



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년10월15일
 (11) 등록번호 10-1317100
 (24) 등록일자 2013년10월02일

(51) 국제특허분류(Int. C1.)
C07K 14/47 (2006.01) *C07K 14/79* (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)

(73) 특허권자
에보니크 웜 게엠베하
 독일 데-64293 다틈슈타트 키르شن알레

(21) 출원번호 10-2008-7015786

(72) 발명자

(22) 출원일자(국제) 2006년10월25일

브룩, 룰란드

심사청구일자 2011년10월25일

독일 72074 튀빙엔 다임러스트라쎄 4

(85) 번역문제출일자 2008년06월27일

피셔, 라이너

(65) 공개번호 10-2008-0091120

독일 80796 뮌헨 호엔촐레른스트라쎄 105

(43) 공개일자 2008년10월09일

(뒷면에 계속)

(86) 국제출원번호 PCT/EP2006/010271

(74) 대리인

(87) 국제공개번호 WO 2007/076904

김영, 양영준

국제공개일자 2007년07월12일

(30) 우선권주장

05028755.6 2005년12월30일

심사관 : 안규정

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

WO2000004132 A1

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 세포-침투성 웹티드로서 유용한 웹티드

(57) 요 약

본 발명은 인간 락토페린 단백질 또는 소 락토페린 단백질의 8개 이상의 연속적인 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 갖는, 세포-침투성 웹티드로서 작용하기에 적절한 웹티드에 관한 것이다.

(72) 발명자

포틴-플렉체, 마리올라

독일 71065 진델핀겐 캠니처 베크 10

후프나겔, 한스외르크

독일 82319 쇠킹 안 데르 블레 3베

빈드하브, 노르베르트

독일 65719 호프하임 우비에르스트라쎄 20

특허청구의 범위

청구항 1

펩티드 및 카르고 분자를 포함하며, 상기 펩티드는 락토페린으로부터 유도되고, 세포-침투성 펩티드 (CPP)로서 작용하기에 적절하고, 서열 3, 서열 4, 서열 7, 서열 8, 서열 9, 서열 10, 서열 28, 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14 또는 서열 15에 따른 아미노산 서열을 갖는 것이고, 상기 카르고 분자는 펩티드에 공유결합 또는 비-공유결합적으로 결합되는 것인 복합체.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 카르고 분자가 핵산, 아미노산, 펩티드, 단백질, 탄수화물, 지질 및 소분자, 및 이를 중 임의의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 카르고 분자가 나노입자, 마이크로입자, 리포좀 및 미셀을 포함하는 군으로부터 선택된 구조로서 또는 상기 구조의 부분으로 존재하는 것인 복합체.

청구항 5

제3항에 있어서, 핵산이 DNA 분자, RNA 분자, PNA 분자, siRNA 분자, 안티센스 분자, 리보자임, 아프타머 (aptamer), 스피겔머(spiegelmer) 및 데코이(decoy) 분자를 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 복합체.

청구항 6

제3항에 있어서, 카르고 분자가 백신접종(vaccination)용 펩티드를 포함하는 군으로부터 선택되는 펩티드인 복합체.

청구항 7

제3항에 있어서, 핵산이 핵산-기재 백신인 복합체.

청구항 8

제4항에 있어서, 나노입자 및/또는 마이크로 입자가 제약상 활성 화합물로 이루어지거나 이를 포함하는 것인 복합체.

청구항 9

제1항에 따른 복합체에 포함되는 펩티드를 코딩하는 핵산, 및 카르고 분자를 포함하는 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 카르고 분자가 백신접종에 적절한 RNA인 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 카르고 분자가 펩티드를 코딩하는 핵산인 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 제1항에 따른 복합체에 포함되는 펩티드를 코딩하는 핵산이, 펩티드를 코딩하는 핵산인 카르고 분자에 작동가능하게 연결되는 것인 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 제1항에 따른 복합체에 포함되는 펩티드를 코딩하는 핵산과, 펩티드를 코딩하는 핵산인 카르

고 문자가 인-프레임(in-frame)으로 연결되는 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 펩티드가 제약 활성제인 조성물.

청구항 15

제9항에 있어서, 핵산이 서열 26에 따른 핵산 서열을 갖는 것인 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 펩티드가 세포-침투성 펩티드 (CPP)로서 유용한 것인 복합체.

청구항 17

제16항에 있어서, 세포-침투성 펩티드 (CPP)가 포유류 세포의 원형질막을 침투하기에 적절한 것인 복합체.

청구항 18

제1항에 있어서, 펩티드가 형질감염체로서 유용한 것인 복합체.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

제9항 내지 제11항, 제14항 및 제15항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 진단제.

청구항 22

제21항에 있어서, 카르고 문자가 진단 표지자인 진단제.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

명세서

기술분야

- [0001] 본 발명은 세포-침투성 펩티드로서 사용하기에 적절한 펩티드, 이를 포함하는 복합체 및 이들의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 세포-침투성 펩티드 (CPP), 예컨대 안테나페디아(antennapedia)-유래 페네트라틴(penetratin) [참조: Derossi et al., J. Biol. Chem., 269, 10444-10450, 1994] 및 Tat 펩티드 [참조: Vives et al., J. Biol. Chem., 272, 16010-16017, 1997]는 카르고(cargo) 분자, 예컨대 펩티드, 단백질 및 올리고뉴클레오티드 [참조: Fischer et al., Bioconjug. Chem., 12, 825-841, 2001]를 세포내로 전달하는데 널리 사용되는 도구이다. 적용 범위는 순수 세포 생물학에서부터 생물의학적 연구에 이른다[참조: Dietz and Bahr, Mol. Cell., Neurosci., 27, 85-131, 2004]. 처음에, 세포내 유입(uptake)은 원형질막의 직접 투과에 의해 일어나는 것으로 여겨졌다 [참조: Prochiantz, Curr. Opin. Cell Biol., 12, 400-406, 2000]. 지난 몇년간, 여러 CPP에 있어서 세포내이입(endocytosis)이 여러 CPP에 대한 세포내 유입에 적어도 상당히 기여한다는 증거가 축적되어 왔다[검토를 위한 참조: Fotin-Mleczek et al., Curr. Pharm. Design, 11, 3613-3628, 2005]. 이러한 최근 결과를 고려할 때, 카르고와 공유결합 또는 비공유결합적으로 접합하여 카르고 분자의 세포내 유입을 향상시키는 경우, CPP와 같은 펩티드에 관한 상세한 설명은 특정한 세포 내수송(import) 메커니즘을 의미하는 것이 아니라 오히려 펩티드로서 기능을 지칭한다.

발명의 상세한 설명

- [0003] 이들 CPP가 펩티드, 단백질 및 올리고뉴클레오티드의 세포내로의 전달에 대체로 적절한 것으로 증명되었다고 할지라도, 카르고 분자와 같은 이러한 분자의 전달을 가능하게 하는 추가의 CPP를 제공하는 것에 대한 필요성이 여전히 존재한다. 특히, (i) 엔도리소솜성(endolysosomal) 경로로부터 카르고 분자의 급속 방출을 가능하게 하고, (ii) 인간에 적용할 때 면역반응을 일으키지 않는 CPP에 대한 필요성이 존재한다.
- [0004] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 인간 락토페린 단백질 또는 소 락토페린 단백질의 8개 이상의 연속적인 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 갖는, 세포-침투성 펩티드로서 작용하기에 적절한 펩티드에 의한 첫번째 측면으로 해결된다.
- [0005] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 4개 이상의 양이온성 아미노산을 포함한다.
- [0006] 첫번째의 실시태양에서, 인간 락토페린 단백질은 서열 1에 따른 아미노산 서열을 갖고, 소 락토페린 단백질은 서열 2에 따른 아미노산 서열을 갖는다.
- [0007] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 2개 이상의 시스테인 잔기 또는 그의 유사체를 포함한다.
- [0008] 첫번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 펩티드는 2개의 시스테인 잔기에 의해 형성된 디술피드 결합 또는 시스테인 유사체에 의해 형성된 유사한 결합을 포함한다.
- [0009] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 길이가 약 12 내지 20개의 아미노산인 알파-나선 입체형태를 갖는 부분(moiety) 및 길이가 약 8 내지 12개의 아미노산인 베타-시트 입체형태를 갖는 부분을 포함한다.
- [0010] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 약 8 내지 약 60개의 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0011] 첫번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 펩티드는 약 20 내지 약 45개의 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0012] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 서열 1에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 64에 상응하는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0013] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 펩티드의 N-말단이 서열 1 또는 서열 2에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 64에 상응하는 아미노산인, 아미노산 서열을 갖는다.
- [0014] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는
- [0015] 아미노산 서열 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR (서열 3)을 갖는 펩티드,
- [0016] 아미노산 서열 CFQWQRNMRKVRGPPVSC (서열 4)을 갖는 펩티드,
- [0017] 아미노산 서열 FQWQRNMRKVRGPPVS (서열 5)을 갖는 펩티드,
- [0018] 아미노산 서열 FQWQRNMRKVR (서열 6)을 갖는 펩티드,

- [0019] 아미노산 서열 KCRRWQWRMKKLGAPSITCVRR (서열 29)을 갖는 펩티드, 및
- [0020] 아미노산 서열 CRRWQWRMKKLGAPSITC (서열 30)을 갖는 펩티드, 및 이들의 유도체를 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0021] 본 발명의 바람직한 실시태양에서, 세포 침투성 펩티드는 서열 3, 서열 4, 서열 29 또는 서열 30에 따른 아미노산 서열, 또는 상기 서열과 40% 이상, 바람직하게는 50% 이상, 특히 바람직하게는 75% 이상 또는 90% 이상의 동일성이 있는 서열을 포함한다.
- [0022] 40% 이상의 동일성이 있는 서열 3, 서열 4, 서열 29 또는 서열 30을 포함하는 펩티드는 바람직하게는 각각 서열 3 또는 서열 29의 1 내지 13개의 아미노산, 서열 4 또는 서열 30의 1 내지 10개의 아미노산의 치환 또는 결손을 특징으로 한다. 여기서, 1개 이상의 아미노산이 동족 아미노산으로 치환된 서열이 증가된 관심의 대상이다.
- [0023] 서열 3, 서열 4, 서열 29 또는 서열 30에 따른 아미노산 서열 또는 이들과 40% 이상의 동일성이 있는 서열을 포함하는 펩티드는 각각 8개 이상의 아미노산 (서열 4 또는 서열 30으로부터 유도된 펩티드), 9개 이상의 아미노산 (서열 3 또는 서열 29로부터 유도된 펩티드)을 포함한다. 상기 펩티드들은 바람직하게는 10 내지 45개의 아미노산, 바람직하게는 14 내지 25개의 아미노산을 갖는다.
- [0024] 서열 3, 서열 4, 서열 29 또는 서열 30에 따른 아미노산 서열을 포함하는 바람직한 펩티드는 양이온성 전하, 특히, 서열 3, 서열 4, 서열 29 또는 서열 30에 위치한 4개 이상의 양이온성 아미노산의 양이온성 전하를 갖는다. 상기 펩티드의 추가의 바람직한 특징은 디솔피드 가교 또는 유사한 가교를 형성할 수 있는 2개 이상의 시스테인 또는 시스테인 유사체가 존재한다는 것이다. 시스테인 또는 그의 유사체 둘 다 6개 이상의 아미노산, 바람직하게는 12 내지 43개의 아미노산을 포함한다.
- [0025] 첫번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 펩티드는 메티오닌 잔기가 발린, 이소류신, 노르발린, 류신 및 노르류신을 포함하는 군으로부터 선택되는 아미노산으로 치환된, 서열 2 내지 5 중 어느 하나에 따른 펩티드의 유도체이다.
- [0026] 첫번째 측면의 보다 바람직한 실시태양에서, 펩티드는

KCFQWQRNVRKVRGPPVSCIKR (서열 7)

KCFQWQRNIRKVRGPPVSCIKR (서열 8)

KCFQWQRNXRKVRGPPVSCIKR (서열 9), 여기서, X는 노르발린임,

KCFQWQRNLRKVRGPPVSCIKR (서열 10),

KCFQWQRNXRKVRGPPVSCIKR (서열 28), 여기서, X는 노르류신임,

CFQWQRNVRKVRGPPVSC (서열 11),

CFQWQRNIRKVRGPPVSC (서열 12),

CFQWQRNXRKVRGPPVSC (서열 13), 여기서, X는 노르발린임,

CFQWQRNLRKVRGPPVSC (서열 14),

CFQWQRNXRKVRGPPVSC (서열 15), 여기서, X는 노르류신임,

FQWQRNVRKVRGPPVS (서열 16),

FQWQRNIRKVRGPPVS (서열 17),

FQWQRNXRKVRGPPVS (서열 18), 여기서, X는 노르발린임,

FQWQRNLRKVRGPPVS (서열 19),

FQWQRNXRKVRGPPVS (서열 20), 여기서, X는 노르류신임,

FQWQRNVRKVR (서열 21),

FQWQRNIRKVR (서열 22),

FQWQRNXRKVR (서열 23), 여기서, X는 노르발린임,

FQWQRNLRKVR (서열 24), 및

FQWQRNXRKVR (서열 25), 여기서, X는 노르류신임,

[0027]

[0028] 를 포함하는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 펩티드이다.

[0029] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 유도체는 바람직하게는 티오에테르를 포함하는 군으로부터 선택되는 연결기를 갖고, 상기 연결기는 이들 시스테인 잔기에 의해 형성된 디솔피드 결합을 대체한다.

- [0030] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 바람직하게는 방사성으로 표지된 아미노산을 혼입시킴으로써 방사성으로 표지되며, 보다 바람직하게는 방사성으로 표지된 아미노산은 트리튬-표지된 아미노산이다.
- [0031] 첫번째 측면의 하나의 실시태양에서, 펩티드는 검출 방법을 사용하여 검출하기에 적절한 부분을 추가로 포함하며, 이러한 부분은 바람직하게는 형광단, 방사성 추적자 및 합텐(바람직하게는 합텐은 비오틴임)을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0032] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 첫번째 측면에 따른 펩티드, 인간 락토페린 및 소 락토페린을 포함하는 군으로부터 선택되는 펩티드, 및 카르고 분자를 포함하는 복합체에 의한 두번째 측면으로 해결된다.
- [0033] 두번째 측면의 실시태양에서, 카르고 분자는 펩티드에 공유결합 또는 비공유결합적으로 결합된다.
- [0034] 두번째 측면의 실시태양에서, 카르고 분자는 핵산, 아미노산, 펩티드, 단백질, 탄수화물, 지질 및 소분자, 및 이들 중 임의의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0035] 두번째 측면의 실시태양에서, 카르고 분자는 나노입자, 마이크로입자, 리포좀 및 미셀을 포함하는 군으로부터 선택되는 구조로서 또는 상기 구조의 부분으로 존재한다.
- [0036] 두번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 핵산은 DNA 분자, RNA 분자, PNA 분자, siRNA 분자, 안티센스 분자, 리보자임, 아프타머(aptamer), 스피겔머(Spiegelmer) 및 데코이 분자를 포함하는 군으로부터 선택되는 핵산이다.
- [0037] 두번째 측면의 별법의 바람직한 실시태양에서, 펩티드는 백신접종(vaccination)용 펩티드를 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0038] 두번째 측면의 추가의 별법의 바람직한 실시태양에서, 핵산은 핵산-기재 백신이다.
- [0039] 두번째 측면의 추가의 별법의 바람직한 실시태양에서, 나노입자 및/또는 마이크로입자는 제약상 활성 화합물로 이루어지거나 이를 포함한다.
- [0040] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 첫번째 측면에 따른 펩티드, 인간 락토페린 및 소 락토페린을 포함하는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 펩티드, 및 카르고 분자를 포함하는 조성물에 의한 세번째 측면으로 해결된다.
- [0041] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 두번째 측면에 따른 복합체를 포함하는 조성물에 의한 네번째 측면으로 해결된다.
- [0042] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 바람직하게는 서열 26 또는 서열 27에 따른 핵산 서열을 갖는 첫번째 측면에 따른 펩티드를 코딩하는 핵산에 의한 다섯번째 측면으로 해결된다.
- [0043] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 다섯번째 측면에 따른 핵산 및 카르고 분자를 포함하는 조성물에 의한 여섯번째 측면으로 해결된다.
- [0044] 여섯번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 핵산, 보다 특히 백신접종에 적절한 RNA이다.
- [0045] 여섯번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 펩티드를 코딩하는 핵산이다.
- [0046] 여섯번째 측면의 바람직한 실시태양에서, 다섯번째 측면에 따른 핵산은 펩티드를 코딩하는 핵산에 작동가능하게 연결된다.
- [0047] 여섯번째 측면의 보다 바람직한 실시태양에서, 다섯번째 측면에 따른 핵산과 펩티드를 코딩하는 핵산은 인-프레임(in-frame)으로 연결된다.
- [0048] 여섯번째 측면의 실시태양에서, 펩티드는 제약상 활성제이다.
- [0049] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 첫번째 측면에 따른 펩티드의 세포-침투성 펩티드로서의 용도에 의한 일곱번째 측면으로 해결된다.
- [0050] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 인간 락토페린 또는 그의 기능성 유도체, 또는 소 락토페린 또는 그의 기능성 유도체의 세포-침투성 펩티드로서의 용도에 의한 여덟번째 측면으로 해결된다.
- [0051] 여덟번째 측면의 실시태양에서, 인간 락토페린은 서열 1에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 711을 포함하는 아미노산 서열 또는 그의 기능성 유도체를 갖고/거나 소 락토페린은 서열 2에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 708을 포함하는 아미노산 서열 또는 그의 기능성 유도체를 갖는다.

- [0052] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 첫번째 측면에 따른 웨티드의 형질감염제(transfection agent)로서의 용도에 의한 아홉번째 측면으로 해결된다.
- [0053] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 인간 락토페린 또는 그의 기능성 유도체, 또는 소 락토페린 또는 그의 기능성 유도체의 형질감염제로서의 용도에 의한 열번째 측면으로 해결된다.
- [0054] 열번째 측면의 실시태양에서, 인간 락토페린은 서열 1에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 711을 포함하는 아미노산 서열을 갖고/거나 소 락토페린은 서열 2에 따른 아미노산 서열의 아미노산 위치 20 내지 708을 포함하는 아미노산 서열 또는 그의 기능성 유도체를 갖는다.
- [0055] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 세번째, 네번째 및 여섯번째 측면에 따른 조성물의 약제의 제조에 있어서의 용도에 의한 열한번째 측면으로 해결된다.
- [0056] 열한번째 측면의 실시태양에서, 카르고 분자는 제약상 활성제이다.
- [0057] 본 발명의 기초를 이루는 과제는 또한 세번째, 네번째 및 여섯번째 측면에 따른 조성물의 진단제의 제조에 있어서의 용도에 의한 열두번째 측면으로 해결된다.
- [0058] 열두번째 측면의 실시태양에서, 카르고 분자는 진단 표지자이다.
- [0059] 본 발명자들은 놀랍게도 인간 및 소 락토페린, 보다 구체적으로 이들의 웨티드 (본 명세서에서, 본 발명에 따른 웨티드라고도 함)가 세포-침투성 웨티드 (CPP)로서 작용하기에 적절하고, 따라서 카르고 분자를 세포의 세포질로 전달할 수 있다는 것을 발견하였다. CPP는 바람직하게는 세포막, 보다 바람직하게는 포유류 세포의 원형질막을 침투하기에 적절한 임의의 웨티드 또는 단백질이다. 그러나, 바람직하게는 용어 "CPP"는 특이적 세포 내 수송 메커니즘을 의미하지 않는다. 보다 구체적으로, 본 발명자들은 인간 락토페린으로부터 유래된 특정 웨티드가 엔도리소ーム성 구획으로부터 매우 효율적인 방식으로 방출되고, 이는 결국 임의의 카르고 분자(들)의 매우 효율적인 방출과 함께 나아간다고 생각하였다. 일단 카르고 분자가 세포질에서 이용가능하면, 그들은 이와 관련된 임의의 효과를 발휘할 수 있다. 본 발명에 따른 폴리웨티드인 한에 있어서는 치료적 및 진단적 적용 뿐만 아니라 이 둘 다의 연구에 사용될 수 있는 세포의 생물학적 메커니즘 및 경로에 영향을 주는 유효한 방법을 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 것으로서, 달리 언급되지 않는 한, 용어 "본 발명에 따른 웨티드"는 또한 바람직하게는 본 명세서에서 바람직하게 정의한 바와 같은 인간 및 소 락토페린을 포함한다.
- [0060] 본 발명에 따른 웨티드는 원칙적으로는 인간 또는 소 락토페린의 단편 또는 이들의 유도체이다. 이러한 기원 때문에, 본 발명에 따른 웨티드는, 이들이 카르고 분자를 세포질로 전달하는데 적절하다는 것 이외에, 각각의 웨티드가 각각의 본 발명에 따른 웨티드에 노출된 인간 또는 소 숙주에서 면역 반응을 유발하지 않는다는 한에 있어서는 유리한 면역학적 프로파일을 나타낸다.
- [0061] 인간 락토페린 (hLF)은 인간의 모유에 함유된 단백질 양의 15%를 구성하고, 또한 혈장에서 저농도로 발견될 수 있는 692개의 아미노산의 77 kDa 철-결합 당단백질이다[참조: Nemet and Simonovits, Haematologia (Budap.) 18, 3-121985]. 소 동족체 (bLF)는 688개의 아미노산으로 이루어지고, hLF와 68% 아미노산 동일성을 공유한다 [참조: Crichton, Adv. Protein Chem. 40, 281-363, 1990]. 그러나, 우유 단백질의 0.5 내지 1% 만이 bLF이다. 양쪽 단백질에 있어서, DNA 분해효소(DNase), RNA 분해효소(RNase), ATP분해효소(ATPase) 및 인산분해효소 활성과 같은 여러 효소 활성[참조:Kanyshkova et al., Eur. J. Biochem. 270, 3353-3361, 2003] 뿐만 아니라, 항균성[참조: Orsi, Biometals 17, 189-196, 2004; Ward and Conneely, Biometals 17, 203-208, 2004], 항진균성, LPS 결합성[참조: Vogel et al., Biochem. Cell Biol. 80, 49-63, 2002] 및 항바이러스성[참조: Berkhout et al., Biometals 17, 291-294, 2004]이 보고되었다. 락토페린 (LF) 단백질은 또한 전사 인자로서 작용하고[참조: He and Furmanski, Nature 373, 721-724, 1995], 인터루킨의 분비를 유도함으로써 면역 조절에 영향을 준다[참조: Sorimachi et al., Biochem. Mol. Biol. Int. 43, 79-87, 1997; Vogel et al., 2002].
- [0062] 본 발명에 따른 웨티드는 바람직하게는 인간 또는 소 락토페린의 N-말단 영역의 단편이다. 본 발명에 따른 웨티드에 의해 개별적으로 또는 임의의 조합으로 구현될 수 있는 추가의 구조적 특징을 이하에 개시한다.
- [0063] 바람직하게는, 본 발명에 따른 이러한 단편 및 그에 따른 웨티드는 4개 이상의 양이온성 아미노산 잔기를 함유한다. 보다 바람직하게는, 이를 단편은 양이온성이이고, 즉, 생리적 pH 값에서 전체적으로 양전하를 갖는다.
- [0064] 본 발명에 따른 웨티드는 알파 나선 및 베타 시트와 같은 이차 구조의 조합을 공유할 수 있다. 특히, 이러한 나선 및 이러한 시트는 웨티드의 개별 부분을 형성한다. 가장 바람직하게는, 웨티드는 나선-턴-시트(helix-turn-

turn-sheet) 구조를 포함한다. 이러한 부분의 길이는 전형적으로 알파-나선 및 베타-시트 입체형태를 갖는 부분에 있어서 각각 12 내지 20개의 아미노산 및 8 내지 12 개의 아미노산의 범위이다.

[0065] 본 발명에 따른 펩티드의 바람직한 실시태양에 내재해 있는 추가의 특징은 2개 이상의 시스테인 잔기가 존재한다는 것이다. 이러한 시스테인 잔기는 간헐 아미노산의 수만큼 서로 이격해 있다. 바람직하게는, 이러한 간헐 아미노산의 수는 8 내지 20개, 보다 바람직하게는 14 내지 18개의 아미노산의 범위이고, 가장 바람직하게는 16 개이다. 추가의 실시태양에서, 2개의 시스테인 잔기는 본 발명에 따른 펩티드의 N-말단 및 C-말단에 위치한다. 각각의 시스테인 잔기가 개별적으로 또는 조합하여 펩티드의 말단에 위치하거나 이에 가깝게 위치하는 것, 즉, 펩티드의 N-말단 및 C-말단을 형성하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 별법으로는, 상기 시스테인 말단의 한 쪽 또는 양쪽이 펩티드의 각각의 말단을 형성하지는 않지만, 펩티드는 N-말단의 경우에 각각의 시스테인 잔기의 상류에, 또는 C-말단의 경우에 각각의 시스테인 잔기의 하류에 추가의 아미노산을 포함한다. 보다 더 바람직한 실시태양에서, 2개의 시스테인 잔기는 문자내 디슬피드 결합을 형성하며, 이러한 디슬피드 결합은 바람직하게는 본 발명에 따른 펩티드를 CPP로서 적용하거나 사용하는 경우에 존재하는 조건하에 존재한다. 당업자라면 각각의 펩티드의 합성시 또는 합성 중에 이러한 디슬피드 결합이 어떻게 생성되는지를 알 수 있다. 별법의 실시태양에서, 2개의 시스테인 잔기는 문자간 디슬피드 결합을 형성한다.

[0066] 추가의 실시태양에서, 디슬피드 결합은, 만약 존재한다면, 구조적으로 및 기능적으로 디슬피드 결합을 대체하는 부분에 의해 대체되지만, 환원성 절단되지 않는다. 이러한 부분은 비제한적인 예로서 메틸렌기[참조: JACS, 1985, 107, 2986-2987, Bioorg. Med. Chem Letter 1999, 9, 1767-1772, J.Med. Chem, 2002, 45, 1767-1777], 티오에테르 가교[참조: Yu et al. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 6633-6636], 카르보닐 가교[참조: Pawlak et al. J. Pept. Sci. 2001, 7, 128- 140], 및 지방족 장쇄[참조: Tetrahedron Lett. 2001, 42, 5804-5804]이며, 각각의 상기 부분은 디슬피드 결합을 대체한다. 당업자에 의해 인정되는 바와 같이, 2개의 아미노산 잔기를 연결하는데 사용되는 특정 프로토콜 및 부분에 따라, 시스테인 잔기가 다른 빌딩 블록, 예를 들어, 호모세린으로 치환되는 것이 필요할 수 있다[참조: Yu et al. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 6633-6636]. 지방족 장쇄의 길이는 바람직하게는 약 2 내지 약 10개의 C 원자이고, 이러한 범위는 그 사이에 존재하는 임의의 정수 길이를 포함한다.

[0067] 본 발명에 따른 펩티드의 길이는 바람직하게는 약 8개의 아미노산 잔기 내지 약 60개의 아미노산 잔기의 범위이다. 보다 바람직하게는, 그 길이는 15 내지 45개의 아미노산 잔기, 보다 바람직하게는 18 내지 22개의 아미노산 잔기의 범위이다. 그러나, 당업자라면 펩티드의 길이가 반드시 이에 한정되는 것은 아니며, 본 명세서에 제공된 기술적 방법을 사용함으로써 당업자에 의해 그의 유도체가 생성될 수 있다는 것을 인정할 것이다. CPP로서 작용하거나 작용할 수 있는 펩티드를 제공하는 한 임의의 변형은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0068] 추가의 바람직한 실시태양에서, 본 발명에 따른 펩티드는 인간 또는 소 락토페린의 단편이다. 바람직하게는, 인간 락토페린은 서열 1에 따른 아미노산 서열을 갖고, 소 락토페린은 서열 2에 따른 아미노산 서열을 갖는다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 따른 펩티드는 그들의 아미노산 서열에 있어서, 서열 1에 따른 서열 또는 서열 2에 따른 서열의 아미노산 위치 20 내지 64로 정의되거나 이에 포함되는 아미노산 서열에 상응한다. 그러나, 본 발명에 따른 펩티드의 일부만이 인간 또는 소 락토페린의 아미노산 서열의 상기 정의된 범위 내에 위치하는 경우 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0069] 보다 바람직한 실시태양에서, 본 발명에 따른 펩티드는 상기 단락들에서 상술한 바와 같이, 인간 또는 소 락토페린으로부터 유래되며, 본 명세서에 개시된 추가의 구조적 특징 중 하나 또는 수개, 바람직하게는 모두를 공유한다.

[0070] 추가의 실시태양에서, 본 발명에 따른 펩티드는 본 명세서에 기재된 본 발명에 따른 펩티드의 임의의 유도체, 특히 상기 단락들에 개시된 것과 같다. 당업자라면 상기 펩티드의 아미노산 서열은 상기 펩티드가 CPP로서의 기능성을 상실함 없이 변화될 수 있다는 것을 인정할 것이다. 바람직하게는, 이러한 변화는 아미노산 서열에 대한 것이다. 보다 바람직하게는, 이러한 변화는 상이한 카테고리의 아미노산을 동일한 카테고리의 다른 아미노산으로 대체하는 것을 포함한다. 이러한 카테고리는 바람직하게는 중성 아미노산, 소수성 아미노산(특히, 지방족 아미노산을 포함함), 양이온성 아미노산, 음이온성 아미노산, 티올-함유 아미노산, 방향족 아미노산 및 헤테로시클릭 아미노산이다. 소수성 아미노산(지방족 아미노산을 포함함)은 바람직하게는 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 방향족 아미노산은 바람직하게는 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이온성 아미노산은 바람직하게는 리신, 아르기닌, 히스티딘과 같은 양이온성 아미노산, 및 아스파르테이트 및 글루타메이트와 같은 음이온성 아미노산의 군으로부터

선택되고, 중성 아미노산은 바람직하게는 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민 및 메티오닌의 군으로부터 선택되며, 티올-함유 아미노산은 바람직하게는 시스테인 및 메티오닌이고, 헤テ로시클릭 아미노산은 바람직하게는 프롤린 및 히스티딘이다. 특히, 위치 46에 있는 메티오닌 잔기는 예를 들어, 발린, 노르발린, 류신 또는 노르발린과 같은 지방족 잔기로 교체될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 웨პ티드는 유기 합성의 프로토콜로 수득될 수 있기 때문에, 아미노산 치환은 단백질성 아미노산의 것들에 한정되지 않는다. 적절한 화학적 방법에 의해 도입될 수 있는 비-단백질성 아미노산 및 베타-아미노산을 포함하나 이에 한정되지 않는 임의의 빌딩 블록이 웨პ티드에 포함될 수 있다.

- [0071] 본 발명에 따른 특히 바람직한 웨პ티드는 서열 3에 따른 아미노산 서열 및 서열 4에 따른 아미노산 서열, 및 이들의 각각의 유도체를 갖는 것들이다.
- [0072] 본 발명에 따른 웨პ티드가 인간 또는 소 락토페린이라면 본 발명의 범위 내에 있는 것이며, 바람직한 실시태양에서 이러한 웨პ티드는 또한 전장(full-length)의 인간 또는 소 락토페린 단백질의 단편을 포함한다. 이러한 단편은 바람직하게는 기능적 활성 단편이다. 본 명세서에서 사용되는 것으로서, 인간 또는 소 락토페린의 기능적 활성 단편은 이러한 단편이 여전히 CPP 활성, 바람직하게는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 CPP 활성을 나타낸다는 규정 하에, 서열 1 또는 서열 2에 따른 아미노산 서열의 일부이거나 이를 포함한다. 바람직하게는 상기 웨პ티드의 CPP로서의 활성 또는 CPP 활성은 각각의 웨პ티드가 이 경우에 리포터기(reporter group)로서 및 카르고 분자로서 사용되고, 당업자에게 공지된 방법으로 세포내 유입의 검출 및 정량을 가능하게 하는 플루오로크롬 또는 합텐에 접합시킴으로써 측정된다. 이러한 방법은 (i) 리포터기로서 사용되는 형광단에 대한 형광 현미경검사 및 유세포측정법(flow cytometry) 또는 (ii) 세포의 고정 및 투과화(permeabilization) 후, 리포터기로서 사용되는 합텐을 검출하기에 적절한 시약과 함께 인큐베이션하는 것을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 별법으로는, CPP는 예를 들어, 방사성으로 표지된 아미노산의 혼입 및 방사선촬영으로 측정되는 세포내 유입에 의해 방사성 표지될 수 있다. 후자의 방법은 임의의 카르고 없이 웨პ티드 단독에 대한 유입 및 분포의 측정을 가능하게 한다. 각각의 방법이 이를 허용하는 정도로, 유입 및 분포는 또한 조직 및 유기체 전체에 대하여 측정 및 정량될 수 있다는 것이 이해된다. 별법으로, 유입은 분자가 세포에 들어가서 세포질 또는 핵과 같은 특정 세포하 국소화에 이르는 경우에만 그의 생물학적 활성을 발휘하는 카르고 분자를 사용하여 CPP에 접합된 카르고 분자의 생물학적 활성에 의해 간접적으로 측정될 수 있다.
- [0073] 추가의 실시태양에서, 본 발명에 따른 웨პ티드는 검출하기에 적절한 부분을 추가로 포함한다. 보다 구체적으로, 이러한 부분은 웨პ티드의 검출을 가능하게 한다. 상기 부분은 이러한 목적에 적절한 임의의 기일 수 있다. 각각의 부분은 당업자에게 공지되어 있으며, 예를 들어, 카르복시플루오레세인과 같은 형광단 또는 비오틴을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 검출은 형광에 의해 일어난다. 별법으로, 검출은 또한, 예를 들어, 당업자에게 공지된 프로토콜에 의해 ¹²⁵요오드를 혼입한 후 방사성에 의해 일어날 수 있다. 검출은 개별 세포, 조직, 기관 또는 동물의 수준에서 일어날 수 있다. 바람직하게는, 동물은 포유동물이며, 보다 바람직하게는 개, 고양이, 양, 염소, 래트, 마우스, 소, 말 및 인간을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0074] 본 발명의 추가의 측면에서, 본 발명에 따른 웨პ티드는 카르고 분자와 함께 복합체를 형성한다. 이러한 카르고 분자는 본 명세서에 정의된 바와 같은 임의의 카르고 분자일 수 있다. 상기 복합체는 1종 이상의 본 발명의 따르는 웨პ티드 및 1종 이상의 카르고 분자를 포함하는 공유결합 또는 비-공유결합 복합체일 수 있다. 복합체가 1종 초과의 본 발명에 따른 웨პ티드, 즉, 다수의 이러한 웨პ티드를 포함하는 경우도 본 발명의 범위 내에 있으며, 이때 다수의 웨პ티드는 다수의 동일하거나 상이한 웨პ티드를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 복합체는 또한 1종 초과의 카르고 분자를 포함할 수 있으며, 이때 다수의 카르고 분자는 다수의 동일하거나 상이한 카르고 분자를 포함할 수 있다.
- [0075] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 따른 웨პ티드(들)과 카르고 분자(들)간의 복합체는 공유결합에 의해 형성된다. 이러한 공유결합은 바람직하게는 웨პ티드의 어느 것이든 적절한 반응성기와 카르고 분자(들) 사이에 형성되며, 보다 바람직하게는 본 발명에 따른 웨პ티드의 말단과 카르고 분자(들) 사이에 형성된다. 화학적 성질 또는 카르고 분자에 따라, 이러한 공유결합이 형성되는 부분, 기 또는 라디칼이 다르며, 이러한 결합을 형성시키는 것은 당업자의 기술에 속한다. 하나의 실시태양에서, 공유결합은 본 발명에 따른 웨პ티드의 C-말단 아미노산의 카르복시기와 카르고 분자를 구성하는 웨პ티드의 N-말단 아미노산의 알파 아미노기 사이에 형성되는 아미드 결합일 수 있다. 별법으로, 복합체는 비-공유결합(들)을 기초로 형성될 수 있다. 이러한 비-공유결합은 이온성 결합, 수소 결합 또는 소수성 상호작용, 또는 이러한 결합들의 조합일 수 있다. 하나의 실시태양에서, 이러한 비-공유결합은 공유결합에 의해 본 발명에 따른 웨პ티드 및 올리고뉴클레오티드의 포스페이트 골격에 결합된 리신 잔

기의 스트레치(stretch)에 의해 형성될 수 있다. 바람직하게는, 리신의 스트레치는 약 5 내지 15개의 리신 잔기로 이루어진다.

[0076] 카르고 분자는, 원칙적으로는, 크기, 화학적 성질 및/또는 기능에 관해서는 제한되지 않는다. 이에 따라, 카르고 분자는 핵산, 펩티드, 분자, 지질, 탄수화물, 나노- 및 마이크로- 입자 및 이들의 조합을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 세포 생물학에서의 적용 또는 치료적 적용에 의해 설정되는 영역 내에 있다.

[0077] 하나의 실시태양에서, 핵산은 공유결합으로 연결된 2개 이상의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 중합체이다. 하나의 실시태양에서, 핵산은 DNA 분자 또는 RNA 분자, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 핵산이 L-뉴클레오티드, D-뉴클레오티드 또는 혼합물로 이루어진 경우 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 추가의 실시태양에서, 개별 뉴클레오티드의 염기 부분, 당 부분 및/또는 포스페이트 부분은 핵산 또는 각각의 유사체를 형성하는 각각 임의의 뉴클레오티드에 대해 개별적 및 독립적으로 개질될 수 있다. 특히 바람직하게 개질된 당 부분은 당 부분의 2' 원자에 메틸, 메톡시, 에틸 또는 에톡시기를 갖는 것들이다. 특히 바람직하게 개질된 포스페이트 부분은 포스포티오에이트이다. 다른 바람직한 실시태양에서, 펩티드 핵산이 사용된다.

[0078] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 L- 또는 D-아미노산으로부터 유래한 아미노산이다. 아미노산은 천연 또는 비-천연의 임의의 아미노산일 수 있다.

[0079] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 공유결합으로 연결된, 바람직하게는 펩티드 결합을 통해 연결된 2개 이상의 아미노산으로 이루어진 펩티드이다. 하나의 실시태양에서, 펩티드는 L-아미노산, D-아미노산 또는 이들의 혼합물로 이루어진다. 아미노산은 천연 또는 비-천연의 임의의 아미노산일 수 있다. 따라서, 바람직한 실시태양에서, 용어 "펩티드"는 또한 당업계에 일반적으로 알려진 것과 같은 펩티드 및 단백질을 포함한다. 펩티드 또는 단백질은 천연 원료로부터 정제되거나, 유기 합성을 통해 수득되거나 또는 당업자에게 잘 알려진 프로토콜, 비제한적인 예로써 천연 화학적 라이제이션에 의해 합성 아미노산 또는 펩티드를 천연 원료로부터 수득한 펩티드 또는 단백질에 결합시킴으로써 수득될 수 있다. 바람직하게는, 펩티드는 2 내지 40개의 아미노산, 보다 바람직하게는 2 내지 20개의 아미노산, 가장 바람직하게는 4 내지 15개의 아미노산의 길이를 갖는다. 본 명세서에서 사용되는 것으로서, 용어 "단백질"은 바람직하게는 폴리펩티드 함유 이차 구조, 보다 바람직하게는 삼차 구조를 지칭한다.

[0080] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 소분자이며, 상기 소분자는 바람직하게는 1000 D 이하의 분자량을 갖는 분자이며, 보다 바람직하게는 약물 또는 약물 후보물질을 나타내는 분자이다. 소분자의 특히 바람직한 부류는 헤테로시클릭 소분자이다.

[0081] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 지질 또는 지질의 하위구조, 예컨대, 그들의 부분이다. 바람직하게는, 이들 부류의 분자는 원형질막 또는 그 내부에서 일단 세포에 작용하면 특정한 기능 발휘한다. 전자에 대한 예는 디아실글리세롤이다. 이 예는 이러한 특정한 기능을 발휘하는 지질이 바람직하게는 세포내 전달자를 포함하는 군으로부터 선택되는 것을 설명한다. 이에 따라, 가능한 카르고 분자를 나타내는 후자에 대한 예는 리포펩티드, 바람직하게는 S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-N-팔미토일-(R)-시스테이닐-(S)-세릴-테트라-(S)-리신 부분을 포함하는 리포펩티드이고, 가장 바람직하게는, 톨-유사(Toll-like) 수용체의 작용제 또는 길항제로서 작용하는 S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-N-팔미토일-(R)-시스테이닐-(S)-세릴-테트라-(S)-리신을 포함하는 펩티드이다.

[0082] 다른 바람직한 실시태양에서 카르고 분자는 탄수화물이다.

[0083] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고는 자기공명영상에 사용되는 조영제이다. 이러한 조영제로는, 예를 들어, 가돌리늄 (III)-DTPA (디에틸렌트리아민-펜타아세트산) 또는 가돌리늄 (III)-DOTA (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산)이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0084] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 입자이다. 이러한 입자는, 예를 들어, 가교 폴리스티렌, 가교 N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드, 가교 텍스트란, 리포좀, 또는 미셀로 이루어진 중합체 입자일 수 있다. 바람직하게는, 상기 입자는 기능성 분자에 대한 운반체 또는 용기로서 사용된다. 기능성 분자는 세포 내부에서 기능을 발휘하는 임의의 분자, 예를 들어, 화학요법제 및 올리고뉴클레오티드일 수 있고, 바람직하게는 본 발명에 따른 펩티드에 대한 카르고 분자로서 사용될 수도 있는 것일 수 있다. 상기 입자에 대한 기능성 분자의 일반적인 커플링에서, 기능성 분자의 입자내로의 각 부하량은, 예를 들어, 본 발명에 따른 펩티드(들)의 커플링이 이들 기능성 분자의 세포 내로의 전달을 매개하면서 유기체에서 그의 순환을 지속시킴으로써 기능성 분자의 약

력학적 성질을 향상시키도록 의도된다. 본 발명에 따른 웨티드(들)에 추가로, 입자는 상기 입자를 특정 세포로 표적화하는 것을 매개하는 부분 또는 문자에 의해 추가로 개질될 수 있다. 이러한 표적화의 하나의 예는 암세포의 표면에 풍부한 단백질에 대하여 유도된 항체이다. 하나의 실시태양에서, 입자는 강자성 코어를 가질 수 있다. 이러한 입자는 자성 유체 온열요법과 같은 적용에 사용될 수 있다[참조: Jordan et al., Int J Hyperthermia, 12, 705-722, 1996].

[0085] 다른 바람직한 실시태양에서, 카르고 분자는 양자점(quantum dot)이다. 양자점에 대한 본 발명에 따른 웨티드(들)의 커플링은 예를 들어, 웨티드상의 적절한 관능성기와 양자점간의 아미드 결합 형성에 의한 공유결합 커플링에 의해, 또는 비-공유결합 상호작용, 예를 들어, 비오틴 부분과 양자점에 커플링된 스트렙타비딘 문자간의 비-공유결합 상호작용에 의해 달성될 수 있다. 하나의 실시예에서, 세포-침투성 웨티드는 시스테인 잔기로 세포-침투성 웨티드를 연장시키고, 헤테로이관능성 연결기를 사용하여 아미노-관능화된 양자점에 커플링시킴으로써 양자점에 공유결합으로 연결되었다[참조: S. Santra et al., ChemComm, 2005, 3144-3146].

[0086] 추가의 실시태양에서, 카르고 분자는 관능성 용어로 정의될 수 있다.

[0087] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 siRNA 문자이다.

[0088] siRNA 문자는 표적 핵산, 바람직하게는 표적 문자를 코딩하는 mRNA에 대해 지정된 작은 간섭(interfering) RNA이다. siRNA는 전형적으로 약 21 내지 약 23개의 뉴클레오티드의 길이를 갖는 이중 가닥 RNA이다. 2개의 RNA 가닥 중 하나의 서열은 분해되는 표적 핵산의 서열에 상응한다. 다시 말해서, 표적 문자의 핵산 서열, 바람직하게는 mRNA 서열을 알면, 이중 가닥 RNA는 표적 문자의 상기 mRNA에 상보적인 두 가닥 중 하나로 디자인될 수 있고, 표적 문자를 코딩하는 유전자, 게놈 DNA, hnRNA 또는 mRNA를 함유하는 시스템에 상기 siRNA를 적용하면, 각각의 상응하는 표적 핵산은 분해될 것이고, 이에 따라 각각의 단백질의 수준은 감소된다. 상기 siRNA를 약제 및 진단제로서 디자인, 구성 및 사용하는 것의 근본 원리는, 각각, 특히 국제 특허 출원 WO 00/44895 및 WO 01/75164에 기재되어 있다.

[0089] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 리보자임이다.

[0090] 리보자임은 바람직하게는 근본적으로 2개의 부분을 포함하는 RNA로 이루어진 촉매적으로 활성인 핵산이다. 제1 부분은 촉매 활성을 나타내는 반면, 제2 부분은 표적 핵산과의 특정 상호작용을 책임진다. 표적 핵산과 리보자임의 제2 부분이 상호작용하면, 전형적으로 2개의 혼성화하는 가닥 상의 염기들의 본질적으로 상보적인 스트레치들의 왓슨-클릭(Watson-Crick) 염기쌍 형성 및 혼성화(hybridisation)에 의해, 촉매 활성 부분이 활성화되는데, 이는 리보자임의 촉매 활성이 포스포디에스테라제 활성인 경우에 표적 핵산을 분자내 또는 문자간 촉매하는 것을 의미한다. 이어서, 표적 핵산의 추가의 분해가 있을 수 있으며, 이는 결국 표적 핵산에 상응하는 새로이 합성된 단백질의 부족 및 앞서 존재하는 각각의 단백질의 턴오버(turn-over)로 인해 상기 표적 핵산으로부터 유도된 단백질 뿐만 아니라 표적 핵산의 분해를 야기한다. 리보자임, 이들의 용도 및 디자인 원리는 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들어, 도허티(Doherty) 및 도우드나(Doudna)의 문헌[Ribozym structures and mechanism. Annu ref. Biophys. Biomolstruct. 2001 ; 30 :457-75] 및 레윈(Lewin) 및 하우스비르트(Hauswirth)의 문헌 [Ribozyme Gene Therapy: Applications for molecular medicine. 2001 7: 221-8]에 기재되어 있다.

[0091] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 안티센스 문자이다.

[0092] 약제의 제조에 있어서 및 진단제로서의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 용도는, 각각, siRNA 문자 및 리보자임 중 하나와 같은 유사한 방식의 작용에 기초한다. 근본적으로, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 염기 상보성을 기초로 표적 RNA, 바람직하게는 mRNA와 혼성화함으로써 RNA 분해효소 H(RNase H)를 활성화한다. RNA 분해효소 H는 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트-결합 DNA 둘 다에 의해 활성화된다. 그러나, 포스포디에스테르-결합 DNA는 포스포로티오에이트-결합 DNA를 제외하고는 세포 뉴클레아제에 의해 급속히 분해된다. 이를 저항성(resistant), 비-천연 DNA 유도체는 RNA와 혼성화하면 RNA 분해효소 H를 억제하지 않는다. 다시 말해서, 안티센스 폴리뉴클레오티드는 오직 DNA RNA 혼성 복합체로서만 유효하다. 이러한 종류의 안티센스 올리고뉴클레오티드에 대한 예는 특히, 미국 특허 US 5,849,902 및 US 5,989,912에 기재되어 있다. 다시 말해서, 각각의 핵산 서열이 원칙적으로 추정될 수 있는 표적 단백질로부터, 또는 그러한 것으로서 핵산 서열, 특히 mRNA를 암으로써, 각각의 표적 문자의 핵산 서열을 기초로 하여, 적절한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 염기 상보성의 원리를 기초로 디자인될 수 있다.

[0093] 짧은 스트레치의 포스포로티오에이트 DNA (3 내지 9개의 염기)를 갖는 안티센스-올리고뉴클레오티드가 특히 바람직하다. 최소 3개의 DNA 염기가 박테리아의 RNA 분해효소 H의 활성화에 필요하며, 최소 5개의 염기가 포유류

의 RNA 분해효소 H 활성화에 필요하다. 이를 키메라 올리고뉴클레오티드에 있어서, RNA 분해효소 H에 대한 기질을 형성하지 않는 개질된 뉴클레오티드로 이루어진 "아암(arm)"을 혼성화함으로써 플랭킹되는, RNA 분해효소 H에 대한 기질을 형성하는 중심 영역이 존재한다. 키메라 올리고뉴클레오티드의 혼성화 아암은 예컨대 2'-0-메틸 또는 2'-플루오로에 의해 개질될 수 있다. 별도의 방법은 상기 아암에서 메틸포스포네이트 또는 포스포르아미데이트 연결을 사용하였다. 본 발명의 실시에 유용한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 추가의 실시태양은 P-메톡시올리고뉴클레오티드, 부분적 P-메톡시올리고테옥시리보뉴클레오티드 또는 P-메톡시올리고뉴클레오티드이다.

[0094] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 아프타머 또는 스피겔머이다.

[0095] 아프타머는 단일 가닥 또는 이중 가닥인, 표적 분자와 특이적으로 상호작용하는 D-핵산이다. 아프타머의 제조 또는 선택에 관하여는, 예를 들어, 유럽 특허 EP 0 533 838에 기재되어 있다. 근본적으로, 하기 단계들이 실행된다. 먼저, 핵산의 혼합물, 즉, 잠재적 아프타머를 제공하며, 이때 각각의 핵산은 전형적으로 여러 세그먼트, 바람직하게는 8개 이상의 연속의 랜덤화된 뉴클레오티드를 포함한다. 이어서, 상기 혼합물을 표적 분자와 접촉시키는데, 핵산(들)은 예컨대, 후보물질 혼합물에 비해, 표적을 향한 증가된 친화력을 기초로 또는 그에 대한 보다 큰 힘으로 표적 분자에 결합한다. 이어서, 결합 핵산(들)을 혼합물의 잔류물로부터 분리시킨다. 임의로는, 이와 같이 수득한 핵산(들)을 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응을 사용하여 증대시킨다. 이를 단계는 수회 반복될 수 있으며, 마침내 표적에 특이적으로 결합하는 핵산을 증가된 비율로 갖는 혼합물이 수득되며, 그 다음, 이로부터 최종 결합 핵산을 임의로 선택한다. 이러한 특이적 결합 핵산(들)을 아프타머라 한다. 개별 핵산의 혼합물의 아프타머 샘플의 생성 또는 확인을 위한 방법의 어떠한 단계라도 표준 기술을 사용하여 그들의 서열을 측정하도록 취해질 수 있다는 것은 자명하다. 예를 들어, 아프타머를 생성시키는 분야의 당업자에게 알려져 있는 정해진 화학적 기를 도입함으로써 아프타머를 안정화시키는 것도 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 변형은, 예를 들어, 뉴클레오티드의 당 부분의 2'-위치에서 아미노기를 도입하는 것에 있을 수 있다. 아프타머는 현재 치료제로서 사용된다. 그러나, 이와 같이 선택되거나 생성된 아프타머가 표적 검증(validation)에 사용될 수 있다는 것 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0096] 표적 분자에 대해 지정된 본 발명에 따라 사용되거나 생성될 수 있는 스피겔머의 생성 또는 제조는 유사한 원리를 기초로 한다. 스피겔머의 제조는 국제 특허 출원 WO 98/08856에 기재되어 있다. 스피겔머는 L-핵산인데, 이는 이들이 아프타머와 같이 D-뉴클레오티드로 이루어진다기보다 L-뉴클레오티드로 이루어진다는 것을 의미한다. 스피겔머는 생물학적 시스템에서 매우 높은 안정성을 갖고, 아프타머에 비해 지정된 표적 분자와 특이적으로 상호작용한다는 사실을 특징으로 한다. 스피겔머를 생성하는 목적상, D-핵산의 이형(heterogonous) 집단이 형성되며, 이러한 집단은 표적 분자의 광학 정반체(antipode), 즉, 표적 분자의 천연 L-거울상이성질체의 D-거울상이성질체와 접촉된다. 이어서, 표적 분자의 광학 정반체와 상호작용하지 않는 D-핵산은 분리된다. 그러나, 표적 분자의 광학 정반체와 상호작용하는 이들 D-핵산은 분리되어, 임의로는 측정 및/또는 서열화되고, 이어서 상응하는 L-핵산은 D-핵산으로부터 얻은 핵산 서열 정보를 기초로 합성된다. 표적 분자의 광학 정반체와 상호작용하는 전술한 D-핵산과 서열 면에서 동일한 이들 L-핵산은 천연 표적 분자의 광학 정반체 보다 오히려 천연 표적 분자와 특이적으로 상호작용할 것이다. 아프타머의 생성 방법과 유사하게, 여러 단계를 수회 반복하여 표적 분자의 광학 정반체와 특이적으로 상호작용하는 핵산을 풍부하게 하는 것 또한 가능하다.

[0097] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 세포 내부에서 전사 인자와 특이적으로 결합함으로써 테코이 분자로서 작용하는 짧은 이중 가닥 올리고데옥시뉴클레오티드이다. 이를 테코이 분자는 특정 운반체에 대한 필요 없이, 세포에 의해 효과적으로 취해진다고 알려져 있다. 본 발명에 따른 CPP와 접합함으로써 효율성 및 세포질 전달이 더 향상될 수 있을 것이라 기대된다.

[0098] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 항체이다.

[0099] 항체의 제조는 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[Harlow, E., and Lane, D., "Antibody: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY,(1988)]에 기재되어 있다. 바람직하게는, 본 발명과 관련하여 모노클로날 항체가 사용될 수 있으며, 이는 켈러(Koehler) 및 밀슈타인(Milstein)의 프로토콜 및 이를 기초로 한 추가의 개발법에 따라 제조될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 것으로서 항체는 그들이 단백질 키나제 N 베타에 적절하게 결합할 수 있는 한, 완전 항체, 항체 단편 또는 유도체, 예컨대 Fab 단편, Fc 단편 및 단일-가닥 항체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 모노클로날 항체 이외에도, 또한 폴리클로날 항체가 사용될 수 있고/거나 생성될 수 있다. 폴리클로날 항체의 생성 또한 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들어, 할로우, 이.(Harlow, E.) 및 라네, 디.(Lane, D.)의 문헌["Antibody: A

Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, (1988)]에 기재되어 있다. 치료 목적으로 사용되는 항체로는 상기 정의한 바와 같은 인간화 또는 인간 항체가 바람직하다.

[0100] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 항체는 하나 이상의 표지자 또는 표지를 가질 수 있다. 이러한 표지자 또는 표지는 그의 진단적 적용 또는 치료적 적용에 있어서 항체를 검출하는데 유용할 수 있다. 바람직하게는, 표지자 및 표지는 아비딘, 스트렙타비딘, 비오틴, 금 및 플루오레세인을 포함하는 군으로부터 선택되며, 예를 들어, ELISA 방법에 사용된다. 이를 비롯한 추가의 표지자 및 방법은 예를 들어, 할로우, 이. 및 라네, 디.의 문헌 ["Antibody: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1988)]에 기재되어 있다.

[0101] 표지 또는 표지자가 검출 이외에, 다른 분자와의 상호작용과 같은 추가의 기능을 나타내는 것 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 이러한 상호작용은, 예를 들어, 다른 화합물과의 특이적 상호작용일 수 있다. 상기 다른 화합물은 항체가 사용되는 시스템, 예컨대 인체 또는 동물체에 내재하는 것들, 또는 각각의 항체를 사용함으로써 분석되는 샘플일 수 있다. 적절한 표지자는, 예를 들어, 이와 같이 표지된 항체와 상호작용하는 각각의 화합물 또는 구조에 존재하는 아비딘 및 스트렙타비딘 등과 같은 그들의 특이적 상호작용 파트너가 있는 비오틴 또는 플루오레세인일 수 있다.

[0102] 특정한 실시태양에서, 카르고 분자는 표적 특이적 결합 웨티드이다.

[0103] 이러한 웨티드는 파지 표시(phage display)와 같은 최신 기술 수준에 따른 방법을 사용함으로써 생성될 수 있다. 근본적으로, 웨티드의 라이브러리는 예컨대 파지 형태로 생성되며, 이러한 종류의 라이브러리는 각각의 표적 분자와 접촉된다. 표적 분자에 결합한 이들 웨티드는 후속적으로 각각의 반응으로부터 바람직하게는 표적 분자와의 복합체로서 제거된다. 결합 특성은 적어도 어느 정도까지는 염 농도 등과 같은 특별히 구현되는 실험 설정에 의존한다는 것이 당업자에게 알려져 있다. 표적 분자에 보다 높은 친화력 또는 더 큰 힘으로 결합된 이들 웨피드를 라이브러리 중 비결합된 구성원들로부터 분리한 후, 임의로는 또한 표적 분자를 표적 분자와 웨티드의 복합체로부터 제거한 후, 각각의 웨티드(들)을 후속적으로 특성화시킬 수 있다. 상기 특성화에 앞서, 임의로는 증폭 단계가, 예를 들어 웨티드 코딩 파지를 증식시킴으로써 실행된다. 특성화는 바람직하게는 표적 결합 웨티드의 서열분석(sequencing)을 포함한다. 근본적으로, 웨티드는 그들의 길이에 있어서 제한이 없지만, 바람직하게는 약 8 내지 20개의 아미노산의 길이를 갖는 웨티드가 각각의 방법으로 바람직하게 얻어진다. 라이브러리의 크기는 약 10^2 내지 10^{18} 개, 바람직하게는 10^8 내지 10^{15} 개의 상이한 웨티드일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0104] 표적 결합 웨티드의 특정한 형태는 특히 독일 특허 출원 DE 197 42 706에 기재되어 있는 소위 "안티칼린(anticaline)"이다.

[0105] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명에 따른 웨티드를 코딩하는 핵산에 관한 것이다. 이러한 핵산은 웨티드의 아미노산 서열 및 유전 코드를 기초로 당업자에 의해 용이하게 유도될 수 있다. 숙주 유기체에 따라 특정한 서열은 각각의 숙주 유기체의 코돈 사용에 적응될 수 있다는 것이 인정될 것이다. 본 발명에 따른 가장 바람직한 웨티드에 대한 핵산 서열은 서열 26 및 서열 27로부터 얻을 수 있다.

[0106] 추가의 측면에서, 본 발명은 웨티드를 코딩하는 핵산에 관한 것이며, 상기 웨티드는 본 발명에 따른 웨티드 및 추가의 웨티드 또는 단백질로 이루어져 있고, 상기 단백질은 일반적으로 융합 웨티드/단백질이라 불린다. 당업자에게 알려진 프로토콜에 따르면, 이러한 핵산은 한 부분으로서 본 발명에 따른 웨티드(들)을 포함하는 재조합 단백질의 발현 및 정제에 사용되거나, 일반적으로 유전자 요법이라 불리는 치료 전략에서 적절한 운반체와 조합하여 사용될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 본 발명에 따른 웨티드를 코딩하는 핵산에 융합되는 추가의 웨티드를 코딩하는 핵산은 백신접종용 웨티드로서 사용되는 웨티드를 코딩한다. 다른 바람직한 실시태양에서, 핵산은 바람직하게는 세포 내부에서 분자 상호작용의 경쟁 억제제로서 작용하는 웨티드를 코딩한다. 다른 바람직한 실시태양에서, 핵산은 도메인이 바람직하게는 세포 내부에서 분자 상호작용의 경쟁 억제제로서 작용하는 단백질의 도메인을 코딩한다. 다른 바람직한 실시태양에서, 핵산은 바람직하게는 가수분해효소의 군으로부터 선택되는 효소를 코딩한다.

[0107] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 융합 단백질, 보다 구체적으로 본 발명에 따라 융합 단백질을 코딩하는 핵산에 의해 코딩된 융합 단백질에 관한 것이다.

[0108] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명에 따른 복합체를 포함하는 조성물, 본 발명에 따른 웨티드를 포함하는 조

성물, 본 발명에 따른 웨티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 조성물, 본 발명에 따른 웨티드 및 카르고 분자를 포함하는 조성물, 본 발명에 따른 융합 단백질을 포함하는 조성물, 이러한 융합 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 조성물, 및 인간 락토페린 및 카르고 분자를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 이러한 본 발명에 따른 조성물이 본 발명에 따른 하나 또는 수개의 웨티드, 본 발명의 하나 또는 수개의 핵산 및/또는 하나 또는 수개의 카르고 분자를 포함할 수 있는 것은 당업자의 기술에 속한다. 이와 관련하여, 용어 "수개"는 각각의 화합물 또는 분자의 여러 상이한 종을 의미하는 것이 바람직하다. 당업자라면 조성물이 전형적으로 다수의 개별 종의 본 발명의 웨티드, 이러한 웨티드를 코딩하는 핵산 및/또는 카르고 분자를 포함한다는 것을 잘 이해할 것이다. 이와 관련하여, 본 명세서에 기재된 임의의 카르고 분자가 사용될 수 있다는 것이 이해된다.

[0109] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 임의의 조성물 또는 그의 구성성분의 형질감염체, 약제 또는 진단제로서의 용도에 관한 것이다. 조성물이 약제 또는 제약 조성물로서 사용되는 경우, 바람직하게는 카르고 분자는 제약상 활성제이다. 이러한 제약상 활성제는, 예를 들어, 다우노루비신과 같은 화학요법제 또는 세포 내부에서 분자 상호작용을 간섭하는 웨티드, 또는 카르고 분자로서 본 명세서에 기재된 임의의 분자일 수 있으며, 바람직하게는 상기 카르고 분자는 제약상 활성제 또는 이러한 제약상 활성 분자의 예비성형물이다. 조성물이 진단제로서 사용되는 경우, 바람직하게는 카르고 분자는 진단 표지자이다. 이러한 진단 표지자는 병리학적으로 관련된 프로테아제, 예를 들어, 세포 내부에서 아폽토시스(apoptosis)의 개시 및 실행에 관여하는 카스파제의 활성을 검출하기 위한 형광성 기질일 수 있다.

[0110] 본 발명에 따른 웨티드가 특정 종류의 세포를 포함하는 특정 종류의 세포 또는 조직 또는 기관으로 바람직하게 전달되는 것도 본 발명의 범위 내에 있다. 바람직한 실시태양에서, 이러한 특이적 전달은, 전체가 본 명세서에서 표적화 실체로서도 지칭되는 표적화 부분 또는 표적화 분자를 통해 매개된다.

[0111] 보다 바람직한 실시태양에서, 이러한 표적화 부분은 본 발명에 따른 웨티드의 일부 또는 카르고 분자의 일부이다. 별법으로 또는 추가적으로, 이러한 표적화 부분은 본 발명에 따른 복합체 또는 조성물의 일부이다.

[0112] 표적화 실체는 바람직하게는 웨티드, 항체, 항체 단편, 단일 쇄 항체를 포함하는 단백질, 아프타머, 스피겔머 및 리간드 결합 세포 표면 수용체를 포함하는 군으로부터 선택된다. 당업자라면 원칙적으로는 표적화 실체로서 표적화를 제공하는, 상호작용 파트너의 임의의 조합의 파트너 부분 또는 분자가 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 이는 별개의 세포 종류 상에 발현되는, 보다 특히 과발현되는 수용체에 대한 리간드, 또는 별개의 세포 종류 상에 발현되는, 보다 특히 과발현되는 리간드 또는 분자의 용도를 포함한다. 후자의 경우에, 표적화 실체로서 작용하는 그들의 특히 두드러진 상호작용 파트너는 항체, 아프타머, 스피겔머, 매우 특이적인 결합 웨티드, 및 안티칼린을 포함하는 군으로부터 선택된다. 이러한 종류의 상호작용 파트너 및 특정 종류의 세포에 대한 그들의 특이성은 당업자에게 알려져 있다. 그 중에서도, ErbB2 단백질이 유방암 세포에 대해 특이적이다. 따라서, 그에 대해 지정된 항체는 적절한 표적화 실체이다.

[0113] 바람직한 실시태양에서, 표적화 부분은 카르고 분자로서 사용될 수 있는, 본 명세서에 기재된 입자 상에 또는 그 안에 포함된다. 이러한 입자의 크기로 인해, 항체와 같이 보다 큰 용적의 표적화 실체를 사용하는 것이 이러한 실시태양과 관련하여 바람직하다.

[0114] 다른 바람직한 실시태양에서, CPP, 즉, 본 발명에 따른 웨티드는 문자내적으로 CPP를 차폐하고, CPP가 CPP로서 작용하는 것을 방지하는 부분에 커플링된다. 효소적으로 절단가능한 결합이 CPP와 차폐 부분 사이에 도입된다. 이러한 문자내 차폐 방법은 CPP 노나아르기닌에 접합된 형광단의 표적화에 대해 기술되어 왔다. 노나아르기닌 CPP는 매트릭스 메탈로프로테인아제(metalloproteinases) 2 및 9에 대한 절단 부위에 상응하는 웨티드 연결기를 통해 헥사글루탐산 스트레치에 연결된다. 이를 프로테아제는 종양 세포에 의해 고농도로 분비된다. 프로테아제의 분비에 의해 종양 세포 근처에서 CPP-차폐 구조체가 선택적으로 절단되며, 이로써 CPP-카르고 구조체가 종양 세포 내로 유효하게 유입되는 것이 가능하다[참조: T. Jiang et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 101, 17867-17872, 2004]. 이 경우, 이러한 실시태양은 종양 특이적 표적화 및/또는 전달을 위한 효과적인 표적화 또는 전달을 나타낸다.

[0115] 본 발명의 제약 조성물은 당업계에 잘 알려진 방법, 예를 들어, 통상적인 혼합, 용해, 과립화, 당제화(dragee-making), 분말화, 애밀전화, 캡슐화, 봉입 또는 동결건조 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0116] 따라서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 약리적 조성물은 활성 화합물을 제약적으로 사용될 수 있는 제제로 가공시키는 것을 용이하게 하는 부형제 및 보조제를 포함하는 1개 이상의 생리적으로 허용가능한 운반체를 사용하여 통상적인 방식으로 제제화될 수 있다. 적절한 제형은 투여 경로에 따라 선택된다.

- [0117] 주사제의 경우, 본 발명의 화합물은 수용액, 바람직하게는 생리적으로 상용성인 완충액, 예컨대 헌크(Hanks's) 용액, 렁거(Ringer's) 용액, 또는 생리 식염수 완충액으로 제제화될 수 있다. 경점막 투여의 경우, 침투되는 장벽에 적절한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 당업계에 공지되어 있다.
- [0118] 표피의 침투를 촉진하는 제형은 약리학 분야에 공지되어 있으며, 많은 피부 상태, 비제한적인 예로서 건선 및 진균감염의 치료에 있어서 그의 용도를 찾을 수 있다. 표피 및 피부의 기초를 이루는 층의 침투를 촉진하는 제형 또한 공지되어 있으며, 본 발명의 조성물을 근육 또는 관절의 기초 층으로 적용하는데 사용될 수 있다. 일부 바람직한 치료적 실시태양에서, 류마티스 또는 골관절염 완화용 화합물을 전달하는 본 발명의 조성물을 포함하는 제제는 영향받은 관절을 덮는 피부에 크림, 연고 또는 젤을 도포함으로써 투여될 수 있다.
- [0119] 경구 및 비경구적 투여는 웨터드 및/또는 복합체가 장의 가혹한 단백질 분해 환경에 견디기에 충분할 정도로 안정하게 제조된 경우에 사용될 수 있다. 만일 그렇다면, 본 발명에 따른 조성물은 활성 화합물을 당업계에 공지된 제약상 허용되는 운반체와 조합함으로써 용이하게 제조될 수 있다. 이러한 운반체에 의해 본 발명의 화합물은 치료할 환자에게 경구 투여하기 위한 정제, 알약, 당제, 캡슐제, 액제, 젤, 시럽, 슬러리, 혼탁액제 등으로 제조될 수 있다. 경구용 약리적 제제는, 필요하다면, 당제 코어의 정제를 얻기 위한 적절한 보조제를 첨가한 후, 임의로는 생성 혼합물을 분쇄하고, 과립 혼합물을 가공하는 고체 부형제를 사용하여 제조될 수 있다. 적절한 부형제는, 특히, 충전제, 예컨대, 젖당, 자당, 만니톨 또는 소르비톨을 포함하는 당; 세룰로스 제제, 예를 들어, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 고무, 메틸 세룰로스, 히드록시프로필메틸-세룰로스, 나트륨 카르복시메틸세룰로스, 및/또는 폴리비닐피롤리돈 (PVP)이다. 필요하다면, 봉해제, 예컨대, 가교 폴리비닐 피롤리돈, 아가 또는 알긴산, 또는 이들의 염, 예컨대 알긴산 나트륨이 첨가될 수 있다.
- [0120] 당제 코어에 적절한 코팅이 제공될 수 있다. 이러한 목적상, 임의로는 아라비아 고무, 활석, 폴리비닐 피롤리돈, 카르보폴 젤, 폴리에틸렌 글리콜, 및/또는 이산화티타늄, 락카 용액, 및 적절한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 포함할 수 있는, 농축된 당 용액이 사용될 수 있다. 상이한 조합의 활성 화합물 용량을 확인하거나 특성화하기 위하여 염료 또는 안료가 정제 또는 당제 코팅에 첨가될 수 있다.
- [0121] 경구 투여할 수 있는 제약 조성물은 젤라틴으로 제조된 압입형(push-fit) 캡슐, 및 젤라틴과 가소제, 예컨대, 글리세롤 또는 소르비톨로 제조된 연질 밀봉 캡슐제를 포함한다. 압입형 캡슐제는 젖당과 같은 충전제, 전분과 같은 결합제, 및/또는 활석 또는 스테아르산 마그네슘과 같은 유휠제, 및 임의로는 안정화제를 포함하는 부가혼합물 중에 유효 성분을 함유할 수 있다. 연질 캡슐제에서, 활성 화합물은 적절한 액체, 예컨대 지방유, 액체 파라핀, 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜에 용해되거나 혼탁될 수 있다. 또한, 안정화제가 추가될 수 있다. 경구 투여용의 모든 제형은 이러한 투여에 적절한 투여량이어야 한다.
- [0122] 협측 투여인 경우, 조성물은 통상적인 방식으로 제조된 정제 또는 로젠지제의 형태로 투여될 수 있다. 본 발명의 소형의 웨터드 및 복합체의 경우, 이러한 것이 유용한 것으로 입증될 수 있다.
- [0123] 흡입 투여인 경우, 본 발명에 따른 조성물은 적절한 분사제, 예를 들어, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로-테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적절한 가스를 사용하여 가압된 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 분무 형태로 편리하게 전달된다. 가압된 에어로졸의 경우에, 투여량 단위는 일정한 양을 전달하는 벨브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 예를 들어 젤라틴의 캡슐제 및 카트리지는 화합물과 적절한 분말 기재, 예컨대 젖당 또는 전분의 분말 혼합물을 함유하여 제제화될 수 있다.
- [0124] 본 발명에 따른 조성물은 주사, 예를 들어, 일시 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구적 투여용으로 제제화될 수 있다. 이러한 방법에서, 특정한 기관, 조직, 종양 부위, 염증 부위 등을 표적화하는 것 또한 가능하다. 감염 용 제제는 예를 들어, 첨가된 방부제와 함께 앰풀 또는 다회-용량 용기 안에 단위 투여형으로 존재할 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히를 중 혼탁액, 용액 또는 에멀젼과 같은 형태를 취할 수 있고, 혼탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제약상 제제를 함유할 수 있다.
- [0125] 비경구적 투여용 제약 조성물은 수용성 형태로서 조성물의 수용액을 포함한다. 추가적으로, 조성물의 혼탁액은 적절한 유성 주사 혼탁액으로서 제제화될 수 있다. 적절한 친지성 용매 또는 비히클은 지방유, 예컨대, 참기름, 또는 합성 지방산 에스테르, 예컨대, 에틸 올레이아이트 또는 트리글리세리드, 또는 리포좀을 포함한다. 수성 주사 혼탁액은 혼탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대, 나트륨 카르복시메틸 세룰로스, 소르비톨, 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 임의로는, 혼탁액은 또한 적절한 안정화제 또는 고농축 용액 제제가 가능하도록 조성물의 용해도를 증가시키는 제제를 함유할 수 있다.

- [0126] 별법으로, 조성물의 1개 이상의 성분은 사용 전에 적절한 비히클, 예를 들어, 무균의 발열물질이 없는 물과 함께 구성되는 분말 형태일 수 있다.
- [0127] 조성물은 또한 예를 들어, 통상적인 좌약 기재, 예컨대 카카오 기름 또는 다른 글리세리드를 함유하는 좌약 또는 정체 관장제와 같은 직장 투여용 조성물로 제제화될 수 있다.
- [0128] 상기한 제형에 추가로, 본 발명에 따른 조성물은 또한 데포(depot) 제제로서 제제화될 수 있다. 이러한 장시간 작용 제형은 (예를 들어, 피하 또는 근육내) 이식에 의해 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 적절한 중합체성 또는 소수성 재료 (예를 들어, 허용가능한 오일 중 에멀젼으로서)과 함께, 또는 체내에서 자체 분해될 수 있거나 그렇지 않은 고체 또는 반고체 이식물의 일부로서, 또는 이온 교환 수지로 제제화될 수 있고, 또는 조성물의 하나 이상의 성분이 난용성 유도체, 예를 들어, 난용성 염으로서 제제화될 수 있다.
- [0129] 제약 조성물은 또한 적절한 고체 또는 젤상 운반체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 이러한 운반체 또는 부형제의 예로는 탄산칼슘, 인산칼슘, 각종 당, 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 및 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜이 포함되나 이에 한정되지 않는다.
- [0130] 본 발명에 사용하기에 적절한 제약 조성물을 유효 성분이 의도된 목적을 달성하기에 효과적인 양으로 함유된 조성물을 포함한다. 보다 구체적으로, 치료 유효량이란 질병의 증상을 예방, 완화 또는 개선하거나 치료받는 대상체의 생존 기간을 연장시키기에 효과적인 화합물의 양을 의미한다.
- [0131] 치료 유효량의 결정은 특히, 본 명세서에 제공된 상세한 설명을 비추어, 당업자의 능력 내에 있다.
- [0132] 본 발명의 방법에 사용되는 임의의 화합물에 있어서, 치료 유효량 또는 용량은 처음에 세포 배양 분석으로부터 추정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 세포 배양 (여기서, 억제제 분자가 관여함)에서 측정되는 것으로서 IC₅₀을 포함하는 순환 농도 범위를 달성하는 동물 모델에서 수립될 수 있다. 이러한 정보는 인간에 유용한 용량을 보다 정확하게 결정하는데 이용될 수 있다.
- [0133] 본 발명의 조성물의 독성 및 치료 효능은 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 제약 방법에 의해, 예를 들어, LD₅₀ (집단의 50 %가 치사하는 용량) 및 ED₅₀ (집단의 50%에서 치료 효과가 있는 용량)을 측정함으로써 측정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과간의 용량비가 치료 지수이며, 이는 LD₅₀과 ED₅₀간의 비로서 나타낼 수 있다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 이들 세포 배양 분석 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 인간에 사용하기 위한 투여량의 범위를 수립하는데 사용될 수 있다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 다양할 수 있다. 정확한 제형, 투여 경로 및 투여량은 환자의 조건을 고려하여 각 의사에 의해 선택될 수 있다[참조: 예를 들어, Fingl, et al., 1975, in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Ch. 1 p. 1].
- [0134] 물론, 투여되는 조성물의 양은 치료받는 대상체, 그의 몸무게, 병의 중증도, 투여 방식 및 처방의사의 판단에 따라 달라질 것이다.
- [0135] 본 발명에 따른 조성물의 펩티드를 포함하는 제약 조성물은 펩티드 및 1개 이상의 카르고 분자가 동일한 용기 안에 용액, 혼탁액, 또는 분말 형태로 있는 것과 같이 제공될 수 있다. 본 발명에 따른 펩티드는 또한 1개 이상의 카르고 분자와 별도로 제공될 수 있으며, 투여에 앞서 1개 이상의 카르고 분자와 혼합될 수 있다. 특히, 투여 경로 및 메커니즘에 따라 다양한 포장 선택 사양이 가능하며, 이는 당업자에게 알려져 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 펩티드가 1개 이상의 카르고 분자와 별도로 제공되는 경우, 조성물은, 필요하다면, 1개 초과의 챔버를 갖는 팩에 존재할 수 있으며, 장벽은 파열, 찢어짐, 또는 용해되어 본 발명에 따른 펩티드와 카르고 분자의 혼합을 제공할 수 있다. 별법으로, 2개의 별도로 제공되는 요소는 분리된 용기에서, 임의로는 1개 이상의 다른 운반체, 용액 등을 추가하여 혼합될 수 있다. 카르고 분자를 함유하는 1개 이상의 단위 투여형은 팩으로 제공될 수 있다. 팩 또는 분배 장치에는 투여에 대한 지침서가 동봉될 수 있다. 상용성인 제약 운반체로 제제화된 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 또한 제조된 후, 적절한 용기에 놓이고, 명시된 조건의 치료용으로 라벨링될 수 있다. 라벨에 명시되는 적절한 조건은 본 발명에 따른 조성물을 사용하여 치료, 예방 또는 진단될 수 있는 임의의 질병을 포함할 수 있다. 특히, 본 발명은 이상적으로는 유전자 요법에 적합하다.
- [0136] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 환자의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

- [0137] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 투여하거나 사용하는 것을 포함하는, 환자의 진단 방법에 관한 것이다.
- [0138] 본 발명에 따른 웨티드를 코딩하는 이러한 핵산을 백신 또는 백신의 일부로서 사용할 수 있는 경우도 본 발명의 범위 내에 있다. 바람직하게는, 백신은 숙주 유기체에서 면역 반응을 유발시키기에 적절한 항원을 코딩하는 핵산, 보다 바람직하게는 RNA를 포함하며, 이로써 본 발명에 따른 웨티드를 코딩하는 핵산 및 이러한 항원을 코딩하는 핵산이 상기 숙주 유기체로 투여된다. 이러한 투여는 별도로 또는 조합 방식으로 행해질 수 있다. 추가의 실시태양에서, 각각의 핵산은 벡터, 보다 바람직하게는 상기 숙주 유기체에서 핵산(들)의 발현을 가능하게 하는 발현 벡터에 함유되거나 포함될 수 있다. 이러한 벡터, 특히 이러한 발현 벡터의 추가 요소는 당업자에게 알려져 있으며, 특히 하나 또는 수개의 하기 요소를 포함한다: 프로모터, 인핸서 및 터미네이터. 항원은 바람직하게는 본 발명에 따른 백신으로 치료 또는 예방되는 질병과 관련된 항원이다. 추가로, 백신은 또한 소위 아쥬반트 효과를 발휘하는 구성성분 및 T 보조(T helper) 세포 반응의 개시제로서 작용하는 것을 함유할 수 있다.
- [0139] 추가의 실시태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물 및 임의로는 포함하는 군으로부터 선택되는 하나 또는 여러 요소를 포함하는, 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 형질감염용 키트에 관한 것이다.
- [0140] 이하, 본 발명은 추가의 특징, 실시태양 및 잇점을 제공하는 하기 도면 및 실시예를 참조로 하여 추가로 설명된다. 특히, 도면에 대한 설명은 다음과 같다.

실시예

- [0148] **실시예 1: 실험 방법**
- [0149] **세포 및 시약.** 인간 자궁경부암 세포주 HeLa를 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection; Manassas, VA)으로부터 입수하였다. HeLa 세포를 10% 소태아 혈청(팬 바이오텍(PAN Biotech))이 보충된, 안정화된 글루타민 및 2.0 g/L NaHCO₃ (팬 바이오텍, Aidenbach, Germany)를 포함하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 클로르프로마진을 칼바이오켐(Calbiochem; Bad Soden, Germany)으로부터 입수하고, 5-(N-에틸-N-이소프로필)아밀로라이드(EIPA), 메틸-β-시클로덱스트린(MβCD) 및 MTT [3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드]를 시그마(Sigma; Deisenhofen, Germany)로부터 입수하였다.
- [0150] **웨티드 합성.** 웨티드를 EMC 마이크로콜렉션스(EMC microcollections; Tubingen, Germany)로부터 구입하였다. 모든 웨티드의 순도를 분석용 HPLC로 측정하였다. 웨티드의 동일성을 MALDI-TOF 질량 분석법으로 확인하였다. 순도가 85% 미만인 웨티드를 정제용 HPLC로 정제하였다. 사용되는 모든 웨티드의 순도는 95% 초과(214 nm HPLC)이었다. 웨티드를 상기한 바와 같이 카르복시플루오레세인으로 N-말단 표지하였다[참조: Fischer et al., Bioconjugate Chem. 14, 653-660, 2003].
- [0151] **웨티드 스톡 용액.** 웨티드를 10 mM의 농도로 DMSO 중에 용해시켰다. 이러한 스톡 용액을 PBS 또는 배지 중에서 추가로 희석하였다. DMSO 스톡 용액의 웨티드 농도는 492 nm에서 흡광도를 측정하고, 75,000 L/(mol·cm)의 카르복시플루오레세인의 몰 흡광계수를 추정하여, 0.1 M 트리스/HCl 완충액(pH 8.8) 중 1 : 100 희석의 UV/VIS-분광법에 의해 카르복시플루오레세인의 흡수를 기초로 측정하였다.
- [0152] **유세포측정.** 웨티드 부하량의 효율성을 측정하기 위하여, HeLa 세포를 RPMI 1640를 함유하는 혈청 중 24-웰 플레이트(Sarstedt, Nuembrecht, Germany)에서 웰 당 50,000의 농도로 접종(seed) 하였다. 1일 후, 세포를 배지로 세척하고, 웨티드를 적절한 농도로 함유하는 300 μL RPMI 1640에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 각 조건을 3회 반복하여 시험하였다. 인큐베이션 후, 세포를 배지로 세척하고, 5 분 동안 트립신처리에 의해 박리시키고, 냉장 PBS 함유 0.1% (w/v) BSA 중에서 혼탁시키고, 유세포측정법(BD FACS Calibur System, Becton Dickinson, Heidelberg, Germany)에 의해 즉시 측정하였다. 각 경우에, 형광의 7,000개의 생체 세포가 수득되었다. 생체 세포는 측방 및 전방 산란을 기초로 하여, 게이트로 제어하였다(gated).
- [0153] **실시예 2: 인간 및 소 락토페린으로부터 유래한 웨티드의 유입 효율성**
- [0154] 인간 및 소 락토페린-유래 웨티드를 고체상 웨티드 합성에 의해 합성하였다. 살아있는 세포에서 유입 및 세포 하 분포를 검출하기 위하여, 카르복시플루오레세인을 사용하여 양쪽 웨티드의 N-말단을 표지하였다. 락토페린-유래 웨티드가 세포-침투성 웨티드로서의 활성을 갖는지 여부를 측정하기 위하여, bLF-웨티드 또는 hLF-웨티드와 함께 인큐베이션한 HeLa 세포에서 세포-관련 형광을 유세포측정법으로 측정하였다. Antp 및 Tat-웨티드를 비교용 수립(well-established) CPP로서 선택하였다.

[0155] 4개의 모든 웨티드에 있어서, 유세포측정법에 의해 측정된 세포 형광은 도 1에 나타낸 바와 같이 웨티드 농도가 증가함에 따라 증가하였다.

실시예 3: 구조-활성 관계

[0157] 22개의 아미노산을 포함하는, hLF-웨티드는 중간 길이의 CPP이다. 노나아르기닌은 단지 9개의 아미노산, 잘 알려진(popular) CPP 트랜스포르탄 27을 갖는다. 7개의 양이온성 아미노산 중 4개 및 방향족 아미노산은 시스테인 잔기 내에 배열된(nested) 서열에 국소 배치된다. 전체 길이의 단백질에서, 이들 시스테인 잔기는 도메인을 루프(loop) 입체형태로 구속하는 디슬피드 가교를 형성한다. 또한, 말단 시스테인-잔기가 결여된 말단절단형 웨티드 (LF1 및 LF2, 표 1)의 세포내 유입을 시험하였으며, 시스테인 잔기를 함유하는 것들과 비교하였다.

표 1. 본 연구에 사용된 웨티드의 1차 구조.

[0159] 모든 웨티드를 웨티드 아미드로서 합성하였다. 플루오(Fluo)는 5(6)-카르복시플루오레세인을 나타내며, CONH₂는 웨티드의 아미드화(amidated) C-말단을 나타낸다.

항목 (Entry)	웨티드	서열
1	Tat- 웨티드	플루오-YGRKKRRQRRR-CONH ₂
2	Antp- 웨티드	플루오-RQIKIWFQNRRMKWKK-CONH ₂
3	hLF- 웨티드	플루오-KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR-CONH ₂
4	bLF- 웨티드	플루오-PEWFKCRRWQWRMKKLGA-CONH ₂
5	LF1- 웨티드	플루오-FQWQRNMRKVRGPPVS-CONH ₂
6	LF2- 웨티드	플루오-FQWQRNMRKVVR-CONH ₂

[0160]

[0161] 결과를 도 5에 나타내었다.

[0162] 시스테인이 결여된 양쪽 웨티드의 유입은 2개의 시스테인 잔기를 함유하는 hLF-웨티드의 유입의 약 10분의 1에 지나지 않았다.

실시예 4: hLF-웨티드의 세포독성

[0164] 상기한 실험에서, 40 μM 이하의 hLF-웨티드의 농도 범위를 사용하였을 때 세포독성 효과가 관찰되지 않았다. 그러나, 웨티드 유입의 살아있는 세포 현미경검사를 위하여, 주로 1시간 미만의 다소 짧은 인큐베이션 시간이 이용되었다. 따라서, 보다 긴 인큐베이션 시간 및 보다 높은 농도에 있어서 웨티드가 세포 생존성에 영향을 미치는지 여부 또한 시험하였다. HeLa 세포를 1.25 μM 내지 최대 160 μM 범위의 농도로 hLF-웨티드와 함께 6 또는 0.5 시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후, MTT 시험법을 사용하여 세포 생존성을 측정하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0165] 세포를 웨티드와 함께 단지 30분 동안 인큐베이션한 경우, 40 μM 이하의 농도에 대하여 세포독성이 관찰되지 않았다. 6시간 후, 웨티드 농도가 5 μM 초과인 경우에 세포 생존성이 약간 감소하였다. 40 μM 초과의 농도에서 모든 세포는 사멸하였다.

[0166] 상세한 설명에 개시된 본 발명의 특징, 서열 리스트, 청구범위 및/또는 도면은 별도로 및 그들의 임의의 조합으로 본 발명을 그의 다양한 형태로 이해하기 위한 자료일 수 있다.

도면의 간단한 설명

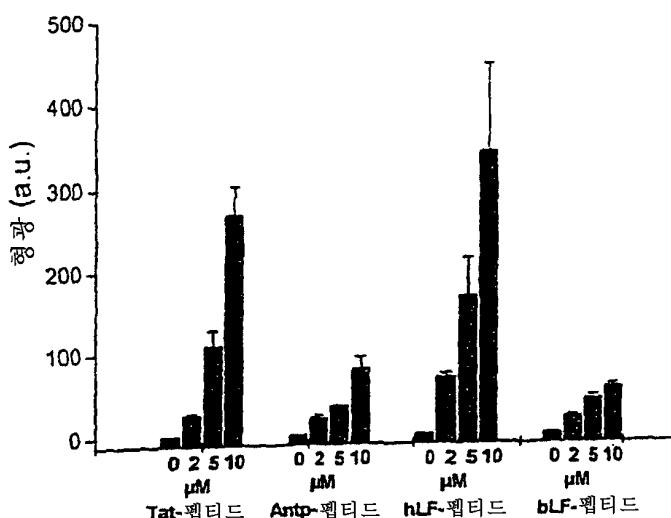
[0141] 도 1은 N-말단이 카르복시플루오레세인으로 표지된 다양한 CPP의 농도 의존 유입을 세포-관련 형광의 정도로서 나타낸 도표이며, hLF-웨티드는 서열 1에 따른 아미노산 38 내지 59로 이루어진 웨티드를 지칭하고, bLF-웨티드는 서열 2에 따른 아미노산 아미노산 33 내지 50로 이루어진 웨티드를 지칭하며, 세포 관련 형광은 유세포측정법에 의해 측정하였다;

[0142] 도 2는 다양한 농도에서 인간 락토페린-유래 웨티드 및 소 락토페린-유래 웨티드 (도 1 참조)의 세포내 분포의 농도 의존성을 나타내는, 동초점 레이저 주사 현미경검사에 의해 얻은 일련의 현미경사진을 나타낸 것이다.

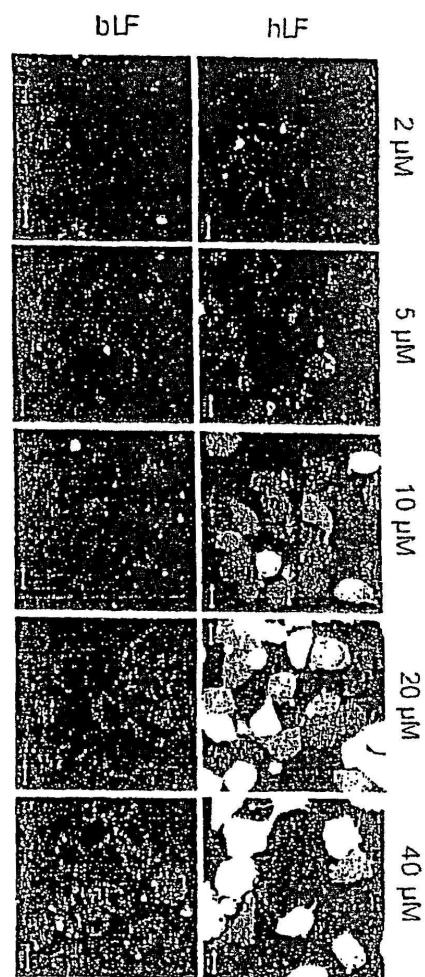
- [0143] 도 3A는 플루오레세인-표지된 hLF-펩티드 (도 1에 따른 펩티드 서열)의 유입에 대한 다양한 세포내이입 억제제의 영향을 나타낸 도표이며, 플루오레세인-hLF 농도는 5 μM (EIPA, 5-(N-에틸-N-이소프로필)아밀로라이드; M β CD, 메틸- β -시클로덱스트린; CPZ, 클로르프로마진)이고; 유입은 유세포측정법에 의해 측정하였다. 에러 바(error bar)는 3회 반복 값의 평균 편차를 나타낸 것이다.
- [0144] 도 3B는 플루오레세인-표지된 hLF-펩티드 (도 1에 따른 펩티드 서열)의 유입에 대한 다양한 세포내이입 억제제의 영향을 나타낸 것이며, hLF 농도는 20 μM 이다.
- [0145] 도 4는 2 또는 20 μM 의 펩티드 농도에서 플루오레세인-표지된 hLF-펩티드의 HeLa 세포 내로의 유입에 대한 세포내이입 억제제의 영향을 나타내는, 동초점 레이저 주사 혼미경검사에 의해 얻은 사진을 나타낸 것이다.
- [0146] 도 5는 서열 1에 따른 아미노산 38 내지 59에 상응하는 플루오레세인-표지된 hLF 펩티드의 유입의 정도를 서열 1에 따른 아미노산 40 내지 55 (LF1-펩티드) 및 서열 1에 따른 아미노산 40 내지 50 (LF2-펩티드)에 상응하는 구조-활성 관계를 설명하는 말단절단형(truncated form)과 비교하여 나타낸 도표이다.
- [0147] 도 6은 상이한 인큐베이션 시간 동안 인큐베이션한 HeLa 세포에 대한 플루오레세인-표지된 hLF 펩티드의 다양한 농도에서의 hLF 펩티드의 세포독성을 세포 생존력(%)으로 나타낸 도표이다. 막대의 각 쌍에 있어서, 첫번째 막대는 6시간 동안 펩티드와 함께 인큐베이션한 세포에 관한 것이고, 두번째 막대는 0.5시간 동안 펩티드와 함께 인큐베이션한 세포에 관한 것이다.

도면

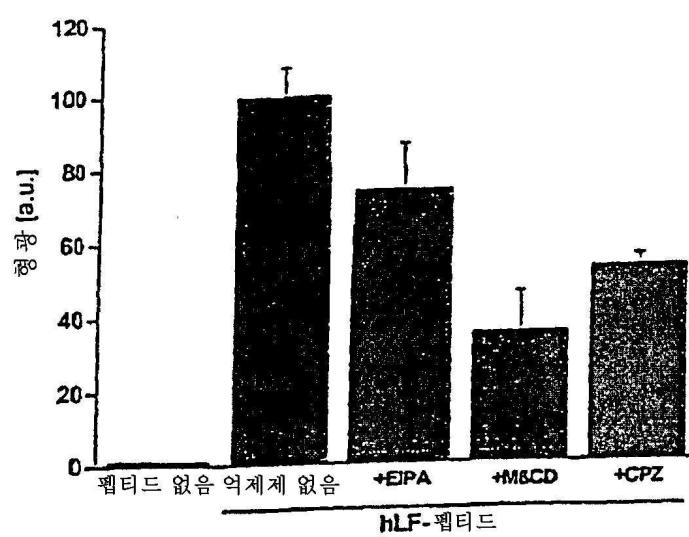
도면1



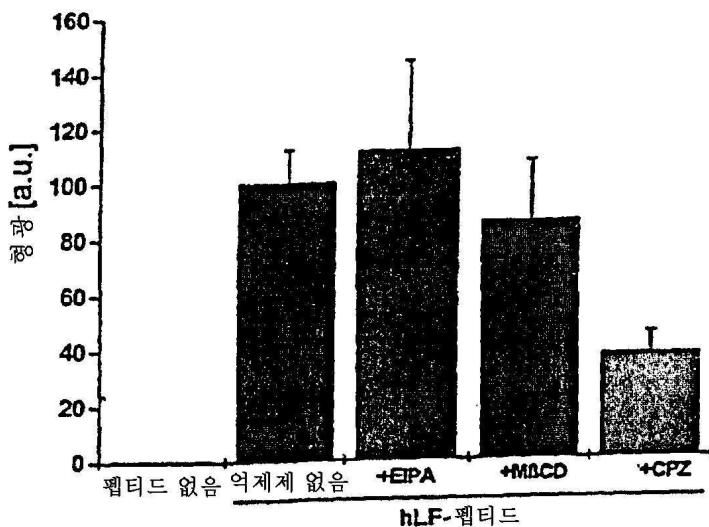
도면2



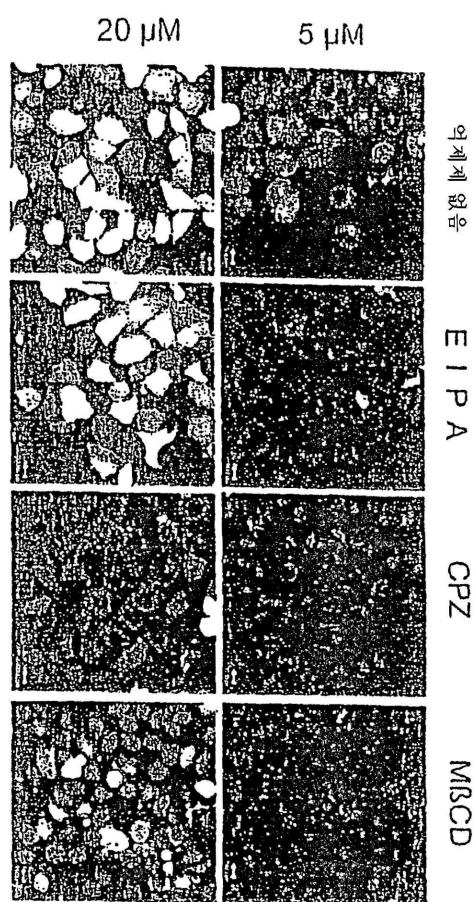
도면3A



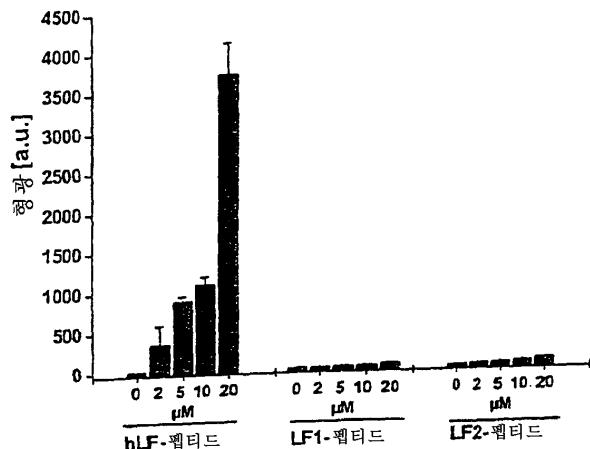
도면3B



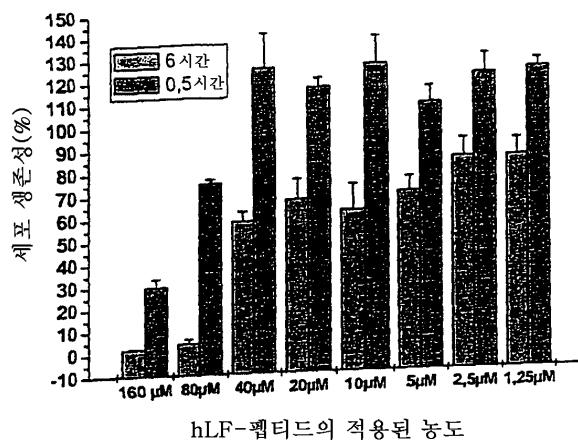
도면4



도면5



도면6



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Eberhard Karls Universit? T?ingen

<120> Peptides useful as cell-penetrating peptides

<130> 205ut01.wo

<150> EP 05028755.6

<151> 2005-12-30

<160> 30

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 711

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (1)..(711)

<223> human lactoferrin

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 1

Met Lys Leu Val Phe Leu Val Leu Leu Phe Leu Gly Ala Leu Gly Leu
 1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Arg Arg Arg Ser Val Gln Trp Cys Ala Val Ser
 20 25 30

Gln Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys
 35 40 45

Val Arg Gly Pro Pro Val Ser Cys Ile Lys Arg Asp Ser Pro Ile Gln
 50 55 60

Cys Ile Gln Ala Ile Ala Glu Asn Arg Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp
 65 70 75 80

Gly Gly Phe Ile Tyr Glu Ala Gly Leu Ala Pro Tyr Lys Leu Arg Pro
 85 90 95

Val Ala Ala Glu Val Tyr Gly Thr Glu Arg Gln Pro Arg Thr His Tyr
 100 105 110

Tyr Ala Val Ala Val Val Lys Lys Gly Gly Ser Phe Gln Leu Asn Glu
 115 120 125

Leu Gln Gly Leu Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Arg Arg Thr Ala Gly
 130 135 140

Trp Asn Val Pro Ile Gly Thr Leu Arg Pro Phe Leu Asn Trp Thr Gly
 145 150 155 160

Pro Pro Glu Pro Ile Glu Ala Ala Val Ala Arg Phe Phe Ser Ala Ser
 165 170 175

Cys Val Pro Gly Ala Asp Lys Gly Gln Phe Pro Asn Leu Cys Arg Leu
 180 185 190

Cys Ala Gly Thr Gly Glu Asn Lys Cys Ala Phe Ser Ser Gln Glu Pro
 195 200 205

Tyr Phe Ser Tyr Ser Gly Ala Phe Lys Cys Leu Arg Asp Gly Ala Gly
 210 215 220

Asp Val Ala Phe Ile Arg Glu Ser Thr Val Phe Glu Asp Leu Ser Asp
 225 230 235 240

Glu Ala Glu Arg Asp Glu Tyr Glu Leu Leu Cys Pro Asp Asn Thr Arg
 245 250 255

Lys Pro Val Asp Lys Phe Lys Asp Cys His Leu Ala Arg Val Pro Ser
 260 265 270

His Ala Val Val Ala Arg Ser Val Asn Gly Lys Glu Asp Ala Ile Trp
 275 280 285

Asn Leu Leu Arg Gln Ala Gln Glu Lys Phe Gly Lys Asp Lys Ser Pro
 290 295 300

Lys Phe Gln Leu Phe Gly Ser Pro Ser Gly Gln Lys Asp Leu Leu Phe
 305 310 315 320

Lys Asp Ser Ala Ile Gly Phe Ser Arg Val Pro Pro Arg Ile Asp Ser
 325 330 335

Gly Leu Tyr Leu Gly Ser Gly Tyr Phe Thr Ala Ile Gln Asn Leu Arg
 340 345 350

Lys Ser Glu Glu Glu Val Ala Ala Arg Arg Ala Arg Val Val Trp Cys
 355 360 365

Ala Val Gly Glu Gln Glu Leu Arg Lys Cys Asn Gln Trp Ser Gly Leu
 370 375 380

Ser Glu Gly Ser Val Thr Cys Ser Ser Ala Ser Thr Thr Glu Asp Cys
 385 390 395 400

Ile Ala Leu Val Leu Lys Gly Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly
 405 410 415

Gly Tyr Val Tyr Thr Ala Gly Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala
 420 425 430

Glu Asn Tyr Lys Ser Gln Gln Ser Ser Asp Pro Asp Pro Asn Cys Val
 435 440 445

Asp Arg Pro Val Glu Gly Tyr Leu Ala Val Ala Val Val Arg Arg Ser
 450 455 460

Asp Thr Ser Leu Thr Trp Asn Ser Val Lys Gly Lys Lys Ser Cys His
 465 470 475 480

Thr Ala Val Asp Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met Gly Leu Leu
 485 490 495

Phe Asn Gln Thr Gly Ser Cys Lys Phe Asp Glu Tyr Phe Ser Gln Ser
 500 505 510

Cys Ala Pro Gly Ser Asp Pro Arg Ser Asn Leu Cys Ala Leu Cys Ile
 515 520 525

Gly Asp Glu Gln Gly Glu Asn Lys Cys Val Pro Asn Ser Asn Glu Arg
 530 535 540

Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Ala Glu Asn Ala Gly
 545 550 555 560

Asp Val Ala Phe Val Lys Asp Val Thr Val Leu Gln Asn Thr Asp Gly
 565 570 575

Asn Asn Asn Glu Ala Trp Ala Lys Asp Leu Lys Leu Ala Asp Phe Ala
 580 585 590

Leu Leu Cys Leu Asp Gly Lys Arg Lys Pro Val Thr Glu Ala Arg Ser
 595 600 605

Cys His Leu Ala Met Ala Pro Asn His Ala Val Val Ser Arg Met Asp
 610 615 620

Lys Val Glu Arg Leu Lys Gln Val Leu Leu His Gln Gln Ala Lys Phe
 625 630 635 640

Gly Arg Asn Gly Ser Asp Cys Pro Asp Lys Phe Cys Leu Phe Gln Ser
 645 650 655

Glu Thr Lys Asn Leu Leu Phe Asn Asn Thr Glu Cys Leu Ala Arg
 660 665 670

Leu His Gly Lys Thr Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Pro Gln Tyr Val
 675 680 685

Ala Gly Ile Thr Asn Leu Lys Lys Cys Ser Thr Ser Pro Leu Leu Glu
 690 695 700

Ala Cys Glu Phe Leu Arg Lys
 705 710

<210> 2

<211> 708

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (1)..(108)

<223> bovine lactoferrin

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 2

Met	Lys	Leu	Phe	Val	Pro	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly	Ala	Leu	Gly	Leu
1															

Cys	Leu	Ala	Ala	Pro	Arg	Lys	Asn	Val	Arg	Trp	Cys	Thr	Ile	Ser	Gln
20															

Pro	Glu	Trp	Phe	Lys	Cys	Arg	Arg	Trp	Gln	Trp	Arg	Met	Lys	Lys	Leu
35															

Gly	Ala	Pro	Ser	Ile	Thr	Cys	Val	Arg	Arg	Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys
50															

Ile	Arg	Ala	Ile	Ala	Glu	Lys	Ala	Asp	Ala	Val	Thr	Leu	Asp	Gly
65														

Gly Met Val Phe Glu Ala Gly Arg Asp Pro Tyr Lys Leu Arg Pro Val
85 90 95

Ala Ala Glu Ile Tyr Gly Thr Lys Glu Ser Pro Gln Thr His Tyr Tyr
 100 105 110

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Gly Ser Asn Phe Gln Leu Asp Gln Leu
115 120 125

Gln Gly Arg Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
 130 135 140

Ile	Ile	Pro	Met	Gly	Ile	Leu	Arg	Pro	Tyr	Leu	Ser	Trp	Thr	Glu	Ser
145					150					155					160

Leu Glu Pro Leu Gln Gly Ala Val Ala Lys Phe Phe Ser Ala Ser Cys
 165 170 175

Val Pro Cys Ile Asp Arg Gln Ala Tyr Pro Asn Leu Cys Gln Leu Cys
180 185 190

Lys Gly Glu Gly Glu Asn Gln Cys Ala Cys Ser Ser Arg Glu Pro Tyr
195 200 205

Phe Gly Tyr Ser Gly Ala Phe Lys Cys Leu Gln Asp Gly Ala Gly Asp
 210 215 220

Val	Ala	Phe	Val	Lys	Glu	Thr	Thr	Val	Phe	Glu	Asn	Leu	Pro	Glu	Lys
225				230					235					240	

A1a Asp Arg Asp Gln Tyr Glu Leu Leu Cys Leu Asn Asn Ser Arg Ala
245 250 255

Pro Val Asp Ala Phe Lys Glu Cys His Leu Ala Gln Val Pro Ser His
 260 265 270

Ala Val Val Ala Arg Ser Val Asp Gly Lys Glu Asp Leu Ile Trp Lys
 275 280 285

Leu Leu Ser Lys Ala Gln Glu Lys Phe Gly Lys Asn Lys Ser Arg Ser
 290 295 300

Phe Gln Leu Phe Gly Ser Pro Pro Gly Gln Arg Asp Leu Leu Phe Lys
 305 310 315 320

Asp Ser Ala Leu Gly Phe Leu Arg Ile Pro Ser Lys Val Asp Ser Ala
 325 330 335

Leu Tyr Leu Gly Ser Arg Tyr Leu Thr Thr Leu Lys Asn Leu Arg Glu
 340 345 350

Thr Ala Glu Glu Val Lys Ala Arg Tyr Thr Arg Val Val Trp Cys Ala
 355 360 365

Val Gly Pro Glu Glu Gln Lys Lys Cys Gln Gln Trp Ser Gln Gln Ser
 370 375 380

Gly Gln Asn Val Thr Cys Ala Thr Ala Ser Thr Thr Asp Asp Cys Ile
 385 390 395 400

Val Leu Val Leu Lys Gly Glu Ala Asp Ala Leu Asn Leu Asp Gly Gly
 405 410 415

Tyr Ile Tyr Thr Ala Gly Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu
 420 425 430

Asn Arg Lys Ser Ser Lys His Ser Ser Leu Asp Cys Val Leu Arg Pro
 435 440 445

Thr Glu Gly Tyr Leu Ala Val Ala Val Val Lys Lys Ala Asn Glu Gly
 450 455 460

Leu Thr Trp Asn Ser Leu Lys Asp Lys Lys Ser Cys His Thr Ala Val
 465 470 475 480

Asp Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met Gly Leu Ile Val Asn Gln
 485 490 495

Thr Gly Ser Cys Ala Phe Asp Glu Phe Phe Ser Gln Ser Cys Ala Pro
 500 505 510

Gly Ala Asp Pro Lys Ser Arg Leu Cys Ala Leu Cys Ala Gly Asp Asp
 515 520 525

Gln Gly Leu Asp Lys Cys Val Pro Asn Ser Lys Glu Lys Tyr Tyr Gly
 530 535 540

Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Ala Glu Asp Val Gly Asp Val Ala
 545 550 555 560

Phe Val Lys Asn Asp Thr Val Trp Glu Asn Thr Asn Gly Glu Ser Thr
 565 570 575

Ala Asp Trp Ala Lys Asn Leu Asn Arg Glu Asp Phe Arg Leu Leu Cys
 580 585 590

Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Thr Glu Ala Gln Ser Cys His Leu
 595 600 605

Ala Val Ala Pro Asn His Ala Val Val Ser Arg Ser Asp Arg Ala Ala
 610 615 620

His Val Lys Gln Val Leu Leu His Gln Gln Ala Leu Phe Gly Lys Asn
 625 630 635 640

Gly Lys Asn Cys Pro Asp Lys Phe Cys Leu Phe Lys Ser Glu Thr Lys
 645 650 655

Asn Leu Leu Phe Asn Asp Asn Thr Glu Cys Leu Ala Lys Leu Gly Gly
 660 665 670

Arg Pro Thr Tyr Glu Glu Tyr Leu Gly Thr Glu Tyr Val Thr Ala Ile
 675 680 685

Ala Asn Leu Lys Lys Cys Ser Thr Ser Pro Leu Leu Glu Ala Cys Ala
 690 695 700

Phe Leu Thr Arg
 705

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 3

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
 1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
 20

<210> 4

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 4

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 5

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Synthetic

<400> 6

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 7

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 7

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Val Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
20

<210> 8

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 8

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
20

<210> 9

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> norvaline

<400> 9

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
20

<210> 10

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 10

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
20

<210> 11

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 11

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Val Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 12

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 12

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 13

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> norvaline

<400> 13

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 14

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 14

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> norleucine

<400> 15

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val
1 5 10 15

Ser Cys

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 16

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Val Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 17

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> norvaline

<400> 18

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 19

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> nor leucine

<400> 20

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro Val Ser
1 5 10 15

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 21

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Val Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Synthetic

<400> 22

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> norvaline

<400> 23

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 24

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> norleucine

<400> 25

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg
1 5 10

<210> 26

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<221> misc_feature

<223> Synthetic

<400> 26

aatggcaaag gaatatgaga aaagtgcgtg gccctcctgt cagctgcata 60

aagaga 66

<210> 27

<211> 2136

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> human lactoferrin

<400> 27

atgaaacttg tcttcctcg t cctgctgtt c ctggggccc tcggactgtg tctggctggc 60

cgtaggagaa ggagtgttca gtggtgccgc g t atccaaac ccgaggccac aaaatgctt c 120

caatggcaaa ggaatatgag aaaagtgcgt ggcctcctg tcagctgcat aaagagagac 180

tcccccatcc agtgtatcca ggcattgcg gaaaacaggg ccgatgctgt gaccctttagt 240

ggtggttca tatacgaggc aggcctggcc ccctacaaac tgacgtgtt agcggcgaa 300

gtctacggga ccgaaagaca gccacgaact cactattatg ccgtggctgt ggtgaagaag 360

ggcggcagct ttcaactgaa cgaactgcaa ggtctgaagt cctgcacac acggcattcgc 420

aggaccgctg gatgaaatgt ccctacaggg acacttcgtc cattttgaa ttggacgggt 480

ccacctgagc ccattgaggc agctgtggcc aggttcttct cagccagctg tgttcccggt 540

gcagataaaag gacagtccc caacctgtgt cgccctgtgt cggggacagg ggaaaacaaa 600

tgtgcctct cctccaggaa accgtacttc agctactctg gtgccttcaa gtgtctgaga	660
gacggggctg gagacgtggc tttatcaga gagagcacag tgtttgagga cctgtcagac	720
gaggctgaaa gggacgagta tgagttactc tgcccagaca acactcgaa gccagtggac	780
aagttcaaaag actgccatct ggccgggtc ccttctcatg ccgttgtggc acgaagtgtg	840
aatggcaagg aggatgccat ctggaatctt ctccgcccagg cacagaaaaa gtttgaaag	900
gacaagtcac cgaaattcca gcttttggc tcccctagtg ggcagaaaga tctgctttc	960
aaggactctg ccattgggtt ttgcagggtg ccccgagga tagattctgg gctgtacctt	1020
ggctccggct acttcaactgc catccagaac ttgagaaaaa gtgaggagga agtggctgcc	1080
cggcgtgcgc gggtcgtgtg gtgtcggtg ggcgagcagg agctgcgcaa gtgtaccag	1140
tggagtggct tgagcgaagg cagcgtgacc tgctcctcg cctccaccac agaggactgc	1200
atgcacctgg tgctgaaagg agaagctgat gccatgagtt tggatggagg atatgttac	1260
actgcatgca aatgtggttt ggtgcctgtc ctggcagaga actacaaatc ccaacaaggc	1320
agtgaccctg atcctaactg tgtggataga cctgtggaag gatatctgc tgtggcggtg	1380
gttaggagat cagacactag ctttacctgg aactctgtga aaggcaagaa gtcctgccac	1440
accggcggtgg acaggactgc aggctggaat atccccatgg gcctgcttt caaccagacg	1500
ggctcctgca aatttgcata atatttgcgtt caaagctgtg cccctgggtc tgacccgaga	1560
tctaatctct gtgcctgtg tattggcgac gaggcagggtg agaataagtgcgtgcac	1620
agcaacgaga gataactacgg ctacactggg gctttccggc gcctggctga gaatgctgga	1680
gacgttgcatttgtgaaaga tgtcaactgtc ttgcagaaca ctgatggaaa taacaatgag	1740
gcatgggcta aggattgaa gctggcagac ttgcgcgtc tgtgcctcga tggcaaacgg	1800

aaggctgtga ctgaggctag aagctgccat cttgccatgg ccccgaatca tgccgttgt 1860

tctcgatgg ataagggtgaa acgcctgaaa caggtgctgc tccaccaaca ggctaaattt 1920

gggagaaatg gatctgactg cccggacaag tttgcttat tccagtctga aaccaaaaac 1980

cttctgttca atgacaacac tgagtgtctg gccagactcc atggcaaaac aacatatgaa 2040

aatatttg gaccacagta tgtcgcaggc attactaatc tgaaaaagtg ctcaacctcc 2100

ccccctctgg aaggctgtga attcctcagg aagtaa 2136

<210> 28

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> norleucine

<400> 28

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Xaa Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1 5 10 15

Val Ser Cys Ile Lys Arg
20

<210> 29

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Synthetic

<400> 29

Lys Cys Arg Arg Trp Gln Trp Arg Met Lys Lys Leu Gly Ala Pro Ser
1 5 10 15

Ile Thr Cys Val Arg Arg
20

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Synthetic

<400> 30

Cys Arg Arg Trp Gln Trp Arg Met Lys Lys Leu Gly Ala Pro Ser Ile
1 5 10 15

Thr Cys