴행성 신경질환 및 암 등의 발병 유전자 내 G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조와의 결합 확인**

[84] 상기 실시예 1의 결과를 바탕으로, 본 발명자들은 JULGI 단백질이 퇴행성 신경질환 또는 암과 같은 질환의 발병과 관련된 유전자 내 RNA G-rich 염기서열 및 G-quadruplex 구조와 결합하는지 여부를 알아보려고 하였다. 이를 위해, 퇴행성 신경 질환과 병리적 상관관계를 가지는 C9orf72 유전자 및 선별된 4개의 원발암유전자(proto-oncogene)(THRA, NRAS, FLI1 및 BCL2)의 5'UTR에 존재하는 RNA G-rich 염기서열과 JULGI 단백질의 결합여부를 비드 표면 상호작용 분석을 통해 검증하였다.

[85] 도 3a에서 볼 수 있는 바와 같이 상기 5종의 유전자 각각이 G-quadruplex-형성 서열(G-quadruplex-forming sequence)을 가짐을 알 수 있고, 실험 결과 도 3b에 나타낸 바와 같이 GST가 융합된 JUL1 단백질(GST-JUL1)이 상기 각 유전자들과 결합한 것을 형광현미경 관찰을 통해 확인하였다. 상기 결과는 JULGI 단백질을 이용하여 퇴행성 신경질환 또는 암 등의 발병에 의해 증가된 G-quadruplex 구조를 특이적으로 검출하고, 이와 관련된 다양한 질환의 진단에 이용할 수 있음을 보여주는 것이다.

[86]

[87] **실시예 3. JULGI 단백질이 근위축성 측색경화증의 병증 유발에 미치는 영향 확인**

[88] 상기 실시예 2의 결과에 더하여, 본 발명자들은 JULGI 단백질이 신경 퇴행성 질환의 하나인 근위축성 측색경화증(amyotrophic lateral sclerosis; ALS)의 병증 유발에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 이를 위해, JUL1 단백질 및 상기 단백질의 Ranbp2 type zinc finger 도메인에 존재하는 아르기닌 잔기를 알라닌 잔기로 치환하여 RNA 결합 활성을 없앤 JUL1(RA)를 근위축성 측색경화증 초파리 모델에서 발현시켰다.

[89] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이 야생형 JUL1 단백질을 발현시킨 경우 근위축성 측색경화증 병증이 유의하게 증가한 반면, JUL1^{R20/80/145A}을 발현시킨 경우에는 근위축성 측색경화증의 병증이 대조군(G4C2)₃₀과 비교하여 유의하게 감소한 것을 확인하였다. 상기 결과는 G-quadruplex 결합 단백질이자 G-quadruplex folder인 JULGI를 이용하여 병증을 조절할 수 있으며 JULGI(RA)를

이용해 근위축성 측색경화증을 포함하는 G-quadruplex와 병리적 상관관계를 가지는 다양한 질환을 치료할 수 있음을 보여주는 것이다.

[90]

[91] 상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

[92]

산업상 이용가능성

[93] 종래 G-quadruplex 구조의 비정상적인 형성 및 해리와 병리학적인 상관관계를 가지는 다양한 질환 예컨대, 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환에 대하여, JULGI 단백질 또는 이와 상동성을 갖는 단백질을 진단 마커로 및 치료 물질로 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

청구범위

- [청구항 1] JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질을 포함하는, 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 검출용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 JULGI 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는, 검출용 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
JULGI 단백질은 구아닌-rich 서열 또는 RNA 구아닌-사중합체에 결합하는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 4] 제1항의 조성물을 포함하는, 진단용 조성물로서,
JULGI 단백질의 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 결합 활성에 기인하여 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환을 진단하는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 5] 제4항의 조성물을 포함하는, 진단용 키트.
- [청구항 6] 피검체 유래의 생물학적 시료에서 JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질의 활성을 측정하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환, 암 또는 바이러스 감염질환의 진단을 위한 정보제공방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
상기 JULGI 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 8] 제6항에 있어서,
상기 활성 측정은 JULGI 단백질과 구아닌-사중합체의 결합 여부를 측정하는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 9] JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 JULGI 돌연변이 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내 20번, 80번, 또는 146번째 아르기닌(Arginine) 잔기가 알라닌(Alanine) 잔기로 치환되어 RNA 결합 활성이 결실된 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 JULGI 돌연변이 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 JULGI 단백질의 RanBP2-type ZnF(Zinc finger) 도메인 내

20번, 79번, 또는 152번째 아르기닌(Arginine) 잔기가 알라닌(Alanine) 잔기로 치환되어 RNA 결합 활성이 결실된 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 12]

제9항에 있어서,
상기 퇴행성 신경질환은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조에 기인하여 발생하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 13]

제9항에 있어서,
상기 퇴행성 신경질환은 근위축성 측색경화증(Amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 전측두엽 치매(Frontotemporal dementia; FTD), 제1형 진행성 근간대성 간질(Progressive myoclonus epilepsy type 1; EPM1), 취약 X 증후군(Fragile X syndrome), 척수소뇌성 운동실조증(Spinocerebellar ataxia; SCA36) 및 가족성 크로이츠펔트 야콥병(Familial Creutzfeldt-Jakob disease; CJD)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 14]

JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[청구항 15]

제14항에 있어서,
상기 JULGI 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 16]

제14항에 있어서,
상기 암 또는 바이러스 감염질환은 구아닌-사중합체(G-quadruplex) 구조에 기인하여 발생하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 17]

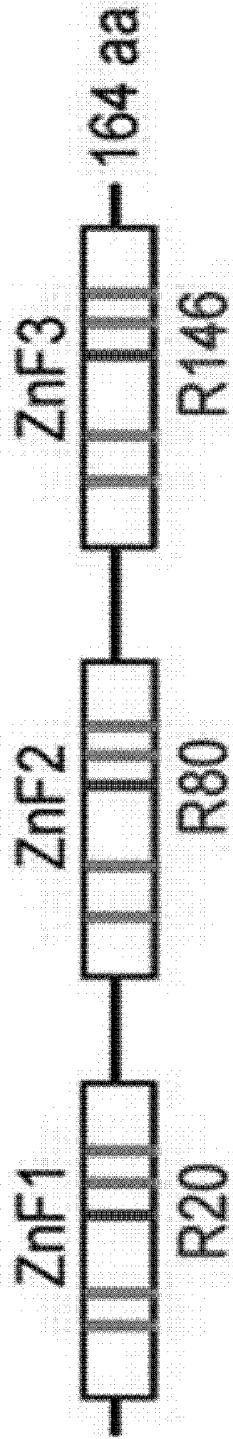
제14항에 있어서,
상기 암은 췌장암, 위암, 간암, 대장암, 결장암, 직장암, 뇌암, 유방암, 신장암, 갑상선암, 방광암, 식도암, 인두암, 구강암, 설암, 자궁암, 난소암, 백혈병, 전립선암, 고환암, 담도암, 담낭암, 육종, 피부암 및 폐암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

[청구항 18]

제14항에 있어서,
상기 바이러스 감염질환은 인간 면역결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus)로 인한 후천성 면역결핍 증후군(Acquired immunodeficiency syndrome), 인유두종 바이러스(Human papilloma virus)로 인한 자궁경부암(cervical cancer), 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus)로 인한 호지킨 림프종(Hodgkin's

- lymphoma), 버킷림프종(Burkitt's lymphoma) 및 비인두암(nasopharyngeal carcinoma)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.
- [청구항 19] JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료방법.
- [청구항 20] JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료방법.
- [청구항 21] JULGI 돌연변이 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물의, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용도.
- [청구항 22] JULGI 단백질 또는 상기 단백질과 80% 이상의 상동성을 갖는 단백질; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물의, 암 또는 바이러스 감염질환의 예방 또는 치료용도.

[Fig. 1a]

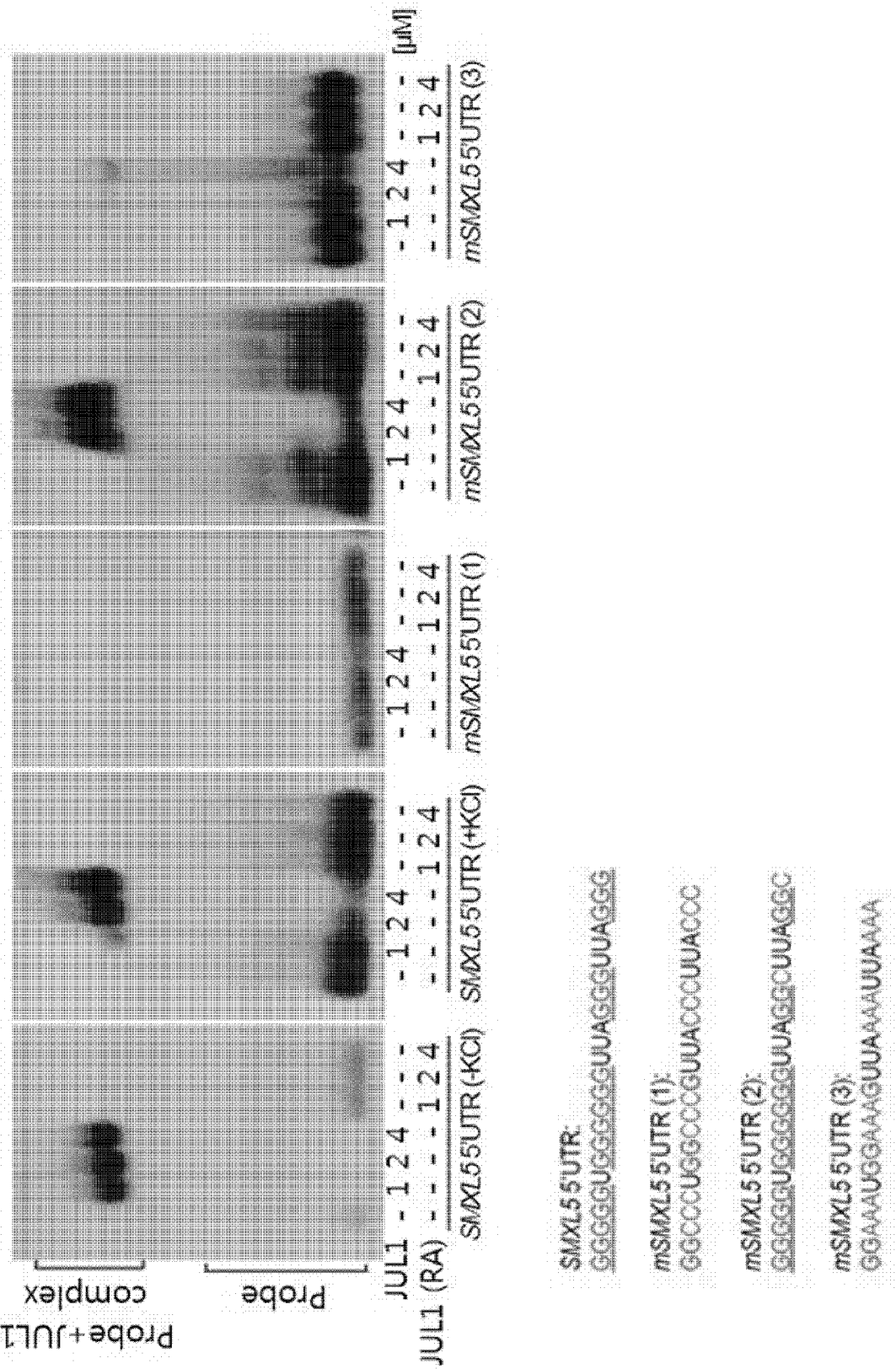


[Fig. 1b]

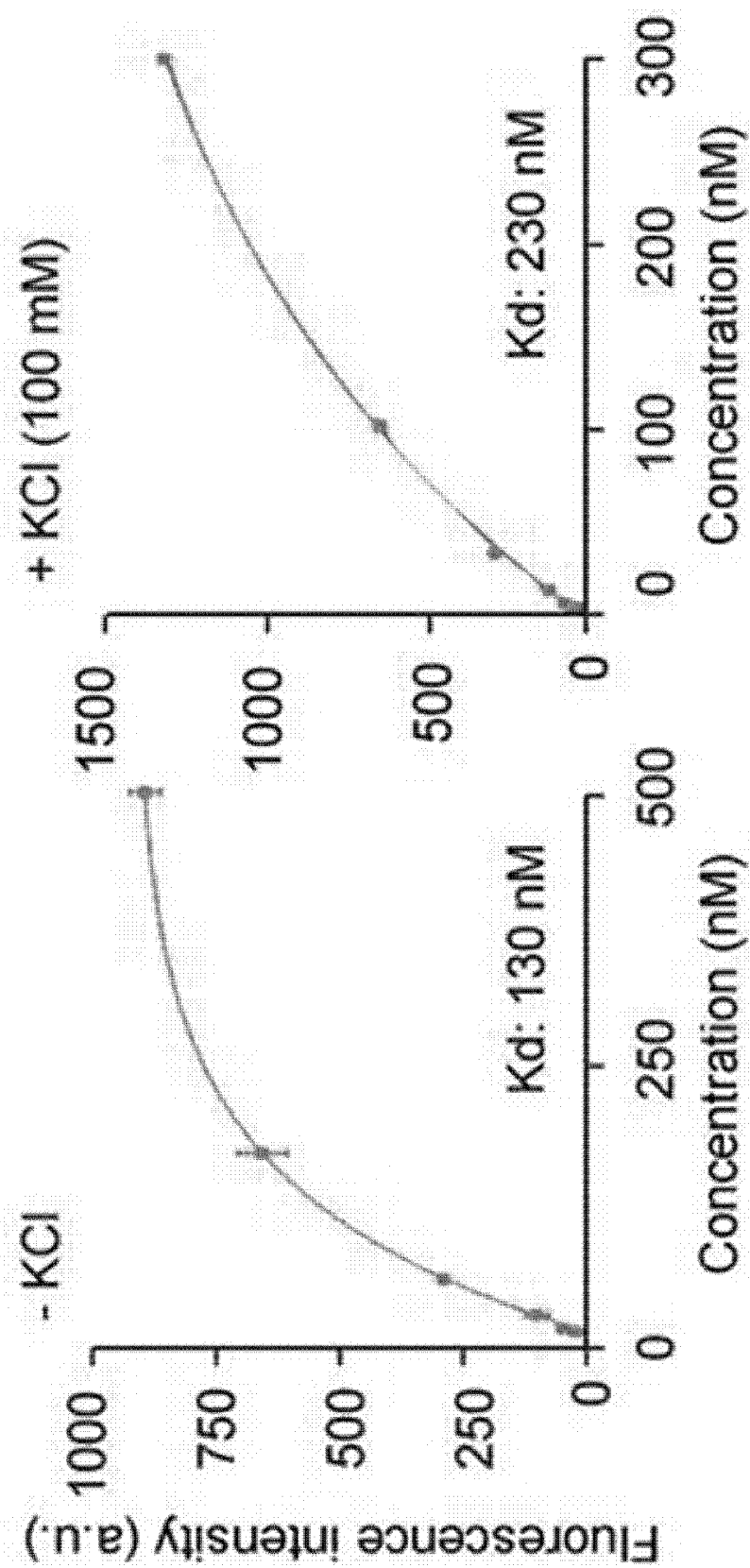
GGG	TT	GGG	G	GGG	G	GGG
GGG	ATG	GGG	GAA	GGG	G	GGG
GGG	GG	GGG	TA	GGG		GGG
GGG	TGTAT	GGG	GTTT	GGG	GGG	GGG
GGG	G	GGG	TAGT	GGG	TA	GGG
GGG	A	GGG		GGG	TAT	GGG
GGG	CAAC	GGG	CTTCATT	GGG	GGG	GGG
GGG	GCTAAAT	GGG	TTA	GGG	TACTAGT	GGG
GGG	GG	GGG	TATATT	GGG	TA	GGG
GGG	GGTG	GGG	TATGG	GGG	ATTGCATT	GGG
GGG	TTTATTC	GGG	GGG	GGG	CTGTTTCC	GGG
GGG	GAG	GGG	ATATTTT	GGG	TATTCATA	GGG
GGG	TATGGT	GGG		GGG	AG	GGG
GGG	GG	GGG	TAAGG	GGG	ATTGCCTT	GGG
GGG	AGG	GGG	TAGATAGTT	GGG	GTAAG	GGG
GGG	TATGGT	GGG		GGG	AG	GGG
GGG	GG	GGG	TAAGG	GGG	ATTGCCTT	GGG
GGG	AGG	GGG	TAGATAGTT	GGG	GTAAG	GGG
GGG	AATATGGAT	GGG	AATAGTAC	GGG	G	GGG
GGG	TGGTA	GGG		GGG	ATTGCCTT	GGG
GGG	T	GGG	TATATATATT	GGG	TTG	GGG
GGG	AT	GGG	GG	GGG	AGCTGATTCCAC	GGG
GGG	TACTGTTTGT	GGG		GGG	G	GGG
GGG	ATTTCGTATAC	GGG		GGG	G	GGG
GGG	TCT	GGG	ACAGTTTATTATT	GGG	GT	GGG
GGG	G	GGG	G	GGG	AATCCTTACTATTT	GGG
GGG	TCTGTGGTACGATTCAT	GGG	G	GGG		GGG
GG	G	GG	T	GG	G	GG
GG	G	GG	G	GG	G	GG
GG	GA	GG	AT	GG	GG	GG
GG	ACGT	GG	TAGG	GG	GGTG	GG
GG	ATAT	GG	GTTG	GG	AATT	GG
GG	T	GG	G	GG	G	GG

57 clones in total 61 clones
have G-quadruplex motif (G-score > 20)

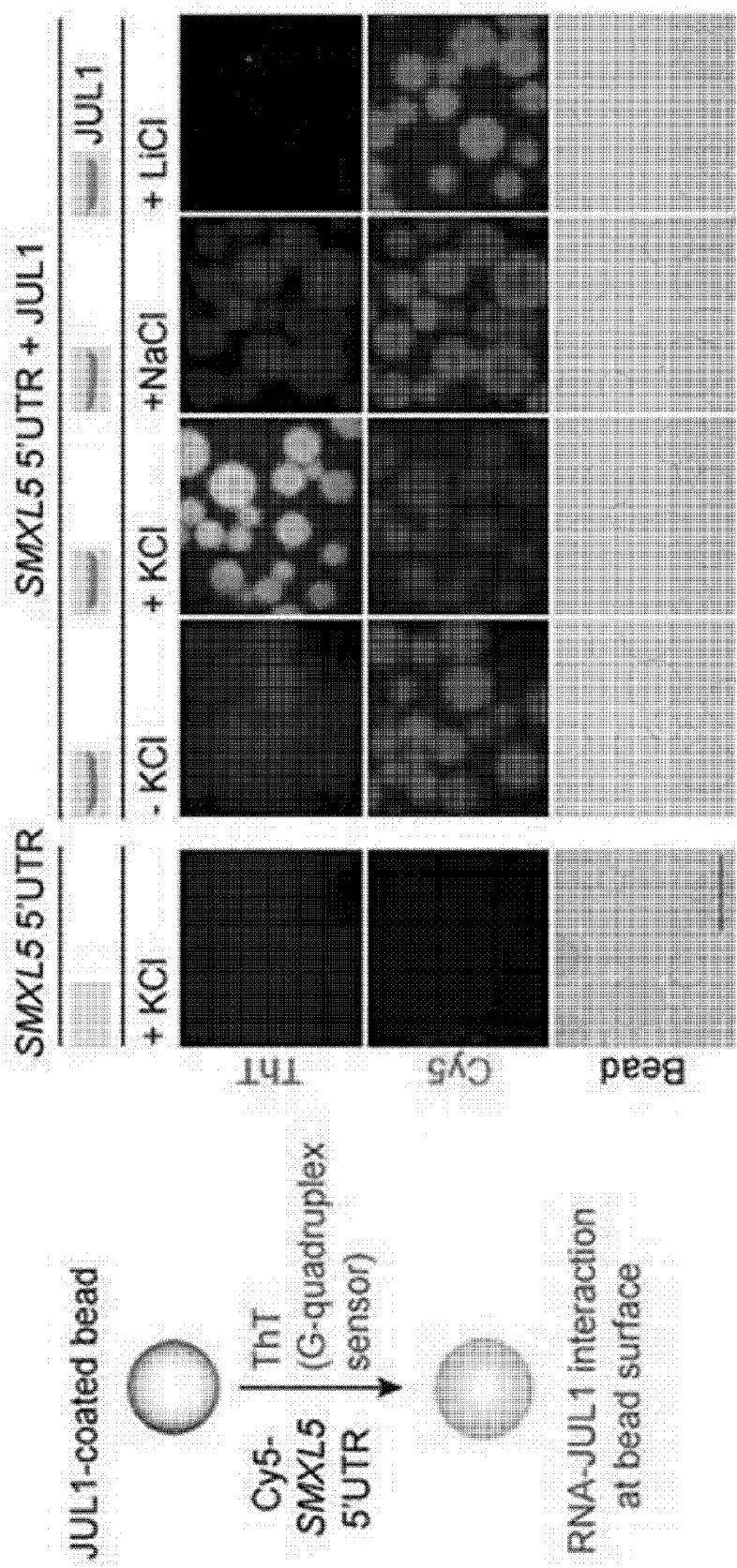
[Fig. 2a]



[Fig. 2b]



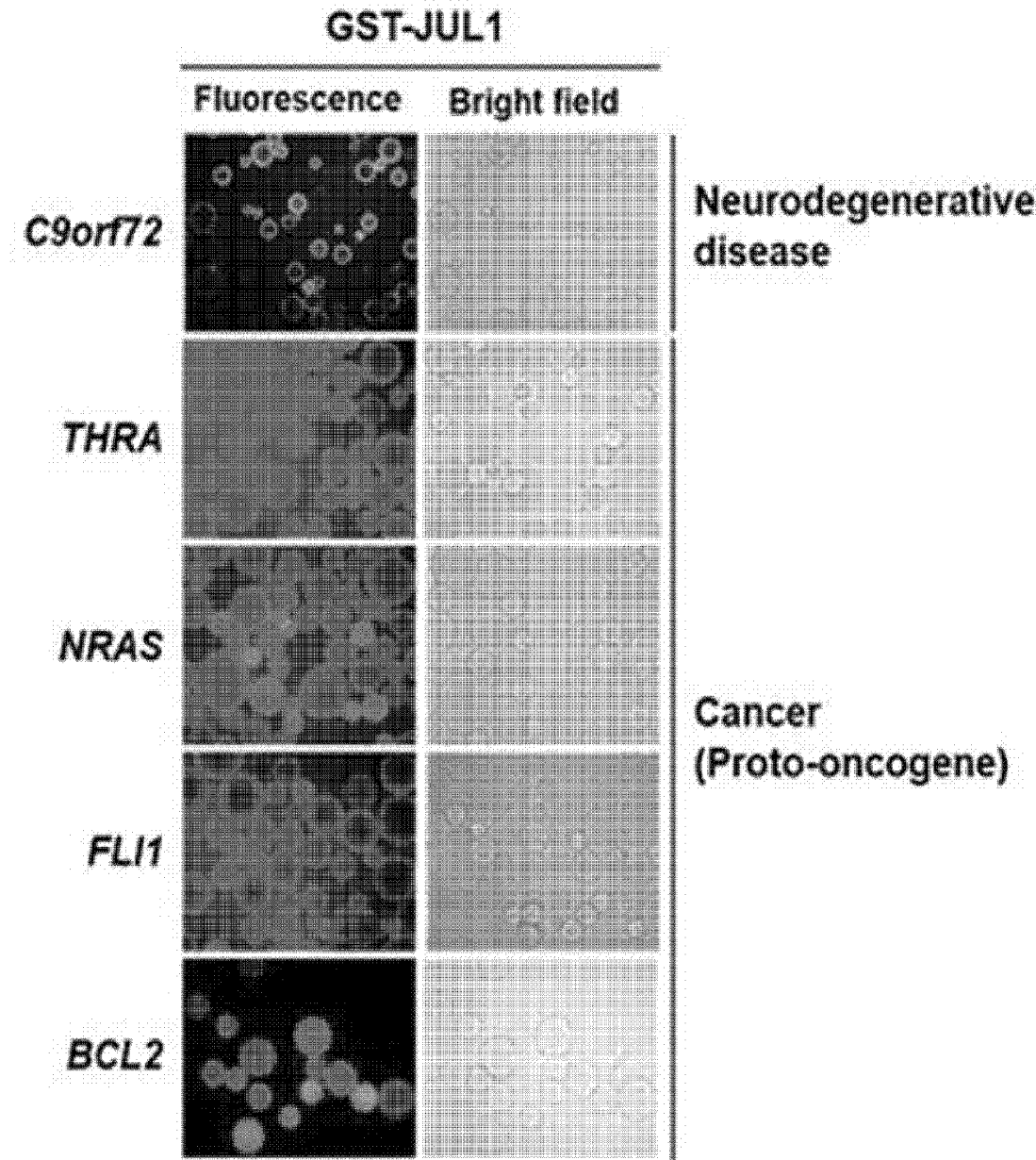
[Fig. 2c]



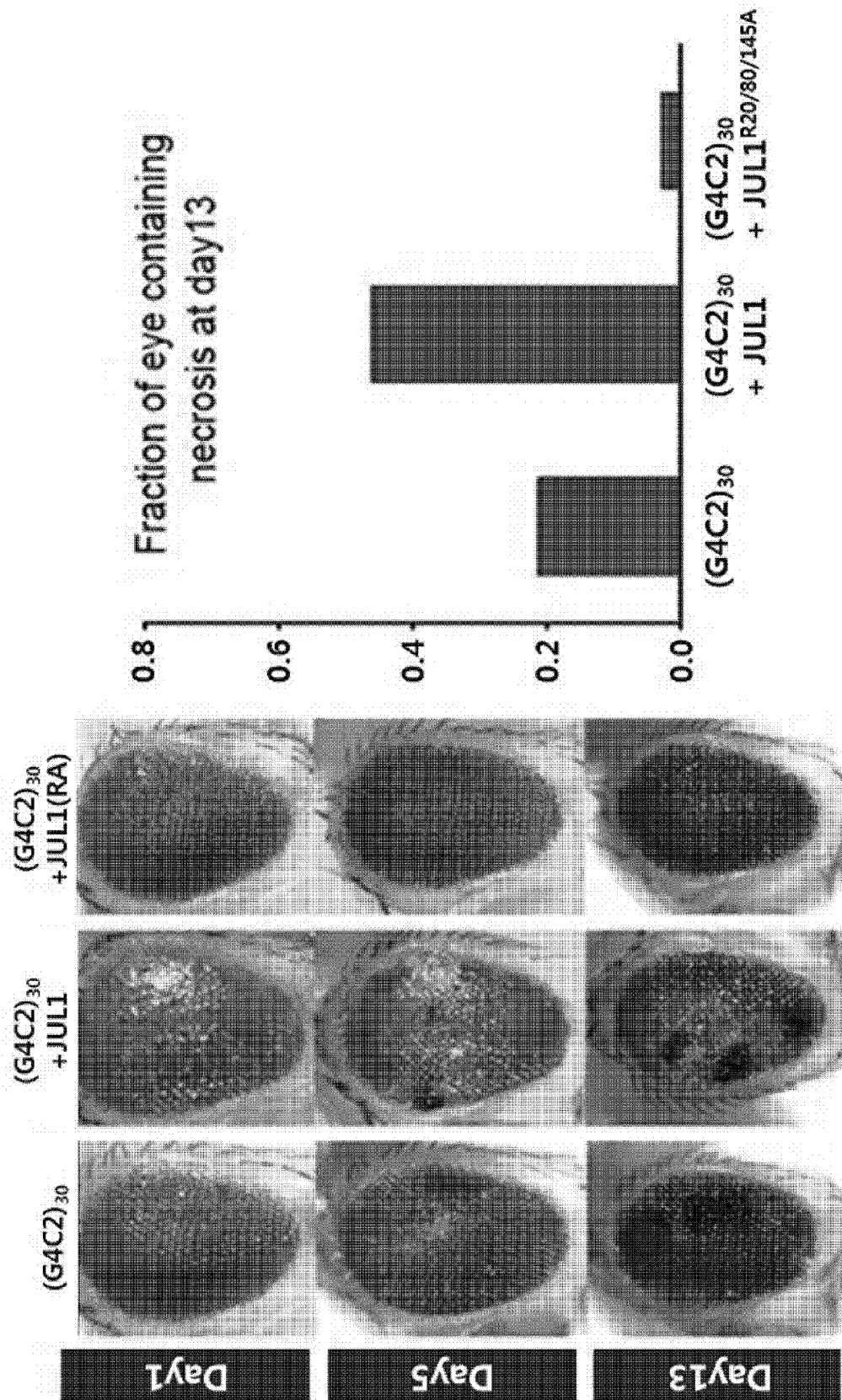
[Fig. 3a]

Gene	G-quadruplex-forming sequence
C9orf72	GGGGCCGGGGCCGGGGCCGGGG
THRA	GGGCCUGGGUGGCAGGGGGUGGG
NRAS	GGGAGGGGCGGGUCUGGG
FLI1	GGGAGGGCCAGGGCGCCAGGG
BCL2	GGGGCCGUGGGGUGGGAGCUGGGG

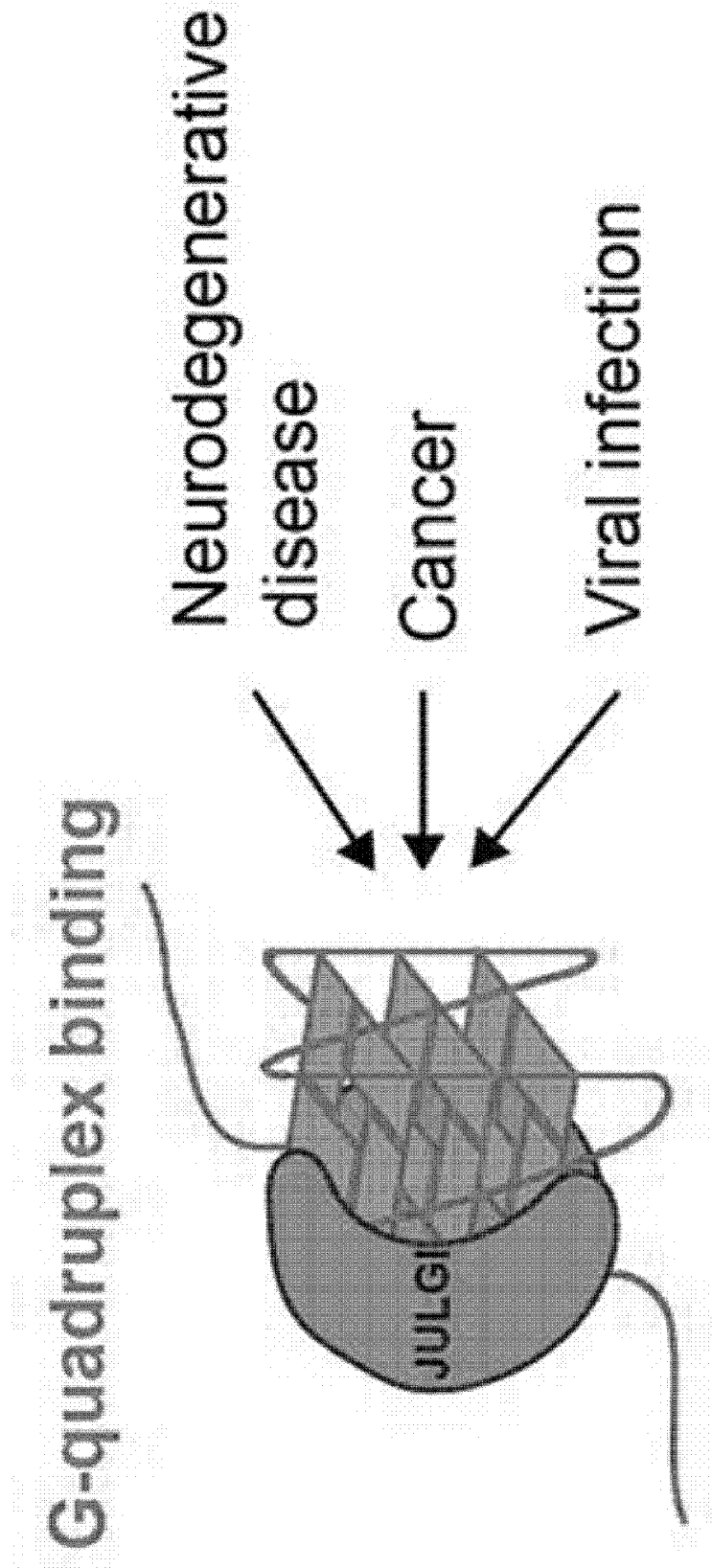
[Fig. 3b]



[Fig. 4]



[Fig. 5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/016419

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/68(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i, A61P 25/28(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61P 31/12(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 33/68; C07D 265/38; C07D 403/12; G01N 21/64; A61K 38/17; A61K 48/00; A61P 25/28; A61P 35/00; A61P 31/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: JULGI, JUL, protein, mutation, G-quadruplex, neurodegenerative disease, cancer, virus, detection, diagnosis, therapy

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHO, H. Translational control of phloem development by rna g-quadruplex-julgi determines plant sink strength. Nature Plants. (Electronic publication) 28 May 2018, vol. 4, pages 376-390 See abstract; pages 380, 386-388; figures 6, 8(f); supplementary figure 6.	1,3
Y		2,4-18,21-22
Y	NCBI. Genbank accession no. AEE75713.1 (20 July 2017) See all sequences.	2,7,10,15
Y	WU, Y. G-quadruplex nucleic acids and human disease. FEBS J. 2010, vol. 277, pages 3470-3488 See abstract; pages 3471, 3473, 3481.	4-18,21-22
A	KR 10-2013-0131828 A (RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY) 04 December 2013 See the entire document.	1-18,21-22
A	US 2013-0288380 A1 (PANASONIC CORPORATION) 31 October 2013 See the entire document.	1-18,21-22



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 APRIL 2020 (06.04.2020)

Date of mailing of the international search report

06 APRIL 2020 (06.04.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/016419

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **19-20**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 19-20 pertain to a method for treatment of the human body by therapy (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1 (iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/016419

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0131828 A	04/12/2013	KR 10-1455452 B1	31/10/2014
US 2013-0288380 A1	31/10/2013	CN 103403158 A	20/11/2013
		CN 103403158 B	28/01/2015
		JP 5216943 B1	08/03/2013
		US 8691589 B2	08/04/2014
		WO 2013-021536 A1	14/02/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/68(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i, A61P 25/28(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61P 31/12(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/68; C07D 265/38; C07D 403/12; G01N 21/64; A61K 38/17; A61K 48/00; A61P 25/28; A61P 35/00; A61P 31/12

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: JULGI, JUL, 단백질(protein), 돌연변이(mutation), 구아닌-사중합체(G-quadruplex), 퇴행성 신경질환(neurodegenerative disease), 암(cancer), 바이러스(virus), 검출(detection), 진단(diagnosis), 치료(therapy)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	CHO, H. "Translational control of phloem development by rna g-quadruplex-julgi determines plant sink strength", Nature Plants, (전자공개): 2018.05.28, 제4권, 페이지 376-390 초록; 페이지 380, 386-388; 도면 6, 8(f); 추가 도면 6	1,3
Y		2,4-18,21-22
Y	NCBI, Genbank accession no. AEE75713.1 (2017.07.20) 전체 서열	2,7,10,15
Y	WU, Y. "G-quadruplex nucleic acids and human disease", FEBS J., 2010, 제277권, 페이지 3470-3488 초록; 페이지 3471, 3473, 3481	4-18,21-22
A	KR 10-2013-0131828 A (성균관대학교산학협력단) 2013.12.04 전체 문헌	1-18,21-22
A	US 2013-0288380 A1 (PANASONIC CORPORATION) 2013.10.31 전체 문헌	1-18,21-22

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 "X"에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 04월 06일 (06.04.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 04월 06일 (06.04.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



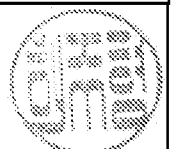
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 19-20
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 19-20은 치료에 의한 사람의 처치방법에 관한 것입니다(PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv))
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0131828 A	2013/12/04	KR 10-1455452 B1	2014/10/31
US 2013-0288380 A1	2013/10/31	CN 103403158 A	2013/11/20
		CN 103403158 B	2015/01/28
		JP 5216943 B1	2013/03/08
		US 8691589 B2	2014/04/08
		WO 2013-021536 A1	2013/02/14