



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년09월30일

(11) 등록번호 10-2307276

(24) 등록일자 2021년09월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/12 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 38/45 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 9/12 (2013.01)
A61K 38/1709 (2020.05)
- (21) 출원번호 10-2016-7026521
- (22) 출원일자(국제) 2015년02월27일
 심사청구일자 2020년02월27일
- (85) 번역문제출일자 2016년09월26일
- (65) 공개번호 10-2017-0002372
- (43) 공개일자 2017년01월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2015/000999
- (87) 국제공개번호 WO 2015/128746
 국제공개일자 2015년09월03일
- (30) 우선권주장
 61/946,280 2014년02월28일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 The Journal of Neuroscience, 2010, Vol.30,
 No.38, pp.12777-12786
 Molecular Therapy, 2008, Vol.17, No.2,
 pp.334-342
- (73) 특허권자
 알마마 테르 스튜디오룸 유니베르시타 ‘ 디 볼로
 나
 이탈리아, 볼로냐 I-40126, 비아 잠보니 33
- (72) 발명자
 치아니, 엘리자베타
 이탈리아 아이-40126 볼로냐 비아 벨라코스타
 40/2
 라콘, 프랑코
 오스트리아 에이-2000 스토크라우 카를 루즈 스트
 라쎄 18
- (74) 대리인
 양영준, 이윤기

전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 TATK-CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물, 제형 및 용도

(57) 요약

TATk-CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 제형이 본 명세서에 개시된다. 또한, TATk-CDKL5 cDNA를 함유하는 벡터로부터의 TATk-CDKL5 융합 단백질의 생성 방법 및 TATk-CDKL5 cDNA를 함유하는 벡터 및 TATk-CDKL5 융합 단백질을 사용한 세포의 형질도입 방법이 개시된다.

(52) CPC특허분류

A61K 38/45 (2013.01)

C07K 14/4737 (2013.01)

C07K 14/4738 (2013.01)

C12Y 207/11022 (2013.01)

C07K 2319/01 (2013.01)

C07K 2319/10 (2013.01)

C07K 2319/41 (2013.01)

C07K 2319/60 (2013.01)

C12N 2501/405 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 16을 포함하는 CDKL5 폴리펩티드 서열; 및

SEQ ID NO: 4를 포함하는 TATk 폴리펩티드 서열

을 포함하고, 상기 TATk 폴리펩티드가 상기 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합되는 융합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, Igk-쇄 리더 서열 폴리펩티드를 추가로 포함하는 융합 단백질로서, 상기 Igk-쇄 리더 서열이 상기 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합되는 융합 단백질.

청구항 3

제1항에 있어서, 리포터 단백질 폴리펩티드를 추가로 포함하는 융합 단백질로서, 상기 리포터 단백질 폴리펩티드가 상기 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합되는 융합 단백질.

청구항 4

제1항에 있어서, 단백질 태그 폴리펩티드를 추가로 포함하는 융합 단백질로서, 상기 단백질 태그 폴리펩티드가 상기 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합되는 융합 단백질.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 융합 단백질이 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 또는 SEQ ID NO: 14에 따른 폴리펩티드 서열을 갖는 융합 단백질.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 융합 단백질이 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 신경돌기(neurite) 성장, 신장, 분지수 또는 분지 밀도를 증가시키는 융합 단백질.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 융합 단백질이 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 뉴런 아포토시스(apoptosis)를 감소시키는 융합 단백질.

청구항 8

치료적 유효량의 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 융합 단백질; 및

약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, CDKL5 결핍, 레트 증후군(Rett syndrome), 또는 CDKL5 돌연변이 또는 결핍에 의해 야기된 비전형 레트 증후군의 치료에 사용하기 위한 약제학적 제형.

청구항 9

SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 16을 포함하는 CDKL5 폴리펩티드 서열을 코딩하는 CDKL5 핵산 서열; 및

SEQ ID NO: 4를 포함하는 TATk 폴리펩티드 서열을 코딩하는 TATk 핵산 서열

을 포함하고, (i) 상기 TATk 핵산 서열이 상기 CDKL5 핵산 서열에 작동 가능하게 결합되거나, (ii) 상기 TATk 폴리펩티드 서열이 상기 CDKL5 폴리펩티드 서열에 작동 가능하게 결합되거나, 또는 (iii) 상기 TATk 핵산 서열이 상기 CDKL5 핵산 서열에 작동 가능하게 결합되고 상기 TATk 폴리펩티드 서열이 상기 CDKL5 폴리펩티드 서열에 작동 가능하게 결합되는 재조합 핵산.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 CDKL5 핵산 서열이 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 15를 포함하는 재조합 핵산.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 TATk 핵산 서열이 SEQ ID NO: 3을 포함하는 재조합 핵산.

청구항 12

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 신경돌기(neurite) 성장, 신장, 분지수 또는 분지 밀도를 증가시키는 융합 단백질을 코딩하는 재조합 핵산.

청구항 13

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 뉴런 아포토시스(apoptosis)를 감소시키는 융합 단백질을 코딩하는 재조합 핵산.

청구항 14

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질 태그를 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함하는 재조합 핵산으로서, 상기 단백질 태그를 코딩하는 핵산 서열이 상기 CDKL5 핵산 서열에 작동 가능하게 결합되는 재조합 핵산.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 단백질 태그가 키틴 결합 단백질(CBP), 말토스 결합 단백질(MBP), 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST), 폴리(His), 티오레독신(TRX), 폴리(NANP), FLAG-태그, V5-태그, Myc-태그, HA-태그, S-태그, SBP-태그, Sftag 1, Softag 3, Tc 태그, Xpress 태그, Strep-태그, Isopeptag, Spy 태그, Ty 태그, 비오틴 카르복실 운반 단백질(BCCP) 및 Nus 태그로 이루어진 군으로부터 선택되는 재조합 핵산.

청구항 16

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 리포터 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함하는 재조합 핵산으로서, 상기 리포터 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 상기 CDKL5 핵산 서열에 작동 가능하게 결합되는 재조합 핵산.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 리포터 단백질이 형광 단백질, 베타-갈락토시다제, 루시페라제, 항생제-내성 유전자, p-글루쿠로니다제 및 알칼린 포스파타제로 이루어진 군으로부터 선택되는 재조합 핵산.

청구항 18

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항의 재조합 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 19

제18항에 있어서, 박테리아 세포에서의 발현에 적합한 벡터.

청구항 20

제18항에 있어서, 포유류 세포에서의 발현에 적합한 벡터.

청구항 21

세포를 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항의 재조합 핵산으로 형질전환시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 재조합 핵산이 벡터 내에 함유되는 방법.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 세포가 박테리아 세포 또는 포유류 세포를 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 관한 상호-참조

[0002] 본 출원은 개시내용 전문이 본 명세서에 포함되는, 발명의 명칭이 "TATk-CDKL5 FUSION PROTEINS, COMPOSITIONS, FORMULATIONS, AND THEIR METHODS OF MAKING AND METHODS OF USING"이고, 2014년 2월 28일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/946,280호의 이익을 주장한다.

[0003] 서열 목록(들)

[0004] 본 출원은 제목이 02158765.txt이고, 2015년 2월 27일에 생성되었으며, 크기가 84,059 바이트인 ASCII.txt 파일로서 전자 형태로 제출되는 서열 목록을 포함한다. 서열 목록의 내용은 그의 전문이 본 명세서에 포함된다.

배경 기술

[0005] 비전형 레트 증후군(atypical Rett syndrome)으로도 알려져 있는 사이클린-의존성 키나제-유사 5(CDKL5) 돌연변이/결핍은 전세계적으로 17000 내지 38000명의 여아 출생 중 1명에서 발생하는 쇠약성 출생후 신경 장애이다. 남성도 또한 더 낮은 이환율로 이환된다. 이러한 장애는 민족 또는 인종 기원에 제한되지 않는다. CDKL5 돌연변이/결핍의 증상은 경증 내지 중증의 범위이며, 조기 발병 발작, 인지 장애, 근긴장저하 및 자율, 수면 및 위장 장애로 발현된다. 질병의 증상은 작용성 CDKL5 단백질의 결핍으로부터 초래된다.

[0006] 개체에서의 X-연관 CDKL5 유전자의 돌연변이 또는 CDKL5 단백질의 결핍은 비전형 또는 선천성 레트 증후군의 발생에 연루된다. 문헌[Bertani et al., J. biol. Chem. 2006, 281:32048-320 56], 문헌[Scala et al., J. Med. Gen., 2005, 42:103-107] 및 문헌[Kalscheuer et al., Am. J. Hum. Genet. 2003, 72:1401-1411]을 참조한다. CDKL5 유전자는 X-염색체 상에 위치하며, 정상적인 뇌 발생 및 기능에 필수적인 단백질을 인코딩한다. CDKL5 단백질은 뉴런 세포에서 다중의 효과를 갖는 다작용성 단백질이다. 예를 들어, CDKL5는 키나제로서 작용하며, MeCP2를 인산화시킬 수 있다. CDKL5 돌연변이 또는 결핍에 의해 이환된 여아는 전형적으로 정상의 출생전 전력; 출생전후기 기간에서의 자극감수성 및 줄음; 발병이 5개월 이전인 조기-발병 간질, 머리 성장의 둔화, 상동증, 자의적 손 사용의 불량함 내지 부재 및 수면 장애 및 눈맞춤이 불량하고 사실상 언어를 사용하지 않는 중증의 정신 지체를 포함하는 레트-유사 특징을 갖는다. 문헌[Bahi-Buisson and Bienvenu. 2012. Mol. Syndromol. 2:137-152]을 참조한다.

[0007] CDKL5 돌연변이/결핍에 대한 현재의 치료는 주로 증상의 관리에 집중되어 있다. 그러나 CDKL5 돌연변이 또는 결핍이 있는 대상체의 신경학적 결과를 개선시키는 치료가 현재 존재하지 않는다. 그와 같이, CDKL5 돌연변이 및 결핍의 치료를 위한 치료법의 개발이 필요하다.

발명의 내용

[0008] 요약

[0009] CDKL5 폴리펩티드 서열 및 TATk 폴리펩티드 서열을 갖는 융합 단백질이 본 명세서에 기재되며, CDKL5 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 16과 약 50% 내지 100% 서열 동일성을 갖고, TATk 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 4와 약 90% 내지 약 100% 서열 동일성을 가지며, TATk 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 일부 양태에서, 융합 단백질은 Igk-쇄 리더 서열 폴리펩티드를 함유할 수 있으며, Igk-쇄 리더 서열은 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 추가의 양태에서, 융합 단백질은 리포터 단백질 폴리펩티드를 함유할 수 있으며, 리포터 단백질 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 다른 양태에서, 융합 단백질은 단백질 태그 폴리펩티드를 함유할 수 있고, 단백질 태그 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 일부 양태에서, 융합 단백질은 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 신경돌기(neurite) 성장, 신장, 분지수 또는 분지 밀도를 증가시킬 수 있다. 다른 양태에서, 융합 단백질은 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 뉴런 아포토시스(apoptosis)를 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, 융합 단백질은 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 또는 SEQ ID NO: 14에 따른 폴리펩티드 서열을 가질 수 있다.

[0010] 또한, CDKL5 폴리펩티드 서열 및 TATk 폴리펩티드 서열을 갖는, 치료적 유효량의 융합 단백질 및 약제학적으로

허용 가능한 담체를 함유하는 억제학적 제형이 본 명세서에 제공되며, CDKL5 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 16과 약 50% 내지 100% 서열 동일성을 갖고, TATk 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 4와 약 90% 내지 약 100% 서열 동일성을 가지며, TATk 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 일부 양태에서, 억제학적 제형에 함유된 융합 단백질은 Igk-쇄 리더 서열 폴리펩티드를 함유할 수 있으며, Igk-쇄 리더 서열은 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 일부 양태에서, 억제학적 제형에 함유된 융합 단백질은 리포터 단백질 폴리펩티드를 함유할 수 있으며, 리포터 단백질 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 추가의 양태에서, 억제학적 제형에 함유된 융합 단백질은 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 또는 SEQ ID NO: 14에 따른 폴리펩티드 서열을 가질 수 있다. 추가의 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체에서 대조군에 비하여 CDKL5 결핍, 레트 증후군 또는 레트 증후군 변이형의 하나 이상의 증상을 치료할 수 있다. 추가의 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 신경돌기 성장, 신장, 분지수 또는 분지 밀도를 증가시킬 수 있다. 다른 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체의 뇌에서 대조군에 비하여 뉴런 아포토시스를 감소시킬 수 있다. 추가의 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체에서 대조군에 비하여 운동 기능을 개선시킬 수 있다. 일부 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체에서 대조군에 비하여 인지 기능을 개선시킬 수 있다.

[0011] 소정의 양의 융합 단백질 및 억제학적으로 허용 가능한 담체를 함유하는, 치료적 유효량의 억제학적 제형을 그를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 방법이 본 명세서에 제공되며, 융합 단백질은 CDKL5 폴리펩티드 서열 및 TATk 폴리펩티드 서열을 함유하고, CDKL5 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 16과 약 50% 내지 100% 서열 동일성을 가지며, TATk 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO: 4와 약 90% 내지 약 100% 서열 동일성을 갖고, TATk 폴리펩티드는 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된다. 일부 양태에서, 그를 필요로 하는 대상체는 CDKL5 결핍, 레트 증후군 또는 레트 증후군 변이형을 갖거나, 또는 그를 갖을 것으로 의심된다. 치료적 유효량의 억제학적 제형의 투여 방법의 다른 양태에서, 치료적 유효량의 융합 단백질은 대상체에서 대조군에 비하여 CDKL5 결핍, 레트 증후군 또는 레트 증후군 변이형의 하나 이상의 증상을 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 CDKL5 융합 단백질의 생성 방법의 일 구현예를 보여주며, CDKL5 융합 단백질은 배양된 세포에 의해 생성되며, 주변 배양 배지로 분비된다.

도 2는 CDKL5 융합 단백질의 생성 방법의 일 구현예를 보여주며, CDKL5 융합 단백질은 주변 세포 배양 배지로 분비되지 않는다.

도 3은 자가 세포를 통한 CDKL5 융합 단백질의 전달 방법의 일 구현예를 보여준다.

도 4a 및 도 4b는 트랜스펙션된 HEK293T 세포에서의 TATk-CDKL5 단백질 발현으로부터의 웨스턴 블롯 분석 결과를 입증한다. TATk-CDKL5 융합 단백질을 GFP 단백질로 태깅시켜, 항-GFP 항체를 사용한 웨스턴 블롯을 가능하게 하였다. 도 4a는 트랜스펙션된 HEK293T 세포 유래의 세포 추출물에서의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질 발현을 보여준다. 도 4b는 TATk-GFP-CDKL5-트랜스펙션된 HEK293T 세포로부터의 20배 농축 세포 배양 배지로부터의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질 정제를 보여준다.

도 5의 A 및 B는 TAT-GFP-CDKL5 융합 단백질이 CDKL5 자기인산화 활성을 보유하는 것을 보여주는 키나제 활성 검정으로부터의 결과(도 5의 A)를 보여준다.

도 6은 HEK 293T 세포 내의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질의 일 구현예의 형질도입 효율에 대한 인큐베이션 시간의 영향을 보여준다.

도 7a 및 도 7b는 TATk-GFP-CDKL5 처리된 HEK 293T 세포에서의 CDKL5의 국소화를 보여준다(도 7b). 도 7a 및 도 7b는 대조군에 비하여 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로의 HEK 293T 세포의 형질도입의 효율을 보여준다(도 7a)(좌측 패널). 항-GFP 항체를 사용하여 면역검출을 행하고, 세포를 DAPI로 대조염색하였다. 백색 화살표는 형질도입된 HEK 293T 세포를 나타낸다.

도 8은 정제된 TATk-GFP-CDKL5 단백질로 30분 동안 처리된 SH-SY5Y 세포로의 TATk-GFP-CDKL5 형질도입을 보여주는 공초점 현미경으로부터의 일련의 12개 이미지(1 내지 12)를 보여주는 이미지이다. Z 스택 크기는 0.4 μm 였다. 도 8은 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로의 SH-SY5Y 세포의 형질도입의 효율을 보여준다.

도 9a 및 도 9b는 신경모세포종 세포(SH-SY5Y)에서 형질도입된 CDKL5가 세포 증식에 미치는 영향을 보여준다. TATk-GFP-CDKL5 처리된 세포(도 9b)는 TATk-GFP(대조군) 처리된 세포(도 9a)에 비하여 증식이 감소된 것으로 관

찰되었다. 백색 화살표는 유사분열 핵을 나타낸다.

도 10은 TATk-GFP 또는 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 SH-SY5Y 세포의 유사분열 지수를 보여주는 그래프를 보여준다. y-축은 유사분열 세포/총 세포를 보여주며, 백분율로 표현된다. 데이터는 평균 \pm S.E로 나타나 있다. *** $P < 0.001$ (t-검정).

도 11a 및 도 11b는 TATk-GFP 처리된(대조군) SH-SY5Y 세포(도 11a) 및 TATk-GFP-CDKL5 처리된 SH-SY5Y 세포(도 11b)의 대표적인 위상차 이미지를 보여주는 이미지이다. 신경돌기 성장은 대조군 세포에 비하여 TATk-GFP-CDKL5 처리된 SH-SY5Y 세포에서 더 큰 것으로 관찰되었다.

도 12는 TATk-GFP 융합 단백질(대조군) 또는 TATk-GFP-CDKL5로 처리된 SH-SY5Y 세포의 신경돌기 발아의 정량화를 보여주는 그래프를 보여준다. 데이터는 평균 \pm S.E로 나타나 있다. * $P < 0.05$ (t-검정). y-축은 신경돌기 길이/세포를 마이크로미터로 나타낸 것이다.

도 13a 및 도 13b는 야생형(도 13a) 및 CDKL5 녹아웃(knockout, KO) 마우스(도 13b) 내의 더블코르틴(DCX)에 대한 면역조직화학에 의해 나타난 바와 같이, 신생 해마 과립 세포의 개수 및 수상돌기 형태를 보여주는 이미지를 나타낸 것이다. 기준자(scale bar) = 50 μ m. 약어: GR, 과립층; H, 문(Hilus).

도 14a 및 도 14b는 야생형(+/+)(도 14b) 뉴런 배양에 비하여 CDKL5 녹아웃 마우스(-/-)(도 14a)로부터 유래된 뉴런 배양에서의 신규 뉴런(적색 세포)의 생성 및 성숙의 감소를 보여주는 분화된 뉴런 전구 세포(NPC)의 이중-형광 이미지를 보여준다. 뉴런 표현형을 가진 세포는 β -튜불린 III에 대하여 면역양성이며(적색), 성상 표현형을 가진 세포는 GFAP에 대하여 면역양성이다(녹색). 세포 핵을 Hoechst(Hoechst) 염료를 사용하여 염색하였다(청색). 기준자 = 25 μ m.

도 15의 A 내지 C는 TATk-GFP(도 15의 B) 또는 TATk-GFP-CDKL5(도 15의 C)로 형질도입된 CDKL5 녹아웃 마우스로부터의 뉴런 전구체 배양물(도 15의 B 및 C) 및 야생형 마우스로부터의 뉴런 전구체 배양물(도 15의 A)의 대표적인 이미지를 보여준다. 기준자 = 20 μ m.

도 16은 TATk-GFP 또는 TATk-GFP-CDKL5 중 어느 하나로 처리된 야생형 및 CDKL5 KO 마우스로부터의 뉴런 전구체 배양물 내의 분화된 뉴런(베타-튜불린 III에 대한 양성 뉴런)의 총 신경돌기 길이에 의해 측정되는 바와 같은 신경 성숙의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. **야생형 조건에 비하여 $p < 0.01$; #미처리 KO 시료에 비하여 $p < 0.01$ (ANOVA 이후 본페로니(Bonferroni) 검정).

도 17의 A 내지 F는 농축된 배양 배지(비히클)(도 17의 A 및 D), TATk-GFP(도 17의 B 및 E) 및 TATk-GFP-CDKL5(도 17의 C 및 F)로 전신 처리된(1회의 단일 주사) 마우스(출생 후 7일)의 뇌에서의 CDKL5의 면역검출을 보여주는 이미지를 나타낸 것이다. 도 17의 D 내지 F는 각각 도 17의 A 내지 C의 점선의 네모의 확대를 예시한 것이다. 뇌 내의 TATk-GFP-CDKL5 및 TATk-GFP의 국소화를 항-GFP 항체를 사용하여 면역조직화학에 의해 평가하였다(적색). 감각 운동 피질의 수준에서 이미지를 취하였다. 기준자 = 60 μ m(더 낮은 확대율) 및 20 μ m(더 높은 확대율).

도 18의 A 내지 D는 도 17의 A 내지 F에서와 같이 배양 배지(비히클)(도 18의 A 및 B) 및 TATk-GFP-CDKL5(도 18의 C 및 D)로 전신 처리된 마우스(출생 후 7일)의 뇌 내의 CDKL5의 면역검출을 보여주는 소뇌 섹션의 이미지를 나타낸 것이다. 뇌 내의 TATk-GFP-CDKL5의 국소화를 항-GFP 항체를 사용하여 면역조직화학에 의해 평가하였다(도 18의 A 및 B). 슬라이드를 DAPI로 마운팅시켜 세포 핵을 염색하였다(도 18의 B, C). 약어: EGL, 외과립층; IGL, 내과립층; ML, 분자층; PL, 푸르킨에 층. 기준자 = 60 μ m.

도 19는 마우스로의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질의 뇌실내 투여를 위한 캐놀라(cannula)의 배치를 보여준다.

도 20은 도 21 내지 도 33에 나타난 연구를 위한 이식 및 융합 단백질 주사 일정을 도시한 카툰을 보여준다.

도 21의 A 내지 C는 야생형 마우스에 비하여 CDKL5 녹아웃 마우스에서 신생 과립 세포의 개수 및 신경돌기 길이가 감소됨을 보여주는, DCX에 대하여 면역염색된 해마 치상회 섹션의 이미지를 보여준다(각각 도 21의 A 및 B). 연속 5일 뇌실내 투여된 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질은 야생형(도 21의 A)과 유사한 수준으로 CDKL5 녹아웃 마우스(도 21의 C)에서 신생 과립 세포의 개수 및 신경돌기 길이를 증가시키는 것이 관찰되었다. 기준자 = 70 μ m.

도 22의 A 내지 C는 치상회의 과립층의 수준에서 도 21의 이미지의 확대를 예시한 것이다. 기준자 = 25 μ m.

도 23a 및 도 23b는 야생형(+Y)(도 23a), CDKL5 녹아웃 마우스(-Y)(도 23b) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)(도 23c)의 신생 과립 세포의 재구성된 수상돌기 가지(dendritic tree)의 예를 보여준다.

도 24의 A 및 B는 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)의 치상회의 신생 과립 세포(DCX-양성 세포)의 평균 총 수상돌기 길이(도 24의 A) 및 평균 수상돌기 세그먼트 수(도 24의 B)의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. ** $p < 0.01$; *** +Y에 비하여 $p < 0.001$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.05$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 25의 A 및 B는 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)의 치상회의 신생 과립 세포의 상이한 차수의 분지의 평균 길이(도 25의 A) 및 평균 수(도 25의 B)의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. * $p < 0.05$; ** +Y에 비하여 $p < 0.01$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.05$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 26은 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)에서의 아홉토시스 세포(카스파제-3 양성 세포)의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. * +Y에 비하여 $p < 0.05$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.05$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 27은 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)의 DG에서의 DCX 양성 세포의 수의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 데이터는 세포의 수/mm²로 표현되어 있다. * +Y에 비하여 $p < 0.05$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.05$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 28의 A 내지 C는 야생형 수컷 마우스(+Y)(도 28의 A), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y)(도 28의 B) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)(도 28의 C)로부터의 치상회(DG)의 분자층으로부터의 시냅토파이신(SYN) 면역형광에 대해 처리된 뇌 섹션을 보여주는 대표적인 이미지를 나타낸 것이다. 기준자 = 80 μ m. 약어: GR, 과립층; Mol, 분자층.

도 29의 A 내지 C는 야생형 수컷 마우스(+Y)(도 29의 A), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y)(도 29의 B) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)(도 29의 C)로부터의 치상회(DG)의 분자층으로부터의 포스포-AKT(P-AKT) 면역형광에 대해 처리된 뇌 섹션을 보여주는 대표적인 이미지를 나타낸 것이다. 기준자 = 80 μ m. 약어: GR, 과립층; Mol, 분자층.

도 30의 A 및 B는 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)에서 해마의 분자층(도 30의 A) 및 피질의 층 III(도 30의 B)에서의 시냅토파이신(SYN) 광학 밀도의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 데이터는 야생형 마우스의 피질 또는 분자층의 상응하는 구역에 비한 배수 차이로 제공된다. 값은 평균 \pm SD를 나타낸다. ** $p < 0.01$; *** +Y에 비하여 $p < 0.001$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.05$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 31의 A 및 B는 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)에서의 해마의 분자층(도 31의 A) 및 피질의 층 V(도 31의 B)에서의 Ser437 인산화-AKT(PAKT)의 광학 밀도의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 데이터는 야생형 마우스의 분자층 또는 피질의 상응하는 구역에 비한 배수 차이로 제공된다. 값은 평균 \pm SD를 나타낸다. ** +Y에 비하여 $p < 0.01$; # -Y 시료에 비하여 $p < 0.01$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 32는 도 33 및 도 34에 나타난 거동 연구를 위한 이식 및 융합 단백질 주사 일정을 도시한 카툰을 보여준다.

도 33은 야생형 수컷 마우스(+Y; n=8), CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y; n=8) 및 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5; n=6)에서 모리스 수중 미로 시험(Morris Water Maze test)을 통해 결정시, 학습 단계의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. * $P < 0.05$, **미처리 야생형 조건에 비하여 $P < 0.01$ 및 #ANOVA 이후 Fisher LSD로 검정시 미처리 CDKL5 낙아웃 조건에 비하여 $P < 0.01$.

도 34의 A 및 B는 야생형 수컷 마우스(+Y; n=8), CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y; n=8) 및 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5; n=6)에서 수동회피시험에 의해 결정되는 기억 능력을 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 그래프는 거동 절차의 제1일(도 34의 A) 및 제2일(도 34의 B)에 어두운 구획에 진입하는 대기 시간을 보여준다. 값은 평균 \pm SE를 나타낸다. ***미처리 야생형 조건에 비하여 $P < 0.001$ 및 #ANOVA 이후 Fisher LSD로 검정시 미처리 CDKL5 낙아웃 조건에 비하여 $P < 0.01$.

도 35a 및 도 35b는 2분 간격 동안 다리 잡기(clasping)에 소모된 총 시간을 야생형 수컷 마우스(+Y; n=8), CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y; n=8) 및 도 32의 주사 일정에 따라 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5; n=8)에서 측정된 잡기 시험에 의해 결정되는 운동 능력의 정량화를 보여주는 그래프를 나타낸 것이다. 값은 평균 \pm SD를 나타낸다. ***+/Y에 비하여 $p < 0.001$; #-/Y 시료에 비하여 $p < 0.001$ (ANOVA 이후 본페로니 검정).

도 36은 도 20(+Y; n=8) 또는 도 32(-Y; n=6)의 처치 일정에 따라 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 야생형(+Y) 및 낙아웃(-Y) 마우스의 체중(그램 단위)을 보여준다. 마우스를 캐논라 이식 이후 7일 동안 회복되게 두었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 상세한 설명

TATk-CDKL5 융합 단백질 조성물 및 제형 및 CDKL5-매개의 질병 및 장애, 특히, CDKL5 돌연변이 및/또는 결핍으로 인한 장애 및 질병의 치료에서의 그들의 이용 방법이 본 명세서에 제공된다. 또한, TATk-CDKL5 융합 단백질 조성물 및 제형의 생성 방법이 본 명세서에 제공된다. 이들 방법은 CDKL5-매개의 신경 장애의 연구를 위한 개선된 실험 도구 및 CDKL5 기능장애와 관련된 장애를 앓고 있는 환자를 위한 개선된 치료 옵션을 제공한다.

[0015] 정의

본 명세서에 사용되는 용어 "생체적합성"은 임의의 대사물질 또는 그의 분해 생성물과 함께, 일반적으로 수여자에게 비독성이며, 수여자에게 임의의 유의미한 역효과를 유발하지 않는 물질을 지칭한다. 일반적으로 말하자면, 생체적합성 물질은 환자로 투여되는 경우 상당한 염증 또는 면역 반응을 유도하지 않는 물질이다.

본 명세서에 사용되는 용어 "분자량"은 일반적으로 물질의 질량 또는 평균 질량을 지칭한다. 폴리머 또는 올리고머라면, 분자량은 벌크 폴리머의 상대 평균 사슬 길이 또는 상대 사슬 질량을 지칭할 수 있다. 실무적으로, 폴리머 및 올리고머의 분자량은 겔 투과 크로마토그래피(GPC) 또는 모세관 점도측정을 포함하는 다양한 방식으로 추정되거나 특성화될 수 있다. GPC 분자량은 수 평균 분자량(M_n)이 아니라, 중량 평균 분자량(M_w)으로 보고된다. 모세관 점도측정은 특정한 농도, 온도 및 용매 조건 세트를 이용하여 희석 폴리머 용액으로부터 결정한 고유 점도로서 분자량의 추정치를 제공한다.

본 명세서에 사용되는 "생분해성"은 일반적으로 생리적 조건하에서 대상체에 의해 대사되거나, 제거되거나, 배설될 수 있는 더 작은 단위 또는 화학 종으로 분해되거나 침식될 물질을 지칭한다. 분해 시간은 조성 및 형태의 함수이다. 분해 시간은 수 시간 내지 수 주일 수 있다.

본 명세서에 사용되는 용어 "친수성"은 물과 용이하게 상호작용하는 극성이 강한 기를 갖는 물질을 지칭한다.

본 명세서에 사용되는 용어 "소수성"은 물에 대한 친화성이 결여되어 있고; 발수시키고, 물을 흡수하지 않는 경향 및 물에 용해되거나 또는 물과 혼합되지 않는 물질을 지칭한다.

본 명세서에 사용되는 용어 "친지성"은 지질에 대하여 친화성을 갖는 화합물을 지칭한다.

본 명세서에 사용되는 용어 "양친매성"은 친수성 및 친지성(소수성) 특성이 조합된 분자를 지칭한다.

- [0023] 본 명세서에 사용되는 "약", "대약" 등은 수치 변수와 연계하여 사용되는 경우, 일반적으로 변수의 값, 및 표시된 값의 실험 오차 이내(예를 들어, 평균에 대한 95% 신뢰 구간 내)나, $\pm 10\%$ 이내 중 어느 것이든 더 큰 범위 내인 변수의 모든 값을 지칭한다.
- [0024] 본 명세서에 사용되는 "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 자손을 포함한다. 또한, 모든 자손이 의도적인 또는 의도되지 않은 돌연변이로 인하여 DNA 내용물이 정확하게 동일하지 않을 수 있는 것이 이해된다. 원래의 형질전환된 세포에서 스크리닝된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 특성을 갖는 변이체 자손이 포함된다.
- [0025] 본 명세서에 사용되는 "조성물"은 활성 작용제와 비활성(예를 들어, 검출 가능한 작용제 또는 표지) 또는 활성인 적어도 하나의 다른 화합물 또는 분자, 예를 들어, 애주번트의 조합을 지칭한다.
- [0026] 본 명세서에 사용되는 "대조군"은 비교 목적을 위해 실험에 사용되는 대안적인 대상체 또는 시료이며, 독립적인 변수 외의 변수의 영향을 최소화하거나 구별하기 위해 포함된다.
- [0027] 본 명세서에 사용되는 "양성 대조군"은 요망되는 결과를 유발하도록 설계되되, 모든 시약이 적절하게 기능하며, 실험이 적절하게 행해지는 "대조군"을 지칭한다.
- [0028] 본 명세서에 사용되는 "음성 대조군"은 효과 또는 결과를 유발하지 않도록 설계되되, 모든 시약이 적절하게 기능하며, 실험이 적절하게 행해지는 "대조군"을 지칭한다. "음성 대조군"과 교환 가능한 다른 용어는 "삼(sham)", "위약" 및 "모의(mock)"를 포함한다.
- [0029] 본 명세서에 사용되는 "배양하는"은 세포가 증식하고 노화를 회피할 수 있는 조건 하에서 세포를 한 그룹의 세포로서 유지하는 것을 말한다. 또한, "배양하는"은 세포가 부가적으로 또는 대안적으로 분화하는 조건을 포함할 수 있다.
- [0030] 본 명세서에 사용되는 "차등적으로 발현되는"은 정상 또는 대조군 세포에서의 동일한 유전자 또는 조절자 영역에 의한 RNA의 생성 수준에 비하여, 유전자 또는 게놈의 조절 영역으로부터 전사되는 mRNA, tRNA, miRNA, siRNA, snRNA 및 piRNA를 포함하나 이들에 한정되지 않는 RNA 또는 유전자에 의해 인코딩되는 단백질 산물이 차등적으로 생성되는 것을 지칭한다. 다른 맥락에서, "차등적으로 발현되는"은 또한, 세포 또는 조직 내의 뉴클레오타이드 서열 또는 단백질이 정상 또는 대조군 세포와 비교하여 상이한 시간적 및/또는 공간적 발현 프로파일을 갖는 것을 지칭한다.
- [0031] 본 명세서에 사용되는 "과발현된" 또는 "과발현"은 정상 또는 대조군 세포에서의 RNA 또는 단백질 산물의 발현의 수준에 비하여 유전자에 의해 인코딩되는 RNA 또는 단백질 산물의 증가된 발현 수준을 지칭한다.
- [0032] 본 명세서에 사용되는 "하향발현된" 또는 "하향발현"은 정상 또는 대조군 세포에서의 RNA 또는 단백질 산물의 발현 수준에 비하여 유전자에 의해 인코딩되는 RNA 또는 단백질 산물의 감소된 발현 수준을 지칭한다.
- [0033] 본 명세서에 사용되는 "유효량"은 세포, 조직, 계, 동물 또는 인간의 유리한 또는 요망되는 생물학적, 감정적, 의학적 또는 임상적 반응을 가져오기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여, 적용 또는 투여량으로 투여될 수 있다. 또한, 당해 용어는 정상적인 생리학적 기능을 증진시키기에 효과적인 양을 그의 범주 내에 포함한다.
- [0034] 본 명세서에 상호교환 가능하게 사용되는 용어 "충분한" 및 "유효한"은 하나 이상의 요망되는 결과(들)를 달성하는데 필요한 양(예를 들어, 질량, 부피, 투여량, 농도 및/또는 기간)을 지칭한다. 예를 들어, 치료적 유효량은 하나 이상의 치료 효과를 달성하는데 필요한 양을 지칭한다.
- [0035] 세포의 맥락에서 본 명세서에 사용되는 "증량" 또는 "증량된"은 동일하거나 동일하지 않을 수 있는 세포의 초기 집단으로부터의 특징적인 세포 유형 또는 세포 유형들의 수의 증가를 지칭한다. 증량을 위해 사용되는 초기 세포는 증량으로부터 생성되는 세포와 동일하지 않아도 된다. 예를 들어, 증량된 세포는 세포의 초기 집단의 생체외 또는 시험관내 성장 및 분화에 의해 생성될 수 있다.
- [0036] 본 명세서에 사용되는 "발현"은 폴리뉴클레오타이드가 RNA 전사물로 전사되는 과정을 지칭한다. mRNA 및 다른 번역되는 RNA 종의 맥락에서, "발현"은 또한, 전사된 RNA가 이후에 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질로 번역되는 과정 또는 과정들을 지칭한다.
- [0037] 본 명세서에 사용되는 "단리된"은 폴리뉴클레오타이드, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 항체 또는 그의 단편이 보통 천연에서 회합되어 있는 구성성분, 세포 및 기타 성분으로부터 분리됨을 의미한다. 비천연 발생 폴리뉴클레오타이드, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 항체 또는 그의 단편은 "단리"를 필요로 하지 않아서, 그것은 그의 천연 발생

대응물로부터 구별된다.

- [0038] 본 명세서에 사용되는 "농축된"은 부피당 분자의 농도 또는 수가 그의 천연 발생 대응물의 것보다 더 크다는 점에서, 그의 천연 발생 대응물로부터 구별될 수 있는 폴리뉴클레오티드, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 항체 또는 그의 단편을 포함하나 이들에 한정되지 않는 분자를 지칭한다.
- [0039] 본 명세서에 사용되는 "희석된"은 부피당 분자의 농도 또는 수가 그의 천연 발생 대응물의 것 미만이라는 점에서, 그의 천연 발생 대응물로부터 구별될 수 있는 폴리뉴클레오티드, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 항체 또는 그의 단편을 포함하나 이들에 한정되지 않는 분자를 지칭한다.
- [0040] 본 명세서에 사용되는 "분리된"은 분리된 화합물, 작용제, 입자 또는 분자가 더이상 원래의 공급원 또는 집단의 부분으로 고려될 수 없도록 원래의 공급원 또는 집단으로부터 물리적으로 분리된 상태를 지칭한다.
- [0041] 치료의 목적을 위해 본 명세서에 사용되는 "포유류"는 인간, 가축 및 농장 동물, 비인간 영장류 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예를 들어, 비제한적으로 개, 말, 고양이 및 소를 포함하는 포유류로 분류된 임의의 동물을 지칭한다.
- [0042] 본 명세서에 상호교환 가능하게 사용되는 "대상체", "개체" 또는 "환자"는 척추동물 유기체를 지칭한다.
- [0043] 본 명세서에 사용되는 "실질적으로 순수한 세포 집단"은 전체 세포 집단을 이루는 세포의 약 50%, 바람직하게는 약 75 내지 80%, 더욱 바람직하게는 약 85 내지 90%, 가장 바람직하게는 약 95%인 특정 세포 마커 특징 및 분화능을 갖는 세포의 집단을 지칭한다. 따라서, "실질적으로 순수한 세포 집단"은 지정된 검정 조건 하에서 특정 마커 특징 및 분화능을 나타내지 않는 세포를 약 50% 미만, 바람직하게는 약 20 내지 25% 미만, 더욱 바람직하게는 약 10 내지 15% 미만, 가장 바람직하게는 약 5% 미만으로 함유하는 세포의 집단을 지칭한다.
- [0044] 본 명세서에 사용되는 "치료적"은 질병, 장애, 질환 또는 부작용을 치료하고/거나, 치유하고/거나, 개선시키거나, 또는 질병, 장애, 질환 또는 부작용의 진행 속도를 감소시키는 것을 지칭한다. 또한, 상기 용어는 정상적인 생리학적 기능의 증진, 질병, 장애, 질환, 부작용 또는 그의 증상의 완화 치료 및 부분적 교정을 그의 범주 내에 포함한다. 질병 또는 장애는 CDKL5 결핍 및/또는 레트 증후군일 수 있다.
- [0045] 본 명세서에 사용되는 용어 "치료하는" 및 "치료"는 일반적으로 요망되는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 수득하는 것을 지칭한다. 효과는 질병, 그의 증상 또는 질환, 예를 들어, CDKL5 돌연변이 및/또는 결핍으로부터 초래되는 질병 또는 장애, 레트 증후군의 CDKL5 변이형 또는 다른 CDKL5-매개의 신경학적 장애를 예방하거나 부분적으로 예방하는 면에서 예방적이고/거나 질병, 질환, 증상 또는 질병, 장애 또는 질환이 원인이 되는 유해한 영향의 부분적인 또는 완전한 치유의 면에서 치료적일 수 있다. 본 명세서에 사용되는 용어 "치료"는 포유류, 특히 인간에서의 CDKL5-매개의 신경학적 장애의 임의의 치료를 포괄하며, (a) 질병에 걸리기 쉬울 수 있지만, 아직 질병을 갖는 것으로 진단받지 않은 대상체에서 질병이 발생하는 것을 예방하는 것; (b) 질병을 억제하는 것, 즉, 질병의 발생을 억제하는 것; 또는 (c) 질병을 완화시키는 것, 즉, 질병 및/또는 그의 증상 또는 질환을 완화시키거나 개선시키는 것을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 용어 "치료"는 치료적 처치 및 예방적 또는 방지 조치 둘 모두를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 대상체는 이미 장애가 있는 대상체 및 장애가 예방되어야 하는 대상체를 포함한다.
- [0046] 본 명세서에 사용되는 "약제학적 제형"은 시험관내, 생체내 또는 생체외에서의 진단, 치료 또는 예방 이용에 적합한 조성물을 이루는 활성 작용제, 화합물 또는 성분과 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제의 조합을 지칭한다.
- [0047] 본 명세서에 사용되는 "약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제"는 일반적으로 안전하고, 비-독성이고, 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않은 것이 아닌, 약제학적 제형의 제조에 유용한 담체 또는 부형제를 지칭하며, 수의학적 용도 및 인간 약제 용도에 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함한다. 본 명세서 및 청구범위에 사용된 "약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제"는 1가지 및 1가지 초과와 그러한 담체 또는 부형제 둘 모두를 포함한다.
- [0048] 본 명세서에 사용되는 "약제학적으로 허용 가능한 염"은 반대-이온이 약제학적 용량의 염으로 투여되는 대상체에게 당해 반대-이온이 비독성인 임의의 산 또는 염기 부가 염을 지칭한다.
- [0049] 본 명세서에 사용되는 "예방적" 및 "예방한다"는 질병 또는 질환이 발생하기 전에 비록 진단받지 않았더라도, 또는 질병 또는 질환이 여전히 준임상 단계에 있는 동안 질병 또는 질환을 저해하거나 중단시키는 것을 지칭한다.

다.

- [0050] 본 명세서에 사용되는 "활성 작용제" 또는 "활성 성분"은 생물학적으로 활성이거나 다르게는 그것이 투여되는 대상체에서 생물학적 또는 생리학적 효과를 유도하는 물질, 화합물 또는 분자를 지칭한다. 다시 말하면, "활성 작용제" 또는 "활성 성분"은 조성물의 효과의 전체 또는 부분에 기여하는 조성물의 성분 또는 성분들을 지칭한다.
- [0051] 본 명세서에 사용되는 "유형적 표현 매체"는 물리적으로 유형적이며, 단지 추상적인 생각 또는 기록되지 않은 구술된 언어가 아닌 매체를 지칭한다. 유형적 표현 매체는 셀룰로스 또는 플라스틱 재료 상의 언어 또는, 적합한 장치, 예를 들어, 플래시 메모리 또는 CD-ROM에 저장된 데이터를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0052] 본 명세서에 사용되는 "화학치료제" 또는 "화학치료"는 암을 예방하거나 치료하는데 사용되는 치료제를 지칭한다.
- [0053] 본 명세서에 사용되는 "매트릭스"는 하나 이상의 특수 구조, 분자 또는 조성물이 매립된 물질을 지칭한다.
- [0054] 본 명세서에 사용되는 "압타머"는 높은 친화성 및 특이성으로 단백질을 포함하는 사전-선택된 표적에 결합할 수 있는 단일-가닥 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다. 그들의 특이성 및 특징은 그들의 일차 서열에 의해 직접 결정되지 않고, 대신에, 그들의 3차 구조에 의해 결정된다.
- [0055] 본 명세서에 사용되는 "면역조절제"는 하나 이상의 면역 기능 또는 반응을 조절하거나 조정할 수 있는 작용제, 예를 들어, 치료제를 지칭한다.
- [0056] 본 명세서에 사용되는 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄 또는 그의 항원 결합 부분을 포함하는 당단백질을 지칭한다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역(본 명세서에 VH로 약칭) 및 중쇄 불변 영역으로 이루어진다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역 및 경쇄 불변 영역으로 이루어진다. VH 및 VL 영역은 항원에 대한 결합 특이성을 보유하며, 추가로, 상보성 결정 영역(CDR)으로 명명되는 초가변성의 영역으로 세분될 수 있다. CDR은 프레임워크 영역(FR)으로 명명되는 더욱 보존된 영역이 산재되어 있다. 각 VH 및 VL은 아미노-말단으로부터 카복시-말단까지 하기의 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 프레임워크 영역으로 이루어진다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다.
- [0057] 본 명세서에 사용되는 "유기체", "숙주" 및 "대상체"는 적어도 하나의 세포로 이루어진 임의의 살아 있는 실체를 지칭한다. 살아 있는 유기체는 예를 들어, 단일의 단일된 진핵 세포 또는 배양된 세포 또는 세포주만큼 단순하거나, 인간 및 동물(예를 들어, 척추동물, 양서류, 어류, 포유류, 예를 들어, 고양이, 개, 말, 돼지, 소, 양, 설치류, 토끼, 다람쥐, 곰, 영장류, 예를 들어, 침팬지, 고릴라 및 인간)을 포함하는 포유류만큼 복잡할 수 있다. 또한, "대상체"는 세포, 세포의 집단, 조직, 기관 또는 유기체, 바람직하게는 인간 및 그의 구성성분일 수 있다.
- [0058] 본 명세서에 사용되는 "환자"는 치료를 필요로 하는 유기체, 숙주 또는 대상체를 지칭한다.
- [0059] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 본 명세서에 사용되는 "단백질"은 특정 순서의 아미노산의 하나 이상의 쇠로 이루어진 큰 분자를 지칭한다. 용어 단백질은 "폴리펩티드"와 상호교환 가능하게 사용된다. 순서는 단백질을 코딩하는 유전자 내의 뉴클레오티드의 염기 서열에 의해 결정된다. 단백질은 신체의 세포, 조직 및 기관의 구조, 기능 및 조절에 필요하다. 각 단백질은 독특한 기능을 갖는다.
- [0060] 본 명세서에 사용되는 "실질적으로 순수한"은 대상 화학종이 존재하는 우세한 중임을 의미하며(즉, 물 기준으로, 조성물 중 임의의 다른 개별 화학종보다 더 풍부함), 바람직하게는 실질적으로 정제된 분획은, 대상 화학종이 존재하는 모든 화학종의 약 50%를 구성하는 조성물이다. 일반적으로, 실질적으로 순수한 조성물은 조성물에 존재하는 모든 화학종의 약 80% 초과, 더욱 바람직하게는 약 85%, 90%, 95% 및 99% 초과를 구성할 것이다. 가장 바람직하게는, 대상 화학종을 본질적으로 균질하게(오염물질 화학종은 종래의 검출 방법에 의해서 조성물에서 검출될 수 없음) 정제시키며, 조성물은 본질적으로 단일의 화학종으로 구성된다.
- [0061] 본 명세서에 사용되는 "핵산" 및 "폴리뉴클레오티드"는 일반적으로 일련의 적어도 2개의 염기-당-인산염 조합을 지칭하며, 다른 것들 중 특히, 단일- 및 이중-가닥 DNA, 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 DNA, 단일- 및 이중-가닥 RNA 및 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 RNA, 단일-가닥, 또는 더욱 전형적으로 이중-가닥 또는 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 하이브리드 분자를 지칭한다. 또한, 본 명세서에 사용되는 폴리뉴클레오티드는 RNA 또는 DNA 또는 RNA 및 DNA 둘 모두를 포함하는 삼중-가닥 영역을 지칭한다.

다. 그러한 영역에서 가닥은 동일한 분자 유래이거나 상이한 분자 유래일 수 있다. 영역은 분자의 하나 이상의 전부를 포함할 수 있지만, 더욱 전형적으로, 분자의 일부의 영역만을 포함한다. 삼중-나선 영역의 분자 중 하나는 종종 올리고뉴클레오타이드이다. 또한, "폴리뉴클레오타이드" 및 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드의 그러한 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태, 및 특히 단순 세포 및 복합 세포를 포함하는 세포 및 바이러스의 특징적인 DNA 및 RNA의 화학적 형태를 포함한다. 예를 들면, 용어 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 염기를 함유하는 상기 기재된 바와 같은 DNA 또는 RNA를 포함한다. 따라서, 2가지 예만 말하면 특이한 염기, 예를 들어, 이노신 또는 변형된 염기, 예를 들어, 트리틸화 염기를 포함하는 DNA 또는 RNA는 용어가 본원에서 사용된 바에 따라서 폴리뉴클레오타이드이다. 또한, "폴리뉴클레오타이드" 및 "핵산"은 PNA(펩티드 핵산), 포스포로티오에이트 및 고유 핵산의 포스페이트 백본의 다른 변이체를 포함한다. 천연 핵산은 포스페이트 백본을 가지며, 인공 핵산은 다른 유형의 백본을 함유할 수 있지만, 동일한 염기를 함유한다. 따라서, 안정성을 위해 또는 다른 이유를 위해 변형된 백본을 갖는 DNA 또는 RNA는, 용어가 본원에서 의도한 바에 따라서 "핵산" 또는 "폴리뉴클레오타이드"이다.

[0062] 본 명세서에 사용되는 "데옥시리보핵산(DNA)" 및 "리보핵산(RNA)"은 일반적으로 비변형된 RNA 또는 DNA, 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있는 임의의 폴리리보뉴클레오타이드 또는 폴리데옥시리보뉴클레오타이드를 지칭한다. RNA는 tRNA(운반 RNA), snRNA(소형 핵 RNA), rRNA(리보솜 RNA), mRNA(전령 RNA), 안티-센스 RNA, RNAi(RNA 간섭 작제물), siRNA(짧은 간섭 RNA) 또는 리보자임의 형태일 수 있다.

[0063] 본 명세서에 사용되는 "핵산 서열" 및 "올리고뉴클레오타이드"는 또한 상기 정의된 바와 같은 핵산 및 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0064] 본 명세서에 사용되는 "DNA 분자"는 DNA로 이루어진 핵산/폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0065] 본 명세서에 사용되는 "유전자"는 전형적으로 염색체상 특정 위치를 차지하고 유기체 내에서 특정(들) 또는 기질(들)에 대한 유전적 지시를 포함하는 DNA 서열에 상응하는 유전 단위를 지칭한다.

[0066] 본 명세서에 사용되는 용어 "재조합"은 일반적으로 비천연 발생 핵산, 핵산 작제물 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 그러한 비천연 발생 핵산은 변형된, 예를 들어, 결실, 치환, 역위, 삽입 등 및/또는 분자 생물학 기술을 사용하여 연결된 상이한 기원의 핵산 서열의 조합(예를 들어, 융합 단백질(예를 들어, 2가지 상이한 단백질 또는 단백질 단편의 조합으로부터 형성된 단백질 또는 폴리펩티드)을 인코딩하는 핵산 서열, 코딩 서열 및 프로모터 서열이 상이한 공급원 유래이거나 다르게는 전형적으로 천연적으로 함께 발생하지 않는, 프로모터 서열로의 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산의 조합(예를 들어, 핵산 및 구성성 프로모터) 등)을 갖는 천연 핵산을 포함할 수 있다. 또한, 재조합은 재조합 핵산에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 지칭한다. 비천연 발생 핵산 또는 폴리펩티드는 인간에 의해 변형된 핵산 및 폴리펩티드를 포함한다.

[0067] 본 명세서에 사용되는 "융합 단백질"은 적어도 2개의 상이한 단백질 또는 단백질 단편의 조합으로부터 형성된 단백질을 지칭한다. 융합 단백질은 재조합 DNA 분자에 의해 인코딩된다. 그와 같이, "CDKL5 융합 단백질"은 다른 폴리펩티드 서열에 작동 가능하게 연결된 인간 CDKL5 폴리펩티드 또는 그의 변이체를 갖는 재조합 단백질을 지칭한다.

[0068] 본 명세서에 사용되는 "CDKL5 결핍"은 단백질의 생물학적 기능의 임의의 결핍을 지칭한다. 결핍은 야생형 또는 정상 대량체에 비한 DNA 메틸화 또는 히스톤 변형, CDKL5 단백질의 이차, 삼차 또는 사차 구조의 임의의 변화 또는 CDKL5 단백질이 그의 생물학적 기능을 수행하는 능력의 임의의 변화를 포함하나 이들에 한정되지 않는 후생적 DNA 변형의 임의의 변화로 인한 단백질의 기능의 임의의 변화 또는 단백질을 코딩하는 DNA 또는 DNA 관련 조절 영역의 임의의 DNA 돌연변이로부터 초래될 수 있다.

[0069] 본 명세서에 사용되는 "레트 증후군 변이형", "레트 증후군의 변이형" 등은 레트 증후군과 유사한 임상 징후를 갖지만 병인이 알려져 있지 않은 비정형 형태의 레트 증후군을 지칭한다.

[0070] 본 명세서에 사용되는 "CDKL5 돌연변이"는 CDKL5 단백질의 코딩 영역의 뉴클레오타이드 서열의 임의의 변화를 지칭한다.

[0071] 본 명세서에 사용되는 용어 "트랜스펙션"은 세포의 시토졸 및 미토콘드리아, 핵 또는 엽록체의 내부 공간으로의 핵산 서열의 도입을 포함하는, 살아 있는 세포의 막 폐쇄 공간의 내부로의 외인성 및/또는 재조합 핵산 서열의 도입을 지칭한다. 핵산은 네이키드(naked) DNA 또는 RNA의 형태이거나, 그것은 다양한 단백질 또는 조절 요소(예를 들어, 프로모터 및/또는 신호 요소)와 회합되거나, 핵산은 벡터 또는 염색체 내로 혼입될 수 있다.

- [0072] 본 명세서에 사용되는 "형질전환" 또는 "형질전환된"은 도입된 핵산의 코딩 부분의 발현을 가능하게 하는 방식으로 세포로 핵산(예를 들어, DNA 또는 RNA)을 도입하는 것을 지칭한다.
- [0073] 본 명세서에 사용되는 "형질도입된"은 세포 내로의 단백질의 직접적인 도입을 지칭한다.
- [0074] 본 명세서에 사용되는 "펩티드"는 단백질 또는 폴리펩티드에 비하여 짧은 적어도 2개의 아미노산의 쇄를 지칭한다.
- [0075] 본 명세서에 사용되는 "변이체"는 참조 폴리펩티드와 상이하지만, 필수 특성을 유지하는 폴리펩티드를 지칭한다. 전형적인 폴리펩티드의 변이체는 다른 참조 폴리펩티드와 아미노산 서열이 상이하다. 일반적으로, 참조 폴리펩티드 및 변이체의 서열이 종합적으로 밀접히 유사하고, 많은 영역에서 동일하도록 차이가 제한된다. 변이체 및 참조 폴리펩티드는 하나 이상의 변형(예를 들어, 치환, 부가 및/또는 결실)에 의해 아미노산 서열이 상이할 수 있다. 치환된 또는 삽입된 아미노산 잔기는 유전 코드에 의해 인코딩되는 것이거나 그에 의해 인코딩되는 것이 아닐 수 있다. 폴리펩티드의 변이체, 예를 들어, 대립형질 변이체는 천연 발생할 수 있으며, 또는 그것은 천연적으로 발생하는 것이 알려져 있지 않은 변이체일 수 있다. "변이체"는 기능적 및 구조적 변이체를 포함한다.
- [0076] 본 명세서에 사용되는 "동일성"은 서열의 비교에 의해 결정시 2개 이상의 폴리펩티드 서열 간의 관계이다. 해당 분야에서, "동일성"은 또한 그러한 서열의 스트링 간의 일치에 의해 결정시 폴리펩티드 간의 서열 관련성의 정도를 지칭한다. "동일성"은 문헌[(Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., Ed., Oxford University Press, New York, 1988]; 문헌[Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., Ed., Academic Press, New York, 1993]; 문헌[Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., Eds., Humana Press, New Jersey, 1994]; 문헌[Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987]; 및 문헌[Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., Eds., M Stockton Press, New York, 1991]; 및 문헌[Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math. 1988, 48: 1073]에 기재된 것들을 포함하나 이들에 한정되지 않는 알려져 있는 방법에 의해 용이하게 계산될 수 있다. 동일성을 결정하기 위한 바람직한 방법은 시험된 서열 간의 가장 큰 일치를 제공하도록 설계된다. 동일성을 결정하기 위한 방법은 공개 이용 가능한 컴퓨터 프로그램에 체계화되어 있다. 2개의 서열 간의 동일성 백분율은 니들만(Needelman) 및 분쉬(Wunsch)(문헌[J. Mol. Biol., 1970, 48: 443-453]) 알고리즘(예를 들어, NBLAST 및 XBLAST)을 혼입시킨 분석 소프트웨어(예를 들어, 제네틱스 컴퓨터 그룹의 서열 분석 소프트웨어 패키지(Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, Madison Wis.))를 사용함으로써 결정될 수 있다. 디폴트 파라미터를 사용하여 본 발명의 폴리펩티드에 대한 동일성을 결정한다.
- [0077] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 본 명세서에 사용되는 "플라스미드"는 플라스미드가 숙주 세포 내에서 복제되게 하는 무손상 "레플리콘(replicon)"을 포함하는 비-염색체 이중-가닥 DNA 서열을 지칭한다.
- [0078] 본 명세서에 사용되는 용어 "벡터"는 외인성 핵산 서열을 세포 내로 도입하기 위해 사용되는 비히클과 관련하여 사용된다. 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 세포소기관으로의 도입 시에 그의 전사 및 번역을 가능하게 하는 추가의 세그먼트에 작동 가능하게 연결되는 관심 폴리펩티드를 인코딩하는 세그먼트를 포함하는 선형 또는 원형(예를 들어, 플라스미드) DNA 분자를 포함할 수 있다. 그러한 추가의 세그먼트는 프로모터 및 종결자 서열을 포함할 수 있으며, 또한, 하나 이상의 복제 원점, 하나 이상의 선택 가능한 마커, 인헨서, 폴리아데닐화 신호 등도 포함할 수 있다. 발현 벡터는 일반적으로 효모 또는 박테리아 계능 또는 플라스미드 DNA 또는 바이러스 DNA로부터 유래되거나, 둘 모두의 요소를 함유할 수 있다.
- [0079] 본 명세서에 사용되는 "작동 가능하게 연결된"은 핵산의 코딩 서열의 발현에 유용한 조절 서열이 코딩 서열의 발현을 달성하도록 핵산 분자에서 코딩 서열에 비하여 적절한 위치에 배치된 것을 나타낸다. 이러한 동일한 정의는 때때로, 발현 벡터 내의 코딩 서열 및 전사 조절 요소(예를 들어, 프로모터, 인헨서 및 종결 요소) 및/또는 선택 가능한 마커의 배열에 적용된다.
- [0080] 본 명세서에 사용되는 "야생형"은 선발 육종 또는 트랜스유전자로의 형질전환으로부터 초래될 수 있는 돌연변이 형태와 구별되는, 그것이 천연에서 발생하는 바와 같은 전형적인 형태의 유기체, 변종, 균주, 유전자, 단백질 또는 특징이다.
- [0081] 본 명세서에 사용되는 "cDNA"는 세포 내의 RNA 전사물에 상보적인 DNA 서열을 지칭한다. 그것은 인공의 분자이다. 전형적으로, cDNA는 주형으로서 RNA 전사물을 사용하여 역전사효소로 지칭되는 효소에 의해 시험관내에서 제조된다.

- [0082] 본 명세서에 사용되는 "정제된" 또는 "정제한다"는 천연 환경에 비하여 순도가 증가된 핵산 서열, 펩티드 또는 폴리펩티드에 관하여 사용된다.
- [0083] 본 명세서에 사용되는 "분화시킨다" 또는 "분화"는 전구체 또는 전구 세포(예를 들어, 뉴런 전구 세포)가 특정 세포 유형(예를 들어, 뉴런)으로 분화하는 과정을 지칭한다.
- [0084] 본 명세서에 사용되는 "용량", "단위 용량" 또는 "투여량"은 대상체에서 사용하기에 적합한 물리적으로 구분된 단위를 지칭하며, 각 단위는 그의 투여와 관련하여 요망되는 반응 또는 반응들을 생성하기 위해 계산된 소정량의 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및/또는 그의 약제학적 제형을 함유한다.
- [0085] 본 명세서에 사용되는 "특이적인 결합 파트너" 또는 "결합 파트너"는 제2 화합물 또는 분자가 모든 다른 분자 또는 화합물보다 더 높은 친화성으로 결합하는 화합물 또는 분자이다.
- [0086] 본 명세서에 사용되는 "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적으로 결합하는"은 공유 또는 비공유 상호작용 또는 공유 및 비공유 상호작용의 조합에 의해 매개될 수 있는 그러한 쌍을 형성하는 화학종, 예를 들어, 효소/기질, 수용체/효능제 또는 길항제, 항체/항원, 렉틴/탄수화물, 올리고 DNA 프라이머/DNA, 효소 또는 단백질/DNA 간에 및/또는 RNA 분자와 다른 핵산(DNA 또는 RNA) 또는 아미노산 간에 발생하는 결합을 지칭한다. 2개의 화학종의 상호작용이 비공유 결합 복합체를 생성하는 경우, 발생하는 결합은 전형적으로 정전기, 수소-결합 또는 친지성 상호작용의 결과이다. 따라서, "특이적인 결합"은 쌍을 형성하는 화학종 사이에 발생하며, 여기서, 둘 사이에 상호작용이 존재하고, 이는 항체/항원, 효소/기질, DNA/DNA, DNA/RNA, DNA/단백질, RNA/단백질, RNA/아미노산, 수용체/기질 상호작용의 특징을 갖는 결합된 복합체를 생성한다. 특히, 특이적인 결합은 쌍의 한 구성원이 특정 화학종에 결합하고, 결합 구성원의 상응하는 구성원이 속하는 화합물의 과 내의 다른 화학종에는 결합하지 않는 것을 특징으로 한다. 따라서, 예를 들어, 항체는 바람직하게는 단일의 에피토프에 결합하고, 단백질의 과 내의 다른 에피토프에는 결합하지 않는다.
- [0087] 본 명세서에 사용되는 "항-감염"은 감염 물질을 사멸시키거나, 그것이 전파하는 것을 억제할 수 있는 화합물 또는 분자를 지칭한다. 항-감염은 항생제, 항박테리아제, 항진균제, 항바이러스제 및 항원충제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0088] 본 명세서에 사용되는 "야생형"은 선발 육종 또는 트랜스유전자로의 형질전환으로부터 초래될 수 있는 돌연변이 형태와 구별되는, 그것이 천연에서 발생하는 바와 같은 전형적인 형태의 유기체, 변종, 균주, 유전자, 단백질, 또는 특징이다.
- [0089] 본 명세서에 사용되는 "유도한다", "유도하는" 또는 "유도된"은 세포 내의 과정 또는 경로, 예를 들어, 엔도시토시스, 분비 및 엑소시토시스의 활성화 또는 자극을 지칭한다.
- [0090] 본 명세서에 사용되는 "유도체"는 화합물과 동일하거나 유사한 코어 구조를 갖지만, 하나 이상의 원자 또는 작용기의 치환, 결실 및/또는 부가를 포함하는 적어도 하나의 구조적 차이를 갖는 임의의 화합물을 지칭한다. 용어 "유도체"는 유도체가 출발 물질로서 또는 중간체로서 모체 화합물로부터 합성되는 것을 의미하지 않지만, 경우에 따라 그럴 수 있다. 용어 "유도체"는 모체 화합물의 전구약물 또는 대사산물을 포함할 수 있다. 유도체는 모체 화합물 내의 유리 아미노기가 유도체화되어 아민 하이드로클로라이드, p-톨루엔 설포아미드, 벤즈옥시카르보아미드, t-부틸옥시카르보아미드, 티오우레탄-형 유도체, 트리플루오로아세틸아미드, 클로로아세틸아미드 또는 포름아미드를 형성하는 화합물을 포함한다. 유도체는 모체 화합물 내의 카르복실기가 유도체화되어 메틸 및 에틸 에스테르 또는 다른 유형의 에스테르 또는 하이드라이드를 형성하는 화합물을 포함한다. 유도체는 모체 화합물 내의 하이드록실기가 유도체화되어 O-아실 또는 O-알킬 유도체를 형성하는 화합물을 포함한다. 유도체는 모체 화합물 내의 수소 결합 공여기가 다른 수소 결합 공여기, 예를 들어, OH, NH 또는 SH로 대체되는 화합물을 포함한다. 유도체는 모체 화합물 내의 수소 결합 수용기가 다른 수소 결합 수용기, 예를 들어, 에스테르, 에테르, 케톤, 카르보네이트, 삼차 아민, 이민, 티온, 설펜, 삼차 아미드 및 설피드로 대체된 것을 포함한다. 또한, "유도체"는 포화 또는 불포화 사이클로핵산 또는 다른 더욱 복잡한, 예를 들어, 질소-함유 고리로의 사이클로펜탄 고리의 대체물의 연장 및 다양한 측기로의 이들 고리의 연장을 포함한다.
- [0091] 본 명세서에 사용되는 "치료적 유효량"은 연구자, 의사, 또는 다른 임상가가 추구하는 조직, 계, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도할 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형, 보조제 또는 본 명세서에 기재된 제2 작용제의 양을 지칭한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, CDKL5 결핍 및/또는 레트 증후군의 하나 이상의 증상의 발생을 예방하거나, 그의 증상을 어느 정도 감소시키거나 또는 완화시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합

단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, 대조군에 비하여 대상체의 뇌의 영역에서 뉴런 생존, 뉴런 수, 신경돌기 성장, 신장 및/또는 분지 밀도를 증가시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, 대조군에 비하여 대상체에서 학습 능력을 증가시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, 대조군에 비하여 대상체에서 기억 능력을 증가시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, 야생형 또는 정상 수준과 실질적으로 유사한 수준으로 학습 능력, 기억 능력 및/또는 운동 능력을 복구시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. "치료적 유효량"은 단독으로 투여되거나 제2 작용제와 동시 투여되는 경우, 야생형 또는 정상 수준과 실질적으로 유사한 수준으로 뇌의 영역에서 뉴런 수, 뉴런 생존, 신경돌기 성장, 신경돌기 신장, 신경돌기 분지수 및/또는 신경돌기 분지 밀도를 복구시키기에 충분한 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 양을 포함한다. 치료적 유효량은 CDKL5-융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 그의 약제학적 제형의 정확한 화학 구조, 치료 중인 CDKL5 결핍, 레트 증후군 또는 그의 증상, 투여 경로, 투여 시간, 배설 속도, 약물 병용, 치료하는 내과의의 판단, 투여형 및 치료할 대상체의 연령, 체중, 일반 건강, 성별 및/또는 식이에 따라 달라질 것이다.

[0092] 본 명세서에 사용되는 "상승 효과", "상승작용" 또는 "상승효과"는 그들의 개별 효과의 합보다 더 크거나 그와 상이한 2개 이상의 분자, 화합물, 물질, 인자 또는 조성물 간에 발생하는 효과를 지칭한다.

[0093] 본 명세서에 사용되는 "상가적 효과"는 그들의 개별 효과의 합과 동일하거나 그와 같은 2개 이상의 분자, 화합물, 물질, 인자 또는 조성물 간에 발생하는 효과를 지칭한다.

[0094] 본 명세서에 다르게 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 당업자가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0095] **논의**

[0096] **TATk-CDKL5 융합 유전자 및 단백질**

[0097] **융합 유전자 및 단백질**

[0098] 변형된 TAT(TATk) 서열을 함유하는 다양한 CDKL5 융합 단백질을 코딩하는 재조합 cDNA 서열이 본 명세서에 개시된다. 일 구현예에서, 융합 단백질은 TATk 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된 인간 CDKL5 폴리펩티드를 함유한다. CDKL5 융합 단백질을 코딩하는 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 2, 7, 9, 11, 13 중 어느 하나에 따른 서열 또는 본 명세서에 기재된 그의 변이형을 가질 수 있다. CDKL5 융합 단백질은 SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14 중 어느 하나에 따른 폴리펩티드 서열 또는 본 명세서에 기재된 그의 변이형을 가질 수 있다.

[0099] 일부 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 1 또는 15에 따를 수 있다. 추가의 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA는 SEQ ID NO: 1 또는 15와 약 90% 내지 약 100%, 80% 내지 약 90% 또는 약 50% 내지 약 80% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 2 또는 16에 따른 아미노산 서열을 코딩할 수 있다. 추가의 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 2 또는 16과 약 90% 내지 약 100%, 80% 내지 약 90% 또는 약 50% 내지 약 80% 동일한 아미노산 서열을 코딩할 수 있다.

[0100] 일부 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 1의 12개의 연속 뉴클레오티드와 약 90% 내지 100% 동일한 적어도 12개의 연속 뉴클레오티드의 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 CDKL5 cDNA 서열은 SEQ ID NO: 1의 12개의 연속 뉴클레오티드와 약 80% 내지 90% 동일한 적어도 12개의 연속 뉴클레오티드의 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, cDNA 서열은 SEQ ID NO: 1의 12개의 연속 뉴클레오티드와 약 50% 내지 80% 동일한 적어도 12개의 연속 뉴클레오티드의 단편일 수 있다.

[0101] CDKL5 융합 단백질은 인간 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된 변형된 전사 트랜스-작용 활성화(TAT) 단백질 형질도입 도메인(PTD)(이후에 TATk)을 함유한다. TATk는 SEQ ID NO: 3에 따른 cDNA 서열 및 SEQ ID NO: 4에 따른 아미노산 서열을 가질 수 있다. TATk는 변형된 TAT-PTD이다. 비변형된 TAT-PTD는 세포 내로의 펩티드 및 단백질의 형질도입을 매개한다. 그러나, 비변형된 TAT-PTD는 TAT-PTD 융합 단백질이 세포에 의해 분비되게

하지 않는다. 비변형된 TAT-PTD는 비변형된 TAT-PTD 내에 위치한 푸린(furin) 인식 서열에서 푸린 엔도프로테아제에 의해 융합 단백질로부터 절단된다. 대조적으로, TATk는 그것이 푸린 인식 서열을 함유하지 않도록 변형된다. 그와 같이, TATk를 함유하는 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질은 진핵 세포에 의해 그의 완전한 형태로 분비될 수 있다.

[0102] 일부 구현예에서, TATk cDNA 서열은 SEQ ID NO: 3과 약 90% 내지 100% 또는 약 80% 내지 약 90% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, TATk cDNA는 SEQ ID NO: 4와 약 90% 내지 100% 또는 약 80% 내지 약 90% 동일한 폴리펩티드 서열을 코딩할 수 있다.

[0103] CDKL5 융합 단백질은 세포에 의한 생성 동안 폴리펩티드를 분비 경로로 지향시키는 Igκ-쇄 리더 서열을 임의로 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, Igκ-쇄 리더 서열은 인간 CDKL5 폴리펩티드의 N-말단에 작동 가능하게 결합될 수 있다. Igκ-쇄 리더 서열은 SEQ ID NO: 5에 따른 cDNA 서열 또는 본 명세서에 기재된 그의 변이형을 가질 수 있으며, SEQ ID NO: 6에 따른 아미노산 서열 또는 본 명세서에 기재된 그의 변이형을 가질 수 있다.

[0104] 다른 구현예에서, Igκ-쇄 리더 서열 cDNA는 SEQ ID NO: 5와 약 90% 내지 100%, 약 80% 내지 약 90% 또는 약 80% 내지 90% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, Igκ-쇄 리더 서열은 SEQ ID NO: 6과 약 90% 내지 약 100%, 약 80% 내지 약 90% 또는 약 50% 내지 약 80% 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0105] CDKL5 융합 단백질은 CDKL5 융합 단백질에 작동 가능하게 결합된 하나 이상의 단백질 태그를 임의로 함유할 수 있다. 이들 유형의 태그는 융합 단백질의 친화성 정제, 가용화, 크로마토그래피 분리 및/또는 면역검출을 가능하게 하는 아미노산 서열이다. 적합한 단백질 태그는 키틴 결합 단백질(CBP), 말토스 결합 단백질(MBP), 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST), 폴리(His), 티오레독신(TRX), 폴리(NANP), FLAG-태그(임의의 FLAG-태그 변이형, 예를 들어, 3x FLAG 포함), V5-태그, Myc-태그, HA-태그, S-태그, SBP-태그, Sftag 1, Softag 3, Tc 태그, Xpress 태그, Strep-태그, Isopeptag, Spy 태그, Ty 태그, 비오틴 카르복실 운반 단백질(BCCP) 및 Nus 태그를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 각각 SEQ ID NO: 8, 10 또는 12에 따른 아미노산 서열을 갖는 SEQ ID NO: 7, 9 또는 11에 따른 CDKL5 융합 단백질 cDNA는 TATk, 및 Myc-태그 및 폴리(HIS) 태그를 함유하는 CDKL5 융합 단백질의 비제한적인 구현예를 보여준다. SEQ ID NO: 14에 따른 아미노산 서열을 갖는 SEQ ID NO: 13에 따른 CDKL5 융합 단백질 cDNA는 FLAG-태그를 갖는 CDKL5 융합 단백질의 비제한적인 구현예를 보여준다.

[0106] CDKL5 융합 단백질은 CDKL5 폴리펩티드에 작동 가능하게 결합된 하나 이상의 리포터 단백질을 임의로 함유할 수 있다. 적합한 리포터 유전자는 형광 단백질(예를 들어, 녹색 형광 단백질(GFP), 적색 형광 단백질(RFP), 황색 형광 단백질(YFP), 청색 형광 단백질(BFP) 및 청록색 형광 단백질(CFP)), 베타-갈락토시다제, 루시페라제(박테리아, 반딧불이 및 레닐라 루시페라제), 항생제-내성 유전자(예를 들어, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제, 네오마이신 포스포트랜스퍼라제 및 NPT-II), p-글루쿠로니다제 및 알칼린 포스파타제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 리포터 단백질의 포함은 특히 융합 단백질 및 융합 단백질의 기능의 직접적인 및/또는 간접적인 특성화, 및 단백질의 친화성 정제를 가능하게 한다. 리포터 단백질은 인간 CDKL5 폴리펩티드의 N-말단 및/또는 C-말단에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 다른 구현예에서, 리포터 단백질은 CDKL5 융합 단백질의 -말단 및/또는 C-말단에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 각각 SEQ ID NO: 8 또는 10에 따른 아미노산 서열을 갖는 SEQ ID NO: 9 또는 11에 따른 CDKL5 융합 단백질 cDNA는 형광 리포터 단백질을 함유하는 CDKL5 융합 단백질의 비제한적인 구현예를 보여준다.

[0107] *제조합 벡터*

[0108] CDKL5 융합 cDNA 서열은 적합한 발현 벡터 내로 혼입될 수 있다. 발현 벡터는 하나 이상의 조절 서열 또는 CDKL5 융합 cDNA의 발현을 용이하게 하기 위해 사용되는 하나 이상의 다른 서열을 함유할 수 있다. 발현 벡터는 하나 이상의 조절 서열 또는 CDKL5 융합 발현 벡터의 복제를 용이하게 하기 위해 사용되는 하나 이상의 다른 서열을 함유할 수 있다. 발현 벡터는 박테리아 세포에서 CDKL5 융합 단백질을 발현시키는데 적합할 수 있다. 다른 구현예에서, 발현 벡터는 효모 세포에서 CDKL5 융합 단백질을 발현시키는데 적합할 수 있다. 추가의 구현예에서, 발현 벡터는 식물 세포에서 CDKL5 융합 단백질을 발현시키는데 적합할 수 있다. 다른 구현예에서, 발현 벡터는 포유류 세포에서 CDKL5 융합 단백질을 발현시키는데 적합할 수 있다. 다른 구현예에서, 벡터는 진균 세포에서 CDKL5 융합 단백질을 발현시키는데 적합할 수 있다. 적합한 발현 벡터는 해당 분야에 일반적으로 알려져 있다.

[0109] *TATk-CDKL5 단백질 생성*

[0110] 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 시험관내에서 세포 배양계에서 생성된다. 세포 배양계는 하나 이상의 박

테리아, 효모, 진균, 식물 또는 포유류 세포를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 배양된 세포(들)에 의해 세포 배양 배지 내로 분비된다. 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 배양된 세포(들)의 세포질 또는 막 내에 함유된다.

[0111] 상기와 함께, CDKL5 융합 단백질을 생성하기 위한 방법으로서, CDKL5 융합 단백질이 배양된 세포에 의해 생성되고, 주변 배양 배지 내로 분비되는 방법의 일 구현예를 보여주는 도 1을 주목한다. 상기 방법은 CDKL5 융합 단백질 cDNA 서열을 함유하는 적합한 벡터를 배양 중 세포 또는 세포들로 트랜스펙션시키거나 다르게 전달함으로써 시작한다(6000). 그 다음, 트랜스펙션된 세포가 벡터로부터 CDKL5 융합 단백질을 생성하고 CDKL5 융합 단백질을 주변 세포 배양 배지로 분비하게 하는 일반적으로 알려져 있는 방법을 사용하여 세포를 배양한다(6010). 적합한 시간 후에, 분비된 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 배양 배지를 수집한다(6020). 일부 구현예에서, 세포를 약 12시간 내지 약 96시간 배양한다. 이 시점에, CDKL5 융합 단백질을 배양 배지로부터 추가로 정제시킬 필요가 있는지 여부를 결정한다(6030). 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 배지를 추가로 정제하지 않고, 하나 이상의 세포를 형질도입시키기 위해 직접 사용한다(6050). 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 배양 배지로부터 추가로 정제 및/또는 농축시킨다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 적합한 방법을 사용하여 정제 및/또는 농축시킨다. 적합한 방법은 친화성 정제, 크기 배제 분리 및 크로마토그래피 분리 방법을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0112] 생성물의 분리 방법의 이해를 염두에 두고, CDKL5 융합 단백질의 생성 방법으로서, CDKL5 융합 단백질이 주변 세포 배양 배지 내로 분비되지 않는 방법의 일 구현예를 보여주는 도 2가 주목된다. 상기 방법은 CDKL5 융합 단백질 cDNA 서열을 함유하는 적합한 벡터를 배양 중 세포 또는 세포들로 트랜스펙션시키거나 다르게 전달함으로써 시작한다(6000). 그 다음, 트랜스펙션된 세포가 벡터로부터 CDKL5 융합 단백질을 생성하게 하는 일반적으로 알려져 있는 방법을 사용하여 세포를 배양한다(6010). 적합한 시간 후에, 표준 방법을 사용하여 세포를 용해시킨다(7000). 일부 구현예에서, 세포를 용해시키기 이전 12시간 내지 96시간 배양한다.

[0113] 다음으로, CDKL5 융합 단백질이 세포막 또는 세포질 내로 통합되는지 여부를 결정한다(7010). CDKL5 융합 단백질이 막 분획 내에 존재한다면, 막 분획을 수집한다(7020). 막 분획을 수집한 후에(7020), CDKL5 융합 단백질을 CDKL5 융합 단백질을 정제 및/또는 농축시키기 위한 적합한 방법(6040)을 사용하여 막 분획으로부터 분리한다.

[0114] CDKL5 융합 단백질이 세포질에 존재하는 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 상층액을 수집한다(7030). 상층액을 수집한 후에(7030), CDKL5 융합 단백질을 추가로 정제 및/또는 농축시켜야 하는지 여부를 결정한다. CDKL5 융합 단백질을 추가로 정제 및/또는 농축시켜야 하는 것으로 결정되면, CDKL5 융합 단백질을 적합한 방법을 사용하여 정제 및/또는 농축시킨다(6040). 적합한 방법은 친화성 정제, 크기 배제 분리 및 크로마토그래피 분리 방법을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. CDKL5를 상층액으로부터 추가로 정제 및/또는 농축시킬 필요 없는 것으로 결정된 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 상층액을 직접 사용하여 세포를 형질도입시킨다(6050).

[0115] **TatK-CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 제형**

[0116] 또한, 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 제형이 본 발명의 범주 내이다. 조성물은 본 명세서에 기재된 방법에 따라 생성될 수 있는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 배지 또는 상층액일 수 있다.

[0117] 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질을 단독으로, 또는 약제학적 제형에서 예를 들어, 활성 성분으로서 그를 필요로 하는 대상체에게 제공할 수 있다. 그와 같이, 소정량의 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 약제학적 제형도 본 명세서에 기재된다. 일부 구현예에서, 약제학적 제형은 치료적 유효량의 CDKL5 융합 단백질을 함유한다. 본 명세서에 기재된 약제학적 제형은 그를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 그를 필요로 하는 대상체는 CDKL5 결핍, 레트 증후군 및/또는 그의 증상을 가질 수 있다. 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 CDKL5 결핍, 레트 증후군 및/또는 그의 증상의 치료 또는 예방을 위한 약제의 제조에 사용될 수 있다.

[0118] **약제학적으로 허용 가능한 담체 및 보조 성분 및 보조제**

[0119] 본 명세서에 기재된 치료적 유효량의 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 약제학적 제형은 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용 가능한 담체는 활성 조성물과 유해하게 반응하지 않는 물, 염 용액, 알코올, 아라비아 고무, 식물성 오일, 벤질 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 탄수화물, 예를 들어, 락토스, 아밀로스 또는 전분, 스테아르산마그네슘, 활석, 규산, 점성 파라핀, 향유(perfume oil), 지방산 에스테르, 하이드록시 메틸셀룰로스 및 폴리비닐 피롤리돈을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0120] 약제학적 제형은 살균되고, 요망되는 경우 활성 조성물과 유해하게 반응하지 않는 보조제, 예를 들어, 윤활제,

보존제, 안정화제, 습윤화제, 유화제, 삼투압에 영향을 미치는 염, 완충제, 착색제, 향미제 및/또는 방향성 물질 등과 혼합될 수 있다.

[0121] 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질에 더하여, 약제학적 제형은 DNA, RNA, 아미노산, 펩티드, 폴리펩티드, 항체, 압타머, 리보자임, 필수 중앙 단백질 및 유전자의 번역 또는 전사를 억제하는 리보자임을 위한 가이드 서열, 호르몬, 면역조절제, 해열제, 항불안제, 항정신병제, 진통제, 진경제, 항염증제, 항히스타민제, 항감염제 및 화학치료제를 포함하나 이들에 한정되지 않는 유효량의 보조 활성제도 또한 포함할 수 있다.

[0122] 적합한 호르몬은 아미노산 유래 호르몬(예를 들어, 멜라토닌 및 티록신), 소형 펩티드 호르몬 및 단백질 호르몬(예를 들어, 갑상선 자극 호르몬-방출 호르몬, 바소프레신, 인슐린, 성장 호르몬, 황체형성 호르몬, 난포-자극 호르몬 및 갑상선-자극 호르몬), 에이코사노이드(예를 들어, 아라키돈산, 리폭신 및 프로스타글란딘) 및 스테로이드 호르몬(예를 들어, 에스트라디올, 테스토스테론, 테트라하이드로 테스토스테론 코르티솔)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0123] 적합한 면역조절제는 프레드니손(prednisone), 아자티오프린(azathioprine), 6-MP, 사이클로스포린, 타크롤리무스(tacrolimus), 메토트렉세이트, 인터류킨(예를 들어, IL-2, IL-7 및 IL-12), 사이토카인(예를 들어, 인터페론(예를 들어, IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- ω 및 IFN- γ), 과립구 콜로니-자극 인자 및 이미퀴모드(imiquimod)), 케모카인(예를 들어, CCL3, CCL26 및 CXCL7), 시토신 포스페이트-구아노신, 올리고데옥시뉴클레오타이드, 글루칸, 항체 및 압타머)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0124] 적합한 해열제는 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜(ibuprofen), 나프록센(naproxen), 케토프로펜(ketoprofen) 및 니메술리드(nimesulide)), 아스피린 및 관련 살리실산염(예를 들어, 살리실산콜린, 살리실산마그네슘 및 살리실산나트륨), 파라세타몰(paracetamol)/아세트아미노펜(acetaminophen), 메타미졸(metamizole), 나부메톤(nabumetone), 페나존(phenazone) 및 퀴닌(quinine)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0125] 적합한 항불안제는 벤조디아제핀(benzodiazepine)(예를 들어, 알프라졸람(alprazolam), 브로마제팜(bromazepam), 클로르디아제폭시드(chlordiazepoxide), 클로나제팜(clonazepam), 클로라제페이트(clorazepate), 디아제팜(diazepam), 플루라제팜(flurazepam), 로라제팜(lorazepam), 옥사제팜(oxazepam), 테마제팜(temazepam), 트리아졸람(triazolam) 및 토피소팜(tofisopam)), 세로토닌 작용성 항우울제(예를 들어, 선택적 세로토닌 재흡수 억제제, 삼환계 항우울제 및 모노아민 옥시다제 억제제), 메비카(mebicar), 아포바졸(afobazole), 셀란크(selank), 브로만탄(bromantane), 에목시핀(emoxypine), 아자피론(azapirone), 바르비투르산염(barbiturates), 하이드록시진(hydroxyzine), 프레가발린(pregabalin), 발리돌(validol) 및 베타 차단제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0126] 적합한 항정신병제는 벤페리돌(benperidol), 브로모페리돌(bromoperidol), 드로페리돌(droperidol), 할로페리돌(haloperidol), 모페론(moperone), 피파페론(pipaperone), 티미페론(timiperone), 플루스피릴렌(fluspirilene), 펜플루리돌(penfluridol), 피모지드(pimozide), 아세프로마진(acepromazine), 클로르프로마진(chlorpromazine), 시아메마진(cyamemazine), 디자이라진(dizyrazine), 플루페나진(fluphenazine), 레보메프로마진(levomepromazine), 메소리다진(mesoridazine), 페라진(perazine), 페리사이아진(pericyazine), 페르페나진(perphenazine), 피포티아진(pipotiazine), 프로클로르페라진(prochlorperazine), 프로마진(promazine), 프로메타진(promethazine), 프로티펜딜(prothipendyl), 티오프로페라진(thiopropazine), 티오리다진(thioridazine), 트리플루오페라진(trifluoperazine), 트리플루프로마진(triflupromazine), 클로르프로티센(chlorprothixene), 클로펜티솔(clopenthixol), 플루펜티솔(flupentixol), 티오틱센(tiotixene), 주클로펜티솔(zuclopenthixol), 클로티아핀(clotiapine), 록사핀(loxapine), 프로티펜딜(prothipendyl), 카르피프라민(carpipramine), 클로카프라민(clocapramine), 몰린돈(molindone), 모사프라민(mosapramine), 설피리드(sulpiride), 베랄리프리드(veralipride), 아미설프리드(amisulpride), 아목사핀(amoxapine), 아리피프라졸(aripiprazole), 아세나핀(asenapine), 클로자핀(clozapine), 블로난세린(blonanserin), 일로페리돈(iloperidone), 루라시돈(lurasidone), 멜페론(melperone), 네모나프리드(nemonapride), 올란자프린(olanzapine), 팔리페리돈(paliperidone), 페로spi론(perospirone), 쿠에티아핀(quetiapine), 레목시프리드(remoxipride), 리스페리돈(risperidone), 세르틴돌(sertindole), 트리미프라민(trimipramine), 지프라시돈(ziprasidone), 조테핀(zotepine), 알스토니에(alstonie), 베페프루녹스(befeprunox), 비트페르틴(bitopertin), 브렉스피프라졸(brexiprazole), 카나비디올(cannabidiol), 카리프라진(cariprazine), 피마반세린(pimavanserin), 포마글루메타드 메티오닐(pomaglutetad methionil), 바비카세린(vabicaserin), 자노멜린

(xanomeline) 및 지크로나핀(zicronapine)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0127] 적합한 진통제는 파라세타몰/아세트아미노펜, 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜 및 니메술리드), COX-2 억제제(예를 들어, 로페콕시브(rofecoxib), 셀레콕시브(celecoxib) 및 에토리콕시브(eticorixib)), 오피오이드(예를 들어, 모르핀(morphine), 코데인(codeine), 옥시코돈(oxycodone), 하이드로코돈(hydrocodone), 디하이드로모르핀(dihydromorphine), 페티딘(pethidine), 부프레노르핀(buprenorphine)), 트라마돌(tramadol), 노르에피네프린(norepinephrine), 플루피레틴(flupiretine), 네포팜(nefopam), 오르페나드린(orphenadrine), 프레가발린(pregabalin), 가바펜틴(gabapentin), 사이클로벤즈아프린(cyclobenzaprine), 스코폴라민(scopolamine), 메타돈(methadone), 케토베미돈(ketobemidone), 피리트라미드(piritramide) 및 아스피린(aspirin) 및 관련 살리실산염(예를 들어, 살리실산콜린, 살리실산마그네슘 및 살리실산나트륨)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0128] 적합한 항진경제는 메베베린(mebeverine), 파프베린(papverine), 사이클로벤즈아프린, 카리소프로돌(carisoprodol), 오르페나드린(orphenadrine), 티자니딘(tizanidine), 메탁살론(metaxalone), 메토드카르바몰(methodcarbamol), 클로르족사존(chlorzoxazone), 바클로펜(baclofen), 단트롤렌(dantrolene), 바클로펜(baclofen), 티자니딘(tizanidine) 및 단트롤렌(dantrolene)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0129] 적합한 항염증제는 프레드니손, 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜 및 니메술리드), COX-2 억제제(예를 들어, 로페콕시브, 셀레콕시브 및 에토리콕시브) 및 면역 선택적 항염증 유도체(예를 들어, 텍밀렘 펩티드-T 및 그의 유도체)를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0130] 적합한 항히스타민제는 H₁-수용체 길항제(예를 들어, 아크리바스틴(acrivastine), 아젤라스틴(azelastine), 빌라스틴(bilastine), 브롬페니라민(brompheniramine), 부클리진(buclicizine), 브로모디펜하이드라민(bromodiphenhydramine), 카르비녹사민(carbinoxamine), 세티리진(cetirizine), 클로르프로마진(chlorpromazine), 사이클리진(cyclizine), 클로르페니라민(chlorpheniramine), 클레마스틴(clemastine), 사이프로헵타딘(cyproheptadine), 데슬로라타딘(desloratadine), 텍스브로마페니라민(dexbromapheniramine), 텍스클로르페니라민(dexchlorpheniramine), 디멘하이드리네이트(dimenhydrinate), 디메틴덴(dimetindene), 디펜하이드라민(diphenhydramine), 독실아민(doxylamine), 에바신(ebasine), 엠브라민(embramine), 펙소페나딘(fexofenadine), 하이드록시진(hydroxyzine), 레보세티르진(levocetirizine), 로라타딘(loratadine), 메클로진(meclozine), 미르타자핀(mirtazapine), 올로파타딘(olopatadine), 오르페나드린(orphenadrine), 페닌다민(phenindamine), 페니라민(pheniramine), 페닐톨록사민(phenyltoloxamine), 프로메타진(promethazine), 피릴라민(pyrilamine), 쿠에티아핀(quetiapine), 루파타딘(rupatadine), 트리펠레나민(tripelenamine) 및 트리프로리딘(triprolidine)), H₂-수용체 길항제(예를 들어, 시메티딘(cimetidine), 파모티딘(famotidine), 라푸티딘(lafutidine), 니자티딘(nizatidine), 라피티딘(rafitidine) 및 록사티딘(roxatidine)), 트리토쿠알린(tritoqualine), 카테킨(catechin), 크로모글리케이트(cromoglicate), 네도크로밀(nedocromil) 및 β2-아드레날린 작용성 효능제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0131] 적합한 항감염제는 항아메바제(예를 들어, 니타족사니드(nitazoxanide), 파로모마이신(paromomycin), 메트로니다졸(metronidazole), 티니다졸(tinidazole), 클로로퀸(chloroquine), 밀테포신(miltefosine), 암포테리신(amphotericin) b 및 아이오도퀴놀(iodoquinol)), 아미노글리코사이드(aminoglycoside)(예를 들어, 파로모마이신, 토브라마이신(tobramycin), 젠타마이신(gentamicin), 아미카신(amikacin), 카나마이신(kanamycin) 및 네오마이신(neomycin)), 구충제(예를 들어, 피란텔(pyrantel), 메벤다졸(mebendazole), 이베르멕틴(ivermectin), 프라지판텔(praziquantel), 아벤다졸(abendazole), 티아벤다졸(thiabendazole), 옥삼니퀸(oxamniquine)), 항진균제(예를 들어, 아졸 항진균제(예를 들어, 이트라코나졸(itraconazole), 플루코나졸(fluconazole), 포사코나졸(posaconazole), 케토코나졸(ketoconazole), 클로트리마졸(clotrimazole), 미코나졸(miconazole) 및 보리코나졸(voriconazole)), 에키노칸딘(echinocandins)(예를 들어, 카스포펄진(caspofungin), 아니둘라펄진(anidulafungin) 및 미카펄진(micafungin)), 그리세오햄빈(griseofulvin), 테르비나핀(terbinafine), 플루시토신(flucytosine) 및 폴리엔(polyene)(예를 들어, 나이스타틴(nystatin) 및 암포테리신 b), 항말라리아제(예를 들어, 피리메타민(pyrimethamine)/설파독신(sulfadoxine), 아르테메터(artemether)/루메판트린(lumefantrine), 아토바쿰(atovaquone)/프로쿠아닐(proquanil), 퀴닌(quinine), 하이드록시클로로퀸(hydroxychloroquine), 메플로퀸(mefloquine), 클로로퀸(chloroquine), 독시사이클린(doxycycline), 피리메타민(pyrimethamine) 및 할로판트린(halofantrine)), 항결핵제(예를 들어, 아미노살리실산염(예를 들어, 아미노살리실산), 이소니아지드(isoniazid)/리팜핀(rifampin), 이소니아지드/피라진아미드

(pyrazinamide)/리팜핀, 베다퀼린(bedaquiline), 이소니아지드, 에탐부톨(ethambutol), 리팜핀, 리파부틴(rifabutin), 리파펜틴(rifapentine), 카프레오마이신(capreomycin) 및 사이클로세린), 항바이러스제(예를 들어, 아만타딘(amantadine), 리만타딘(rimantadine), 아바카비르(abacavir)/라미부딘(lamivudine), 엠트리시타빈(emtricitabine)/테노포비르(tenofovir), 코비시스타트(cobicistat)/엘비테그라비르(elvitegravir)/엠트리시타빈/테노포비르, 에파비렌즈(efavirenz)/엠트리시타빈/테노포비르, 아바카비르(avacavir)/라미부딘(lamivudine)/지도부딘(zidovudine), 라미부딘/지도부딘, 엠트리시타빈/테노포비르, 엠트리시타빈/오피나비르(opinavir)/리토나비르(ritonavir)/테노포비르(tenofovir), 인터페론 알파-2v/리바비린(ribavirin), 페그인터페론 알파-2b, 마라비로크(maraviroc), 랄테그라비르(raltegravir), 돌루테그라비르(dolutegravir), 엔푸비르티드(enfuvirtide), 포스카넷(foscarnet), 폼비비르센(fomivirsen), 오셀타미비르(oseltamivir), 자나미비르(zanamivir), 네비라핀(nevirapine), 에파비렌즈(efavirenz), 에트라비린(etravirine), 릴피비린(rilpivirine), 델라비리딘(delaviridine), 네비라핀(nevirapine), 엔테카비르(entecavir), 라미부딘(lamivudine), 아데포비르(adeфовir), 소포스부비르(sofosbuvir), 디다노신(didanosine), 테노포비르(tenofovir), 아바시비르(avacavir), 지도부딘(zidovudine), 스타부딘(stavudine), 엠트리시타빈(emtricitabine), 잘시타빈(xalcitabine), 텔비부딘(telbivudine), 시메프레비르(simeprevir), 보세프레비르(boceprevir), 텔라프레비르(telaprevir), 로피나비르(lopinavir)/리토나비르(ritonavir), 포삼프렌비르(fosamprenvir), 드라누아비르(dranuavir), 리토나비르, 티프라나비르(tipranavir), 아타자나비르(atazanavir), 넬피나비르(nelfinavir), 암프레나비르(amprenavir), 인디나비르(indinavir), sawuina비르(sawuina비르), 리바비린(ribavirin), 발사이클로비르(valcyclovir), 아사이클로비르(acyclovir), 팜시클로비르(famciclovir), 간시클로비르(ganciclovir) 및 발간시클로비르(valganciclovir)), 카르바페넴(carbapenem)(예를 들어, 도리페넴(doripenem), 메로페넴(meropenem), 에르타페넴(ertapenem) 및 실라스타틴(cilastatin)/이미페넴(imipenem)), 세팔로스포린(cephalosporin)(예를 들어, 세파드록실(cefadroxil), 세프라딘(cephradine), 세파졸린(cefazolin), 세팔렉신(cephalexin), 세페핌(cefepime), 세플라롤린(ceflaroline), 로라카르베프(loracarbef), 세포테탄(cefotetan), 세푸록심(cefuroxime), 세프프로질(cefprozil), 로라카르베프(loracarbef), 세폭시틴(cefexitin), 세파클로르(cefaclor), 세프티부텐(ceftibuten), 세프트리악손(ceftriaxone), 세프트락심(cefotaxime), 세프트독심(cefepodoxime), 세프디니르(cefdinir), 세픽심(cefixime), 세프디토렌(cefditoren), 세피족심(cefizoxime) 및 세프타지딤(ceftazidime)), 당펩티드 항생제(예를 들어, 반코마이신(vancomycin), 달바반신(dalbavancin), 오리타반신(oritavancin) 및 텔반신(telvancin)), 글라이실사이클린(예를 들어, 티제사이클린(tigecycline)), 나균저지제(예를 들어, 클로파지민(clofazimine) 및 탈리도미드(thalidomide)), 린코마이신(lincomycin) 및 그의 유도체(예를 들어, 클린다마이신(clindamycin) 및 린코마이신), 매크로라이드(macrolide) 및 그의 유도체(예를 들어, 텔리트로마이신(telithromycin), 피닥소마이신(fidaxomicin), 에르트로마이신(erthromycin), 아지트로마이신(azithromycin), 클라리트로마이신(clarithromycin), 디리트로마이신(dirithromycin) 및 트롤레안도마이신(troleandomycin)), 리네졸리드(linezolid), 설파메톡사졸(sulfamethoxazole)/트리메토프림(trimethoprim), 리팍시민(rifaximin), 클로람페니콜(chloramphenicol), 포스포마이신(fosfomicin), 메트로니다졸(metronidazole), 아즈트레오남(aztreonam), 바시트라신(bacitracin), 페니실린(penicillin)(아목시실린(amoxicillin), 암피실린(ampicillin), 바캄피실린(bacampicillin), 카르베니실린(carbenicillin), 피페라실린(piperacillin), 티카르실린(ticarcillin), 아목시실린/클라불라네이트(clavulanate), 암피실린/설파탐(sulbactam), 피페라실린/타조박탐(tazobactam), 클라불라네이트/티카르실린(ticarcillin), 페니실린, 프로카인 페니실린(procaine penicillin), 옥사실린(oxacillin), 디클록사실린(dicloxacillin) 및 나프실린(nafcillin)), 퀴놀론(예를 들어, 로메플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신(ofloxacin), 콰티플록사신(qatifloxacin), 목시플록사신, 시프로플록사신(ciprofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 제미플록사신(gemifloxacin), 목시플록사신, 시녹사신(cinoxacin), 날리딕스산(nalidixic acid), 에녹사신(enoxacin), 그레파플록사신(grepafloxacin), 가티플록사신(gatifloxacin), 트로바플록사신(trovafloxacin) 및 스파르플록사신(sparfloxacin)), 설폰아미드(예를 들어, 설파메톡사졸(sulfamethoxazole)/트리메토프림, 설파살라진(sulfasalazine) 및 설파속사졸(sulfasoxazole)), 테트라사이클린(예를 들어, 독시사이클린, 데메클로사이클린, 미노사이클린, 독시사이클린/살리실산, 독시사이클린/오메가-3 다중불포화 지방산 및 테트라사이클린(tetracycline)) 및 비노기 항감염제(예를 들어, 니트로푸란토인(nitrofurantoin), 메텐아민(methenamine), 포스포마이신, 시녹사신(cinoxacin), 날리딕스산(nalidixic acid), 트리메토프림 및 메틸렌 블루(methylene blue))를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0132]

적합한 화학치료제는 파클리탁셀(paclitaxel), 브렌투시맙 베도틴(brentuximab vedotin), 독소루비신(doxorubicin), 5-FU(플루오로우라실), 에베롤리무스(everolimus), 페메트렉시드(pemetrexed), 멜팔란

(melphalan), 파미드로네이트(pamidronate), 아나스트로졸(anastrozole), 엑세메스탄(exemestane), 넬라라빈(nelarabine), 오파투무맙(ofatumumab), 베바시주맙(bevacizumab), 벨리노스타트(belinostat), 토시투모맙(tositumomab), 카르무스틴(carmustine), 블레오마이신(bleomycin), 보수티닙(bosutinib), 부설판(busulfan), 알렘투주맙(alemtuzumab), 이리노테칸(irinotecan), 반데타닙(vandetanib), 비칼루타미드(bicalutamide), 로무스틴(lomustine), 다우노루비신(daunorubicin), 클로파라빈(clofarabine), 카보잔티닙(cabozantinib), 닥티노마이신(dactinomycin), 라무시루맙(ramucirumab), 시타라빈(cytarabine), 시톡산(cytosan), 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 데시타빈(decitabine), 텍사메타손(dexamethasone), 도세탁셀(docetaxel), 하이드록시우레아(hydroxyurea), 데카르바진(decarbazine), 류프롤리드(leuprolide), 에피루비신(epirubicin), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 아스파라기나제(asparaginase), 에스트라무스틴(estramustine), 세톡시맙(cetuximab), 비스모데깁(vismodegib), 아스파르기나제 에르위니아 크리스안테미(asparaginase Erwinia chrysanthemi), 아미포스틴(amifostine), 에토포시드(etoposide), 플루타미드(flutamide), 토레미펜(toremifene), 풀베스트란트(fulvestrant), 레트로졸(letrozole), 데가렐릭(degarelix), 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 메토틱렉세이트(methotrexate), 플록수리딘(floxuridine), 오비누투주맙(obinutuzumab), 겐시타빈(gemcitabine), 아파티닙(afatinib), 이마티닙 메실라템(imatinib mesylate), 카르무스틴, 에리블린(eribulin), 트라스투주맙(trastuzumab), 알트레타민(altretamine), 토포테칸(topotecan), 폰나티닙(ponatinib), 이다루비신(idarubicin), 이포스파미드(ifosfamide), 이브루티닙(ibrutinib), 악시티닙(axitinib), 인티페론 알파-2a, 게피티닙(gefitinib), 로미덱신(romidepsin), 익사베필론(ixabepilone), 룩솔리티닙(ruxolitinib), 카바지탁셀(cabazitaxel), 아도-트라스투주맙 엠탄신(ado-trastuzumab emtansine), 카르필조밋(carfilzomib), 클로람부실(chlorambucil), 사르그라마스팀(sargramostim), 클라드리빈(cladribine), 미토탄(mitotane), 빈크리스틴(vincristine), 프로카바진(procarbazine), 메게스트롤(megestrol), 트라메티닙(trametinib), 메스나(mesna), 스트론툼-89 클로라이드, 메클로르에타민(mechlorethamine), 미토마이신(mitomycin), 부설판(busulfan), 겐투주맙 오조가미신(gemtuzumab ozogamicin), 비노렐빈(vinorelbine), 필그라스팀(filgrastim), 페그필그라스팀(pegfilgrastim), 소라페닙(sorafenib), 닐루타미드(nilutamide), 펜토스타틴(pentostatin), 타목시펜(tamoxifen), 미톡산트론(mitoxantrone), 페그아스파르가제(pegaspargase), 데니류킨 디프티톡스(denileukin diftotox), 알리트레티노인(alitretinoin), 카르보플라틴(carboplatin), 퍼투주맙(pertuzumab), 시스플라틴(cisplatin), 포말리도미드(pomalidomide), 프레드니손(prednisone), 알데스류킨(aldesleukin), 머캅토피린(mercaptopurine), 졸레드론산(zoledronic acid), 레날리도미드(lenalidomide), 리톡시맙(rituximab), 옥트레티드(octetide), 다사티닙(dasatinib), 레고라페닙(regorafenib), 히스트렐린(histrelin), 수니티닙(sunitinib), 실톡시맙(siltuximab), 오마세탁신(omacetaxine), 씨오구아닌(thioguanine)(티오구아닌(tioguanine)), 다브라페닙(dabrafenib), 에를로티닙(erlotinib), 벅사로텐(bexarotene), 테모졸로미드(temozolomide), 티오테파(thiotepa), 탈리도미드(thalidomide), BCG, 템시롤리무스(temsirolimus), 벤다무스틴 하이드로클로라이드(bendamustine hydrochloride), 트립토텐린(triptorelin), 비소삼산화물(arsenic trioxide), 라파티닙(lapatinib), 발루비신(valrubicin), 파니투무맙(panitumumab), 빈블라스틴(vinblastine), 보르테조밋(bortezomib), 트레티노인(tretinoin), 아자시티딘(azacitidine), 파조파닙(pazopanib), 테니포시드(teniposide), 류코보린(leucovorin), 크리조티닙(crizotinib), 카페시타빈(capecitabine), 엔잘루타미드(enzalutamide), 이필리무맙(ipilimumab), 고세렐린(goserelin), 보리노스타트(vorinostat), 이델라리십(idelalisib), 세리티닙(ceritinib), 아비라테론(abiraterone), 에포틸론(epothilone), 타플루포시드(tafluposide), 아자티오프린(azathioprine), 독시플루리딘(doxifluridine), 빈데신(vindesine) 및 올-트랜스레티노산(all-trans retinoic acid)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0133] 유효량의 CDKL5 융합 단백질 및 보조제

[0134] 약제학적 제형은 치료적 유효량의 CDKL5 융합 단백질 및 임의로 치료적 유효량의 보조제를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질의 치료적 유효량은 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 10 mg/kg 범위일 수 있다. 추가의 구현예에서, CDKL5 융합 단백질의 치료적 유효량은 1 ng/g (체중) 내지 약 0.1 mg/g (체중) 범위일 수 있다. CDKL5 융합 단백질의 치료적 유효량은 약 1 pg 내지 약 10 g 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량은 약 10 nL 내지 약 10 mL 범위일 수 있다.

[0135] 일부 구현예에 있어서, 치료적 유효량은 예를 들어, 뇌실내 주사를 위하여 주사마다 약 20 내지 약 50 ng 일 수 있다. 다른 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어, 뇌실내 주사를 위하여 주사마다 약 10 마이크로리터일 수 있다. 추가의 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어, 뇌실내 주사를 위하여 약 5 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 일 수 있다. 또 다른 추가의 구현예에서, 치료적 유효량은 뇌실내 주사를 위하여 약 1.9 $\mu\text{g/kg}$ (체중)일 수 있다.

- [0136] 다른 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어, 전신 투여 주사를 위하여 주사마다 약 1 내지 약 2 마이크로그램 일 수 있다. 추가의 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어, 전신 투여 주사를 위하여 주사마다 약 200 내지 약 300 μl 일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어, 전신 주사를 위하여 약 5 ng/ μl 일 수 있다. 일부 구현예를 위하여, 치료적 유효량은 5 g(체중)마다 약 1 내지 약 1.5 μg 일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 체중 kg마다 약 200 μg 내지 약 300 μg 일 수 있다.
- [0137] CDKL5 융합 단백질에 더하여 보조 활성제가 약제학적 제형에 함유되는 구현예에서, 보조 활성제의 치료적 유효량은 보조 활성제에 따라 달라질 것이다. 일부 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 0.001 마이크로그램 내지 약 1 밀리그램 범위이다. 다른 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 약 0.01 IU 내지 약 1000 IU 범위이다. 추가의 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 0.001 ml 내지 약 1 ml 범위이다. 또 다른 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 총 약제학적 제형의 약 1 w/w% 내지 약 50 w/w% 범위이다. 추가의 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 총 약제학적 제형의 약 1 v/v% 내지 약 50 v/v% 범위이다. 또 다른 구현예에서, 보조 활성제의 유효량은 총 약제학적 제형의 약 1 w/v% 내지 약 50 w/v% 범위이다.
- [0138] 투여형
- [0139] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 제형은 투여형으로 존재할 수 있다. 투여형은 임의의 적절한 경로에 의한 투여를 위해 조정될 수 있다. 적절한 경로는 경구(협측 또는 설하 포함), 직장, 경막외, 두개내, 안내, 흡입형, 비강내, 국소(협측, 설하 또는 경피 포함), 질, 요도내, 비경구, 두개내, 피하, 근육내, 정맥내, 복강내, 피내, 골내, 심장내, 관절내, 음경해면체내, 척추강내, 유리체내, 뇌내, 및 뇌실내 및 피내를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 그러한 제형은 해당 분야에 알려져 있는 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0140] 경구 투여를 위해 조정된 투여형은 별개의 투여 단위, 예를 들어, 캡슐, 펠렛 또는 정제, 분말 또는 과립, 수성 또는 비수성 액체 중 용액 또는 현탁액; 식용 가능한 폼(foam) 또는 휘프(whip) 또는 수중유 액상 에멀전 또는 유중수 액상 에멀전일 수 있다. 일부 구현예에서, 경구 투여를 위해 조정된 약제학적 제형은 약제학적 제형에 풍미를 더하거나, 그를 보존시키거나, 착색시키거나, 분산을 돕는 하나 이상의 작용제도 또한 포함한다. 경구 투여를 위해 제조된 투여형은 또한 폼, 분무 또는 액체 용액으로 전달될 수 있는 액체 용액의 형태로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 경구 투여형은 치료적 유효량의 또는 그의 적절한 분율의 CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물을 함유하는 약제학적 제형 약 1 ng 내지 1000 g을 함유할 수 있다. 경구 투여형은 그를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0141] 적절한 경우, 본 명세서에 기재된 투여형은 마이크로캡슐화될 수 있다. 또한, 투여형은 임의의 성분의 방출을 연장시키거나 또는 지속시키도록 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 방출이 지연되는 성분이다. 다른 구현예에서, 임의로 포함된 보조 성분의 방출이 지연된다. 성분의 방출을 지연시키는 적합한 방법은 폴리머, 왁스, 젤 등의 물질에 성분을 코팅하거나 또는 매립하는 것을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 지연 방출형 투여 제형은 표준 참고문헌, 예를 들어, 문헌["Pharmaceutical dosage form tablets," eds. Liberman et. al. (New York, Marcel Dekker, Inc., 1989)], 문헌["Remington - The science and practice of pharmacy", 20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000] 및 문헌["Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems", 6th Edition, Ansel et al., (Media, PA: Williams and Wilkins, 1995)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 이들 참고문헌은 정제 및 캡슐, 및 정제 및 펠렛, 캡슐 및 과립의 지연 방출형 투여형을 제조하기 위한 부형제, 물질, 장비 및 과정에 대한 정보를 제공한다. 지연 방출은 약 1시간 내지 약 3개월 이상의 임의의 시간일 수 있다.
- [0142] 적합한 코팅 물질의 예는 셀룰로스 폴리머, 예를 들어, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트 및 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 석시네이트; 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 아크릴산 폴리머 및 코폴리머 및 제품명 EUDRAGIT®(Roth Pharma, Westerstadt, Germany) 하에 구매 가능한 메타크릴 수지, 제인, 셀락(shellac) 및 당류를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0143] 코팅을 상이한 비의 수 용해성 폴리머, 수 불용성 폴리머 및/또는 pH 의존성 폴리머와 함께, 수 불용성/수 용해성 비 폴리머 부형제와 함께 또는 이것 없이 형성하여, 요망되는 방출 프로파일을 생성할 수 있다. 코팅은 정제(코팅 비드와 함께 또는 이것 없이 압축), 캡슐(코팅 비드와 함께 또는 이것 없이), 비드, 입자 조성물, 비제한적으로 현탁액 형태로서 또는 스프링클(sprinkle) 투여형으로서 제형화된 "그대로의 성분"을 포함하나 이들에 한정되지 않는 투여형(매트릭스 또는 단순)에서 수행된다.

- [0144] 국소 투여를 위해 조정된 투여형은 연고, 크림, 현탁액, 로션, 분말, 용액, 페이스트, 젤, 스프레이, 에어로졸 또는 오일로서 제형화될 수 있다. 눈 또는 기타 외부 조직, 예를 들어, 입 또는 피부의 치료를 위한 일부 구현예에서, 약제학적 제형은 국소 연고 또는 크림으로서 도포된다. 연고로 제형화되는 경우, CDKL5 융합 단백질, 보조 활성 성분 및/또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염은 파라핀 또는 수-혼화성 연고 베이스로 제형화될 수 있다. 다른 구현예에서, 활성 성분은 수중유 크림 베이스 또는 유중수 베이스를 사용하여 크림으로 제형화될 수 있다. 입 내의 국소 투여를 위하여 조정된 투여형은 로젠지정(lozenge), 향정(pastille) 및 구강 세척제를 포함한다.
- [0145] 비강 또는 흡입 투여를 위해 조정된 투여형은 에어로졸, 용액, 현탁액 점적제, 젤 또는 건조 분말을 포함한다. 일부 구현예에서, 흡입을 위해 조정된 투여형에서 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 보조 활성 성분 및/또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염은 미분화에 의해 수득되거나 그에 의해 수득 가능한 입자-크기-감소 형태로 존재한다. 일부 구현예에서, 크기 감소(예를 들어, 미분화된) 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물의 입자 크기는 해당 분야에 알려져 있는 적절한 방법에 의해 측정시 약 0.5 내지 약 10 마이크로미터의 D50 값에 의해 정의된다. 흡입에 의한 투여를 위해 조정된 투여형은 또한 입자 분진(dust) 또는 미스트(mist)를 포함한다. 담체 또는 부형제가 비강 분무 또는 점적제로서 투여하기 위한 액체인 적합한 투여형은 다양한 유형의 계량식 용량 가압 에어로졸, 분무기 또는 취입기에 의해 생성될 수 있는 활성 성분의 수성 또는 오일 용액/현탁액을 포함한다.
- [0146] 일부 구현예에서, 투여형은 흡입에 의한 투여에 적합한 에어로졸 제형이다. 이들 구현예 중 일부에서, 에어로졸 제형은 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및/또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 약제학적으로 허용 가능한 수성 또는 비수성 용매의 용액 또는 미세 현탁액을 함유한다. 에어로졸 제형은 밀봉된 용기에 멸균 형태로 단일 또는 다중-용량 양으로 존재할 수 있다. 이들 구현예 중 일부에 있어서, 밀봉된 용기는 용기의 내용물이 소모되면 폐기하도록 의도된 계량 밸브가 장착된 단일 용량 또는 다중-용량 비강 또는 에어로졸 디스펜서(예를 들어, 계량 용량 흡입기)이다.
- [0147] 에어로졸 투여형이 에어로졸 디스펜서에 함유되는 경우, 디스펜서는 압력하에 적합한 추진제, 예를 들어, 압축 공기, 이산화탄소 또는 하이드로플루오로카본을 포함하나 이에 한정되지 않는 유기 추진제를 함유한다. 다른 구현예에서 에어로졸 제형 투여형은 펌프-분무기에 함유된다. 가압된 에어로졸 제형은 또한 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 또는 그의 약제학적 제형의 용액 또는 현탁액을 함유할 수 있다. 추가의 구현예에서, 에어로졸 제형은 또한 예를 들어, 제형의 안정성 및/또는 맛 및/또는 미세 입자 질량 특징(양 및/또는 프로파일)을 개선시키기 위해 혼입된 보조-용매 및/또는 개질제를 함유한다. 에어로졸 제형의 투여는 1일 1회 또는 1일 수회, 예를 들어, 1일 2, 3, 4 또는 8회 이루어질 수 있으며, 여기서, 매번 1, 2 또는 3회 용량이 전달된다.
- [0148] 흡입 투여에 적합하고/거나 그를 위해 조정된 일부 투여형에 있어서, 약제학적 제형은 건조 분말 흡입 가능 제형이다. CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 보조 활성 성분 및/또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염에 더하여, 그러한 투여형은 분말 베이스, 예를 들어, 락토스, 글루코스, 트레할로스, 만니톨 및/또는 전분을 함유할 수 있다. 이들 구현예 중 일부에서, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물, 보조 활성 성분 및/또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염은 입자-크기 감소 형태로 존재한다. 추가의 구현예에서, 성능 변형제, 예를 들어, L-류신 또는 다른 아미노산, 셀로비오스 옥타아세테이트 및/또는 스테아르산의 금속 염, 예를 들어, 스테아르산마그네슘 또는 스테아르산칼슘.
- [0149] 일부 구현예에서, 에어로졸 제형은 각 계량 용량의 에어로졸이 소정량의 활성 성분, 예를 들어, CDKL5 융합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 중 하나 이상을 함유하도록 배열된다.
- [0150] 질 투여를 위해 조정된 투여형은 페서리, 탐폰, 크림, 젤, 페이스트, 폼 또는 분무 제형으로 존재할 수 있다. 직장 투여를 위해 조정된 투여형은 좌제 또는 관장제를 포함한다.
- [0151] 비경구 투여를 위해 조정되고/거나 임의의 유형의 주사(예를 들어, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 피내, 골내, 경막외, 심장내, 관절내, 음경해면체내, 척추강내, 유리체내, 뇌내, 및 뇌실내)를 위해 조정된 투여형은 항산화제, 완충제, 정균제, 조성물을 대상체의 혈액과 등장성이게 하는 용질을 함유할 수 있는 수성 및/또는 비수성 멸균 주사 용액 및 현탁화제 및 농후제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함할 수 있다. 비경구 투여를 위해 조정된 투여형은 밀봉된 앰플 또는 바이알을 포함하나 이들에 한정되지 않는 단일-단위 용량 또는 다중-단위 용량 용기에 존재할 수 있다. 용량은 동결건조되고, 투여 전에 용량을 재구성하도록 멸균 담체에 재현탁화될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 일부 구현예에서, 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수

있다.

- [0152] 안구 투여를 위해 조정된 투여형은 임의로, 항산화제, 완충제, 정균제, 조성물을 눈 또는 그 안에 함유된 유체 또는 대상체의 눈 주변과 등장성이 되게 하는 용질을 함유할 수 있는 주사를 위해 조정될 수 있는 수성 및/또는 비수성 멸균 용액 및 현탁화제 및 농후제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함할 수 있다.
- [0153] 일부 구현예에 있어서, 투여형은 단위 용량마다 소정량의 CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물을 함유한다. 일 구현예에서, 소정량의 CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물은 CDKL5 결핍, 레트 증후군 및/또는 그의 증상을 치료하거나 예방하기 위한 치료적 유효량의 CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물이다. 다른 구현예에서, 소정량의 CDKL5 융합 단백질 또는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물은 적절한 분율의 치료적 유효량의 활성 성분일 수 있다. 이에 따라, 그러한 단위 용량은 1일 1회 이상 투여될 수 있다. 그러한 약제학적 제형은 해당 분야에 널리 알려져 있는 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0154] **TATk-CDKL5 조성물 및 제형을 사용한 신경 장애의 치료**
- [0155] 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질 및 그의 약제학적 제형은 대상체에서 질병, 장애, 증후군 또는 그의 증상의 치료 및/또는 예방을 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질 및 그의 약제학적 제형은 CDKL5 결핍, 레트 증후군, 레트 증후군의 변이형 및/또는 그의 증상을 치료하고/거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 CDKL5 결핍, 레트 증후군, 레트 증후군의 변이형 및/또는 그의 증상을 갖는다.
- [0156] 소정량의 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질, 조성물 및 그의 약제학적 제형은 그를 필요로 하는 대상체에 게 일, 주, 개월 또는 년마다 1회 이상 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여되는 양은 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형의 치료적 유효량일 수 있다. 예를 들어, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형은 1일 용량으로 투여될 수 있다. 이러한 양은 1일마다 단일 용량으로 제공될 수 있다. 다른 구현예에서, 1일 용량은 1일마다 다중의 용량에 걸쳐 투여될 수 있으며, 각각은 투여할 총 1일 용량의 소정의 분율(하위-용량)을 함유한다. 일부 구현예에서, 1일마다 전달되는 용량의 양은 2, 3, 4, 5 또는 6회이다. 추가의 구현예에서, 화합물, 그의 제형 또는 염은 1주에 1회 이상, 예를 들어, 1주에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6회 투여된다. 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형은 1개월마다 1회 이상, 예를 들어, 1개월마다 1 내지 5회 투여될 수 있다. 또 다른 추가의 구현예에서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형은 1년마다 1회 이상, 예를 들어, 1년마다 1 내지 11회 투여될 수 있다.
- [0157] CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형은 임의의 편리한 경로에 의해 제2 작용제와 동시-투여될 수 있다. 제2 작용제는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형과 별개의 화합물 및/또는 제형이다. 제2 작용제는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형과 동시 투여될 수 있다. 제2 작용제는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형과 순차적으로 투여될 수 있다. 제2 작용제는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형에 상가적 또는 상승적 효과를 가질 수 있다. 적합한 제2 작용제는 DNA, RNA, 아미노산, 펩티드, 폴리펩티드, 항체, 압타머, 리보자임, 필수 중앙 단백질 및 유전자의 번역 또는 전사를 억제하는 리보자임을 위한 가이드 서열, 호르몬, 번역조절제, 해열제, 항불안제, 항정신병제, 진통제, 진경제, 항염증제, 항히스타민제, 항감염제 및 화학치료제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 제2 작용제는 DCA이다.
- [0158] 적합한 호르몬은 아미노산 유래 호르몬(예를 들어, 멜라토닌 및 티록신), 소형 펩티드 호르몬 및 단백질 호르몬(예를 들어, 갑상선 자극 호르몬-방출 호르몬, 바소프레신, 인슐린, 성장 호르몬, 황체형성 호르몬, 난포-자극 호르몬 및 갑상선-자극 호르몬), 에이코사노이드(예를 들어, 아라키돈산, 리폭신 및 프로스타글란딘) 및 스테로이드 호르몬(예를 들어, 에스트라디올, 테스토스테론, 테트라하이드로 테스토스테론 코르티솔)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0159] 적합한 번역조절제는 프레드니손, 아자티오프린, 6-MP, 사이클로스포린, 타크롤리무스, 메토트렉세이트, 인터류킨(예를 들어, IL-2, IL-7 및 IL-12), 사이토카인(예를 들어, 인터페론(예를 들어, IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- ω 및 IFN- γ), 과립구 콜로니-자극 인자 및 이미퀴모드), 케모카인(예를 들어, CCL3, CCL26 및 CXCL7), 시토신 포스페이트-구아노신, 올리고데옥시뉴클레오타이드, 글루칸, 항체 및 압타머)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0160] 적합한 해열제는 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜 및 니메술리드), 아스

피린 및 관련 살리실산염(예를 들어, 살리실산콜린, 살리실산마그네슘 및 살리실산나트륨), 파라세타몰/아세트아미노펜, 메타미졸, 나부메톤, 페나존 및 퀴닌을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0161] 적합한 항불안제는 벤조디아제핀(예를 들어, 알프라졸람, 프로마제팜, 클로르디아제폭시드, 클로나제팜, 클로라제페이트, 디아제팜, 플루라제팜, 로라제팜, 옥사제팜, 테마제팜, 트리아졸람 및 토피소팜), 세로토닌 작용성 항우울제(예를 들어, 선택적 세로토닌 재흡수 억제제, 삼환계 항우울제 및 모노아민 옥시다제 억제제), 메비카, 아포바졸, 셀란크, 브로만탄, 에목시핀, 아자피론, 바르비투르산염, 하이드록시진, 프레가발린, 발리돌 및 베타 차단제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0162] 적합한 항정신병제는 벤페리돌, 브로모페리돌, 드로페리돌, 할로페리돌, 모페론, 피파페론, 티미페론, 플루스피릴렌, 펜플루리돌, 피모지드, 아세프로마진, 클로르프로마진, 시아메마진, 디자이라진, 플루페나진, 레보메프로마진, 메소리다진, 페라진, 페리사아아진, 페르페나진, 피포티아진, 프로클로르페라진, 프로마진, 프로메타진, 프로티펜딜, 티오프로페라진, 티오리다진, 트리플루오페라진, 트리플루프로마진, 클로르프로텍센, 클로펜티솔, 플루펜티솔, 티오틱센, 주클로펜티솔, 클로티아핀, 록사핀, 프로티펜딜, 카르피프라민, 클로카프라민, 몰린돈, 모사프라민, 설피리드, 베탈리프리드, 아미설프리드, 아목사핀, 아리피프라졸, 아세나핀, 클로자핀, 블로난세린, 일로페리돈, 루라시돈, 멜페론, 네모나프리드, 올란자프린, 팔리페리돈, 페로스피론, 쿠에티아핀, 레목시프리드, 리스페리돈, 세르틴돌, 트리미프라민, 지프라시돈, 조테핀, 알스토니에, 베페프루녹스, 비토펜트린, 브렉스피프라졸, 카나비디올, 카리프라진, 피마반세린, 포마글루메타드 메티오닐, 바비카세린, 자노멜린 및 지크로나핀을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0163] 적합한 진통제는 파라세타몰/아세트아미노펜, 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜 및 니메술리드), COX-2 억제제(예를 들어, 로페콕시브, 셀레콕시브 및 에토리콕시브), 오피오이드(예를 들어, 모르핀, 코데인, 옥시코돈, 하이드로코돈, 디하이드로모르핀, 페티딘, 부프레노르핀), 트라마돌, 노르에피네프린, 플루피레틴, 네포팜, 오르페나드린, 프레가발린, 가바펜틴, 사이클로벤즈아프린, 스코폴라민, 메타돈, 케토베미돈, 피리트라미드 및 아스피린 및 관련 살리실산염(예를 들어, 살리실산콜린, 살리실산마그네슘 및 살리실산나트륨)을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0164] 적합한 항진경제는 메베베린, 파프베린, 사이클로벤즈아프린, 카리소프로돌, 오르페나드린, 티자니딘, 메탁살론, 메토드카르바물, 클로르족사존, 바클로펜, 단트롤렌, 바클로펜, 티자니딘 및 단트롤렌을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0165] 적합한 항염증제는 프레드니손, 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜 및 니메술리드), COX-2 억제제(예를 들어, 로페콕시브, 셀레콕시브 및 에토리콕시브) 및 면역 선택적 항염증 유도제(예를 들어, 텍밀샘 펩티드-T 및 그의 유도체)를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0166] 적합한 항히스타민제는 H1-수용체 길항제(예를 들어, 아크리바스틴, 아젤라스틴, 빌라스틴, 브롬페니라민, 부클리진, 브로모디펜하이드라민, 카르비녹사민, 세티리진, 클로르프로마진, 사이클리진, 클로르페니라민, 클레마스틴, 사이프로헵타딘, 데슬로라타딘, 텍스브롬아페니라민, 텍스클로르페니라민, 디멘하이드리네이트, 디메틴렌, 디펜하이드라민, 독실아민, 에바신, 엠브라민, 펙소페나딘, 하이드록시진, 레보세티르진, 로라타딘, 메클로진, 미르타자핀, 올로파타딘, 오르페나드린, 페니다민, 페니라민, 페닐톨록사민, 프로메타진, 피릴라민, 쿠에티아핀, 루파타딘, 트리펠레나민 및 트리프롤리딘), H2-수용체 길항제(예를 들어, 시메티딘, 파모티딘, 라푸티딘, 니자티딘, 라피티딘 및 록사티딘), 트리트쿠알린, 카테킨, 크로모글리케이트, 네도크로밀 및 β 2-아드레날린 작용성 효능제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0167] 적합한 항감염제는 항아메바제(예를 들어, 니타족사니드, 파로모마이신, 메트로니다졸, 티니다졸, 클로로퀸, 밀테포신, 암포테리신 b 및 아이오도퀸올), 아미노글리코사이드(예를 들어, 파로모마이신, 토브라마이신, 젠타마이신, 아미카신, 카나마이신 및 네오마이신), 구충제(예를 들어, 피란텔, 메벤다졸, 이베르멕틴, 프라지판텔, 아벤다졸, 티아벤다졸, 옥삼니퀸), 항진균제(예를 들어, 아졸 항진균제(예를 들어, 이트라코나졸, 플루코나졸, 포사코나졸, 케토코나졸, 클로트리마졸, 미코나졸 및 보리코나졸), 에키노칸딘(예를 들어, 카스포핀진, 아니둘라핀진 및 미카핀진), 그리세오폴빈, 테르비나핀, 플루시토신 및 폴리엔(예를 들어, 나이스타틴 및 암포테리신 b), 항말라리아제(예를 들어, 피리메타민/설파독신, 아르테메터/루메판트린, 아도바쿠온/프로쿠아닐, 퀴닌, 하이드록시클로로퀸, 메플로퀸, 클로로퀸, 독시사이클린, 피리메타민 및 할로판트린), 항결핵제(예를 들어, 아미노살리실산염(예를 들어, 아미노살리실산), 이소니아지드/리팜핀, 이소니아지드/피라진아미드/리팜핀, 베다퀸린, 이소니아지드, 에탐부톨, 리팜핀, 리파부틴, 리파펜틴, 카프레오마이신 및 사이클로세린), 항바이러스제(예를 들어, 아만타딘, 리만타딘, 아바카비르/라미부딘, 엠트리시타빈/테노포비르, 코비시스타트/엘비테그

라비르/엠프리시타빈/테노포비르, 에파비렌즈/엠프리시타빈/테노포비르, 아바카비르/라미부딘/지도부딘, 라미부딘/지도부딘, 엠프리시타빈.테노포비르, 엠프리시타빈/오피나비르/리토나비르/테노포비르, 인터페론 알파-2v/리바비린, 페그인터페론 알파-2b, 마라비로크, 랄테그라비르, 돌루테그라비르, 엔푸비르티드, 포스카넷, 포미비르센, 오셀타미비르, 자나미비르, 네비라핀, 에파비렌즈, 에트라비린, 킬피비린, 텔라비리딘, 네비라핀, 엔테카비르, 라미부딘, 아데포비르, 소포스부비르, 디다노신, 테노포비르, 아바시비르, 지도부딘, 스타부딘, 엠프리시타빈, 잘시타빈, 텔부부딘, 시메프레비르, 보세프레비르, 텔라프레비르, 로피나비르/리토나비르, 포삼프렌비르, 드라누아비르, 리토나비르, 티프라나비르, 아타자나비르, 넬피나비르, 암프레나비르, 인디나비르, 사위나비르, 리바비린, 발사이클로비르, 아사이클로비르, 팜시클로비르, 간시클로비르 및 발간시클로비르), 카르바페넴(예를 들어, 도리페넴, 메로페넴, 에르타페넴 및 실라스타틴/이미페넴), 세팔로스포린(예를 들어, 세파드록실, 세프라딘, 세파졸린, 세팔렉신, 세페픽, 세플라롤린, 로라카르베프, 세포테탄, 세푸록심, 세프프로질, 로라카르베프, 세폭시틴, 세파클로르, 세프티부텐, 세프트리악손, 세포탁심, 세프도독심, 세프디니르, 세픽심, 세프디토렌, 세피족심 및 세프타지딤), 당펩티드 항생제(예를 들어, 반코마이신, 달바반신, 오리타반신 및 텔반신), 글라이실 사이클린(예를 들어, 티제사이클린), 나균저지제(예를 들어, 클로파지민 및 탈리도미드), 린코마이신 및 그의 유도체(예를 들어, 클린다마이신 및 린코마이신), 매크로라이드 및 그의 유도체(예를 들어, 텔리트로마이신, 피닥소마이신, 에르트로마이신, 아지트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신 및 트롤레안도마이신), 리네졸리드, 설파메톡사졸/트리메토프림, 리팍시민, 클로람페니콜, 포스포마이신, 메트로니다졸, 아즈트레오남, 바시트라신, 페니실린(아목시실린, 암피실린, 바캄피실린, 카르베니실린, 피페라실린, 티카르실린, 아목시실린/클라불라네이트, 암피실린/설박탐, 피페라실린/타조박탐, 클라불라네이트/티카르실린, 페니실린, 프로카인 페니실린, 옥사실린, 디클록사실린 및 나프실린), 퀴놀론(예를 들어, 로메플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 콧이플록사신, 목시플록사신, 시프로플록사신, 레보플록사신, 제미플록사신, 목시플록사신, 시녹사신, 날리딕스산, 에녹사신, 그레파플록사신, 가티플록사신, 트로바플록사신 및 스파르플록사신), 설펜아미드(예를 들어, 설파메톡사졸/트리메토프림, 설파살라진 및 설파속사졸), 테트라사이클린(예를 들어, 독시사이클린, 데메클로사이클린, 미노사이클린, 독시사이클린/살리실산, 독시사이클린/오메가-3 다중불포화 지방산 및 테트라사이클린) 및 비노기 항감염제(예를 들어, 니트로푸란토인, 메텐아민, 포스포마이신, 시녹사신, 날리딕스산, 트리메토프림 및 메틸렌 블루)를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0168] 적합한 화학치료제는 파클리탁셀, 브렌독시맵 베도틴, 독소루비신, 5-FU(플루오로우라실), 에베롤리무스, 페메트렉시드, 멜팔란, 파미드로네이트, 아나스트로졸, 엑세메스탄, 벨라라빈, 오파투무맵, 베바시주맵, 벨리노스타트, 토시투모맵, 카르무스틴, 블레오마이신, 보수티닙, 부설판, 알렘투주맵, 이리노테칸, 반데타닙, 비칼루타미드, 로무스틴, 다우노루비신, 클로파라빈, 카보잔티닙, 닥티노마이신, 라무시투맵, 시타라빈, 시톡산, 사이클로포스파미드, 데시타빈, 텍사메타손, 도세탁셀, 하이드록시우레아, 데카르바진, 류프롤리드, 에페루비신, 옥살리플라틴, 아스파라기나제, 에스트라무스틴, 세톡시맵, 비스모데깁, 아스파르기나제 에르위니아 크리스탄테미, 아미포스틴, 에토포시드, 플루타미드, 토레미펜, 폴베스트란트, 레트로졸, 데가렐릭스, 프랄라트렉세이트, 메토포트렉세이트, 플록수리딘, 오비누투주맵, 켄시타빈, 아파티닙, 이마티닙 메실라템, 카르무스틴, 에리볼린, 트라스투주맵, 알트레타민, 토포테칸, 포나티닙, 이다루비신, 이포스파미드, 이브루티닙, 악시티닙, 인터페론 알파-2a, 제피티닙, 로미렙신, 익사베필론, 룩솔리티닙, 카바지탁셀, 아도-트라스투주맵 엠탄신, 카르필조밍, 클로람부실, 사르그라모스틴, 클라드리빈, 미토탄, 빈크리스틴, 프로카바진, 메게스트롤, 트라메티닙, 메스나, 스트론튬-89 클로라이드, 메클로르에타민, 미토마이신, 부설판, 켄투주맵 오조가미신, 비노렐빈, 필그라스티م, 페그필그라스티م, 소라페닙, 닐루타미드, 펜토스타틴, 타목시펜, 미톡산트론, 페그아스파르가제, 데니류킨 디프티톡스, 알리트레티노인, 카르보플라틴, 페투주맵, 시스플라틴, 포말리도미드, 프레드니손, 알데스류킨, 머캅토피린, 졸레드론산, 레날리도미드, 리톡시맵, 옥트레티드, 다사티닙, 레고라페닙, 히스트렐린, 수니티닙, 실톡시맵, 오마세탁신, 씨오구아닌(티오구아닌), 다브라페닙, 에를로티닙, 백사로텐, 테모졸로미드, 티오테파, 탈리도미드, BCG, 템시롤리무스, 벤다무스틴 하이드로클로라이드, 트립토텐린, 비소삼산화물, 라파티닙, 발루비신, 파니투무맵, 빈블라스틴, 보르테조밍, 트레티노인, 아자시티딘, 파조파닙, 테니포시드, 류코보린, 크리조티닙, 카페시타빈, 엔잘루타미드, 이필리무맵, 고세렐린, 보리노스타트, 이텔라리십, 세리티닙, 아비라테론, 에포틸론, 타플루포시드, 아자티오프린, 독시플루리딘, 빈데신 및 올-트랜스 레티노산을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0169] CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형이 제2 작용제와 동시에 동시-투여되는 구현예에서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형은 제2 작용제와 실질적으로 동시에 대상체에게 투여될 수 있다. 이러한 맥락에서 사용되는 "실질적으로 동시에"는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 및 약제학적 제형, 및 제2 작용제의 투여를 지칭하며, 여기서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형과 제2 작용제의 투여 사이

의 기간은 0 내지 10분이다.

[0170] CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형이 제2 작용제와 순차적으로 동시-투여되는 구현예에서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형을 먼저 투여한 다음, 소정의 기간 후에 제2 작용제의 투여로 이어질 수 있다. CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형이 제2 작용제와 순차적으로 동시-투여되는 다른 구현예에서, 제2 작용제를 먼저 투여한 다음, 소정의 기간 후에 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형의 투여로 이어질 수 있다. 임의의 구현예에서, CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물 또는 약제학적 제형과 제2 작용제의 투여 사이의 기간은 10분 내지 약 96시간의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 기간은 약 10분, 약 30분, 약 1시간, 약 2시간, 약 4시간, 약 6시간, 약 8시간, 약 10시간 또는 약 12시간일 수 있다. 순차적 투여는 치료 기간의 과정에 걸쳐 필요에 따라 반복될 수 있다.

[0171] 투여될 수 있는 CDKL5 융합 단백질, 그의 조성물, 약제학적 제형의 양은 본 명세서에 다른 곳에 기재되어 있다. 제2 작용제의 양은 제2 작용제에 따라 달라질 것이다. 제2 작용제의 양은 치료적 유효량일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 작용제의 유효량은 0.001 마이크로그램 내지 약 1 밀리그램 범위이다. 다른 구현예에서, 제2 작용제의 양은 약 0.01 IU 내지 약 1000 IU 범위이다. 추가의 구현예에서, 제2 작용제의 양은 0.001 ml 내지 약 1 ml 범위이다. 또 다른 구현예에서, 제2 작용제의 양은 총 약제학적 제형의 약 1 w/w% 내지 약 50 w/w% 범위이다. 추가의 구현예에서, 제2 작용제의 양은 총 약제학적 제형의 약 1 v/v% 내지 약 50 v/v% 범위이다. 또 다른 구현예에서, 제2 작용제의 양은 총 제2 작용제 조성물 또는 약제학적 제형의 약 1 w/v% 내지 약 50 w/v% 범위이다.

[0172] 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 또는 제형은 주사를 통해 환자에게 투여된다. 적합한 주사 방법은 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 피내, 골내, 경막외, 심장내, 관절내, 음경해면체내, 척추강내, 유리체내, 뇌내, 및 뇌실내 주사를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 또는 제형의 적절한 다른 투여 방법은 국소, 경피, 비강 또는 구강 전달을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, CDKL5 융합 단백질의 투여량은 약 0.01 $\mu\text{g/g}$ (체중) 내지 약 10 mg/g (체중) 범위이다.

[0173] 다른 구현예에서, CDKL5 융합 단백질은 세포 치료법을 통해 치료를 필요로 하는 환자에게 전달될 수 있다. 이를 염두에 두고, 자가 세포를 통한 CDKL5 융합 단백질의 전달 방법의 일 구현예를 보여주는 도 3을 주목한다. 상기 방법은 시험관내에서 세포를 배양함으로써 시작한다(8000). 바람직하게는, 세포는 자가 세포이다. 일 구현예에서, 자가 세포는 뉴런 또는 뉴런 전구 세포, 예를 들어, 신경 줄기 세포이다. 일부 구현예에서, 자가 세포는 유도된 만능 줄기 세포로부터 유래된 뉴런이다. 다른 구현예에서, 자가 세포는 제대혈 줄기 세포로부터 유래된 뉴런이다.

[0174] 다음으로, 배양된 세포를 정제된 CDKL5 융합 단백질로 형질도입한다(8010). 다른 구현예에서, 배양 세포를 이전에 기재된 바와 같은 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 배지에 노출시킴으로써 배양된 세포를 형질도입한다. 추가의 구현예에서, 배양된 세포를 CDKL5 융합 단백질 cDNA를 함유하는 적합한 벡터로 트랜스펙션시킨다. 그 다음, 세포를 적합한 시간 동안 배양하여, CDKL5 융합 단백질의 발현을 가능하게 한다(8020). 일부 구현예에서, 세포를 약 6시간 내지 약 96시간 동안 배양한다. 세포를 배양한 후에, 하나 이상의 형질도입된 세포를 환자에게 투여한다.

[0175] 일 구현예에서, 형질도입된 자가 뉴런을 외과 기술을 사용하여 뇌로 전달한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 형질도입된 세포가 주사를 통해 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 형질도입된 세포가 제형에 포함된다. 일 구현예에서, 하나 이상의 형질도입된 세포를 함유하는 제형은 또한 약제학적으로 허용 가능한 담체 및/또는 활성 작용제도 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 형질도입된 세포를 함유하는 제형을 주사를 통해 또는 외과 기술을 사용하여 환자에게 투여한다.

[0176] **CDKL5 융합 단백질 및 그의 제형을 함유하는 키트**

[0177] 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형은 조합 키트(combination kit)로서 존재할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 용어 "조합 키트" 또는 "부품 키트"는 본 명세서에 기재된 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형, 및 거기에 함유된 요소의 조합 또는 단일 요소, 예를 들어, 활성 성분을 포장, 판매, 마케팅, 전달 및/또는 투여하는데 사용되는 추가의 성분을 지칭한다. 그러한 추가의 성분은 포장, 주사기, 블리스터 패키지, 보틀 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 키트에 함유되는 성분(예를 들어, 활성 작용제)의 하나 이상을 동시 투여하는 경우, 조합 키트는 단일의 약제학적 제형(예를 들어, 정제)에 또는 개별 약제학적 제형에 활성 작용제를 함유할 수

있다.

- [0178] 조합 키트는 개별 조성물 또는 약제학적 제형에 각 작용제, 화합물, 약제학적 제형 또는 그의 성분을 함유할 수 있다. 개별 조성물 또는 약제학적 제형은 키트 내의 단일의 포장에 또는 개별 포장에 함유될 수 있다. 또한, 일부 구현예에서, 완충제, 희석제, 가용화 시약, 세포 배양 배지 및 다른 시약이 제공된다. 이들 추가의 성분은 키트 내의 단일의 포장에 또는 개별 포장에 함유될 수 있다.
- [0179] 일부 구현예에서, 조합 키트는 유형적 표현 매체 상에 인쇄되거나 다르게는 그 내부에 함유되는 설명서도 또한 포함한다. 설명서는 거기에 함유되는 CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형 및/또는 다른 보조 및/또는 제2 작용제의 함량에 관한 정보, 거기에 함유되는 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형 및/또는 다른 보조 및/또는 제2 작용제에 관한 안전성 정보, 투여량에 관한 정보, 사용을 위한 용법, 및/또는 거기에 함유되는 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형 및/또는 다른 보조 및/또는 제2 작용제에 대한 권장 치료 요법(들)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 설명서는 CDKL5 융합 단백질, CDKL5 융합 단백질을 함유하는 조성물 및 그의 약제학적 제형 및/또는 다른 보조 및/또는 제2 작용제를 CDKL5 결핍, 레트 증후군 및/또는 그의 증상을 갖는 대상체에게 투여하기 위한 지침을 제공할 수 있다.
- [0180] 추가의 상술 없이, 당업자는 본 명세서의 설명에 기초하여, 본 발명을 최대한으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 본 발명의 구현예, 특히 임의의 "바람직한" 구현예는 단지 본 발명의 원리를 명백하게 이해하기 위해 개시된, 단지 실행가능한 예라는 것이 강조된다. 본 발명의 목적 및 원리를 실질적으로 벗어나지 않으면서 본 발명의 개시된 구현예(들)에 많은 변이 및 변형이 이루어질 수 있다. 그러한 모든 변형 및 변이는 본 발명의 범주 이내이다.
- [0181] 본 명세서에 인용된 모든 간행물 및 특허는 각 개별 간행물 또는 특허가 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로서 포함되는 것처럼 본 명세서에 참조로서 포함되고, 간행물이 인용된 것과 연관된 방법 및/또는 물질을 개시하고 기술하기 위해 참조로서 본 명세서에 포함된다. 임의의 간행물의 인용은 출원일 전 그의 개시에 대한 것이고, 본 발명이 선행 개시내용 때문에 그러한 간행물보다 선행하는 자격이 없는 것으로 간주해서는 안 된다. 또한, 제공된 공개일은 독립적으로 확인할 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과는 상이할 수 있다.
- [0182] 본 명세서의 관독 시 해당 분야의 당업자에게 명백한 바와 같이, 본 명세서에 기술되고 예시된 개별 구현예 각각은 본 발명의 범위 또는 목적을 벗어나지 않으면서 다른 몇몇 구현예 중 임의의 것의 특징으로부터 용이하게 분리되거나 또는 조합될 수 있는 별개의 성분 및 특징을 갖는다. 임의의 열거된 방법은 열거된 사건의 순서 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행할 수 있다.
- [0183] 본 발명의 구현예는 다르게 지시하지 않는 한 해당 분야의 기술 내에 있는 분자 생물학, 미생물, 나노기술, 유기 화학, 생화학, 식물학 등의 기술을 이용할 것이다. 그러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다.
- [0184] **실시예**
- [0185] 하기의 실시예는 해당 분야의 당업자에게 본 명세서에 개시되고 청구된 방법을 수행하는 방법과, 조성물 및 화합물을 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위하여 기재된다. 하기의 특정 실시예가 단지 예시일 뿐이며, 어떤 방식일지라도 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 간주되어야 한다. 수(예를 들어, 양, 온도 등)에 관한 정확성을 보장하도록 노력했지만, 일부 오류 및 편차를 고려해야 한다. 다르게 지시하지 않는 한, 부는 중량부이고, 온도는 °C이며, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다. 표준 온도 및 압력은 20°C 및 1 대기압으로 정의된다.
- [0186] **실시예 1: TATk-CDKL5 단백질의 생성 및 정제**
- [0187] 전달 가능한 TAT-CDKL5 융합 단백질을 생성하기 위하여, TAT 도메인 내의 푸린 인식 서열의 돌연변이가 재조합 단백질의 분비를 가능하게 하는 합성 TAT_k-PTD를 사용하였다. 분비된 단백질은 표적 세포에 의해 성공적으로 흡수되는 것으로 관찰되었다. 인간 CDKL5를 함유하는 TATk-CDKL5 융합 유전자를 발현 플라스미드 pSecTag2(Life Technologies) 내로 클로닝하였다. 이 플라스미드는 포유류 숙주에서 유전자의 발현 및 표적 단백질의 높은 발현 수준을 가능하게 하도록 설계되어 있다. pSecTag2로부터 발현된 단백질을 N-말단에서 배양 배지에서의 단백질 분비를 위한 무린 Igκ 섀 리더 서열에 융합시킨다. TATk-CDKL5 융합 단백질을 GFP 단백질로 태깅시켜, 항-GFP 항체를 사용한 웨스턴 블롯 분석을 가능하게 하였다. 단백질 정제를 용이하게 하기 위하여, TATk-CDKL5 융합 단백질을 TATk-GFP-CDKL5 유전자의 C-말단 영역에 myc-태그 및 6xHis 태그를 포함하도록 구성하였다. HEK 293T 세포를 표준 플라스미드 전달 방법을 사용하여 TATk-GFP-CDKL5 발현 플라스미드로 트랜스펙션시켰다. 트랜

스펙션 후에, 세포가 무혈청 배지(고 글루코스 돌베코 변형 이글 배지(High glucose Dulbecco's Modified Eagle Medium))에서 성장하게 두었다. 48시간 후에, 배지를 수집하고, 정용여과하고, 아미콘 울트라 원심분리 필터(Amicon ultra centrifugal filter)(50kDa 컷-오프(cut-off))를 사용하여 농축시켰다. 이러한 방법은 완충제 교환 및 분비된 단백질의 농축을 가능하게 한다.

[0188] 도 4a 및 도 4b는 트랜스펙션된 HEK293T 세포 내의 TATk-GFP-CDKL5 단백질 발현으로부터의 웨스턴 블롯 분석 결과를 보여준다. 도 4a는 트랜스펙션된 HEK293T 세포로부터의 세포 균질액 내의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질 발현을 보여준다. 도 4b는 트랜스펙션된 HEK293T 세포로부터의 농축(20×) 세포 배양 배지 내의 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질 축적을 보여준다.

[0189] **실시예 2: TATk-CDKL5 키나제 활성의 입증.**

[0190] TATk-GFP-CDKL5 단백질을 정제하기 위하여, myc-태그 및 6xHis 태그를 TATk-GFP-CDKL5 유전자의 C-말단 영역에 부가하였다. TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질을 Ni-NTA 수지 상에서 배양 배지로부터 정제하였다. CDKL5 키나제가 높은 자기인산화 활성을 갖는 것이 나타났다. 시험관내 키나제 활성 검정으로부터의 결과를 보여주는 도 5의 A 및 B에 나타난 바와 같이, 정제된 TATk-GFP-CDKL5 단백질은 그의 자기인산화 활성을 유지한다. 이는 정제된 융합 단백질이 그의 키나제 활성을 유지하는 것을 보여준다.

[0191] **실시예 3: HEK293T 세포에 의한 TATk-CDKL5의 내재화**

[0192] TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질의 형질도입의 효율을 평가하기 위하여, HEK 293T 세포를 정제된/농축된 융합 단백질과 인큐베이션시켰다. 요약하면, TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질을 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성하고 정제하였다. HEK 293 세포를 융합 단백질을 함유하는 농축 배지에서 인큐베이션시켰다. 상이한 인큐베이션 시간 후에, 세포를 용해시키고, 총 단백질 추출물을 TATk-GFP-CDKL5 단백질 정량화를 위한 면역블롯팅(immunoblotting)을 위해 니트로셀룰로스 멤브레인으로 옮겼다. 도 6에 나타난 바와 같이, TATk-GFP-CDKL5는 오직 약 30분의 인큐베이션 후에 세포에 의해 내재화된다. 다른 배양물을 병행 처리하고, 고정시키고, 항-GFP 특이적 항체를 사용하여 면역염색시켜, 형질도입된 TATk-GFP-CDKL5 단백질을 가시화시켰다. 도 7a 및 도 7b에 나타난 바와 같이, TATk-GFP-CDKL5 단백질을 세포 내로 효율적으로 전위시켰다. 표적 세포 내의 내재화를 공초점 현미경에 의해 확인하였다(도 8). SH-SY5Y 신경모세포종 세포를 융합 단백질을 함유하는 농축 배지에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 도 8은 TATk-GFP-CDKL5 형질도입된 SH-SY5Y 세포의 일련의 공초점 이미지(1 내지 12)의 이미지를 보여주어, TATk-GFP-CDKL5 단백질이 표적 세포에 의해 내재화되고, 이는 SH-SY5Y 세포의 핵 및 세포질 내 둘 모두에 국소화됨을 입증한다(도 8).

[0193] **실시예 4: TATk-CDKL5는 SHSY5Y 신경모세포종 세포주의 분화를 유도하고, 증식을 억제한다**

[0194] 중추신경계에 대한 CDKL5의 명백한 중요성에도 불구하고, 키나제의 생물학적 기능은 대부분 계속 알려져 있지 않다. CDKL5 유전자는 신경 세포의 증식 및 분화 둘 모두에 영향을 미친다(예를 들어, 문헌[Valli et al., 2012. Biochim Biophys Acta. 1819:1173-1185] 및 문헌[Rizzi et al., 2011. Brain Res. 1415:23-33] 참조). 신경모세포종 세포는 보통의 뉴런과 몇몇의 특징을 공유하며, 이에 따라, 특히 그들이 레티노산(RA)과 같은 작용제로의 처리시에 분화하도록 유도되는 경우, 뉴런 세포의 생화학적 및 기능적 특성을 연구하기 위한 우수한 시험관내 모델인 것으로 여겨진다(예를 들어, 문헌[Singh, 2007 Brain Res. 1154 p 8-21]; 문헌[Melino, 1997 J. Neurooncol. 31 pp 65-83] 참조). 이들 이유로, 신경모세포종 세포를 사용하여 시험관내에서 CDKL5 기능을 연구하였다.

[0195] SH-SY5Y 세포를 실시예 3에 기재된 처리와 유사하게 정제된 TATk-GFP-CDKL5로 처리하였다. 본 명세서에서, SH-SY5Y 세포를 정제된 TATk-GFP-CDKL5 단백질을 함유하는 농축 배지와 함께 약 24시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포 증식을 웨히스트 핵 염색을 사용하여 유사분열 지수(유사분열을 겪고 있는 집단의 세포의 수 대 유사분열을 겪고 있지 않은 세포의 수 간의 비)로서 평가하였다. 뉴런 분화의 징후인 신경돌기 성장을 시험함으로써 분열을 평가하였다. 신경돌기 성장의 분석을 위하여, 세포를 분화-유발(pro-differentiation)제, RA의 존재 또는 부재 하에 추가 1 내지 2일 동안 세포를 성장시켰다. 신경돌기 발아를 이미지 분석 시스템을 사용하여 측정하였다.

[0196] (TATk-GFP-CDKL5 단백질에 의한) CDKL5 발현의 유도는 대조군에 비하여 세포 증식의 강력한 억제를 야기하고(예를 들어, 도 9a 및 도 9b, 및 도 10), 아포토시스 세포사의 증가를 유도하지 않았다(데이터 미도시). 또한, 도 11a 및 도 11b, 및 도 12에 나타난 바와 같이, TATk-GFP-CDKL5는 SH-SY5Y 세포에서 신경돌기 발아에 의해 나타난 바와 같이, 신경모세포종 세포 분화를 촉진시켰다. 이들 결과는 TATk-CDKL5가 시험관내 뉴런 모델에서 작용성을 입증한다.

[0197] **실시예 5: CDKL5-KO 마우스 모델의 특성화**

[0198] CDKL5 낙아웃 마우스 모델은 최근에 Cornelius Gross 박사가 이끄는 그룹에 의해 이탈리아 몬테로토네에 있는 EMBL에 의해 생성되었다(문헌[Amendola, 2014 PLoS One. 9(5):e91613]). 신생 뉴런의 수상돌기 발생에 대한 CDKL5-기능 상실의 효과를 확립하기 위하여, CDKL5 KO 마우스로부터 유래된 신생 해마 과립 세포의 수상돌기 형태를 시험하였다. 신생 뉴런의 수상돌기 형태를 더블코르틴(DCX)에 대한 면역조직화학으로 분석하여, 신경돌기 신장의 기간 동안 미성숙 뉴런의 세포질 내의 이러한 단백질의 발현을 이용하였다. 도 13a 및 도 13b에 나타난 바와 같이, CDKL5 낙아웃 마우스(-/Y)의 DCX-양성 세포는 야생형(+Y) 대응물(도 13a)에 비하여 고도의 미성숙 패턴을 갖는 수상돌기 가치를 나타내었다(도 13b). 고도의 미성숙 패턴은 소수의 분지 및 신장에 의해 입증될 수 있다. CDKL5의 부재는 유사분열후 미성숙 과립 뉴런(DCX-양성 세포)에 영향을 미치는 것으로 관찰된 아포토시스 세포사의 증가(데이터 미도시)로 인하여 DCX-양성 세포의 개수의 감소를 초래하였다(도 13b)(문헌[Fuchs, 2014 Neurobiol Dis. 70 p53-68]). 이러한 데이터는 CDKL5가 신경 전구체 생존 및 신생 뉴런의 성숙에 영향을 미침으로써 출생후 신경발생에 필수적인 역할을 수행하는 것을 뒷받침한다. Cdk15 낙아웃 마우스의 뇌실하 영역(SVZ) 유래의 뉴런 전구 세포(NPC)의 배양물은 생체내에서 소뇌 과립 세포 전구체에서 관찰되는 것과 동일한 결함을 나타내는 것으로 관찰되었다. 즉, 야생형 마우스(+/+)로부터 유래된 뉴런 전구 세포의 배양물에, CDKL5 KO(-/-) 마우스로부터 유래된 뉴런 전구 세포의 배양물에서보다 더 많은 뉴런(β -튜불린 III 양성 세포, 적색 세포)이 존재하였다(도 14a 및 도 14b). 이는 CDKL5의 소실이 유사분열후 뉴런의 생존을 감소시키는 것을 뒷받침한다. β -튜불린 III 양성 세포에서의 신경돌기 발아의 평가에 의해, Cdk15 낙아웃 NPC로부터 생성된 뉴런이 야생형 뉴런에 비하여 덜 분화되었음이 입증되었다(도 14a 및 도 14b). 이들 결과는 CDKL5 낙아웃 마우스 유래의 유사분열후 NPC가 세포 생존뿐 아니라 뉴런 성숙에서 내인적 결함을 갖는 것을 뒷받침한다.

[0199] **실시예 6: TATk-CDKL5 단백질은 CDKL5 KO 마우스로부터 유래된 뉴런 세포 전구체의 신경돌기 발생을 복구시킨다.**

[0200] CDKL5 KO(-/-) 마우스 및 야생형(+/+) 마우스로부터의 뉴런 전구 세포 배양물을 TATk-GFP-CDKL5 또는 TATk-GFP로 처리하였다. 뉴런 성숙을 분화된 뉴런(β -튜불린 III에 대한 양성)의 총 신경돌기 길이를 측정함으로써 평가하였다. 신경돌기 길이의 평가를 이미지 분석 시스템 이미지 프로 플러스(Image Pro Plus)(Media Cybernetics, Silver Spring, MD 20910, USA)를 사용함으로써 수행하였다. 총 신경돌기 길이를 영역 내에서 계수된 세포의 수로 나눔으로써 세포마다의 평균 신경돌기 길이를 계산하였다. 도 15A 내지 도 15C 및 도 16에 나타난 바와 같이, CDKL5의 부재는 신규 뉴런의 성숙의 감소를 야기하고, TATk-CDKL5로의 처리는 신경돌기 발생을 복구시킨다.

[0201] **실시예 7: 마우스 뇌로의 TATk-CDKL5의 전달**

[0202] 7일된 마우스 새끼에 단일 용량의, TATk-GFP-CDKL5, TATk-GFP로 트랜스펙션된 HEK293T 세포의 배양 배지 또는 트랜스펙션되지 않은 세포(비히클)로부터의 배지를 피하 주사하였다(단일 용량은 약 1 내지 1.5 μ g의 융합 단백질을 함유하는 200배 농축 배지 약 200 μ l에 상응한다). 배양 배지를 트랜스펙션으로부터 48시간 후에 수집하고, 정용여과하고, 아미콘 울트라 원심분리 필터(50kDa 컷-오프)로 농축시켰다. 마우스를 처치의 시행 후 4시간에 희생시켰다. 뇌를 24시간 동안 고정액에 보관하고, 중앙선을 따라 절단하고, 추가 24시간 동안 인산염 완충제 중 20% 수크로스에 유지시켰다. 반구를 동결시키고, -80°C에 보관하였다. 우반구를 동결 마이크로톰(freezing microtome)을 사용하여 30- μ m 두께의 관상 섹션으로 절단하였다. 부유 섹션에서 면역조직화학을 수행하였다. 뇌 내의 TATk-GFP-CDKL5 및 TATk-GFP의 국소화를 항-GFP 항체 및 TSA 증폭 키트를 사용한 면역조직화학에 의해 평가하였다. 감각 운동 피질 및 소뇌의 수준에서 이미지를 취하였다. 세포를 4',6-디아미디노-2-페닐인돌(DAPI)을 사용하여 대조염색하였다. 마우스의 감각-운동 피질 및 소뇌 내의 TATk-GFP-CDKL5 단백질의 존재를 보여주는 대표적인 이미지는 각각 도 17의 A 내지 F 및 도 18의 A 내지 D에 나타나 있다. TATk-GFP-CDKL5 단백질이 피하 투여됨을 고려해 볼 때, 이러한 데이터는 TATk-GFP-CDKL5 단백질이 혈액 뇌 장벽을 가로질러 효율적으로 수송되며, 뇌 세포 내로 유입되는 것을 입증한다.

[0203] **실시예 8: 뉴런 성숙, 생존 및 연결성에 대한 생체내에서의 TATk-CDKL5 융합 단백질의 영향**

[0204] 성체 마우스(4 내지 6개월령)에 연속 5일(예를 들어, 실험 일정에 대해서는 도 20 참조) 동안 TATk-GFP-CDKL5 또는 TATk-GFP를 뇌실내 주사하였다(도 19). 약술하면, 마우스를 케타민(100 내지 125 mg/kg) 및 자일라진(10 내지 12.5 mg/kg)으로 마취시켰다. 캐놀라(0.31-mm 직경, 뇌 주입 키트(Brain Infusion Kit) III; Alzet Cupertino, CA)를 측뇌실 내로 입체 정위적 방식으로 이식하였다(A/P -0.4-mm 미측, M/L 1.0 mm, D/V -2.0 mm; 도 19). 이식 후 7일에, 마우스에 연속 5일 동안 전동 나노주사기에 연결된 해밀턴 주사기를 사용하여(0.5 μ l/

분의 속도) PBS 중 TATk-GFP-CDKL5 또는 TATk-GFP 10 μ l(약 50 ng)를 주입하였다. 마지막 주사 후 4시간에, 동물을 희생시키고, 신생 해마 과립 세포의 수상돌기 형태를 DCX에 대한 면역조직화학으로 분석하였다. 도 21 및 도 22는 Cdk15 KO 마우스의 DCX 양성 뉴런이 그들의 야생형 대응물의 것보다 더 짧은 과정을 가졌음을 보여준다(도 21의 A 및 B, 및 도 22의 A 및 B). 연속 5일 뇌실내로 투여된 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질은 CDKL5 녹아웃 마우스(도 22의 C)에서 신경돌기 길이 및 분지수를 야생형(도 22의 A)과 유사한 수준으로 증가시키는 것으로 관찰되었다. 도 23a 및 도 23b는 야생형(+Y)(도 23a), 반접합성 CDKL5 녹아웃 마우스(-Y)(도 23b) 및 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 반접합성 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스의 신생 과립 세포의 재구성된 수상돌기 가지의 예를 보여준다.

[0205] DCX 양성 세포의 수상돌기 크기의 정량화에 의해, CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스가 야생형 마우스(도 24의 A 및 B)보다 더 짧은 수상돌기 길이(도 24의 A) 및 감소된 세그먼트 수(도 24의 B)를 갖는 것이 입증되었다. TATk-GFP-CDKL5 처리된 CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스에서, +Y 마우스와 비교하여 훨씬 더 커지는 두 파라미터 모두의 증가가 존재하였다(도 24의 A 및 B). 개별적으로 각 수상돌기 차수를 평가함으로써 수상돌기 구조의 세부 사항에 대한 TATk-GFP-CDKL5 처리의 영향을 시험하였다. 보다 고차의 분지의 부재가 CDKL5 KO 마우스의 두드러진 특징이었다(도 25의 A 및 B; 적색 화살표). 야생형(+Y) 마우스가 최대 10차의 분지를 가졌으며, CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스에는 8 내지 10차의 분지가 결여되어 있다(도 25의 A, 화살표). 또한, CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스는 5 내지 8차의 감소된 분지 길이(도 25의 A) 및 6 내지 8차의 감소된 분지수(도 25의 B)를 보여주었다. 함께 고려하여, 이들 데이터는 Cdk15 KO 마우스에서, 신생 과립 세포의 수상돌기 가지가 위축성이며, 이러한 결함이 중간 차수의 분지의 수 및 길이의 감소, 및 더 높은 차수의 분지의 결여 때문임을 나타낸다. 모든 이들 결함은 TATk-GFP-CDKL5 처리에 의해 완전히 구제되는 것으로 관찰되었다(도 25의 A 및 B).

[0206] 아포토시스 세포사에 대한 TATk-GFP-CDKL5 처리의 영향을 평가하기 위하여, 본 발명자들은 해마 치상회에서 절단된 카스파제-3을 발현하는 아포토시스 세포의 수를 계수하였다(도 26). 절단된 카스파제-3 세포의 정량화는 TATk-GFP-CDKL5 처리가 CDKL5 녹아웃 마우스(-Y)에서 아포토시스 세포사를 완전히 정상화시킴을 보여준다(도 26). CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스가 해마 치상회에서 야생형(+Y) 마우스보다 더 적은 유사분열후 뉴런(DCX-양성 세포)을 갖는 것이 관찰되었다(도 27). TATk-GFP-CDKL5-처리된 CDKL5 녹아웃 마우스는 야생형(+Y) 마우스의 것과 유사하게 되는 유사분열후 뉴런의 수의 증가를 겪었다(도 27). 이는 CDKL5 녹아웃 마우스가 특징으로 하는 유사분열후 미성숙 과립 세포의 증가된 사멸이 TATk-GFP-CDKL5 처리에 의해 구제되는 것을 나타낸다. 함께 고려하여, 이들 데이터는 CDKL5 녹아웃 마우스에서 TATk-GFP-CDKL5로의 처리가 해마에서 신경돌기 길이 및 신생 세포의 생존을 증가시켰음을 보여주며, 이는 주사된 TATk-CDKL5가 측뇌실로부터 해마로 확산되고, 유사분열후 과립 세포의 성숙 및 생존을 복구시키는 것을 나타낸다.

[0207] 어떠한 이론에도 결부되지 않고, 연결성의 감소는 CDKL5 KO 마우스의 신생 과립 세포가 특징으로 하는 수상돌기 위축의 대응물일 수 있다. 시냅토파이신(SYN; p38로 알려져 있음)은 시냅스전 종점의 특이적 마커인 시냅스 소포 당단백질이다. 본 명세서에서, SYN의 광학 밀도가 해마의 분자층에서 야생형(+Y) 마우스보다 유의미하게 더 낮았음이 CDKL5 녹아웃 마우스(-Y) 마우스에서 관찰되었으며(도 28 및 도 30의 A), 이는 CDKL5 KO 마우스가 치상회에서 더 적은 스냅스 접착을 가졌음을 뒷받침한다. 도 28의 A 내지 C는 야생형 수컷 마우스(+Y)(도 28의 A), 반접합성 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y)(도 28의 B) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 반접합성 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-Y + TATk-GFP-CDKL5)(도 28의 C)로부터의 치아 이랑(DG)의 분자층(Mo1)으로부터 시냅토파이신(SYN) 면역형광에 대해 처리된 뇌 섹션을 보여주는 대표적인 이미지를 나타낸 것이다. 동물의 DG로부터의 6개의 30- μ m-두께 관상 섹션 중 1개를 면역조직화학을 위해 처리하였다. 면역조직화학을 동결된 뇌에 대한 부유 섹션에서 수행하였다. 시냅토파이신 면역조직화학을 위하여, 섹션을 4°C에서 48시간 동안 마우스 모노클로날 항-SYN(SY38) 항체(1:1000, MAB 5258, Millipore Bioscience Research Reagents)와, 그리고 2시간 동안 Cy3 컨쥬게이트된 항-마우스 IgG 이차 항체(1:200; Jackson ImmunoResearch)와 인큐베이션시켰다. 면역반응(IR)의 세기를 면역조직화학적으로 염색된 섹션의 광학 밀도측정에 의해 결정하였다. 니콘 디지털 카메라(Nikon Digital Camera) DXM1200이 장착된 니콘 이클립스(Nikon Eclipse) E600 현미경(ATI system)을 사용하여 형광 이미지를 캡처하였다. 분자층 및 피질에서의 밀도측정 분석을 Nis-Elements 소프트웨어 3.21.03(Nikon)을 사용하여 수행하였다. 각 이미지에 있어서, IR을 함유하지 않았던 이미지 영역에서 픽셀 세기의 분포를 분석함으로써 세기 역치를 추정하였다. 그 다음, 이 값을 제하여, 각 시료추출된 영역의 IR을 계산하였다. 값은 대조군 CDKL5 +Y 마우스의 광학 밀도의 백분율로 제공되어 있다(평균 + 표준 오차).

[0208] 수상 분지는 그들의 야생형 대응물에 비하여 CDKL5 녹아웃 마우스의 피질 추체상 뉴런에서 유의미하게 감소된다

(문헌[Amendola, 2014 PLoS One. 9(5):e91613]). 신피질의 층 III에서 유사한 더 낮은 수준의 SYN 면역반응이 관찰되었다(도 30의 B). TATk-GFP-CDKL5로 처리된 CDKL5 녹아웃 마우스(-/Y) 마우스에서, 이들 결합은 완전히 구제되었으며(도 28, 및 도 30의 A 및 B), 이는 수지상 구조에 대한 TATk-GFP-CDKL5의 처리의 긍정적인 영향이 뉴런으로의 투입의 복구와 병행되었음을 뒷받침한다.

[0209] **실시예 9: 생체내에서의 P-AKT에 대한 TATk-CDKL5 융합 단백질의 영향**

[0210] AKT는 다중의 세포 경로와 연관된 중심 신호전달 키나제이다. 인산화 AKT(P-AKT)는 CDKL5 녹아웃 동물, CDKL5 결핍 및 레트 증후군에서 유의미하게 감소된다. 도 29의 A 내지 C는 야생형 수컷 마우스(+Y)(도 29의 A), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y)(도 29의 B) 및 연속 5일 동안 1일 1회 제공되는 뇌실내 주사를 통해 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y + TATk-GFP-CDKL5)(도 29의 C)로부터의 치상회(DG)의 분자층(Mol)으로부터의 P-AKT 면역형광을 위해 처리된 뇌 섹션을 보여주는 대표적인 이미지를 보여준다. 포스포-AKT 면역조직화학을 위하여, 섹션을 4℃에서 24시간 동안 마우스 모노클로날 항-포스포-AKT-Ser473 항체(1:1000, Cell Signaling Technology) 및 2시간 동안 Cy3 컨쥬게이트된 항-마우스 IgG 이차 항체(1:200; Jackson Immunoresearch)와 인큐베이션시켰다. 면역반응(IR)의 세기를 면역조직화학적으로 염색된 섹션의 광학 밀도측정에 의해 결정하였다. 형광 이미지를 니콘 디지털 카메라 DXM1200이 장착된 니콘 이클립스 E600 현미경(ATI system)을 사용하여 캡처하였다.

[0211] CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y)에서, DG의 분자층(도 31의 A) 및 피질의 층 V(도 31의 B) 내의 P-AKT의 광학 밀도는 +Y 마우스에서보다 더 유의미하게 낮은 것으로 관찰되었다. 연속 5일 동안 TATk-GFP-CDKL5가 뇌실내 주사된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y)에서, 이러한 결합은 완전히 구제되었으며(도 31의 A 및 B), 이는 CDKL5 녹아웃 마우스에서 TATk-GFP-CDKL5로의 처리가 AKT 활성을 복구시키는 것을 입증한다.

[0212] **실시예 10: 학습 및 기억 능력에 대한 TATk-CDKL5 융합 단백질의 영향**

[0213] CDKL5 녹아웃 마우스는 야생형 마우스에 비하여 학습 및 기억 결함을 나타낸다(예를 들어, 도 33 및 도 34의 A 및 B 참조).

[0214] 기억 및 학습 능력을 시험하기 위하여, CDKL5 녹아웃 마우스에 연속 10일 동안 매일 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질의 뇌실내 주사를 투여하였다(예를 들어, 실험 일정에 대해서는 도 32 참조). 10일의 주사의 마지막에 2일 휴지 기간 후에, 모든 그룹의 마우스는 모리스 수중 미로(MWM) 시험을 받았다(도 33). MWM에서는 수 중 침지된 플랫폼의 위치를 찾고, 상기하는 능력을 측정한다. 마우스를 원형 풀에 숨겨진 도피 플랫폼에 위치하도록 MWM 과업에서 훈련시켰다. 장치는 투명 둥근 도피 플랫폼(10 cm²)이 있는 대형 원형 물 탱크(1.00 m 직경, 50 cm 높이)로 이루어졌다. 풀을 가상으로 북동, 북서, 남동 및 남서로 확인된 4개의 동일한 사분면으로 나누었다. 탱크를 22℃의 온도의 수돗물로 플랫폼의 상부 위 0.5 cm까지 채우고, 물은 우유를 사용하여 불투명하게 만들었다. 플랫폼을 고정된 위치에서(북서 사분면의 중간에서) 탱크에 두었다. 풀을 다수의 미로-내(사각형, 삼각형, 원형 및 성장) 및 -외 시각적 단서가 있는 큰 방에 두었다. 훈련 후에, 40분의 회기 사이 간격과 함께, 연속 5일 동안 매일 각각 4회의 시험의 2개의 회기에 대하여, 각 마우스를 시험하였다(획득 단계). 비디오 카메라를 풀의 중심 위에 배치하고, 비디오트래킹 시스템(Ethovision 3.1; Noldus Information Technology B.V., Wageningen, Netherlands)에 연결하였다. 마우스를 북쪽, 동쪽, 남쪽 또는 서쪽의 시작 지점 중 하나로부터 풀의 벽을 마주보게 하고 풀어주어, 최대 60초 동안 플랫폼을 찾게 하였다. 마우스가 플랫폼을 찾지 못하였다면, 부드럽게 그로 안내하고, 15초 동안 거기에 계속 있게 하였다. 트레일(trail) 사이 시간(15초) 동안, 마우스를 빈 케이지에 두었다. 숨겨진 플랫폼을 찾기 위한 대기 시간을 학습의 척도로 사용하였다. 모든 실험 회기를 9.00am과 15.00pm 사이에 수행하였다.

[0215] 이러한 시험의 결과는 도 33에 나타나 있다. 도 33은 야생형 수컷 마우스(+Y), CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y) 및 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질이 처리된 CDKL5 녹아웃 수컷 마우스(-/Y + TATk-GFP-CDKL5)에서 모리스 수중 미로 시험을 통해 결정된 바와 같은 학습 상태의 정량화를 보여주는 그래프를 보여준다. 야생형 마우스를 제2일 까지 플랫폼을 찾도록 학습시켰으나, 유의미한 학습이 CDKL5 녹아웃 마우스에서 검출되지 않았다. TATk-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 녹아웃 마우스는 제4일에 학습 능력을 회복하기 시작하였고, 제5일에 개선이 계속되었다.

[0216] 기억 및 학습 능력을 수동회피시험을 사용하여 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질 처리에 대한 반응에서 시험하였다. 연속 10일의 처리 및 2일의 휴지 기간 후에, 다양한 그룹의 마우스는 수동회피시험을 받았다(도 34). 실험은 2개의 챔버(명 및 암)가 있는 시험 케이지를 사용하였다. 제1일(조건부여 기간)에, 동물을 명 챔버에 두었고, 동

물은 본능적으로 암 챔버로 이동하였으며, 여기서, 그들을 단일의 유해 사건(발 충격)으로 조건부여한다. 수동 회피시험을 위하여, 본 발명자들은 슬라이딩 도어(sliding door)에 의해 2개의 구획으로 나뉜 경사-바닥 박스($47 \times 18 \times 26$ cm) 및 충격기를 포함하는 제어 유닛(Ugo Basile, Italy)을 사용하였다. 파블로프 조건부여를 위한 이러한 전형적인 기기는 조명된 영역으로부터 어두운 영역으로 도망치는 마우스의 경향을 이용하였다(스텝-쓰루(step-through) 방법). 제1일에, 마우스를 개별적으로 조명된 구획 내로 배치하였다. 60초의 적응 기간 후에, 챔버 사이의 연결 도어를 개방하였다. 일반적으로, 마우스는 어두운 곳에 있는 것을 선호하기 때문에, 마우스는 문을 통해 신속하게 움직이고, 암 구획에 진입한다. 암 구획으로 진입 시에, 마우스는 짧은 발 충격(3초 동안 0.7 mA)을 받았으며, 15초의 대기 후에 챔버에서 옮겼다. 마우스가 시험 기간(358초) 동안 명 구획에 남아 있다면, 도어를 폐쇄하고, 마우스를 광 구획에서 옮겼다. 챔버를 개별 마우스의 시험 사이에 70% 에탄올로 세정하였다. 24시간 체류 기간 후에, 마우스를 다시 광 구획 내로 배치하고, 그들이 암 구획에 재진입하는데 걸리는 시간(대기)을 358초까지 측정하였다.

[0217] 도 34의 A 및 B는 수동회피시험으로부터의 결과를 보여준다. 도 34의 A는 암 챔버에 진입하기 위한 대기 시간이 모든 그룹에 대하여 유사한 것을 나타낸다. 제2일(시험 기간)에(도 34의 B), 동물을 다시 광 챔버에 두었다. 유해 사건의 기억을 암 챔버에 진입하기 위한 대기 시간에 의해 측정하였다. CDKL5 낙아웃 마우스(-/Y)는 야생형 마우스(+/Y)에 비하여 암 구획에 진입하는 대기의 감소에 의해 입증된 바와 같이, 이러한 과업의 수행이 심각하게 손상되었다. TATk-GFP-CDKL5 처리된 낙아웃 마우스는 야생형 마우스와 비교하여 유사한 대기 시간을 보였다.

[0218] 요약하면, 데이터는 TATk-CDKL5가 CDKL5 낙아웃 마우스에서 미처리 야생형 마우스에서 관찰되는 것과 유사한 수준으로 학습 및 기억 능력을 증가시키고 복구시킬 수 있음을 보여준다.

[0219] **실시예 11: 운동 기능에 대한 TATk-CDKL5 융합 단백질의 영향**

[0220] CDKL5 낙아웃 마우스는 현수되는 경우, 연장된 다리 잡기를 나타내었다(예를 들어, 도 35a 및 도 35b 참조).

[0221] 운동 기능에 대한 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질의 영향을 시험하기 위하여, 마우스에게 연속 10일 동안 매일 TATk-GFP-CDKL5의 뇌실내 주사를 투여하였다(도 35). 투여 프로토콜의 완료 후 10일에, 동물을 꼬리에 의해 공기 중에 현수시켰다(도 35a 및 도 35b). 모든 동물을 약 2분 동안 현수키시고, 총 다리 잡기의 시간을 측정하였다. 이러한 실험으로부터의 결과는 도 35a 및 도 35b에 나타나 있다.

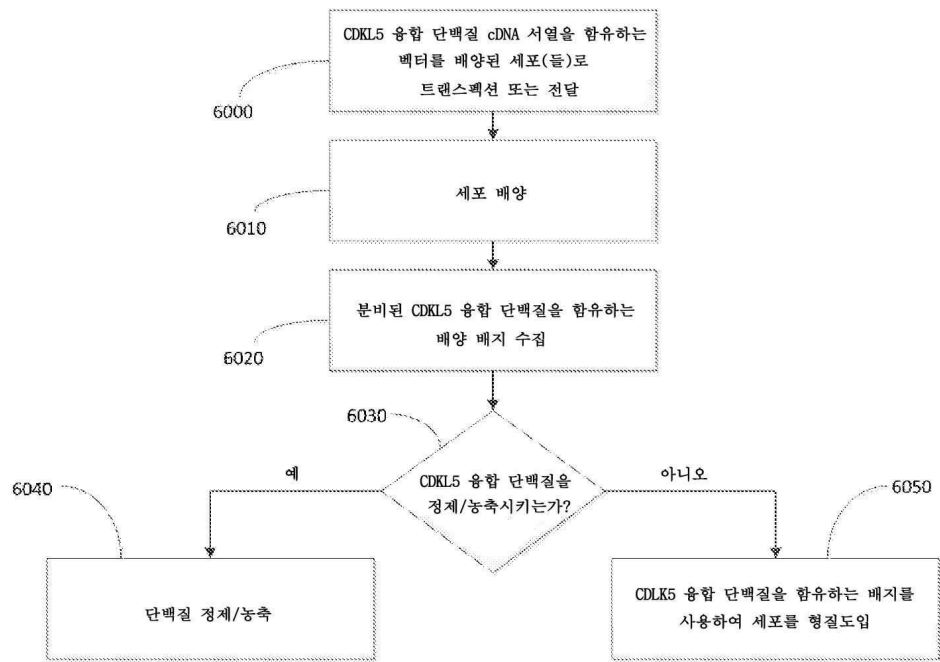
[0222] 도 35a는 도 32의 주사 일정에 따라, 2분 간격 동안 다리 잡기에 소모한 총 시간을 야생형 수컷 마우스(+/Y), CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-/Y) 및 TATk-GFP-CDKL5 융합 단백질로 처리된 CDKL5 낙아웃 수컷 마우스(-/Y + TATk-GFP-CDKL5)에서 측정한 잡기 시험에 의해 결정된 운동 능력의 정량화를 보여주는 그래프를 보여준다.

[0223] 5일(+/Y) 또는 10일(-/Y) 동안 TAT-GFP-CDKL5 단백질을 주사한 야생형(+/Y) 및 Cdk15 KO(-/Y) 수컷 마우스의 체중을 측정하였으며, 결과는 도 36에 나타나 있다. 주사 기간 동안 체중의 유의미한 변화가 관찰되지 않았으며, 이는 TAT-GFP-CDKL5 단백질 투여에 의해 야기되는 부작용이 존재하지 않았음을 뒷받침한다.

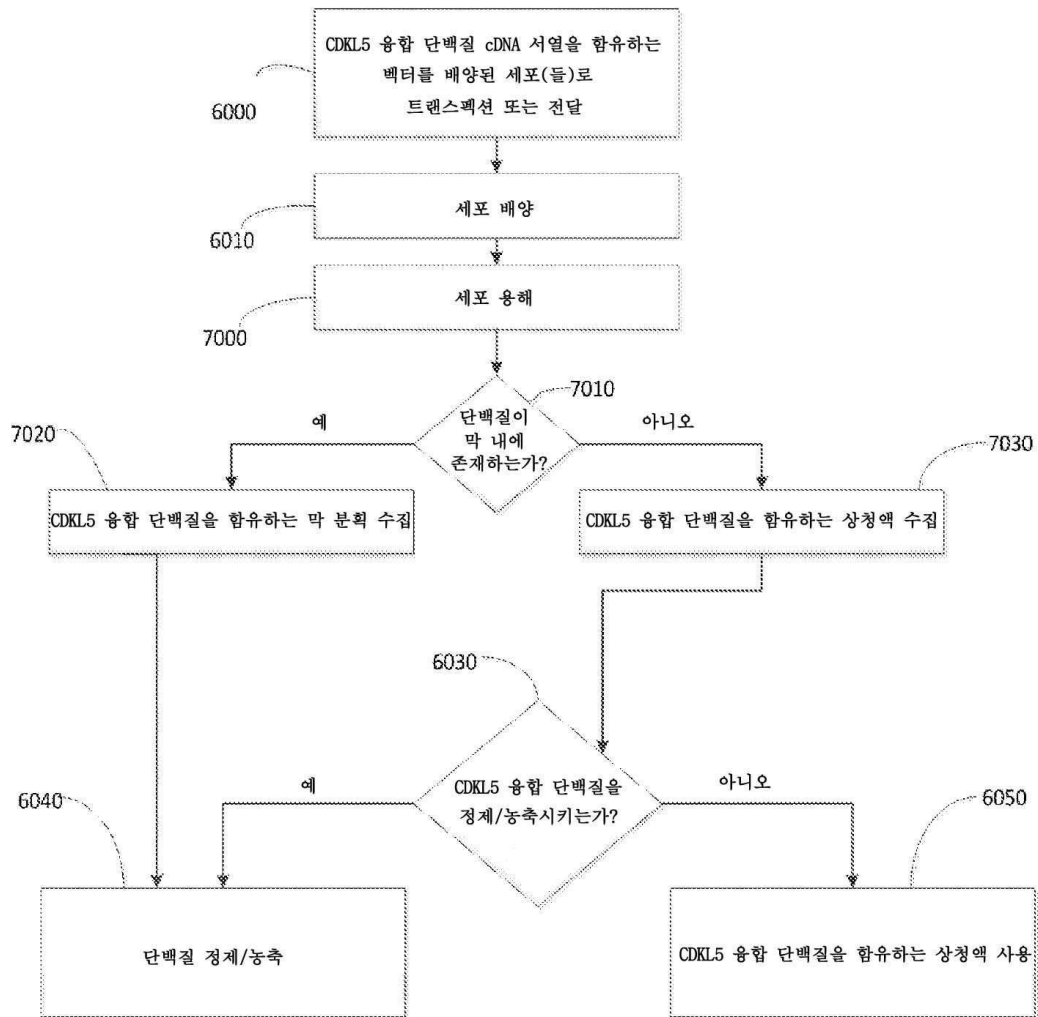
[0224] 요약하면, 데이터는 TATk-CDKL5로의 처리가 CDKL5 낙아웃 마우스에서 운동 기능을 개선시켰음을 나타낸다.

도면

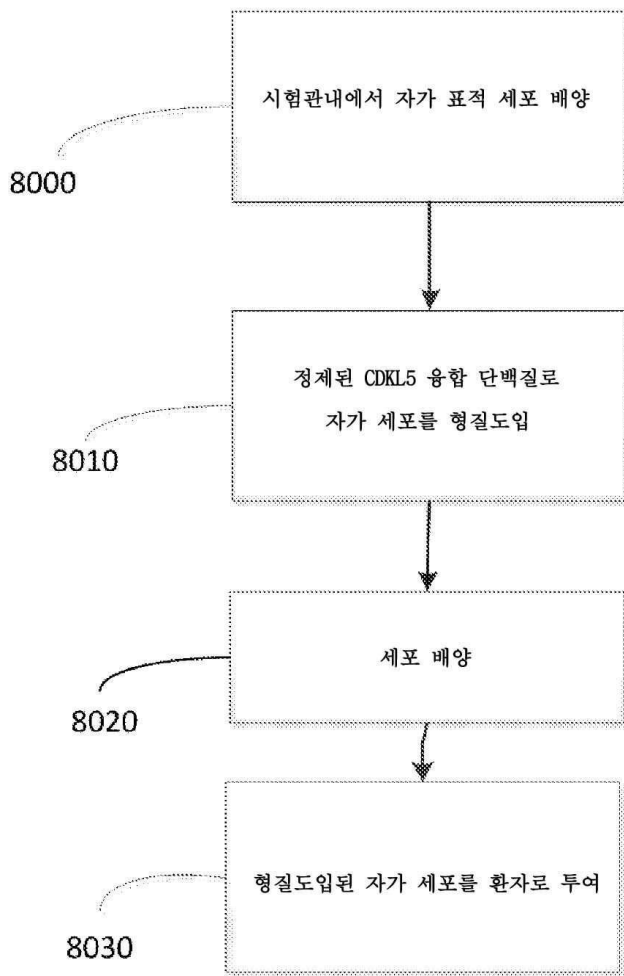
도면1



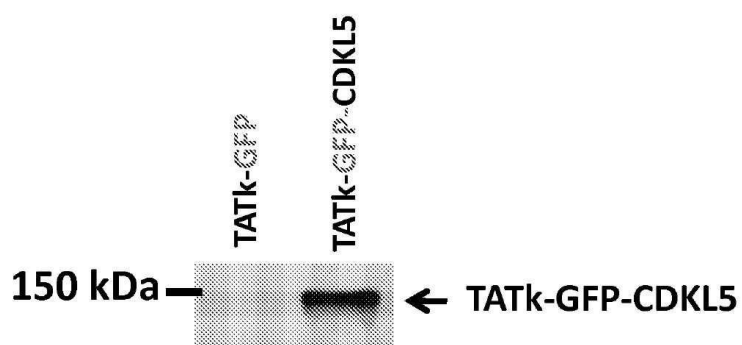
도면2



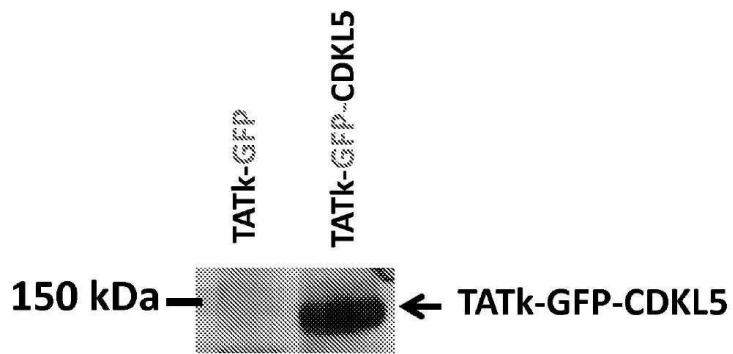
도면3



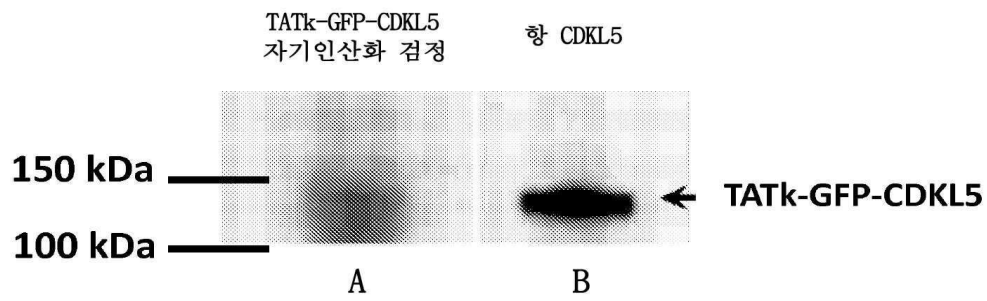
도면4a



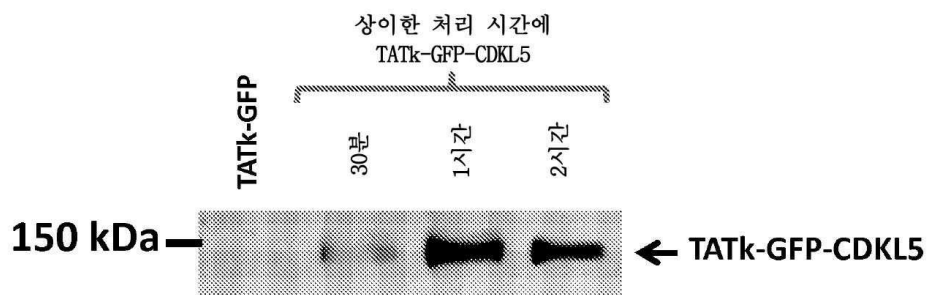
도면4b



도면5

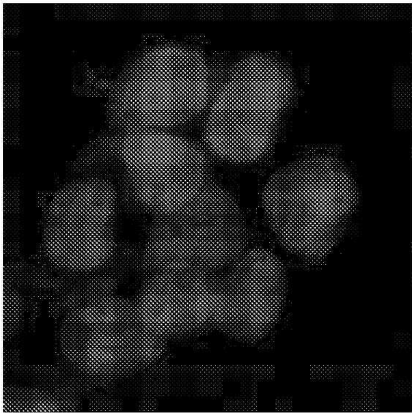


도면6



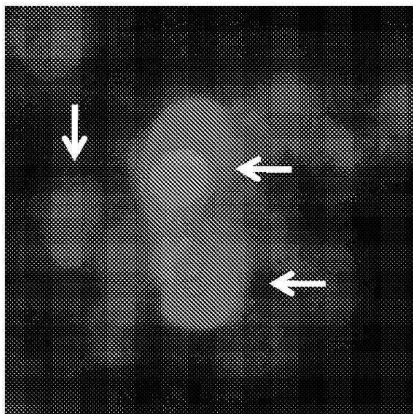
도면7a

미처리 293T

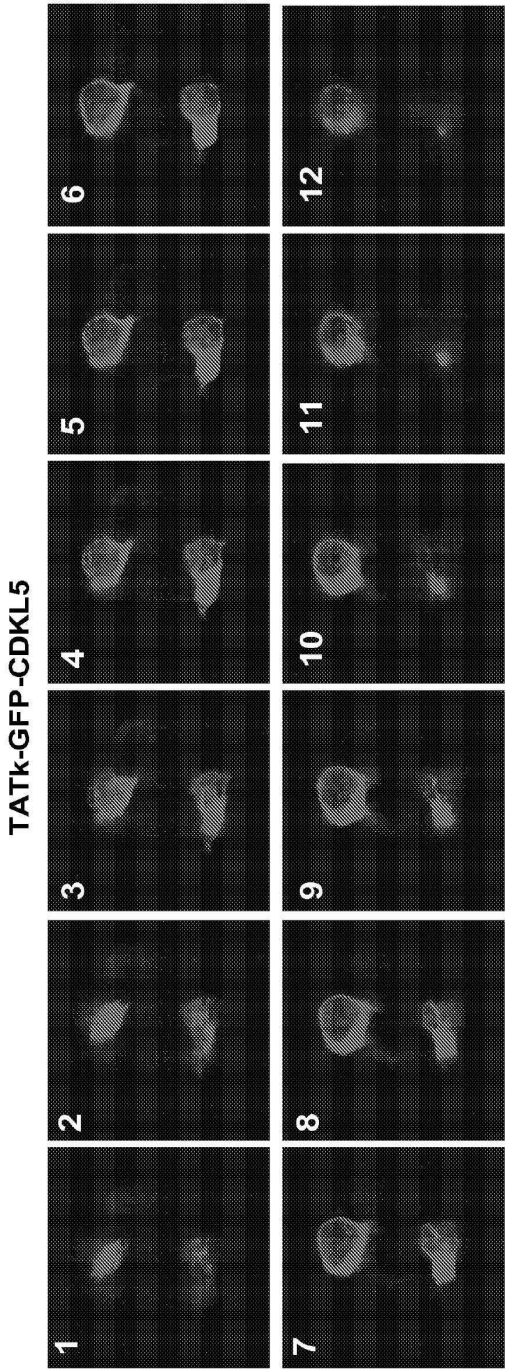


도면7b

TATk-GFP-CDKL5
처리된 293T

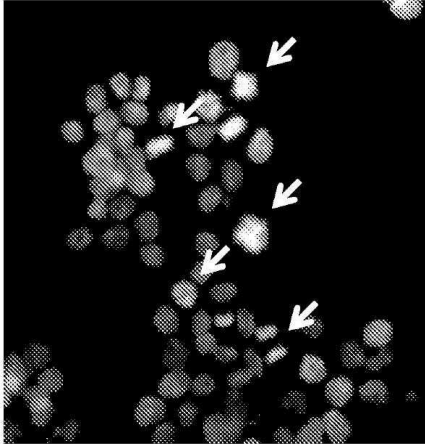


도면8



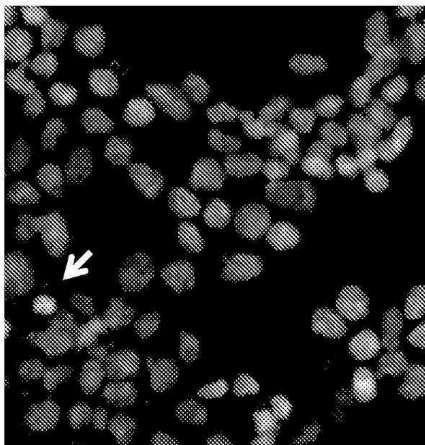
도면9a

TATk-GFP
처리된 SH-SY5Y

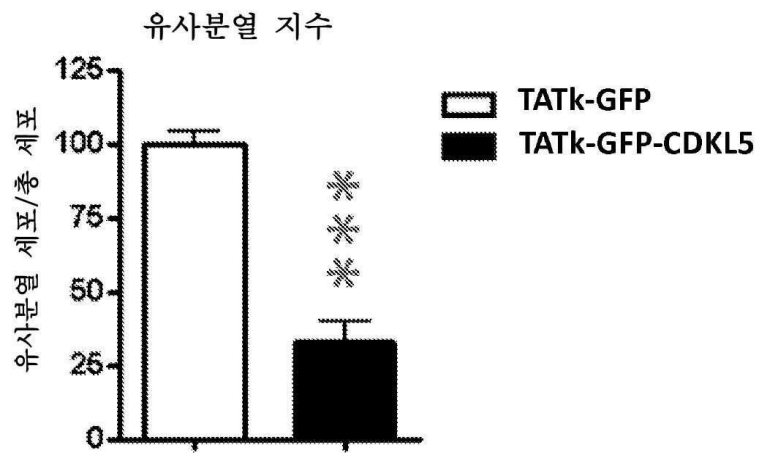


도면9b

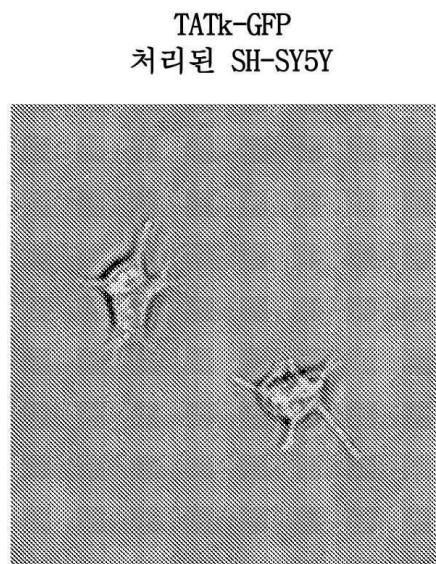
TATk-GFP-CDKL5
처리된 SH-SY5Y



도면10



도면11a



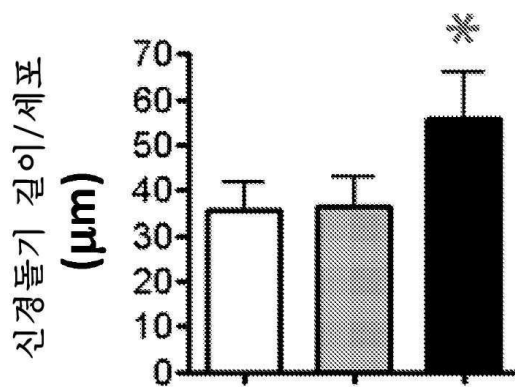
도면11b

TATk-GFP-CDKL5
처리된 SH-SY5Y

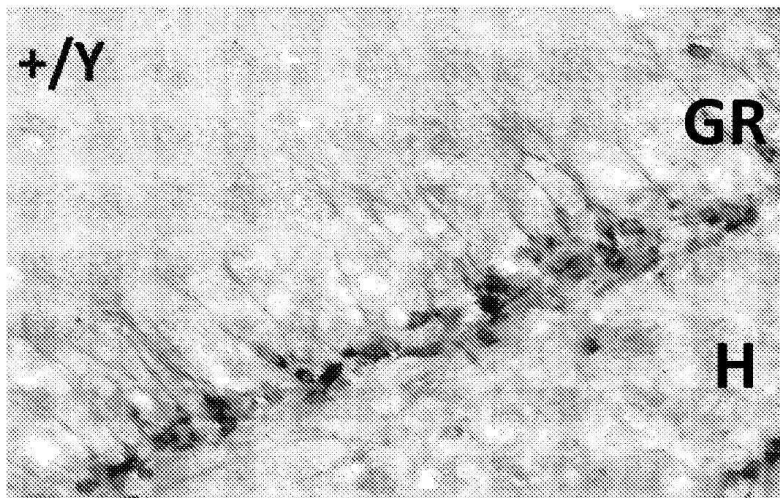


도면12

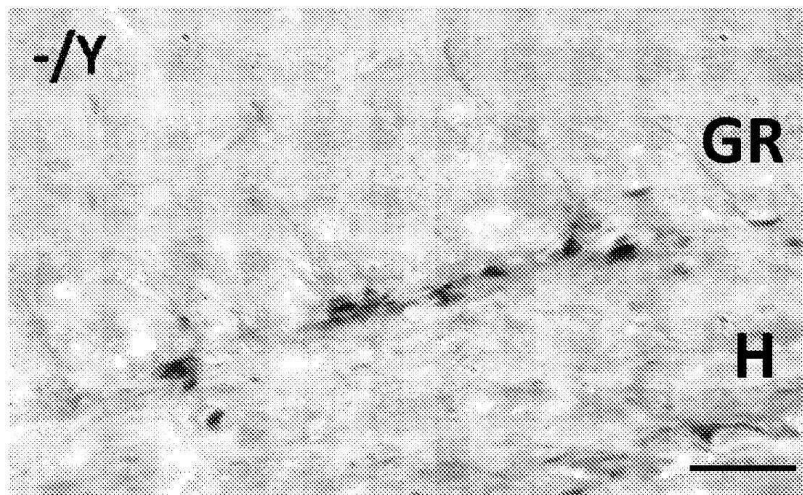
□ 대조군
▨ TATk-GFP
■ TATk-GFP-CDKL5



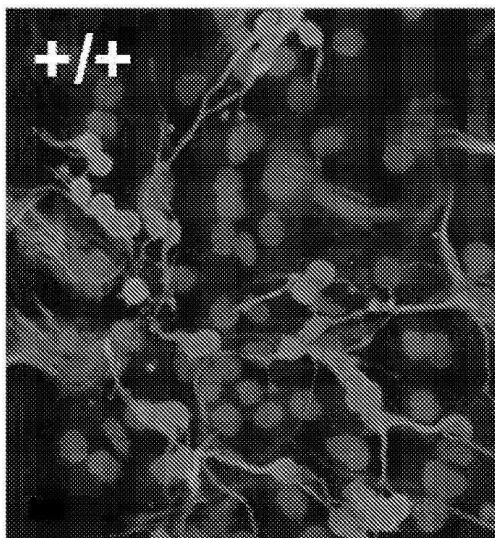
도면13a



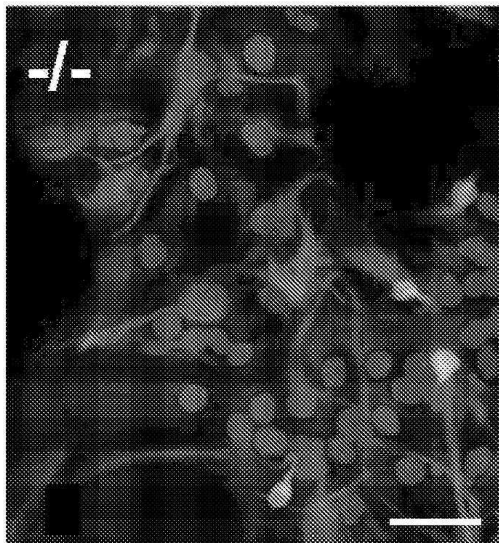
도면13b



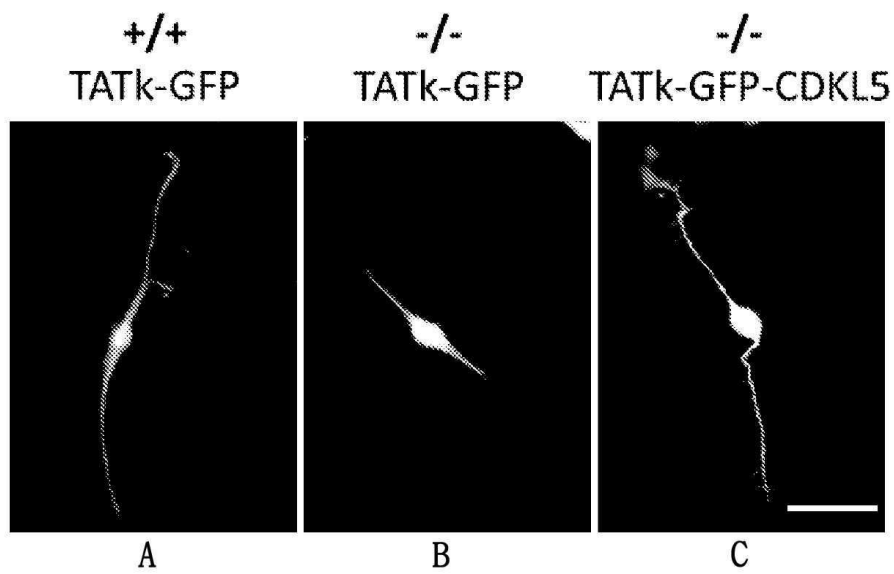
도면14a



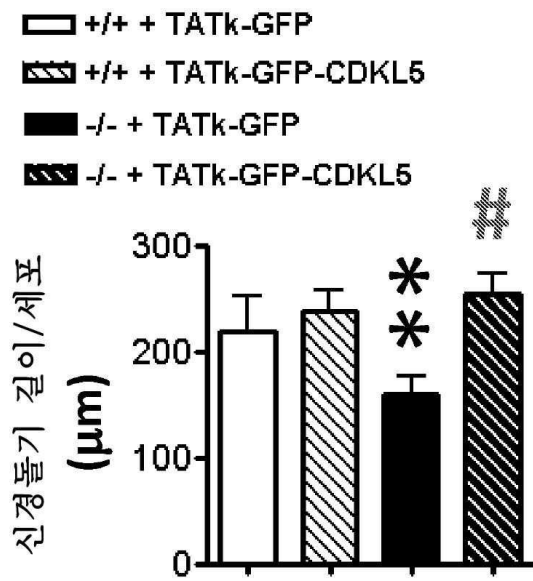
도면14b



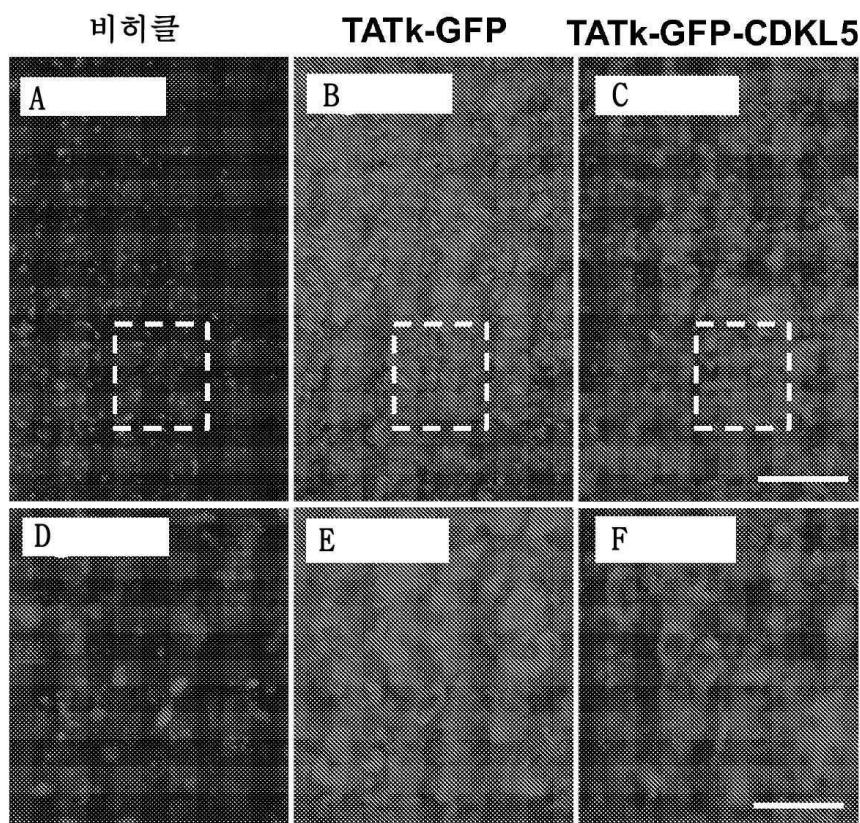
도면15



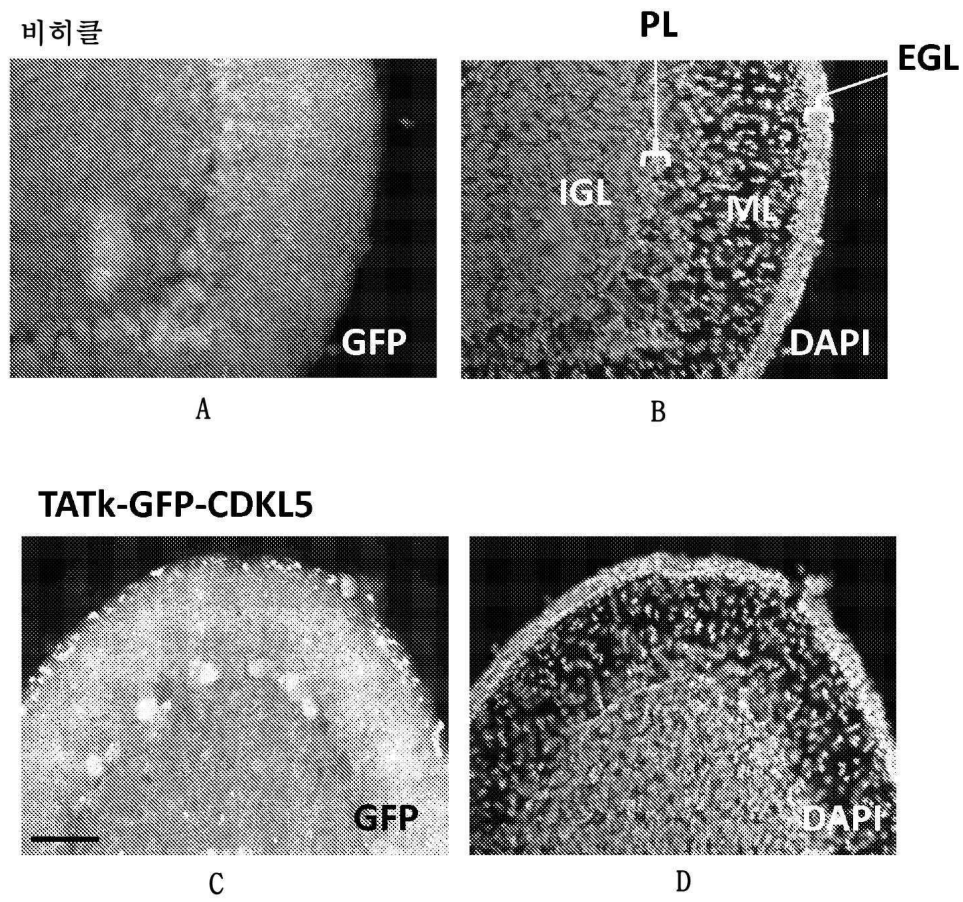
도면16



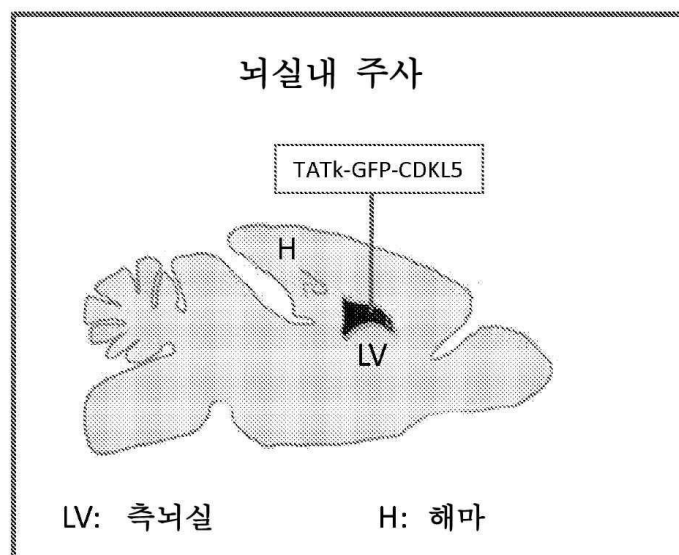
도면17



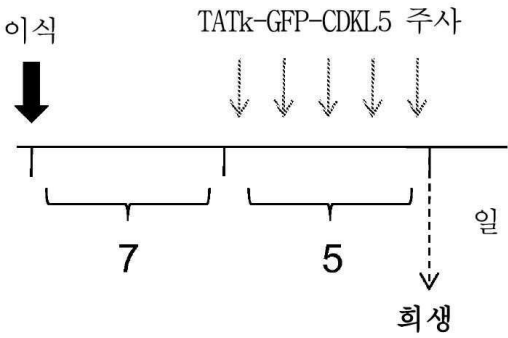
도면18



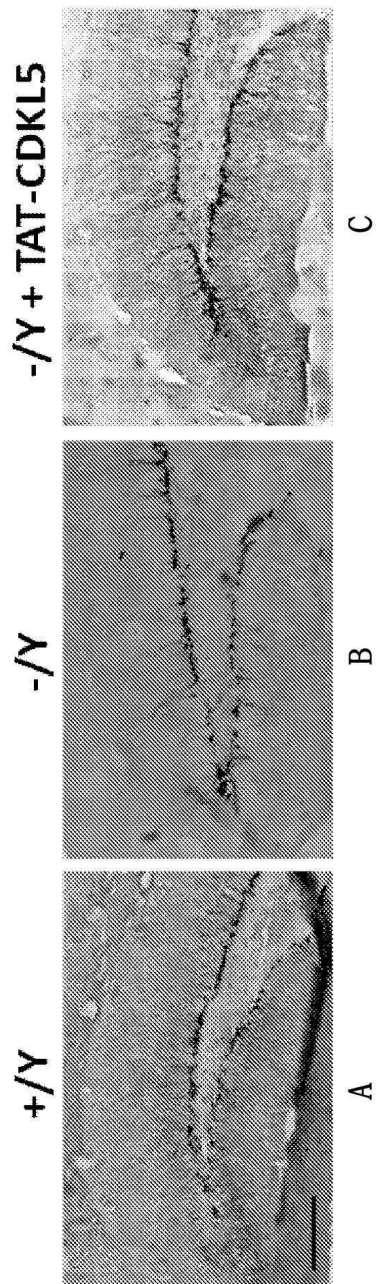
도면19



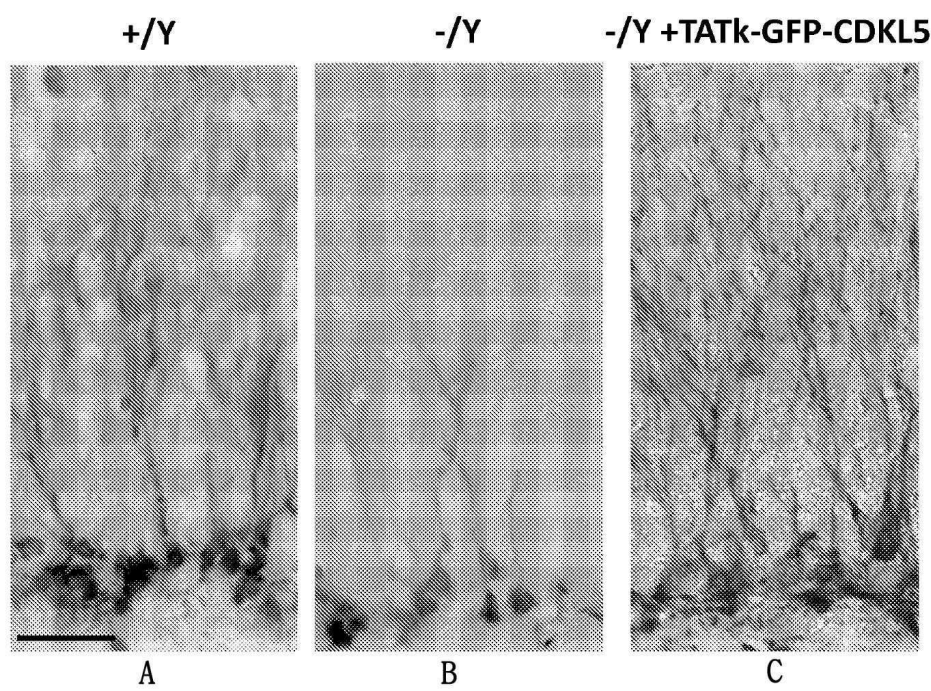
도면20



도면21



도면22



도면23a



도면23b

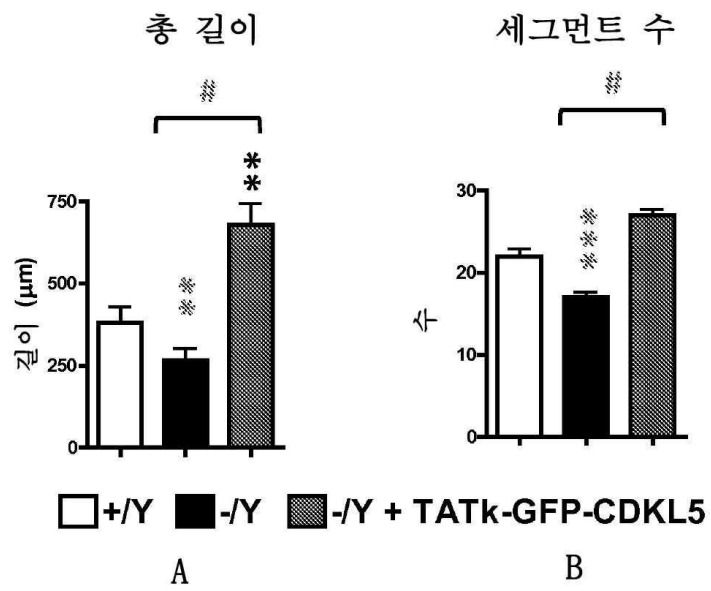


도면23c

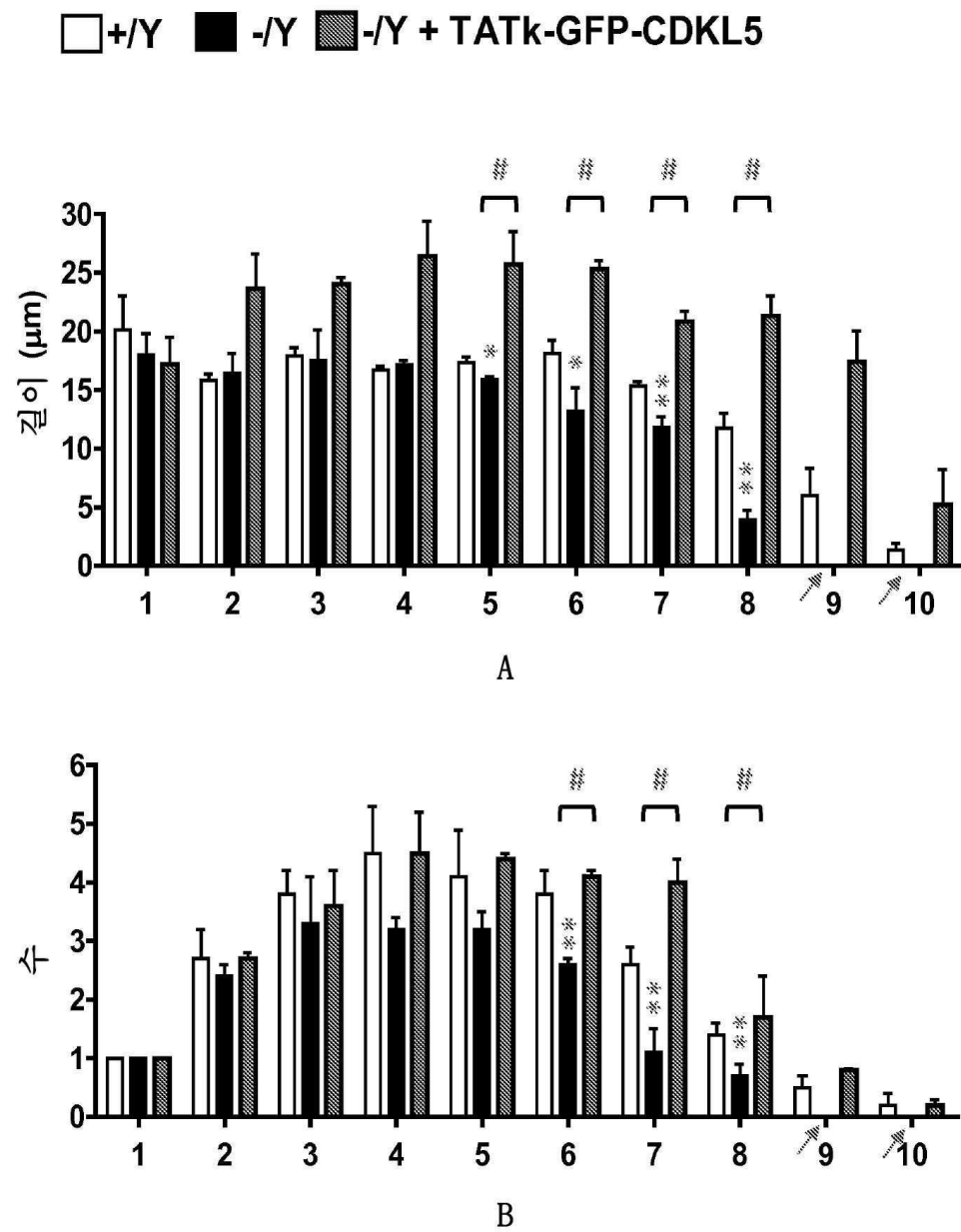
-/Y + TATk-GFP-CDKL5



도면24



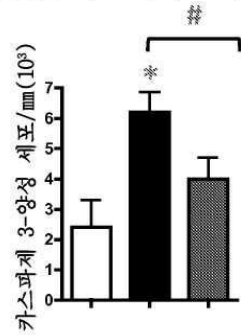
도면25



도면26

□ +/Y ■ -/Y ▨ -/Y + TATk-GFP-CDKL5

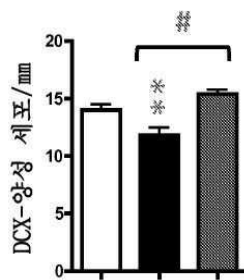
절단된 카스파제 3-양성 세포



도면27

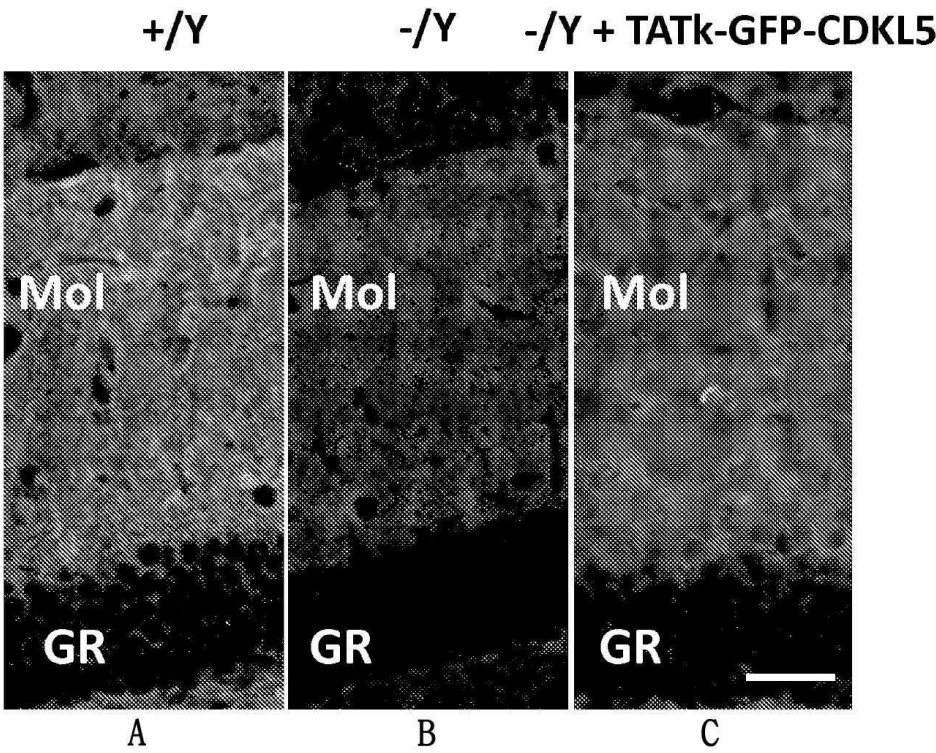
□ +/Y ■ -/Y ▨ -/Y + TATk-GFP-CDKL5

DCX-양성 세포

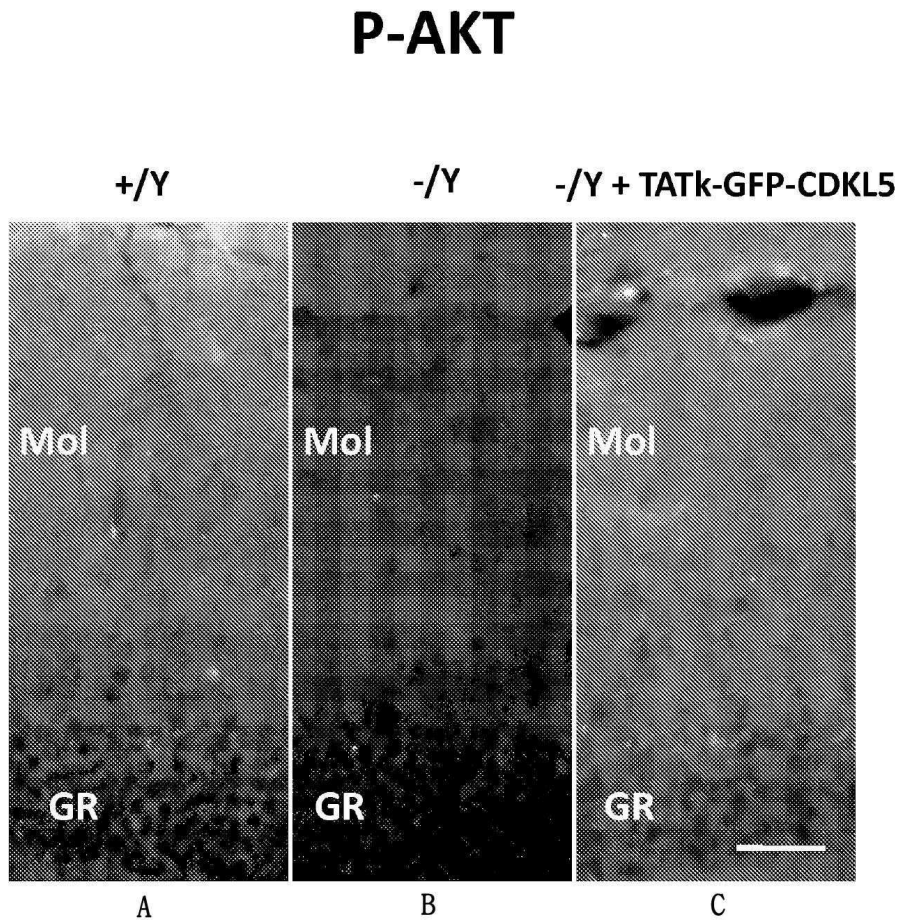


도면28

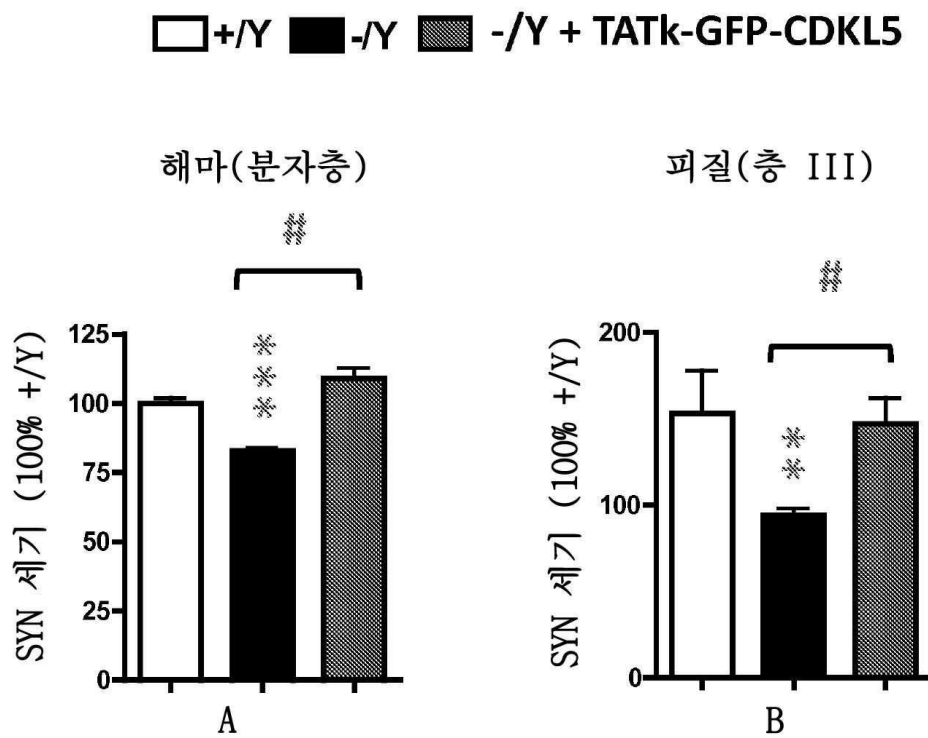
SYN



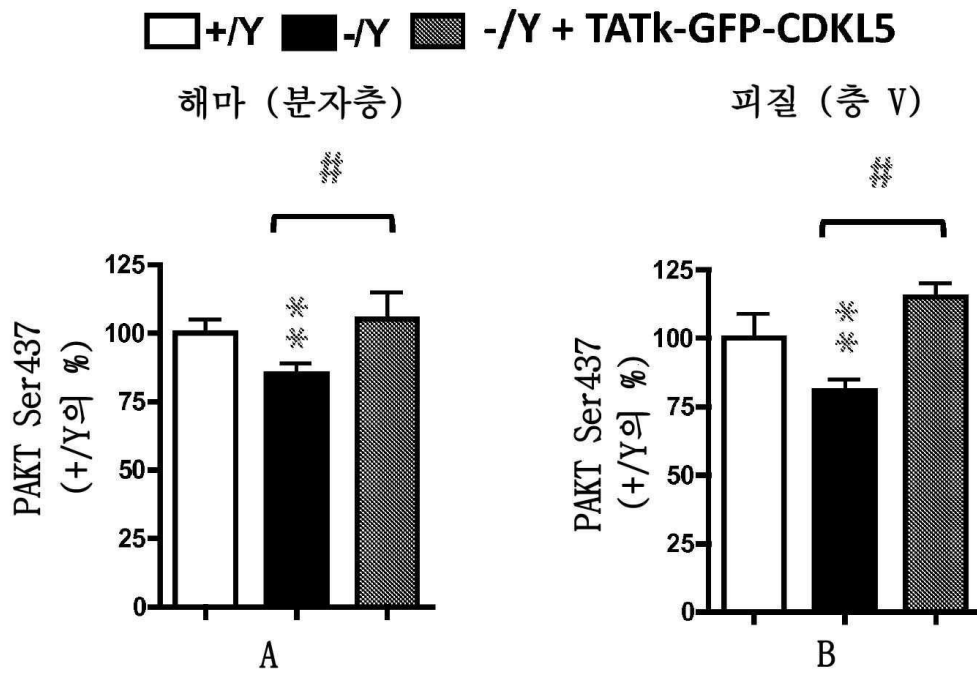
도면29



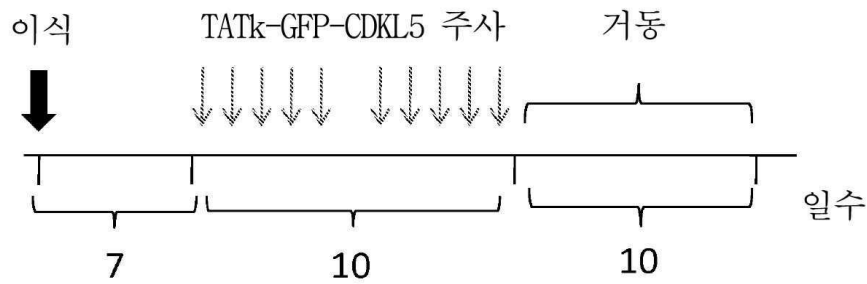
도면30



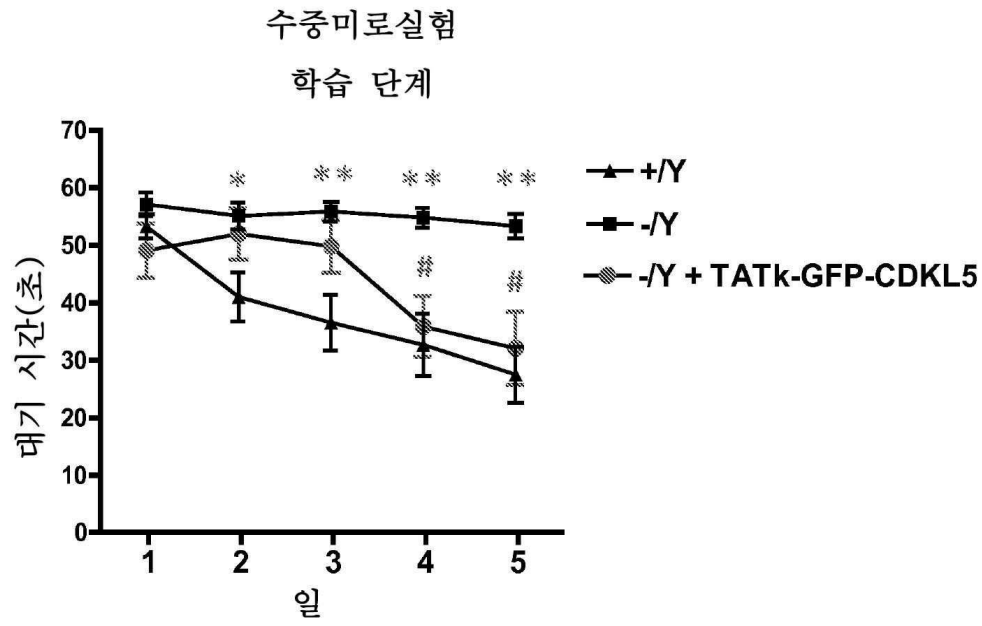
도면31



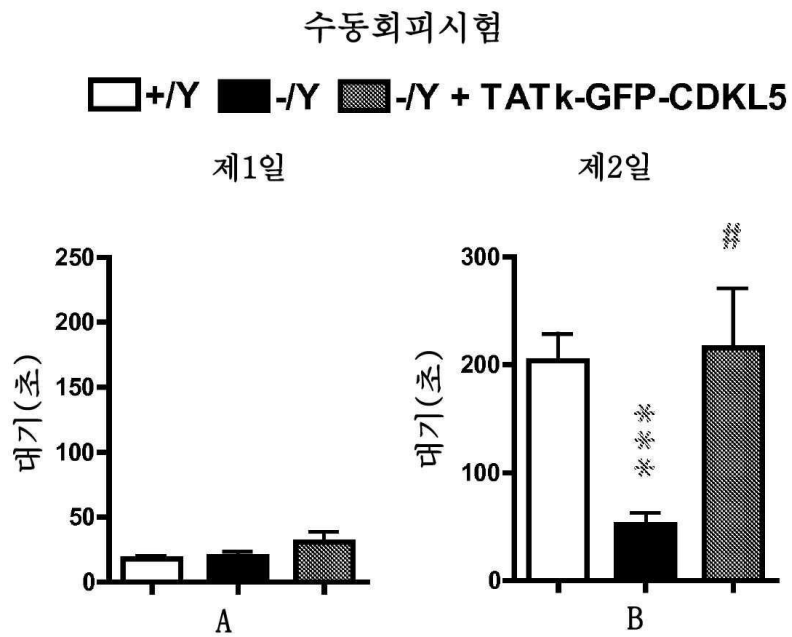
도면32



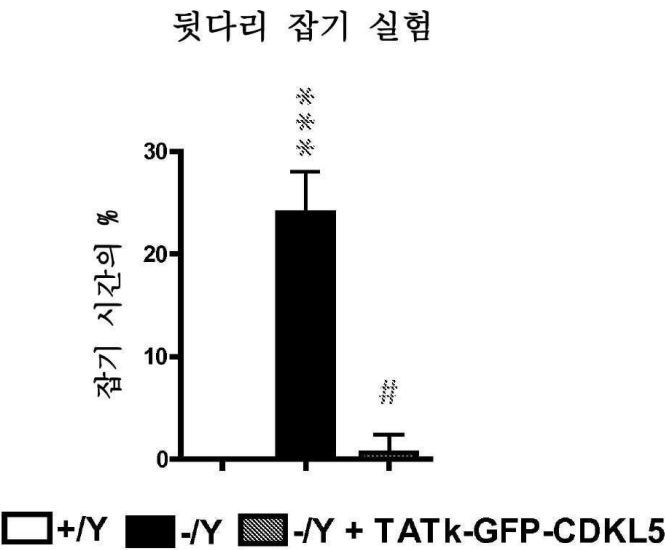
도면33



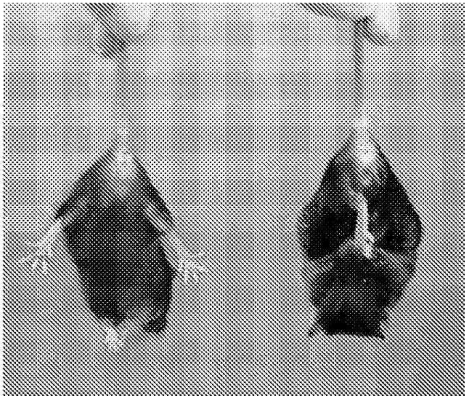
도면34



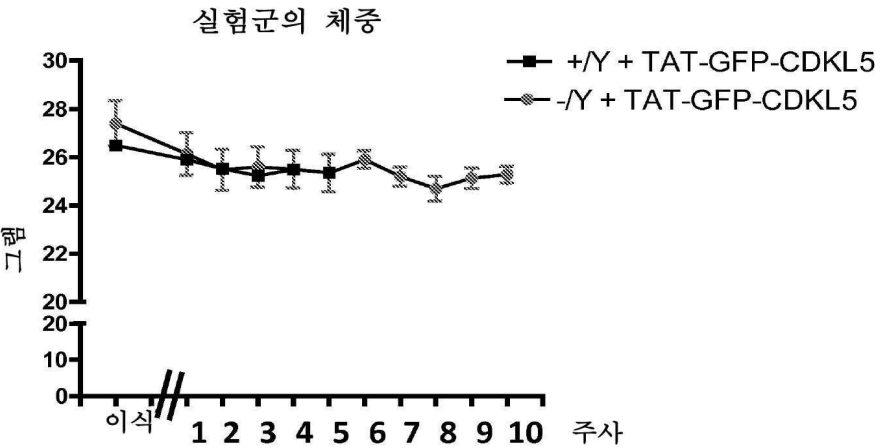
도면35a



도면35b



도면36



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> University of Bologna

<120> TATk-CDKL5 FUSION PROTEINS, COMPOSITONS, FORMULATIONS, AND USE

<130> 221006-1020

<150> US 61/946,280

<151> 2014-02-28

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 727

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDKL5

<400> 1

gtgagcaagg gcgaggagct gttcaccggg gtggtgccca tcctggtcga gctggacggc 60

gacgtaaagc gccacaagtt cagcgtgtcc ggcgagggcg agggcgatgc cacctacggc 120

aagctgaccc tgaagttcat ctgcaccacc ggcaagctgc ccgtgccctg gcccacccctc 180

gtgaccaccc tgacctacgg cgtgcagtgc ttcagccgct accccgacca catgaagcag 240

cacgacttct tcaagtccgc catgcccga ggctacgtcc aggagcgac catcttcttc 300

aaggacgacg gcaactacaa gaccgcgcc gaggtgaagt tcgagggcga caccctggtg 360

aaccgcatcg agctgaaggg catcgacttc aaggaggacg gcaacatcct ggggcacaag 420

ctggagtaca actacaacag ccacaacgtc tatatcatgg ccgacaagca gaagaacggc 480

atcaaggtga acttcaagat ccgccacaac atcgaggacg gcagcgtgca gctcgccgac 540

cactaccagc agaacacccc catcgccgac ggccccgtgc tgctgcccgca caaccactac 600

ctgagcacc agtccgccct gagcaaagac cccaacgaga agcgcgatca catggtcctg 660

ctggagttcg tgaccgccgc cgggatcact ctcggcatgg acgagctgta caagtccgga 720

ctcagat 727

<210> 2

<211> 1029

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDKL5

<400> 2

Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu Gly

1 5 10 15

Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His Lys

20 25 30

Glu Thr His Glu Ile Val Ala Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu Glu

35 40 45

Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu Arg

50 55 60

Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg Arg

65 70 75 80

Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met Leu

85 90 95

Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val Lys

100 105 110

Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys Asn

115 120 125

Asp Ile Val His Arg Asp Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser His

130 135 140

Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu Ser

145 150 155 160

Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp Tyr

165 170 175

Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp

180 185 190

Met Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln Pro

195 200 205

Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln Lys

210 215 220

Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser Asn

225 230 235 240

Pro Arg Phe His Gly Leu Arg Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln Ser
245 250 255
Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp Leu
260 265 270
Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Glu
275 280 285
Gln Cys Leu Asn His Pro Thr Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp Arg
290 295 300
Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser Ser
305 310 315 320
Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln Ser
325 330 335
His His Arg Ser Asn Ser Lys Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly Leu
340 345 350
Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn Gly
355 360 365
Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr Gln
370 375 380
Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn Asn
385 390 395 400
Ile Pro His Leu Leu Ser Pro Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu Phe
405 410 415
Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys Tyr
420 425 430
Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met Glu
435 440 445
Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln Ser
450 455 460
Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro Ser
465 470 475 480
Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys Ser

485 490 495
Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser Thr
500 505 510
Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr Ser
515 520 525
Pro Thr Pro Thr Arg His Ser Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro Ser

530 535 540
Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr Thr
545 550 555 560
Thr Arg His Ser Lys Thr Met Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His Met
565 570 575
Asp Ser Ser His Ser His Ser Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe Ser
580 585 590
Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro His

595 600 605
Arg His Ser Met Tyr Val Thr Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly Leu
610 615 620
Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn Ser
625 630 635 640
Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu Met
645 650 655
Thr Val Ala Arg Ser Ser Val Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr Ser

660 665 670
Ser Phe His Thr Arg Gln Lys Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp Pro
675 680 685
His Ser Asp Asp Gly Thr Ala Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr Asn
690 695 700
Asp Pro Val Pro Arg Arg Val Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser Pro
705 710 715 720
Arg Pro Asp Asn Ser Phe His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val Ser

725 730 735

Ser Leu Pro Ser Glu Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg Gln
 740 745 750
 Pro Ala Phe Asp Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser Glu
 755 760 765
 Gln Leu Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys Lys
 770 775 780
 Lys Lys Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp Leu

 785 790 795 800
 Leu Thr Leu Gln Lys Ser Ile His Ser Ala Ser Thr Pro Ser Ser Arg
 805 810 815
 Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln Ser
 820 825 830
 Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser Ala Ser
 835 840 845
 Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu Thr Ala Gln

 850 855 860
 Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His Pro Leu Ser Gln
 865 870 875 880
 Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu Pro Ala Pro Lys Gly
 885 890 895
 Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Asp Gly Gly Cys Asp Gly Arg Arg Gln
 900 905 910
 Arg His His Ser Gly Pro Gln Asp Arg Arg Phe Met Leu Arg Thr Thr

 915 920 925
 Glu Gln Gln Gly Glu Tyr Phe Cys Cys Gly Asp Pro Lys Lys Pro His
 930 935 940
 Thr Pro Cys Val Pro Asn Arg Ala Leu His Arg Pro Ile Ser Ser Pro
 945 950 955 960
 Ala Pro Tyr Pro Val Leu Gln Val Arg Gly Thr Ser Met Cys Pro Thr
 965 970 975
 Leu Gln Val Arg Gly Thr Asp Ala Phe Ser Cys Pro Thr Gln Gln Ser

980 985 990
 Gly Phe Ser Phe Phe Val Arg His Val Met Arg Glu Ala Leu Ile His
 995 1000 1005
 Arg Ala Gln Val Asn Gln Ala Ala Leu Leu Thr Tyr His Glu Asn
 1010 1015 1020
 Ala Ala Leu Thr Gly Lys
 1025
 <210> 3
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TATk
 <400> 3
 tacgccagaa aggccgccag gcaggccagg gca 33

 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TATk
 <400> 4
 Tyr Ala Arg Lys Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Igk-chain leader sequence
 <400> 5
 atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt 60
 <210> 6
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Igk-chain leder sequence

<400> 6

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly

20

<210> 7

<211> 3318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 fusion protein cDNA

<400> 7

atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt	60
gacgcggccc agccggccag gcgcgcgcgc cgtacgaagc ttgcggccta cgccagaaag	120
gccgccaggc aggccagggc accggtgaag attcctaaca ttggtaatgt gatgaataaa	180
tttgagatcc ttggggttgt aggtgaagga gcctatggag ttgtacttaa atgcagacac	240
aaggaaacac atgaaattgt ggcatcaag aaattcaagg acagtgaaga aaatgaagaa	300
gtcaaagaaa cgactttacg agagcttaaa atgcttcgga ctctcaagca ggaaaacatt	360
gtggagtgtg aggaagcatt tcgtcggagg ggaaagtgt acttggtgtt tgagtatgtt	420
gaaaaaata tgctcgaatt gctggaagaa atgccaaatg gattccacc tgagaaagta	480
aaaagctaca tctatcagct aatcaaggct attcactggt gccataagaa tgatattgtc	540
catcgagata taaaaccaga aaatctctta atcagccaca atgatgtcct aaaactgtgt	600
gactttggtt ttgctcgtaa tctgtcagaa ggcaataatg ctaattacac agagtacgtt	660
gccaccagat ggtatcggtc ccagaactc ttacttggcg ctcctatgg aaagtcctg	720
gacatgtggt cggtgggctg tattcttggg gagcttagcg atggacagcc tttatttct	780
ggagaaagtg aaattgacca actttttact attcagaagg tgctaggacc attccatct	840
gagcagatga agcttttcta cagtaatcct cgcttccatg ggctccggtt tccagctgtt	900
aaccatctc agtccttga aagaagatac ctggaattt tgaatagtgt tctacttgac	960
ctaatgaaga atttactgaa gttggacca gctgacagat acttgacaga acagtgtttg	1020
aatcaccta catttcaac ccagagactt ctggatcgtt ctccttcaag gtcagcaaaa	1080
agaaaacctt accatgtgga aagcagcaca ttgtctaata gaaaccaagc cggcaaaagt	1140
actgctttgc agtctacca cagatctaac agcaaggaca tccagaacct gagtgtaggc	1200

ctgccccggg ctgacgaagg tctccctgcc aatgaaagct tcctaaatgg aaaccttgct	1260
ggagctagtc ttagtcact gcacacaaa acctaccaag caagcagcca gcctgggtct	1320
accagcaaag atctcacaa caacaacata ccacaccttc ttagcccaaa agaagccaag	1380
tcaaaaacag agtttgattt taatatggac ccaaagcctt cagaaggccc agggacaaag	1440
tacctcaagt caaacagcag atctcagcag aaccgccact cattcatgga aagctctcaa	1500
agcaaagctg ggacactgca gccaatgaa aagcagagtc ggcatagcta tattgacaca	1560
attccccagt cctctaggag tccctcctac aggaccaagg ccaaaagcca tggggcactg	1620
agtgactcca agtctgtgag caacctttct gaagccaggg ccaaatgtc ggagcccagt	1680
accagtaggt acttccatc tagctgctta gacttgaatt ctcccaccag cccaaccccc	1740
accagacaca gtgacacgag aactttgctc agcccttctg gaagaaataa ccgaaatgag	1800
ggaacgctgg actcacgtcg aaccacaacc agacattcta agacgatgga ggaattgaag	1860
ctgccggagc acatggacag tagccattcc cattcactgt ctgcacctca cgaatctttt	1920
tcttatggac tgggtacac cagccctttt tcttccagc aacgtcctca taggcattct	1980
atgtatgtga cccgtgacaa agtgagagcc aagggttgg atggaagctt gagcataggg	2040
caagggatgg cagctagagc caacagcctg caactcttgt caccacagcc tggagaacag	2100
ctccctccag agatgactgt ggcaagatct tcggtcaaag agacctccag agaaggcacc	2160
tcttctctcc atacacgcca gaagtctgag ggtggagtgt atcatgacct acactctgat	2220
gatggcacag ccccaaaga aatagacac ctataaatg atcctgtgcc aaggagagtt	2280
ggtagctttt acagagtgcc atctccacgt ccagacaatt ctttccatga aaataatgtg	2340
tcaactagag ttctttctct accatcagag agcagtcttg gaaccaacca ctcaaaaaga	2400
caaccagcat tcgatccatg gaaaagtcct gaaaatatta gtcattcaga gcaactcaag	2460
gaaaaagaga agcaaggatt tticaggtca atgaaaaaga aaaagaagaa atctcaaca	2520
glaccaat cgcacagccc tgatcttctg acgttgacaga aatcattca ttctgctagc	2580
actcaagca gcagacaaa ggagtggcgc ccgagaaga tctcagatct gcagacccaa	2640
agccagccat taaaatcact gcgcaagttg ttacatctct cttcggcctc aaatcacccg	2700
gcttctctag atccccgctt ccagccctta acagctcaac aaacaaaaa ttccttctca	2760
gaaattcgga ttaccccct gagccaggcc tctggcggga gcagcaacat ccggcaggaa	2820
cccgaccga agggcaggcc agccctccag ctgccagacg gtggatgtga tggcagaaga	2880
cagagacacc attctggacc ccaagataga cgcttcatgt taaggacgac agaacaacaa	2940
ggagaatact tctgctgtgg tgaccaaaag aagcctcaca ctccgtgcgt cccaaaccga	3000
gcccttcac gtccaatctc cagtctgtct ccctatccag tactccaggt ccgaggcact	3060

tccatgtgcc cgacactcca ggtccgaggc actgatgctt tcagctgccc aaccagcaa 3120
tccgggttct ctttcttctg gagacacgtt atgaggaag ccctgattca cagggcccag 3180

gtaaaccaag ctgcgtcct gacataccat gagaatgcgg cactgacggg caagtccgct 3240
cgaggagggc ccgaacaaaa actcatctca gaagaggatc tgaatagcgc cgtcgaccat 3300
catcatcatc atcattga 3318

<210> 8
<211> 1105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> TATk-CDKL5 fusion protein polypeptide
<400> 8

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr

20 25 30
Lys Leu Ala Ala Tyr Ala Arg Lys Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Pro
35 40 45
Val Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu
50 55 60
Gly Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His
65 70 75 80
Lys Glu Thr His Glu Ile Val Ala Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu

85 90 95
Glu Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu
100 105 110
Arg Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg
115 120 125
Arg Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met
130 135 140
Leu Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val

145 150 155 160

Lys Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys
 165 170 175
 Asn Asp Ile Val His Arg Asp Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser
 180 185 190
 His Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu
 195 200 205
 Ser Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp
 210 215 220
 Tyr Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val
 225 230 235 240
 Asp Met Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln
 245 250 255
 Pro Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln
 260 265 270
 Lys Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser
 275 280 285
 Asn Pro Arg Phe His Gly Leu Arg Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln
 290 295 300
 Ser Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp
 305 310 315 320
 Leu Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr
 325 330 335
 Glu Gln Cys Leu Asn His Pro Thr Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp
 340 345 350
 Arg Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser
 355 360 365
 Ser Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln
 370 375 380
 Ser His His Arg Ser Asn Ser Lys Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly
 385 390 395 400
 Leu Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn

405 410 415
 Gly Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr
 420 425 430
 Gln Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn
 435 440 445
 Asn Ile Pro His Leu Leu Ser Pro Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu
 450 455 460
 Phe Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys

 465 470 475 480
 Tyr Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met
 485 490 495
 Glu Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln
 500 505 510
 Ser Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro
 515 520 525
 Ser Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys

 530 535 540
 Ser Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser
 545 550 555 560
 Thr Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr
 565 570 575
 Ser Pro Thr Pro Thr Arg His Ser Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro
 580 585 590
 Ser Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr

 595 600 605
 Thr Thr Arg His Ser Lys Thr Met Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His
 610 615 620
 Met Asp Ser Ser His Ser His Ser Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe
 625 630 635 640
 Ser Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro
 645 650 655

His Arg His Ser Met Tyr Val Thr Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly

660 665 670

Leu Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn

675 680 685

Ser Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu

690 695 700

Met Thr Val Ala Arg Ser Ser Val Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr

705 710 715 720

Ser Ser Phe His Thr Arg Gln Lys Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp

725 730 735

Pro His Ser Asp Asp Gly Thr Ala Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr

740 745 750

Asn Asp Pro Val Pro Arg Arg Val Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser

755 760 765

Pro Arg Pro Asp Asn Ser Phe His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val

770 775 780

Ser Ser Leu Pro Ser Glu Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg

785 790 795 800

Gln Pro Ala Phe Asp Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser

805 810 815

Glu Gln Leu Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys

820 825 830

Lys Lys Lys Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp

835 840 845

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

850 855 860

Arg Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln

865 870 875 880

Ser Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser Ala

885 890 895

Ser Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu Thr Ala

900 905 910
Gln Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His Pro Leu Ser

915 920 925
Gln Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu Pro Ala Pro Lys

930 935 940
Gly Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Asp Gly Gly Cys Asp Gly Arg Arg

945 950 955 960
Gln Arg His His Ser Gly Pro Gln Asp Arg Arg Phe Met Leu Arg Thr

965 970 975
Thr Glu Gln Gln Gly Glu Tyr Phe Cys Cys Gly Asp Pro Lys Lys Pro

980 985 990
His Thr Pro Cys Val Pro Asn Arg Ala Leu His Arg Pro Ile Ser Ser

995 1000 1005
Pro Ala Pro Tyr Pro Val Leu Gln Val Arg Gly Thr Ser Met Cys

1010 1015 1020
Pro Thr Leu Gln Val Arg Gly Thr Asp Ala Phe Ser Cys Pro Thr

1025 1030 1035
Gln Gln Ser Gly Phe Ser Phe Phe Val Arg His Val Met Arg Glu

1040 1045 1050
Ala Leu Ile His Arg Ala Gln Val Asn Gln Ala Ala Leu Leu Thr

1055 1060 1065
Tyr His Glu Asn Ala Ala Leu Thr Gly Lys Ser Ala Arg Gly Gly

1070 1075 1080
Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val

1085 1090 1095
Asp His His His His His His

1100 1105

<210> 9

<211> 4068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATK-CDKL5 fusion protein cDNA

<400> 9

gctagccacc atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg	60
ttccactggt gacgcggccc agccggccag gcgcgcgcgc cgtacgaagc ttgcggccta	120
cgccagaaag gccgccaggc aggccagggc acggtcgcca ccatggtgag caaggcgag	180
gagctgttca ccgggggtgt gcccatactg gtcgagctgg acggcgacgt aaacggccac	240
aagttcagcg tgtccggcga gggcgagggc gatgccacct acggcaagct gaccctgaag	300
ttcatctgca ccaccggcaa gctgcccgtg ccttgGCCCA cctcgtgac caccctgacc	360
tacggcgtgc agtgcttcag ccgctacccc gaccacatga agcagcacga cttcttcaag	420
tccgccatgc ccgaaggcta cgtccaggag cgcaccatct tcttcaagga cgacggcaac	480
tacaagacc gcgccgaggt gaagtctgag ggcgacaccc tggTgaaccg catcgagctg	540
aagggcacgc acttcaagga ggacggcaac atcctggggc acaagctgga gtacaactac	600
aacagccaca acgtctatat catggccgac aagcagaaga acggcatcaa ggtgaacttc	660
aagatccgcc acaacatcga ggacggcagc gtgcagctcg ccgaccacta ccagcagaac	720
accccatcg gcgacggccc cgtgctgctg cccgacaacc actacctgag caccagtc	780
gccctgagca aagaccccaa cgagaagcgc gatcacatgg tctgctgga gttcgtgacc	840
gccgccggga tcaactctcg catggacgag ctgtacaagt ccggactcag atctcgagcg	900
aagattccta acattggtaa tgtgatgaat aaatttgaga tccttggggT ttaggtgaa	960
ggagcctatg gagttgtact taaatgcaga cacaaggaaa cacatgaaat tgtggcgatc	1020
aagaaattca aggacagtga agaaaatgaa gaagtcaaag aaacgacttt acgagagctt	1080
aaaatgcttc ggactctcaa gcaggaaaac attgtggagt tgaaggaagc atttcgtcgg	1140
aggggaaagt tgtacttggT gtttgagtat gttgaaaaaa atatgctcga attgctggaa	1200
gaaatgccaa atggagtcc acctgagaaa gtaaaaagct acatctatca gctaatcaag	1260
gctattcact ggtgcctaag aatgatattg tccatcgaga tataaaacca gaaaatctct	1320
taatcagcca caatgatgtc ctaaaactgt gtgactttgg ttttgctcgt aatctgtcag	1380
aaggcaataa tgctaattac acagagtacg ttgccaccag atggtatcgg tccccagaac	1440
tcttacttgg cgctccctat ggaaagtccg tggacatgtg gtcggtgggc tgtattcttg	1500
gggagcttag cgatggacag cctttatttc ctggagaaag tgaaattgac caacttttta	1560
ctattcagaa ggtgctagga ccacttccat ctgagcagat gaagcttttc tacagtaatc	1620
ctcgcttcca tgggctccgg ttccagctg ttaacatcc tcagtccttg gaaagaagat	1680
accttggaaT ttgaaatagt gttctacttg acctaatgaa gaatttactg aagttggacc	1740

cagctgacag atacttgaca gaacagtgtt tgaatcacc tacatttcaa acccagagac	1800
ttctggatcg ttctccttca aggtcagcaa aaagaaaacc ttaccatgtg gaaagcagca	1860
cattgtctaa tagaaaccaa gccggcaaaa gtactgcttt gcagtctcac cacagatcta	1920
acagcaagga catccagaac ctgagtgtag gcctgccccg ggctgacgaa ggtctccctg	1980
ccaatgaaag cttcctaata ggaaaccttg ctggagctag tcttagtcca ctgcacacca	2040
aaacctacca agcaagcagc cagcctgggt ctaccagcaa agatctcacc aacaacaaca	2100
taccacacct tcttagccca aaagaagcca agtcaaaaac agagtttgat tttaatattg	2160
acccaaagcc ttcagaagcc ccagggacaa agtacctcaa gtcaaacagc agatctcagc	2220
agaaccgcca ctcatctatg gaaagctctc aaagcaaagc tgggacactg cagcccaatg	2280
aaaagcagag tcggcatagc tatattgaca caattcccca gtcctctagg agtcctcct	2340
acaggaccaa ggccaaaagc catggggcac tgagtgactc caagtctgtg agcaaccttt	2400
ctgaagccag ggcccaaatt gcggagccca gtaccagtag gtacttccca tctagctgct	2460
tagacttgaa ttctcccacc agcccaaccc ccaccagaca cagtacacg agaactttgc	2520
tcagcccttc tggaagaaat aaccgaaatg agggaaacgt ggactcacgt cgaaccacaa	2580
ccagacattc taagacgatg gaggaattga agctgccgga gcacatggac agtagccatt	2640
cccattcact gtctgcacct cacgaatctt tttcttatgg actgggctac accagccct	2700
tttcttccca gcaagctcct cataggcatt ctatgtatgt gaccctgac aaagtgagag	2760
ccaagggctt ggatggaagc ttgagcatag ggcaagggat ggagctaga gccaacagcc	2820
tgcaactctt gtcacccag cctggagaac agtcctctcc agagatgact gtggcaagat	2880
cttcggtcaa agagacctcc agagaaggca cctcttctt ccatcacgc cagaagtctg	2940
agggtggagt gtatcatgac ccacactctg atgatggcac agccccaaa gaaaatagac	3000
acctatacaa tgatcctgtg ccaaggagag ttggtagctt ttacagagtg ccatctccac	3060
gtccagacaa ttctttccat gaaaataatg tgtcaactag agtttcttct ctaccatcag	3120
agagcagttc tggaaccaac cactcaaaaa gacaaccagc attcgatcca tggaaaagtc	3180
ctgaaaatat tagtcattca gagcaactca aggaaaaaga gaagcaagga tttttcaggt	3240
caatgaaaaa gaaaaagaag aaatctcaaa cagtaccaa ttccgacagc cctgatcttc	3300
tgacgttgca gaaatccatt cattctgcta gcactccaag cagcagacca aaggagtggc	3360
gccccggaag atctcagatc tgcagaccca aagccagcca ttaaaatcac tgcgcaagtt	3420
gttacatctc tcttcggcct caaatcacc gcccttctca gtccccgctt ccagccctta	3480
acagctcaac aaaccaaaaa ttcttcttca gaaattcgga ttaccccct gagccaggcc	3540
tctggcggga gcagcaacat ccggcaggaa cccgcaccga agggcaggcc agccctccag	3600

ctgccagacg gtggatgtga tggcagaaga cagagacacc attctggacc ccaagataga 3660
cgcttcatgt taaggacgac agaacaacaa ggagaatact tctgctgtgg tgacccaaag 3720

aagcctcaca ctccgtgctt cccaaaccga gcccttcate gtccaatctc cagtcctgct 3780
ccctatccag tactccaggt ccgaggcact tccatgtgcc cgacactcca ggtccgaggc 3840
actgatgctt tcagctgccc aaccagcaa tccgggttct ctttcttcgt gagacacgtt 3900
atgaggggaag cctgattca caggccccag gtaaaccaag ctgcgctcct gacataccat 3960
gagaatgcgg cactgacggg caagtccgct cgaggagggc ccgaacaaaa actcatctca 4020
gaagaggatc tgaatagcgc cgtcgacat catcatcatc atcattga 4068

<210> 10

<211> 1353

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 fusion protein polypeptide

<400> 10

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr

20 25 30

Lys Leu Ala Ala Tyr Ala Arg Lys Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Pro

35 40 45

Val Ala Thr Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val

50 55 60

Pro Ile Leu Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser

65 70 75 80

Val Ser Gly Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu

85 90 95

Lys Phe Ile Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu

100 105 110

Val Thr Thr Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp

115 120 125

His Met Lys Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr

130	135	140	
Val Gln Glu Arg Thr	Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr		
145	150	155	160
Arg Ala Glu Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr	Leu Val Asn Arg Ile Glu		
	165	170	175
Leu Lys Gly Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile	Leu Gly His Lys		
	180	185	190
Leu Glu Tyr Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys			
	195	200	205
Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu			
	210	215	220
Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile			
225	230	235	240
Gly Asp Gly Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln			
	245	250	255
Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu			
	260	265	270
Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu			
	275	280	285
Tyr Lys Ser Gly Leu Arg Ser Arg Ala Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn			
290	295	300	
Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu Gly Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr			
	305	310	315
Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His Lys Glu Thr His Glu Ile Val Ala			
	325	330	335
Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu Glu Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr			
	340	345	350
Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu Arg Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile			
	355	360	365
Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg Arg Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val			
	370	375	380

Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met Leu Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro
 385 390 395 400
 Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val Lys Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile
 405 410 415
 Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys Asn Asp Ile Val His Arg Asp Ile
 420 425 430
 Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser His Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys
 435 440 445
 Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu Ser Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr
 450 455 460
 Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp Tyr Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu
 465 470 475 480
 Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Met Trp Ser Val Gly Cys Ile
 485 490 495
 Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln Pro Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu
 500 505 510
 Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln Lys Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser
 515 520 525
 Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser Asn Pro Arg Phe His Gly Leu Arg
 530 535 540
 Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln Ser Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly
 545 550 555 560
 Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp Leu Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu
 565 570 575
 Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Glu Gln Cys Leu Asn His Pro Thr
 580 585 590
 Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp Arg Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys
 595 600 605
 Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser Ser Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln
 610 615 620
 Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln Ser His His Arg Ser Asn Ser Lys

625 630 635 640
 Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly Leu Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu
 645 650 655
 Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn Gly Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu
 660 665 670
 Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr Gln Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser
 675 680 685
 Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn Asn Ile Pro His Leu Leu Ser Pro

 690 695 700
 Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu Phe Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys
 705 710 715 720
 Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys Tyr Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser
 725 730 735
 Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met Glu Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly
 740 745 750
 Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln Ser Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr

 755 760 765
 Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro Ser Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser
 770 775 780
 His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys Ser Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala
 785 790 795 800
 Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser Thr Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser
 805 810 815
 Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr Ser Pro Thr Pro Thr Arg His Ser

 820 825 830
 Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro Ser Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu
 835 840 845
 Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr Thr Thr Arg His Ser Lys Thr Met
 850 855 860
 Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His Met Asp Ser Ser His Ser His Ser
 865 870 875 880

Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe Ser Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser

885 890 895

Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro His Arg His Ser Met Tyr Val Thr

900 905 910

Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly Leu Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly

915 920 925

Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn Ser Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln

930 935 940

Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu Met Thr Val Ala Arg Ser Ser Val

945 950 955 960

Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr Ser Ser Phe His Thr Arg Gln Lys

965 970 975

Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp Pro His Ser Asp Asp Gly Thr Ala

980 985 990

Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr Asn Asp Pro Val Pro Arg Arg Val

995 1000 1005

Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser Pro Arg Pro Asp Asn Ser Phe

1010 1015 1020

His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val Ser Ser Leu Pro Ser Glu

1025 1030 1035

Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg Gln Pro Ala Phe Asp

1040 1045 1050

Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser Glu Gln Leu Lys

1055 1060 1065

Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys Lys Lys Lys

1070 1075 1080

Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp Leu Leu

1085 1090 1095

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

1100 1105 1110

Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln

1115 1120 1125
Ser Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser

1130 1135 1140
Ala Ser Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu

1145 1150 1155
Thr Ala Gln Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His

1160 1165 1170
Pro Leu Ser Gln Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu

1175 1180 1185
Pro Ala Pro Lys Gly Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Asp Gly Gly

1190 1195 1200
Cys Asp Gly Arg Arg Gln Arg His His Ser Gly Pro Gln Asp Arg

1205 1210 1215
Arg Phe Met Leu Arg Thr Thr Glu Gln Gln Gly Glu Tyr Phe Cys

1220 1225 1230
Cys Gly Asp Pro Lys Lys Pro His Thr Pro Cys Val Pro Asn Arg

1235 1240 1245
Ala Leu His Arg Pro Ile Ser Ser Pro Ala Pro Tyr Pro Val Leu

1250 1255 1260
Gln Val Arg Gly Thr Ser Met Cys Pro Thr Leu Gln Val Arg Gly

1265 1270 1275
Thr Asp Ala Phe Ser Cys Pro Thr Gln Gln Ser Gly Phe Ser Phe

1280 1285 1290
Phe Val Arg His Val Met Arg Glu Ala Leu Ile His Arg Ala Gln

1295 1300 1305
Val Asn Gln Ala Ala Leu Leu Thr Tyr His Glu Asn Ala Ala Leu

1310 1315 1320
Thr Gly Lys Ser Ala Arg Gly Gly Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser

1325 1330 1335
Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His His His His His His

1340 1345 1350

<210> 11

<211> 3852

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 Fusion protein cDNA

<400> 11

```

atggagacag acacactcct gctatgggia ctgctgctct gggttccagg ttccactggt      60

gacgcggccc agccggccag gcgcgcgcgc cgtacgaagc ttgcggccta cgccagaaag      120
gccgccaggc aggccagggc accggtcgcc accatggtga gcaagggcga ggagctgttc      180
accggggtgg tgcccatcct ggtcgagctg gacggcgacg taaacggcca caagttcagc      240
gtgtccggcg agggcgaggc cgatgccacc tacggcaagc tgacctgaa gttcatctgc      300
accacggca agctgccctg gccctggccc accctcgtga ccacctgac ctacggcgtg      360
cagtgttca gccgtaccc cgaccacatg aagcagcacg acttttcaa gtccgccatg      420
cccgaaggct acgtccagga gcgcaccatc ttcttcaagg acgacggcaa ctacaagacc      480

cgcgccgagg tgaagttcga gggcgacacc ctggtgaacc gcatcgagct gaaggcatc      540
gacttcaagg aggacggcaa catcctgggg cacaagctgg agtacaacta caacagccac      600
aacgtctata tcatggccga caagcagaag aacggcatca aggtgaactt caagatccgc      660
cacaacatcg aggacggcag cgtgcagctc gccgaccact accagcagaa ccccccatc      720
ggcgacggcc ccgtgctgct gcccgacaac cactacctga gcaccagtc cgccctgagc      780
aaagacccca acgagaagcg cgatcacatg gtctgtctgg agttcgtgac cgccgccggg      840
atcactctcg gcatggacga gctgtacaag tccggactca gatctcgagc gaagattcct      900

aacattggta atgtgatgaa taaatttgag atccttgggg ttgtaggtga aggagcctat      960
ggagtgttac ttaaatgcag acacaaggaa acacatgaaa ttgtggcgat caagaaattc      1020
aaggacagtg aagaaaatga agaagtcaaa gaaacgactt tacgagagct taaaatgctt      1080
cggactctca agcaggaaaa catttgtggag ttgaaggaag catttcgtcg gaggggaaag      1140
ttgtacttgg tgtttgagta tgttgaaaaa aatatgctcg aattgctgga agaaatgcca      1200
aatggagtgc cacctgagaa agtaaaaaagc tacatctatc agctaataa ggctattcac      1260
tggtgccata agaattgat tgtccatcga gatataaac cagaaaatct cttaatcagc      1320

cacaatgatg tcctaaaact gtgtgacttt ggttttgctc gtaatctgtc agaaggcaat      1380
aatgctaatt acacagagta cgttgccacc agatgggtatc ggtccccaga actcttactt      1440
ggcgctccct atggaaagtc cgtggacatg tggtcggtgg gctgtattct tggggagctt      1500

```

agcgatggac agccttttatt tcctggagaa agtgaaattg accaactttt tactattcag 1560
 aaggtgctag gaccacttcc atctgagcag atgaagcttt tctacagtaa tcctcgcttc 1620
 catgggctcc ggtttccagc tgtaaccat cctcagtcct tggaaagaag ataccttga 1680
 attttgaata gtgttctact tgacctaatg aagaatttac tgaagtggga cccagctgac 1740

 agatacttga cagaacagtg tttgaatcac cctacatttc aaaccagag acttctggat 1800
 cgttctcctt caaggtcagc aaaaagaaaa ccttaccatg tggaaagcag cacattgtct 1860
 aatagaaacc aagccggcaa aagtactgct ttgcagtcct accacagatc taacagcaag 1920
 gacatccaga acctgagtggt aggcctgccc cgggctgacg aaggtctccc tgccaatgaa 1980
 agcttcctaa atggaaacct tgctggagct agtcttagtc cactgcacac caaacctac 2040
 caagcaagca gccagcctgg gtctaccagc aaagatctca ccaacaaca cataccacac 2100
 cttcttagcc caaagaagc caagtcaaaa acagagtttg attttaatat tgacccaaag 2160

 ccttcagaag gcccagggac aaagtacctc aagtcaaaca gcagatctca gcagaaccgc 2220
 cactcattca tggaaagctc tcaaagcaaa gctgggacac tgcagcccaa tgaaaagcag 2280
 agtcggcata gctatattga cacaattccc cagtccctca ggagtccttc ctacaggacc 2340
 aaggccaaaa gccatggggc actgagtgc tccaagtctg tgagcaacct ttctgaagcc 2400
 agggcccaaa ttgcggagcc cagtaccagt aggtacttcc catctagctg cttagacttg 2460
 aatttccca ccagcccaac cccaccaga cacagtgaca cgagaacttt gctcagccct 2520
 tctggaagaa ataaccgaaa tgagggaacg ctggactcac gtcgaaccac aaccagacat 2580

 tctaagacga tggaggaatt gaagctgccg gagcacatgg acagtagcca ttcccattca 2640
 ctgtctgcac ctacgaatc ttttcttat ggactgggct acaccagccc cttttcttcc 2700
 cagcaacgtc ctcatagcca ttctatgtat gtgaccctg acaaagttag agccaagggc 2760
 ttggatggaa gcttgagcat agggcaaggg atggcagcta gagccaacag cctgcaactc 2820
 ttgtcaccac agcctggaga acagctccct ccagagatga ctgtggcaag atcttcggtc 2880
 aaagagacct ccagagaagg cactcttcc ttccatacac gccagaagtc tgagggtgga 2940
 gtgtatcatg acccacactc tgatgatggc acagcccca aagaaaatag acacctatac 3000

 aatgatcctg tgccaaggag agttggtagc ttttacagag tgccatctcc acgtccagac 3060
 aattctttcc atgaaaataa tgtgtcaact agagtttctt ctctaccatc agagagcagt 3120
 tctggaacca accactcaaa aagacaacca gcattcgatc catggaaaag tcctgaaaat 3180
 attagtcatt cagagcaact caaggaaaaa gagaagcaag gatttttcag gtcaatgaaa 3240
 aagaaaaaga agaaatctca aacagtaccc aattccgaca gccctgatct tctgacgttg 3300
 cagaaatcca ttattctgc tagcactcca agcagcagac caaaggagtg gcgccccgag 3360

aagatctcag atctgcagac ccaaagccag ccattaaaat cactgcgcaa gttgttacat 3420

ctctcttcgg cctcaaatca cccggttcc tcagatcccc gttccagcc cttaacagct 3480

caacaaacca aaaattcctt ctcagaaatt eggattcacc cctgagcca ggcctctggc 3540

gggagcagca acatccggca ggaacccgca ccgaaggga ggccagccct ccagctgcca 3600

ggtcagatgg atcctggttg gcatgtgtcc tctgtgacca ggagtgcac agagggcctt 3660

tctactctg aacagctggg tgccaaaagt gggccaaatg ggcacccta taacagaaca 3720

aatcgctcac gaatgcaaa tctgaatgat ttaaagaga cagccttgtc cgctcgagga 3780

gggcccgaa aaaaactcat ctcagaagag gatctgaata gcgccgtcga ccatcatcat 3840

catcatcatt ga 3852

<210> 12

<211> 1283

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 Fusion protein polypeptide

<400> 12

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr

20 25 30

Lys Leu Ala Ala Tyr Ala Arg Lys Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Pro

35 40 45

Val Ala Thr Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val

50 55 60

Pro Ile Leu Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser

65 70 75 80

Val Ser Gly Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu

85 90 95

Lys Phe Ile Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu

100 105 110

Val Thr Thr Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp

115 120 125

His Met Lys Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr
 130 135 140
 Val Gln Glu Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr
 145 150 155 160
 Arg Ala Glu Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu
 165 170 175
 Leu Lys Gly Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys
 180 185 190
 Leu Glu Tyr Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys
 195 200 205
 Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu
 210 215 220
 Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile
 225 230 235 240
 Gly Asp Gly Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln
 245 250 255
 Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu
 260 265 270
 Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu
 275 280 285
 Tyr Lys Ser Gly Leu Arg Ser Arg Ala Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn
 290 295 300
 Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu Gly Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr
 305 310 315 320
 Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His Lys Glu Thr His Glu Ile Val Ala
 325 330 335
 Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu Glu Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr
 340 345 350
 Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu Arg Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile
 355 360 365
 Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg Arg Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val

370 375 380
 Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met Leu Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro
 385 390 395 400
 Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val Lys Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile
 405 410 415
 Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys Asn Asp Ile Val His Arg Asp Ile

 420 425 430
 Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser His Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys
 435 440 445
 Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu Ser Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr
 450 455 460
 Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp Tyr Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu
 465 470 475 480
 Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Met Trp Ser Val Gly Cys Ile

 485 490 495
 Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln Pro Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu
 500 505 510
 Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln Lys Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser
 515 520 525
 Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser Asn Pro Arg Phe His Gly Leu Arg
 530 535 540
 Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln Ser Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly

 545 550 555 560
 Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp Leu Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu
 565 570 575
 Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Glu Gln Cys Leu Asn His Pro Thr
 580 585 590
 Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp Arg Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys
 595 600 605
 Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser Ser Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln

 610 615 620

Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln Ser His His Arg Ser Asn Ser Lys
625 630 635 640
Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly Leu Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu
645 650 655
Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn Gly Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu
660 665 670
Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr Gln Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser
675 680 685
Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn Asn Ile Pro His Leu Leu Ser Pro
690 695 700
Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu Phe Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys
705 710 715 720
Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys Tyr Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser
725 730 735
Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met Glu Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly
740 745 750
Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln Ser Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr
755 760 765
Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro Ser Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser
770 775 780
His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys Ser Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala
785 790 795 800
Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser Thr Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser
805 810 815
Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr Ser Pro Thr Pro Thr Arg His Ser
820 825 830
Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro Ser Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu
835 840 845
Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr Thr Thr Arg His Ser Lys Thr Met
850 855 860
Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His Met Asp Ser Ser His Ser His Ser

865 870 875 880
 Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe Ser Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser
 885 890 895
 Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro His Arg His Ser Met Tyr Val Thr
 900 905 910
 Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly Leu Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly
 915 920 925
 Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn Ser Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln

 930 935 940
 Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu Met Thr Val Ala Arg Ser Ser Val
 945 950 955 960
 Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr Ser Ser Phe His Thr Arg Gln Lys
 965 970 975
 Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp Pro His Ser Asp Asp Gly Thr Ala
 980 985 990
 Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr Asn Asp Pro Val Pro Arg Arg Val

 995 1000 1005
 Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser Pro Arg Pro Asp Asn Ser Phe
 1010 1015 1020
 His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val Ser Ser Leu Pro Ser Glu
 1025 1030 1035
 Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg Gln Pro Ala Phe Asp
 1040 1045 1050
 Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser Glu Gln Leu Lys

 1055 1060 1065
 Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys Lys Lys Lys
 1070 1075 1080
 Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp Leu Leu
 1085 1090 1095
 Thr Leu Gln Lys Ser Ile His Ser Ala Ser Thr Pro Ser Ser Arg
 1100 1105 1110

Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln

1115 1120 1125
 Ser Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser
 1130 1135 1140
 Ala Ser Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu
 1145 1150 1155
 Thr Ala Gln Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His
 1160 1165 1170
 Pro Leu Ser Gln Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu

1175 1180 1185
 Pro Ala Pro Lys Gly Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Gly Gln Met
 1190 1195 1200
 Asp Pro Gly Trp His Val Ser Ser Val Thr Arg Ser Ala Thr Glu
 1205 1210 1215
 Gly Pro Ser Tyr Ser Glu Gln Leu Gly Ala Lys Ser Gly Pro Asn
 1220 1225 1230
 Gly His Pro Tyr Asn Arg Thr Asn Arg Ser Arg Met Pro Asn Leu

1235 1240 1245
 Asn Asp Leu Lys Glu Thr Ala Leu Ser Ala Arg Gly Gly Pro Glu
 1250 1255 1260
 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His
 1265 1270 1275
 His His His His His

1280

<210> 13

<211> 3124

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 fusion protein cDNA

<400> 13

gctagccacc atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg

60

ttccactggt gacgcggccc agccggccag gcgcgcgcgc cgtacgaagc ttgcggccta	120
cgccagaaag gccgccaggc aggccagggc accggtgaag attcctaaca ttggtaatgt	180
gatgaataaa tttagatcc ttggggttgt aggtgaagga gcctatggag ttgtacttaa	240
atgcagacac aaggaaacac atgaaattgt ggcgatcaag aaattcaagg acagtgaaga	300
aaatgaagaa gtcaaagaaa cgactttacg agagcttaaa atgcttcgga ctctcaagca	360
ggaaaacatt gtggagtga aggaagcatt tcgtcggagg ggaaagtgt acttggtgtt	420
tgagtatgtt gaaaaaata tgctcgaatt gctggaagaa atgccaaatg gagttccacc	480
tgagaaagta aaaagctaca tctatcagct aatcaaggct attcactggt gccataagaa	540
tgatatgtc catcgagata taaaaccaga aaatctctta atcagccaca atgatgtcct	600
aaaactgtgt gactttggtt ttgctcgtaa tctgtcagaa ggcaataatg ctaattacac	660
agagtacgtt gccaccagat ggtatcggtc ccagaaactc ttacttggcg ctccctatgg	720
aaagtccgtg gacatgtggt cggtagggctg tattcttggg gagcttagcg atggacagcc	780
tttatttctt ggagaaagtg aaattgacca actttttact attcagaagg tgctaggacc	840
acttccatct gagcagatga agcttttcta cagtaatcct cgcttccatg ggctccggtt	900
tccagctgtt aaccatcctc agtccttggg aagaagatac cttggaattt tgaatagtgt	960
tctacttgac ctaatgaaga atttactgaa gttggacceca gctgacagat acttgacaga	1020
acagtgtttg aatcaccta catttcaaac ccagagactt ctggatcgtt ctccctcaag	1080
gtcagcaaaa agaaaacctt accatgtgga aagcagcaca ttgtctaata gaaaccaagc	1140
cggcaaaagt actgctttgc agtctacca cagatctaac agcaaggaca tccagaacct	1200
gagtgtaggc ctgccccggg ctgacgaagg tctccctgcc aatgaaagct tcctaattgg	1260
aaaccttgct ggagctagtc ttagtccact gcacacaaa acctaccaag caagcagcca	1320
gcctgggtct accagcaaaag atctcaccaa caacaacata ccacaccttc ttagcccaaa	1380
agaagccaag tcaaaaacag agtttgattt taatattgac ccaaagcctt cagaaggccc	1440
agggacaaag tacctcaagt caaacagcag atctcagcag aaccgccact cattcatgga	1500
aagctctcaa agcaaagctg ggacactgca gcccaatgaa aagcagagtc ggcatagcta	1560
tattgacaca attccccagt cctctaggag tcctctctac aggaccaagg ccaaaagcca	1620
tggggcactg agtgactcca agtctgtgag caacctttct gaagccaggg cccaaattgc	1680
ggagcccagt accagtaggt acttccatc tagctgctta gacttgaatt ctcccaccag	1740
cccaaccccc accagacaca gtgacacgag aactttgctc agcccttctg gaagaaataa	1800
ccgaaatgag ggaacgtgg actcacgtcg aaccacaacc agacattcta agacgatgga	1860
ggaattgaag ctgccggagc acatggacag tagccattcc cattcactgt ctgcacctca	1920

cgaatctttt tcttatggac tgggctacac cagccccctt tcttcccagc aacgtcctca 1980
taggcattct atgtatgtga cccgtgacaa agtgagagcc aagggcttgg atggaagctt 2040
gagcataggg caagggatgg cagctagagc caacagcctg caactcttgt caccgccagc 2100
tggagaacag ctccctccag agatgactgt ggcaagatct tcggtcaaag agacctccag 2160

agaaggcacc tcttcttcc atacacgcca gaagtctgag ggtggagtgt atcatgaccc 2220
acactctgat gatggcacag cccccaaga aaatagacac ctatacaatg atcctgtgcc 2280
aaggagagtt ggtagctttt acagagtgcc atctccacgt ccagacaatt ctttccatga 2340
aaataatgtg tcaactagag tttcttctct accatcagag agcagttctg gaaccaacca 2400
ctcaaaaaga caaccagcat tcgatccatg gaaaagtcct gaaaatatta gtcattcaga 2460
gcaactcaag gaaaaagaga agcaaggatt tttcaggtca atgaaaaaga aaaagaagaa 2520
atctcaaaca gtaccaat cgcacagccc tgatcttctg acgttgcaga aatccattca 2580

ttctgctagc actccaagca gcagacaaa ggagtggcgc cccgagaaga tctcagatct 2640
gcagacccaa agccagccat taaaatcact gcgcaagttg ttacatctct cttcggcctc 2700
aatcacccg gcttctcag atccccgtt ccagccctta acagctcaac aaaccaaaaa 2760
ttctttctca gaaattcgga ttcacccct gagccaggcc tctggcgga gcagcaacat 2820
ccggcaggaa cccgcaccga agggcaggcc agccctccag ctgccaggtc agatggatcc 2880
tggttggcat gtgtctctg tgaccaggag tgccacagag ggcccttct actctgaaca 2940
gctgggtgcc aaaagtgggc caaatgggca ccctataac agaacaaatc gctcacgaat 3000

gccaaatctg aatgatttaa aagagacagc cttgtctaga ggatcccggg ctgactacaa 3060
agaccatgac ggigattata aagatcatga catcgactac aaggatgacg atgacaagta 3120
gtga 3124

<210> 14

<211> 1036

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TATk-CDKL5 fusion protein polypeptide

<400> 14

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr

Lys Leu Ala Ala Tyr Ala Arg Lys Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Pro
 35 40 45
 Val Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu
 50 55 60
 Gly Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His
 65 70 75 80
 Lys Glu Thr His Glu Ile Val Ala Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu
 85 90 95
 Glu Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu
 100 105 110
 Arg Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg
 115 120 125
 Arg Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met
 130 135 140
 Leu Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val
 145 150 155 160
 Lys Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys
 165 170 175
 Asn Asp Ile Val His Arg Asp Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser
 180 185 190
 His Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu
 195 200 205
 Ser Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp
 210 215 220
 Tyr Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val
 225 230 235 240
 Asp Met Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln
 245 250 255
 Pro Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln
 260 265 270
 Lys Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser

275 280 285
 Asn Pro Arg Phe His Gly Leu Arg Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln
 290 295 300
 Ser Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp
 305 310 315 320
 Leu Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr
 325 330 335
 Glu Gln Cys Leu Asn His Pro Thr Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp

 340 345 350
 Arg Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser
 355 360 365
 Ser Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln
 370 375 380
 Ser His His Arg Ser Asn Ser Lys Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly
 385 390 395 400
 Leu Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn

 405 410 415
 Gly Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr
 420 425 430
 Gln Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn
 435 440 445
 Asn Ile Pro His Leu Leu Ser Pro Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu
 450 455 460
 Phe Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys

 465 470 475 480
 Tyr Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met
 485 490 495
 Glu Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln
 500 505 510
 Ser Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro
 515 520 525

Ser Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys

530 535 540

Ser Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser

545 550 555 560

Thr Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr

565 570 575

Ser Pro Thr Pro Thr Arg His Ser Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro

580 585 590

Ser Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr

595 600 605

Thr Thr Arg His Ser Lys Thr Met Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His

610 615 620

Met Asp Ser Ser His Ser His Ser Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe

625 630 635 640

Ser Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro

645 650 655

His Arg His Ser Met Tyr Val Thr Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly

660 665 670

Leu Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn

675 680 685

Ser Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu

690 695 700

Met Thr Val Ala Arg Ser Ser Val Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr

705 710 715 720

Ser Ser Phe His Thr Arg Gln Lys Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp

725 730 735

Pro His Ser Asp Asp Gly Thr Ala Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr

740 745 750

Asn Asp Pro Val Pro Arg Arg Val Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser

755 760 765

Pro Arg Pro Asp Asn Ser Phe His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val

770 775 780
 Ser Ser Leu Pro Ser Glu Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg

 785 790 795 800
 Gln Pro Ala Phe Asp Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser
 805 810 815
 Glu Gln Leu Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys
 820 825 830
 Lys Lys Lys Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp
 835 840 845
 Leu Leu Thr Leu Gln Lys Ser Ile His Ser Ala Ser Thr Pro Ser Ser

 850 855 860
 Arg Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln
 865 870 875 880
 Ser Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser Ala
 885 890 895
 Ser Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu Thr Ala
 900 905 910
 Gln Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His Pro Leu Ser

 915 920 925
 Gln Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu Pro Ala Pro Lys
 930 935 940
 Gly Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Gly Gln Met Asp Pro Gly Trp His
 945 950 955 960
 Val Ser Ser Val Thr Arg Ser Ala Thr Glu Gly Pro Ser Tyr Ser Glu
 965 970 975
 Gln Leu Gly Ala Lys Ser Gly Pro Asn Gly His Pro Tyr Asn Arg Thr

 980 985 990
 Asn Arg Ser Arg Met Pro Asn Leu Asn Asp Leu Lys Glu Thr Ala Leu
 995 1000 1005
 Ser Arg Gly Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr
 1010 1015 1020

Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1025

1030

1035

<210> 15

<211> 2877

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDKL5 (107) cDNA

<400> 15

aagattccta acattggtaa tgtgatgaat aaatttgaga tccttggggg ttaggtgaa	60
ggagcctatg gagttgtact taaatgcaga cacaaggaaa cacatgaaat tgtggcgatc	120
aagaaattca aggacagtga agaaaaatgaa gaagtcaaag aaacgacttt acgagagctt	180
aaaatgcttc ggactctcaa gcaggaaaac attgtggagt tgaaggaagc atttcgtcgg	240
aggggaaagt tgtacttggg gtttgagtat gttgaaaaa atatgctcga attgctggaa	300
gaaatgccaa atggagtcc acctgagaaa gtaaaaagct acatctatca gctaatacag	360
gctattcact ggtgccataa gaatgatatt gtccatcgag atataaaacc agaaaatctc	420
ttaatcagcc acaatgatgt cctaaaactg tgtgactttg gttttgctcg taatctgtca	480
gaaggcaata atgctaatta cacagagtac gttgccacca gatggtatcg gtccccagaa	540
ctcttacttg gcgctcccta tggaaagtcc gtggacatgt ggtcgggtggg ctgtattctt	600
ggggagctta gcgatggaca gcctttatct cctggagaaa gtgaaattga ccaacttttt	660
actattcaga aggtgctagg accacttcca tctgagcaga tgaagctttt ctacagtaat	720
cctcgcttcc atgggctccg gtttcagct gttaacatc ctgagtcctt ggaaagaaga	780
taccttgga ttttgaatag tgttctactt gacctaatga agaatttact gaagttggac	840
ccagctgaca gatcttgac agaacagtgt ttgaatcacc ctacatttca aaccagaga	900
cttctggatc gttctccttc aaggtcagca aaaagaaaac cttaccatgt ggaaagcagc	960
acattgtcta atagaaacca agccggcaaa agtactgctt tgcagtctca ccacagatct	1020
aacagcaagg acatccagaa cctgagtgtg ggctgcccc gggctgacga aggtctccct	1080
gccaatgaaa gtttctctaa tggaaacctt gctggagcta gtcttagtcc actgcacacc	1140
aaaacctacc aagcaagcag ccagcctggg tctaccagca aagatctcac caacaacaac	1200
ataccacacc ttcttagccc aaaagaagcc aagtcaaaa cagagtttga ttttaattatt	1260
gacccaaagc cttcagaagg cccagggaca agtacctca agtcaaacag cagatctcag	1320
cagaaccgcc atcattcat ggaaagctct caaagcaaag ctgggacact gcagcccaat	1380

gaaaagcaga gtcggcatag ctatatgtac acaattcccc agtcctctag gagtccctcc 1440
 tacaggacca aggccaaaag ccatggggca ctgagtgtact ccaagtctgt gagcaacctt 1500
 tctgaagcca gggcccaaat tgcggagccc agtaccagta ggtacttccc atctagctgc 1560
 ttagacttga attctccac cagcccaacc cccaccagac acagtgtacac gagaactttg 1620
 ctgagccctt ctggaagaaa taaccgaaat gagggaacgc tggactcacg tcgaaccaca 1680

accagacatt ctaagacgat ggaggaattg aagctgccgg agcacatgga cagtagccat 1740
 tcccattcac tgctgtcacc tcacgaatct ttttcttatg gactgggcta caccagcccc 1800
 ttttcttccc agcaacgtcc tcataggtat tctatgtatg tgaccctga caaagtgaga 1860
 gccaaagggt tggatggaag cttgagcata gggcaaggga tggcagctag agccaacagc 1920
 ctgcaactct tgtcacccca gcctggagaa cagctccctc cagagatgac tgtggcaaga 1980
 tcttcggtca aagagacctc cagagaaggc acctcttctt tccatacacg ccagaagtct 2040
 gaggggtggag tgiatcatga cccacactct gatgatggca cagccccaa agaaaataga 2100

cacctataca atgacctgt gccaaaggaga gttggtagct tttacagagt gccatctcca 2160
 cgtccagaca attctttcca tgaaaaaat gtgtcaacta gattttcttc tetaccatca 2220
 gagagcagtt ctggaaccaa ccactcaaaa agacaaccag cattcgatcc atggaaaagt 2280
 cctgaaaata ttagtcattc agagcaactc aaggaaaaag agaagcaagg atttttcagg 2340
 tcaatgaaaa agaaaaagaa gaaatctcaa acagtaccca attccgacag ccctgatctt 2400
 ctgacgttgc agaaatccat tcatctgtct agcactccaa gcagcagacc aaaggagtgg 2460
 cgccccgaga agatctcaga tctgcagacc caaagccagc cattaaaatc actgcgcaag 2520

ttgttiacac tctcttcggc ctcaaatcac ccggttctct cagatccccg cttccagccc 2580
 ttaacagctc aacaaaccaa aaattccttc tcagaaattc ggattcaccc cctgagccag 2640
 gcctctggcg ggagcagcaa catccggcag gaacccgcac cgaagggcag gccagccctc 2700
 cagctgccag gtcagatgga tcttggttgg catgtgtcct ctgtgaccag gagtgccaca 2760
 gagggccctt cctactctga acagctgggt gccaaaagtg ggccaaatgg gcaccctat 2820
 aacagaacaa atcgctcacg aatgccaaat ctgaatgatt taaaagagac agccttg 2877

<210> 16

<211> 959

<212> PRT

<213> CDKL5 (107) polypeptide

<400> 16

Lys Ile Pro Asn Ile Gly Asn Val Met Asn Lys Phe Glu Ile Leu Gly

1	5	10	15
Val Val Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Lys Cys Arg His Lys			
	20	25	30
Glu Thr His Glu Ile Val Ala Ile Lys Lys Phe Lys Asp Ser Glu Glu			
	35	40	45
Asn Glu Glu Val Lys Glu Thr Thr Leu Arg Glu Leu Lys Met Leu Arg			
	50	55	60
Thr Leu Lys Gln Glu Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Ala Phe Arg Arg			
65	70	75	80
Arg Gly Lys Leu Tyr Leu Val Phe Glu Tyr Val Glu Lys Asn Met Leu			
	85	90	95
Glu Leu Leu Glu Glu Met Pro Asn Gly Val Pro Pro Glu Lys Val Lys			
	100	105	110
Ser Tyr Ile Tyr Gln Leu Ile Lys Ala Ile His Trp Cys His Lys Asn			
	115	120	125
Asp Ile Val His Arg Asp Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Ile Ser His			
	130	135	140
Asn Asp Val Leu Lys Leu Cys Asp Phe Gly Phe Ala Arg Asn Leu Ser			
145	150	155	160
Glu Gly Asn Asn Ala Asn Tyr Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp Tyr			
	165	170	175
Arg Ser Pro Glu Leu Leu Leu Gly Ala Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp			
	180	185	190
Met Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Gly Glu Leu Ser Asp Gly Gln Pro			
	195	200	205
Leu Phe Pro Gly Glu Ser Glu Ile Asp Gln Leu Phe Thr Ile Gln Lys			
	210	215	220
Val Leu Gly Pro Leu Pro Ser Glu Gln Met Lys Leu Phe Tyr Ser Asn			
225	230	235	240
Pro Arg Phe His Gly Leu Arg Phe Pro Ala Val Asn His Pro Gln Ser			
	245	250	255

Leu Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Ser Val Leu Leu Asp Leu
 260 265 270
 Met Lys Asn Leu Leu Lys Leu Asp Pro Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Glu
 275 280 285
 Gln Cys Leu Asn His Pro Thr Phe Gln Thr Gln Arg Leu Leu Asp Arg
 290 295 300
 Ser Pro Ser Arg Ser Ala Lys Arg Lys Pro Tyr His Val Glu Ser Ser
 305 310 315 320

 Thr Leu Ser Asn Arg Asn Gln Ala Gly Lys Ser Thr Ala Leu Gln Ser
 325 330 335
 His His Arg Ser Asn Ser Lys Asp Ile Gln Asn Leu Ser Val Gly Leu
 340 345 350
 Pro Arg Ala Asp Glu Gly Leu Pro Ala Asn Glu Ser Phe Leu Asn Gly
 355 360 365
 Asn Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ser Pro Leu His Thr Lys Thr Tyr Gln
 370 375 380

 Ala Ser Ser Gln Pro Gly Ser Thr Ser Lys Asp Leu Thr Asn Asn Asn
 385 390 395 400
 Ile Pro His Leu Leu Ser Pro Lys Glu Ala Lys Ser Lys Thr Glu Phe
 405 410 415
 Asp Phe Asn Ile Asp Pro Lys Pro Ser Glu Gly Pro Gly Thr Lys Tyr
 420 425 430
 Leu Lys Ser Asn Ser Arg Ser Gln Gln Asn Arg His Ser Phe Met Glu
 435 440 445

 Ser Ser Gln Ser Lys Ala Gly Thr Leu Gln Pro Asn Glu Lys Gln Ser
 450 455 460
 Arg His Ser Tyr Ile Asp Thr Ile Pro Gln Ser Ser Arg Ser Pro Ser
 465 470 475 480
 Tyr Arg Thr Lys Ala Lys Ser His Gly Ala Leu Ser Asp Ser Lys Ser
 485 490 495
 Val Ser Asn Leu Ser Glu Ala Arg Ala Gln Ile Ala Glu Pro Ser Thr

500	505	510
Ser Arg Tyr Phe Pro Ser Ser Cys Leu Asp Leu Asn Ser Pro Thr Ser		
515	520	525
Pro Thr Pro Thr Arg His Ser Asp Thr Arg Thr Leu Leu Ser Pro Ser		
530	535	540
Gly Arg Asn Asn Arg Asn Glu Gly Thr Leu Asp Ser Arg Arg Thr Thr		
545	550	555
Thr Arg His Ser Lys Thr Met Glu Glu Leu Lys Leu Pro Glu His Met		
565	570	575
Asp Ser Ser His Ser His Ser Leu Ser Ala Pro His Glu Ser Phe Ser		
580	585	590
Tyr Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Pro Phe Ser Ser Gln Gln Arg Pro His		
595	600	605
Arg His Ser Met Tyr Val Thr Arg Asp Lys Val Arg Ala Lys Gly Leu		
610	615	620
Asp Gly Ser Leu Ser Ile Gly Gln Gly Met Ala Ala Arg Ala Asn Ser		
625	630	635
Leu Gln Leu Leu Ser Pro Gln Pro Gly Glu Gln Leu Pro Pro Glu Met		
645	650	655
Thr Val Ala Arg Ser Ser Val Lys Glu Thr Ser Arg Glu Gly Thr Ser		
660	665	670
Ser Phe His Thr Arg Gln Lys Ser Glu Gly Gly Val Tyr His Asp Pro		
675	680	685
His Ser Asp Asp Gly Thr Ala Pro Lys Glu Asn Arg His Leu Tyr Asn		
690	695	700
Asp Pro Val Pro Arg Arg Val Gly Ser Phe Tyr Arg Val Pro Ser Pro		
705	710	715
Arg Pro Asp Asn Ser Phe His Glu Asn Asn Val Ser Thr Arg Val Ser		
725	730	735
Ser Leu Pro Ser Glu Ser Ser Ser Gly Thr Asn His Ser Lys Arg Gln		
740	745	750

Pro Ala Phe Asp Pro Trp Lys Ser Pro Glu Asn Ile Ser His Ser Glu
755 760 765

Gln Leu Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gly Phe Phe Arg Ser Met Lys Lys
770 775 780

Lys Lys Lys Lys Ser Gln Thr Val Pro Asn Ser Asp Ser Pro Asp Leu
785 790 795 800

Leu Thr Leu Gln Lys Ser Ile His Ser Ala Ser Thr Pro Ser Ser Arg
805 810 815

Pro Lys Glu Trp Arg Pro Glu Lys Ile Ser Asp Leu Gln Thr Gln Ser
820 825 830

Gln Pro Leu Lys Ser Leu Arg Lys Leu Leu His Leu Ser Ser Ala Ser
835 840 845

Asn His Pro Ala Ser Ser Asp Pro Arg Phe Gln Pro Leu Thr Ala Gln
850 855 860

Gln Thr Lys Asn Ser Phe Ser Glu Ile Arg Ile His Pro Leu Ser Gln
865 870 875 880

Ala Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Arg Gln Glu Pro Ala Pro Lys Gly
885 890 895

Arg Pro Ala Leu Gln Leu Pro Gly Gln Met Asp Pro Gly Trp His Val
900 905 910

Ser Ser Val Thr Arg Ser Ala Thr Glu Gly Pro Ser Tyr Ser Glu Gln
915 920 925

Leu Gly Ala Lys Ser Gly Pro Asn Gly His Pro Tyr Asn Arg Thr Asn
930 935 940

Arg Ser Arg Met Pro Asn Leu Asn Asp Leu Lys Glu Thr Ala Leu
945 950 955