(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0048435
(43) 공개일자 2021년05월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
G01N 2333/90 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0138521
(22) 출원일자 2020년10월23일
심사청구일자 2020년11월18일
(30) 우선권주장
1020190132455 2019년10월23일 대한민국(KR)

(71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
서울대학교병원
서울특별시 종로구 대학로 101(연건동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
김종재
서울특별시 강동구 천호옛길 30, 1006호(성내동, 성내동 파라디아 아파트)
김경곤
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 113동 3401호(신천동, 파크리오)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

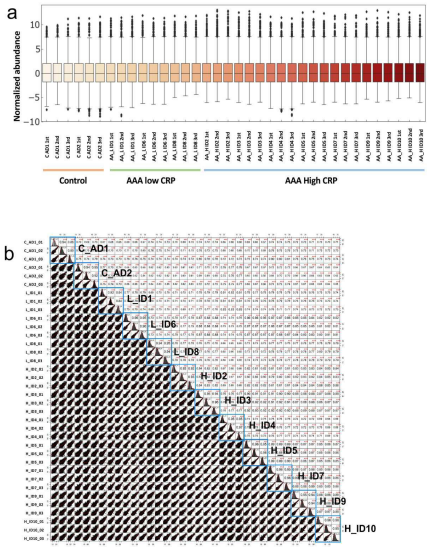
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **대동맥류의 바이오마커 및 이의 용도**

(57) 요 약

대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다. 일 실시예에 따른 조성물, 키트 및 방법에 의하면, 혈액 샘플을 이용하여 대동맥류를 높은 정확도로 조기 진단이 가능하므로, 대동맥류 진단 분야의 핵심 기술로 응용될 수 있다.

대 표 도 - 도13



(52) CPC특허분류
G01N 2333/99 (2013.01)
G01N 2800/329 (2013.01)
(72) 발명자
유지영
경기도 하남시 미사강변서로 65, 3305동 1905호(풍산동, 미사강변제일풍경채)
김은나
서울특별시 서초구 강남대로61길 23, 503호(서초동, 현대성우주상복합아파트)
김소라
서울특별시 강남구 자곡로 260, 422동 306호(자곡동, 강남한양수자인아파트)
정황교
경기도 용인시 처인구 모현읍 능곡로 10, 301호(유성빌딩)
오세진
서울특별시 서초구 강남대로61길 23, 503호(서초동, 현대성우주상복합아파트)

명 세 서

청구범위

청구항 1

글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유전자는 CRP 침착과 관련된 인자인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소가 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 14-3-3 단백질 시그마가 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1이 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 인볼루크린이 상기 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2가 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 세르핀 B5가 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2가 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3이 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 콜라겐 알파-6(IV) 쇄가 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자가 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 또는 상기 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ가 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 대동맥류는 복부 대동맥류인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 5

글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 검출할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소가 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기

14-3-3 단백질 시그마가 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1이 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 인볼루크린이 상기 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2가 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 세르핀 B5가 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2가 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3이 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 콜라겐 알파-6(IV) 쇄가 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자가 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 또는 상기 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ가 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 올리고펩타이드, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 키메릭(chimeric) 항체, 이들의 단편, 리간드, PNA(Peptide nucleic acid) 또는 앱타머(aptamer)인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 제제는 상기 유전자 또는 이의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브, 또는 안티센스 뉴클레오타이드인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 키트.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 키트는 키트는 RT-PCR 키트, 마이크로어레이 칩 키트, DNA 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트 또는 래피드(rapid) 키트인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 키트.

청구항 11

개체로부터 채취된 생물학적 시료에서 제1항의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계;

상기 바이오마커의 발현 수준을 정상 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계; 및

상기 바이오마커의 발현 수준이 정상 대조군 대비 높은 경우, 개체가 대동맥류를 갖는 것으로 판단하는 단계;를 포함하는, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 개체가 대동맥류를 갖는 것으로 판단된 경우, 상기 개체의 대동맥 벽 내에 동맥 죽종(atheroma)이 존재하는 것으로 예측하는,

대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 바이오마커의 발현 수준이 정상 대조군 대비 높은 경우, 개체가 대동맥류를 가지며 대동맥 박리를 갖지 않는 것으로 판단하는, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 림프액, 조직, 세포 추출물 또는 소변인, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 15

대동맥류를 갖는 개체부터 채취한 시료에서 제1항의 바이오마커 발현 수준을 측정하는 단계;

상기 시료에 후보물질을 처리하고 제1항의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

상기 시료의 제1항의 바이오마커 발현 수준이 후보물질 처리 전보다 감소한 경우 상기 후보물질을 대동맥류 예방 또는 치료용 물질로 선별하는 단계를 포함하는,

대동맥류 치료제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 대동맥류의 진단 또는 예후 예측을 위한 바이오마커 조성물, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물, 키트 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 동맥류는 동맥벽의 약해진 부분이 부풀어 오르는 병태로, 동맥이 내막·중막·외막의 3층 구조를 유지한 채로 확대되는 진성 동맥류와, 동맥벽의 중막이 찢어져 동맥 해리를 초래한 후에 확대되는 해리성 동맥류가 알려져 있다. 대동맥에 발생하는 동맥류인 대동맥류는 영구적인 대동맥 벽 직경의 증가가 계속 진행된다는 점을 특징으로 하는데 매년 전세계적으로 150,000 내지 200,000건의 사망사례와 관련되어 있다.

[0003] 대동맥류는 동맥경화나 고혈압에 의한 혈관 벽의 장해가 원인이 되어서 발생한다고 오랫동안 생각되어 왔으나, 최근 연구에 따르면 혈관벽, 특히 중막, 외막에 발생하는 염증, 산화 스트레스 등도 그 요인으로 간주되고 있다. 그러나, 여전히 대동맥 혈관벽이 변성되는 분자 메커니즘은 제대로 규명되지 않았으며, 대동맥 혈관벽이 변성되는 것을 예방하거나 억제할 수 있는 효과적인 약물도 없는 실정이다.

[0004] 한편, 혈청 C-반응성 단백(CRP) 수치는 심혈관 질환의 예후 인자로 광범위하게 사용된다. 대동맥류에서도 혈청 CRP 수치는 독립적인 위험인자, 예측 인자 및 예후 인자로 간주된다. CRP는 다양한 세포손상에 반응하여 간에서 급속도로 생산된 뒤 혈액으로 분비되는 급성기 단백질이다. CRP는 구조에 따라 상이한 기능을 갖는데, CRP는 혈청 중에 오량체 형태(pCRP)로서 존재하면서 항염효과를 갖는다. 손상된 조직에 접촉한 pCRP는 단량체 형태(mCRP)로 해리되어 손상된 세포막에 침착하게 되는데, mCRP는 단핵구에 의한 염증 반응 및 반응성 산소 종을 유도함으로써 세포 손상을 악화시킨다. CRP의 구조적 변화는 도 1에 도시되어 있다.

[0005] mCRP의 침착은 관상동맥 죽상경화증 및 변성된 대동맥 판(aortic valve)을 포함한 몇몇 심혈관 질환에서 보고되었다. mCRP가 조직 손상을 악화시킨다는 점에서, mCRP의 침착은 심혈관 질환에서의 나쁜 예후와 관련되는 것으로 알려져 있다. 그러나 mCRP가 변성된 대동맥에 특이적으로 침착되는지 여부는 확인된 바 없다. 따라서, 대동맥류를 진단하거나 대동맥류를 갖는 환자에서의 예후 판단에 사용할 수 있는 유용한 바이오마커가 필요한 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) (비특허 문헌 1) Sampson, U. K. et al. Global and regional burden of aortic dissection and aneurysms: mortality trends in 21 world regions, 1990 to 2010. Glob Heart 9, 171-180 e110, doi:10.1016/j.gheart.2013.12.010 (2014).

(비특허문헌 0002) Kokje, V. B., Hamming, J. F. & Lindeman, J. H. Editor's Choice - Pharmaceutical Management of Small Abdominal Aortic Aneurysms: A Systematic Review of the Clinical Evidence. Eur J Vasc Endovasc Surg 50, 702-713, doi:10.1016/j.ejvs.2015.08.010 (2015).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명자들은 대동맥류 환자의 대동맥벽의 손상부위에서는 CRP가 강하게 침착되나, 대동맥 박리(aortic dissection) 환자의 대동맥벽 손상부위에서는 CRP의 침착이 나타나지 않으며(도 2 참조), 혈청 CRP 수치가 대동맥류를 갖는 환자의 대동맥 혈관 직경과 비례한다는 점을 발견하였다(도 3 참조). 상기 발견에 기초하여 CRP 침착이 복부 대동맥류를 어떻게 악화시키는지에 대한 분자생물학적 기전을 규명하기 위하여 대동맥 조직을 이용하여 프로테옴 연구를 시행하였고, 이에 따라 대동맥류 진단 및 예후 예측에 사용될 수 있는 바이오마커를 개발하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 일 측면은 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 대동맥류 진단 및 추적을 위한 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명의 다른 측면은 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 검출할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0010] 본 발명의 또 다른 측면은 개체로부터 채취된 시료에서 상기 바이오마커의 발현 수준을 측정하고, 상기 발현 수준을 정상 대조군과 비교하는 단계를 포함하는, 대동맥류 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따른 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물에 유효성분으로 포함되는 단백질 또는 유전자는 대동맥류가 악화될수록 특이적으로 발현량이 증가하는 것으로, 대동맥류의 예후를 예측하거나 진단할 수 있는 새로운 도구로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 CRP의 구조적 변화를 나타낸 것이다.

도 2는 대동맥류에서 CRP의 침착을 나타낸 것이다.

도 3은 대동맥류 환자에서 혈청 CRP 수준 및 대동맥 환자의 대동맥 벽 직경을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 대동맥 검체 시료의 정보를 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 시료의 준비 과정을 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 서열 데이터베이스 검색 과정을 나타낸 것이다.

도 7은 복부 대동맥류 및 상행 대동맥 박리의 대동맥에서 관찰되는 조직병리학적 양상을 나타낸 것이다. (a) 내지 (c)는 복부 대동맥류에 관한 것이며, (d) 내지 (f)는 상행 대동맥 박리에 관한 것이다. (a)는 죽종(별표)과 접촉한 대동맥 벽 중막(화살표 머리 사이)의 박막화를 나타내었다(Masson trichrome staining 염색, x12.5). (b) 박막화된 대동맥 벽의 두께는 150 μm였다. 죽종(화살표 머리)은 대동맥벽과 접하고 있다(H&E, x100) (c) 내부 탄력판(화살표)이 감소하고 있음을 보여주는 것으로, (b)의 사각형 부분을 확대한 것이다(탄성 염색 x400). (d) 대동맥벽 두께는 유지되었으나 중막 박리가 존재한다(Masson trichrome staining 염색, x12.5). (e) 절개된 대동맥 벽에서, 죽종 및 대동맥벽의 박막화가 관찰되지 않았다(H&E, x40). (f) 탄력판의 손실에 따른 중막 박리가 있다(화살표)((e)의 사각형 부분을 확대함, 탄성 염색 x400).

도 8은 복부 대동맥류 및 상행 대동맥 박리의 대동맥에서 관찰되는 mCRP에 대한 면역양성을 나타낸 것이다. (a) 내지 (d)는 복부 대동맥류에서의 mCRP 면역 양성이 플라크와 손상된 동맥 중막사이의 연접부에 위치함을 보여주며, (e) 내지 (h)는 상행 대동맥 박리가 mCRP에 대하여 면역음성임을 나타낸다.

도 9는 복부 대동맥류의 CRP 및 mCRP 면역양성 패턴을 나타내는 대표적인 현미경 사진을 나타낸 것이다((a)는 항-CRP 항체이고, (b)는 항-mCRP 항체임, 12.5배).

도 10은 복부대동맥류의 죽상동맥경화증의 CRP 면역양성 점수를 나타낸 것이다. 0 내지 3의 정량적 점수는 각 죽종에서의 면역염색 강도에 적용된다(음성 [0], 약함 [1+], 중간 [2+], 강함 [3+]). ((a)는 항-CRP 항체이고, (b)는 항-mCRP 항체임, 40배).

도 11은 죽상동맥경화증을 갖는 복부대동맥류 환자의 사례에서 혈청 CRP 수치((a) ≤0.1 mg/dL; (b) >0.1 mg/dL)에 따른 CRP 및 mCRP 면역염색을 나타낸 것이다.

도 12는 죽상동맥경화증을 갖는 복부대동맥류 환자의 사례에서 확인되는 CD68-양성 대식세포와 함께 MCP-1, C3a, 및 C5a 에 대한 강한 면역양성을 나타낸 것이다.

도 13은 시료별 피어슨 연관도 분석결과를 나타낸 것이다. 도 13(a)는 각 시료에서의 log2 단백질 강도 평균의 박스 플롯을 나타낸 것으로, 삼중체 시료의 풍부함은 우수한 품질과 함께 일관되고 생산가능한 결과를 보여주고 있다. 도 13(b)는 삼중체 MS 분석과 피어슨 연관도로서 높은 연관도를 보여준다(R: 0.93). 도 13에서 행 및 열은 각각 시료를 나타내며, 각각의 사각형은 삼중체 시료 사이의 연관도 계수를 나타낸다(삼중체 시료간의 $P<0.001$).

도 14는 본 발명의 일시예에 따라 상행 대동맥 박리 환자 군보다 복부 대동맥류-고 CRP 환자군 및 복부 대동맥류 저 CRP군에서 더 풍부한 187개 단백질에 대한 프로테옴 분석 결과를 나타낸 것이다. 도 14(a)는 MS 분석을 통해 수득한 단백질 정보를 이용한 각 군의 상관도 분석결과를 힛맵으로 나타낸 것이다. 도 14(b)는 2차원 주성분분석 결과를 나타낸 것이다. 도 14(c)는 상기 세 개 군에서 다르게 발현된 단백질에 관한 벤다이어그램이다. 도 14(d)는 상기 세 개 군에서 서로 다르게 발현된 1127개의 단백질에 관한 계층적 군집화(Hierarchical clustering) 결과를 나타낸 것이다. 행은 단백질을 나타내며, 열은 상이한 단백질을 의미한다. 적색 및 청색의 어두운 영역은 각각 대조군 대비 증가된 발현 및 감소된 발현을 의미한다. 도 14(e)는 상기 세 개 군에서 유의미하게 다르게 발현된 단백질의 볼케이노 플랏으로서, 각 점은 단백질을 의미하며, 적색은 q 값이 0.05 미만이고, ±2배를 초과하는 fold 변화를 갖고, FDR이 0.01 이하인, 유의미하게 풍부한 단백질을 나타낸다.

도 15는 본 발명의 일시예에 따라 상행 대동맥 박리 환자 군보다 복부 대동맥류-고 CRP 환자군 및 복부 대동맥류 저 CRP군에서 더 풍부한 187개 단백질에 대한 유전자 온톨로지 및 규범적 신호 경로 분석 결과를 나타낸 것이다. 도 15(a)는 상위 5개 서브 카테고리에 속하는 유전자 온톨로지 분석 결과를 나타낸 것이다. 도 15(b)는 상위 규범적 신호 경로에 관한 것으로서, 바는 유전자 풍부(gene enrichment)에 의하여 나타낸 규범적 신호 경로이며, 오렌지 컬러의 선은 특정 경로의 풍부화에 대한 P 값의 임계값을 의미하며, 수직 축은 -log(p-value)이고, 수평 축은 주어진 경로를 나타낸다.

도 16은 신호 경로의 규범적 경로 분석 결과를 나타낸 것이다. 적색 및 녹색은 각각 증가된 분자 및 감소된 분자를 나타낸다. 도 16(A) 내지 도 16(G)는 복부 대동맥류 고-CRP 군에서 풍부하게 발현되고 다른 군과 다르게 발현된 단백질들에 대한 IPA 생물학적 기능 분석 결과를 나타낸다. 오렌지 색 및 청색은 각각 분자 또는 생물학

적 기능을 활성화 또는 억제하는 것을 나타낸다. 도 16(H)는 어노테이션 풍부화 분석결과를 나타내며, 복부 대동맥류 저-CRP 군보다 복부 대동맥류 고-CRP 군에서 유의미하게 풍부한 네트워크는 "세포 제거(engulfment of cells", "백혈구의 상호작용(the interaction of leukocytes)" 및 "대식세포의 이동(migration of phagocytes)"을 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다.

[0014] 본 발명은 일 측면으로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 유효성분으로 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0015] 본 명세서에서 사용한 용어 "대동맥류(aortic aneurysm)"는 대동맥의 직경이 정상 대동맥 직경보다 늘어난 경우를 말한다.

[0016] 본 명세서에서 사용한 용어 "바이오마커"는 특정 생리학적 상태 또는 진행의 존재와 관련된 해부, 생리, 생화학 또는 분자학적 파라미터를 말한다. 바이오마커는 실험실 검정법 및 의료용 영상을 포함하는 다양한 방법에 의하여 검출 가능하고 측정 가능하다. 바이오마커가 개체에서의 비정상적인 진행 또는 질병 또는 다른 상태의 표지이거나 그것을 나타내는 경우, 그 바이오마커는 일반적으로 개체에서의 정상적인 진행 또는 질병 또는 다른 상태의 부재의 표지이거나 그것을 나타내는 바이오마커의 발현 레벨 또는 값과 비교하여 과발현(over-expressed) 또는 발현 감소(under expressed) 중 하나로서 설명된다.

[0017] 본 명세서에서 사용한 용어 "진단"은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 개체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 개체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 개체의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 개체의 상태를 모니터링 하는 것)을 포함한다.

[0018] 본 명세서에서 사용한 용어 "예후"는 대상체에서 질병의 경과 또는 결과를 예측하는 것으로, 예를 들어, 특정한 경과 또는 결과가 발생할 증가된 확률을 말한다.

[0019] 상기 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소가 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 14-3-3 단백질 시그마가 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1이 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 인볼루크린이 상기 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2가 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 세르핀 B5가 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2가 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3이 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 콜라겐 알파-6(IV) 쇄가 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 상기 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자가 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이거나, 또는 상기 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ가 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다.

[0020] 본 발명의 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소의 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소의 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0021] 본 발명의 14-3-3 단백질 시그마의 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 14-3-3 단백질 시그마의 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0022] 본 발명의 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1의 단백질은 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1의 단백질은 서열번호 3의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0023] 본 발명의 인볼루크린의 단백질은 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 인볼루크린의 단백질은 서열번호 4의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0024] 본 발명의 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2의 단백질은 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2의 단백질은 서열번호 5의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0025] 본 발명의 세르핀 B5의 단백질은 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 세르핀 B5의 단백질은 서열번호 6의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0026] 본 발명의 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2의 단백질은 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2의 단백질은 서열번호 7의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0027] 본 발명의 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3의 단백질은 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3의 단백질은 서열번호 8의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0028] 본 발명의 콜라겐 알파-6(IV) 쇄의 단백질은 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 콜라겐 알파-6(IV) 쇄의 단백질은 서열번호 9의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0029] 본 발명의 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자의 단백질은 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자의 단백질은 서열번호 10의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0030] 본 발명의 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ의 단백질은 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 상기 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ의 단백질은 서열번호 11의 아미노산 서열과 약 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가질 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명에 따른 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물은 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ로 이루어진 군에서 선택되는 한 개의 단백질, 두 개의 단백질, 세 개의 단백질, 네 개의 단백질, 다섯 개의 단백질, 여섯 개의 단백질, 일곱 개의 단백질, 여덟 개의 단백질, 아홉 개의 단백질, 열 개의 단백질 또는 열한 개의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0032] 구체적으로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 인볼루크린(Involucrin) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 세르핀 B5(Serpin B5) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일

수 있다. 또한, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 또는 이를 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다.

[0033] 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소 및 14-3-3 단백질 시그마 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마 및 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 추가로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1 및 인볼루크린 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린 및 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 추가로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2 및 세르핀 B5 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5 및 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 추가로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2 및 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3 및 콜라겐 알파-6(IV) 쇄 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 추가로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄 및 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다. 또한, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 또는 이들을 코딩하는 유전자가 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커일 수 있다.

[0034] 본 발명의 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물에 포함되는 11개의 단백질 및/또는 이를 코딩하는 유전자를 활용하는 경우, 다른 단백질 및/또는 유전자의 조합보다 더 효과적으로 대동맥류를 진단하거나 대동맥류의 예후를 예측할 수 있다.

[0035] 일 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포외 영역(extracellular region) 및 세포외 공간(extracellular space)과 관련되는 것으로 알려져 있는 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자, 세르핀 B5 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다. 또한, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포부착(cell adhesion)과 관련된 것으로 알려져 있는 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0036] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 소포체와 관련되는 것으로 알려져 있는 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다. 또한, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포외 엑소좀(extracellular exosome)과 관련되는 것으로 알려져 있는 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다. 한편, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 센트로좀(centrosome)과 관련되는 것으로 알려져 있는 인볼루크린 및 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0037] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 단백질 결합(protein binding)에

관련되는 것으로 알려져 있는 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 세르핀 B5 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다. 또는 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 동일 단백질 결합(identical protein binding)에 관여하는 것으로 알려진 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0038] 한편, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 막(membrane)과 관련되는 것으로 알려져 있는 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2 및 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다. 또는 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포막(plasma membrane)과 관련되는 것으로 알려져 있는 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 및 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0039] 일 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 핵산 결합, 핵체(nuclear body) 또는 핵질(nucleoplasm)과 관련되는 것으로 알려져 있는 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, 인볼루크린, 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0040] 한편, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 신호 전달과 관련되는 것으로 알려져 있는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0041] 또는, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포분열과 관련되는 것으로 알려져 있는 Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0042] 다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포질(cytoplasm)과 관련되는 것으로 알려져 있는 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 세르핀 B5 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0043] 또다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 세포질(cytosol)과 관련된 것으로 알려져 있는 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0044] 일 구체예에서, 상기 바이오마커는 유전자 온톨로지 분석에서 각질형성세포(keratinocyte)와 관련된 것으로 알려져 있는 인볼루크린 및 14-3-3 단백질 시그마인 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자일 수 있다.

[0045] 일 구체예에서, 본원 바이오마커 조성물의 유전자 또는 단백질은 간 X 수용체/레티노이드 X 수용체(Liver X Receptor/Retinoid X receptor (LXR/RXR)) 활성, 응고계, 급성기 반응 신호, 외인성 및 내인성 프로트롬빈 활성 경로, 죽상동맥경화증 신호 및 보체계를 포함하는 다중 규범적 신호 경로에 관여할 수 있다.

[0046] 또한, 상기 단백질 또는 유전자를 이용하여 복부 대동맥류의 진단 또는 예후를 예측할 수 있다.

[0047] 본 발명은 다른 측면으로, 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 검출할 수 있는 제제를 포함하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공한다.

[0048] 상기 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물에 포함되는 제제를 통하여 확인하는 단백질 및 유전자에 관한 내용은 상기 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물에서 설명한 내용을 참조한다.

[0049] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 제제는, 예를 들어 상기 유전자, 이로부터 유래되는 mRNA, 또는 상기 유전자

로부터 코딩되는 단백질의 발현을 검출할 수 있는 제제일수 있다.

[0050] 상기 유전자 또는 mRNA 발현을 검출할 수 있는 제제는 상기 유전자 또는 mRNA에 상보적으로 결합하는 프라이머(예를 들어, 센스 및 안티센스 프라이머), 프로브 또는 안티센스 뉴클레오타이드일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0051] 또한, 상기 단백질을 검출할 수 있는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고펩타이드, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 키메릭(chimeric) 항체, 이들 항체의 단편(scFv), 리간드, PNA(Peptide nucleic acid) 또는 앱타머 (aptamer)일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0052] 본 발명에 따른 대동맥류 진단 또는 예후 예측의 유의성을 확인하기 위하여, 다양한 통계처리 방법이 사용될 수 있다. 통계적 처리 방법으로 예를 들어, 로지스틱 회귀분석 방법이 사용될 수 있다. 또한, 통계처리를 통해 대동맥류로 진단하기 위해 시험군과 대조군 간의 유의한 차이에 관한 신뢰수준을 결정할 수 있다. 통계 처리에 사용되는 데이터는 각 바이오마커에 대하여 이중, 삼중 또는 다중으로 분석된 값이다. 이러한 통계적 분석 방법은 바이오마커는 물론, 임상 및 유전적 데이터의 통계적 처리를 통하여 임상적으로 유의한 판단을 하는데 매우 유용하다.

[0053] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 조성물을 포함하는 대동맥류 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다. 구체적으로, 상기 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 상기 조성물, 용액 또는 장치로 구성된다.

[0054] 예를 들어, 상기 키트는 RT-PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction) 키트, 마이크로어레이 칩 키트, DNA 키트, ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트, 단백질 칩 키트 또는 래피드(rapid) 키트일 수 있다.

[0055] 본 발명의 또 다른 측면은, 개체로부터 채취된 생물학적 시료에서 상기 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 바이오마커의 발현 수준을 정상 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계; 및 상기 바이오마커의 발현 수준이 정상 대조군 대비 높은 경우, 개체가 대동맥류를 갖는 것으로 판단하는 단계;를 포함하는, 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다. 구체적으로, 상기 바이오마커는 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소(Glutamine-dependent NAD(+) synthetase), 14-3-3 단백질 시그마(14-3-3 protein sigma), 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1(Glucosamine-6-phosphate isomerase 1), 인볼루크린(Involucrin), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2(Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2), 세르핀 B5(Serpin B5), 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2(Ras GTPase-activating protein-binding protein 2), Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3(Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3), 콜라겐 알파-6(IV) 쇄(Collagen alpha-6(IV) chain), 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자(Urokinase-type plasminogen activator) 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자에서 선택되는 어느 하나 일 수 있다.

[0056] 상기 방법에서 확인되는 바이오마커 단백질 및 유전자에 관한 내용은 상기 대동맥류의 진단 또는 예후 예측용 조성물에서 설명한 내용을 참조한다.

[0057] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체"는 대동맥류의 발병 여부 또는 진행 가능성을 확인하거나 발병 위험도를 예측하고자 하는 개체를 말한다. 상기 개체는 대동맥류가 발병할 수 있는 동물이라면 그 종류를 한정하지 않으나, 구체적으로 포유동물일 수 있고, 예를 들어 인간(Homo sapiens)일 수 있다.

[0058] 본 명세서에서 사용된 용어, "생물학적 시료" 또는 "시료"란 개체로부터 수득한 임의의 생물학적 표본으로서, 대동맥류의 발병 또는 예후를 확인하고자 하는 개체로부터 분리된 혈액, 혈장, 혈청, 림프액, 타액, 조직, 세포 추출물 또는 소변과 같은 시료 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0059] 상기 발현 수준을 측정하는 방법으로는, 흡광도측정법, 웨스턴블랏팅, 자석비드-항체면역침강법, ELISA, 질량분석기, 방사선 면역분석법, 면역침전법 등이 사용될 수 있다.

[0060] 상기 방법은 측정된 발현 수준을 정상 대조군 시료의 수준과 비교하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 시료에서의 발현 수준이 정상 대조군 시료의 수준보다 높으면, 상기 개체는 대동맥류가 발병하거나 진행될 가능성 이 높은 것으로 판단할 수 있다. 상기 발현 수준의 변화는 개체의 발현 수준이 정상 대조군 또는 음성 대조군에 비하여 유사한 수준 또는 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% 및 1000% 이상 증가하는 것을 포함할 수 있다.

[0061] 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린,

펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ단백질 군으로부터 선택되는 어느 하나의 단백질이 생물학적 시료에 존재하는 것으로 확인되는 경우, 환자가 대동맥류를 가질 확률이 높다고 판단할 수 있다. 구체적으로, 상기 단백질이 하나 이상 존재하면 대동맥류가 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가할 수 있다.

[0062] 추가로, 개체의 생물학적 시료에서 유래된 DNA 추출물에 NAdsyn1, Sfn, Gnpda1, Ivl, Fkbp2, Serpinb5, G3bp2, Rab11fip3, Col4a6, Plau 및 Mpz로 이루어진 유전자 군에서 선택되는 어느 하나의 유전자가 존재하는 것으로 확인되는 경우, 환자가 대동맥류를 가질 확률이 높다고 판단할 수 있다. 구체적으로, 상기 유전자가 하나 이상 존재하면 대동맥류가 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가할 수 있다.

[0063] 나아가, 본 발명은 생물학적 시료를 제공한 개체가 대동맥류를 갖는 것으로 판단된 경우, 상기 개체의 대동맥벽 내에 동맥 죽종(atheroma)이 존재하는 것으로 예측하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0064] 또한, 개체에서의 상기 단백질 또는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군 대비 높은 경우, 개체가 대동맥류를 가지며 대동맥 박리를 갖지 않는 것으로 판단하는 대동맥류의 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0065] 또한, 생물학적 시료에 상기 단백질 또는 유전자가 존재하는 것으로 확인되면, 대동맥류의 진행을 감소시키기 위하여, 환자에서 상기 유전자의 발현을 억제하거나 단백질의 기능을 방해하기 위한 처치를 할 필요가 있다고 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 방법을 통하여 대동맥류 치료제를 투여할 필요성에 대한 동반진단 (companion diagnostics) 관련 정보를 제공할 수 있다.

[0066] 본 명세서에서 사용된 용어 "동반진단"이란, 특정 치료 약물을 특정 환자에 적용하기 위한 가능성을 확인하기 위한 진단 테스트 중 하나를 의미하는 것으로, 본 발명에서는 상기 NAdsyn1, Sfn, Gnpda1, Ivl, Fkbp2, Serpinb5, G3bp2, Rab11fip3, Col4a6, Plau, Mpz 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 유전자의 존재 여부를 검출할 수 있는 제제 또는 이로 수행되는 실험을 통해 대동맥류 치료 대상을 식별하거나 모니터링 하는 것을 의미한다.

[0067] 상기 유전자의 서열을 분석하는 단계는 차세대 유전체 시퀀싱 분석법(Next Generation Sequencing, NGS)을 이용할 수 있다. 예를 들어, 차세대 유전체 시퀀싱 분석법을 활용하여, 전유전체 염기서열분석(Whole Genome Sequencing), 전엑솜 염기서열분석(Whole Exome Sequencing), 알엔에이 염기서열분석(RNA Sequencing) 등의 데이터 처리를 통해 생성된 정보를 분석할 수 있다.

[0068] 본 발명의 또 다른 측면은 NAdsyn1, Sfn, Gnpda1, Ivl, Fkbp2, Serpinb5, G3bp2, Rab11fip3, Col4a6, Plau, Mpz 및 이의 조합으로 이루어진 군으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 유전자가 존재하는 세포주 또는 동물 모델에 대동맥류의 예방 또는 치료를 위한 후보 물질을 시험하는 것을 대동맥류의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법을 제공한다. 구체적으로, 상기 NAdsyn1, Sfn, Gnpda1, Ivl, Fkbp2, Serpinb5, G3bp2, Rab11fip3, Col4a6, Plau, Mpz 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0069] 구체적으로, 대동맥류를 갖는 개체부터 채취한 시료에서 글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소, 14-3-3 단백질 시그마, 글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1, 인볼루크린, 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2, 세르핀 B5, 라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2, Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3, 콜라겐 알파-6(IV) 쇄, 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자 및 미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ단백질 군으로부터 선택되는 어느 하나의 단백질 및/또는 NAdsyn1, Sfn, Gnpda1, Ivl, Fkbp2, Serpinb5, G3bp2, Rab11fip3, Col4a6, Plau 및 Mpz로 이루어진 유전자 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 시료에 후보물질을 처리하고 상기 단백질 및/또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 상기 시료의 단백질 및/또는 유전자의 발현 수준이 후보물질 처리 전보다 감소한 경우 상기 후보물질을 대동맥류 예방 또는 치료용 물질로 선별하는 단계를 포함하는 대동맥류 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0070] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[0071] **실시예 1. 대동맥류 바이오마커 탐색 시험 방법**

[0072] **실시예 1.1. 환자군 및 시료 수집**

[0073] 우리는 2012년 1월부터 2018년 12월의 기간 동안 서울아산병원 및 서울대학교병원운영 서울특별시 보라매병원에서 대동맥 수술을 받은 복부 대동맥류 및 상행 대동맥 박리의 사례를 수집하였다. 대조군으로서 정상 대동맥을 갖는 건강한 개체가 아니라 상행 대동맥 박리를 갖는 환자를 사용하였다. 대조군으로서 심장 이식으로부터 수득된 대동맥 시료를 사용할 수도 있으나 기저 심혈관 질환으로 인하여 다른 종류의 교란변수가 발생할 수 있으므로, 본원 발명자들은 죽상동맥경화증과 동반되기보다는 고혈압과 동반되는 것으로 알려져 있는 상행 대동맥 박리 환자를 대조군으로 사용하였다.

[0074] 복부 대동맥류 및 상행 대동맥 박리 사례의 사이에서, 마르팡 증후군, 로이-디에츠 증후군, 엘러스-단로스 증후군, 터너 증후군 및 이엽성 대동맥판과 같은 결합 조직 질환 또는 유전성 대동맥증이 제외되었다. 또한, 전신성 원인으로 인한 혈청 CRP 증가와 관련된 사례를 제외하기 위하여 급성 전신성 감염(예를 들어, 인플루엔자 감염, 폐렴), 염증성 대동맥염(예를 들어, IgG4-관련 질환, 타카야수 대동맥염, 거대세포 동맥염)을 갖는 환자 또는 종양 악화를 갖는 환자도 제외되었다. 수술 전 혈청 CRP 수치가 측정되지 않은 환자, 흉부 대동맥류, 흉복부 대동맥류 또는 대동맥 박리와 대동맥류가 혼합된 환자를 제외하였다. 마지막으로, 이전에 흉부 혈관 내 대동맥 재건술 또는 혈관 내 복부 대동맥류 재건술과 같은 혈관 내 대동맥 수술을 받은 환자 및 의원성 또는 만성 박리를 갖는 환자도 제외되었다. 최종적으로 분석을 위하여 복부 대동맥류를 갖는 69명의 환자 및 상행 대동맥 박리를 갖는 87명의 환자가 선택되었고, 하기 데이터를 얻기 위하여 이들의 임상 기록을 검토하였다: 나이, 성별, 체질량지수, 병력, 당뇨유무, 고혈압, 이상지질혈증, 심근경색을 포함한 이전의 심혈관성 이벤트, 경피적 관상동맥중재, 폐쇄성 죽상동맥경화증, 약복용 이력(예를 들어, 스타틴), 알코올 섭취, 흡연, 수술전 혈청 CRP 수치 및 혈청 백혈구(WBC) 카운트 검사. 대동맥류에서 가장 큰 대동맥 직경은 수술전 대동맥 CT 스캔을 검토함으로써 분석되었다. 연구프로토콜은 서울아산병원 임상시험심사위원회(IRB)(IRB 번호: S2020-0196) 및 서울대학교병원 운영 서울특별시 보라매병원 IRB(IRB 번호: 20190703/10-2019-54/081)에 의하여 승인되었으며, 관련된 윤리 가이드라인 및 규정을 준수하였다. 한국의 생물윤리법에 따르면 2013년 이후 수득된 생물학적 시료를 사용하는 경우에는 피험자 동의를 필수적으로 요구하고 있기 때문에 무명화한 환자 정보와 함께 2012년에 수득된 포르말린-고정 파라핀 임베딩(FFPE) 조직 블록을 사용하여 프로테오믹스 분석을 하였다. 따라서, 서울아산병원 및 서울대학교 운영 서울특별시 보라매병원 IRB는 연구 목적을 위하여 생물학적 시료를 수집 및 이용하는 것과 함께 임상 데이터를 사용하는 것을 승인하였으며, 공식적인 피험자 동의를 면제해 주었다.

[0075] **실시예 1.2. 조직병리적 분석 및 면역조직화학 염색**

[0076] 수술 검체의 병리학적 검사 도중에, 각각의 대동맥 조직은 세부적인 육안 검사 이후 4 ㎜ 두께의 섹션으로 절제되었다. 죽상동맥경화증을 수반하는 대동맥류의 가장 심각하고 확장된 부분을 선택함으로써 둘 또는 셋의 카세트를 제조하였다. 섹션화된 죽종을 갖는 대동맥 검체는 10% 완충된 포르말린에 고정되고, 파라핀에 임베딩되었다. 조직 섹션은 헤마톡실린 및 에오신에 의하여 염색되었다(H&E).

[0077] 2012년에 대동맥 수술을 받은 환자 중에서, 복부 대동맥류의 24개의 연속된 사례 및 상행 대동맥 박리의 6개의 연속된 사례가 선택기준을 만족하였고, 이들 사례로부터 대동맥 벽 검체의 H&E 슬라이드가 병리학자에 의하여 조직병리학적으로 검토되었다. 복부 대동맥류에서 죽종성 플라크와 함께 대동맥벽의 박막화가 존재하는 영역이 선택되었다. 상행 대동맥 박리에서 죽종성 플라크 없이 대동맥벽의 중막 박리가 관찰된 영역이 선택되었다. 면역조직화학염색은 CRP의 단량체 및 오량체 형태를 모두 감지할 수 있는 항-CRP 항체(토끼 폴리클로날 항체, ab32412, Abcam, Cambridge, UK) 및 CRP의 단량체 형태(24 kD 서브유닛)를 선택적으로 감지할 수 있는 항-mCRP 항체(인간 단클론항체, C1688, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)를 사용하여 수행되었다.

[0078] 매슨 트리크롬 특별 염색(트리크롬 III 블루 염색 키트, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA)은 콜라겐 침착에 따른 섬유화의 수준을 평가하기 위하여 수행되었다. 탄성 염색(탄성 염색 키트, Ventana Medical Systems)은 대동맥 중막의 탄력판 및 대동맥 벽 세포외 매트릭스의 구조적 변화를 평가하고, 대동맥 벽의 중막 변성을 평가하기 위하여 수행되었다.

[0079] 추가로, 발명자들은 단핵구 화학유인 단백질(chemoattractant protein-1; MCP-1; ab9669, Abcam), 대식세포에 대한 CD68(M0814, Clone KP1, DAKO, Glostrup, Denmark) 및 C1q, C3a(LS-B15388, LSBio, Seattle, USA), C5a(ab193295, Abcam) 및 C5a R(ab59390, Abcam)를 포함하는 보체 마커(ab75756, Abcam)에 대한 항체로 면역조직화학 염색을 수행하였다. 2차 항체를 위하여, Optiview DAB IHC 감지 키트(Ventana medical systems)가 사용되었다.

[0080] **실시예 1.3. 조직학 및 면역조직화학을 위한 평가시스템**

[0081] 면역양성 영역이 항-CRP 및 항-mCRP 항체의 면역양성 분포에 따라 구분되었다. 죽종 및 연접(junctional) 영역 모두에서 면역음성이면 “음성“으로 구분되었고, 죽종에서 면역양성이 없거나 약한 면역양성이 연접 영역에서 강하면서 선형인 면역양성인 경우 "연접 양성”으로 구분되었으며, 죽종 및 연접 영역에서 강한 면역양성인 경우에는 "산발성 양성”으로 분류되었다. 염색강도는 정량스코어가 0 내지 3인 죽상동맥경화증 스코어(음성 [0], 약함 [1+], 중간 [2+], 강함 [3+]) 에 따라 분류되었다. 대동맥의 병리학적 평가 및 CRP 면역평가는 임상데이터에 맹검인 병리학자에 의하여 수행되었다.

[0082] **실시예 1.4. 프로테오믹스 분석을 위한 환자 선택**

[0083] 철저한 H&E 및 CRP 면역염색을 통한 슬라이드 리뷰 이후에, 환자를 (1) 복부 대동맥류-고 CRP군([중간 내지 강함(강도: 2+, 3+)] 산발성인 CRP 면역양성을 갖는 복부대동맥류), (2) 복부 대동맥류-저 CRP군([음성 내지 약함(강도: 0, 1+)], 국소적이며, 연접인 CRP 면역양성을 갖는 복부대동맥류) 및 (3) 상행 대동맥 박리군으로 분류하였다. 발명자들은 프로테오믹스 분석을 위하여 복부 대동맥류-고 CRP 군으로부터 7명의 환자, 복부 대동맥류-저 CRP 군으로부터 3명의 환자 및 상행 대동맥 박리 군으로부터 2명의 환자를 무작위적으로 선택하였다.

[0084] **실시예 1.5. FFPE 프로테옴 분석을 위한 시료 제조**

[0085] 절개된 대동맥 검체의 FFPE 조직 블록이 이번 연구를 위하여 사용되었다. 상기 FFPE 조직 블록은 본원 도 4에 도시된 바와 같은 과정을 통해 준비되었다.

[0086] 상기 시료의 마이크로섹션이 병리학자에 의한 FFPE 조직 블록의 H&E 염색된 슬라이드의 직접 현미경 시각화를 위하여 세심하게 선택되었다. 죽상동맥경화성 플라크가 제거되고, 오직 혈관 벽 조직만이 수득되어 프로테오믹스 분석을 위하여 사용되었다. 절개된 물질의 염색되지 않은 슬라이드의 5개 섹션이 1.5 ml 에펜도르프 LoBind 미세 원심분리기 튜브(Sigma-Aldrich)에 수집되었다. Qproteome FFPE 조직 키트(Qiagen, Hilden, Germany)가 파라핀 제거 및 단백질 추출을 위하여 사용되었고, 프로토콜은 수율을 강화시키기 위하여 변경되었다.

[0087] 상기 변경된 프로토콜은 본원 도 5에 도시된 바와 같다. 각 시료에 대하여, 500 μL의 헵탄을 1.5 ml 튜브의 FFPE 조직 섹션에 적용하였고, 실온에서 1시간 동안 가만히 두었다. 이어서, 25 μL 메탄올을 시료에 첨가하였고, 힘차게 10초간 진탕(vortex)하였으며, 9,000 x g에서 2분동안 원심분리하였다. 상청액은 폐기하였고, 펠렛이 5분간 건조되었다. 건조된 펠렛은 94 μL의 추출 완충액 EXB 플러스 및 6 μL의 b-머캡토에탄올에 용해되었고, 4℃에서 5분간 가만히 두었다. 이어서, 시료는 20분간 100℃에서 Thermomixer(Eppendorf AG, Hamburg, Germany) 내에서 가만히 둔 이후에, 단백질-단백질 컨쥬게이션을 파괴하기 위하여 2시간 동안 가만히 두었다. 가만히 둔 이후에, 1분간 아이스 상에 튜브를 두었고 이어서 15분간 4℃에서 14,000xg으로 원심분리하였다. 추출된 단백질을 함유하는 상층액은 새로운 튜브로 옮겨졌다. 아이스-콜드 아세톤이 단백질을 응집하기 위하여 각 시료에 첨가되었고, -80℃에서 16시간 동안 유지되었으며, 4℃에서 15분 동안 15,000 xg에서 원심분리되어 수집되었다. 최종 단백질 펠릿은 5% 소듐 도데실 설페이트, 50 mM 트리에틸암모늄 바이카보네이트(pH 7.55)에서 재현탁되었다. 단백질 농도는 비신코닌산 분석에 의하여 결정되었다.

[0088] **실시예 1.6. 질량분석기 분석을 위한 펩티드화**

[0089] 추출된 단백질은 실온에서 1시간 동안 20 mM의 다이티오트레이톨로 환원되고, 어두운 상태에서 1시간 동안 40 mM의 최종 농도에서 아이오도아세트아마이드를 사용하여 알킬화되었다. 제조업체의 지침에 따라 각 시료는 S-Trap 미니 스핀 컬럼(Protifi, NY, USA)상에 로딩되었고, 37° C에서 16시간 동안 트립신/LysC (1:25 트립신/단백질)로 소화되었다. 소화된 펩타이드는 이어서 i) 50 mM 트리에틸암모늄 바이카보네이트, ii) 0.2% 포름산, iii) 50% 아세토니트릴/0.2% 포름산으로 용출되었다. 혼합된 용출물은 스피드 진공(speed vacuum)을 사용하여 건조되었고, LC-MS 분석을 위하여 -20° C에서 저장되었다. 이는 도 5에 도시된 바와 같다.

[0090] **실시예 1.7. 액체 크로마토그래피 및 질량 분석**

[0091] 연구자들의 이전 분석에서 기술한 바와 같이 LC-MS분석이 수행되었다. 간단히, 펩타이드 혼합물이 Dionex UltiMate 3000 RSLCnano System (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)이 장착된 역상(reversed phase) C18컬럼(precolumn: Acclaim PepMap, 100 μm x 20 mm, 5 μm, 100 Å, 분리 컬럼: Acclaim PepMap, 75 μm x500 mm, 2 μm, 100 Å, Thermo Fisher Scientific)상에 가둬지고 분리되었다. 펩타이드 혼합물은 용매 A(0.1% 포름산을 함유하는 5% 다이메틸 설폭사이드) 및 용매 B(5% 다이메틸 설폭사이드 및 0.1% 포름산을 함유하는 80% 아세토니트릴)로 150분간 250 nL/분의 유속으로 0% 내지 40%의 B 완충액으로부터의 구배를 사용하여 분리되었다. 질량 스펙트럼 데이터는 나노-ESI 소스를 갖는 Q Exactive Plus 질량분석기(Thermo Fisher

Scientific)를 사용하여 수집되었다. 데이터 의존성 모드가 20 데이터 의존성 MS/MS 스캔과 함께 전체 스캔(m/z 350-1800)으로 질량 스펙트럼을 수득하기 위하여 적용되었다. 100 ms 의 최대 주사 시간 및 m/z 400에서 70,000의 해상도로, 전체 스캔(full scan) MS 스펙트럼을 위한 총 이온 타겟 수는 3,000,000이었다. 반복된 펩타이드의 동적 제외는 20초간 적용되었다. 표준화된 충돌 에너지(27%), m/z 400에서 17,500의 해상도 및 50 ms의 최대 주사 시간으로 MS/MS를 위한 총 이온 타겟 수는 1,000,000으로 세팅되었다. 반복된 펩타이드의 동적 익스클루전은 20 초간 적용되었다.

[0092] **실시예 1.8. 데이터베이스 검색 및 라벨-프리 정량화**

[0093] 수득된 스펙트럼은 프로테옴 디스커버러(version 2.2, Thermo Fisher Scientific)에 임베딩된 SequestHT에 적용되었고, 인간 프로테옴 데이터베이스(SwissProt database (May 2019))가 사용되었다. 검색과 관련된 일련의 과정은 본원 도 6에 도시된 바와 같다. 전구체 질량 오차범위(precursor mass tolerance)는 ±10 ppm이었고, MS/MS 오차는 0.02 Da이었다. 시스테인 카르브아미도메틸화를 고정된 변경(modification)으로서 사용하고 2개의 오절단을 갖는 다양한 변경으로서 N-말단/라이신 아세틸화, 메티오닌 산화, 포스포세린, 포스포-트레오닌 및 포스포-티로신을 사용하는 것을 포함하여 기본 변경(modification) 파라미터로 세팅하였다. 위양성 발견율(FDRs)이 “퍼컬레이터(Percolator)”를 사용하여 1%로 세팅되었다. 라벨-프리 정량화가 각 단백질의 유니크하고 날카로운 펩타이드에 대한 피크 강도를 사용하여 수행되었고, 총 펩타이드 함량을 사용하여 표준화되었다.

[0094] **실시예 1.9. 프로테옴 데이터에 대한 통계 분석**

[0095] 페르세우스 소프트웨어(version 1.6.8.0)가 시료들 간의 단백질의 상대적 풍부도의 통계분석을 위하여 사용되었다. 표준화된 단백질 풍부도는 $\log_2$ 스케일로 변환되었다. 각 시료의 세 개씩의 기술적 중첩물이 그룹화되었고, 세 개의 시료 세트간에 적어도 세 번의 빈도를 갖는 단백질이 유효한 값으로 채택되었다. 펩타이드 결측값 대체는 정상 분포로부터 수행되었다. 스튜던트 t-테스트는 볼케이노 플롯을 위하여 순열-기반 FDR(0.01 컷 오프)을 사용하여 수행되었다. 계층적 군집 분석은 z-스코어 표준화 이후에 수행되었다. 유전자 온톨로지 분석은 g:Profiler(https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost) 및 엔리케(Enrichr)(https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/)를 포함하는 웹-기반 도구를 사용하여 분석되었다.

[0096] **실시예 1.10. 다르게 발현된 단백질(DEPs)의 독창성 경로 분석**

[0097] 경로 풍부 분석은 독창성 분석(IPA; Qiagen)을 통하여 수행되었다. 풍부한 규범적 경로 및 생물학적 기능은 배율 및 Z-스코어에 기초하였다. 단백질에 대하여 상당히 풍부한 경로는 P< 0.01의 컷 오프를 사용하여 확인되었다. 분자 활성 예측자는 상류(upstream) 활성 또는 경로의 억제를 예측하기 위하여 사용되었다.

[0098] **실시예 1.11. 혈청 CRP 측정**

[0099] 매우 높은 민감성을 달성할 수 있도록 디자인된 Tina-quant(등록상표) C-반응성 단백질 Gen.3 시약(Roche, Basel, Switzerland)을 사용하여 CRP 단백질을 측정함으로써 면역비탁법을 사용하여 cobas(등록상표) 8000 system (Roche) 상에서 매우 낮은 CRP 수치에서도 정확한 측정을 제공하였다. 발명자들은 매우 민감한 (high sensitive, hs)-CRP를 사용하지는 않았지만, Tina-quant 방법은 hs-CRP와 매우 관련된 것으로 나타났고, 심혈관 위험 평가에 적합할 수 있다.

[0100] **실시예 1.12. 통계분석**

[0101] 연속변수는 스튜던트 t-시험에 의하여 비교되었고 평균± SD 로 나타내었다. 분류 가능한 변수는 피셔 정확 검정 또는 카이 제곱 검정이 적합하였고, 빈도 및 백분율로 나타내었다. 모든 통계 분석은 R 소프트웨어 버전 3.6.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) 및 SPSS(version 18.0, SPSS Inc., Chicago, USA)에 의하여 수행되었다. 모든 통계 분석은 양측검정 및 5% 신뢰수준이 사용되었다.

[0102] **실시예 2. 복부대동맥류 환자 및 상행 대동맥 박리 환자의 임상적 특성**

[0103] 복부 대동맥류 및 상행 대동맥 박리 환자의 임상 차트 분석에 따른 기저 특성을 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0104]

특성	복부대동맥류 (n=69)	상향대동맥박리 (n=87)	*P* 값
나이, 년	68.0 ±8.4	62.0 ±14.9	0.002
남성, n (%)	64 (92.8)	42 (48.3)	<0.001

신체질량지수, kg/m^2	24.2 ±2.8	24.7 ±4.1	0.424
혈청 CRP 수치, mg/dL	0.4 ±0.6	2.7 ±4.5	<0.001
WBC, count/μL	6861 ±1494	11159 ±4530	<0.001
당뇨, n (%)	9 (13.0)	4 (4.6)	0.109
고혈압, n (%)	50 (72.5)	80 (92.0)	0.002
심혈관 질환 이력, n (%)	21 (30.4)	9 (10.3)	0.003
알코올 소비, n (%)	36 (52.2)	41 (47.1)	0.642
흡연, n (%)	48 (69.6)	29 (33.3)	<0.001
이상지질혈증, n (%)	44 (63.8)	35 (40.2)	0.006
폐쇄성 죽상동맥경화증, n (%)	35 (50.7)	1 (1.1)	<0.001
결핵, n (%)	5 (7.2)	3 (3.4)	0.482

[0105] 복부 대동맥류에 관한 위험인자(예를 들어, 남성, 심혈관 질환 이력, 흡연, 이상지질혈증, 폐쇄성 죽상동맥경화증)은 상행 대동맥 박리 환자군보다 복부 대동맥류 환자군에서 더 만연하였다. 반대로, 혈청 CRP 수치 및 백혈구 수치는 복부 대동맥류 환자군보다 상행 대동맥 박리 환자군에서 상당히 높게 나타났다.

[0106] **실시예 3. 복부대동맥류 환자 및 상행 대동맥 박리 환자의 대동맥 시료의 조직학적 분석**

[0107] 모든 복부 대동맥류 환자군의 사례에서, 동맥류성 벽의 내강에서 죽종(atheroma)이 관찰되었다. 섬유성 캡(fibrous cap)을 갖는 죽종과 접촉한 대동맥 벽 중막(media)의 박막화(thinning) 및 탄력판(elastic lamella)의 소실도 관찰되었다. 상행 대동맥 박리 사례에서, 비-죽종성 대동맥 박리 시료를 선택하였기 때문에, 죽종은 관찰되지 않았고, 대동맥 벽의 박막화 또한 관찰되지 않았다. 대신에, 모든 상행 대동맥 박리 사례에서 중막성 박리(medial tearing)가 관찰되었다(도 7).

[0108] CRP 면역양성은 복부 대동맥류 환자군에서만 관찰되고, 상행 대동맥 박리 환자군에서는 관찰되지 않았다. 구체적으로, 복부 대동맥류 환자군 사례의 95.8%(23/24)에서 동맥류성 대동맥 벽에서의 CRP와 mCRP에 대한 강한 면역양성이 관찰되었다. 특히, CRP 면역양성은 탄력판이 감소하는 위치인 죽상동맥경화성 플라크와 손상된 대동맥 중막 연접부에서 뚜렷하였다(도 8). 한편, CRP와 mCRP는 상행 대동맥 박리 사례의 어떤 경우에서도 면역양성이 아니었다 (도 8).

[0109] 항-CRP 면역양성의 분포의 측면에서, 복부 대동맥류 환자군 사례의 67% (16/24) 및 29% (7/24) 가 각각 연접성인 면역양성 및 산발성인 면역양성을 나타내었다. mCRP 면역양성은 복부 대동맥류 환자군 사례의 71% (17/24) 및 25% (6/24) 에서 각각 연접성인 면역양성 및 산발성인 면역양성이라는 비슷한 패턴을 나타내었다(도 9). CRP의 경우, 복부 대동맥류 환자군 사례의 4.2% (1/24), 50% (12/24), 16.7% (4/24) 및 29.2% (7/24)의 면역양성은 각각 음성[0], 약함[1+], 중간[2+] 및 강함[3+]로 분류되며, mCRP의 경우 4.2% (1/24), 54% (13/24), 21% (5/24), 및21% (5/24)로 분류된다 (도 10).

[0110] 0.1 mg/dL을 초과하는 혈청 CRP는 죽종 및 대동맥 벽에서의 CRP 면역양성의 보다 강한 강도 및 넓은 영역과 관련되어 있다(도 11). 낮은 혈청 CRP(≤0.1 mg/dL)를 갖는 64.3% 및 78.6%의 환자 각각에서 CRP 및 mCRP 면역양성은 약하였다. 대조적으로, 증가된 혈청 CRP (>0.1 mg/dL) 를 갖는 70.0% 및 80.0% 환자 각각에서 CRP 및 mCRP는 중간 내지 강한 면역양성을 나타내었다. 혈청 CRP 수치에 따른 CRP 면역조직염색 스코어는 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0111]

	혈청CRP ≤ 0.1 mg/dL (n=14)	혈청 CRP > 0.1 mg/dL (n=10)	*P* 값
나이, 년	68.4 ±7.2	68.3 ±9.4	0.987
남성, n (%)	12 (85.7)	10 (100.0)	0.618
Anti-CRP			
면역양성, n (%)			1
- 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- 양성	13 (92.9)	10 (100.0)	
위치, n (%)			0.001
- 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- 결합성	13 (92.9)	3 (30.0)	

- 산발성	0 (0.0)	7 (70.0)	
죽종 면역강도, n (%)			0.002
- [0] 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- [1+] 약함	9 (64.3)	3 (30.0)	
- [2+] 중간	4 (28.6)	0 (0.0)	
- [3+] 강함	0 (0.0)	7 (70.0)	
항-mCRP			
면역양성, n (%)			1
- 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- 양성	13 (92.9)	10 (100.0)	
위치, n (%)			0.003
- 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- 결합성	13 (92.9)	4 (40.0)	
- 산발성	0 (0.0)	6 (60.0)	
죽종 면역강도, n (%)			0.007
- [0] 음성	1 (7.1)	0 (0.0)	
- [1+] 약함	11 (78.6)	2 (20.0)	
- [2+] 중간	2 (14.3)	3 (30.0)	
- [3+] 강함	0 (0.0)	5 (50.0)	

[0112] 면역양성 강도의 이러한 경향성은 2개의 군 간에 상당히 상이하였다 (CRP, P=0.002; mCRP, P=0.007). 낮은 혈청 CRP를 갖는 대부분의 환자 (92.9%)는 연접성인 면역양성을 나타내었고, 항-CRP 및 mCRP 모두에 대하여 산발성인 면역양성을 나타내지 않았던 반면에, 증가된 혈청 CRP를 갖는 환자들은 30%에서만 연접성인 면역양성을 나타내었고, 40%에서 산발적인 면역양성을 나타내었으며 각각 CRP에 대하여 70%, mCRP에 대하여 60%만큼의 면역양성을 나타내었다. 이러한 염색 패턴의 차이는 통계적으로 유의미하였다 (CRP, P=0.001; mCRP, P=0.003).

[0113] CRP 면역염색 패턴이 0.1 mg/dL의 CRP 컷오프 수치에 따라 상당히 상이하기 때문에, 복부 대동맥류의 사례를 낮은 혈청 CRP 군 (≤ 0.1 mg/dL; n=31) 및 증가된 혈청 CRP 군(>0.1 mg/dL; n=38)으로 나누었고, 환자 특성을 분석하였다(표 3).

표 3

[0114]

	혈청 CRP ≤ 0.1 mg/dL (n=31)	혈청 CRP > 0.1 mg/dL (n=38)	*P* 값
나이, 년	67.5±7.4	68.4±9.2	0.665
남성, n (%)	27 (87.1)	37 (97.4)	0.242
크기, cm	5.7±1.2	6.5±1.5	0.013
WBC, count/μL	6551±1466	7126±1487	0.129
해부학적 위치, n (%)			0.153
- 총장골동맥	4 (12.9)	0 (0.0)	
- 신장하동맥	24 (77.4)	30 (78.9)	
- 신장동맥	3 (9.7)	7 (18.4)	
병인성, n (%)			0.589
- 퇴행성	27 (87.1)	30 (78.9)	
- 염증성	1 (3.2)	1 (2.6)	
형상, n (%)			0.165
- 방추형	28 (90.3)	28 (73.7)	
- 낭형	0 (0.0)	2 (5.3)	
체중, kg	66.1±8.7	67.8±9.8	0.463
키, cm	165.5±8.5	166.9±4.8	0.407
당뇨, n (%)	4 (13.3)	5 (13.9)	1.000
고혈압, n (%)	16 (51.6)	23 (62.2)	0.39
결핵, n (%)	3 (10.3)	2 (5.6)	0.801
심혈관 질환 이력 [a], n (%)	10 (38.5)	9 (25.0)	0.392

알코올 소비, n (%)	17 (56.7)	19 (50.0)	0.762
흡연, n (%)	22 (73.3)	26 (68.4)	0.862
이상지질혈증[b], n (%)	20 (64.5)	24 (63.2)	0.907

[0115] a 뇌졸중, 심근경색 또는 경피적 관상동맥 중재술을 요구하는 협심증을 포함하였다.

[0116] b 스타틴계 약물을 투여중인 환자.

[0117] 결과적으로, 대동맥류의 최대 직경은 낮은 혈청 CRP군(5.7 ±1.2 cm, P=0.013)보다 증가된 혈청 CRP군 (6.5 ± 1.5 cm)에서 상당히 더 컸다. 증가된 혈청 CRP 군은 죽종 및 변성된 대동맥 벽에서 CD68-양성 대식세포과 함께 MCP-1, C3a, 및 C5a에 대한 강한 면역양성을 나타내었다(도 12).

[0118] **실시예 4. 복부 대동맥류 환자군과 상행 대동맥 분리 환자군을 대상으로 한 프로테오믹스 분석**

[0119] **실시예 4.1. 환자군별 임상 특성 및 단백질 프로파일**

[0120] CRP 면역염색 결과를 통해, 프로테오믹스 분석을 위한 연구군을 복부 대동맥류-고 CRP(n=7), 복부 대동맥류-저 CRP (n=3), 및 상행 대동맥 박리 (n=2)의 세 개 환자군으로 분류하였다. 상기 세 개 환자군의 인구학적 특성은 하기 표 4에 기재되어 있다.

표 4

[0121]

특성	AAA-고CRP (n=7)	AAA-저 CRP (n=3)	AAD (n=2)	*P* Value
나이, 년	67.4±7.8	62.3±3.8	66.0±11.3	0.638
남성, n (%)	7 (100.0)	3 (100.0)	0 (0.0)	0.002
혈청 CRP수치, mg/dL	0.8±0.8	0.1±0.0	1.8±2.4	0.231
동맥류 크기, cm	6.4±1.4	5.8±0.3	-	0.594
WBC, count/ μL	7585.7±1640	7200.0±1705	10050.0±2192	0.202
신체질량지수, kg/m^2	23.0±4.5	26.1±5.0	23.4±1.1	0.593
당뇨, n (%)	1 (14.3)	1 (33.3)	0 (0.0)	0.598
고혈압, n (%)	5 (71.4)	3 (100.0)	1 (50.0)	0.424
심혈관 질환 이력[a], n (%)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0.231
알코올 소비, n (%)	2 (28.6)	3 (100.0)	1 (50.0)	0.117
흡연, n (%)	7 (100.0)	2 (66.7)	0 (0.0)	0.015
이상지질혈증[b], n (%)	2 (28.6)	2 (66.7)	0 (0.0)	0.276
폐쇄성 죽상동맥경화증, n (%)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0.195

[0122] a 뇌졸중, 심근경색 또는 경피적 관상동맥 중재술을 요구하는 협심증을 포함하였다.

[0123] b 스타틴계 약물을 투여중인 환자.

[0124] AAA-고 CRP: 강하고 산발적인 CRP 면역양성을 갖는 복부대동맥류

[0125] AAA-저 CRP: 약하고 국소적인 CRP 면역양성을 갖는 복부대동맥류

[0126] AAD: 상행 대동맥박리

[0127] 복부 대동맥류-고 CRP 군과 복부 대동맥류-저-CRP군은 유일하게 남성으로 이뤄진 반면에 상행 대동맥 박리 환자군은 여성으로만 이루어져 있다(P=0.002). 또한, 흡연의 유병률은 복부 대동맥류 -고 CRP군 및 복부 대동맥류-저 CRP군에서 각각 100% 및 66.7%였고, 상행 대동맥 박리 환자군에는 흡연 이력을 갖는 환자가 존재하지 않았다 (P=0.015). 다른 특징은 세 개의 환자군 사이에 차이가 없었다.

[0128] 단백질 프로파일링을 위하여 개별 대동맥 시료에 관하여 세 개의 별개의 LC-MS/MS 분석을 수행하였다. 표준화 이후에, 삼중체(triplicate) 결과에 대하여 단백질 풍부도에 대한 분석이 수행되었다. 삼중체 시료에서의 단백질 풍부도는 일정하였고 고품질의 단백질 정량화를 확인시켜주었다. 시료별 피어슨 연관도 분석은 삼중체 사이

에 높은 연관성을 나타냄으로써 우수한 실험 재현성을 나타내었다(R=0.93, 도 13).

[0129] MS 분석을 통해 수득한 정량 단백질 정보를 사용하여 각 군에서의 힛맵과의 연관성 테스트는 상기 세 개 환자군 사이의 높은 연관성을 보여주고, 합리적인 실험 재현성을 나타내었다(도 14A). 정량 단백질 정보를 사용한 2차원 주성분분석(principle component analysis, PCA) 플롯은 상기 세 개 군이 충분히 구별되고 각 군이 정량 단백질 프로파일에서 상이한 특성을 갖는다는 것을 나타내었다(도 14B).

[0130] 총 2439 개의 단백질이 세 개의 군(즉, AAA-고 CRP 군에서 2,305개, AAA-저 CRP 군에서 2,184개 및 상행 대동맥 박리 군에서 2,140개)에서 확인되었다. 벤다이어그램 분석은 AAA-고 CRP 군, AAA-저 CRP 군, 및 AAD 군 각각에서 배타적인 단백질 103개, 36개 및 64개가 확인되었다(도 14C).

[0131] 추가 분석을 위하여, 상기 2,439개의 단백질을 순열-기초 폴스 디스커버리 비율(FDR)을 0.01 이하로 하여 세 개의 군에서 ANOVA를 이용하여 필터링하였고, 1,127개의 단백질이 선택되었다. 연이은 계층적 군집화(Subsequent hierarchical clustering) 분석은 상행 대동맥 박리군에서만 다르게 발현되는 58개 단백질을 밝혀내었고, 복부 대동맥류 고-CRP 및 복부 대동맥류 군에서는 발현됐지만 대동맥 박리군에서는 발현되지 않은 것이 166개, 복부 대동맥류 고-CRP 군에서만 많이 발현된 단백질이 187개로 나타났다. 벤다이어그램 분석 결과, 복부 대동맥류 고-CRP 군에서만 측정된 단백질은 103개였다. 상이하게 발현된 단백질에 대한 군집된 배율의 히트 맵을 도 14D에 나타내었다.

[0132] 상행 대동맥 박리군과 비교하였을 때, 복부 대동맥류-고 CRP 군 및 복부 대동맥류-저 CRP 군은 각각 427개 및 663개 단백질에서 다른 풍부도를 나타내었다. 하기 표 5와 같이, 복부 대동맥류-고 CRP 군과 복부 대동맥류-저 CRP 군 사이에 479개의 단백질의 풍부도가 다른 것으로 나타났다.

표 5

[0133]

군	상향	하향	총
AAA-고 CRP vs. AAD	268	159	427
AAA-저 CRP vs. AAD	347	316	663
AAA- 고 CRP vs. AAA- 저 CRP	293	186	479
AAA- 고 CRP vs. AAA- 저 CRP (AAD 제외)	137	34	171

[0134] 배율 >2 (상향) or ≤0.5 (하향), FDR <0.01

[0135] 상행 대동맥 박리 군에서 다르게 발현되는 단백질을 제외하고, 171 개 단백질이 복부 대동맥류-고 CRP 군과 복부 대동맥류-저 CRP 군 사이에 발현 양상이 상이한 것을 확인하였다(배율 2 초과 또는 0.5 이하, FDR< 0.01). 하기 표 6은 상기 171개 단백질 목록이다.

표 6

[0136]

구분	단백질
1	Glutamine-dependent NAD(+) synthetase
2	14-3-3 protein sigma
3	Glucosamine-6-phosphate isomerase 1
4	Involucrin
5	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2
6	Serpin B5
7	Ras GTPase-activating protein-binding protein 2
8	Isoform 3 of Rab11 family-interacting protein 3
9	Collagen alpha-6(IV) chain
10	Urokinase-type plasminogen activator
11	Isoform L-MPZ of Myelin protein P0
12	Isoform 4 of Tetraspanin-17
13	Keratin, type II cuticular Hb5
14	Unconventional myosin-XVIIIa
15	Protein kish-A
16	Serine/threonine-protein kinase Nek9
17	GDP-mannose 4,6 dehydratase
18	ATP-dependent DNA helicase Q1

19	Beta-mannosidase
20	Maestro heat-like repeat-containing protein family member 1
21	Isoform 4 of Alpha-mannosidase 2C1
22	Galactocerebrosidase
23	Secretory carrier-associated membrane protein 2
24	Isoform 2 of Lysophosphatidylserine lipase ABHD12
25	Gasdermin-E
26	Isoform 2 of Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2
27	WW domain-binding protein 11
28	Isoform B of Nucleoporin SEH1
29	Transformer-2 protein homolog alpha
30	Keratin, type II cytoskeletal 75
31	ADP-sugar pyrophosphatase
32	Isoform 2 of Stathmin
33	Neuropathy target esterase
34	Adenylate kinase 4, mitochondrial
35	Band 4.1-like protein 2
36	V-type proton ATPase subunit D
37	Macrophage mannose receptor 1
38	Isoform 2 of Glycogen synthase kinase-3 beta
39	Vacuolar protein sorting-associated protein 18 homolog
40	Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A
41	Enoyl-CoA delta isomerase 1, mitochondrial
42	Nuclear receptor-binding protein
43	Isoform 2 of UPF0687 protein C20orf27
44	Serpin B3
45	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 14B
46	Isoform 5 of AP-3 complex subunit delta-1
47	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB1
48	Isoform 3 of Coronin-7
49	Acyl-coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial
50	Beta-adrenergic receptor kinase 1
51	Ubiquitin-fold modifier 1
52	Keratin, type I cytoskeletal 19
53	Protein transport protein Sec24A
54	Isoform 3 of Syntaxin-binding protein 2
55	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase
56	Immunoglobulin kappa variable 1D-16
57	Bisphosphoglycerate mutase
58	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1
59	Trafficking protein particle complex subunit 5
60	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10
61	SLAM family member 5
62	Isoform 3 of Chromatin complexes subunit BAP18
63	Isoform 2 of Ribosomal protein S6 kinase alpha-2
64	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 15
65	SPARC
66	Neuroplastin
67	Negative elongation factor A
68	Ataxin-10
69	Isoform 3 of Synembryn-A
70	Unconventional myosin-IXb
71	Serine/threonine-protein kinase 4
72	Ubiquilin-2
73	Dihydrolipoyl dehydrogenase, mitochondrial
74	Glycylpeptide N-tetradecanoyltransferase 1
75	Spermatogenesis-defective protein 39 homolog
76	Isoform 2 of Regulator of chromosome condensation

77	Azurocidin
78	Pregnancy zone protein
79	Isoform 2 of Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 20
80	Immunoglobulin kappa variable 1D-13
81	Isoform 3 of A-kinase anchor protein 2
82	HLA class I histocompatibility antigen, A-32 alpha chain
83	CSC1-like protein 1
84	Methionine--tRNA ligase, cytoplasmic
85	Myelin basic protein
86	39S ribosomal protein L38, mitochondrial
87	14 kDa phosphohistidine phosphatase
88	BTB/POZ domain-containing protein KCTD21
89	Exosome RNA helicase MTR4
90	Kynureninase
91	Calmodulin-like protein 3
92	Signal peptidase complex catalytic subunit SEC11C
93	GDP-fucose protein O-fucosyltransferase 1
94	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 6B
95	Microtubule-actin cross-linking factor 1, isoforms 1/2/3/5
96	Engulfment and cell motility protein 1
97	Cholesteryl ester transfer protein
98	Complement factor I
99	Glutamine amidotransferase-like class 1 domain-containing protein 3B, mitochondrial
100	Beta-galactosidase
101	F-BAR domain only protein 2
102	Retinoic acid receptor responder protein 2
103	V-set and immunoglobulin domain-containing protein 4
104	Immunoglobulin heavy constant alpha 2
105	Transformer-2 protein homolog beta
106	Dipeptidyl peptidase 1
107	Ras GTPase-activating protein 3
108	CCN family member 2
109	Isoform 4 of [F-actin]-monooxygenase MICAL1
110	Perilipin-1
111	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)], cytoplasmic
112	Collagen alpha-1(X) chain
113	Isoform 2 of Protein transport protein Sec24D
114	Lysosomal acid lipase/cholesteryl ester hydrolase
115	Fibrinogen beta chain
116	Tyrosine-protein kinase CSK
117	Platelet glycoprotein V
118	AP-1 complex subunit sigma-2
119	Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic
120	UDP-N-acetylhexosamine pyrophosphorylase-like protein 1
121	Neuropilin-1
122	Ornithine aminotransferase, mitochondrial
123	Myelin P2 protein
124	Serum amyloid A-1 protein
125	HLA class I histocompatibility antigen, B-44 alpha chain
126	Isoform 3 of 4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase
127	ER membrane protein complex subunit 7
128	Ceruloplasmin
129	Vacuolar protein sorting-associated protein 4B
130	Isoform 2 of Core-binding factor subunit beta
131	Serine/threonine-protein kinase DCLK1
132	Isoform 2 of Protein FMC1 homolog
133	Plakophilin-1
134	Eosinophil peroxidase

135	Triggering receptor expressed on myeloid cells 2
136	Tetratricopeptide repeat protein 38
137	Cytoglobin
138	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP2
139	Band 4.1-like protein 3
140	Tartrate-resistant acid phosphatase type 5
141	Isoform 3 of V-type proton ATPase 116 kDa subunit a isoform 1
142	Fructose-1,6-bisphosphatase 1
143	Coactosin-like protein
144	Partner of Y14 and mago
145	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM47
146	Immunoglobulin heavy variable 6-1
147	IgG receptor FcRn large subunit p51
148	Protein sel-1 homolog 1
149	Histidine ammonia-lyase
150	Semaphorin-3B
151	Neurogenic locus notch homolog protein 3
152	Sec1 family domain-containing protein 1
153	Protein 4.1
154	Phosphoglycerate mutase 2
155	Dihydropyrimidine dehydrogenase [NADP(+)]
156	Signal recognition particle receptor subunit beta
157	Apolipoprotein B receptor
158	FK506-binding protein 15
159	Gamma-interferon-inducible protein 16
160	Isoform Sap-mu-9 of Prosaposin
161	Isoform 3 of Double-strand break repair protein MRE11
162	Fetuin-B
163	Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1
164	Apolipoprotein F
165	Glutathione S-transferase theta-2
166	Aldose 1-epimerase
167	Myelin expression factor 2
168	Chondroitin sulfate synthase 2
169	Proteasome adapter and scaffold protein ECM29
170	Wiskott-Aldrich syndrome protein family member 3
171	Isoform 2 of Microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3A

[0137] 이중에서도, 단백질 풍부도 비율 및 스튜던트 t-테스트 P 값을 조합하여, 대동맥류 진단과 관련하여 통계적으로 유의한 11개의 상위 랭킹 단백질을 선별하였으며, 이를 아래 표 7에 나타내었다.

표 7

[0138]

접근 ID	유전자	설명	-Log 스튜던트 *t-시험 P* 값	스튜던트 *t-시험 오차*	스튜던트 t-시험 통계
Q6IA69	*Nadsyn1*	글루타민 의존성 NAD(+) 합성효소	12.4714	5.27136	2.1848
P31947	*Sfn*	14-3-3 단백질 시그마	12.1829	4.84685	2.02782
P46926	*Gnpda1*	글루코사민-6-포스페이트 이소머라제 1	11.8743	4.59056	1.92817
P07476	*Ivl*	인볼루크린	13.2292	4.4444	1.91252
P26885	*Fkbp2*	퓁티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 FKBP2	11.4093	4.27567	1.80315
P36952	*Serpinb5*	세르핀 B5	11.036	4.20683	1.76826
Q9UN86	*G3bp2*	라스 GTP아제-활성 단백질-결합 단백질 2	6.31179	4.12877	1.56651
075154-3	*Rab11fip3*	Rab11 패밀리-상호작용성 단백질 3의 이소형 3	11.3862	3.85135	1.64929
Q14031	*Col4a6*	콜라겐 알파-6(IV) 쇄	12.6892	3.78399	1.65226
P00749	*Plau*	유로키나제-유형 플라스미노겐 활성자	8.41535	3.562	1.46959

P25189-2	*Mpz*	미엘린 단백질 P0의 이소형 L-MPZ	10.1939	3.55571	1.51366

[0139] 한편, 각 군별로 다르게 나타나는 풍부한 단백질들의 볼케이노 플롯(Volcano plot)을 도 14E에 도시하였다.

[0140] 각 군별로 다르게 발현되는 단백질을 볼케이노 플롯으로 분석한 결과, 복부 대동맥류 저-CRP 군과 비교하여 복부 대동맥류 고-CRP 군에서 두 배 이상, 그리고 FDR 유의수준 0.01 이하로 두 배 이상 유의하게 높게 발현되는 단백질은 137개, 낮게 발현되는 단백질은 34개로 나타났다.

[0141] **실시예 4.2. 유전자 온톨로지 분석**

[0142] 앙리케 분석(Enrichr analysis)은 상행 대동맥 박리 군보다 복부 대동맥류-고 CRP 군 및 복부 대동맥류-저 CRP 군에서 더 풍부한 187개 단백질을 밝혀내었다. 187개 단백질의 엔트리는 생물학적 공정, 분자 기능 및 세포성 성분에 따라 분석되었다(도 15). 복부 대동맥류-고 CRP 군의 상위 풍부한 생물학적 공정은 단백질 활성화 캐스케이드의 조절, 보체 활성의 조절 및 체액성 면역반응의 조절이었다. 복부 대동맥류-저 CRP 군의 상위 풍부한 생물학적 공정은 호중구 조절, 면역 반응에 관여하는 호중구 활성 및 호중구-매개 면역원성이었다. 흥미롭게도, 피콜린-1-풍부 미립자(granule) 세포성 성분은 복부 대동맥류-저 CRP 군에서 특이적으로 풍부하였다.

[0143] 유전자 온톨로지 분석 결과는 m피콜린-1-풍부 그래뉼이 복부 대동맥류-고 CRP군보다 복부 대동맥류-저-CRP 군에서 풍부하다는 것을 보여준다. 분비된 mFicoli은 단핵구 경막 G 단백질 커플링된 수용체 43에 고정됨으로써 보호 효과를 가지며 IL-8 생산을 축소시키도록 CRP와 상호결합하여 과잉 면역반응을 예방한다. 복부 대동맥류-고 CRP군이 복부 대동맥류-저 CRP군과 비교하였을 때 면역 반응에 상대적으로 취약하다는 점을 고려하면, mFicolin은 대동맥류의 보호 인자로서 작용할 수 있다.

[0144] **실시예 4.3. 독창성 경로 분석**

[0145] 상행 대동맥 박리 군의 다르게 발현되는 단백질을 제외한 뒤에 복부 대동맥류-고 CRP 군 및 복부 대동맥류-저 CRP군 사이에 상당히 다르게 발현되는 171개 단백질로 독창성 경로 분석(IPA, Qiagen)을 시행한 결과, 기존에 발표된 문헌을 기반으로 한 규범적 경로(canonical pathway) 중에서는, 죽상경화증 신호전달 경로 및 급성 신호전달 경로에서 유의하게 높게 나왔고, 그외 보체 경로(complement pathway)나 면역 시스템, 응고계(coagulation system)와 관련한 경로가 복부 대동맥류 고-CRP 군에서 유의하게 많이 작동함을 확인하였다.

[0146] 간 X 수용체/레티노이드 X 수용체(Liver X Receptor/Retinoid X receptor (LXR/RXR)) 활성, 응고계, 급성기 반응 신호, 외인성 및 내인성 프로트롬빈 활성 경로, 죽상동맥경화증 신호 및 보체계를 포함하는 다중 규범적 신호 경로가 복부 대동맥류-고 CRP 군에서 보다 풍부하였다(도 15B 및 도 16). 특히, 급성기 반응 신호 경로가 보체 성분 3(C3) 및 C4와 함께 CRP 생산을 야기하는 경로(도 16C)를 포함하였다. 질환 또는 기능 어노테이션(Annotation) 분석에서, 세포의 흡입(engulfment), 식세포, 백혈구와의 상호작용, 식세포의 이동 및 반응 과립구가 복부 대동맥류-저 CRP 군보다 복부 대동맥류-고 CRP 군에서 상당히 활성화되어 있는 것으로 예측되었다(도 16H).

[0147] mCRP가 침착된 복부 대동맥류에서 MCP-1 면역양성이 강하게 나타남이 관찰되었고, 나아가 IPA는 복부 대동맥류-고-CRP 군에서 염증 조절, 지질 대사 및 죽상동맥경화증에 관여하는 주요 경로인 LXR/RXR 활성 경로가 매우 풍부하다는 것을 보여주었다. mCRP 침착된 복부 대동맥류 조직의 프로테오믹스 프로파일링은 보체활성, 체액성 면역반응, 급성 염증 반응, 흡입, 식세포의 이동, 백혈구의 상호작용 및 과립구의 반응의 뚜렷한 상향 조절을 나타내었다. mCRP가 복부 대동맥류에서 박막성 대동맥벽과 죽상동맥경화성 플라크 사이의 접점(변성된 탄력판의 위치에 대응됨)에 특이적으로 침착되는 것이 관찰되었다. 프로테오믹스 분석은 복부 대동맥류-고 CRP 군에서 죽상동맥경화증에 관련된 경로가 활성화되어있음을 보여주었다(도 16F). 복부 대동맥류의 병태에서 죽상동맥경화증의 역할은 여전히 논란이 있으나 복부 대동맥류의 대부분 사례는 죽상동맥경화증과 관련되는 것으로 여겨지는데 이는 대동맥 벽의 죽상동맥경화성 플라크가 대동맥 중막의 손상과 관련되기 때문이다. mCRP 침착위치가 죽상동맥경화증 및 변성된 대동맥 벽 사이라는 발견은 복부 대동맥류 병태에서 CRP 및 죽상동맥경화증 간의 상호결합(crosstalk)을 암시한다.

[0148] 글로벌 경로 분석은 CRP를 포함한 급성기 반응 또는 보체 활성과 관련하여 상향 조절된 몇몇 단백질을 나타내었다(도 16C). 손상된 조직의 mCRP 침착은 보체 결합을 유도하고, 오량체 형태보다 단량체 형태로서 CRP는 더 C1q 결합 및 C1 활성을 야기할 수 있다. mCRP의 침착은 염증성 케모카인의 농도를 증가시킬 수 있다. 대동맥류의 경우, 보체 활성은 복부 대동맥류의 진행에 기여할 수 있다.

[0149] 요컨대, mCRP 침착, 케모카인 및 보체 성분간의 상호작용은 복부 대동맥류 악화에 대한 메커니즘으로서 작용할 수 있다.

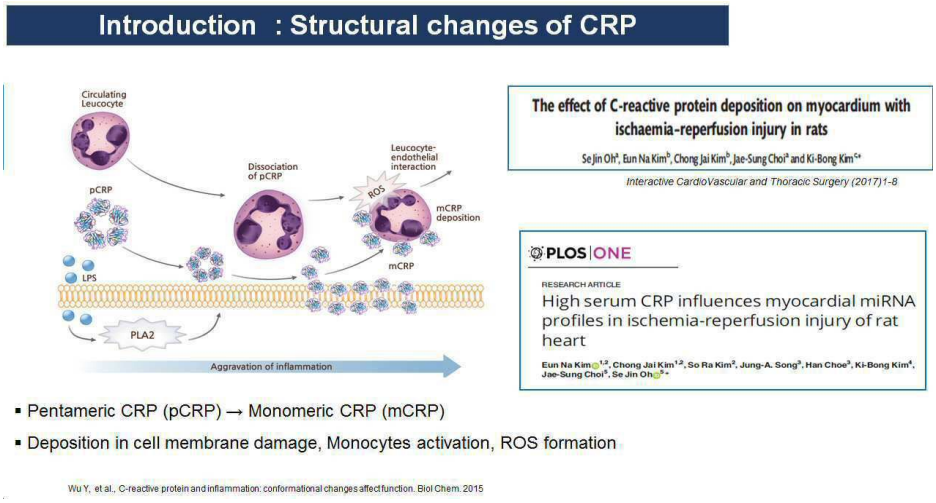
[0150] 한편, 그룹간에 다르게 발현되는 단백질을 볼케이노 플롯으로 분석한 결과, 복부 대동맥류 저-CRP 군과 비교하여 복부 대동맥류 고-CRP 군에서 두 배 이상, 그리고 FDR 유의수준 0.01 이하로 두 배 이상 유의하게 높게 발현되는 단백질은 137개, 낮게 발현되는 단백질은 34개로 나타났다.

[0151] 복부 대동맥류 저-CRP 군에 비해서 복부 대동맥류 고-CRP 에서 유의하게 차이가 났던 161개 단백질로 독창성 경로 분석을 시행한 결과, 기존에 발표된 문헌을 기반으로 한 규범적 경로(canonical pathway) 중에서는, 죽상경화증 신호전달 경로 및 급성 신호전달 경로에서 유의하게 높게 나왔고, 그외 보체 경로(complement pathway)나 면역 시스템, 응고계(coagulation system)와 관련한 경로가 고-CRP 군에서 유의하게 많이 작동함을 확인하였다.

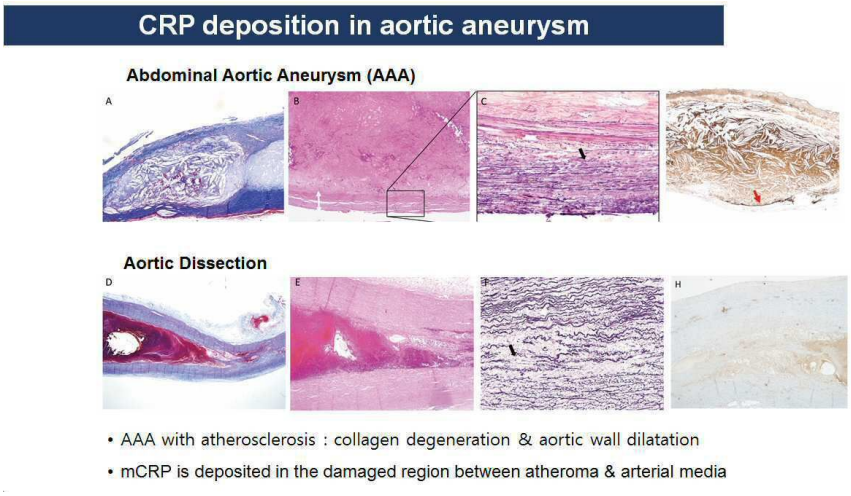
[0152] 상기 결과는 CRP의 침착이 FFPE 조직을 이용한 심층적 프로테옴 분석에 기초하여 죽상동맥경화증으로 복부 대동맥류를 악화시키는 방법을 병리학적 메커니즘으로 설명할 수 있음을 시사한다. 상기 병리학적 메커니즘은 대동맥류의 진행을 극복하기 위해 필요한 바이오마커의 개발에 유용하게 활용될 수 있다.

도면

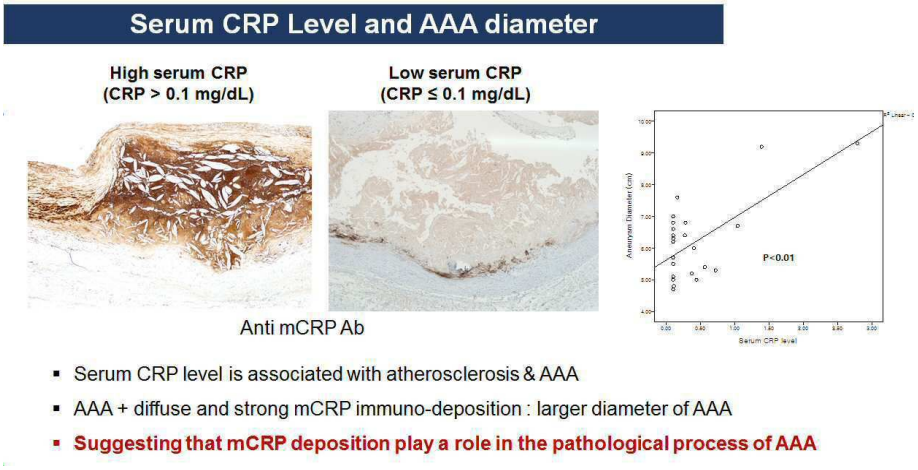
도면1



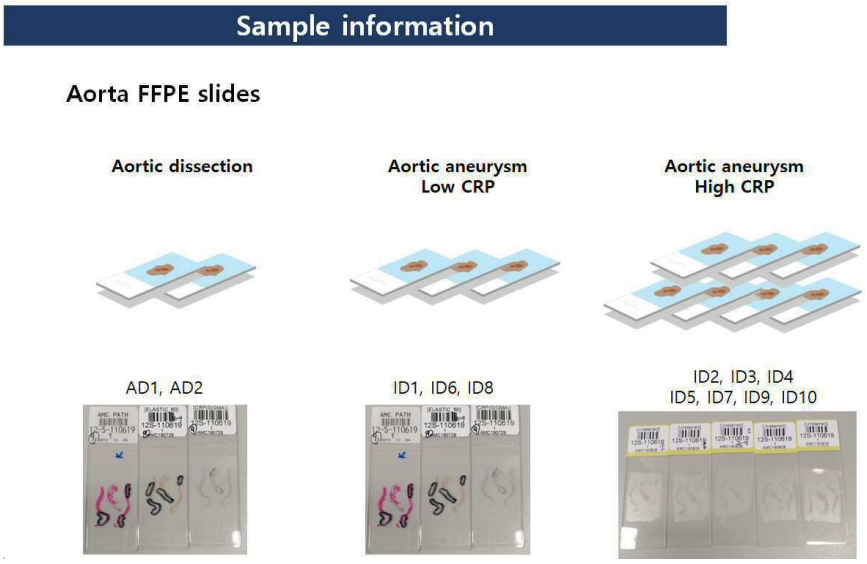
도면2



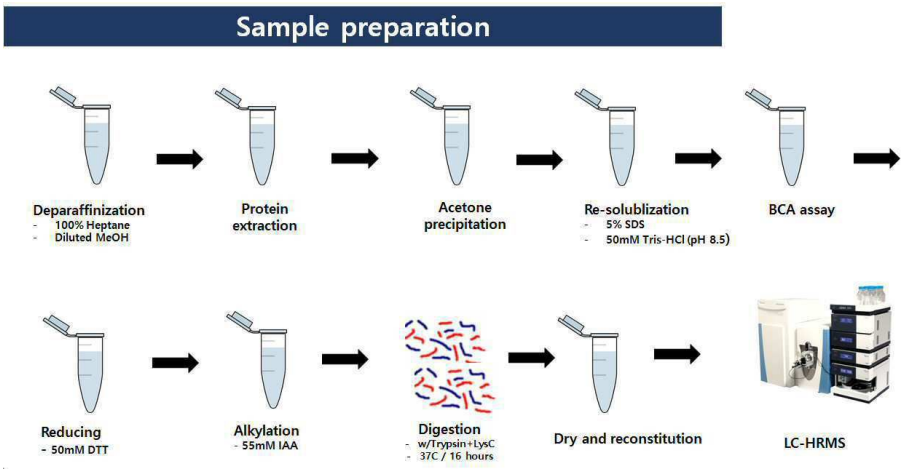
도면3


Serum CRP Level and AAA diameter
High serum CRP
(CRP > 0.1 mg/dL)
Low serum CRP
(CRP ≤ 0.1 mg/dL)
Anti mCRP Ab
P<0.01
Aneurysm Diameter (cm)
Serum CRP level
Serum CRP level is associated with atherosclerosis & AAA
AAA + diffuse and strong mCRP immuno-deposition : larger diameter of AAA
Suggesting that mCRP deposition play a role in the pathological process of AAA

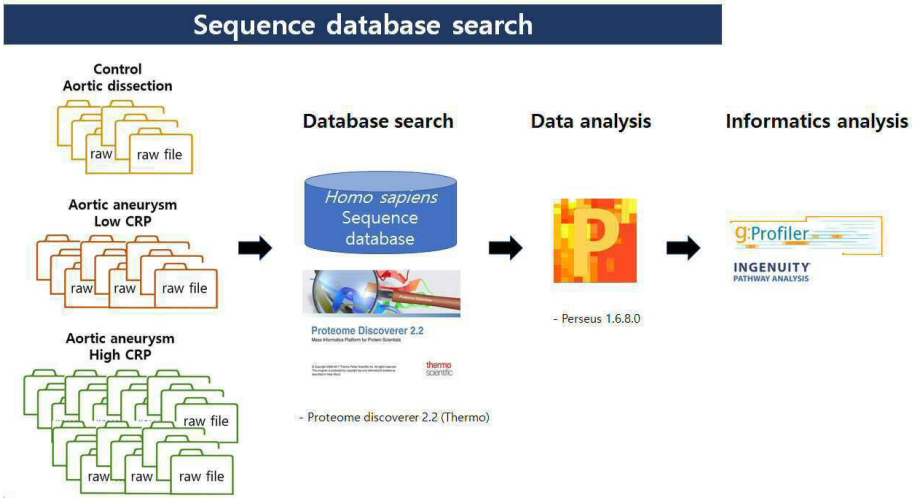
도면4


Sample information
Aorta FFPE slides
Aortic dissection
Aortic aneurysm
Low CRP
Aortic aneurysm
High CRP
AD1, AD2
ID1, ID6, ID8
ID2, ID3, ID4
ID5, ID7, ID9, ID10

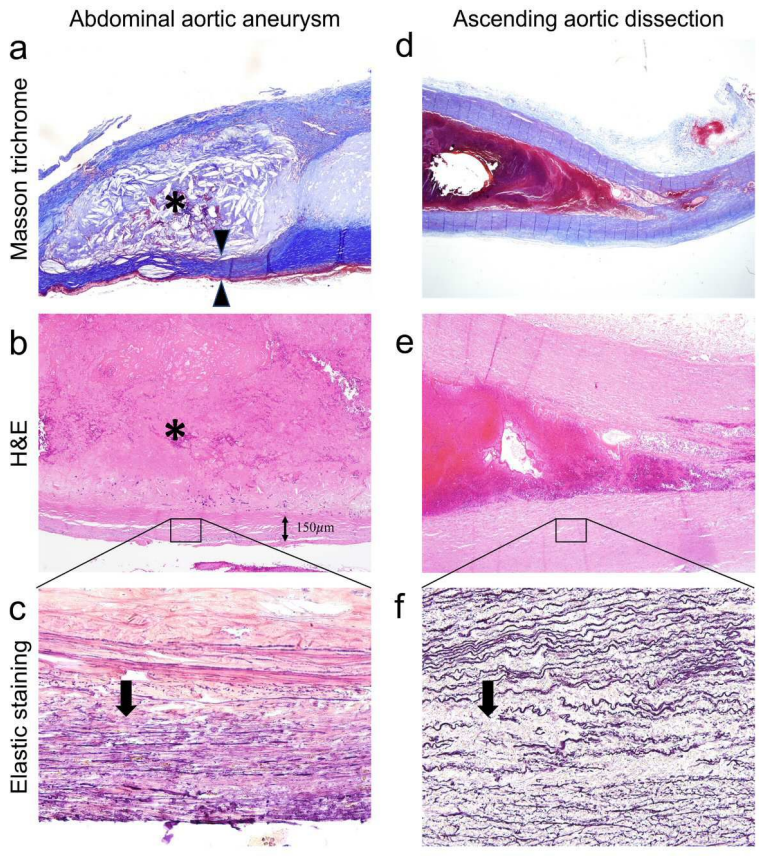
도면5


Sample preparation
Deparaffinization
- 100% Heptane
- Diluted MeOH
Protein
extraction
Acetone
precipitation
Re-solublization
- 5% SDS
- 50mM Tris-HCl (pH 8.5)
BCA assay
Reducing
- 50mM DTT
Alkylation
- 55mM IAA
Digestion
- w/Trypsin+LysC
- 37C / 16 hours
Dry and reconstitution
LC-HRMS

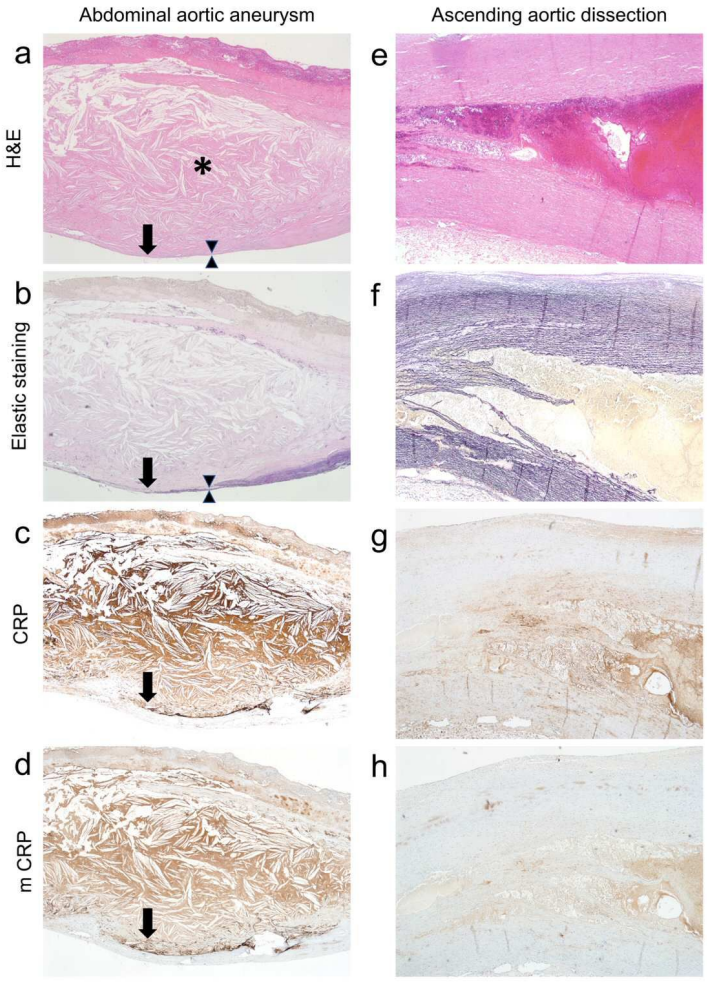
도면6


Sequence database search
Control
Aortic dissection
raw
raw file
Aortic aneurysm
Low CRP
raw
raw
raw file
Aortic aneurysm
High CRP
raw file
raw
raw
raw file
Database search
Homo sapiens
Sequence
database
Proteome Discoverer 2.2
- Proteome discoverer 2.2 (Thermo)
Data analysis
- Perseus 1.6.8.0
Informatics analysis
g:Profiler
INGENUITY
PATHWAY ANALYSIS

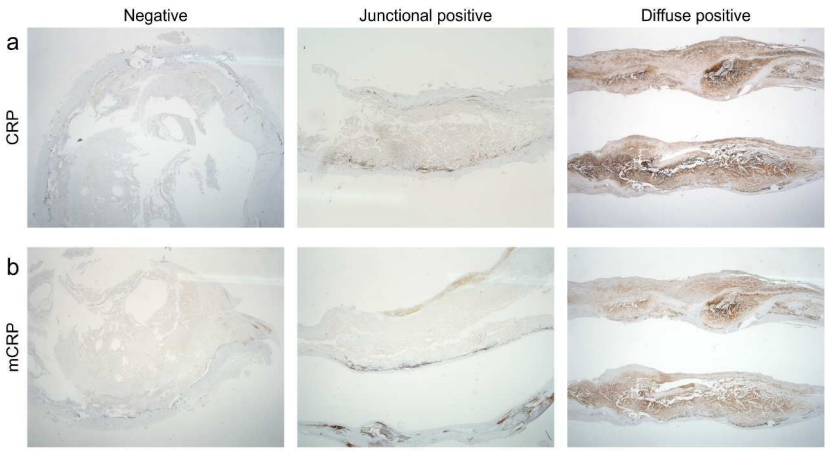
도면7


Abdominal aortic aneurysm
Ascending aortic dissection
a
d
Masson trichrome
b
e
H&E
150μm
c
f
Elastic staining

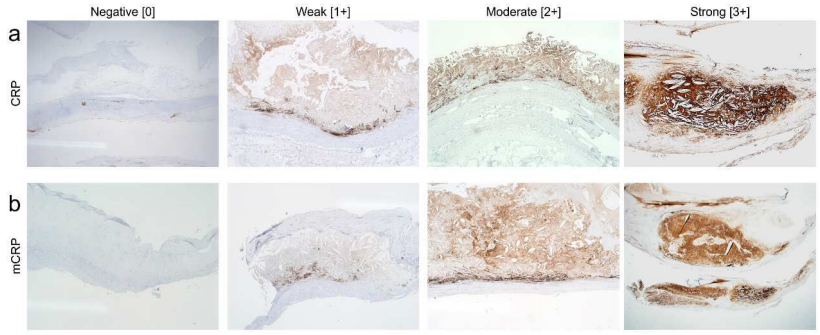
도면8


Abdominal aortic aneurysm
Ascending aortic dissection
a
H&E
e
b
Elastic staining
f
c
CRP
g
d
m CRP
h

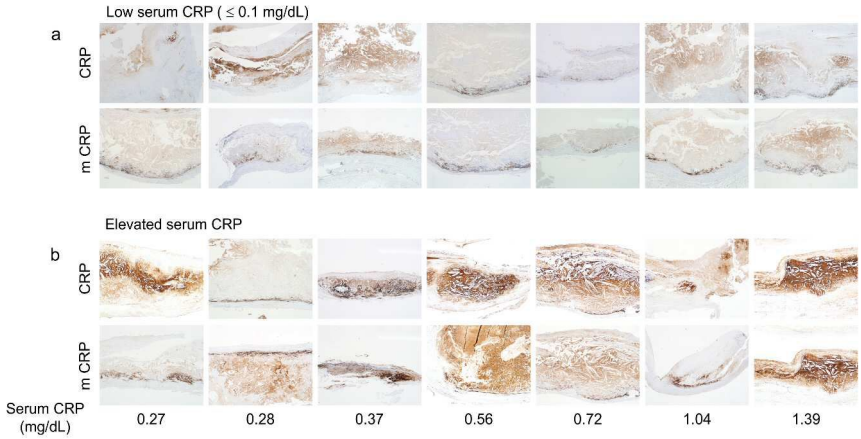
도면9


Negative
Junctional positive
Diffuse positive
a
CRP
b
mCRP

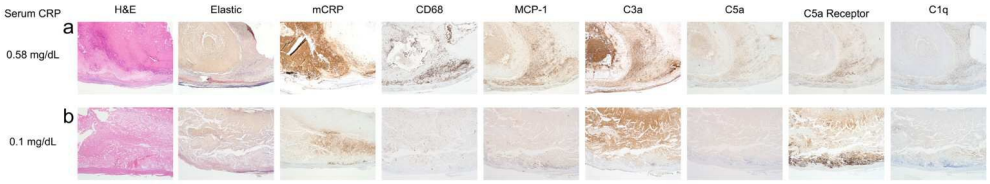
도면10



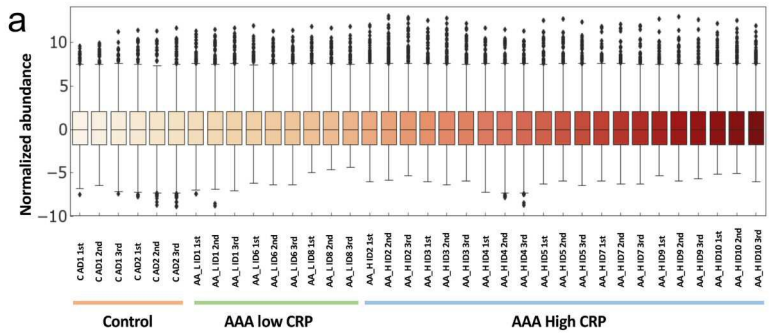
도면11

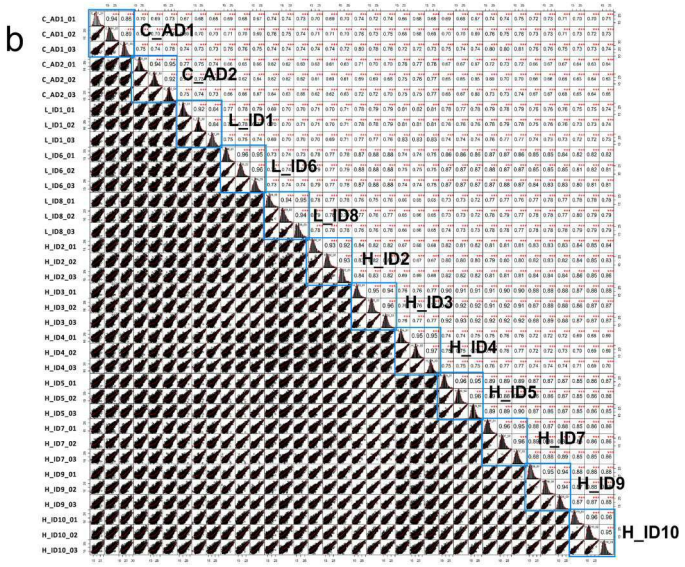


도면12

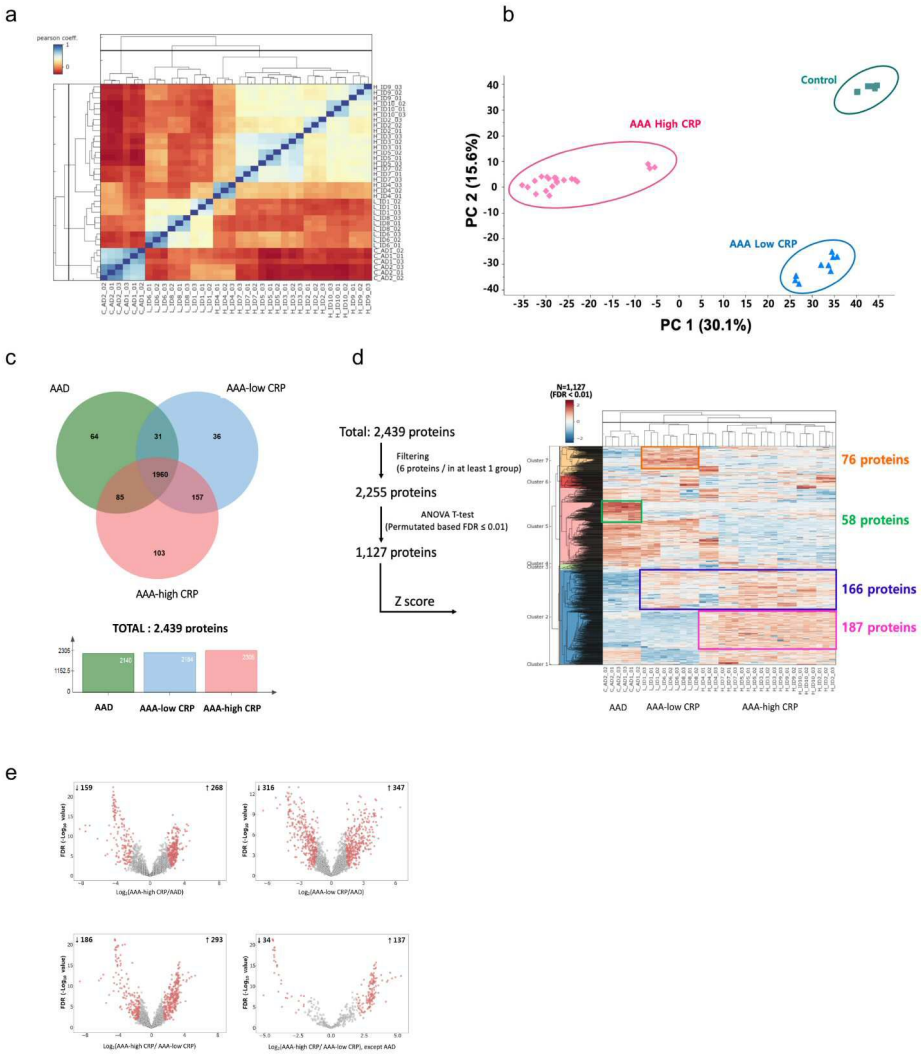


도면13


a
Normalized abundance
10
5
0
−5
−10
C_AD1 1st
C_AD1 2nd
C_AD1 3rd
C_AD2 1st
C_AD2 2nd
C_AD2 3rd
AA_L ID1 1st
AA_L ID1 2nd
AA_L ID1 3rd
AA_L ID6 1st
AA_L ID6 2nd
AA_L ID6 3rd
AA_L ID8 1st
AA_L ID8 2nd
AA_L ID8 3rd
AA_H ID2 1st
AA_H ID2 2nd
AA_H ID2 3rd
AA_H ID3 1st
AA_H ID3 2nd
AA_H ID3 3rd
AA_H ID4 1st
AA_H ID4 2nd
AA_H ID4 3rd
AA_H ID5 1st
AA_H ID5 2nd
AA_H ID5 3rd
AA_H ID7 1st
AA_H ID7 2nd
AA_H ID7 3rd
AA_H ID9 1st
AA_H ID9 2nd
AA_H ID9 3rd
AA_H ID10 1st
AA_H ID10 2nd
AA_H ID10 3rd
Control
AAA low CRP
AAA High CRP

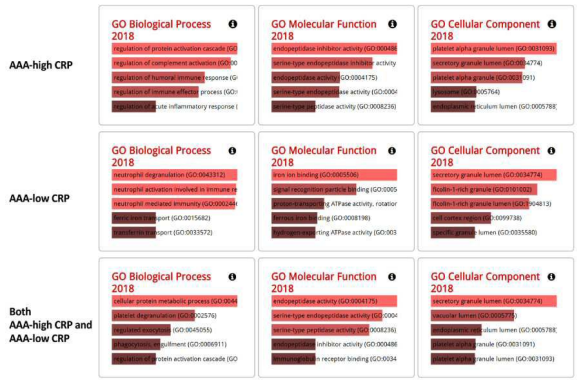

b
C_AD1
C_AD2
L_ID1
L_ID6
L_ID8
H_ID2
H_ID3
H_ID4
H_ID5
H_ID7
H_ID9
H_ID10

도면14

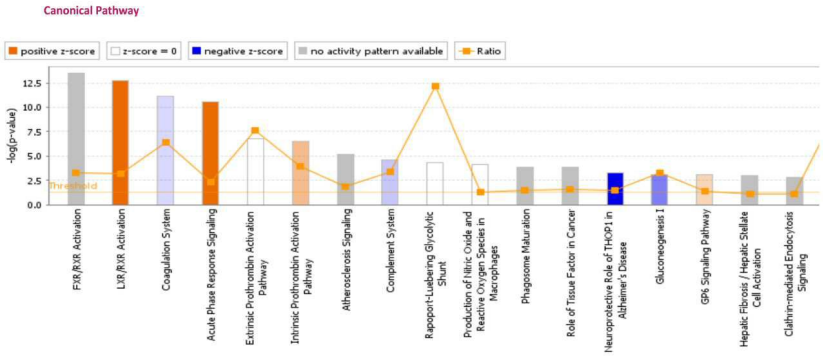

a
b
Control
AAA High CRP
AAA Low CRP
PC 2 (15.6%)
PC 1 (30.1%)
c
AAD
AAA-low CRP
AAA-high CRP
64
31
36
1960
85
157
103
TOTAL : 2,439 proteins
AAD
AAA-low CRP
AAA-high CRP
d
Total: 2,439 proteins
Filtering
(6 proteins / in at least 1 group)
2,255 proteins
ANOVA T-test
(Permutated based FDR ≤ 0.01)
1,127 proteins
Z score
76 proteins
58 proteins
166 proteins
187 proteins
AAD
AAA-low CRP
AAA-high CRP
e

도면15

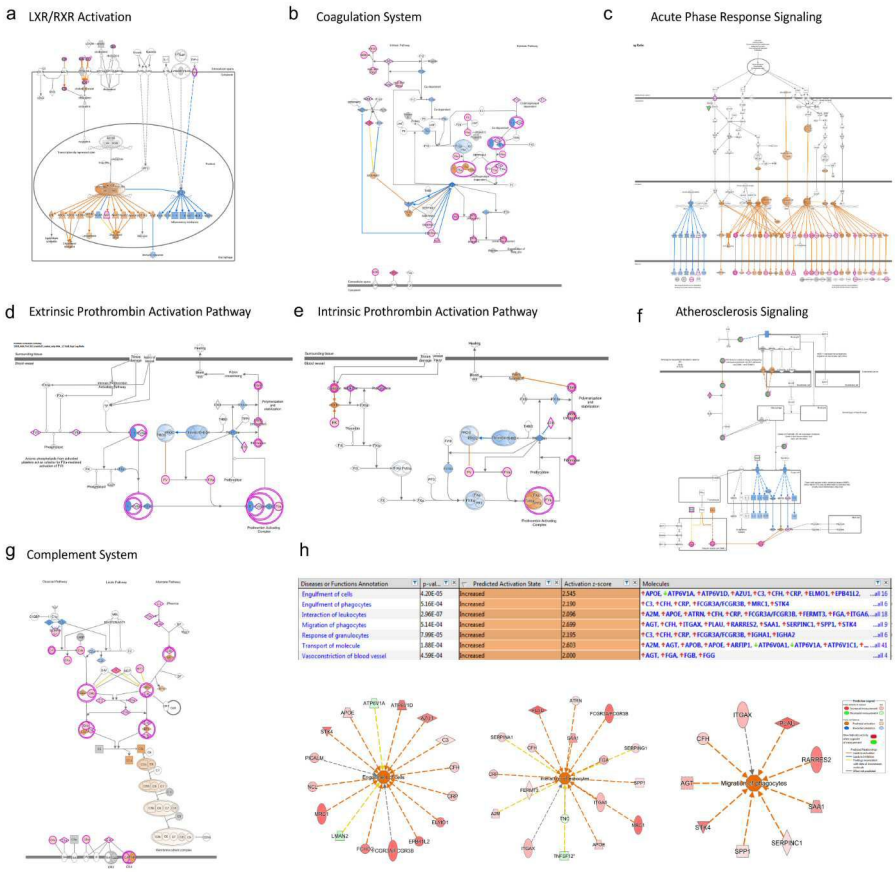
a


AAA-high CRP
GO Biological Process 2018
GO Molecular Function 2018
GO Cellular Component 2018
AAA-low CRP
GO Biological Process 2018
GO Molecular Function 2018
GO Cellular Component 2018
Both AAA-high CRP and AAA-low CRP
GO Biological Process 2018
GO Molecular Function 2018
GO Cellular Component 2018

b


Canonical Pathway
positive z-score
z-score = 0
negative z-score
no activity pattern available
Ratio
-log(p-value)
12.5
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
Threshold
FXR/RXR Activation
LXR/RXR Activation
Coagulation System
Acute Phase Response Signaling
Extrinsic Prothrombin Activation Pathway
Intrinsic Prothrombin Activation Pathway
Atherosclerosis Signaling
Complement System
Rapoport-Luebering Glycolytic Shunt
Production of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species in Macrophages
Phagosome Maturation
Role of Tissue Factor in Cancer
Neuroprotective Role of THOP1 in Alzheimer's Disease
Gluconeogenesis I
GPs Signaling Pathway
Hepatic Fibrosis / Hepatic Stellate Cell Activation
Clathrin-mediated Endocytosis Signaling

도면16



서 열 목 록

<110> University of Ulsan Foundation For Industry Cooperation

THE ASAN FOUNDATION

SEOUL NATIONAL UNIVERSITY HOSPITAL

<120> BIOMARKER OF AORTIC ANEURYSM AND USES THEREOF

<130> 202008-0098

<150> KR 2019-0132455

<151> 2019-10-23

<160> 11

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 706

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gly Arg Lys Val Thr Val Ala Thr Cys Ala Leu Asn Gln Trp Ala

1 5 10 15

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

85 90 95
Tyr Asn Cys Arg Val Ile Phe Leu Asn Arg Lys Ile Leu Leu Ile Arg
100 105 110
Pro Lys Met Ala Leu Ala Asn Glu Gly Asn Tyr Arg Glu Leu Arg Trp
115 120 125
Phe Thr Pro Trp Ser Arg Ser Arg His Thr Glu Glu Tyr Phe Leu Pro
130 135 140
Arg Met Ile Gln Asp Leu Thr Lys Gln Glu Thr Val Pro Phe Gly Asp
145 150 155 160

Ala Val Leu Val Thr Trp Asp Thr Cys Ile Gly Ser Glu Ile Cys Glu
165 170 175
Glu Leu Trp Thr Pro His Ser Pro His Ile Asp Met Gly Leu Asp Gly
180 185 190
Val Glu Ile Ile Thr Asn Ala Ser Gly Ser His Gln Val Leu Arg Lys
195 200 205
Ala Asn Thr Arg Val Asp Leu Val Thr Met Val Thr Ser Lys Asn Gly
210 215 220
Gly Ile Tyr Leu Leu Ala Asn Gln Lys Gly Cys Asp Gly Asp Arg Leu

225 230 235 240
Tyr Tyr Asp Gly Cys Ala Met Ile Ala Met Asn Gly Ser Val Phe Ala
245 250 255

Gln Gly Ser Gln Phe Ser Leu Asp Asp Val Glu Val Leu Thr Ala Thr
260 265 270
Leu Asp Leu Glu Asp Val Arg Ser Tyr Arg Ala Glu Ile Ser Ser Arg
275 280 285
Asn Leu Ala Ala Ser Arg Ala Ser Pro Tyr Pro Arg Val Lys Val Asp
290 295 300

Phe Ala Leu Ser Cys His Glu Asp Leu Leu Ala Pro Ile Ser Glu Pro
305 310 315 320
Ile Glu Trp Lys Tyr His Ser Pro Glu Glu Glu Ile Ser Leu Gly Pro
325 330 335
Ala Cys Trp Leu Trp Asp Phe Leu Arg Arg Ser Gln Gln Ala Gly Phe
340 345 350
Leu Leu Pro Leu Ser Gly Gly Val Asp Ser Ala Ala Thr Ala Cys Leu
355 360 365
Ile Tyr Ser Met Cys Cys Gln Val Cys Glu Ala Val Arg Ser Gly Asn

370 375 380
Glu Glu Val Leu Ala Asp Val Arg Thr Ile Val Asn Gln Ile Ser Tyr
385 390 395 400
Thr Pro Gln Asp Pro Arg Asp Leu Cys Gly Arg Ile Leu Thr Thr Cys
405 410 415
Tyr Met Ala Ser Lys Asn Ser Ser Gln Glu Thr Cys Thr Arg Ala Arg
420 425 430
Glu Leu Ala Gln Gln Ile Gly Ser His His Ile Ser Leu Asn Ile Asp
435 440 445

Pro Ala Val Lys Ala Val Met Gly Ile Phe Ser Leu Val Thr Gly Lys
450 455 460
Ser Pro Leu Phe Ala Ala His Gly Gly Ser Ser Arg Glu Asn Leu Ala
465 470 475 480
Leu Gln Asn Val Gln Ala Arg Ile Arg Met Val Leu Ala Tyr Leu Phe
485 490 495
Ala Gln Leu Ser Leu Trp Ser Arg Gly Val His Gly Gly Leu Leu Val
500 505 510

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

515 520 525

Tyr Asp Cys Ser Ser Ala Asp Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ile Ser Lys

530 535 540

Thr Asp Leu Arg Ala Phe Val Gln Phe Cys Ile Gln Arg Phe Gln Leu

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Lys Met Gly Pro Tyr Ser Met Phe Cys Lys Leu Leu Gly Met Trp Arg

610 615 620

His Ile Cys Thr Pro Arg Gln Val Ala Asp Lys Val Lys Arg Phe Phe

625 630 635 640

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

645 650 655

Tyr His Ala Glu Asn Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Arg Phe Asp Leu Arg

660 665 670

Pro Phe Leu Tyr Asn Thr Ser Trp Pro Trp Gln Phe Arg Cys Ile Glu

675 680 685

Asn Gln Val Leu Gln Leu Glu Arg Ala Glu Pro Gln Ser Leu Asp Gly

690 695 700

Val Asp

705

<210> 2

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Arg Ala Ser Leu Ile Gln Lys Ala Lys Leu Ala Glu Gln Ala

1 5 10 15

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

85 90 95
Asp Thr Val Leu Gly Leu Leu Asp Ser His Leu Ile Lys Glu Ala Gly
100 105 110
Asp Ala Glu Ser Arg Val Phe Tyr Leu Lys Met Lys Gly Asp Tyr Tyr
115 120 125
Arg Tyr Leu Ala Glu Val Ala Thr Gly Asp Asp Lys Lys Arg Ile Ile
130 135 140
Asp Ser Ala Arg Ser Ala Tyr Gln Glu Ala Met Asp Ile Ser Lys Lys
145 150 155 160

Glu Met Pro Pro Thr Asn Pro Ile Arg Leu Gly Leu Ala Leu Asn Phe
165 170 175
Ser Val Phe His Tyr Glu Ile Ala Asn Ser Pro Glu Glu Ala Ile Ser
180 185 190
Leu Ala Lys Thr Thr Phe Asp Glu Ala Met Ala Asp Leu His Thr Leu
195 200 205
Ser Glu Asp Ser Tyr Lys Asp Ser Thr Leu Ile Met Gln Leu Leu Arg
210 215 220
Asp Asn Leu Thr Leu Trp Thr Ala Asp Asn Ala Gly Glu Glu Gly Gly

225 230 235 240
Glu Ala Pro Gln Glu Pro Gln Ser
245

<210> 3

<211> 289

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Lys Leu Ile Ile Leu Glu His Tyr Ser Gln Ala Ser Glu Trp Ala
1 5 10 15

Ala Lys Tyr Ile Arg Asn Arg Ile Ile Gln Phe Asn Pro Gly Pro Glu
20 25 30

Lys Tyr Phe Thr Leu Gly Leu Pro Thr Gly Ser Thr Pro Leu Gly Cys
35 40 45

Tyr Lys Lys Leu Ile Glu Tyr Tyr Lys Asn Gly Asp Leu Ser Phe Lys
50 55 60

Tyr Val Lys Thr Phe Asn Met Asp Glu Tyr Val Gly Leu Pro Arg Asp
65 70 75 80

His Pro Glu Ser Tyr His Ser Phe Met Trp Asn Asn Phe Phe Lys His
85 90 95

Ile Asp Ile His Pro Glu Asn Thr His Ile Leu Asp Gly Asn Ala Val
100 105 110

Asp Leu Gln Ala Glu Cys Asp Ala Phe Glu Glu Lys Ile Lys Ala Ala
115 120 125

Gly Gly Ile Glu Leu Phe Val Gly Gly Ile Gly Pro Asp Gly His Ile
130 135 140

Ala Phe Asn Glu Pro Gly Ser Ser Leu Val Ser Arg Thr Arg Val Lys
145 150 155 160

Thr Leu Ala Met Asp Thr Ile Leu Ala Asn Ala Arg Phe Phe Asp Gly
165 170 175

Glu Leu Thr Lys Val Pro Thr Met Ala Leu Thr Val Gly Val Gly Thr
180 185 190

Val Met Asp Ala Arg Glu Val Met Ile Leu Ile Thr Gly Ala His Lys
195 200 205

Ala Phe Ala Leu Tyr Lys Ala Ile Glu Glu Gly Val Asn His Met Trp

210 215 220

Thr Val Ser Ala Phe Gln Gln His Pro Arg Thr Val Phe Val Cys Asp
225 230 235 240

Glu Asp Ala Thr Leu Glu Leu Lys Val Lys Thr Val Lys Tyr Phe Lys
245 250 255

Gly Leu Met Leu Val His Asn Lys Leu Val Asp Pro Leu Tyr Ser Ile
260 265 270

Lys Glu Lys Glu Thr Glu Lys Ser Gln Ser Ser Lys Lys Pro Tyr Ser
275 280 285

Asp

<210> 4

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ser Gln Gln His Thr Leu Pro Val Thr Leu Ser Pro Ala Leu Ser
1 5 10 15

Gln Glu Leu Leu Lys Thr Val Pro Pro Pro Val Asn Thr His Gln Glu

20 25 30

Gln Met Lys Gln Pro Thr Pro Leu Pro Pro Pro Cys Gln Lys Val Pro
35 40 45

Val Glu Leu Pro Val Glu Val Pro Ser Lys Gln Glu Glu Lys His Met
50 55 60

Thr Ala Val Lys Gly Leu Pro Glu Gln Glu Cys Glu Gln Gln Gln Lys
65 70 75 80

Glu Pro Gln Glu Gln Glu Leu Gln Gln Gln His Trp Glu Gln His Glu
85 90 95

Glu Tyr Gln Lys Ala Glu Asn Pro Glu Gln Gln Leu Lys Gln Glu Lys
100 105 110

Thr Gln Arg Asp Gln Gln Leu Asn Lys Gln Leu Glu Glu Glu Lys Lys
115 120 125

Leu Leu Asp Gln Gln Leu Asp Gln Glu Leu Val Lys Arg Asp Glu Gln
130 135 140
Leu Gly Met Lys Lys Glu Gln Leu Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln Glu
145 150 155 160
Gly His Leu Lys His Leu Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Lys His Pro

165 170 175
Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln Glu Gly Gln
180 185 190
Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gln
195 200 205
Gln Glu Gly Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu
210 215 220
Leu Pro Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Leu Pro Gln Gln Gln Glu
225 230 235 240

Gly Gln Leu Glu Leu Ser Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Leu Ser
245 250 255
Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Lys His Leu Glu His Gln Glu Gly Gln
260 265 270
Leu Glu Val Pro Glu Glu Gln Met Gly Gln Leu Lys Tyr Leu Glu Gln
275 280 285
Gln Glu Gly Gln Leu Lys His Leu Asp Gln Gln Glu Lys Gln Pro Glu
290 295 300
Leu Pro Glu Gln Gln Met Gly Gln Leu Lys His Leu Glu Gln Gln Glu

305 310 315 320
Gly Gln Pro Lys His Leu Glu Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Gln Leu
325 330 335
Glu Glu Gln Glu Gly Gln Leu Lys His Leu Glu Gln Gln Glu Gly Gln
340 345 350
Leu Glu His Leu Glu His Gln Glu Gly Gln Leu Gly Leu Pro Glu Gln
355 360 365
Gln Val Leu Gln Leu Lys Gln Leu Glu Lys Gln Gln Gly Gln Pro Lys

370 375 380

His Leu Glu Glu Glu Glu Gly Gln Leu Lys His Leu Val Gln Gln Glu
385 390 395 400
Gly Gln Leu Lys His Leu Val Gln Gln Glu Gly Gln Leu Glu Gln Gln
405 410 415
Glu Arg Gln Val Glu His Leu Glu Gln Gln Val Gly Gln Leu Lys His
420 425 430
Leu Glu Glu Gln Glu Gly Gln Leu Lys His Leu Glu Gln Gln Gln Gly
435 440 445
Gln Leu Glu Val Pro Glu Gln Gln Val Gly Gln Pro Lys Asn Leu Glu

450 455 460
Gln Glu Glu Lys Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln Glu Gly Gln Val
465 470 475 480
Lys His Leu Glu Lys Gln Glu Ala Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gln Gln
485 490 495
Val Gly Gln Pro Lys His Leu Glu Gln Gln Glu Lys His Leu Glu His
500 505 510
Pro Glu Gln Gln Asp Gly Gln Leu Lys His Leu Glu Gln Gln Glu Gly
515 520 525

Gln Leu Lys Asp Leu Glu Gln Gln Lys Gly Gln Leu Glu Gln Pro Val
530 535 540
Phe Ala Pro Ala Pro Gly Gln Val Gln Asp Ile Gln Pro Ala Leu Pro
545 550 555 560
Thr Lys Gly Glu Val Leu Leu Pro Val Glu His Gln Gln Gln Lys Gln
565 570 575
Glu Val Gln Trp Pro Pro Lys His Lys
580 585

<210> 5
<211> 142
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Arg Leu Ser Trp Phe Arg Val Leu Thr Val Leu Ser Ile Cys Leu
1 5 10 15

Ser Ala Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala Glu Gly Lys Arg Lys Leu Gln
20 25 30

Ile Gly Val Lys Lys Arg Val Asp His Cys Pro Ile Lys Ser Arg Lys
35 40 45

Gly Asp Val Leu His Met His Tyr Thr Gly Lys Leu Glu Asp Gly Thr
50 55 60

Glu Phe Asp Ser Ser Leu Pro Gln Asn Gln Pro Phe Val Phe Ser Leu

65 70 75 80

Gly Thr Gly Gln Val Ile Lys Gly Trp Asp Gln Gly Leu Leu Gly Met
85 90 95

Cys Glu Gly Glu Lys Arg Lys Leu Val Ile Pro Ser Glu Leu Gly Tyr
100 105 110

Gly Glu Arg Gly Ala Pro Pro Lys Ile Pro Gly Gly Ala Thr Leu Val
115 120 125

Phe Glu Val Glu Leu Leu Lys Ile Glu Arg Arg Thr Glu Leu
130 135 140

<210> 6

<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Asp Ala Leu Gln Leu Ala Asn Ser Ala Phe Ala Val Asp Leu Phe
1 5 10 15

Lys Gln Leu Cys Glu Lys Glu Pro Leu Gly Asn Val Leu Phe Ser Pro
20 25 30

Ile Cys Leu Ser Thr Ser Leu Ser Leu Ala Gln Val Gly Ala Lys Gly
35 40 45

Asp Thr Ala Asn Glu Ile Gly Gln Val Leu His Phe Glu Asn Val Lys

50 55 60

Asp Val Pro Phe Gly Phe Gln Thr Val Thr Ser Asp Val Asn Lys Leu
65 70 75 80
Ser Ser Phe Tyr Ser Leu Lys Leu Ile Lys Arg Leu Tyr Val Asp Lys
85 90 95
Ser Leu Asn Leu Ser Thr Glu Phe Ile Ser Ser Thr Lys Arg Pro Tyr
100 105 110
Ala Lys Glu Leu Glu Thr Val Asp Phe Lys Asp Lys Leu Glu Glu Thr
115 120 125

Lys Gly Gln Ile Asn Asn Ser Ile Lys Asp Leu Thr Asp Gly His Phe
130 135 140
Glu Asn Ile Leu Ala Asp Asn Ser Val Asn Asp Gln Thr Lys Ile Leu
145 150 155 160
Val Val Asn Ala Ala Tyr Phe Val Gly Lys Trp Met Lys Lys Phe Ser
165 170 175
Glu Ser Glu Thr Lys Glu Cys Pro Phe Arg Val Asn Lys Thr Asp Thr
180 185 190
Lys Pro Val Gln Met Met Asn Met Glu Ala Thr Phe Cys Met Gly Asn

195 200 205
Ile Asp Ser Ile Asn Cys Lys Ile Ile Glu Leu Pro Phe Gln Asn Lys
210 215 220
His Leu Ser Met Phe Ile Leu Leu Pro Lys Asp Val Glu Asp Glu Ser
225 230 235 240
Thr Gly Leu Glu Lys Ile Glu Lys Gln Leu Asn Ser Glu Ser Leu Ser
245 250 255
Gln Trp Thr Asn Pro Ser Thr Met Ala Asn Ala Lys Val Lys Leu Ser
260 265 270

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

Lys Val Cys Leu Glu Ile Thr Glu Asp Gly Gly Asp Ser Ile Glu Val
325 330 335
Pro Gly Ala Arg Ile Leu Gln His Lys Asp Glu Leu Asn Ala Asp His

340 345 350
Pro Phe Ile Tyr Ile Ile Arg His Asn Lys Thr Arg Asn Ile Ile Phe
355 360 365
Phe Gly Lys Phe Cys Ser Pro
370 375

<210> 7
<211> 482
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7

Met Val Met Glu Lys Pro Ser Pro Leu Leu Val Gly Arg Glu Phe Val
1 5 10 15
Arg Gln Tyr Tyr Thr Leu Leu Asn Lys Ala Pro Glu Tyr Leu His Arg
20 25 30

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

100 105 110
Val Leu Ala Pro Glu Gly Ser Val Pro Asn Lys Phe Tyr Val His Asn
115 120 125
Asp Met Phe Arg Tyr Glu Asp Glu Val Phe Gly Asp Ser Glu Pro Glu
130 135 140
Leu Asp Glu Glu Ser Glu Asp Glu Val Glu Glu Glu Gln Glu Glu Arg

145 150 155 160

Gln Pro Ser Pro Glu Pro Val Gln Glu Asn Ala Asn Ser Gly Tyr Tyr

165 170 175

Glu Ala His Pro Val Thr Asn Gly Ile Glu Glu Pro Leu Glu Glu Ser

180 185 190

Ser His Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ser Glu Thr Lys Thr Glu Glu

195 200 205

Leu Lys Pro Gln Val Glu Glu Lys Asn Leu Glu Glu Leu Glu Glu Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Lys Ala Phe Ser Trp Ala Ser Val Thr Ser Lys Asn Leu Pro Pro

245 250 255

Ser Gly Thr Val Ser Ser Ser Gly Ile Pro Pro His Val Lys Ala Pro

260 265 270

Val Ser Gln Pro Arg Val Glu Ala Lys Pro Glu Val Gln Ser Gln Pro

275 280 285

Pro Arg Val Arg Glu Gln Arg Pro Arg Glu Arg Pro Gly Phe Pro Pro

290 295 300

Arg Gly Pro Arg Pro Gly Arg Gly Asp Met Glu Gln Asn Asp Ser Asp

305 310 315 320

Asn Arg Arg Ile Ile Arg Tyr Pro Asp Ser His Gln Leu Phe Val Gly

325 330 335

Asn Leu Pro His Asp Ile Asp Glu Asn Glu Leu Lys Glu Phe Phe Met

340 345 350

Ser Phe Gly Asn Val Val Glu Leu Arg Ile Asn Thr Lys Gly Val Gly

355 360 365

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

370 375 380

Val Gln Arg Ile Leu Ile Ala Lys Pro Ile Met Phe Arg Gly Glu Val

385 390 395 400

Arg Leu Asn Val Glu Glu Lys Lys Thr Arg Ala Ala Arg Glu Arg Glu
405 410 415
Thr Arg Gly Gly Gly Asp Asp Arg Arg Asp Ile Arg Arg Asn Asp Arg
420 425 430
Gly Pro Gly Gly Pro Arg Gly Ile Val Gly Gly Gly Met Met Arg Asp
435 440 445
Arg Asp Gly Arg Gly Pro Pro Pro Arg Gly Gly Met Ala Gln Lys Leu
450 455 460

Gly Ser Gly Arg Gly Thr Gly Gln Met Glu Gly Arg Phe Thr Gly Gln
465 470 475 480
Arg Arg

<210> 8
<211> 801
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 8
Met Ala Ser Ala Pro Pro Ala Ser Pro Pro Gly Ser Glu Pro Pro Gly
1 5 10 15
Pro Asp Pro Glu Pro Gly Gly Pro Asp Gly Pro Gly Ala Ala Gln Leu
20 25 30
Ala Pro Gly Pro Ala Glu Leu Arg Leu Gly Ala Pro Val Gly Gly Pro

35 40 45
Asp Pro Gln Ser Pro Gly Leu Asp Glu Pro Ala Pro Gly Ala Ala Ala
50 55 60
Asp Gly Gly Ala Arg Trp Ser Ala Gly Pro Ala Pro Gly Leu Glu Gly
65 70 75 80
Gly Pro Arg Asp Pro Gly Pro Ser Ala Pro Pro Pro Arg Ser Gly Pro
85 90 95
Arg Gly Gln Leu Ala Ser Pro Asp Ala Pro Gly Pro Gly Pro Arg Ser
100 105 110

Glu Ala Pro Leu Pro Glu Leu Asp Pro Leu Phe Ser Trp Thr Glu Glu

115 120 125

Pro Glu Glu Cys Gly Pro Ala Ser Cys Pro Glu Ser Ala Pro Phe Arg

130 135 140

Leu Gln Gly Ser Ser Ser Ser His Arg Ala Arg Gly Glu Val Asp Val

145 150 155 160

Phe Ser Pro Phe Pro Ala Pro Thr Ala Gly Glu Leu Ala Leu Glu Gln

165 170 175

Gly Pro Gly Ser Pro Pro Gln Pro Ser Asp Leu Ser Gln Thr His Pro

180 185 190

Leu Pro Ser Glu Pro Val Gly Ser Gln Glu Asp Gly Pro Arg Leu Arg

195 200 205

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

210 215 220

Glu Asp Phe Ile Gln Phe Ala Thr Val Tyr Gly Ala Glu Gln Val Lys

225 230 235 240

Asp Leu Thr Lys Tyr Leu Asp Pro Ser Gly Leu Gly Val Ile Ser Phe

245 250 255

Glu Asp Phe Tyr Gln Gly Ile Thr Ala Ile Arg Asn Gly Asp Pro Asp

260 265 270

Gly Gln Cys Tyr Gly Gly Val Ala Ser Ala Gln Asp Glu Glu Pro Leu

275 280 285

Ala Cys Pro Asp Glu Phe Asp Asp Phe Val Thr Tyr Glu Ala Asn Glu

290 295 300

Val Thr Asp Ser Ala Tyr Met Gly Ser Glu Ser Thr Tyr Ser Glu Cys

305 310 315 320

Glu Thr Phe Thr Asp Glu Asp Thr Ser Thr Leu Val His Pro Glu Leu

325 330 335

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

340 345 350

Glu Cys Leu Asp Ala Met Glu Glu Pro Asp His Gly Ala Leu Leu Leu

355 360 365

Leu Pro Gly Arg Pro His Pro His Gly Gln Ser Val Ile Thr Val Ile

370 375 380

Gly Gly Glu Glu His Phe Glu Asp Tyr Gly Glu Gly Ser Glu Ala Glu

385 390 395 400

Leu Ser Pro Glu Thr Leu Cys Asn Gly Gln Leu Gly Cys Ser Asp Pro

405 410 415

Ala Phe Leu Thr Pro Ser Thr Asp Pro Leu Ala Ala Lys Leu His Ser

420 425 430

Ile Leu Thr Asp Glu Ala Phe Glu Phe Tyr Cys Ser Gln Cys His Lys

435 440 445

Gln Ile Asn Arg Leu Glu Asp Leu Ser Ala Arg Leu Ser Asp Leu Glu

450 455 460

Met Asn Ser Pro Thr Lys Arg Leu Ser Ser Lys Lys Val Ala Arg Tyr

465 470 475 480

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

485 490 495

Pro Glu Leu Met Glu Gly Pro Glu Glu Asp Ile Ala Asp Lys Val Val

500 505 510

Phe Leu Glu Arg Arg Val Leu Glu Leu Glu Lys Asp Thr Ala Ala Thr

515 520 525

Gly Glu Gln His Ser Arg Leu Arg Gln Glu Asn Leu Gln Leu Val His

530 535 540

Arg Ala Asn Ala Leu Glu Glu Gln Leu Lys Glu Gln Glu Leu Arg Ala

545 550 555 560

Cys Glu Met Val Leu Glu Glu Thr Arg Arg Gln Lys Glu Leu Leu Cys

565 570 575

Lys Met Glu Arg Glu Lys Ser Ile Glu Ile Glu Asn Leu Gln Thr Arg

580 585 590

Leu Gln Gln Leu Asp Glu Glu Asn Ser Glu Leu Arg Ser Cys Thr Pro

595 600 605

Cys Leu Lys Ala Asn Ile Glu Arg Leu Glu Glu Glu Lys Gln Lys Leu

610 615 620

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

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

755 760 765
Ile Gln Lys Gln Glu Glu Ile Asn Phe Arg Leu Gln Asp Tyr Ile Asp
770 775 780
Arg Ile Ile Val Ala Ile Met Glu Thr Asn Pro Ser Ile Leu Glu Val
785 790 795 800
Lys

<210> 9
<211> 1691
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9
Met Leu Ile Asn Lys Leu Trp Leu Leu Leu Val Thr Leu Cys Leu Thr
1 5 10 15

Glu Glu Leu Ala Ala Ala Gly Glu Lys Ser Tyr Gly Lys Pro Cys Gly

20 25 30

Gly Gln Asp Cys Ser Gly Ser Cys Gln Cys Phe Pro Glu Lys Gly Ala

35 40 45

Arg Gly Arg Pro Gly Pro Ile Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Pro Gln

50 55 60

Gly Phe Thr Gly Ser Thr Gly Leu Ser Gly Leu Lys Gly Glu Arg Gly

65 70 75 80

Phe Pro Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Gly Pro Lys Gly Asp Lys Gly Pro

85 90 95

Met Gly Val Pro Gly Phe Leu Gly Ile Asn Gly Ile Pro Gly His Pro

100 105 110

Gly Gln Pro Gly Pro Arg Gly Pro Pro Gly Leu Asp Gly Cys Asn Gly

115 120 125

Thr Gln Gly Ala Val Gly Phe Pro Gly Pro Asp Gly Tyr Pro Gly Leu

130 135 140

Leu Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Gln Lys Gly Ser Lys Gly Asp Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Gly Leu Asp Gly Ile Thr Gly Pro Gln Gly Ala Pro Gly Phe Pro

180 185 190

Gly Ala Val Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly Leu Gln Gly Pro Pro Gly

195 200 205

Pro Pro Gly Pro Leu Gly Pro Asp Gly Asn Met Gly Leu Gly Phe Gln

210 215 220

Gly Glu Lys Gly Val Lys Gly Asp Val Gly Leu Pro Gly Pro Ala Gly

225 230 235 240

Pro Pro Pro Ser Thr Gly Glu Leu Glu Phe Met Gly Phe Pro Lys Gly

245 250 255

Lys Lys Gly Ser Lys Gly Glu Pro Gly Pro Lys Gly Phe Pro Gly Ile

260 265 270

Ser Gly Pro Pro Gly Phe Pro Gly Leu Gly Thr Thr Gly Glu Lys Gly

275 280 285

Glu Lys Gly Glu Lys Gly Ile Pro Gly Leu Pro Gly Pro Arg Gly Pro

290 295 300

Met Gly Ser Glu Gly Val Gln Gly Pro Pro Gly Gln Gln Gly Lys Lys

305 310 315 320

Gly Thr Leu Gly Phe Pro Gly Leu Asn Gly Phe Gln Gly Ile Glu Gly

325 330 335

Gln Lys Gly Asp Ile Gly Leu Pro Gly Pro Asp Val Phe Ile Asp Ile

340 345 350

Asp Gly Ala Val Ile Ser Gly Asn Pro Gly Asp Pro Gly Val Pro Gly

355 360 365

Leu Pro Gly Leu Lys Gly Asp Glu Gly Ile Gln Gly Leu Arg Gly Pro

370 375 380

Ser Gly Val Pro Gly Leu Pro Ala Leu Ser Gly Val Pro Gly Ala Leu

385 390 395 400

Gly Pro Gln Gly Phe Pro Gly Leu Lys Gly Asp Gln Gly Asn Pro Gly

405 410 415

Arg Thr Thr Ile Gly Ala Ala Gly Leu Pro Gly Arg Asp Gly Leu Pro

420 425 430

Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Ser Pro Glu Phe Glu Thr Glu

435 440 445

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

450 455 460

Gly Pro Lys Gly Asn Leu Gly Leu Lys Gly Ile Lys Gly Asp Ser Gly

465 470 475 480

Phe Cys Ala Cys Asp Gly Gly Val Pro Asn Thr Gly Pro Pro Gly Glu

485 490 495

Pro Gly Pro Pro Gly Pro Trp Gly Leu Ile Gly Leu Pro Gly Leu Lys

500 505 510

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

515 520 525

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

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

660 665 670
Gly Phe Pro Gly Pro Lys Gly Ser Arg Gly Leu Pro Gly Thr Pro Gly
675 680 685
Gln Pro Gly Ser Ser Gly Ser Lys Gly Glu Pro Gly Ser Pro Gly Leu
690 695 700
Val His Leu Pro Glu Leu Pro Gly Phe Pro Gly Pro Arg Gly Glu Lys
705 710 715 720
Gly Leu Pro Gly Phe Pro Gly Leu Pro Gly Lys Asp Gly Leu Pro Gly
725 730 735

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

Lys Gly Val His Gly Lys Pro Gly Leu Leu Gly Pro Lys Gly Glu Arg
785 790 795 800
Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Gln Val Gly Gln Pro Gly Thr Pro Gly

805 810 815
Ser Ser Gly Pro Tyr Gly Ile Lys Gly Lys Ser Gly Leu Pro Gly Ala
820 825 830
Pro Gly Phe Pro Gly Ile Ser Gly His Pro Gly Lys Lys Gly Thr Arg
835 840 845
Gly Lys Lys Gly Pro Pro Gly Ser Ile Val Lys Lys Gly Leu Pro Gly
850 855 860
Leu Lys Gly Leu Pro Gly Asn Pro Gly Leu Val Gly Leu Lys Gly Ser
865 870 875 880

Pro Gly Ser Pro Gly Val Ala Gly Leu Pro Ala Leu Ser Gly Pro Lys
885 890 895
Gly Glu Lys Gly Ser Val Gly Phe Val Gly Phe Pro Gly Ile Pro Gly
900 905 910
Leu Pro Gly Ile Pro Gly Thr Arg Gly Leu Lys Gly Ile Pro Gly Ser
915 920 925
Thr Gly Lys Met Gly Pro Ser Gly Arg Ala Gly Thr Pro Gly Glu Lys
930 935 940
Gly Asp Arg Gly Asn Pro Gly Pro Val Gly Ile Pro Ser Pro Arg Arg

945 950 955 960
Pro Met Ser Asn Leu Trp Leu Lys Gly Asp Lys Gly Ser Gln Gly Ser
965 970 975
Ala Gly Ser Asn Gly Phe Pro Gly Pro Arg Gly Asp Lys Gly Glu Ala
980 985 990
Gly Arg Pro Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Ala Pro Gly Leu Pro Gly
995 1000 1005
Ile Ile Lys Gly Val Ser Gly Lys Pro Gly Pro Pro Gly Phe Met Gly
1010 1015 1020

Ile Arg Gly Leu Pro Gly Leu Lys Gly Ser Ser Gly Ile Thr Gly Phe

1025 1030 1035 1040

Pro Gly Met Pro Gly Glu Ser Gly Ser Gln Gly Ile Arg Gly Ser Pro

1045 1050 1055

Gly Leu Pro Gly Ala Ser Gly Leu Pro Gly Leu Lys Gly Asp Asn Gly

1060 1065 1070

Gln Thr Val Glu Ile Ser Gly Ser Pro Gly Pro Lys Gly Gln Pro Gly

1075 1080 1085

Glu Ser Gly Phe Lys Gly Thr Lys Gly Arg Asp Gly Leu Ile Gly Asn

1090 1095 1100

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

1105 1110 1115 1120

Gly Asp Val Gly Leu Pro Gly Ala Pro Gly Phe Pro Gly Val Ala Gly

1125 1130 1135

Met Arg Gly Glu Pro Gly Leu Pro Gly Ser Ser Gly His Gln Gly Ala

1140 1145 1150

Ile Gly Pro Leu Gly Ser Pro Gly Leu Ile Gly Pro Lys Gly Phe Pro

1155 1160 1165

Gly Phe Pro Gly Leu His Gly Leu Asn Gly Leu Pro Gly Thr Lys Gly

1170 1175 1180

Thr His Gly Thr Pro Gly Pro Ser Ile Thr Gly Val Pro Gly Pro Ala

1185 1190 1195 1200

Gly Leu Pro Gly Pro Lys Gly Glu Lys Gly Tyr Pro Gly Ile Gly Ile

1205 1210 1215

Gly Ala Pro Gly Lys Pro Gly Leu Arg Gly Gln Lys Gly Asp Arg Gly

1220 1225 1230

Phe Pro Gly Leu Gln Gly Pro Ala Gly Leu Pro Gly Ala Pro Gly Ile

1235 1240 1245

Ser Leu Pro Ser Leu Ile Ala Gly Gln Pro Gly Asp Pro Gly Arg Pro

1250 1255 1260

Gly Leu Asp Gly Glu Arg Gly Arg Pro Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly

1265 1270 1275 1280

Pro Pro Gly Pro Ser Ser Asn Gln Gly Asp Thr Gly Asp Pro Gly Phe

1285 1290 1295

Pro Gly Ile Pro Gly Pro Lys Gly Pro Lys Gly Asp Gln Gly Ile Pro

1300 1305 1310

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

1315 1320 1325

Glu Pro Gly Phe Met Gly Thr Pro Gly Lys Val Gly Pro Pro Gly Asp

1330 1335 1340

Pro Gly Phe Pro Gly Met Lys Gly Lys Ala Gly Pro Arg Gly Ser Ser

1345 1350 1355 1360

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

1365 1370 1375

Val Pro Pro Gly Pro Leu Gly Leu Pro Gly Ile Asp Gly Ile Pro Gly

1380 1385 1390

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

1395 1400 1405

Lys Gly Leu Pro Gly Ile Pro Gly Lys Asp Gly Pro Ser Gly Leu Pro

1410 1415 1420

Gly Pro Pro Gly Ala Leu Gly Asp Pro Gly Leu Pro Gly Leu Gln Gly

1425 1430 1435 1440

Pro Pro Gly Phe Glu Gly Ala Pro Gly Gln Gln Gly Pro Phe Gly Met

1445 1450 1455

Pro Gly Met Pro Gly Gln Ser Met Arg Val Gly Tyr Thr Leu Val Lys

1460 1465 1470

His Ser Gln Ser Glu Gln Val Pro Pro Cys Pro Ile Gly Met Ser Gln

1475 1480 1485

Leu Trp Val Gly Tyr Ser Leu Leu Phe Val Glu Gly Gln Glu Lys Ala

1490 1495 1500

His Asn Gln Asp Leu Gly Phe Ala Gly Ser Cys Leu Pro Arg Phe Ser

1505 1510 1515 1520

Thr Met Pro Phe Ile Tyr Cys Asn Ile Asn Glu Val Cys His Tyr Ala

1525 1530 1535

Arg Arg Asn Asp Lys Ser Tyr Trp Leu Ser Thr Thr Ala Pro Ile Pro
1540 1545 1550
Met Met Pro Val Ser Gln Thr Gln Ile Pro Gln Tyr Ile Ser Arg Cys
1555 1560 1565
Ser Val Cys Glu Ala Pro Ser Gln Ala Ile Ala Val His Ser Gln Asp
1570 1575 1580
Ile Thr Ile Pro Gln Cys Pro Leu Gly Trp Arg Ser Leu Trp Ile Gly
1585 1590 1595 1600

Tyr Ser Phe Leu Met His Thr Ala Ala Gly Ala Glu Gly Gly Gly Gln
1605 1610 1615
Ser Leu Val Ser Pro Gly Ser Cys Leu Glu Asp Phe Arg Ala Thr Pro
1620 1625 1630
Phe Ile Glu Cys Ser Gly Ala Arg Gly Thr Cys His Tyr Phe Ala Asn
1635 1640 1645
Lys Tyr Ser Phe Trp Leu Thr Thr Val Glu Glu Arg Gln Gln Phe Gly
1650 1655 1660
Glu Leu Pro Val Ser Glu Thr Leu Lys Ala Gly Gln Leu His Thr Arg

1665 1670 1675 1680
Val Ser Arg Cys Gln Val Cys Met Lys Ser Leu
1685 1690

<210> 10
<211> 431
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10
Met Arg Ala Leu Leu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
1 5 10 15
Asp Ser Lys Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile

35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile

50 55 60

Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly

65 70 75 80

Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser

85 90 95

Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu

100 105 110

Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg

115 120 125

Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln

130 135 140

Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro

145 150 155 160

Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg

165 170 175

Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp

180 185 190

Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val

195 200 205

Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His

210 215 220

Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly

225 230 235 240

Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val

245 250 255

Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His

260 265 270

His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys

275 280 285

Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr

290 295 300

Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys

305 310 315 320

Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val

325 330 335

Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly

340 345 350

Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys

355 360 365

Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu

370 375 380

Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys

385 390 395 400

Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu

405 410 415

Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu

420 425 430

<210> 11

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Ala Pro Gly Ala Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Ile Leu Ala Val

1 5 10 15

Leu Leu Phe Ser Ser Leu Val Leu Ser Pro Ala Gln Ala Ile Val Val

20 25 30

Tyr Thr Asp Arg Glu Val His Gly Ala Val Gly Ser Arg Val Thr Leu

35 40 45

His Cys Ser Phe Trp Ser Ser Glu Trp Val Ser Asp Asp Ile Ser Phe

50 55 60

Thr Trp Arg Tyr Gln Pro Glu Gly Gly Arg Asp Ala Ile Ser Ile Phe

65 70 75 80

His Tyr Ala Lys Gly Gln Pro Tyr Ile Asp Glu Val Gly Thr Phe Lys

85 90 95

Glu Arg Ile Gln Trp Val Gly Asp Pro Arg Trp Lys Asp Gly Ser Ile
100 105 110
Val Ile His Asn Leu Asp Tyr Ser Asp Asn Gly Thr Phe Thr Cys Asp
115 120 125
Val Lys Asn Pro Pro Asp Ile Val Gly Lys Thr Ser Gln Val Thr Leu
130 135 140
Tyr Val Phe Glu Lys Val Pro Thr Arg Tyr Gly Val Val Leu Gly Ala
145 150 155 160
Val Ile Gly Gly Val Leu Gly Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe

165 170 175
Tyr Val Val Arg Tyr Cys Trp Leu Arg Arg Gln Ala Ala Leu Gln Arg
180 185 190
Arg Leu Ser Ala Met Glu Lys Gly Lys Leu His Lys Pro Gly Lys Asp
195 200 205
Ala Ser Lys Arg Gly Arg Gln Thr Pro Val Leu Tyr Ala Met Leu Asp
210 215 220
His Ser Arg Ser Thr Lys Ala Val Ser Glu Lys Lys Ala Lys Gly Leu
225 230 235 240

Gly Glu Ser Arg Lys Asp Lys Lys Arg Leu Ala Gly Arg Ala Gly Asp
245 250 255
Arg Gly Leu Gly Val Glu Ser Ala Lys Gly Pro Lys Val Met Val Ile
260 265 270
Glu Met Glu Leu Arg Lys Asp Glu Gln Ser Pro Glu Leu Arg Pro Ala
275 280 285
Val Lys Ser Pro Ser Arg Thr Ser Leu Lys Asn Ala Leu Lys Asn Met
290 295 300
Met Gly Leu Asn Ser Asp Lys

305 310