



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0112811
(43) 공개일자 2020년10월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) C12N 15/86 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/70571 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7016109
- (22) 출원일자(국제) 2018년11월27일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년06월04일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/062575
- (87) 국제공개번호 WO 2019/104307
국제공개일자 2019년05월31일
- (30) 우선권주장
62/590,911 2017년11월27일 미국(US)
62/659,911 2018년04월19일 미국(US)

- (71) 출원인
코다 바이오테라퓨틱스 인코포레이티드
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 세컨드 플로어 오이스터 포인트 블러바드 151
- (72) 발명자
그린버그 케네스 피.
미국 94705 캘리포니아 버클리 더 업랜즈 240
키퍼 오리온 주니어
미국 94306 캘리포니아 팔로 알토 하노버 스트리트 2080
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인(유한)케이비케이

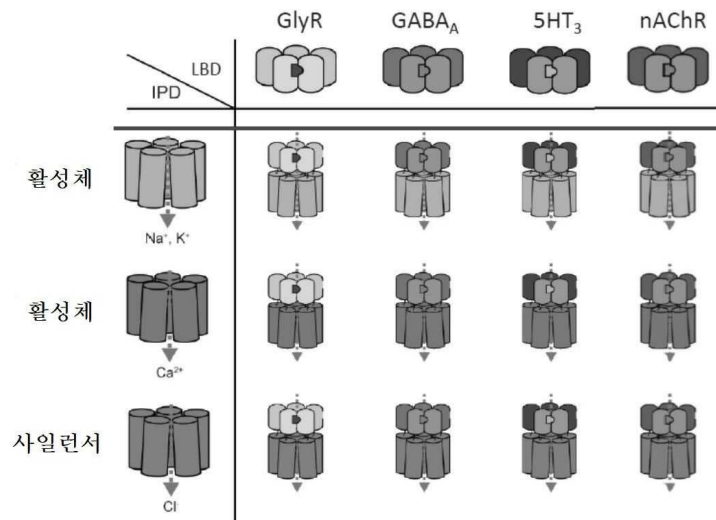
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) 발명의 명칭 **신경퇴행성 질환에 대한 조성물 및 방법**

(57) 요약

조작된 수용체, 폴리뉴클레오타이드 암호화된 조작된 수용체, 및 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자 요법 벡터를 이용하여 세포의 활성을 조절하는 조성물 및 방법이 제공된다. 이들 조성물 및 방법은, 예를 들어, 질환의 치료에서 또는 뉴런회로의 연구에서 뉴런의 활성을 조절함에 있어서 특정 용도를 발견한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)

C12N 15/86 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

(72) 발명자

매킨슨 스테파니

미국 94306 캘리포니아 팔로 알토 하노버 스트리트
2080

라우 앤서니

미국 94063 캘리포니아 레드우드 시티 아파트먼트
102 하울랜드 스트리트 280

명세서

청구범위

청구항 1

조작된 수용체(engineered receptor)로서, 상기 조작된 수용체는 키메라 리간드 개폐성 이온 통로(ligand gated ion channel: LGIC) 수용체이고,

- (a) 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인,
- (b) 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터의 Cys-루프 도메인; 및
- (c) 상기 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 수용체는 상기 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터의 β 1-2 루프 도메인을 더 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체와 상기 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 상이한, 조작된 수용체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 인간 α 7 니코틴 아세틸콜린 수용체(α 7-nAChR, 서열번호 4)인, 조작된 수용체.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 인간 글리신 수용체 α 1 소집단(GlyR α 1, 서열번호 2)인, 조작된 수용체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 Cys-루프 도메인은 서열번호 2의 아미노산 166 내지 180을 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 Cys-루프 도메인은 서열번호 2의 아미노산 166 내지 172를 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 β 1-2 루프 도메인은 서열번호 2의 아미노산 81 내지 84를 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리간드 결합 도메인은 W77, Y94, R101, W108, Y115, T128, N129, V130, L131, Q139, L141, Y151, S170, W171, S172, S188, Y190, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택되는 α 7-nAChR의 잔기에 대응하는 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 조작된 수용체.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 치환은, 상기 수용체 상에서 아세틸콜린의 효능을 감소시키는 한편 상기 수용체 상에서 비천연 리간드의 효능을 실질적으로 유지하는 기능 상실 돌연변이(loss of function

mutation)인, 조작된 수용체.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 치환은 $\alpha 7$ -nAChR의 L131S, L131T, L131D 또는 S172D에 대응하는 치환으로부터 선택되는, 조작된 수용체.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 비천연 리간드는 AZD-0328, TC6987, ABT-126 및 파시니클린(Facinicline)/RG3487로부터 선택되는, 조작된 수용체.

청구항 13

제9항에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 치환은 상기 수용체 상에서 아세틸콜린의 효능을 증가시키는 기능 획득 돌연변이(gain of function mutation)인, 조작된 수용체.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 치환은 $\alpha 7$ -nAChR의 L131N, L141W, S170G, S170A, S170L, S170I, S170V, S170P, S170F, S170M, S170T, S170C, S172T, S172C, S188I, S188V, S188F, S188M, S188Q, S188T, S188P 또는 S188W에 대응하는 치환으로부터 선택되는, 조작된 수용체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 조작된 수용체를 암호화하는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 16

제15항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 벡터.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 벡터는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 및 단순포진-1 바이러스 벡터(HSV-1)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 벡터.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 AAV 벡터는 AAV5 또는 이의 변이체, AAV6 또는 이의 변이체 또는 AAV9 또는 이의 변이체인, 벡터.

청구항 19

제15항에 따른 폴리뉴클레오타이드 또는 제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 벡터 및 약제학적으로 허용 가능한 비히클을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 20

신경 장애의 개선이 필요한 대상체에서의 신경 장애의 개선 방법으로서,

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 조작된 리간드-개폐성 이온 통로(LGIC) 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계, 및

결합제를 상기 대상체에게 투여하는 단계로서, 상기 결합제는 상기 조작된 LGIC 수용체의 작용제로서 작용하는, 상기 투여하는 단계

를 포함하는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 비-바이러스 방법에 의해 상기 대상체에게 투여되는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 비-바이러스 방법은 리포펙션, 나노입자 전달, 유전자총법, 전기천공법, 음파처리 또는 미량주사법인, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 상기 대상체에게 바이러스 벡터로 전달되는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 또는 단순포진-1 바이러스 벡터(HSV-1)인, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 AAV 벡터는 AAV5 또는 이의 변이체, AAV6 또는 이의 변이체 또는 AAV9 또는 이의 변이체인, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 26

제20항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 수용체는 흥분성 세포에서 활성인 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 흥분성 세포는 뉴런 또는 근세포인, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 뉴런은 후근 신경절, 운동 뉴런, 흥분성 뉴런, 저해 뉴런 또는 감각 뉴런인, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 29

제20항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 통증, 발작장애, 운동장애, 식이장애, 척수손상, 신경인성 방광, 경직 장애 또는 가려움증을 앓고 있는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 30

제20항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 알츠하이머병, 파킨슨병, 외상 후 스트레스 장애(PTSD), 위식도 역류질환(GERD), 중독, 불안, 우울증, 기억 상실, 치매, 수면 무호흡증, 뇌졸중, 기면증, 요실금, 수전증, 운동장애 또는 심방 세동을 앓고 있는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 31

제20항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합체는 AZD0328, ABT-126, TC6987 또는 파시니클린/RG3487로 이루어진 군으로부터 선택되는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 32

제20항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 피하로, 경구로, 초내로(intrathecally), 국소로, 정맥내로, 신경절내로, 신경내로, 두개내로, 척수내로, 또는 대조(cisterna magna)에 투여되는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 33

제20항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합체는 경구로, 피하로, 국소로 또는 정맥내로 투여되는, 신경 장애의 개선 방법.

청구항 34

제20항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인, 신경 장애의 개선 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호참조**

[0002] 미국 특허법(35 U.S.C. § 119 (e))에 의하여, 2017년 11월 27일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/590,911호 및 2018년 4월 19일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/659,911호의 출원일에 대한 우선권을 주장하며; 이들 기초출원의 전체 개시내용은 본 명세서에 참조에 의해 포함된다.

[0003] **전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본 출원과 관련된 서열목록은 종이 사본 대신에 텍스트 형식으로 제공되며, 본 명세서에 참조에 의해 포함된다. 서열목록을 포함하는 텍스트 파일의 명칭은 SWCH_012_04WO_ST25.txt이다. 텍스트 파일은 178kb이며, 2018년 11월 27일에 생성되었고, EFS-Web을 통해 전자적으로 제출 중에 있다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 개시내용은 조작된 수용체(engineered receptor) 및 세포 활성을 조절하고 질환을 치료하기 위한 조작된 수용체 및 소분자 리간드의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 난치성 신경학적 질환은 종종 비정상적으로 작용하는 뉴런과 연관된다. 이들 병태를 치료하기 위한 요법을 개발하는 시도는 질환과 연관된 다루기 쉬운 표적 단백질의 결여에 의해 방해받는다. 예를 들어, 변함없이 계속되는 만성 통증은 미국 및 전세계에서 중요한 건강 문제이다. 의학 연구소(Institute of Medicine)에 의한 보고는 1억 1천 6백만명의 미국인이 몇 주 내지 몇 년 동안 지속되는 통증을 앓고 있으며, 연간 5억 6천만 달러를 초과하는 비용이 발생하는 것으로 추정하였다. 만성 통증 환자에 대한 적절한 장기간의 요법은 없으며, 사회와 개인들 다에 대해 상당한 비용을 야기한다. 통증은 종종 무능력을 초래하며, 무능력이 아닐 때조차, 삶의 질에 대한 엄청난 효과를 가진다. 통증 치료는 케어 전달 환경이 최적의, 예컨대 주의 깊은, 잘 훈련된 의사; 오피오이드에 대한 준비된 접근; 보조 진통제의 사용; 환자-통제된 무통증의 이용 가능성; 및 신경블록 및 IT 펌프와 같은 절차의 증거에 기반한 사용일 때조차 빈번하게 실패한다.

[0008] 만성 통증에 대해 가장 통상적으로 사용되는 요법은 오피오이드 진통제 및 비스테로이드성 항-염증 약물의 적용이지만, 이들 약물은 중독을 야기할 수 있고, 부작용, 예컨대 약물의존성, 내약성, 호흡억제, 진정, 인지실패, 환각 및 기타 진신성 부작용을 야기할 수 있다. 약제의 넓은 용법에도 불구하고, 통증 경감에서 이의 유효성을 위한 낮은 성공률이 있다. 다양한 의약에 의한 거대 무작위 연구는 적어도 50% 통증 경감을 달성하는 2명 또는 3명마다의 환자 중 한명에서만 발견되었다(Finnerup *et al.*, 2005). 가장 발전된 약학적 치료를 이용하는 후속 연구는 동일한 결과를 발견하였는데, 이는 통증에 대한 의약의 효능에서 개선이 없었다는 것을 나타낸다(Finnerup *et al.*, *Pain*, 150(3):573-81, 2010).

[0009] 통증 치료를 위한 더 침습적인 선택사항은 신경블록 및 전기 자극을 포함한다. 신경블록은 뇌에 대한 통증 신호 전달 방해하기 위한 보통 척수에서의 국소 마취 주사이며, 이 효과는 몇 주 내지 몇 개월 지속된다. 신경블록은 대부분의 경우에 권장되는 치료 선택사항이 아니다(Mailis and Taenzer, *Pain Res Manag.* 17(3):150-158, 2012). 전기적 자극은 통증 신호를 차단하기 위해 전류를 제공하는 것을 수반한다. 효과는 신경블록보다 더 길게 지속될 수 있지만, 합병증은 전기 리드 그 자체: 전위, 감염, 파손, 배터리 소모에 의해 일어난다. 본 발명자들의 검토는 신경병증에 대해 전기 자극으로 치료된 환자의 40%가 장치에 의한 이들 문제 중 하나 이상을 경험하였다는 것을 발견하였다(Wolter, 2014).

[0010] 통증을 관리하기 위한 대부분의 침습적이고, 덜 바람직한 방법은 통증을 야기하고 있는 신경 또는 이의 절편의 완전한 수술적 제거이다. 이 선택사항은 환자가 탈진상태이며, 전자 및 다른 덜 침습적인 치료가 비효과적인 것이 발견되었을 때에만 권장된다. 고주파 신경 절제술은 문제가 있는 신경을 파괴하기 위해 열을 사용하며, 신경블록보다 더 긴 통증 경감을 제공한다. 그러나, 한 연구는 만성 요천골 뿌리 통증에 대한 DRG의 부분적 고주파

열응고술에서 대조군과 치료군 간에 차이가 없다는 것을 발견하였다(Geurts *et al.*, 2003). 통증 신경을 수술적으로 제거하기 위한 다른 수술적 방법은 유사한 단점을 겪고 있으며, 감각 또는 운동 결함을 비롯한 장기간의 심각한 부작용을 갖거나, 다른 곳에서의 통증을 야기한다.

[0011] 신경 장애를 치료하기 위한 방법은 안전하고, 효율적이며, 비용 효과적이어야 한다. 유전자 요법은 통증 관리를 포함하는 다양한 신경퇴행성 질환에 대한 비침습적 치료 선택사항을 제공할 수 있었다. 그러나, 지금까지, 유전자 요법 방법은 신경퇴행성 질환의 치료에서의 광범위한 용도를 발견하지 못하였다. 본 개시내용은 이들 필요를 처리한다.

발명의 내용

[0012] 조작된 수용체, 폴리뉴클레오타이드 암호화된 조작된 수용체, 및 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자 요법 벡터를 이용하여 세포의 활성을 조절하는 조성물 및 방법이 제공된다. 이들 조성물 및 방법은, 예를 들어, 질환의 치료에서 또는 뉴런회로의 연구에서 뉴런의 활성을 조절함에 있어서 특정 용도를 발견한다.

[0013] 본 개시내용의 일부 양상에서, 본 개시내용은 조작된 수용체에 관한 것이되, 조작된 수용체는 키메라 리간드 개폐성 이온 통로(ligand gated ion channel: LGIC) 수용체이고, 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인, 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터의 Cys-루프 도메인; 및 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체와 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 동일하다. 다른 실시형태에서, 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체와 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 상이하다. 일부 실시형태에서, 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 아세틸콜린 수용체(AchR), 예를 들어, $\alpha 7$ -nAChR; 글리신 수용체(GlyR), 예를 들어, GlyR $\alpha 1$; λ -아미노뷰티르산(GABA) 수용체; 및 세로토닌 수용체, 예를 들어, 5HT3으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 아세틸콜린 수용체(AchR), 예를 들어, $\alpha 7$ -nAChR; 글리신 수용체(GlyR), 예를 들어, GlyR $\alpha 1$; λ -아미노뷰티르산(GABA) 수용체; 및 세로토닌 수용체, 예를 들어, 5HT3으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 제1 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 $\alpha 7$ -nAChR이다. 특정 실시형태에서, 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체는 GlyR $\alpha 1$ 이다. 일부 이러한 실시형태에서, Cys-루프 도메인은 GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 166 내지 180을 포함한다. 다른 이러한 실시형태에서, Cys-루프 도메인은 GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 166 내지 172를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 조작된 수용체는 서열번호 33에 대해 85% 이상의 서열 동일성을 가진다. 일부 실시형태에서, 수용체는 제2 야생형 Cys-루프 LGIC 수용체로부터의 $\beta 1$ -2 루프 도메인을 추가로 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, $\beta 1$ -2 루프 도메인은 GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 81 내지 84를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 조작된 수용체는 서열번호 41에 대해 85% 이상의 서열 동일성을 가진다.

[0014] 일부 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 W77, Y94, R101, W108, Y115, T128, N129, V130, L131, Q139, L141, Y151, S170, W171, S172, S188, Y190, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택되는 $\alpha 7$ -nAChR의 잔기에 대응하는 잔기에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 수용체 상에서 아세틸콜린의 효능을 감소시키는 한편, 수용체 상에서 비천연 리간드의 효능을 실질적으로 유지하는 기능 상실 돌연변이(loss of function mutation)이다. 특정의 이러한 실시형태에서, 치환은 $\alpha 7$ -nAChR의 L131S, L131T, L131D 또는 S172D에 대응하는 치환으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 비천연 리간드는 AZD-0328, TC6987, ABT-126 및 파시니클린/RG3487로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 수용체 상에서 아세틸콜린의 효능을 증가시키는 기능 획득 돌연변이이다. 특정의 이러한 실시형태에서, 치환은 $\alpha 7$ -nAChR의 L131N, L141W, S170G, S170A, S170L, S170I, S170V, S170P, S170F, S170M, S170T, S170C, S172T, S172C, S188I, S188V, S188F, S188M, S188Q, S188T, S188P 또는 S188W에 대응하는 치환으로부터 선택된다.

[0015] 본 개시내용의 일부 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 본 개시내용의 일부 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터에 관한 것이다. 본 개시내용의 일부 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 및 약제학적으로 허용 가능한 비히클을 포함하는, 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0016] 본 개시내용의 일부 양상에서, 본 개시내용은 조작된 수용체에 관한 것이되, 조작된 수용체는 리간드 개폐성 이온 통로(LGIC) 수용체이고, (a) 제1 야생형 LGIC 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인으로서, 야생형 수용

체에 비해 리간드 결합 도메인 기능을 변화시키는 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함하는, 상기 리간드 결합 도메인; 및 (b) 제2 야생형 LGIC 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 아미노산 돌연변이는 기능 상실 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 아미노산 돌연변이는 기능 획득 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 아미노산 돌연변이는 기능 상실 돌연변이와 기능 획득 돌연변이 둘 다이며, 즉, 기능 상실 및 기능 획득을 제공하는 돌연변이는 동일한 돌연변이이다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 기능 상실 아미노산 돌연변이 및 적어도 하나의 기능 획득 아미노산 돌연변이는 리간드 결합 도메인의 상이한 아미노산 잔기에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 제1 야생형 LGIC 수용체와 제2 야생형 LGIC 수용체는 동일하다. 일부 실시형태에서, 제1 야생형 LGIC 수용체와 제2 야생형 LGIC 수용체는 상이하다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 Cys-루프 수용체 LGIC이다. 일부 이러한 실시형태에서, 제1 야생형 LGIC 수용체 및/또는 제2 야생형 LGIC 수용체는 글리신 수용체(GlyR), λ -아미노뷰티르산(GABA) 수용체, 세로토닌 수용체 및 아세틸콜린 수용체(AchR)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 ATP-개폐성 양이온 통로 수용체, 내향성 칼륨 통로 수용체(Kir), 칼륨 전압-개폐성 통로 수용체 및 ATP-결합 카세트 수송체 수용체로부터 선택된다.

[0017] 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 GABA_A 수용체이다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 5 하이드록시트립타민(5-HT₃) 수용체이다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 니코틴 AchR(nAchR)이다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 P2X 수용체이다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 KCNQ 또는 K_v7 수용체이다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 수용체 및/또는 제2 LGIC 수용체는 낭포성 섬유증 막횡단 전도 조절(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: CFTR) 수용체이다.

[0018] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 등가동의(homomeric) 수용체이다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 이가동의(heteromeric) 수용체이다.

[0019] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 천연 또는 야생형, 리간드 결합 도메인에 대해 99%, 98%, 97%, 95% 미만 또는 90% 미만으로 상동성인 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 야생형 리간드 결합 도메인에 대해 85% 이상의 서열 동일성을 공유하는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 야생형, 리간드 결합 도메인에 대해 90% 이상의 서열 동일성을 공유하는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 야생형, 리간드 결합 도메인에 대해 95% 이상의 서열 동일성을 공유하는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 리간드 결합 도메인 내로 도입되는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 오류 유발 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction: PCR)에 의해 리간드 결합 도메인 내로 도입된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 부위 지정 돌연변이유발에 의해 리간드 결합 도메인 내로 도입된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 드노보 유전자 합성에 의해 리간드 결합 도메인 내로 도입된다.

[0020] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 조작된 수용체에 대해 내인성 리간드의 결합을 저해하거나 조작된 수용체에 대해 내인성 리간드의 결합 친화도를 감소시키는 적어도 하나의 기능 상실 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 조작된 수용체에 대한 결합체의 결합 친화도를 증가시키거나 조작된 수용체 상에서 결합체의 효과를 조절하는 적어도 하나의 기능 획득 아미노산 돌연변이를 포함한다.

[0021] 일부 실시형태에서, 아미노산 돌연변이의 적어도 하나의 기능 획득은 작용제 리간드에 대한 야생형 수용체의 친화도에 비해 작용제 리간드에 대한 조작된 수용체의 친화도를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 작용제 리간드는 ABT-089, ABT-126, ABT-418, ABT-894, 알파돌론(Alfadolone), AQW-051, AZD0328, AZD7325, 바스미사닐(Basmisanil), 빌로발라이드(Bilobalide), 칸나비다이올(Cannabidiol), (이텔릭체)(Cilansetron), CP-409092, DDP733, EVP-6124, GTS-21, 입타칼림(Iptakalim), MK-0777/L83098, MDL-27531, MEM-3454/RG3487, MEM-63908, Moxidectin, NRX-1050, NRX-1060, P-9939, PH-399733, QH-ii-066, 라파스티넬(Rapastinel), 렌자프라이드(Renzapride), 레티가빈(Retigabine), S-18841, SL-75102, SL-651498, SR-57227, SSR-180711 및 TC-5619/AT-101로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 리간드는 AZD0328, ABT-126, AQW-051, 칸나비다이올, 실란세트론, PH-399733, FACINICLINE/RG3487/MEM-3454 및 TC-5619/AT-101로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0022] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 기능 획득 돌연변이는 길항제 리간드가 작용제 리간드로서 작용하도록 초래

한다. 일부 실시형태에서, 길항제 리간드는 468816, ACEA-2085, DA-9701, 에슬리카바제핀 아세테이트 (Eslicarbazepine acetate), 가베스티넬(Gavestinel), GV-196771, GW-468816, HMR-2371, L-695902, L-701324, MDL-100748, MDL-102288, MDL-105519, PD-165650, 테다티옥세틴(Tedatioxetine), UK-315716 및 ZD-9379로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0023] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 기능 획득 아미노산 돌연변이는 조절제 리간드가 작용제 리간드로서 작용하도록 초래한다. 일부 실시형태에서, 조절제 리간드는 AQW-051, AZD7325, CTP-656, 가베스티넬 및 이버멕틴 (Ivermectin)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0024] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 GlyR로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 GABA 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 nAChR로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 5HT₃으로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 P2X 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 Kir 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 KCNQ 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 CFTR 수용체로부터 유래된 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0025] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 GlyR로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 GABA 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 nAChR이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 5HT₃ 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 P2X 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 Kir 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 KCNQ 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 CFTR 수용체로부터 유래된 이온 포어 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 비-탈감작성 돌연변이를 포함한다.

[0026] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 바이러스 벡터를 포함한다. 일부 실시형태에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 또는 단순포진-1 바이러스 벡터(HSV-1)이다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 및 AAVrh10으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV5, AAV6 및 AAV9로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 및 AAVrh10으로 이루어진 군으로부터 선택된 벡터로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV-5, AAV-6 또는 AAV-9로부터 유래된다.

[0027] 본 개시내용의 일부 양상에서, 조작된 리간드-개폐성 이온 통로(LGIC) 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계, 및 결합제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 신경 장애의 치료가 필요한 대상체에서의 신경 장애의 치료 방법이 제공되되, 상기 결합제는 조작된 LGIC 수용체의 작용제로서 작용한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 비-바이러스 방법에 의해 대상체에게 전달된다. 일부 실시형태에서, 비-바이러스 방법은 리포펙션, 나노입자 전달, 유전자총법, 전기천공법, 음파처리 또는 미량주사법이다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 대상체에게 바이러스 벡터로 전달된다. 일부 실시형태에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 또는 단순포진-1 바이러스 벡터(HSV-1)이다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV5, AAV6 및 AAV9로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 및 AAVrh10으로 이루어진 군으로부터 선택된 벡터로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, AAV 벡터는 AAV-5, AAV-6 또는 AAV-9로부터 유래된다.

[0028] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 흥분성 세포에서 조작된 수용체를 발현시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 흥분성 세포는 뉴런 또는 근세포이다. 일부 실시형태에서, 뉴런은 후근 신경절, 운동 뉴런, 흥분성 뉴런, 저해 뉴런 또는 감각 뉴런이다.

[0029] 일부 실시형태에서, 대상체는 통증을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 발작장애를 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 운동장애를 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 식이장애를 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 척수손상을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 신경인성 방광을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 경직 장애를 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 가려움증을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 알츠하이머병, 파킨슨병, 외상 후 스트레스 장애(PTSD), 위식도 역류질환(GERD), 중독, 불안, 우울증, 기억 상실, 치매, 수면 무호흡증, 뇌졸중, 기면증, 요실금, 수전증, 운동장애 또는 심방 세동을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 결합체의 투여 후에 질환 증상을 측정하는 단계를 추가로 포함하되, 질환의 증상은 감소된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다.

[0030] 일부 실시형태에서, 결합체는 468816, ABT-089, ABT-126, ABT-418, ABT-894, ACEA-2085, 알파돌론, AQW-051, AZD0328, AZD7325, 바스미사닐, 빌로발라이드, 칸나비다이올, 실란세트론, CP-409092, CTP-656, DA-9701, DDP733, 에슬리카바제핀 아세테이트, EVP-6124, 가베스티넬, 가베스티넬, GTS-21, GV-196771, GW-468816, HMR-2371, 입타칼림, L-695902, L-701324, MK-0777/L83098, MDL-100748, MDL-102288, MDL-105519, MDL-27531, MEM-3454/RG3487, MEM-63908, Moxidectin, NRX-1050, NRX-1060, P-9939, PD-165650, PH-399733, QH-ii-066, 라파스티넬, 레티가빈, S-18841, SL-75102, SL-651,498, SR-57227, SSR-180,711, TC-5619/AT-101, 테다티옥세틴, UK-315716 및 ZD-9379로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 리간드는 AZD0328, ABT-126, AQW-051, 칸나비다이올, 실란세트론, PH-399733, FACINICLINE/RG3487/MEM-3454 및 TC-5619/AT-101로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 및/또는 결합체는 피하로, 경구로, 초내로 (intrathecally), 국소로, 정맥내로, 신경절내로, 두개내로, 척수내로, 대조(cisterna magna) 또는 신경내로 투여된다. 본 방법의 일부 실시형태에서, 결합체는 폴리뉴클레오타이드의 적어도 1주 후에 투여된다.

[0031] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 조작된 수용체, 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드 또는 본 명세서에 기재된 바이러스 벡터를 포함하는 조성물을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0032] 본 개시내용은 수반하는 도면과 함께 읽을 때 다음의 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해하게 된다. 특허 또는 출원 파일은 컬러로 실행된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 컬러 도면(들)과 함께 본 특허 또는 특허 출원의 사본은 요청하고, 필요한 수수료를 지불하면 특허청에 의해 제공될 것이다. 통상적인 실행에 따르면, 도면의 다양한 특징은 일정한 비율이 아니라는 것이 강조된다. 대조적으로, 다양한 특징의 치수는 명확함을 위해 임의로 확장되거나 감소된다. 도면에 다음과 같은 도면이 포함된다:

도 1은 예시적인 조작된 키메라 LGIC 수용체의 개략도를 도시한 도면.

도 2는 본 개시내용의 조작된 LGIC 수용체 및 이의 돌연변이체의 개발 및 특성규명을 위한 프로토콜의 개략도를 도시한 도면.

도 3은 천연 리간드인 아세틸콜린에 대한 몇몇 기능적 CHRNA7/GLRA1 키메라 수용체의 용량-반응 곡선의 예를 도시한 도면. 이들 수용체는 1초 적용될 때 리간드 아세틸콜린의 여러 용량에 반응한 내향 전류를 나타낸다. 전압 클램프 기록은 통로를 일시적으로 발현시키는 HEK293T 세포에서 수행되고, 앙상블(Ensemble) 모드에서 자동 패치 클램프 시스템(이온플럭스(IonFlux))(플럭시온 바이오사이언시즈(Fluxion Biosciences))를 이용하여 동시에 패치된(patched) 최대 20개의 세포로부터 합산되는 전도도 전류에 대응한다.

도 4a 내지 도 4f는 아세틸콜린뿐만 아니라 비천연 리간드 TC-6987, AZD-0328 및 파시니클린/RG3487에 대한 야생형 알파-7 nAChR 및 다양한 조작된 키메라 LGIC 수용체의 리간드-독립적 반응 프로파일을 도시한 도면. 수용체는 HEK293T 세포에서 일시적으로 발현되고, 약물 첨가 1초 후에 자동 패치 클램프 시스템(플럭시온 바이오사이언시즈) 상에서 전류가 측정된다. 도 4a는 야생형 알파-7 nAChR을 이용한 결과를 나타낸다. 도 4b는 서열번호 16을 이용한 결과를 나타낸다. 도 4c는 서열번호 35를 이용한 결과를 나타낸다. 도 4d는 서열번호 33을 이용한 결과를 나타낸다. 도 4e는 서열번호 41을 이용한 결과를 나타낸다. 도 4f는 서열번호 37을 이용한 결과를 나타낸다. 실선 박스: 인간 야생형 α7-nAChR로부터의 단백질 서열. 줄무늬 박스: 인간 알파1 글리신 수용체로부터의 단백질 서열. 용량은 상기 각각의 기록을 나타낸다, 스케일바 = 1s. 도 4a에서의 전류는 단일 세포 방식으로 측정되며, 추적은 기록당 1개의 세포로부터의 전도도를 나타낸다. 도 4b 내지 도 4f에서의 전류는 앙상블 모드에서 측정되었고, 추적은 기록당 샘플링된 최대 20개의 세포로부터의 전도도 합계를 나타내며, 기록은 통과된 QC를 회색으로 복합 중앙값 추적을 검정색으로 나타낸다.

도 5a 내지 도 5f는 아세틸콜린에 대해서 뿐만 아니라 비천연 리간드 ABT-126, TC-6987, AZD-0328 및 파시니클

린/RG3487에 대해 제노푸스(*Xenopus*) 난모세포에서 발현된 야생형 알파-7 nAChR 및 다양한 조작된 키메라 LGIC 수용체의 리간드-의존적 반응 프로파일을 도시한 도면. 도 5a 내지 도 5b는 아세틸콜린, 니코틴 및 ABT-126(도 5a) 및 TC-6987, AZD-0328, 및 파시니클린/RG3487(도 5b)에 대한 야생형 α 7-nAChR의 반응 프로파일을 나타낸다. 도 5c 내지 도 5d는 아세틸콜린, 니코틴, 및 ABT-126(도 5c) 및 TC-6987, AZD-0328 및 파시니클린/RG3487(도 5d)에 대한 서열번호 33의 반응 프로파일을 나타낸다. 도 5e 내지 도 5f는 아세틸콜린, 니코틴, 및 ABT-126(도 5e) 및 TC-6987, AZD-0328 및 파시니클린/RG3487(도 5f)에 대한 서열번호 41의 반응 프로파일을 나타낸다. 각각의 패널 상부를 가로질러 열거된 바와 같은 화합물의 증가된 용량의 적용 5 내지 10초 후에 수동 패치 클램프 상에서 전류를 측정하였다. 좌측 패널, 지정 수용체를 발현시키는 난모세포에서의 예시적인 전류. 우측에 나타난 농도-반응 곡선으로부터 추정되는 각각의 리간드에 대한 EC_{50} 은 별표로 표시하는 한편, 야생형 α 7-nAChR에 대한 EC_{50} 의 이동은 검정 화살표로 표시한다. 우측 패널, 좌측에 나타난 데이터로부터의 농도-반응 곡선. 전류는 최대 반응에 대한 효용에 대해 정규화된다. 데이터 지점을 통한 연속적 선은 힐 식(Hill equation)으로 얻은 최적의 적합도이다.

도 6은 시간에 따른 YFP 형광에서 퀀치(quench)에 의해 측정된 바와 같은 아세틸콜린의 증가된 농도에 대한 4가지의 상이한 조작된 키메라 LGIC 수용체(서열번호 29, 서열번호 33, 서열번호 35, 서열번호 41)의 반응을 도시한 도면. 이들 퀀치 플롯은 상이한 모 키메라가 아세틸콜린에 대해 상이한 EC_{50} 및 활성 역학을 가진다는 제2의 접근에 의해 입증한다. 아세틸콜린 자극의 시점을 화살표로 나타낸다.

도 7A 내지 도 7B는 아세틸콜린(ACH) 또는 AZD-0328에 대한 2개의 조작된 키메라 LGIC 수용체의 퀀치 플롯을 제공한 도면: 서열번호 33(도 7A) 및 서열번호 41(도 7B). 모 키메라는 상이한 리간드의 유사한 농도에 다르게 반응한다. 키메라 #41은 키메라 #33보다 ACH 또는 AZD-0328의 보다 저용량에 반응하는데, 이는 베타1-2 루프의 포함이 키메라 수용체 상에 독특한 결합 및 활성화 특성을 운반한다는 것을 나타낸다.

도 8a 내지 도 8i는 아세틸콜린 또는 AZD-0328 중 하나의 다양한 용량에 의한 자극 후에 단일 아미노산 치환을 포함하는 조작된 키메라 서열번호 33의 돌연변이체에서 YFP 형광의 퀀치%의 히트맵을 제공하는 도면. 도 8a 내지 도 8f는 아세틸콜린과 AZD-0328 둘 다에 대한 반응(감소된 민감도)에서 우측 이동을 나타내는 돌연변이체를 나타내는데, 이는 화합물 둘 다에 의한 결합 및 활성화에 중요한 아미노산의 중복을 입증한다. 도 8g는 아세틸콜린에 반응하여 좌측 이동을 나타내지만, AZD-0328에 반응하여 우측 이동을 나타내는 돌연변이체를 나타내는데, 이는 단일 돌연변이가 리간드에 대한 반응을 분리시키는 능력을 입증한다. 도 8h는 모 키메라에 비해 아세틸콜린에 대해 훨씬 우측의 이동을 나타내지만 AZD-0328에 반응한 유의한 변화가 없는 돌연변이체를 나타내는데, 이는 다른 리간드에 의한 활성화에 영향을 미치는 일 없이 단일 돌연변이가 아세틸콜린에 의한 활성화를 유의하게 감소시키는 능력을 입증한다. 도 8i는 아세틸콜린과 AZD-0328 둘 다에 대한 반응의 강한 좌측 이동(증가된 민감성)을 나타내는 돌연변이체를 나타낸다. 리간드 용량은 각각의 차트 상부를 가로질러 기재된다(각각의 용량에 대해 $n=2$). 박스의 숫자는 관찰된 퀀치의 절대적 양을 나타낸다. 진한 청색 = YFP 리포터의 80% 최대 퀀치. 밝은 청색 = 30 내지 80%의 퀀치. 백색 = 10 내지 30%. 오렌지색 = 0 내지 10% 퀀치. 음의 값은 자극 인공물때문에 음의 퀀치를 갖는 비-반응자를 나타낸다. 서열번호 29는 음성 대조군으로서 사용되는 비-반응 키메라이다.

도 9A 내지 도 9B는 아세틸콜린 및 AZD-0328에 대한 조작된 키메라 서열번호 33의 선택 돌연변이체의 용량 반응 곡선을 제공한 도면. 도 9A는 치환 L131S(속이 빈 정사각형), L131T(속이 빈 위쪽으로 향하는 삼각형), 및 S172D(속이 빈 아래쪽으로 향하는 삼각형)을 포함하는 돌연변이체의 반응을 나타내며, 돌연변이되지 않은 서열번호 33(속이 빈 원)에 비해 아세틸콜린에 대한 용량 반응 곡선에서 훨씬 우측의 이동(즉, EC_{50} 에서 2 log(10배) 증가)을 입증한다. 대조적으로, W77M 치환(속이 빈 다이아몬드)은 아세틸콜린에 대한 용량 반응의 이동 없음을 나타낸다. 도 9B는 L131S(속이 빈 정사각형), L131T(속이 빈 위쪽으로 향하는 삼각형) 및 S172D(속이 빈 아래쪽으로 향하는 삼각형)에서 치환을 포함하는 돌연변이체의 반응을 나타내고, 돌연변이되지 않은 서열번호 33 키메라에 비해 AZD-0328에 대한 용량 반응에서의 약간의 우측 이동(즉, EC_{50} 에서 1 log 증가)을 초래하는 한편, W77M 치환은 용량 반응에서 극적인 우측 이동(EC_{50} 에서 2 log 증가 초과)을 생성한다.

도 10a 내지 도 10d는 조작된 키메라에서의 단일 아미노산 치환(서열번호 33)이 아세틸 콜린 이상으로 비천연 리간드에 대해 우선적 반응을 부여하는 방법을 도시하는 전기 생리학적 데이터를 제공한다. 도 10a는 L131S의 치환이 키메라 서열번호 33에 비해 아세틸콜린의 EC_{50} 에서 상당한 우측 이동(80배)을 야기하는 한편(도 4e 참조), AZD-0328에 대한 EC_{50} 이 단지(2배) 우측으로 이동된다는 것을 나타낸다. 도 10b는 S172D의 치환이 모 키메

라에 비해 아세틸콜린의 EC₅₀에서 상당한 우측 이동(58배)을 야기하는 한편, S172D 상의 AZD-0328에 대한 EC₅₀이 단지 2배) 우측으로 이동된다는 것을 나타낸다. 도 10c는 W77M의 치환이 모 키메라에 비해 아세틸콜린의 EC₅₀에서 보통의 좌측 이동(2배)을 야기한 한편, W77M 상의 AZD-0328에 대한 EC₅₀은 상당히 우측으로 이동된다(2.5 log 초과)는 것을 나타낸다. 도 10d는 L131T의 치환이 모 키메라에 비해 아세틸콜린의 EC₅₀에서 상당한 우측 이동(대략 2.5 log)을 야기하는 한편, 이 돌연변이체 상의 AZD-0328에 대한 EC₅₀은 보통의 우측 이동을 나타낸다(대략 1 log)는 것을 나타낸다. 별표는 L131S 상의 각각의 리간드에 대한 추정된 EC₅₀을 표시한다. 화살표는 서열번호 33에 대한 EC₅₀의 이동 정도를 나타낸다. 삼각형은 야생형 α7-nAChR 상의 각각의 리간드에 대한 추정된 EC₅₀을 표시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] **A. 개요**
- [0034] 조작된 리간드 개폐성 이온 통로(LGIC) 수용체, 폴리뉴클레오타이드 암호화된 조작된 LGIC 수용체, 및 조작된 LGIC 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자 요법 벡터를 이용하여 세포의 활성을 조절하는 조성물 및 방법이 제공된다. 이들 조성물 및 방법은 뉴런, 예를 들어, 질환의 치료에서 또는 뉴런회로의 연구에서, 뉴런의 활성을 조절함에 있어서 특정 용도를 발견한다. 추가로, 대상 방법을 실행함에 있어서 용도를 발견하는 시약, 장치 및 이의 키트가 제공된다.
- [0035] 특히, 본 개시내용은 공지된 약물, 리간드 및/또는 결합체에 결합하고 이에 반응하여 신호전달하는 조작된 수용체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조작된 수용체는 공지된 작용제 결합체에 대해 증가된 친화도를 입증한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조작된 수용체는 길항제 또는 조절제 결합체에 대한 친화도를 입증하며, 이들이 작용제인 것과 같이 길항제 및/또는 조절제에 반응한다. 본 개시내용은 신경퇴행성 질환의 치료가 필요한 대상체에서 신경퇴행성 질환을 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 야생형 내인성 수용체와 별개인 방식으로 공지된 약물에 반응하는 조작된 수용체를 이용함으로써 공지된 약물이 사용될 수 있다는 임상적 적응증의 수를 증가시킨다.
- [0036] 본 방법 및 조성물을 기재하기 전에, 본 개시내용은 기재된 특정 방법 또는 조성물로 제한되지 않으며, 이들은 물론 달라질 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한 본 명세서에서 사용되는 용어는 단지 특정의 실시형태를 기재하는 목적을 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 하는데, 본 개시내용의 범주는 첨부하는 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문이다.
- [0037] 다양한 값이 제공되는 경우에, 문맥이 달리 분명하게 나타내지 않는 한 하한 단위의 1/10까지의 각각의 개재값, 해당 범위의 상한과 하한이 또한 구체적으로 개시된다는 것이 이해된다. 임의의 언급된 값 또는 언급된 범위 내의 개재값과 임의의 다른 언급되거나 상기 언급된 범위에서의 개재값 사이의 각각의 더 작은 범위는 본 개시내용에 포함된다. 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한은 해당 범위에 독립적으로 포함되거나 제외될 수 있고, 한계 중 하나, 둘 다가 더 작은 범위에 포함되거나 어떤 것도 포함되지 않는 각각의 범위는 또한 본 개시내용에 포함되며, 언급된 범위에서 임의의 구체적으로 제한된 한계로 처리된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우에, 한계를 포함하는 것 중 하나 또는 둘 다를 제외하는 범위가 또한 본 개시내용에 포함된다.
- [0038] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 개시내용의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 일부 잠재적이고 바람직한 방법 및 물질이 현재 기재된다. 본 명세서에 언급된 모든 간행물은 간행물과 함께 인용되는 방법 및/또는 물질을 개시하고 기재하기 위해 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 개시내용은 모순이 있는 정도로 포함된 간행물의 임의의 개시내용을 대체한다는 것이 이해된다.
- [0039] 본 개시내용을 읽을 때 당업자에 의해 분명할 바와 같이, 본 명세서에 기재되고 도시된 개개 실시형태 각각은 본 개시내용의 정신 또는 범주로부터 벗어나는 일 없이 다른 몇몇 실시형태 중 어느 것의 특징으로부터 용이하게 분리되거나 이와 조합될 수 있는 별개의 성분 및 특징을 가진다. 임의의 열거된 방법은 열거된 사건의 순서로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.
- [0040] 본 명세서에 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 전의 이들의 개시내용에 대해서만 제공된다. 본 명세서의 어떤

것도 본 개시내용이 선행 개시내용 때문에 이러한 간행물 보다 선행한다는 자격이 부여되지 않는다는 용인으로서 해석되어서는 안된다. 추가로, 제공된 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과 상이할 수 있다.

[0041] **B. 정의**

[0042] 본 명세서 및 첨부하는 청구범위에 사용되는 바와 같은 단수 형태는 문맥에서 달리 분명하게 표시되지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "세포"에 대한 언급은 복수의 이러한 세포를 포함하고, "펩타이드"에 대한 언급은 하나 이상의 펩타이드 및 이의 동등물, 예를 들어, 당업자에게 공지된 폴리펩타이드에 대한 언급을 포함한다.

[0043] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "및/또는"은 본 명세서에서 달리 표시되지 않는 한 "및" 또는 "또는"에 대해 사용된다.

[0044] 본 명세서 전체적으로, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 단어 "포함하다(comprise)", 또는 변형, 예컨대 "포함하다(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"은 언급된 요소 또는 정수 또는 요소 또는 정수의 그룹의 포함을 지칭하지만, 임의의 다른 요소 또는 정수 또는 요소 또는 정수의 그룹의 제외를 지칭하지는 않는다. 추가로, 본 명세서 전체적으로 수치 범위의 언급은 이들 사이의 모든 정수 및 소수점을 포함한다.

[0045] 본 명세서 전체적으로, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 어구 "로 본질적으로 이루어진"은 대상 개시내용의 기본적인 및 신규한 특징(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 구체화된 물질 또는 단계에 대해 기재된 조성물, 방법 또는 키트 범주의 제한을 지칭한다. 예를 들어, 개시된 서열"로 본질적으로 이루어진" 리간드 결합 도메인은 개시된 서열의 아미노산 서열 + 또는 - 서열의 경계에서 열거된 결합 중인 아미노산 잔기보다 약 5개의 아미노산 잔기, 예를 들어, 약 5개의 잔기, 4개의 잔기, 3개의 잔기, 2개의 잔기 또는 약 1개 미만의 잔기, 또는 열거된 결합 중인 아미노산 잔기보다 약 1개의 잔기, 2개의 잔기, 3개의 잔기, 4개의 잔기 또는 5개 초과 잔기를 가진다.

[0046] 문맥에서 달리 요구하지 않는 한, 본 명세서 전체적으로, 어구 "이루어진"은 청구범위에 구체화되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분의 조성물, 방법 또는 키트로부터의 제외를 지칭한다. 예를 들어, 개시된 서열"로 이루어진" 리간드 결합 도메인은 개시된 아미노산 서열만으로 이루어진다.

[0047] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 및 "대략"은 동의어로서 사용된다. 약/대략과 함께 또는 이들 없이 본 명세서에서 사용되는 임의의 숫자는 적절한 기술에서 당업자에 의해 인식되는 임의의 정상적 변동을 아우르는 것을 의미한다. 특정 실시형태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 언급되지 않는 한 또는 문맥으로부터 달리 분명하지 않다면(이러한 숫자가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우를 제외), 언급된 기준 값의 방향 중 하나(초과 또는 미만)에서 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다.

[0048] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "단리된"은 천연 상태에서 발견된 바와 같이 정상적으로 수반하는 성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없는 물질을 의미한다. 일부 실시형태에서, 용어 "얻어진" 또는 "유래된"은 단리된 과 동의어로 사용된다.

[0049] 용어 "대상체", "환자" 및 "개체"는 본 명세서에 상정된 벡터, 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 통증을 나타내는 임의의 동물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 척추동물, 바람직하게는 포유류를 지칭할 수 있다. 포유류는 뿔, 유인원, 인간, 농장 동물, 스포츠 동물 및 반려동물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 대상체(예를 들어, 환자)는 실험실 동물(예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 기니픽), 농장 동물, 및 가축 또는 반려동물(예컨대 고양이 또는 개)을 포함한다. 비인간 영장류 및 바람직하게는 인간 환자가 포함된다. 일부 실시형태에서, "샘플"은 대상체로부터 취해질 수 있다.

[0050] 용어 "샘플"은 분석이 실시되는 생물학적 물질의 용적 및/또는 질량을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 조직 샘플, 세포 샘플, 유체 샘플 등을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 대상체(예를 들어, 인간 대상체)로부터 취해지거나 대상체에 의해 제공된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 임의의 내부 기관, 암성, 전암성, 또는 비암성 종양, 뇌, 피부, 모발(뿌리를 포함), 눈, 근육, 골수, 연골, 백색 지방조직, 및/또는 갈색 지방조직으로부터 취한 조직의 일부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 유체 샘플은 구강 상피세포 채취, 혈액, 체대혈, 타액, 정액, 소변, 복수액, 흉수, 수액, 폐 세척, 눈물, 땀 등을 포함한다. 당업자는, 일부 실시형태에서, "샘플"이 공급원(예를 들어, 대상체)으로부터 직접적으로 얻어진다는 점에서 "1차 샘플"이라는 것을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, "샘플"은, 예를 들어, 성분을 잠재적으로 오염시키는 어떤 것을 제거하기 위한, 특정 성분을 단

리시킴을 위한 그리고/또는 관심 대상의 특정 성분을 정제하기 위한, 1차 샘플의 가공 결과이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 세포 또는 세포 집단(예를 들어, 뉴런 세포)이다. 세포 샘플은 대상체로부터 직접적으로 유래될 수 있거나(예를 들어, 1차 샘플) 세포주일 수 있다. 세포주는 비-포유류 세포(예를 들어, 곤충 세포, 효모 세포 및/또는 박테리아 세포) 또는 포유류 세포(예를 들어, 불멸 세포주)를 포함할 수 있다.

[0051] 본 명세서에서 사용되는 "치료하는" 또는 "치료"는 대상체 및/또는 생리학적 결과에 영향을 미치는 세포의 집단에 조성물(예를 들어, 조작된 수용체 및/또는 결합제)을 전달하는 것을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 치료는 하나 이상의 질환 증상의 개선(예를 들어, 감소, 개선 또는 교정)을 초래한다. 개선은 관찰 가능한 또는 측정 가능한 개선일 수 있거나, 대상체의 웰빙의 일반적 느낌의 개선일 수 있다. 질환 치료는 질환 증상 중증도의 감소를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 질환 개시 전과 비슷한 수준으로 질환 증상 중증도의 감소를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 질환 증상의 단기간(예를 들어, 일시적 또는 급성) 및/또는 장기간(예를 들어, 지속 또는 만성) 감소를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 질환 증상의 관해를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 질환 발생을 예방하기 위해 특정 질환이 발생할 위험에 있는 대상체의 예방적 치료를 지칭할 수 있다. 질환 발생의 예방은 질환 증상의 완전한 예방, 질환 개시의 지연, 후속적으로 발생한 질환 증상 중증도의 감소 또는 질환 발생 가능성의 감소를 지칭할 수 있다.

[0052] 본 명세서에서 사용되는, "관리" 또는 "제어하는"은 특정 질환을 앓고 있는 개체에 대해 삶의 질을 개선시키기 위해 본 명세서에 상정된 조성물 또는 방법의 사용을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 통증을 앓고 있는 대상체에 무통증을 제공한다.

[0053] "치료적 유효량"은 목적하는 치료적 결과를 달성하는 데 필요한 조성물의 양이다. 치료적 유효량은, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 질환 상태 및 연령 및 대상체의 체중에 따라 다를 수 있다. 일반적으로, 치료적 유효량은 또한 치료적으로 유리한 효과가 조성물의 임의의 독성 또는 해로운 효과보다 큰 것이다. "치료적 유효량"은 대상체를 치료하는 데 효과적인 조성물의 양을 포함한다. "예방적 유효량"은 목적하는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 조성물의 양을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 예방적 용량은 질환 전의 또는 질환의 더 초기 단계의 대상체에서 사용되기 때문에 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 수 있다.

[0054] "증가"는 기준 또는 대조군 수준에 비해 적어도 5%의 값의 증가(예를 들어, 증가된 결합 친화도, 증가된 생리학적 반응, 증가된 치료 효과 등)를 지칭한다. 예를 들어, 증가는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 500, 1000% 이상의 증가를 포함할 수 있다. 증가는 또한 기준 또는 대조군 수준보다 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배) 더 높은 증가를 의미한다.

[0055] "감소"는 기준 또는 대조군 수준에 비해 적어도 5%의 값의 감소(예를 들어, 감소된 결합 친화도, 감소된 생리학적 반응, 감소된 치료 효과 등)를 지칭한다. 예를 들어, 감소는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 500, 1000% 이상의 감소를 포함할 수 있다. 감소는 기준 또는 대조군 수준보다 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배)인 감소를 의미한다.

[0056] "유지하다" 또는 "보존하다" 또는 "유지" 또는 "변화 없음" 또는 "실질적인 변화 없음" 또는 "실질적인 감소 없음"은 일반적으로 비히클, 또는 대조군 분자/조성물에 의해 야기되는 효과와 비슷한 생리학적 및/또는 치료적 효과를 지칭한다. 비슷한 반응은 기준 반응과 유의하게 다르지 않은 또는 측정 가능하게 다르지 않은 것이다.

[0057] 용어 "기준" 또는 "대조군" 수준은 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 본 명세서에 기재된 조성물로 치료되지 않은 대상체 또는 샘플, 또는 비히클 대조군으로 치료된 대상체 또는 샘플에서 특정 생리학적 및/또는 치료적 효과의 값을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 본 명세서에 기재된 조성물의 투여 전에 대상체 또는 샘플에서의 측정인 특정 생리학적 및/또는 치료적 효과의 값(예를 들어, 기준 수준)을 지칭한다.

[0058] "수용체-리간드 결합" 및 "리간드 결합"은 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 수용체(예를 들어, LGIC)와 리간드 사이의 물리적 상호작용을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "리간드"는 내인성 또는 천연 유래 리간드를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 리간드는 신경 전달 물질(예를 들어, λ -아미노뷰티르산(GABA), 아세틸콜린, 세로토닌 및 기타) 및 신호전달 중간체(예를 들어, 포스포티딜이노시톨 4,5-비스포스페이트(PIP₂)), 아미노산(예를 들어, 글리신) 또는 뉴클레오타이드(예를 들어, ATP)를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 리간드는 비천연, 즉, 합성 또는 비자연적으로 생기는, 리간드(예를 들어, 결합제)를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 리간드는 소분자를 지칭한다. 리간드 결합은 당업계에서 공지된 다양한 방법에 의

해 측정될 수 있다(예를 들어, 방사성 표지된 리간드와의 결합 검출).

- [0059] "결합 친화도"는 일반적으로 수용체의 신호 결합 부위와 리간드의 비공유 상호작용의 총 합을 지칭한다. 달리 표시되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원(예를 들어, 수용체 및 리간드) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 지칭한다. 분자의 상대 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_d)로 나타낼 수 있다. 친화도는 본 명세서에 기재된 것을 포함하는 당업계에 공지된 통상적인 방법에 의해 측정될 수 있다.
- [0060] 용어 "특이적 결합 친화도" 또는 "특이적 결합"은 본 명세서 및 청구범위 전체적으로 상호 호환적으로 사용되고, 분자의 짝지어진 중, 예를 들어, 수용체 및 리간드 간에 생기는 결합을 지칭한다. 두 종의 상호작용이 비공유적으로 결합된 복합체를 생성할 때, 생기는 결합은 전형적으로 정전기적, 수소-결합 또는 친유성 상호작용의 결과이다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 종 사이의 특이적 결합은 직접적이다. 일 실시형태에서, 특이적 결합의 친화도는 배경 결합(비-특이적 결합)보다 약 2배 더 크거나, 배경 결합보다 약 5배 더 크거나, 배경 결합보다 약 10배 더 크거나, 배경 결합보다 약 20배 더 크거나, 배경 결합보다 약 50배 더 크거나, 배경 결합보다 약 100배 더 크거나, 또는 배경 결합보다 약 1000배 이상이다.
- [0061] "신호전달"은 수용체에 대한 리간드 결합의 결과로서(예를 들어, 본 명세서에 기재된 조작된 수용체에 대한 결합제 결합의 결과로서) 생화학적 또는 생리학적 반응의 생성을 지칭한다.
- [0062] 용어 "천연" 및 "야생형"은 천연에서 발견되는 구성물을 지칭하기 위해 본 명세서 및 청구범위 전체적으로 상호 호환적으로 사용된다.
- [0063] 용어 "비천연", "변이체" 및 "돌연변이체"는 천연 또는 야생형, 구성물의 돌연변이체, 예를 들어, 천연 또는 야생형, 서열과 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 변이체 폴리펩타이드를 지칭하기 위해 본 명세서 및 청구범위 전체적으로 상호 호환적으로 사용된다.
- [0064] 용어 "모" 또는 "개시자"는 신규한 특성을 갖는 조작된 구성물을 생성하기 위해 변형되거나 유도체화된 초기 구성물을 지칭하기 위하여 본 명세서 및 청구범위 전체적으로 상호 호환적으로 사용된다.
- [0065] 용어 "조작된"은 유도체화된 모 구성물과 별개인 특성을 갖는 비천연 유래 구성물을 지칭하기 위해 본 명세서 및 청구범위 전체적으로 사용된다.
- [0066] 일반적으로, "서열 동일성" 또는 "서열 상동성"은 각각 두 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 뉴클레오타이드-대-뉴클레오타이드 또는 아미노산-대-아미노산 대응을 지칭한다. 전형적으로, 서열 동일성을 결정하기 위한 기법은 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열을 결정하는 것 및/또는 이에 의해 암호화된 아미노산 서열을 결정하는 것, 및 이들 서열을 제2 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열과 비교하는 것을 포함한다. 둘 이상의 서열(폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산)은 이들의 "동일성 백분율"을 결정함으로써 비교될 수 있다. 핵산이든 또는 아미노산 서열이든 두 서열의 동일성 백분율은 두 정렬된 서열 사이의 정확한 매칭의 수를 더 짧은 서열의 길이로 나누고, 100을 곱한다. 동일성 백분율은 또한, 예를 들어, 미국 국립 보건원으로부터 이용 가능한 어드밴스드 BLAST 컴퓨터 프로그램(버전 2.2.9를 포함)을 이용하여 서열 정보를 비교함으로써, 결정될 수 있다. BLAST 프로그램은 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990)] 및 문헌[and as discussed in Altschul, et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Karlin And Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993); 및 Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)]에 논의되는 바와 같은 정렬 방법에 기반한다. 간략하게, BLAST 프로그램은 동일한 정렬된 기호(일반적으로 뉴클레오타이드 또는 아미노산)의 수를 두 서열 중 더 짧은 기호의 총 수로 나눈 것으로서 동일성을 정한다. 프로그램은 비교 중인 단백질의 전체 길이에 걸쳐 동일성 백분율을 결정하는 데 사용될 수 있다. 디폴트 파라미터는, 예를 들어, blastp 프로그램에 의해 더 짧은 질의 서열로 검색을 최적화하도록 제공된다. 프로그램은 또한 문헌[Wootton and Federhen, Computers and Chemistry 17:149-163 (1993)]의 SEG 프로그램에 의해 결정되는 바와 같은 질의 서열의 마스크-오프 세그먼트에 대한 SEG 필터의 사용을 가능하게 한다. 서열 동일성의 목적하는 정도의 범위는 대략 80% 내지 100% 및 개체된 정수 값이다. 전형적으로, 개시된 서열과 청구된 서열 사이의 동일성 백분율은 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 98%이다.
- [0067] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, "실질적으로 동일한"은 85% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 또는 100%인 서열 동일성을 갖는 것을 지칭하되, 구성물의 활성은 서열 동일성의 차이를 초래하는 서열의 변형에 의해 변경되지 않는다.

[0068] C.조작된 수용체

[0069] 본 개시내용은 조작된 수용체, 조작된 수용체 돌연변이체, 및 이들의 사용을 위한 방법에 관한 것이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "수용체"는 세포 표면 상에 위치되고 세포에 대한 그리고/또는 세포로부터의 신호전달을 매개할 수 있는 임의의 단백질을 지칭한다. 용어 "조작된 수용체"는 대응하는 모 수용체와 물리적으로 그리고/또는 기능적으로 별개가 되도록 실험적으로 변경된 수용체를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 모 수용체는 야생형 수용체이다. 용어 "야생형 수용체"는 천연에서 발견되는 단백질의 폴리펩타이드 서열과 동일한 폴리펩타이드 서열을 갖는 수용체를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 야생형 수용체는 인간에서 자연적으로 생기는 수용체뿐만 아니라 다른 진핵생물, 예를 들어, 원생생물, 진균, 식물 또는 동물, 예를 들어, 효모, 곤충, 선충, 해면동물, 포유류, 비포유류 척추동물에서 자연적으로 생기는 오솔로그를 포함한다. 다른 실시형태에서, 모 수용체는 비천연 수용체이고; 즉, 이는 천연에서 생기지 않는 수용체, 예를 들어, 야생형 수용체로부터 조작된 수용체이다. 예를 들어, 모 수용체는 하나의 야생형 수용체로부터의 하나 이상의 소집단을 제2 야생형 수용체로부터의 하나 이상의 소집단과 함께 포함하는 조작된 수용체일 수 있다. 따라서 얻어진 단백질은 둘 이상의 야생형 수용체로부터의 소집단을 포함한다. 본 개시내용의 조작된 수용체는, 예를 들어, 모 수용체, 모 수용체 돌연변이체 및 스위치 수용체를 포함한다.

[0070] 일부 양상에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 대응하는 모 수용체에 대한 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, 야생형 수용체의 하나 이상의 도메인에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. "아미노산 돌연변이"는 대응하는 모 서열에 대한 아미노산 서열의 임의의 차이, 예를 들어, 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 의미한다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 대응하는 모 수용체와 99%, 98%, 95%, 90%, 85%, 80%, 70%, 60%, 50% 이하의 서열 동일성을 공유한다. 일부 실시형태에서, 모 수용체 돌연변이체는 대응하는 모 수용체와 85% 이상의 서열 동일성, 예를 들어, 90% 이상 95% 이상, 예를 들어, 대응하는 모 수용체와 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 가진다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체(예를 들어, 모 수용체 돌연변이체)는 오류 유발 PCR에 의해 생성된다.

[0071] 일부 실시형태에서, 아미노산 돌연변이는 대응하는 모 수용체에 대한 기능 상실 아미노산 돌연변이이다. "기능 상실" 아미노산 돌연변이는, 예를 들어, 모 수용체에 대한 내인성 리간드의 결합에 비해 조작된 수용체에 대한 내인성 리간드의 결합을 감소시킴으로써, 또는 대응하는 모 수용체에 대한 결합체의 결합에 반응하여 전형적으로 활성화되는 조작된 수용체 하류의 신호전달 경로(들) 활성을 감소시킴으로써, 모 수용체에 대한 조작된 수용체의 기능을 감소시키거나, 실질적으로 감소시키거나, 없애는 하나 이상의 돌연변이를 지칭한다.

[0072] 일부 실시형태에서, 아미노산 돌연변이는 대응하는 모 수용체에 대한 기능 획득 아미노산 돌연변이이다. "기능 획득" 아미노산 돌연변이는, 예를 들어 모 수용체에 대한 내인성 리간드의 결합에 비해 결합체에 대한 조작된 수용체의 친화도를 변경시키거나 향상시킴으로써, 또는 대응하는 모 수용체에 대한 내인성 리간드의 결합에 비해 조작된 수용체에 대한 결합체의 결합에 반응하여 활성화된 신호전달 경로의 활성을 변경시키거나 향상시킴으로써, 모 수용체에 대한 조작된 수용체의 기능을 변형시키는 하나 이상의 돌연변이를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 기능 획득 돌연변이는 결합체에 대한 조작된 수용체의 증가된 친화도를 초래한다. 특정 실시형태에서, 기능 획득 돌연변이는 결합체에 대한 조작된 수용체의 증가된 친화도를 초래한다. 일부 실시형태에서, 기능 획득 돌연변이는 조작된 수용체에 대한 결합 시 작용제 결합체로서 작용하는 길항제 결합체를 초래한다(예를 들어, 길항제 신호전달 경로 대신에 작용제 신호전달 경로의 활성화를 초래한다). 일부 실시형태에서, 기능 획득 돌연변이는 조작된 수용체에 대한 결합 시 작용제 결합체로서 작용하는 조절제 결합체를 초래한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 대상 조작된 수용체는 대응하는 모 수용체에 비해 하나 이상의 기능 상실 아미노산 돌연변이 및 하나 이상의 기능 획득 아미노산 돌연변이를 포함한다.

[0073] 일부 실시형태에서, 기능 상실 돌연변이 및 기능 획득 돌연변이는 동일한 잔기에 있으며, 즉, 이들은 동일한 돌연변이이다. 다른 실시형태에서, 기능 돌연변이 상실 및 기능 획득 돌연변이는 상이한 아미노산 잔기에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 기능 상실 돌연변이 및/또는 기능 획득 돌연변이를 포함하는 대상 조작된 수용체는 대응하는 모 수용체, 예를 들어, 야생형 수용체 또는 비천연 수용체와 99%, 98%, 95%, 90%, 85%, 80%, 70%, 60%, 50% 이하의 서열 동일성을 공유한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 조작된 수용체는 대응하는 모 수용체와 85% 이상의 서열 동일성, 예를 들어 85%, 90% 또는 95% 이상의 서열 동일성, 일부 예에서 96%, 97%, 98% 이상의 서열 동일성, 예를 들어, 99% 또는 99.5%의 서열 동일성을 공유한다.

[0074] 일부 양상에서, 본 개시내용의 조작된 수용체는 하나의 야생형 수용체로부터의 하나 이상의 아미노산 서열, 예를 들어, 소집단과 제2 야생형 수용체로부터의 하나 이상의 아미노산 서열, 예를 들어, 소집단의 조합에 의해

생성되는 수용체를 포함한다. 다시 말해서, 조작된 수용체는 서로에 대해 이중성인 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 "이중성"은 천연에서 함께 생기지 않는다는 것을 의미한다. 이러한 수용체는 본 명세서에서 "키메라 수용체"로서 지칭된다. 일부 실시형태에서, 키메라 수용체는 본 개시내용의 조작된 수용체가 생성되는 모 수용체로서 작용한다.

[0075] 일부 실시형태에서, 모 수용체 돌연변이체는 작용제 결합체에 대한 증가된 친화도를 입증한다. 일부 실시형태에서, 야생형 수용체에 결합할 때 길항제 또는 조절제로서 작용하는 리간드 또는 결합체는 모 수용체 돌연변이체에 결합할 때 작용제로서 작용한다.

[0076] 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 "리간드-개폐성 이온 통로" 또는 LGIC이다. LGIC는 특정 리간드(예를 들어, 화학적 또는 결합체)에 의한 활성화 시 이온을 통과시키는 막관통 단백질의 거대 그룹을 지칭한다. LGIC는 적어도 2개의 도메인으로 구성된다: 리간드 결합 도메인 및 막관통 이온 포어 도메인. LGIC에 대한 리간드 결합은 LGIC의 활성화 및 이온 포어의 개방을 초래한다. 리간드 결합은 특정 이온 또는 이온들에 대한 통로 투과성의 극적인 변화를 야기하고; 통로가 비활성이거나 폐쇄될 때 어떤 이온도 효과적으로 통로를 통과할 수 없지만, 리간드 결합 시 최대 10^7 개의 이온/초로 통과할 수 있다. 일부 실시형태에서, LGIC는 세포외 리간드(예를 들어, 신경 전달 물질)에 반응하며, 사이토졸 내로의 이온 유입을 용이하게 한다. 일부 실시형태에서, LGIC는 세포내 리간드(예를 들어, ATP와 같은 뉴클레오타이드 및 PIP_2 와 같은 신호전달 중간체)에 반응하고, 사이토졸로부터 세포외 환경으로 이온의 방출을 용이하게 한다. 중요하게는, LGIC의 활성화는 세포막을 가로지른 이온(예를 들어, Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- 등)의 수송을 초래하고, 리간드 그 자체의 수송을 초래하지 않는다.

[0077] LGIC 수용체는 다중 소집단을 포함하고, 등가동의 수용체 또는 이가동의 수용체 중 하나일 수 있다. 등가동의 수용체는 모든 동일 유형인 소집단을 포함한다. 이가동의 수용체는 소집단을 포함하되, 적어도 하나의 소집단은 수용체 내에 포함된 적어도 하나의 다른 소집단과 상이하다. 예를 들어, 글리신 수용체는 두 가지 유형이 있는, 5개의 소집단을 포함한다: 4개의 아이소폼(α_1 내지 α_4)이 있는 α -소집단, 단일의 공지된 아이소폼이 있는 β -소집단. 예시적인 등가동의 GlyR은 5개의 α_1 -GlyR 소집단을 포함하는 GlyR이다. 유사하게, 등가동의 GABA_A 수용체는 β_3 -GABA_A 소집단을 포함할 수 있고, nAChR 수용체는 α_7 -nAChR 소집단을 포함할 수 있다. 예시적인 이가동의 GlyR은 하나 이상의 α -소집단 및 하나 이상의 β -소집단(예를 들어, $\alpha_1\beta$ -GlyR)를 포함할 수 있다. 예시적인 LGIC 수용체의 소집단은 표 1에 나타난다.

표 1

LGIC 수용체 및 소집단

수용체	소집단	소집단 아이소폼
GlyR	GLRA1	
	GLRA2	
	GLRB	
5HT ₃	5-HT3A	
	5-HT3B	
	5-HT3C	
	5-HT3D	
	5-HT3E	
nAChR	α	α1
		α2
		α3
		α4
		α5
		α6
		α7
		α8
		α9
		α10
	β	β1
		β2
		β3
		β4
γ	γ	
δ	δ	
ε	ε	
GABA _A	α	α1
		α2
		α3
		α4
		α5
GABA _A	α	α6
	β	β1
		β2
		β3
	γ	γ1
		γ2
		γ3
	δ	δ
	ε	ε
	π	π
	ρ	ρ1
ρ2		

[0078]

수용체	소집단	소집단 아이소폼
		$\rho 3$
P2X	P2X1	
	P2X2	
	P2X3	
	P2X4	
	P2X5	
	P2X6	
	P2X7	
KCNQ	α	K $\nu\alpha$ 1
		K $\nu\alpha$ 2
		K $\nu\alpha$ 3
		K $\nu\alpha$ 4
		K $\nu\alpha$ 5
		K $\nu\alpha$ 6
		K $\nu\alpha$ 7
		K $\nu\alpha$ 8
		K $\nu\alpha$ 9
		K $\nu\alpha$ 10
		K $\nu\alpha$ 11
		K $\nu\alpha$ 12
	β	K $\nu\beta$ 1
		K $\nu\beta$ 2
		K $\nu\beta$ 3
		minK
		MiRP1
		MiRP2
		MiRP3
		KCNE1-유사
		KCNIP1
		KCNIP2
KCNIP3		
KCNIP4		

[0079]

[0080]

특정 실시형태에서 사용하는 데 적합한 LGIC 패밀리의 예시적인 예는 Cys-루프 수용체, 예컨대 글리신 수용체 (GlyR), 세로토닌 수용체(예를 들어, 5-HT₃ 수용체), λ -아미노뷰티르산 A(GABA-A) 수용체, 및 니코틴 아세틸콜린 수용체(nAChR)뿐만 아니라; 산-감지(양성자-개폐성) 이온 통로(ASIC), 상피 나트륨 통로(ENaC), 이오노트로픽 글루탐산염 수용체, IP₃ 수용체, P2X 수용체, 리아노딘(Ryanodine) 수용체, 및 아연 활성화 통로(Zinc activated channel: ZAC)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0081]

본 명세서에 기재된 방법과 함께 사용하기에 적합한 LGIC의 특정 비제한적 예는 HTR3A; HTR3B; HTR3C; HTR3D; HTR3E; ASIC1; ASIC2; ASIC3; SCNN1A; SCNN1B; SCNN1D; SCNN1G; GABRA1; GABRA2; GABRA3; GABRA4; GABRA5; GABRA6; GABRB1; GABRB2; GABRB3; GABRG1; GABRG2; GABRG3; GABRD; GABRE; GABRQ; GABRP; GABRR1; GABRR2; GABRR3; GLRA1; GLRA2; GLRA3; GLRA4; GLRB; GRIA1; GRIA2; GRIA3; GRIA4; GRID1; GRID2; GRIK1; GRIK2; GRIK3; GRIK4; GRIK5; GRIN1; GRIN2A; GRIN2B; GRIN2C; GRIN2D; GRIN3A; GRIN3B; ITPR1; ITPR2; ITPR3; CHRNA1; CHRNA2; CHRNA3; CHRNA4; CHRNA5; CHRNA6; CHRNA7; CHRNA9; CHRNA10; CHRN1; CHRN2; CHRN3; CHRN4; CHRNG; CHRND; CHRNE; P2RX1; P2RX2; P2RX3; P2RX4; P2RX5; P2RX6; P2RX7; RYR1; RYR2; RYR3; 및 ZACN을 포함한다.

[0082]

TRPV1, TRPM8 및 P2X₂는 구조적 특징뿐만 아니라 개폐성 원칙을 공유하는 거대 LGIC 패밀리의 구성원이다. 예를 들어, TRPV1과 유사한 TRPV4는 또한 열에 의해 촉발되지만, 캡사이신에 의해서는 촉발되지 않고; P2X₃은 ATP에 의해 촉발되지만, P2X₂보다 더 빠르게 탈감작화된다. 따라서, TRPV1, TRPM8 및 P2X₂는 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 LGIC의 비제한적 예이다.

[0083]

일 실시형태에서, 조작된 수용체는 TRPV1 또는 TRPM8 수용체 또는 이들의 뮤테인이다. TRPV1 및 TRPM8은 말초 신경계의 통각 수용 뉴런에 의해 발현되는 바닐로이드 및 멘톨 수용체이다. 통로는 둘 다 비-선택적, 나트륨- 및 칼슘-침투성 동중삼량체로서 작용하는 것으로 생각된다. 추가로, 통로와 이들의 주된 작용제--캡사이신 및

쿨링 화합물, 예컨대 멘톨 각각은 사실상 중추 신경계에 없다. 캅사이신, 및 멘톨 및 이실린(icilin)을 비롯한 일부 쿨링 화합물은 광불안정 차단기에 대한 잠재적 수용자(acceptor) 부위를 함유한다. 이러한 수용자와 광불안정 차단기의 결합은 활성 리간드를 방출함으로써 광이 간접적 촉발자로서 작용하는 리간드-개폐성 이온 통로를 초래한다.

[0084] 일 실시형태에서, 조작된 수용체는 $P2X_2$ 수용체 또는 이의 뮤테인이다. $P2X_2$ 는 느린 속도의 탈감작에 의해 구별되는 ATP-개폐성 비-선택적 양이온 통로이다. $P2X_2$ 는 탈분극성 전류의 선택적으로 처리 가능한 공급원으로서 사용될 수 있고, 천연 작용제를 함께 결합하는 조작된 통로-리간드 조합의 생성을 위한 플랫폼을 제시한다.

[0085] 본 개시내용의 조작된 수용체의 생성에서의 용도를 발견하는 야생형 LGIC 수용체 서열의 비제한적 예는 다음을 포함한다. 서열에서, 신호 펩타이드는 이탤릭체이며, 리간드 결합 도메인은 볼드체이고, 이온 포어 도메인은 밑줄 표시되어 있다:

[0086] 일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *GLRA1* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_001146040.1 (서열번호 1)에 의해 암호화된 인간 알파 1 글리신 수용체(GlyR $\alpha 1$)(젠뱅크(GenBank) 수탁번호 NP_001139512.1, 서열번호 2)이다:

(a) *MYSFNTLRRLYLWETIVFFSLAASKEAEAARSAPKPMSPSDFLDKLMGRTSG*
YDARIRPNFKGPPVNVSCNIFINSFGSIAETTMDYRVNIFLRQWNDPRLAYNEYPD
DSLDDLPSMLDSIWKPDFLFANEKGAHFHEITTDNKLLRISRNGNVLYSIRITLTLAC
PMDLKNFPMDVQTCIMQLESFGYTMNDLIFEWQEQGAVQVADGLTLPQFILKEEK
DLRYCTKHYN TGKFTCI EARFHLE RQMGYYLIQMYIPSL LIVILSWISFWINMDAAPA
RVGLGITT VLTMTTQSSGRASLPKVS YVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVN FVSRQ
HKELLRFRRKR RHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPA CLQAKDGISVKGANNS
NTTNPPPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPM AFLIFNMFYWIYKIVRREDVHNO

[0087] (서열번호 2).

[0088] 일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *CHRNA7* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_000746.5(서열번호 3)에 의해 암호화된 인간 니코틴 콜린성 수용체 알파 7 소집단($\alpha 7$ -nAChR)(젠뱅크 수탁번호 NP_000737.1, 서열번호 4)이다:

(a) *MRCSPGGVWLALAA SLLHVS LQGEFQRKLYKELVKNYNPLERP VANDSQ*
PLTVYFSL SLLQIMDVDEKNQVLT TN IWLQMSWTDHYLQWNVSEY PGVKT VRFPD
GQIWKP DILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWF PFDV
QHCKLKFG SWSYGGWSLDLQM QEADISG YIPNGEWDLVGIPGKR SERFYECKPEP
YPDVTF TVTMRRRTLYYGLNLLIPC VLISALALLVFLLPADSGEKISLGITVLLSLTVFML
LVAEIMPATSDSVPLIAQYFASTMIIVGLSVVVTVIVLQYHHHDPDGGKMPKWTRVILLN
WCAWFLRMKRP GEDKVRPACQHKORRCSLASVEMSAVAPPPASNGNLLYIGFRGLDG
VHCVPTPDSGVVCGRMACSPHDEHLLHGGQPPEGDPDLAKILEEVRYIANRFR CODES
EAVCSEWKFAACVVDRLCLMAFSVFTI ICTIGILMSAPNFVEAVSKDFA (서열번호 4).

[0089]

[0090] 일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *HTR3A* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_213621.3, 서열번호 5)에 의해 암호화된 인간 5-하이드록시트립타민 수용체 3A (5HT3A, 젠뱅크 수탁번호 NP_998786.2, 서열번호 6)이다:

(a) MLGKLAMLLWVQQALLALLLPTLLAQGEARRSRNTTRPALLRLSDYLLT
NYRKGVRPVRDWRKPTTVSIDVIVYAILNVDEKNQVLTTYIWYRQYWTDEFLQWN
PEDFDNITKLSIPTDSIWVPDILINEFVDVGKSPNIPYVYIRHQGEVQNYKPLQVTA
CSLDIYNFPFDVQNCSLTFTSWLHTIQDINISLWRLPEKVKSDRSVFMNQGEWELLG
VLPYFREFSMESSNYAEMKFYVIRRRPLFYVVSLLLPSIFLMVMDIVGFYLPNSGE
RVSFKITLLLGYSVFLIIVSDTLPATAIGTPLIGKAPPGSRAQSGEKPAPSHLLHVSLASAL
GCTGVYFVVMALLVISLAETIFIVRLVHKQDLQOPVPAWLRHLVLERIAWLLCLREQS
TSORPPATSQATKTDDCSAMGNHCSHMGGPQDFEKSPRDRCSPPPPREASLAVCGLLQ
ELSSIQFLEKRDEIREVARDWLRVGSVLDKLLFHIYLLAVLAYSITLVMLWSIWQYA

(서열번호 6).

[0091]

일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *HTR3B* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_006028.4, 서열번호 56)에 의해 암호화된 인간 5-하이드록시트립타민 수용체 3B (5HT3B, 젠뱅크 수탁번호 NP_006019.1, 서열번호 57)이다:

[0092]

(a) MLSSVMAPLWACILVAAGILATDTHHPQDSALYHLSKQLLQKYHKEVRP
VYNWTKATTVYLDLFDVHAILDVAENQILKTSVWYQEVWNDEFWSWNSMDFEIR
EISLPLSAIWAPDIIINEFVDIERYPDLPYVYVNSSGTIENYKPIQVVSACSLETYAFPF
DVQNCSLTFKSILHTVEDVDLAFLRSPEDIQHDKKAFLNDSEWELLSVSSTYSILQSS
AGGFAQIQFNVMRRHPLVYVVSLLIPSIFLMLVDLGSFYLPNCRARIVFKTSVLVGY
TVFRVNMSNQVPRSVGSTPLIGHFFTICMAFLVLSLAKSIVLVKFLHDEQRGGQEQPFLC
LRGDTDADRPRVEPRAQRAVVTESSLYGEHLAOPGTLKEVWSQLOSISNYLOTODQTD
QQEAEWLVLLSRFDRLLFQSYLFMLGIYTITLCSLWALWGGV (서열번호 57).

[0093]

일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *GABRB3* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_000814.5, 서열번호 7)에 의해 암호화된 인간 감마-아미노뷰티르산 수용체 A(GABA-A), 소집단 베타-3(GABA-A β3)(젠뱅크 수탁번호 NP_000805.1, 서열번호 8)이다:

[0094]

(a) MWGLAGGRLFGIFSAPVLVAVCCAQSVNDPGNMSFVKETVDKLLKGYD
IRLRPDEFGPPVCVGMNIDIASIDMVSEVNMDYTLTMYFQYWRDKRLAYSGIPLN
LTLDNRVADQLWVPDITYFLNDKKS FVHGVTVKNRMIRLHPDGTVLYGLRITTTAA
CMMDLRRYPLDEQNCTLEIESYGYTTDDIEFYWRGGDKAVTGVERIELPQFSIVEH
RLVSRNVVFATGAYPRLSLSFRLKRNIGYFILQTYMPSILITILSWVSWINYDASAARV
ALGITTVLMTTINTHLRETLPKIPYVKAIDMYLMGCFVVFVFLALLEYAFVNYIFFGRGP
QRQKLAEKTAKAKNDRSKSESNRVDAHGNILLTSLEVHNEMNEVSGGIGDTRNSAISE
DNSGIQYRKQSMPEGHGRFLGDRSLPHKKTHLRRRSSQLKIKIPDLTDVNAIDRWSRIV
FPFTFSLFNLVYWLYYVN (서열번호 8).

[0095]

일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 *GABRR1* 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_002042.4, 서열번호 9)에 의해 암호화된 인간 GABA-A, 소집단 rho1(ρ1)(GABA-A ρ1)(젠뱅크 수탁번호 NP_002033.2, 서열번호 10)이다:

[0096]

(a) MLAVPNMRFGIFLLWGWVLATESRMHWPGREVHEMSKKGRPQRQRREVHEDAHKQVSPILRRSPDITKSPLTKSEQLLRIDDHDFSMRPGFGGPAIPVGVVDVQVESLDSISEVDMDFMTLYLRHYWKDERLSFPSTNNLSMTFDGRLVKKIWVPDMF
FVHSKRFSFIHDTTDDNVMLRVQPDGKVLVSLRVVTAMCNMDFSRFPLDTQTCSLEIESYAYTEDDLMLYWKKGNDLSKTDERISLSQFLIQEFHTTTKLAFYSSSTGWYNRL
YINFTLRRHIFFLQTYFPATLMVMLSWSVFWIDRRVAVPARVPLGITTVLTMSTIITGV
NASMPRVSYIKAVDIYLWVSFVFLSVLEYAAVNYLTTVQERKEOKLREKLPCTSGLP
PPRTAML DGNYS DGEVNDL DNYMPENGEK PDRMMVQLTLASERSSPQRKSQRSSYVS
MRIDTHAIDKYSRIIFPAAYILFNLIYWSIFS (서열번호 10).

[0097]

[0098]

일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 GABRR2 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_002043.4, 서열번호 11)에 의해 암호화된 인간 GABA-A, 소집단 rho2(ρ 2)(GABA-A ρ 2)(젠뱅크 수탁번호 NP_002034.3, 서열번호 12)이다:

(a) MPYFTRLILFLFCLMVLVESRKPKRKRWTGQVEMPKPSHLYKKNLDVT
KIRKGGKQQLLRVDEHDFSMRPAFGGPAIPVGVVDVQVESLDSISEVDMDFMTLYL
RHYWKDERLAFSSASNSMTFDGRLVKKIWVPDVFFVHSKRSTHDTTDDNIMLR
VFPDGHVLYSMRITVTAMCNMDFSHFPLDSQTCSLELESYAYTDEDLMLYWKNGD
ESLKTDEKISLSQFLIQEFHTTSRLAFYSSTGWYNRLYINFTLRRHIFFLQTYFPAT
LMVMLSWSVFWIDRRVAVPARVSLGITTVLMTTITGVNASMPRVSYVKAVDIYLWVSF
VFVFLSVLEYAAVNYLTTVQERKERKLRKFCMCGMLHSKTMMLDGSYSESEANSLA
GYPRSHILTEERQDKIVVHLGLSGEANAARKKGLLKGGTGFRIQNTHAIDKYSRLIFP
ASYIFFNLIYWSVFS (서열번호 12).

[0099]

[0100]

일부 실시형태에서, 야생형 LGIC 수용체는 GABRR3 유전자(젠뱅크 수탁번호 NM_001105580.2, 서열번호 13)에 의해 암호화된 인간 GABA-A, 소집단 rho3(ρ 3)(GABA-A ρ 3)(젠뱅크 수탁번호 NP_001099050.1, 서열번호 14)이다:

(a) MVLAFLQVLSFTYIWIILKPNVCAASNIMTHQRCSSSMKQTCKQETRMK
KDDSTKARPQKYEQLLHIEDNDFAMRPGFGGSPVPVGDVHVESIDSISETNMDF
MTFYLRHYWKDERLSFPSTANKSMTFDHRLTRKIWVPDIFFVHSKRFSFIHDTTMEN
IMLRVHPDGNVLLSLRITVSAMCFMDFSRFPLDTQNCSELESYAYNEDDLMLYW
KHGNKSLNTEEHMSLSQFFIEDFSASSGLAFYSSTGWYNRLFINFVLRRHVFFVFLQ
TYFPAILMVMLSWSVFWIDRRVAVPARVSLGITTVLTMSTIITAVSASMPQVSYLKAVDV
YLWVSSLFVFLSVIEYAAVNYLTTVEERKQFKKTGKISRMYNIDAVQAMAFDGCYHDS
EIDMDQTSLSLNSDFMRRKSICSPSTDSRIKRRKSLGGHVGRILENNHVIDTYSRILFPI
VYILFNLFYWGVYV (서열번호 14).

[0101]

[0102]

일부 양상에서, 대상 조작된 수용체는 키메라 수용체이다. 일부 실시형태에서, 키메라 수용체는 적어도 제1 LGIC로부터의 리간드 결합 도메인 서열 및 이온 포어 전도 도메인 서열, 또는 더 단순하게는, 적어도 제2 LGIC로부터의 "이온 포어 도메인 서열"을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 LGIC 및 제2 LGIC는 Cys-루프 수용체이다. Cys-루프 수용체의 리간드 결합 도메인 서열 및 이온 포어 도메인 서열은 당업계에서 잘 공지되어 있고, 공공연하게 입수 가능한 소프트웨어, 예를 들어, PubMed, Genbank, Uniprot 등의 사용에 의해 문헌으로부터 용이하게 확인될 수 있다. 상기 기재한 서열에서, 리간드 결합 도메인은 볼드체이며, 이온 포어 도메인은 밑줄 표시되어 있다.

[0103]

일부 실시형태에서, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인은 인간 글리신 수용체의 리간드 결합 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 글리신 수용체는 인간 GlyR α 1(서열번호 2)이다. 일부 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 GlyR α 1의 대략 아미노산 29 내지 235, 예를 들어, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 235, 아미노산 29 내지 240, 아미노산 29 내지 246, 아미노산 29 내지 248, 아미노산 29 내지 250, 또

는 아미노산 29 내지 252를 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 서열번호 2의 아미노산 29 내지 235로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 240으로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 246으로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 248로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 250으로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 2의 아미노산 29 내지 252로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인 서열은 인간 GlyR α1 이외의 Cys-루프 수용체로부터 유래된다.

[0104] 일부 실시형태에서, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인은 인간 니코틴 콜린성 수용체의 리간드 결합 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 니코틴 콜린성 수용체는 인간 α7-nAChR이다. 일부 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 α7-nAChR의 대략 아미노산 23 내지 220(서열번호 4), 예를 들어, 아미노산 23 내지 220, 아미노산 23 내지 226, 아미노산 23 내지 229, 아미노산 23 내지 230, 일부 예에서 서열번호 4의 아미노산 23 내지 231을 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 서열번호 4의 아미노산 23 내지 220으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 23 내지 226으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 23 내지 229로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 23 내지 230으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 23 내지 231로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인 서열은 인간 α7-nAChR 이외의 Cys-루프 수용체로부터 유래된다.

[0105] 일부 실시형태에서, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인은 인간 세로토닌 수용체의 리간드 결합 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 세로토닌 수용체는 인간 5HT3A 또는 5HT3B이다. 일부 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 5HT3A(서열번호 6)의 대략 아미노산 23 내지 247, 예를 들어, 아미노산 23 내지 240, 아미노산 30 내지 245, 아미노산 23 내지 247, 아미노산 23 내지 250, 일부 예에서 서열번호 6의 아미노산 30 내지 255를 포함한다. 특정 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 서열번호 6의 아미노산 23 내지 240으로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 6의 아미노산 23 내지 245로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 6의 아미노산 30 내지 247로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 6의 아미노산 23 내지 250으로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 6의 아미노산 23 내지 255로 본질적으로 이루어진다. 일부 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 5HT3B(서열번호 57)의 대략 아미노산 21 내지 239, 예를 들어, 아미노산 21 내지 232, 아미노산 21 내지 235, 아미노산 21 내지 240, 아미노산 21 내지 245, 일부 예에서 서열번호 57의 아미노산 21 내지 247을 포함한다. 특정 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 서열번호 57의 아미노산 21 내지 239로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 57의 아미노산 21 내지 232로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 57의 아미노산 21 내지 235로 본질적으로 이루어지고, 서열번호 57의 아미노산 21 내지 240으로 본질적으로 이루어지며, 서열번호 57의 아미노산 21 내지 245로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인 서열은 인간 5-하이드록시트립타민 수용체 3 이외의 Cys-루프 수용체로부터 유래된다.

[0106] 일부 실시형태에서, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인은 인간 GABA 수용체의 리간드 결합 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 GABA 수용체는 인간 GABA-A β3이다. 일부 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 GABA-A β3(서열번호 8)의 대략 아미노산 26 내지 245, 예를 들어, 아미노산 26 내지 240, 아미노산 26 내지 245, 아미노산 26 내지 248, 아미노산 26 내지 250, 일부 예에서 서열번호 8의 아미노산 26 내지 255를 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 서열번호 8의 아미노산 26 내지 240으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 8의 아미노산 26 내지 245로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 8의 아미노산 26 내지 248로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 8의 아미노산 26 내지 250으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 8의 아미노산 26 내지 255로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인 서열은 인간 GABA-A 수용체 이외의 Cys-루프 수용체로부터 유래된다.

[0107] 일부 실시형태에서, 리간드 결합 도메인에 융합된 이온 포어 도메인은 음이온을 전도하며, 예를 들어, 인간 글리신 수용체 또는 인간 세로토닌 수용체의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다. 다른 실시형태에서, 리간드 결합 도메인에 융합된 이온 전도 포어 도메인은 양이온을 전도하며, 예를 들어, 인간 아세틸콜린 수용체 또는 인간 감마-아미노뷰티르산 수용체 A의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다.

[0108] 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 인간 글리신 수용체의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 글리신 수용체는 인간 GlyR α1이다. 일부 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 GlyR α1(서열번호 2)의 대략 아미노산 245 내지 457, 예를 들어, 서열번호 2의 아미노산 240 내지 457, 아미노산 245 내지 457, 아미노산 248 내지 457, 아미노산 249 내지 457, 아미노산 250 내지 457, 아미노산 255 내지 457, 또는 아미노산 260 내지 457을 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 서열번호 2의 아미노산 245 내지 457로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 2의 아미노산 248 내지 457로 본질적으로 이루어지거나, 서

열번호 2의 아미노산 249 내지 457로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 2의 아미노산 250 내지 457로 본질적으로 이루어진다.

[0109] 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 인간 니코틴 콜린성 수용체의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 니코틴 콜린성 수용체는 인간 $\alpha 7$ -nAChR이다. 일부 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 $\alpha 7$ -nAChR(서열번호 4)의 대략 아미노산 230 내지 502, 예를 들어, 아미노산 227 내지 502, 아미노산 230 내지 502, 아미노산 231 내지 502, 아미노산 232 내지 502, 또는 아미노산 235 내지 502를 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 서열번호 4의 아미노산 227 내지 502로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 230 내지 502로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 4의 아미노산 231 내지 502로 본질적으로 이루어지거나, 또는 서열번호 4의 아미노산 232 내지 502로 본질적으로 이루어지거나, 또는 서열번호 4의 아미노산 235 내지 502로 본질적으로 이루어진다.

[0110] 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 인간 세로토닌 수용체의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 세로토닌 수용체는 인간 5HT3A 또는 5HT3B이다. 일부 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 5HT3A(서열번호 6)의 대략 아미노산 248 내지 516, 예를 들어, 서열번호 6의 아미노산 240 내지 516, 아미노산 245 내지 516, 아미노산 248 내지 516, 아미노산 250 내지 516, 또는 아미노산 255 내지 516을 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 서열번호 6의 아미노산 240 내지 516으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 6의 아미노산 245 내지 516으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 6의 아미노산 248 내지 516으로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 6의 아미노산 250 내지 516으로 본질적으로 이루어지거나, 아미노산 253 내지 516으로 본질적으로 이루어진다. 일부 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 5HT3B(서열번호 57)의 대략 아미노산 240 내지 441, 예를 들어, 서열번호 57의 아미노산 230 내지 441, 아미노산 235 내지 441, 아미노산 240 내지 441, 아미노산 245 내지 441, 또는 아미노산 250 내지 441을 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 서열번호 57의 아미노산 230 내지 441로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 57의 아미노산 235 내지 441로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 57의 아미노산 240 내지 441로 본질적으로 이루어지거나, 서열번호 57의 아미노산 245 내지 441로 본질적으로 이루어지거나, 아미노산 250 내지 441로 본질적으로 이루어진다.

[0111] 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 인간 GABA 수용체의 이온 포어 도메인 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 GABA 수용체는 인간 GABA-A $\beta 3$ 이다. 일부 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 GABA-A $\beta 3$ (서열번호 8)의 대략 아미노산 246 내지 473, 예를 들어, 서열번호 8의 아미노산 240 내지 473, 아미노산 245 내지 473, 아미노산 247 내지 473, 아미노산 250 내지 473, 또는 아미노산 253 내지 473을 포함한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 서열번호 8의 아미노산 240 내지 473, 서열번호 8의 아미노산 245 내지 473, 서열번호 8의 아미노산 247 내지 473, 서열번호 8의 아미노산 250 내지 473 또는 서열번호 8의 아미노산 253 내지 473으로 본질적으로 이루어진다.

[0112] 일부 실시형태에서, 대상 키메라 리간드-개폐성 이온 통로의 이온 포어 도메인은 이온 포어 도메인의 M2-M3 링커 도메인에 대해 이종성인 M2-M3 링커 도메인을 포함한다. "M2-M3 링커 도메인", 또는 "M2-M3 링커"는 수용체의 막관통 도메인 2(M2)의 C-말단 단부에 의해 이의 아미노(N)말단에서 그리고 수용체의 막관통 도메인 3(M3)의 N-말단 단부에 의해 이의 카복시(C)말단에서 측접된 LGIC의 이온 포어 도메인 내의 서열을 의미한다. LGIC의 M2-M3 링커는 당업계로부터 용이하게 결정되고/되거나 임의의 공공연하게 이용 가능한 단백질 분석 툴, 예를 들어, ExPASy, UniProt 등을 이용함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 전형적으로, 키메라 수용체의 이온 포어 도메인이 이종성 M2-M3 링커를 포함할 때, M2-M3 링커는 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인과 동일한 수용체로부터 유래된다. 예를 들어, 대상 리간드-개폐성 이온 통로가 AChR로부터의 리간드 결합 도메인 및 GlyR로부터의 이온 포어 도메인을 포함할 때, 대상 리간드-개폐성 이온 통로는, 대신에 AChR로부터 유래된 M2-M3 링커를 제외하고, GlyR로부터의 이온 포어 도메인 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이온 포어 도메인은 GlyR $\alpha 1$ 로부터 유래되고, M2-M3 링커는 $\alpha 7$ -nAChR로부터 유래된다. 일부 이러한 실시형태에서, GlyR $\alpha 1$ 로부터 제거된 M2-M3 링커 서열은 GlyR $\alpha 1$ (서열번호 2)의 대략 아미노산 293 내지 311, 예를 들어, 아미노산 304 내지 310, 293 내지 306, 298 내지 310, 305 내지 311 등이다. 일부 이러한 실시형태에서, 삽입된 M2-M3 링커는 $\alpha 7$ -nAChR(서열번호 4)의 대략 아미노산 281 내지 295, 예를 들어, 아미노산 290 내지 295, 281 내지 290, 281 내지 295, 287 내지 292 등 또는 $\alpha 7$ -nAChR의 아미노산 281 내지 295에 대해 약 95% 이상의 동일성을 갖는 서열이다.

[0113] 일부 실시형태에서, 대상 키메라 리간드-개폐성 이온 통로의 리간드 결합 도메인은 리간드 결합 도메인의 Cys-루프 서열에 대해 이종성인 Cys-루프 도메인 서열을 포함한다. "Cys-루프 도메인 서열" 또는 "Cys-루프 서열"은

N-말단 및 C-말단에서 시스테인에 축적된 루프 구조를 형성하는 Cys-루프 LGIC의 리간드 결합 도메인 내의 도메인을 의미한다. 이론에 의해 구축되는 일 없이, 리간드 결합 도메인에 대한 리간드의 결합 시, Cys-루프는 M2-M3 루프에 매우 근접하게 구조적으로 이동하며, 이 움직임은 이온 포어 도메인 내 신호 전달에 대한 세포의 도메인 내 리간드 결합의 생물물리학적 번역을 매개하는 것으로 여겨진다(문헌[Miller and Smart, Trends in Pharmacological Sci 2009:31(4)]에서 검토되는 바와 같음). 내인성 Cys-루프 서열의 이중성 Cys-루프 서열로의 치환은 1.5배 이상, 예를 들어, 적어도 2배, 3배 또는 4배, 일부 예에서 적어도 5배 또는 6배만큼, 그리고 특정 용량에서, 적어도 7배, 8배, 9배 또는 10배만큼 LGIC의 전도도를 증가시킬 수 있다. Cys-루프 수용체의 Cys-루프 도메인은 당업계로부터 그리고/또는 임의의 공공연하게 이용 가능한 단백질 분석 툴, 예를 들어, ExPasy, uniProt 등을 이용함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 전형적으로, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인이 이중성 Cys-루프 서열을 포함할 때, Cys-루프 서열은 키메라 수용체의 이온 포어 도메인과 동일한 수용체로부터 유래된다. 예를 들어, 대상 키메라 리간드-개폐성 이온 통로가 AChR로부터의 리간드 결합 도메인 및 GlyR로부터의 이온 포어 도메인을 포함할 때, 대상 리간드-개폐성 이온 통로는, 대신에 GlyR로부터 유래된 Cys-루프 도메인의 서열을 제외하고, AChR로부터의 리간드 결합 도메인 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 $\alpha 7$ -nAChR로부터 유래되고, Cys-루프 서열은 GlyR $\alpha 1$ 로부터 유래된다. 일부 이러한 실시형태에서, $\alpha 7$ -nAChR로부터 제거된 Cys-루프 서열은 $\alpha 7$ -nAChR(서열번호 4)의 대략 아미노산 150 내지 164, 예를 들어, $\alpha 7$ -nAChR의 아미노산 150 내지 157이다. 일부 이러한 실시형태에서, 삽입된 Cys 루프 서열은 GlyR $\alpha 1$ (서열번호 2)의 대략 아미노산 166 내지 180, 예를 들어, GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 166 내지 172, 또는 GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 166 내지 180에 대해 약 95% 이상의 동일성을 갖는 서열이다.

[0114] 일부 실시형태에서, 대상 키메라 리간드-개폐성 이온 통로의 리간드 결합 도메인은 리간드 결합 도메인의 $\beta 1$ -2 루프 도메인 서열에 대해 이중성인 $\beta 1$ -2 루프 도메인 서열을 포함한다. " $\beta 1$ -2 루프 도메인 서열", 또는 " $\beta 1$ -2 루프, 또는 $\beta 1$ - $\beta 2$ 루프"는 $\beta 1$ 시트의 C-말단에 의해 이의 N-말단에서, 그리고 $\beta 2$ 시트의 N-말단에 의해 이의 C-말단에서 축적되는 Cys-루프 LGIC의 리간드 결합 도메인 내의 도메인을 의미한다. 이론에 의해 구축되는 일 없이, $\beta 1$ -2 루프는 이온 포어 도메인에 대한 세포의 도메인 내 리간드 결합의 생물물리학적 번역 및 후속적 신호전달(즉, GlyR의 경우에 염화물 유입)을 매개하게 하는 것으로 여겨진다. 리간드의 결합 시 $\beta 1$ -2 루프는 Cys-루프와 함께, M2-M3 루프에 근접하게 되어, M2-M3 루프 잔기가 있는 이온 포어 도메인 내 신호 전달에 대한 세포의 도메인 내 리간드 결합의 생물물리학적 번역을 매개하는 것으로 여겨진다(문헌[Miller and Smart]에서 검토되는 바와 같음, 상기 참조). 내인성 $\beta 1$ -2 루프 서열의 이중성 $\beta 1$ -2 루프 서열로의 치환은 LGIC의 전도도를 1.5배 이상, 예를 들어, 적어도 2배, 3배 또는 4배, 일부 예에서 적어도 5배 또는 6배, 특정 용량에서, 적어도 7배, 8배, 9배 또는 10배만큼 증가시킬 수 있다. Cys-루프 수용체의 $\beta 1$ -2 루프는 당업계로부터 그리고/또는 임의의 공공연하게 이용 가능한 단백질 분석 툴, 예를 들어, ExPasy, uniProt 등을 이용함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 전형적으로, 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인이 이중성 $\beta 1$ -2 루프 서열을 포함할 때, $\beta 1$ -2 루프 서열은 키메라 수용체의 이온 포어 도메인과 동일한 수용체로부터 유래된다. 예를 들어, 대상 키메라 리간드-개폐성 이온 통로가 AChR로부터의 리간드 결합 도메인 및 GlyR로부터의 이온 포어 도메인을 포함할 때, 대상 리간드-개폐성 이온 통로는, 대신에 GlyR로부터 유래된 $\beta 1$ -2 루프 도메인의 서열을 제외하고, AChR로부터의 리간드 결합 도메인 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 $\alpha 7$ -nAChR로부터 유래되고, $\beta 1$ -2 루프 서열은 GlyR $\alpha 1$ 로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, $\alpha 7$ -nAChR로부터 제거되는 $\beta 1$ -2 루프 서열은 $\alpha 7$ -nAChR(서열번호 4)의 대략 아미노산 67 내지 70, 예를 들어, $\alpha 7$ -nACh의 아미노산 67 내지 70, 66 내지 71 또는 64 내지 72이다. 일부 실시형태에서, 삽입된 $\beta 1$ -2 루프 서열은 GlyR $\alpha 1$ (서열번호 2)의 대략 아미노산 79 내지 85, 예를 들어, GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 81 내지 84, 79 내지 85, 또는 81 내지 84, 또는 GlyR $\alpha 1$ 의 아미노산 79 내지 85에 대해 약 95% 이상 동일성을 갖는 서열이다.

[0115] 본 개시내용의 키메라 LGIC 수용체의 서열의 비제한적 예는 서열번호 15 내지 서열번호 52로서 본 명세서에 개시된 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 암호화하는 키메라 LGIC 수용체 또는 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서의 서열번호 15 내지 서열번호 52에 제공된 서열에 대해 85% 이상의 서열 동일성, 예를 들어, 즉, 90% 이상, 93% 이상, 또는 95% 이상의 서열 동일성, 즉, 서열번호 15 내지 서열번호 52에 제공된 서열에 대해 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%를 가진다. 서열에서, 신호 펩타이드는 이탤릭체이며, 리간드 결합 도메인은 볼드체이고, 이온 포어 도메인은 밑줄 표시된다.

[0116] 일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)(예를 들어, 도 3의 서열번호 16)에 융합된 인간 $\alpha 7$ -nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는, CHRNA7/GLRA1 키메라(R229 접합)이다:

MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQPLTV
YFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFP
DGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVR
WFPFDVQHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEYPDPVTFTVTMRRRMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAA
PARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAV
NFVSRQHKELLRFRRKRRHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAK
DGISVKGANNSNTTNPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMFLIFNMFY
WIIYKIVRREDVHNQ (서열번호 16, 서열번호 15에 의해 암호화됨)

[0117]

[0118]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α 1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 인간 α 7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)를 포함하는 CHRNA7/GLRA1(R228 접합) 키메라이다:

MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQPLTV
YFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFP
DGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVR
WFPFDVQHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEYPDPVTFTVTMRRQMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAA
PARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAV
NFVSRQHKELLRFRRKRRHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAK
DGISVKGANNSNTTNPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMFLIFNMFY
WIIYKIVRREDVHNQ (서열번호 17).

[0119]

[0120]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α 1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 인간 α 7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는, CHRNA7/GLRA1 (V224 접합) 키메라이다:

MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQPLTV
YFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFP
DGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVR
WFPFDVQHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEYPDPVTFTVHLERQMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAP
ARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAV
NFVSRQHKELLRFRRKRRHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAK
DGISVKGANNSNTTNPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMFLIFNMFY
WIIYKIVRREDVHNQ (서열번호 18).

[0121]

[0122]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α 1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 인간 α 7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는, CHRNA7/GLRA1(Y233 접합) 키메라이다:

MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQPLTV
YFSLSLQIMDVDEKNQVLTNNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFP
DGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVR
WFPFDVQHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFTVTMRRRTLYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAP
ARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAV
NFVSRQHKELLRFRKRHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAK
DGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFY
WIIYKIVRREDVHNQ (서열번호 19).

[0123]

[0124]

일부 실시형태에서, 카메라 LGIC 수용체는 $\alpha 7$ -nAChR M2-M3 링커(소문자)를 포함하는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 인간 $\alpha 7$ -nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는, CHRNA7/GLRA1 카메라(R229 접합)이다:

(a) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTNNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFTVTMRRRMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTT
QSSGSeimpatsdsvSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRHH
KSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEE
MRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 21, 서열번호 20에 의해 암호화됨);

(b) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTNNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFTVTMRRRMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTT
QSSGSeimpatsdsvpliaqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 23, 서열번호 22에 의해 암호화됨);

[0125]

(c) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTNNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFTVTMRRRMGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTT
QSSGSRASLPKVsdsvpIIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 25, 서열번호 24에 의해 암호화됨);

[0126]

(d) *MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ*
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTFRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEP
YPDVTFTVTMERQMGYYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTT
QSSGSeimpatsdsvp^{li}aqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 27, 서열번호 26에 의해 암호화됨);

(e) *MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ*
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTFRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEP
YPDVTFTVTMRRRTGYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTT
QSSGSeimpatsdsvp^{li}aqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 29, 서열번호 28에 의해 암호화됨); 또는

(f) *MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ*
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTFRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDV
QHCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEP
YPDVTFTVTMRRRTLYYLIQMYIPSLILVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTTQ
SSGSeimpatsdsvp^{li}aqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKS
PMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMR
KLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 31, 서열번호 30에 의해 암호화됨).

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, GlyR α1 Cys-루프 서열(소문자)을 포함하는 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 α7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체)를 포함하는, CHRNA7/GLRA1 키메라이다(예를 들어, 도 3의 서열번호 34 참조):

MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSScpmdlknfpmdvqt
KLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEYPD
VTFTVTMRRRMGYYYLIQMYIPSLLIVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTQSS
GSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRRKRRHHKSP
MLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPAQLQAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMR
KLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 33, 서열번호 32에 의해 암호화됨).

(a) *MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ*
PLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPD
GQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSScpmdlknFPFDVQ
HCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEYPY
PDVTFTVTMRRRMGYYYLIQMYIPSLLIVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTQ
SSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRRKRRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPAQLQAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 35, 서열번호 34에 의해 암호화됨).

[0130]

[0131]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α 1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 GlyR α 1 β 1-2 루프 서열(소문자)을 포함하는 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 α 7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체)를 포함하는 CHRNA7/GLRA1 키메라이다:

(a) *MRCSPGGVWLALAASLLHVSLQGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ*
PLTVYFSLSLQIMDVDettmVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPDG
QIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYIDVRWFFPDVQ
HCKLKFGSWSYGGWSDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSERFYECCKEYPY
PDVTFTVTMRRRMGYYYLIQMYIPSLLIVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTQ
SSGSRASLPKVSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRRKRRHHK
SPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPAQLQAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEM
RKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호37, 서열번호 36에 의해 암호화됨)

[0132]

[0133]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α 1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, GlyR α 1 β 1-2 루프 서열(소문자) 및 Cys-루프 서열(소문자)를 포함하는 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 α 7-nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체)을 포함하는, CHRNA7/GLRA1 키메라이다(예를 들어, 도 3의 서열번호 41):

(a) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDiaettmdLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPDQGI
WKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSepmdlknfpmdvqtcKLK
FGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSEFYECCKEYPDVFTFT
VTMRRRMGYyliQMYIPSLlVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTTQSSGRAS
LPKVSyVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYA AVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKSPMLNLF
QEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMRKLFIQR
AKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNO

(서열번호 39, 서열번호 38에 의해 암호화됨).

(b) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDetmVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPDGI
QIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSepmdlknfpmdvqtcKL
KFGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSEFYECCKEYPDVT
FTVTMRRRMGYyliQMYIPSLlVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTTQSSGR
ASLPKVSyVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYA AVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKSPML
NLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMRKLFI
QRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNO

(서열번호 41, 서열번호 40에 의해 암호화됨).

[0134]

(c) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDVDetmVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPDGI
QIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSepmdlknfpmdvqtcKL
KFGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSEFYECCKEYPDVT
FTVTMERQMGYyliQMYIPSLlVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTTQSSGR
ASLPKVSyVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYA AVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKSPML
NLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMRKLFI
QRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNO

(서열번호 43, 서열번호 42에 의해 암호화됨).

(d) MRCSPGGVWLALAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVANDSQ
PLTVYFSLSLQIMDiaettmdLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFPDQGI
WKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSepmdlknfpmdvqtcKLK
FGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKRSEFYECCKEYPDVFTFT
VTMERQMGYyliQMYIPSLlVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLTMTTQSSGRAS
LPKVSyVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYA AVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKSPMLNLF
QEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSKSPEEMRKLFIQR
AKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNO

(서열번호 45, 서열번호 44에 의해 암호화됨).

[0135]

[0136]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 $\alpha 7$ -nAChR M2-M3 링커(소문자)를 포함하는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, GlyR $\alpha 1$ $\beta 1$ -2 루프 서열(소문자)을 포함하는 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 $\alpha 7$ -nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체)를 포함하는 CHRNA7/GLRA1 키메라이다:

(a) *MRCSPGGVWLALAAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVAN*
DSQPLTVYFSLSLQIMDVDEtmVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKT
VRFPDGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSCYID
VRWFPPFDVQHCKLKFGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFVTMRRRMGYYLIQMYIPSLLVILSWISFWINMDA
APARVGLGITTTLTMTTQSSGSeimpatsdsvp
liaqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKS
PMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSK
SPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 47, 서열번호 46에 의해 암호화됨).

[0137]

[0138]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 $\alpha 7$ -nAChR M2-M3 링커(소문자)를 포함하는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, GlyR $\alpha 1$ Cys-루프 서열(소문자)을 포함하는 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 $\alpha 7$ -nAChR 신호 펩타이드(이탤릭체)를 포함하는, CHRNA7/GLRA1 키메라이다:

(a) *MRCSPGGVWLALAAASLLHVSLOGEFQRKLYKELVKNYNPLERPVAN*
DSQPLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKT
VRFPDGQIWKPDILLYNSADERFDATFHTNVLVNSSGHCQYLPPGIFKSSep
mdlknfpmdivqtcKLKFGSWSYGGWSLDLQMQEADISGYIPNGEWDLVGIPGKR
SERFYECCKEPYPDVTFVTMRRRMGYYLIQMYIPSLLVILSWISFWINMDA
APARVGLGITTTLTMTTQSSGSeimpatsdsvp
liaqAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRRHHKSPM
LNLFOEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNPPPAPSK
SPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 49, 서열번호 48에 의해 암호화됨).

[0139]

[0140]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된 리간드 결합 도메인(볼드체) 및 인간 5HT3A 세로토닌 수용체 신호 펩타이드(이탤릭체)를 포함하는 HTR3A/GLRA1 키메라(R241 접합)이다:

(a) *MLLWVQALLALLPTLLAQGEARRSRNTTRPALLRLSDYLLTNYRKG*
VRPVRDWRKPTTVSIDVIVYAILNVDEKNQVLTTYIWYRQYWTDEF
LQWNPEDFDNI TKLSIPTDSIWVPDILINEFVDVGKSPNIPYVYIRHQGEVQ
NYKPLQVVTACSLDIYNFPFDVQNCSTFTSWLHTIQDINISLWRLPEKV
KSDRSVFMNQGEWELLGVLPYFR EFSMESSNYAEMKFYV
VIARRRMGYLIQMYIPSLLVILSWISFWINMDAAPARVGLG
ITTTLTMTTQSSGRASLPKVS
YVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELL
RFRKRRHHKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNP
PPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIIYKIVRREDVHNQ

(서열번호 50).

[0141]

[0142]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR $\alpha 1$ 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, 인간 5HT3A 세로토닌 수용체 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는 HTR3A/GLRA1 키메라(V236 접합)이다:

(a) *MLLWVQQALLALLPTLLAQGEARRSRNTTRPALLRLSDYLLTNYRKGVRPVRDWRKPTTVSIDVIVYAILNVDEKNQVLTITYIWRQYWTDEFLQWNPEDFDNI TKLSIPTDSIWVPDILINEFVDVGKSPNIPYVYIRHQGEVQNYKPLQVVTACSLDIYN PFDVQNCSLTFTSWLHTIQDINISLWRLPEKVKSDRSVFMNQGEWELLGVLPLYFR EFSMESSNYAEMKFYVHLERQMGYYLIQMYIPSLLVILSWISFWINMDAAPARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELL RFRKRHRHHSKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGANNSNTTNP PPAPSKSPEEMRKLFIQRAKKIDKISRIGFPMAFLIFNMFYWIYKIVRREDVHNQ*

(서열번호 51).

[0143]

[0144]

일부 실시형태에서, 키메라 LGIC 수용체는 인간 GlyR α1 이온 포어 도메인(밑줄 표시)에 융합된, 인간 GABA-A β3 신호 펩타이드(이탤릭체) 및 리간드 결합 도메인(볼드체)을 포함하는 GABRB3/GLRA1 키메라(Y245 접합)이다:

(a) *MWGLAGRRLFISAPVLVAVCCAQSVNDPGNMSFVKETVDKLLKGYDIRLRPDFGGPPVCVGMNIDIASIDMVSEVNMDYTLTMYFQQYWRDKRLAYSIGIPLN LTLNDRVADQLWVPDITYFLNDKKSFFVHGVTVKNRMIRLHPDGTVLYGLRITTTAA CMMDLRRYPLDEQNCTLEIESYGYTTDDIEFYWRGGDKAVTGVERIELPQFSIVEH RLVSARNVVFATGAYPRLSLSFRLKRNIGYMGYYLIQMYIPSLLVILSWISFWINMDAA PARVGLGITTVLMTTQSSGSRASLPKVSYSYVKAIDIWMAVCLLFVFSALLEYAAVNFVSRQHKELLRFRKRHRHHSKSPMLNLFQEDEAGEGRFNFSAYGMGPACLOAKDGISVKGAN NSNTTNP*

Q (서열번호 52).

[0145]

[0146]

상기 논의한 바와 같이, 일부 양상에서, 대상 조작된 수용체는 돌연변이되지 않은 모 수용체 상에서의 효능에 비해 조작된 수용체 상의 리간드 효능을 변경시키는 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 바꿔 말하면, 하나 이상의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, 기능 상실 돌연변이 또는 기능 획득 돌연변이는 돌연변이되지 않은 모 수용체의 반응성에 비해 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 이동시킨다. 일부 이러한 실시형태에서, 하나 이상의 돌연변이는 조작된 수용체의 리간드 결합 도메인에 있다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체의 리간드 결합 도메인이 Cys-루프 수용체 단백질일 때와 같이, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 W77, Y94, R101, W108, Y115, T128, N129, V130, L131, Q139, L141, Y151, S170, W171, S172, S188, Y190, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택되는 α7-nAChR(서열번호 4)의 잔기에 대응하는 잔기에서의 치환이다. 일부 실시형태에서, 하나의 잔기는 치환된다. 일부 실시형태에서, 2, 3, 4 또는 5개 이상의 잔기가 치환되며, 예를 들어, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 잔기가 치환된다. 특정 실시형태에서, 잔기는 W77, R101, Y115, N129, L131, S170, S172 및 S188로 이루어진 군으로부터 선택되는 α7-nAChR(서열번호 4)의 잔기에 대응한다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 도 8a 내지 도 8i에 열거된 치환으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 α7-nAChR 서열 내에 있다.

[0147]

일부 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 아세틸콜린 및 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을, 예를 들어, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 50배 이상 또는 100배 감소시킨다. 일부 이러한 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 도 8a 내지 도 8f 및 도 8h에 기재된 α7-nAChR 서열에서 아미노산 치환에 대응한다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 α7-nAChR의 R101I, R101S, R101D, Y115L, Y115M, Y115D, Y115T, T128M, T128R, T128I, N129I, N129V, N129P, N129W, N129T, N129D, N129E, L131P, L131T, L131D, L131S, L141S, L141R, W171F, W171H, S172F, S172Y, S172R, S172D, C212A, C212L 또는 C213P에 대응하는 치환이다. 다른 예에서, 하나 이상의 치환은 조작된 수용체 상에서 선택적으로 아세틸콜린의 효능을 감소시킨다. 다시 말해서, 하나 이상의 치환은 아세틸콜린에 대한 조작된 수용체의 반응성을 감소시키는 한편, 비천연 리간드에 대한 반응성을 본질적으로 유지하거나, 다르게는 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 감소시키는 것보다 아세틸콜린에 대한 조작된 수용체의 반응성을 2배 이상, 예를 들어, 3배, 4배, 5배 이상, 일부 예에서 10배, 20배, 50배 또는 100배 이상 감소시킨다. 예시적인 치환은 도 8h에 제공되는 것, 즉, α7-nAChR의 L131S, L131T, L131D 또는 S172D에 대응하는 치환을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 조작된 수용체 상에서 선택적으로 비천연 리간드의 효능을 감소시킨다. 다시 말해서, 하나 이상의 치환

은 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 감소시키는 한편, 아세틸콜린에 대한 반응성을 본질적으로 유지하거나 다르게는 아세틸콜린에 대한 조작된 수용체의 반응성을 감소시키는 것보다 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 2배 이상, 예를 들어, 3배, 5배 이상, 일부 예에서 10배, 20배 또는 50배 이상 감소시킨다. 예시적인 치환은 도 8g의 치환, 즉, α 7-nAChR의 W77M, Y115W, S172T 또는 S172C에 대응하는 치환을 포함한다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 α 7-nAChR 서열 내에 있다. 특정 실시형태에서, 비천연 리간드는 AZD-0328, TC6987, ABT-126 및 파시니클린/RG3487로부터 선택된다.

[0148] 다른 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 아세틸콜린 및/또는 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을, 예를 들어, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 50배 이상, 또는 100배 증가시킨다. 예시적인 치환은 도 8g 또는 도 8i에 기재된 것, 즉, L131N, L141W, S170G, S170A, S170L, S170I, S170V, S170P, S170F, S170M, S170T, S170C, S172T, S172C, S188I, S188V, S188F, S188M, S188Q, S188T, S188P 또는 S188W에 대응하는 치환을 포함한다. 일부 예에서, 하나 이상의 치환, 예를 들어, α 7-nAChR의 L131N, S170G, S170A, S170L, S170I, S170V, S170P, S170F, S170M, S170T, S170C, S172T, S188I, S188V, S188F, S188M, S188Q 및 S188T에 대응하는 치환은 아세틸콜린과 비천연 리간드 둘 다의 효능을 증가시킨다. 다른 예에서, 하나 이상의 치환은 조작된 수용체 상에서 선택적으로 아세틸콜린의 효능을 증가시킨다. 다시 말해서, 하나 이상의 치환, 예를 들어, α 7-nAChR의 L141W, S172T, S172C, S188P 또는 S188W에 대응하는 치환은 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 증가시키는 것보다 아세틸콜린에 대한 조작된 수용체의 반응성을 2배 이상, 예를 들어, 3배, 4배 또는 5배 이상, 일부 예에서 10배, 20배, 50배 또는 100배 증가시킨다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 α 7-nAChR 서열 내에 있다. 특정 실시형태에서, 비천연 리간드는 AZD-0328, TC6987, ABT-126 및 파시니클린/RG3487로부터 선택된다. 또 다른 예에서, 하나 이상의 치환은 조작된 수용체 상에서 비천연 리간드의 효능을 선택적으로 증가시킨다. 다시 말해서, 하나 이상의 치환은 아세틸콜린에 대한 조작된 수용체의 반응성을 증가시키는 것보다 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 비천연 리간드에 대한 조작된 수용체의 반응성을 2배 이상, 예를 들어, 3배, 5배 이상, 일부 예에서 10배, 20배 또는 50배 이상 증가시킨다.

[0149] 전형적으로, 대상 조작된 수용체에서 돌연변이된 아미노산 잔기는 야생형 α 7 nAChR(서열번호 4)의 R27, E41, Q79, Q139, 141, G175, Y210, P216, Y217 또는 D219에 대응하는 아미노산이 아니다. 더 전형적으로는 또한, 치환은 야생형 α 7 nAChR에서 W77F, W77Y, W77M, Q79A, Q79Q, Q79S, Q79G, Y115F, L131A, L131G, L131M, L131N, L131Q, L131V, L131F, Q139G, Q139L, G175K, G175A, G175F, G175H, G175M, G175R, G175S, G175V, Y210F, P216I, Y217F 또는 D219A에 대응하는 치환이 아니다. 대안적으로, 이러한 치환이 조작된 수용체 내에 존재한다면, 본 명세서에 기재된 아미노산 돌연변이 중 하나 이상과 조합하여 존재한다.

[0150] 예를 들어, α 7-nAChR(서열번호 4)의 잔기 Y94, Y115, Y151 및 Y190은 천연 리간드 아세틸콜린의 결합을 매개한다는 것이 발견되었다. 이들 잔기에서의 돌연변이는 아세틸콜린의 결합을 감소시킬 것이며, 그런 이유로 기능 상실 돌연변이이다. 대조적으로, α 7-nAChR의 잔기 W77, Y115, N129, V130, L131, Q139, L141, S170, Y210, C212, C213 및 Y217은 이 수용체에 대한 비천연 리간드 AZD0328의 결합을 매개하고, 이들 잔기의 돌연변이는 수용체에 대한 AZD0328 및/또는 다른 리간드의 친화도를 증가시킬 수 있으며, 이런 이유로 기능 획득 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 조작된 수용체는 α 7-nAChR(서열번호 4)의 리간드 결합 도메인 영역 또는 α 7-nAChR의 리간드 결합 도메인 영역을 포함하는 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서 돌연변이를 포함하며, 여기서 하나 이상의 아미노산 잔기는 W77, Y94, Y115, N129, V130, L131, Q139, L141, Y151, S170, Y190, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, α 7-nAChR(서열번호 4)의 리간드 결합 도메인 영역 또는 α 7-nAChR의 리간드 결합 도메인 영역을 포함하는 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 W77, Y94, Y115, N129, V130, L131, Q139, L141, Y151, S170, Y190, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 치환이다.

[0151] 다른 예로서, α 7-nAChR(서열번호 4)의 잔기 Y115, L131, L141, S170, W171, S172, C212 및 Y217은 아세틸콜린 및/또는 니코틴의 결합을 매개하고, 이들 잔기 중 하나 이상에서의 돌연변이는 아세틸콜린 및/또는 니코틴의 결합을 감소시킬 것임이 발견되었다. α 7-nAChR의 R101, Y115, L131, L141, W171, S172, S188, Y210 및 Y217은 비천연 리간드 ABT126의 결합을 매개하며, 이들 잔기 중 하나 이상의 돌연변이는 α 7-nAChR에 대한 ABT126 및/또는 다른 리간드의 친화도를 증가시키는 것으로 예상된다. α 7-nAChR의 R101, Y115, T128, N129, L131, L141, W171, S172, Y210, C212, C213 및 Y217은 비천연 리간드 TC6987의 결합을 매개하고, 이들 잔기 중 하나 이상의 돌연변이는 α 7-nAChR에 대한 TC6987 및/또는 다른 리간드의 친화도를 증가시키는 것으로 예상된다. α 7-

nAChR의 R101, N120, L131, L141, S170, W171, S172, Y210 및 Y217은 비천연 리간드 파시니클린/RG3487의 결합을 매개하고, 이들 잔기 중 하나 이상의 돌연변이는 $\alpha 7$ -nAChR에 대한 파시니클린/RG3487 및/또는 다른 리간드의 친화도를 증가시키는 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 조작된 수용체는 $\alpha 7$ -nAChR의 리간드 결합 도메인 영역 또는 $\alpha 7$ -nAChR의 리간드 결합 도메인 영역을 포함하는 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서 돌연변이를 포함하며, 여기서, 하나 이상의 아미노산 잔기는 R101, Y115, T128, N120, N129, L131, L141, S170, W171, S172, S188, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기는 $\alpha 7$ -nAChR에 대한 아세틸콜린 및/또는 니코틴의 결합을 변경시키되, 아미노산은 $\alpha 7$ -nAChR의 Y115, L131, L141, S170, W171, S172, C212 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 C212 및 S170으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 $\alpha 7$ -nAChR에 대한 ABT126의 결합을 변경시키되, 하나 이상의 아미노산 잔기는 $\alpha 7$ -nAChR의 R101, Y115, L131, L141, W171, S172, S188, Y210 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 R101, S188 및 Y210으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 $\alpha 7$ -nAChR에 대한 TC6987의 결합을 변경시키되, 하나 이상의 아미노산 잔기는 $\alpha 7$ -nAChR의 R101, Y115, T128, N129, L131, L141, W171, S172, Y210, C212, C213 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 R101, T128, N129, Y210 및 C213으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 $\alpha 7$ -nAChR에 대한 파시니클린/RG3487의 결합을 변경시키되, 하나 이상의 아미노산 잔기는 $\alpha 7$ -nAChR의 R101, N120, L131, L141, S170, W171, S172, Y210 및 Y217로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 Y210, R101 및 N129로부터 선택된다.

[0152] 다른 예로서, 5HT3(서열번호 6)의 잔기 W85, R87, Y136, Y138, G146, N147, Y148, K149, S177, S178, L179, Y228 및 Y229가 세로토닌의 결합을 매개하고, 이들 잔기 중 하나 이상에서의 돌연변이가 5HT3에 대한 세로토닌의 결합을 감소시킨다는 것이 발견되었다. 5HT3의 D64, I66, W85, R87, Y89, N123, G146, Y148, T176, S177, S178, W190, R191, F221, E224, Y228, Y229 및 E231은 비천연 리간드 실란세트론의 결합을 매개하고, 이들 잔기 중 하나 이상의 돌연변이는 5HT3에 대한 실란세트론 및/또는 다른 리간드의 친화도를 증가시키는 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 대상 조작된 수용체는 리간드 결합 도메인 영역 5HT3A 또는 5HT3의 리간드 결합 도메인 영역을 포함하는 키메라 수용체의 리간드 결합 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서 돌연변이를 포함하되, 여기서 하나 이상의 아미노산 잔기는 D64, I66, W85, R87, Y89, N123, Y136, Y138, G146, N147, Y148, K149, T176, S177, S178, L179, W190, R191, F221, E224, Y228, Y229 및 E231로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 5HT3에 대한 세로토닌의 결합을 변경시키되, 아미노산은 5HT3A의 W85, R87, Y136, Y138, G146, N147, Y148, K149, S177, S178, L179, Y228 및 Y229로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 Y136, Y138, N147, K149 및 L179로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기에서의 돌연변이는 5HT3에 대한 실란세트론의 결합을 변경시키되, 하나 이상의 아미노산 잔기는 5HT3A의 D64, I66, W85, R87, Y89, N123, G146, Y148, T176, S177, S178, W190, R191, F221, E224, Y228, Y229 및 E231로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 아미노산은 D64, I66, Y89, N123, T176, W190, R191, F221, E224 및 E231로부터 선택된다.

[0153] 일부 실시형태에서, LGIC의 활성을 조절하는 리간드의 능력에 영향을 미치는 하나 이상의 돌연변이는 LGIC의 이온 포어 도메인에 위치된다. 예를 들어, 세로토닌 수용체 5HT3A의 잔기 T279는, 이 잔기의, 예를 들어, 세린으로의 돌연변이(T279S)가 효과를 길항적(즉, LGIC 활성을 감소시킴)으로부터 작용적으로(즉, 통로 활성을 촉진) 전환시키도록, 리간드가 통로 활성을 조절하는 방법을 매개한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 리간드 개폐성 이온 통로는 인간 5HT3A(서열번호 6)의 이온 포어 도메인 또는 5HT3A의 이온 포어 도메인을 포함하는 키메라 LGIC 수용체의 이온 포어 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서 돌연변이를 포함하며, 치환은 서열번호 6의 279에 대응하는 아미노산에 있다. 특정 실시형태에서, 치환은 서열번호 6에 대한 T279S 치환이다.

[0154] 일부 양상에서, 대상 리간드-개폐성 이온 통로는 하나 이상의 비-탈감작성 돌연변이를 포함한다. 리간드-개폐성 이온 통로와 관련하여 사용될 때, "탈감작성"은 작용제의 장기적 존재 하에서 이온 흐름의 진행성 감소를 지칭한다. 이는 리간드에 대한 뉴런 반응성의 진행성 상실을 초래한다. 비-탈감작성 돌연변이는 LGIC가 리간드에 대해 탈감작성되는 것을 방지함으로써, 뉴런이 리간드에 대해 덜 반응성 또는 비반응성이 되는 것을 방지하는 아미노산 돌연변이를 의미한다. 비-탈감작성 돌연변이는 돌연변이를 운반하는 LGIC를 뉴런 내로 도입함으로써 그리고 리간드에 대한 장기간의 노출 동안 시간에 따른 전류 흐름을 분석함으로써 용이하게 확인될 수 있다. LGIC가 비-탈감작성 돌연변이를 포함하지 않는다면, 전류는 연장기간의 노출 동안 피크로부터 정적 상태로 회복되는 반면, LGIC가 비-탈감작성 돌연변이를 포함한다면, 전류는 리간드에 대한 노출의 지속기간 동안 피크 흐름에 남

아있을 것이다. 탈감작을 초래하는 예시적인 아미노산 돌연변이는 인간 GlyR α1에서의 V322L 돌연변이(신호 펩타이드를 제거하기 위해 전-단백질의 가공 후 V294L) 및 인간 GABA-A 수용체 GABRB3에서의 L321V 돌연변이(신호 펩타이드를 제거하기 위해 전-단백질의 가공 후 L296V)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 탈감작성 돌연변이는 LGIC의 C-말단에서 또는 근처에서 아미노산 잔기의 탈감작성 서열, 예를 들어, GABAR1에 의해 암호화된 단백질의 C 말단으로부터 유래된 IDRLSRIAFPLLFGIFNLVYWATYLNREPQL (서열번호 53)에 대해 90% 이상의 동일성을 갖는 서열로의 대체, 예를 들어, GABRR1에서의 잔기 455 내지 479의 IDRLSRIAFPLLFGIFNLVYWATYLNREPQL(서열번호 53)로의 대체이다. LGIC 탈감작화, LGIC의 탈감작화를 측정하는 방법, 및 비-탈감작성인 돌연변이는 당업계에 잘 공지되어 있으며; 예를 들어, 문헌[Gielen et al. Nat Commun 2015 Apr 20, 6:6829, 및 Keramidas et al. Cell Mol Life Sci. 2013 Apr;70(7):1241-53]을 참조하고, 이의 전체 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

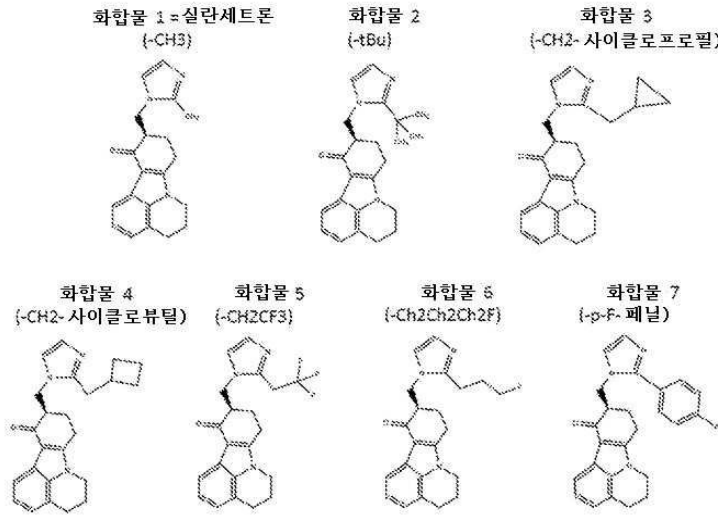
[0155] 일부 양상에서, 대상 리간드-개폐성 이온 통로는 하나 이상의 전환 돌연변이를 포함한다. 전환 돌연변이는 비전환 이온, 즉, 통과하는 것이 자연적으로 가능하게 되지 않는 이온의 전도도에 허용적이 되도록, LGIC의 이온 포어 도메인의 투과성을 변화시키는 돌연변이를 의미한다. 일부 경우에, 돌연변이는 양이온으로부터 음이온으로 투과성을 전환시키며, 예를 들어, 인간 α7-nAChR에서의 아미노산 잔기 260 내지 281(CHRNA7)(EKISLGITVLLSLTFVMLLVAE, 서열번호 54) 또는 다른 양이온-허용적 LGIC에서 대응하는 아미노산의 펩타이드 서열 PAKIGLGITVLLSLTTFMSGVAN(서열번호 55)로의 대체이다. 일부 경우에, 돌연변이는 양이온으로부터 음이온으로 투과성을 전환시키며, 예를 들어, GLRA1의 아미노산 잔기 279 또는 다른 음이온-허용적 LGIC에서 대응하는 아미노산의 글루탐산(E)으로의 치환, (GLRA1에서 A293E 치환은 LGIC를 음이온-허용적으로부터 칼슘-투과성으로 전환시킴), 또는 GLRA1의 아미노산 잔기 278 또는 다른 양이온-허용적 LGIC에서 대응하는 아미노산의 결실, GLRA1의 아미노산 잔기 279 또는 다른 음이온-허용적 LGIC에서 대응하는 아미노산의 글루탐산(E)으로의 치환, 및 GLRA1의 아미노산 잔기 293 또는 다른 음이온-허용적 LGIC에서 대응하는 아미노산의 발린(V)으로의 치환 (GLRA1에서 P278, A279E, T293V는 LGIC를 음이온-허용적으로부터 양이온-허용적으로 전환시킴)이다.

[0156] 본 명세서에 기재된 것 이상의 추가적인 조작된 수용체는, 예를 들어, 도 2 및 본 명세서의 작업 실시예에 기재된 바와 같이 시험관내 선별 및 검증 방법에 의해 용이하게 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 모 수용체 돌연변이체의 라이브러리는 제한된 수의 모 수용체, 예컨대 도 1에 나타내고 본 명세서의 다른 곳에 기재된 것으로부터 생성된다. 모 수용체는 오류 유발 PCR을 포함하는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 돌연변이될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이어서, 모 수용체 돌연변이체의 라이브러리는 효모 또는 포유류 세포에 형질감염되고 기능성 수용체를 확인하기 위해(예를 들어, 결합제 또는 리간드에 반응하여 신호전달할 수 있는 모 수용체를 확인하기 위해) 고속대량(high throughput)으로 선별된다. 일부 실시형태에서, 이어서, 이런 1차 선별에서 확인된 기능성 모 수용체 돌연변이체는 포유류 세포에서 발현되고, 예를 들어, 플레이트 판독기 및/또는 본 명세서에 기재된 전기생리학 분석에 의해 결합제 또는 리간드에 대한 반응성에 대해 선별된다. 이어서, 작용제 결합제에 대해 증가된 결합 친화도를 입증하거나, 제2 선별에서 작용제로서 길항제 또는 조절제 결합제의 사용을 가능하게 하는 모 수용체 돌연변이체는 선별되고 추가적인 시험관내 및/또는 생체내 검증 및 특성규명 분석을 통해 선택되고 운반될 수 있다. 이러한 선별 분석은 당업계에, 예를 들어 문헌[Armbruster, B.N. et al. (2007) PNAS, 104, 5163 내지 5168; Nichols, C.D. and Roth, B.L. (2009) Front. Mol. Neurosci. 2, 16; Dong, S. et al. (2010) Nat. Protoc. 5, 561-573; Alexander, G.M. et al. (2009) Neuron 63, 27-39; Guettier, J.M. et al. (2009) PNAS 106, 19197-19202; Ellefson J.W. et al. (2014) Nat Biotechnol. 32(1):97-101; Maranhao AC and Ellington AD. (2017) ACS Synth Biol. 20;6(1):108-119; Talwar S et al. (2013) PLoS One;8(3):e58479; Gilbert D.F. et al. (2009) Front Mol Neurosci. 30;2:17; Lynagh and Lynch, (2010), Biol Chem. 14:285(20), 14890-14897; Islam R. et al. (2016) ACS Chem Neurosci. 21;7(12):1647-1657; 및 Myers et al. (2008) Neuron. 8:58(3): 362-373]에 공지되어 있다.

[0157] **D. 결합제**

[0158] 용어 "결합제" 또는 "제제"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 포유류 세포 상에서 공지된 작용 메커니즘을 갖는 외인성 약물 또는 화합물을 지칭한다(예를 들어, 수용체의 작용제, 길항제 또는 조절제로서 작용하는 것으로 알려짐). 결합제는 단백질, 지질, 핵산 및/또는 소분자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합제는 특정 질환(예를 들어, 신경학적 질환)의 치료에서 임상용으로 미국 식품 의약국(US Food and Drug Administration: FDA)에 의해 승인된 약물 또는 화합물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 결합제는 임상용으로 FDA에 의해 승인되지 않았지만, 한 가지 이상의 임상 시험에서 시험된 약물 또는 화합물을 포함하고, 현재 한 가지 이상의 임상 시험에 시험 중이고/이거나 한 가지 이상의 임상 시험에 시험될 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 결합제는 임상용으로 FDA에 의해 승인되지 않았지만, 실험실 연구에서 일상적으로 사용되는 약물 또

는 화합물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 결합제는 앞서 언급한 제제 중 하나의 유사체이다. 특정 실시형태에서, 결합제는 표 2 내지 표 9의 작용제 중 어느 하나로부터 선택된다. 일부 이러한 실시형태에서, 결합제는 AZD0328, ABT-126, AQW-051, 칸나비다이올, 실란세트론, PH-399733, FACINICLINE/RG3487/MEM-3454 및 TC-5619/AT-101로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 결합제는 이하의 화학식 2 내지 7 중 하나가 R 또는 S 거울상이성질체로 기재되는 바와 같은, 실란세트론의 유사체이다:



[0159]

[0160]

일부 실시형태에서, 결합제는 작용제로서 작용한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "작용제"는 신호전달 반응을 유도하는 리간드 또는 결합제를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 결합제는 길항제로서 작용한다. 용어 길항제는 본 명세서에서 신호전달 반응을 저해하는 제제를 지칭하기 위해 사용된다.

[0161]

일부 실시형태에서, 결합제는 항불안제, 항경련제, 항우울제, 항정신병제, 항구토제, 누트로픽(nootropic), 항생제, 항진균제, 항바이러스제, 또는 항기생충제이다.

표 2

글리신수용체 (GlyR)에 대한 결합제

작용제		조절제/결합제	길항제	
빌로발라이드	L-세린	가베스티넬	468816	런단
칸나비다이올	MDL-27531	할로탄	ACEA-2085	MDL-100748
D-알라닌	메톡시플루란		비쿠쿨린	MDL-102288
D-세린	밀라세마이드		브루신	MDL-105519
데스플루란	목시덱틴		카페인	PD-165650
도라멕틴	NRX-1050		가베스티넬	피크로톡신
에마멕틴	NRX-1060		징코 빌로바	스트리키닌
에프리노멕틴	P-9939		GV-196771	티오펜치코사이드
에탄올	퀴스쿠알라민		GW 468816	투틴
글리신	라파스티넬		HMR-2371	UK-315716
하이포타우린	S-18841		L-695902	ZD-9379
아이소플루란	사르코신		L-701324	
이베르멕틴	세보플루란			
L-알라닌	타우린			
L-프롤린	β-알라닌			

[0162]

표 3

γ-아미노뷰티르산 A 수용체(GABA-A)에 대한 결합제

작용제	조절제/결합제			길항제
3-아실-4-퀴놀론	(-)에피갈로-카테킨-3-갈레이트	에티폭신	펜토바비탈	(±)-시스-(3-아미노사이클로펜틸)뷰틸포스핀산
아캄프로세이트	10-메톡시-안고닌	에티졸람	페트리클로랄	(S)-(4-아미노사이클로펜트-1-엔일)뷰틸포스핀산
알파돌론	11-하이드록시-안고닌	에토미데이트	PF-4480682	아목사핀
바말루졸	11-메톡시-12-하이드록시-데하이드로카바인	Evt-201	페나제팜	비쿠쿨린
바스미사닐	11-메톡시-안고닌	파시플론	페노바르비탈	CGP-36742 (3-아미노프로필-n-뷰틸-포스핀산)
브레타제닐	123i-이오마제닐	Fg-8205	피나제팜	플루마제닐
CACA	2-옥소쿠아제팜	플레타제팜	피페쿠알린	가바진
CAMP	3-하이드록시-페나제팜	플루브로마제팜	피복사제팜	징코 빌로바
CP-409092	5-하이드록시카바인	플루브로마졸람	브로민화칼륨	린단
도라멕틴	5,6-데하이드로-메티스티신	플루다이아제팜	프라제팜	메토헥시탈
에마멕틴	5,6-다이하이드로-안고닌	플루마제닐	프레마제팜	피크로톡신
에프리노멕틴	5,6,7,8-테트라하이드로-안고닌	플루니트라제팜	프리미돈	SKF-97541 (3-아미노프로필(메틸)포스핀산)
에스조피클론	7,8-다이하이드로카바인	플루라제팜	프로플라제팜	TPMPA
에탄올	7,8-다이하이드로-메티스티신	플루타졸람	프로파니디드	ZAPA ((Z)-3-[[아미노이미노메틸]티오]프로-2-엔산)
에토미데이트	7,8-다이하이드로-안고닌	플루테마제팜	프로포폴	
플루니트라제팜	아베카닐	플루토프라제팜	PWZ-007A	
GABA	아디나졸람	포사제팜	PWZ-009A1	

[0163]

작용제	조절제/결합제			길항제
가바마이드	알로바비탈	포스포프로폴	Pwz-029	
GABOB	알로- 프레그나놀론	가낙솔론	피라졸람	
가복사돌	알팍솔론	Gbld-345	PZ-II-028	
감마 하이드록시뷰 티르산	알페날	게도카닐	PZ-II-029	
글루테티마이 드	알피렘	기다제팜	Qh-Ii-66	
이보텐산	알프라졸람	기리소팜	쿠아제팜	
이미다제닐	아멘토플라본	글루테티마이 드	퀴니딘 바르비투레이 트	
아이소플루란	아모바비탈	Gyki-52466	레클라제팜	
아이소구바신	아피게닌	Gyki-52895	레미마졸람	
아이소니페코 탄산	아프로바르비탈	할라제팜	릴마자폰	
이버멕틴	아르펜다잠	할록사졸람	리파제팜	
L-830982	아비자폰	헵타바르비 탈	Ro15-4513	
메프로바메이 트	AZD7325	헥소바르비탈	Ro48-6791	
메톡시플루란	바이칼레인	이클라제팜	Ro48-8684	
MK- 0777/L83098	바이칼린	이미다제닐	Ro4938581	
메티프릴론	바르비탈	인디플론	Rwj-51204	
목시택틴	바르비투르산 유도체	이라제핀	사리피렘	
무스시롤	벤타제팜	카바인	사르마제닐	
N4- 클로로아세틸- 사이토신 아라비노사이 드	Br 알로바비탈	케나제핀	Sb-205,384	
파코클론	브레타제닐	케타졸람	스쿠텔라레인	
페니부트	브로마제팜	L-655708	세코바르비탈	
피카밀론	브로티졸람	L-838,417	세보플루란	
피페라진	부탈비탈	란타눔	Sh-053-R-Ch3- 2F	
피페리딘-4- 설푼산	부테탈	LAU 156	스컬-카플라본 II	
프로가바이드	부토바르비탈	LAU 157	SI-651,498	
QH-ii-066	카마제팜	LAU 159	소뎀아미탈	
퀴스쿠알라민	카르부라제팜	LAU 161	펜토탈나트륨	

[0164]

작용제	조절제/결합제			길항제
세보플루란	카르마이소프로 돌	LAU 162	스티리 펜들	
SL 75102	CGS 20625	LAU 163	설아제팜	
SL-651,498	CGS 20625	LAU 176	설폰메탄	
타어밀랄	CGS 8216	LAU 177	스프로클론	
티오무스시롤	CGS 9895	LAU 206	수리클론	
틀가바이드	CGS 9896	로펜다잠	Sx-3228	
토피라메이트	클로랄하이드레 이트	로피라제팜	탈람파넬	
졸피뎀	클로랄로스	로프라졸람	탈부탈	
α5IA	클로르디아아제 폭사이드	로라제팜	타미플론	
	클로르메자논	로르바메이트	테마제팜	
	클로로폼	로레클레졸	테트라제팜	
	시클로티졸람	로레디플론	테트로날	
	시나제팜	로르메타제팜	트독	
	시놀라제팜	메글로나제팜	테아닌	
	CI-218,872	메다제팜	타어밀랄	
	클라졸람	메니트라제팜	티에노- 다이아제핀	
	클리마졸람	메포바르비탈	티오펜탈	
	클로바잠	메프로바메이 트	토피소팜	
	클로메티아졸	메타클라제팜	틀루파제팜	
	클로나제팜	메타쿠알론	Tp-003	
	클로나졸람	메타르비탈	Tp-13	
	클로라제페이트	메토헥시탈	Tpa-023	
	클로티아제팜	메틸- 페노바르비탈	트라이아졸람	
	클록사졸람	메티프릴론	트라이플루바 잠	
	Cp-1414s	메티스티신	트라이플루노 르-다제팜	
	CTP-354	메티졸람	트라이오날	
	사이클로바르비 탈	멕사졸람	투클라제팜	
	사이프라제팜	미다졸람	올다제팜	
	델로라제팜	모트라제팜	발레렌산	
	데독세팜	N-데스알킬- 플루라제팜	발레르산	
	데스클로로- 에티졸람	네코피뎀	우고닌	
	데스메독시- 안고닌	네르아이소팜	XHe-II-006	

[0165]

작용제	조절제/결합제		길항제
데스메틸-플루니트라제팜	나이아신	XHe-II-019	
다이아제팜	나이아신아마이드	XHe-II-087c	
다이클라제팜	니폭시팜	XHe-II-094	
다이에탈 에터	니메타제팜	XHe-II-098b	
다이하이드로-에르고톡신	니트라제팜	XHe-II-17	
다이하이드로퀴니딘 바르비투레이트	니트라제페이트	XHe-III-006c	
다이프로쿠알론	니트라졸람	XHe-III-063	
디바플론	노르다제팜	XHe-III-24	
독세파제팜	노르테트라제팜	XHe/ON-I	
Elb-139	Ns-2664	Y-23684	
엘파제팜	Ns-2710	얀고닌	
에스타졸람	옥시나플론	잘레플론	
에스조피클론	오특실린 A	자피졸람	
에타쿠알론	옥사제팜	아연	
에타제핀	옥사졸람	Zk-93423	
에타졸레이트	파고클론	졸라제팜	
에틸 카르플루제페이트	파나디플론	졸피뎀	
에틸 다이라제페이트	파지나클론	조메바잠	
에틸 로플라제페이트	PB-XHe	조피클론	

[0166]

표 4

5-하이드록시트립타민 수용체 (5-HT3)에 대한 결합제

작용제	조절제/ 결합제	길항제	
2-메틸-5-HT	5-클로로인돌	3-트로파닐인돌-3- 카복실레이트	미안세린
알파-메틸트립타민	트라이미프라 민	Adr-851	미리세트론말리에이트
부포테닌		Adr-882	미르타자핀
클로로펜일- 비구아나이트		알로세트론	Ml-1035
시스아프라이드		아목사핀	Mm-218
DDP733		안피르톨린	N-3256
에탄올		아리피프라졸	네투피탄트
에탄올		AS-8112	올란자핀
이보가인		아자세트론	온단세트론
메토클로프라마이드		바타노프라이드	Org-4419
펜일비구아나이트		비무-1	Org-4419-2
퀴파진		클로로프로카인	팔로노세트론
RS-56812		실란세트론	판코프라이드
SR-57227		클로자핀	프로카인
Ta 펜트 adol		Cp-81386	쿠에티아핀
바레니클린		Cp-93318	R-093777
YM-31636		Cr-3124	R-자코프라이드
		DA-9701	라모세트론
		다이작	렌차프라이드
		Dat-582	Rg-12915
		Dau-6285	리카세트론
		Ddp-225	로쿠로늄
		돌라세트론	Rs-16566
		E-3620	Rs-33800
		파베세트론	Rs-56532
		파시니클린/RG3487 하이드로클로라이드	Rs-56812
		갈단세트론	S-21007
		가스트로프로키네텍스	Sc-50410
		Gk-128	Sc-52150
		Gr-65630	Sc-52246
		그라니세트론	Sc-52491
		Gyki-46903	Sc-54750
		이타세트론	Sdz-Icm-567

[0167]

작용제	조절제/ 결합제	길항제	
		Kb-6806	Sep-226332
		Kf-18259	Srss-021
		Kf-20170	테다티옥세틴
		Kga-0941	투존
		L-683877	토피라메이트
		라모트라이긴	트로피세트론
		레리세트론	투보쿠라린
		린토프라이드	Tzb-30878
		리톡세틴	Va-21B7
		록사핀	Vi-0134
		루로세트론	보르티옥세틴
		Ly-278584	보르티옥세틴 하이드로브로마이드
		M1, 모사프라이드의 주요 활성 대사물질	Way-100289
		Mci-225	Ym-114
		Mci-225	Ym-26103-2
		메만틴	Ym-26308-2
		멘톨	자코프라이드
		메타돈	자토세트론
		메토클로프라마이드	지프라시돈

[0168]

표 5

니코틴 아세틸콜린 수용체(nAChR)에 대한 결합제

작용제	조절제/결합제	길항제
(+)-N-(1-아자바이사이클로[2.2.2]옥트-3-일)벤조[b]피란-2-카복사마이드	A-867744	(-)-7-메틸-2-엑소-[3'-(6-[18F]플루오로피리딘-2-일)-5'-피리딘일]-7-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄
3-브로모사이티신	AQW-051	2-플루오로-3-(4-나이트로-펜일)데스클로로에피바타딘
A-366,833	AVL-3288	Acv-1
A-582941	데스포밀플루스트라브로민	ACVx
A-82695	에탄올	아모바비탈
A-84,543	갈란타민	아난다마이드
ABT-089	이버멕틴	Anq-9040
ABT-126	네페라세탐	아프로바르비탈
Abt-202	NS-1738	ATG-001
ABT-418	NS-9283	ATG003
Abt-418	PNU-120,596	아트라쿠름 베실레이트
Abt-560	테트라에틸암모늄	바르비탈
ABT-894		바르비투르산 유도체
아세틸콜린		비페리덴
알티니클린		부프로피온
알티니클린		부타바르비탈
아미노에톡시피리딘		부탈비탈
아나바신		부테탈
AR-R17779		클로로프로카인
Asm-024		시스아트라쿠름 베실레이트
AZD-0328		시스아트라쿠름베실레이트
부프로피온		코클라우린
하이드로클로라이드		
카바콜		데하이드로노르케타민
콜린		중수소화된 부프로피온
Cm-2433		덱스트로메토르판
CP-601927		독사쿠름 클로라이드
CP-601932		에탄올
Cp-810123		갈라민 트라이에티오다이드
시티신		헵타바르비탈
DBO-83		헥소바르비탈
데카메토늄		하이드록시부프로피온
다이아니클린		하이드록시 노르케타민
다이아니클린		이나페리손

[0169]

작용제	조절제/결합제	길항제
엔세니클린		이프타칼람
에피바티딘		아이소플루란
EVP-6124		케타민
Evp-6124		키뉴렌산
갈란타민		레보메타딜 아세테이트
GTS-21		로벨린
Gts-21		메카밀라민
ICH-3		메카밀라민
이스프로니클린		메만틴
레바미솔		메타돈
로벨린		메타비탈
로벨린 설페이트		메틸리카코니틴
Mem-3454		메틸페노바르비탈
MEM-63908		메토쿠린
Mem-63908		메토쿠린아이오다이드
N-(3-피리딘일)-브리지된 이환식다이아민		미바쿠롬
니코틴		네라멕산
PH-399733		Nic-002
Ph-399733		아산화질소
PHA-543,613		노르케타남
Pha-543613		Org-9991
PHA-709829		판쿠로늄
PNU-282,987		펜토바비탈
Pnu-282987		펜토리늄
포자니클린		페노바르비탈
포자니클린		피페쿠로늄
리바니클린		피페쿠로늄
리바니클린		PNU-120,596
Rjr-1401		프리미돈
Sar-130479		프로카인
사제티딘 A		퀴놀리지딘(-)-1-에피-207I
Sib-1663		RJR-2531
Sib-1765f		로쿠로늄
Sib-3182		RPI-78M
소피니클린		세코바르비탈
SSR-180,711		탈부탈
석신일콜린		티오펜탈
Suvn-F90101		트라이메타판
Suvn-F91201		투보쿠라린

[0170]

작용제	조절제/결합제	길항제
타크린-후퍼진 A		U-2902
TC-1698		베쿠로늄
TC-1827		α -분가로톡신
Tc-2216		α -코노톡신
Tc-2403		
Tc-2429		
Tc-2559		
Tc-2696		
TC-5619		
테바니클린		
트로피세트론		
Üb-165		
바레니클린		
WAY-317,538		

[0171]

표 6

ATP-개폐성 P2X 수용체 양이온 통로(P2X)에 대한 결합제

작용제	조절제 /결합제	길항제	
ATP	이버멕틴	4-벤조일-1-치환된-피페라진-2-온	MK-801
BzATP		5-메틸-6,7-다이 하이드로-5H 사이클로펜타피라진	MRS2159
α,β -meATP		5-옥소-3-피롤리딘 카복스아마이드	NF023
		5,6,7,8-테트라하이드로 피리도 [4,3,d]-피리미딘	NF279
		A-317491	NF449
		아미트라이프틸린	노르트립틸린
		아자인돌-3-카복스 아마이드	옥소아이소퀴놀린 카복스아마이드
		AZD-9056	파록세틴
		벤즈아마이드 6	피페라진
		벤조퓨로-1,4-다이아제핀-2-온	다환식 구아닌
		벤조이미다졸	PPADS
		바이아릴 벤즈아마이드	PPNDS
		카복스아마이드	피라졸로-[1,5,a]-피리딘 카복스아마이드
		CE-224535	피리 다지논
		데시프라민	피리독살-5-포스페이트
		다이아미노피리딘	피롤리논
		독세핀	피롤로-[2,3,b]-피리딘 카복스아마이드
		에슬리카바제핀아세테이트	피롤로피리미딘-7-온
		EVT-401	퀴놀린 카복스아마이드
		플루옥세틴	RO-3
		하이알루론산 유도체	RO-4
		이미프라민	RO-51
		인돌 카복스아마이드	스핀 오르핀
		인돌-3-카복스아마이드	수라민
		Ip5I	테트라하이드로-2H-1,2-티아진 1,1-다이옥사이드
		아이소퀴놀린 카복스아마이드	TNP-ATP
		아이소티아졸리딘 1,1-다이옥사이드	

[0172]

표 7

내향성 칼륨 정류 통로(Kir)에 대한 결합제

작용제	조절제 / 결합제	길항제
다이아족사이드		아세토헥사마이드
이프타칼림		카르부타마이드
미녹시딜		클로르프로파마이드
니코란딜		글리벤클라마이드
포스파티딜이노시톨 4,5- 비스포스페이트		글리벤클라마이드
피나시딜		글리보르뉴라이드
		글리클라자이드
		글리메피라이드
		글리피자이드
		글리퀴돈
		글리아이속세파이드
		글리부라이드
		글리클로피라마이드
		글리사이클라마이드
		메타헥사마이드
		톨라자마이드
		톨부타마이드
		트헥사마이드

[0173]

표 8

전압 의존적 칼륨 통로(KCNQ/Kv7)에 대한 결합제

작용제	조절제 / 결합제	길항제
다이아족사이드		아지밀라이드
플루피르틴		아미노다론
미녹시딜		브레틸륨
니코란딜		클로필륨
피나시딜		달팜프리딘
레티가빈		도페틸라이드
		E-4031
		이부틸라이드
		니페칼란트
		세마틸라이드
		소타롤
		설포닐유레아
		테다이사밀

[0174]

표 9

남성 섬유증 막관동 전도도 조절자(CFTR)에 대한 결합제

작용제	조절제 / 결합제	길항제
	8-사이클로펜틸-1,3-다이프로필 잔틴	부메타나이드
	8-메톡시프로살렌	크로펠레머
	아피게닌	글리부라이드
	CTP-656	이부프로펜
	게니스테인	
	IBMX	
	이바카프토르	
	루마카프토르	

[0175]

[0176] E. 폴리뉴클레오타이드

[0177] 다양한 예시적 실시형태에서, 본 개시내용은 부분적으로 폴리뉴클레오타이드, LGIC 및 소집단 및 이의 뮤테인을 포함하는 조각된 수용체 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 및 융합 폴리펩타이드, 바이러스 벡터 폴리뉴클레오타이드, 및 이들을 포함하는 조성물이 상정된다.

[0178] 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드", "뉴클레오타이드", "뉴클레오타이드 서열" 또는 "핵산"은 상호 호환적으로 사용된다. 이들은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합 형태, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 중 하나, 또는 이들의 유사체를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 임의의 3차원 구조를 가질 수 있고, 알려져 있거나 알려져 있지 않은 임의의 기능을 수행할 수 있다. 다음은 폴리뉴클레오타이드의 비제한적 예이다: 유전자 또는 유전자 단편의 암호화 또는 비암호화 영역, 결합 분석으로부터 정해진 좌위(좌위들), 엑손, 인트론, 전령 RNA(mRNA), 전달 RNA(tRNA), 리보솜 RNA(rRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 리보자임, cDNA, 재조합 폴리뉴클레오타이드, 분지형 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 핵산 프로브 및 프라이머. 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체 조립체의 전에 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해 방해될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 중합 후에, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 추가로 변형될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 데옥시리보핵산(DNA), 리보핵산(RNA) 또는 DNA/RNA 혼성체일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 전-전령 RNA(전-mRNA), 전령 RNA(mRNA), RNA, 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로RNA(miRNA), 리보자임, 합성 RNA, 게놈 RNA(gRNA), 플러스 가닥 RNA(RNA(+)), 마이너스 가닥 RNA(RNA(-)), 합성 RNA, 게놈 DNA(gDNA), PCR 증폭 DNA, 상보성 DNA(cDNA), 합성 DNA 또는 재조합 DNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 길이가 적어도 5, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 100, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 1000, 적어도 5000, 적어도 10000 또는 적어도 15000 이상의 뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드의 중합 형태, 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유형 중 하나의 변형된 형태뿐만 아니라 모든 중간 길이를 지칭한다. 이와 관련하여 "중간 길이"는 인용된 값 사이의 임의의 길이, 예컨대, 6, 7, 8, 9 등, 101, 102, 103 등; 151, 152, 153 등; 201, 202, 203 등을 의미한다는 것이 용이하게 이해될 것이다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 변이체는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 기준 서열에 대해 적어도 또는 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 가지며, 전형적으로 변이체는 달리 언급되지 않는 한, 기준 서열의 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지한다.

[0179] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유전자"는 인핸서, 프로모터, 인트론, 엑손 등을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭할 수 있다. 특정 실시형태에서, 용어 "유전자"는 폴리뉴클레오타이드 서열이 폴리펩타이드를 암호화하는 게놈 서열과 동일한지 여부와는 상관없이, 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다.

- [0180] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "시스-작용성 서열", "시스-작용성 조절 서열", 또는 "시스-작용성 뉴클레오타이드 서열" 또는 동의어는 유전자의 발현, 예를 들어, 전사 및/또는 번역과 연관된 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 일 실시형태에서, 시스-작용성 서열은 전사를 억제하거나 감소시키는 폴리펩타이드 또는 전사 억제에 기여하는 전사 인자 결합 부위와 연관된 폴리뉴클레오타이드 서열에 대한 결합 부위이기 때문에 전사를 조절한다. 폴리뉴클레오타이드 서열의 발현을 조절하고, 대상 조직된 수용체의 발현을 조절하는 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드에 작동가능하게 연결될 수 있는 시스-작용성 서열의 예는 당업계에서 잘 공지되어 있으며, 프로모터 서열(예를 들어, CAG, CMV, SYN, CamKII, TRPV1), 코작(Kozak) 서열, 인핸서, 전사후 조절 요소, miRNA 결합 요소 및 폴리아데닐화 서열로서 이러한 요소를 포함한다.
- [0181] 하나의 비제한적 예로서, 프로모터 서열은 세포에서 RNA 중합효소에 결합할 수 있고 하류의(3' 방향) 암호화 서열의 전사를 개시할 수 있는 DNA 조절 영역이다. 본 발명을 정하는 목적을 위해, 프로모터 서열은 전사 개시 부위에 의해 이의 3' 말단에 결합되며, 배경 초과의 검출 가능한 수준에서 전사를 개시하는 데 필요한 최소 수의 염기 또는 요소를 포함하도록 상류에서(5' 방향) 연장된다. 프로모터 서열 내에서 전사 개시 부위뿐만 아니라 RNA 중합효소의 결합을 조재하는 단백질 결합 도메인이 발견될 것이다. 진핵생물 프로모터는, 항상은 아니지만, 종종 "TATA" 박스 및 "CAT" 박스를 함유할 것이다. 본 발명의 다양한 벡터를 유도하기 위해 다양한 프로모터가 사용될 수 있다. 예를 들어, 프로모터는 구성적으로 활성인 프로모터, 즉, 외적으로 적용된 체계의 부재 하에 활성인 프로모터, 예를 들어, CMV IE1 프로모터, SV40 프로모터, GAPDH 프로모터, 액틴 프로모터일 수 있다. 프로모터는 유도성 프로모터, 즉, 이의 활성이 세포에 대한 체계, 예를 들어, 독시사이클린의 적용 시 조절되는 프로모터, tet-on 및 tet-off 프로모터, 에스트로겐 수용체 프로모터 동일 수 있다. 프로모터는 조직-특이적 프로모터, 즉, 세포의 특정 유형에 대해 활성인 프로모터일 수 있다.
- [0182] 일부 실시형태에서, 프로모터는 흥분성 세포에서 활성이다. "흥분성 세포"는 막전위의 변화에 의해 활성화되는 세포, 예를 들어, 뉴런 또는 근세포, 예를 들어, 후근 신경절 뉴런, 운동 뉴런, 흥분성 뉴런, 저해 뉴런 또는 감각 뉴런을 의미한다. 본 폴리뉴클레오타이드 조성물에서의 용도를 발견하는 흥분성 세포에서 활성인 프로모터는 뉴런 프로모터, 예를 들어, 시냅신(SYN), TRPV1, Na_v1.7, Na_v1.8, Na_v1.9, CamKII, NSE, 및 애드빌린(Advillin) 프로모터; 근세포 프로모터, 예를 들어, 테스민(Des), 알파-미오신 중쇄(α -MHC), 미오신 경쇄 2(MLC-2) 및 심장 트로포닌 C(cTnC) 프로모터; 및 편재 작용성 프로모터, 예를 들어, CAG, CBA, E1Fa, Ubc, CMV, 및 SV40 프로모터를 포함한다.
- [0183] 본 명세서에서 사용되는 "유도성 발현을 위한 조절 요소"는 발현되도록 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결되고, 이에 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드의 발현을 증가(턴-온) 또는 감소(턴-오프)시키기 위해 요소에 결합하는 분자의 존재 또는 부재에 반응하는 프로모터, 인핸서 또는 이의 기능성 단편인 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 유도성 발현을 위한 예시적인 조절 요소는 테트라사이클린 반응성 프로모터, 엑디손 반응성 프로모터, 큐메이트 반응성 프로모터, 글루코코르티코이드 반응성 프로모터, 에스트로겐 반응성 프로모터, RU-486 반응성 프로모터, PPAR- γ 프로모터 및 피옥사이드 유도성 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0184] "일시적 발현을 위한 조절 요소"는 폴리뉴클레오타이드 뉴클레오타이드 서열을 간략하게 또는 일시적으로 발현시키는 데 사용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드의 지속기간을 제한하기 위해 일시적 발현을 위한 하나 이상의 조절 요소가 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 발현의 바람직한 지속기간은 분, 시간 또는 일수의 순서이다. 일시적 발현을 위한 예시적인 조절 요소는 뉴클레아제 표적 부위, 재조합효소 인식 부위, 및 저해 RNA 표적 부위를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가로, 일정한 정도로, 특정 실시형태에서, 유도성 발현을 위한 조절 요소는 폴리뉴클레오타이드 발현의 지속기간을 제어하는 데 기여할 수 있다.
- [0185] 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드 변이체" 및 "변이체" 등은 본 명세서에서 이후에 정해지는 엄격 조건 하에 기준 서열과 혼성화되는 기준 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 폴리뉴클레오타이드와의 실질적인 서열 동일성을 나타내는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 이들 용어는 또한 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 첨가, 결실, 치환 또는 변형에 의해 기준 폴리뉴클레오타이드와 구별되는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 따라서, 용어 "폴리뉴클레오타이드 변이체" 및 "변이체"는 하나 이상의 뉴클레오타이드가 첨가되거나 결실되거나, 변형되거나, 상이한 뉴클레오타이드로 대체되는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 이와 관련하여, 돌연변이, 첨가, 결실 및 치환을 포함하는 특정 변형은 기준 폴리뉴클레오타이드로 이루어질 수 있으며, 이에 의해 변경된 폴리뉴클레오타이드는 기준 폴리뉴클레오타이드의 생물학적 기능 또는 활성을 보유한다는 것이 당업계에서 잘

이해된다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 변이체는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 기준 서열에 대해 적어도 또는 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 가지며, 전형적으로 변이체는 달리 언급되지 않는 한 기준 서열의 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지한다.

[0186] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 엄격 조건 하에 표적 핵산 서열에 혼성화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. "엄격한 조건" 하에 혼성화하는 것은 서로에 대해 적어도 60% 동일한 뉴클레오타이드 서열이 혼성화된 채로 남아있는 혼성화 프로토콜을 기재한다. 일반적으로, 엄격한 조건은 정해진 이온 강도 및 pH에서 구체적 서열에 대해 열 용점(T_m)보다 약 5°C 더 낮아지도록 선택된다. T_m은 표적 서열에 상보적인 프로브의 50%가 평형 상태에서 표적 서열에 혼성화하는 (정해진 이온 강도, pH 및 핵산 농도 하의) 온도이다. 표적 서열은 T_m에서 일반적으로 과량으로 존재하기 때문에, 프로브의 50%는 평형 상태에서 점유된다.

[0187] "서열 동일성"의 설명 또는, 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "에 대해 50% 동일한"을 포함하여, 서열이 비교창에 걸쳐 뉴클레오타이드 간의 기초 또는 아미노산 간의 기초에 대해 동일한 정도를 지칭한다. 따라서, "서열 동일성의 백분율"은 비교창에 걸쳐 두 최적으로 정렬된 서열을 비교하고, 동일한 핵산 염기(예를 들어, A, T, C, G, I) 또는 동일한 아미노산 잔기(예를 들어, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys 및 Met)가 서열 둘 다에서 생기는 위치 수를 결정하여 매칭된 위치의 수를 얻고, 매칭된 위치의 수를 비교창에서의 위치의 총 수(즉, 창 크기)로 나눈 다음에, 결과에 100을 곱하여서 서열 동일성 백분율을 얻음으로써 계산될 수 있다. 2 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 사이의 서열 관계를 기재하기 위해 사용되는 용어는 "기준 서열", "비교창", "서열 동일성", "서열 동일성의 백분율" 및 "실질적인 동일성"을 포함한다. "기준 서열"은 뉴클레오타이드 및 아미노산 잔기를 포함하는, 적어도 12개이지만, 빈번하게는 15 내지 18개, 종종은 적어도 25개의 단량체 단위 길이이다. 두 폴리뉴클레오타이드는 각각 (1) 두 폴리뉴클레오타이드 간에 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오타이드 서열의 일부만), 및 (2) 두 폴리뉴클레오타이드 간에 분기하는 서열을 포함할 수 있기 때문에, 두 (이상) 폴리뉴클레오타이드 사이의 서열 비교는 서열 유사성의 국소 영역을 확인하고 비교하기 위해 "비교창"에 걸쳐 두 폴리뉴클레오타이드의 서열을 비교함으로써 전형적으로 수행된다. "비교창"은 두 서열이 최적으로 정렬된 후에 서열이 동일한 수의 인접한 위치의 기준 서열과 비교되는 적어도 6개, 보통 약 50 내지 약 100, 더 보통으로는 약 100 내지 약 150개의 인접한 위치의 개념적 세그먼트를 지칭한다. 비교창은 두 서열의 최적의 정렬을 위해 기준 서열(첨가 또는 결실을 포함하지 않음)에 비해 약 20% 이하의 첨가 또는 결실(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 비교창을 정렬시키기 위한 서열의 최적의 정렬은 알고리즘의 컴퓨터 실행에 의해(미국 위스콘신주 메디슨 사이언스 드라이브 575에 소재한 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지 릴리즈(Wisconsin Genetics Software Package Release) 7.0에서 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA) 또는 선택되는 임의의 다양한 방법에 의해 생성된 검사 및 최적의 정렬(즉, 비교창에 걸쳐 가장 높은 상동성 백분율을 초래함)에 의해 수행될 수 있다. 또한, 예를 들어, 문헌[Altschul *et al.*, 1997, *Nucl. Acids Res.* 25:3389]에 개시된 바와 같은 프로그램의 BLAST 패밀리가 언급될 수 있다. 서열 분석의 상세한 논의는 문헌[Unit 19.3 of Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15]에서 찾을 수 있다.

[0188] 본 명세서에서 사용되는 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 천연-유래 상태에서 추출하는 서열로부터 정제된 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 단편에 정상적으로 인접하는 서열로부터 제거된 DNA 단편을 지칭한다. 특정 실시형태에서, "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 천연에서 존재하지 않고 인간의 손으로 만들어진 상보성 DNA(cDNA), 재조합 DNA, 또는 다른 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0189] 폴리뉴클레오타이드의 배향을 기재하는 용어는 5'(정상적으로는 유리 인산염기를 갖는 폴리뉴클레오타이드 말단) 및 3'(정상적으로는 유리 하이드록실(OH) 기를 갖는 폴리뉴클레오타이드의 말단)을 포함한다. 폴리뉴클레오타이드 서열은 5'에서 3' 배향 또는 3'에서 5' 배향으로 주석이 달릴 수 있다. DNA 및 mRNA에 대해, 5'에서 3' 가닥은 "센스", "플러스" 또는 "암호화" 가닥으로 표기되는데, 이의 서열이 전-전령(pre-mRNA)의 서열과 동일하기 때문이다(DNA에서의 티민(T)을 대신하는 RNA에서의 유라실(U)을 제외). DNA 및 mRNA에 대해, RNA 중합효소에 의해 전사될 가닥인 상보성 3'에서 5' 가닥은 "주형", "안티센스", "마이너스" 또는 "비암호화" 가닥으로서 표기된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "역배향"은 3'에서 5' 배향으로 기재되는 5'에서 3' 서열 또는 5'에서 3' 배향으로 기재되는 3'에서 5' 서열을 지칭한다.

[0190] 용어 "추적된"은 서열에 대해 상류의 폴리뉴클레오타이드 서열 및/또는 하류의 폴리뉴클레오타이드 서열, 즉,

5' 및/또는 3' 사이에 있는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 예를 들어, 두 다른 요소(예를 들어, ITR)에 의해 "측집된" 서열은 하나의 요소가 서열에 대해 5' 위치되고, 다른 하나의 요소는 서열에 대해 3' 위치된다는 것을 나타내지만; 그러나, 그 사이의 개재 서열일 수 있다.

[0191] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 염기쌍 규칙에 의해 관련된 폴리뉴클레오타이드(즉, 뉴클레오타이드의 서열)를 지칭한다. 예를 들어, DNA 서열 5' A G T C A T G 3'의 상보성 가닥은 3' T C A G T A C 5'이다. 후자의 서열은 좌측에 대해 5' 단부 및 우측에 대해 3' 단부를 갖는 역상보체, 즉, 5' C A T G A C T 3'로서 종종 기재된다. 역상보체와 동일한 서열은 회문식 서열이 언급된다. 상보성은 핵산 염기의 일부만이 염기쌍 규칙에 따라 매칭되는 "부분적"일 수 있다. 또는 핵산 사이에 "완전한" 또는 "전체" 상보성이 있을 수 있다.

[0192] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "핵산 카세트" 또는 "발현 카세트"는 폴리뉴클레오타이드로부터의 하나 이상의 RNA를 발현시키는 데 충분한 더 큰 폴리뉴클레오타이드 내의 폴리뉴클레오타이드 서열, 예컨대 벡터를 지칭한다. 발현된 RNA는 단백질로 번역되고, 절단 및/또는 분해를 위해 다른 폴리뉴클레오타이드 서열을 표적화하는 가이드 RNA 또는 저해 RNA로서 작용할 수 있다. 일 실시형태에서, 핵산 카세트는 하나 이상의 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드(들)를 함유한다. 다른 실시형태에서, 핵산 카세트는 관심 대상의 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드(들)에 작업 가능하게 연결된 하나 이상의 발현 제어 서열을 함유한다. 폴리뉴클레오타이드는 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "관심 대상의 폴리뉴클레오타이드"는 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 또는 본 명세서에 상정된 바와 같은 저해 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, LGIC, 및 소집단 및 이들의 뮤테인의 전사를 위한 주형으로서 작용하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드는 한 가지 이상의 효소적 활성, 예컨대 뉴클레아제 활성 및/또는 염색질 리모델링 또는 후성적 변형 활성을 갖는 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드를 암호화한다.

[0193] 벡터는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상의 핵산 카세트를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 바람직한 실시형태에서, 핵산 카세트는 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, LGIC, 및 소집단 및 이들의 뮤테인에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 발현 제어 서열(예를 들어, 뉴런 세포에서 작동 가능한 프로모터 또는 인핸서)을 포함한다. 카세트는 단일 단위로서 다른 폴리뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 플라스미드 또는 바이러스 벡터로부터 제거되거나 삽입될 수 있다.

[0194] 일 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9개 이상의 핵산 카세트를 포함하며, 이의 임의의 수 또는 조합은 동일 또는 반대 배향일 수 있다.

[0195] 게다가, 유전자 암호의 축중의 결과로서, 본 명세서에 상정된 바와 같은 폴리펩타이드, 또는 이의 변이체의 단편을 암호화할 수 있는 다수의 뉴클레오타이드 서열이 있다는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다. 이들 폴리뉴클레오타이드의 일부는 임의의 천연 유전자의 뉴클레오타이드에 대해 최소 상동성을 보유한다. 그럼에도 불구하고, 코돈 출현 빈도의 차이에 기인하여 변하는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 인간 및/또는 영장류 코돈 선택을 위해 최적화된 폴리뉴클레오타이드는 본 개시내용에 의해 구체적으로 상정된다. 일 실시형태에서, 특정 대립 유전자 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 대립유전자는 하나 이상의 돌연변이, 예컨대 뉴클레오타이드의 결실, 첨가 및/또는 치환의 결과로서 변경되는 내인성 폴리뉴클레오타이드 서열이다.

[0196] **F. 벡터**

[0197] 본 개시내용의 일부 양상에서, 핵산 분자, 즉, 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 대상체에게 전달된다. 일부 경우에, 조작된 수용체를 암호화하는 핵산 분자는 벡터에 의해 대상체에게 전달된다. 다양한 실시형태에서, 벡터는 본 명세서에 상정된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 용어 "벡터"는 다른 핵산 분자를 전달하거나 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 전달된 폴리뉴클레오타이드는 일반적으로, 벡터 핵산 분자에 연결되고, 예를 들어, 삽입된다. 벡터는 세포에서 자율적 복제를 지시하는 서열을 포함할 수 있거나, 숙주 세포 DNA 내로 통합을 가능하게 하는데 충분한 서열을 포함할 수 있다. 벡터는 유기체, 세포 또는 세포 성분에 표적 폴리뉴클레오타이드를 전달할 수 있다. 일부 경우에, 벡터는 발현 벡터이다. 본 명세서에서 사용되는 "발현 벡터"는 벡터, 예를 들어, 이에 혼입된 폴리뉴클레오타이드의 발현뿐만 아니라 복제를 촉진시킬 수 있는 플라스미드를 지칭한다. 전형적으로, 발현될 핵산 서열은 시스-작용성 조절 서열, 예를 들어, 프로모터 및/또는 인핸서 서열에 작동 가능하게 연결되고, 프로모터 및/또는 인핸서에 의해 전사 조절 제어 처리된다. 특정 경우에, 벡터는 본 개시내용의 조작된 수용체를 암호화하는 핵산 분자를 대상체에게 전달하는 데 사용된다.

- [0198] 특정 실시형태에서, 발현 카세트 또는 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 뉴런 세포 내로 도입하는 데 적합한 임의의 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예시적인 예는 플라스미드(예를 들어, DNA 플라스미드 또는 RNA 플라스미드), 트랜스포존, 코스미드, 박테리아 인공 염색체 및 바이러스 벡터를 포함한다. 일부 경우에, 벡터는, 예를 들어, 플라스미드, BAC, PAC, YAC, 코스미드, 포스미드 등에 대한 원형 핵산이다. 일부 경우에, 원형 핵산 분자는 조작된 수용체를 암호화하는 핵산 분자를 대상체에게 전달하기 위해 이용될 수 있다. 예를 들어, 조작된 수용체를 암호화하는 플라스미드 DNA 분자는 대상체의 세포 내로 도입될 수 있고, 이에 의해 조작된 수용체를 암호화하는 DNA 서열은 mRNA로 전사되고, mRNA "전령"은 단백질 산물로 번역된다. 원형 핵산 벡터는 일반적으로 표적 단백질의 발현을 조절하는 조절 요소를 포함할 것이다. 예를 들어, 원형 핵산 벡터는 다수의 프로모터, 인핸서, 종결자, 스플라이스 신호, 복제기점, 개시 신호 등을 포함할 수 있다.
- [0199] 일부 경우에, 벡터는 레플리콘을 포함할 수 있다. 레플리콘은 자기-복제할 수 있는 임의의 핵산 분자일 수 있다. 일부 경우에, 레플리콘은 바이러스로부터 유래된 RNA 레플리콘이다. 알파바이러스, 피코르나바이러스, 플라비바이러스, 코로나바이러스, 페스티바이러스, 루비바이러스, 칼시바이러스 및 헤파시바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 적합한 바이러스(예를 들어, RNA 바이러스)가 이용 가능하다.
- [0200] 일부 실시형태에서, 벡터는 비-바이러스 벡터이다. "비-바이러스 벡터"는 바이러스 캡시드 또는 외피, 예를 들어, 지질 나노입자(음이온성(음으로 하전), 중성, 또는 양이온성(양으로 하전)), 중금속 나노입자, 중합체-기반 입자, 플라스미드 DNA, 미니서클 DNA, 미니벡터 DNA, ccDNA, 합성 RNA, 엑소솜 등을 포함하지 않는 임의의 전달 비히클을 의미한다. 비-바이러스 벡터는 당업계에 잘 이해되는 바와 같은 임의의 적합한 방법, 예를 들어, 나노입자 전달, 유전자총법, 전기천공법, 음파처리, 또는 미량주사법에 의해 전달될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Chen et al. Mol. Therapy, Methods and Clinical Development. 2016 Jan; Vol 3, issue 1; 및 Hardy, CE et al. Genes (Basel). 2017 Feb; 8(2): 65] 참조.
- [0201] 다른 실시형태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. "바이러스 벡터"는 관심 대상의 RNA 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 주변의 바이러스 캡시드 또는 외피를 포함하는 전달 비히클을 의미한다. 일부 경우에, 바이러스 벡터는 복제-결함 바이러스로부터 유래된다. 본 개시내용의 핵산 분자를 대상체에게 전달하기에 적합한 바이러스 벡터의 비제한적 예는 아데노바이러스, 레트로바이러스(예를 들어, 렌티바이러스), 아데노-연관 바이러스(AAV) 및 단순포진-1(HSV-1)로부터 유래된 것을 포함한다. 적합한 바이러스 벡터의 예시적 예는 레트로바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터), 헤르페스 바이러스 기반 벡터 및 파코바이러스 기반 벡터(예를 들어, 아데노-연관 바이러스(AAV) 기반 벡터, AAV-아데노바이러스 키메라 벡터 및 아데노바이러스-기반 벡터)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0202] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "파코바이러스"는 자율적으로 복제하는 파코바이러스 및 디펜도바이러스를 포함하는 모든 파코바이러스를 포함한다. 자율적 파코바이러스는 파코바이러스(*Parvovirus*), 에리트로바이러스(*Erythrovirus*), 덴소바이러스(*Densovirus*), 이테라바이러스(*Iteravirus*) 및 콘트라바이러스(*Contravirus*) 속의 구성원을 포함한다. 예시적인 자율적 파코바이러스는 마우스 미니트 바이러스(mouse minute virus), 소 파코바이러스, 개 파코바이러스, 닭 파코바이러스, 고양이 범백혈구감소증 바이러스, 고양이 파코바이러스, 거위 파코바이러스 및 B19 바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 다른 자율적 파코바이러스는 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Fields et al., 1996 *Virology*, volume 2, chapter 69 (3d ed., Lippincott-Raven Publishers)] 참조.
- [0203] 디펜도바이러스(*Dependovirus*)는 AAV 1형, AAV 2형, AAV 3형, AAV 4형, AAV 5형, AAV 6형, AAV 7형, AAV 8형, AAV 9형, AAV rh10형, 조류 AAV, 소 AAV, 개 AAV, 말 AAV 및 양 AAV을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 아데노-연관 바이러스(AAV)를 포함한다.
- [0204] 바람직한 실시형태에서, 벡터는 AAV 벡터이다. 특정 경우에, 바이러스 벡터는 AAV-6 또는 AAV-9 벡터이다.
- [0205] 모든 공지된 AAV 혈청형의 게놈 조직화는 유사하다. AAV의 게놈은 길이가 약 5,000개의 뉴클레오타이드(nt) 미만인 선형, 단일-가닥 DNA 분자이다. 역위 말단 반복부(Inverted terminal repeat: ITR)는 비구조적 복제(Rep) 단백질 및 구조적(VP) 단백질에 대한 독특한 암호화 뉴클레오타이드 서열에 축적한다. VP 단백질(VP1, -2 및 -3)은 캡시드를 형성하며, 바이러스의 향성에 기여한다. 말단의 145nt ITR은 자기-상보성이며, T-형 헤어핀을 형성하는 활동적으로 안정한 분자간 이중가닥이 형성될 수 있도록 조직화된다. 이들 헤어핀 구조는 바이러스 DNA 복제를 위한 기점으로 작용하여, 세포의 DNA 중합효소 복합체에 대한 프라임로서 작용한다. 포유류 세포에서 야생형(wt) AAV 감염 후에 Rep 유전자는 발현되고, 바이러스 게놈의 복제에서 작용한다.

- [0206] 일부 경우에, 바이러스 벡터의 외부 단백질 "캡시드", 예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10는 천연에서 생긴다. 특정 경우에, 캡시드는 천연에서 존재하지 않는 특정 독특한 특징, 예컨대 항성, 증가된 형질도입 효율 또는 면역 침윤을 갖도록 합성에 의해(예를 들어, 유도된 진화 또는 합리적 설계를 통해) 조작된다. 합리적으로 설계된 캡시드의 예는 VP3 바이러스 캡시드 단백질 상에서의 하나 이상의 표면-노출 타이로신(Y), 세린(S), 트레오닌(T) 및 라이신(K) 잔기의 돌연변이이다. VP3 캡시드 단백질이 합성에 의해 조작되고 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 바이러스 벡터의 비제한적 예는 AAV1(Y705+731F+T492V), AAV2(Y444+500+730F+T491V), AAV3(Y705+731F), AAV5(Y436+693+719F), AAV6(Y705+731F+T492V), AAV8(Y733F), AAV9(Y731F) 및 AAV10(Y733F)을 포함한다. 유도된 진화를 통해 조작되고 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 바이러스 벡터의 비제한적 예는 AAV-7m8 및 AAV-ShH10을 포함한다.
- [0207] 본 명세서의 "제조합 파보바이러스 또는 AAV 벡터"(또는 "rAAV 벡터")는 하나 이상의 ITR에 의해 측정되는 본 명세서에 상정된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 ITR에 대해 "이중성"인 것으로 언급되는데, 이러한 조합이 천연에서 보통 일어나지 않기 때문이다. 이러한 rAAV 벡터는 AAV rep 및 cap 유전자 산물(즉, AAV Rep 및 Cap 단백질)을 발현시키는 곤충 숙주 세포에 존재할 때, 복제되고 감염성 바이러스 입자에 패키징될 수 있다. rAAV 벡터가 더 거대한 핵산 작제물에(예를 들어, 염색체에 또는 다른 벡터, 예컨대 플라스미드 또는 클로닝 또는 형질감염을 위해 사용되는 바콜로바이러스에서) 혼입될 때, rAAV 벡터는 전형적으로 AAV 패키징 기능 및 필요한 헬퍼 기능의 존재 하에 복제 및 캡슐화에 의해 "구조(rescued)"될 수 있는 "프로-벡터"로서 지칭된다.
- [0208] 특정 실시형태에서, 임의의 AAV ITR은 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15 및 AAV16으로부터의 ITR을 포함하는 AAV 벡터에서 사용될 수 있다. 하나의 바람직한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 AAV 벡터는 하나 이상의 AAV2 ITR을 포함한다.
- [0209] 두 ITR을 포함하는 rAAV 벡터는 약 4.4kB의 페이로드(payload) 용량을 가진다. 자기-상보성 rAAV 벡터는 제3의 ITR을 함유하고, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드에 대해 약 2.1kB만을 남기는 벡터의 제조합 부분의 2개 가닥을 패키징한다. 일 실시형태에서, AAV 벡터는 scAAV 벡터이다.
- [0210] rAAV의 패키징 용량(약 9kB)의 대략 2배인 확장된 패키징 용량은 이중 rAAV 벡터 전략을 이용하여 달성되었다. 본 명세서에 상정된 rAAV를 생성하는 데 유용한 이중 벡터 전략은 스플라이싱(트랜스-스플라이싱), 상동성 재조합(중복), 또는 둘의 조합(혼성체)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이중 AAV 트랜스-스플라이싱 전략에서, 스플라이스 공여자(SD) 신호는 5'-절반 벡터의 3' 단부에 위치되고, 스플라이스 수용자(SA) 신호는 3'-절반 벡터의 5' 단부에 위치된다. 두 절반의 이중 AAV 벡터 및 역위 말단 반복부(ITR)-매개 헤드-투-테일 콘카타머화(concatemerization)에 의한 동일 세포의 공동 감염 시, 트랜스-스플라이싱은 성숙 mRNA 및 전체 크기 단백질의 생성을 초래한다(Yan *et al.*, 2000). 트랜스-스플라이싱은 근육 및 망막에서 거대 유전자를 발현시키기 위해 성공적으로 사용되었다(Reich *et al.*, 2003; Lai *et al.*, 2005). 대안적으로, 이중 AAV 벡터에 함유된 거대 이식 유전자 발현 카세트의 두 절반은 상동성 재조합에 의해 단일 거대 게놈의 재구성을 매개하는 상동성 중복 서열(5'-절반 벡터의 3' 말단에서 그리고 3'-절반 벡터의 5' 말단에서, 이중 AAV 중복)을 함유할 수 있다(Duan *et al.*, 2001). 이 전략은 이식유전자 중복 서열의 제조합 특성에 따른다(Ghosh *et al.*, 2006). 제3의 이중 AAV 전략(혼성체)은 트랜스-스플라이싱 벡터에 외인성 유전자(즉, 알칼리성 포스파타제; Ghosh *et al.*, 2008, Ghosh *et al.*, 2011)로부터의 고도로 재조합성인 영역을 첨가하는 것에 기반한다. 첨가된 영역은 5'-절반 벡터에서 SD 신호 하류에 위치되고, 이중 AAV 사이의 제조합을 증가시키기 위해 3'-절반 벡터에서 SA 신호의 상류에 위치된다.
- [0211] "혼성 AAV" 또는 "혼성 rAAV"는 상이한 AAV 혈청형의(바람직하게는, 하나 이상의 AAV ITR과 상이한 혈청형의) 캡시드로 패키징된 rAAV 게놈을 지칭하며, 다르게는 위형 rAAV로서 지칭될 수 있다. 예를 들어, rAAV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16형 게놈은 AAV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16형 캡시드 또는 이의 변이체 내에서 캡슐화될 수 있으며, 단, AAV 캡시드 및 게놈(바람직하게는, 하나 이상의 AAV ITR)은 상이한 혈청형을 가진다. 특정 실시형태에서, 위형 rAAV 입자는 "x/y" 형인 것으로 지칭될 수 있으며, 여기서 "x"는 ITR의 공급원을 나타내고, "y"는 캡시드의 혈청형을 나타내며, 예를 들어, 2/5 rAAV 입자는 AAV2로부터의 ITR 및 AAV6으로부터의 캡시드를 가진다.
- [0212] "숙주 세포"는 본 개시내용의 제조합 벡터 또는 폴리뉴클레오타이드로 생체내, 생체의 또는 시험관내에서 형질 감염되거나, 감염되거나 형질도입된 세포를 포함한다. 숙주 세포는 바이러스 생성 세포 및 바이러스 벡터로 감

염된 세포를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 생체내 숙주 세포는 본 명세서에 상정된 바이러스 벡터로 감염된다. 특정 실시형태에서, 용어 "표적 세포"는 숙주 세포와 상호 호환적으로 사용되고, 목적하는 세포 유형의 감염 세포를 지칭한다.

[0213] 고역가 AAV 제제는 당업계에 공지된 기법을 이용하여, 예를 들어, 미국 특허 제5,658,776호; 제6,566,118호; 제6,989,264호; 및 제6,995,006호; 미국 특허 제2006/0188484호; WO98/22607; WO2005/072364; 및 WO/1999/011764; 및 문헌[Viral Vectors for Gene Therapy: Methods and Protocols, ed. Machida, Humana Press, 2003; Samulski et al., (1989) J. Virology 63, 3822; Xiao et al., (1998) J. Virology 72, 2224; Inoue et al., (1998) J. Virol. 72, 7024]에 기재된 바와 같이 당업계에 공지된 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 위형 AAV 벡터를 생성하는 방법(예를 들어, WO 00/28004)뿐만 아니라 생체내 투여 시 이들의 면역원성을 감소시키기 위한 AAV 벡터의 다양한 변형 또는 제형화가 또한 보고되었다(예를 들어, WO 01/23001; WO 00/73316; WO 04/1 12727; WO 05/005610; WO 99/06562).

[0214] **G. 약제학적 조성물**

[0215] 또한 벡터의 약제학적 제제 및 결합체의 약제학적 제제를 포함하는 약제학적 제제가 제공된다. 약제학적 제제는 조작된 수용체를 암호화하는 대상 폴리뉴클레오타이드(RNA 또는 DNA), 대상 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(RNA 또는 DNA)를 운반하는 벡터, 또는 약제학적으로 허용 가능한 비히클에 존재하는 결합체를 포함한다. "약제학적으로 허용 가능한 비히클"은 미연방 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전 또는 인간과 같은 포유류에서 사용하기 위한 다른 일반적으로 인식되는 약전에 열거된 비히클일 수 있다. 용어 "비히클"은 포유류에 대한 투여를 위해 본 개시내용의 화합물과 함께 제형화되는 희석제, 아주반트, 부형제 또는 담체를 지칭한다. 이러한 약제학적 비히클은 식유, 동물, 식물 또는 합성 유래의 오일, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광유, 참깨유 등을 포함하는 오일 및 물과 같은 액체일 수 있다. 약제학적 비히클은 식염수, 아카시아검, 젤라틴, 전분 페이스트, 활석, 케라틴, 콜로이드성 실리카, 유레아 등일 수 있다. 추가로, 보조제, 안정제, 증점제, 윤활제 및 착색제가 사용될 수 있다. 포유류에게 투여될 때, 본 개시내용의 화합물 및 조성물 및 약제학적으로 허용 가능한 비히클, 부형제 또는 희석제는 멸균일 수 있다. 일부 예에서, 본 개시내용의 화합물이 정맥내로 투여될 때 비히클로서 수성 매질, 예컨대 물, 식염수 용액, 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 사용된다.

[0216] 약제학적 조성물은 캡슐, 정제, 알약, 펠릿, 로젠지, 분말, 과립, 시럽, 엘릭시르, 용액, 현탁액, 에멀션, 좌약 또는 이들의 지속-방출 제형의 형태, 또는 포유류에 대한 투여에 적합한 임의의 다른 형태를 취할 수 있다. 일부 예에서, 약제학적 조성물은 인간에 대한 경구 또는 정맥내 투여에 적합한 약제학적 조성물로서 일상적인 절차에 따라 투여를 위해 제형화된다. 적합한 약제학적 비히클 및 이의 제형화 방법의 예는 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Alfonso R. Gennaro ed., Mack Publishing Co. Easton, Pa., 19th ed., 1995, Chapters 86, 87, 88, 91 및 92]에 기재되어 있다.

[0217] 부형제의 선택은 특정 벡터에 의해서 뿐만 아니라 조성물을 투여하기 위해 사용되는 특정 방법에 의해 부분적으로 결정될 것이다. 따라서, 본 개시내용의 약제학적 조성물의 매우 다양한 적합한 제형이 있다.

[0218] 예를 들어, 벡터는 수성 또는 비수성 용매, 예컨대 식물성 또는 다른 유사한 오일, 합성 지방족 산 글리세라이드, 보다 고차의 지방족 산의 에스터 또는 프로필렌 글리콜에서; 필요하다면, 통상적인 첨가제, 예컨대 가용화제, 등장제, 현탁제, 유화제, 안정제 및 보존제와 함께 이들을 용해시키거나, 현탁시키거나, 유화시킴으로써 주사용 제제로 제형화될 수 있다.

[0219] 다른 예로서, 벡터는 (a) 액체 용액, 예컨대 물 또는 식염수와 같은 희석제에 용해된 유효량의 화합물; (b) 고체 또는 과립으로서, 사전결정된 양의 활성 성분을 각각 함유하는 캡슐, 사체 또는 정제; (c) 적절한 액체 중의 현탁액; 및 (d) 적합한 에멀션을 포함하는, 경구 투여에 적합한 제제로 제형화될 수 있다. 정제 형태는 락토스, 만니톨, 옥수수 전분, 감자 전분, 미정질 셀룰로스, 아카시아, 젤라틴, 콜로이드성 이산화규소, 크로스카멜로스 나트륨, 활석, 스테아르산마그네슘, 스테아르산 및 다른 부형제, 착색제, 희석제, 완충제, 보습제, 보존제, 향미제 및 약제학적으로 적합한 부형제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 향미제, 보통 수크로스 및 아카시아 또는 트래거캔스에 활성 성분을 포함하는 로젠지 형태뿐만 아니라 활성 성분에 추가로 본 명세서에 기재된 바와 같은 이러한 부형제를 함유하는 비활성 베이스, 예컨대 젤라틴 및 글리세린 또는 수크로스 및 아카시아, 에멀션, 겔 등에서 활성 성분을 포함하는 향정일 수 있다.

[0220] 다른 예로서, 본 개시내용의 대상 제형은 흡입을 통해 투여되는 에어로졸 제형으로 만들어질 수 있다. 이들 예

어로졸 제형은 가압 허용성 추진제, 예컨대 다이클로로다이플루오로메탄, 프로판, 질소 등에 위치될 수 있다. 이들은 또한 비가압 제제에 대한, 예컨대 네블라이저 또는 애토마이저에서 사용하기 위한 약제로서 제형화될 수 있다.

[0221] 일부 실시형태에서, 비경구 투여에 적합한 제형은 항산화제, 완충제, 정균제 및 의도된 수용인의 혈액과 등장성인 제형을 제공하는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비수성, 등장성 멸균 주사 용액, 및 현탁제, 가용화제, 증점제, 안정제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다. 제형은 단일-용량 또는 다회-용량 밀봉 용기, 예컨대 앰플 및 바이알에서 제공될 수 있고, 사용 직전에 멸균 액체 부형제, 예를 들어, 물, 주사용수의 첨가만을 필요로 하는 냉동-건조된(동결건조된) 상태로 저장될 수 있다. 즉시 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립 및 이전에 기재한 종류의 정제로부터 제조될 수 있다.

[0222] 국소 투여에 적합한 제형은 활성 성분에 추가로 적절하다면 이러한 담체를 함유하는 크림, 젤, 페이스트 또는 폼(foam)으로서 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 국소 제형은 구조화제, 증점제 또는 겔화제 및 완화제 또는 윤활제로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 함유한다. 빈번하게 사용되는 구조화제는 장쇄 알코올, 예컨대 스테아릴 알코올 및 글리세릴 에터 또는 에스터 및 이들의 올리고(에틸렌 옥사이드) 에터 또는 에스터를 포함한다. 증점제 및 겔화제는, 예를 들어, 아크릴산 또는 메타크릴산의 중합체 및 이의 에스터, 폴리아크릴아마이드, 및 천연 유래 증점제, 예컨대 한천, 카라기난, 젤라틴 및 구아검을 포함한다. 완화제의 예는 트라이글리세라이드 에스터, 지방산 에스터 및 아마이드, 왁스, 예컨대 밀랍, 경랍, 또는 카나우바 왁스, 인지질, 예컨대 레시틴, 및 스테롤 및 이들의 지방산 에스터를 포함한다. 국조 제형은 다른 성분, 예를 들어, 수렴제, 향수, 색소, 피부 침투 향상제, 선스크린(즉, 자외선 차단제) 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0223] 본 개시내용의 화합물은 국소 투여용으로 제형화될 수 있다. 국소 투여를 위한 비히클은 다양한 형태, 예를 들어, 로션, 크림, 젤, 연고, 스틱, 스프레이 또는 페이스트 중 하나일 수 있다. 이들은 용액, 에어로졸, 에멀션, 젤 및 리포솜을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 유형의 담체를 함유할 수 있다. 담체는, 예를 들어, 수중유 또는 유중수 베이스를 갖는 에멀션으로서 제형화될 수 있다. 에멀션에서 사용되는 적합한 소수성(유성) 성분은, 예를 들어, 식물성 오일, 동물 지방 및 오일, 합성 탄화수소, 및 폴리에스터를 포함하는 이들의 에스터 및 알코올뿐만 아니라 유기폴리실록산 오일을 포함한다. 이러한 에멀션은 또한 유화제 및/또는 계면활성제, 예를 들어, 연속상 내에서 불연속상을 분산시키고 현탁시키기 위한 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0224] 좌약 제형은 또한 다양한 베이스, 예컨대 유화 베이스 또는 수용성 베이스와 혼합함으로써 제공된다. 질 투여에 적합한 제형은 페서리, 탐폰, 젤, 페이스트, 폼으로서 제공될 수 있다.

[0225] 경구 또는 직장 투여를 위한 단위 투약 형태, 예컨대 시럽, 엘릭시르 및 현탁액이 제공될 수 있고, 각각의 투약 단위, 예를 들어, 티스푼 양, 테이블스푼 양, 정제 또는 좌약은 1종 이상의 저해제를 함유하는 사전 결정된 양의 조성물을 함유한다. 유사하게, 주사 또는 정맥내 투여를 위한 단위 투약 형태는 멸균수, 정상 식염수 또는 다른 약제학적으로 허용 가능한 담체 중의 용액으로서 조성물 중에 저해제(들)를 포함할 수 있다.

[0226] 본 명세서에서 사용되는 용어 "단위 투약 형태"는 인간 및 동물 대상체에 대한 단위 투약량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 비히클과 함께 목적하는 효과를 생성하기에 충분한 양으로 계산된 사전 결정된 양의 본 개시내용의 화합물을 함유한다. 본 개시내용의 신규한 단위 투약 형태에 대한 세부사항은 사용되는 특정 화합물 및 달성되는 효과, 및 숙주에서 각각의 화합물과 연관된 약력학에 의존한다.

[0227] 용량 수준은 특정 화합물의 작용, 전달 비히클의 특성 등에 따라 다를 수 있다. 주어진 화합물에 대한 목적하는 투약량은 다양한 수단에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0228] 본 개시내용과 관련하여 동물, 특히 인간에게 투여되는 용량은, 예를 들어, 이하에 더 상세하게 기재되는 바와 같이 합리적인 시간틀을 거쳐서 동물에서의 예방적 또는 치료적 반응을 달성하는 데 충분하여야 한다. 투약량은 사용되는 특정 화합물의 강도, 동물의 조건 및 동물의 체중뿐만 아니라 질병의 중증도 및 질환의 병기를 포함하는 다양한 인자에 좌우될 것이다. 용량의 크기는 특정 화합물의 투여를 수반하는 임의의 유해한 부작용의 존재, 특성 및 정도에 의해 결정될 것이다.

[0229] 약제학적 투약 형태에서, ASC 유도제 화합물은 유기 염기, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태로 투여될 수 있거나, 또는 이들은 단독으로 또는 적절한 희합뿐만 아니라 다른 약제학적으로 활성인 화합물과 조합하여 사용될 수 있다.

[0230] G.임상 적용 및 치료 방법

[0231] 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 신경학적 질환 또는 장애를 치료하기 위해 이용될 수 있다. 본 개시내용의 일부 양상에서, 대상체에서 신경학적 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 조작된 수용체를 뉴런 세포에 도입하는 단계 및 세포 활성을 제어하기에 유효한 양으로 조작된 수용체를 활성화시키는 리간드를 제공하여, 대상체에서의 통증을 완화시키는 단계를 포함한다. 일부 양상에서, 본 명세서에 개시된 벡터 또는 조성물은 신경학적 질환 또는 장애를 치료하기 위한 의약의 제조에서 사용된다.

[0232] 일부 경우에, 본 개시내용의 방법 및 조성물은 간질을 치료하는 데 이용된다. 본 명세서에 기재된 조성물은 간질 발작을 예방하거나 제어하기 위해 사용될 수 있다. 간질 발작은 긴장성-간대성, 긴장성, 간대성, 근간대성, 결신 또는 무긴장성 발작으로서 분류될 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서의 조성물 및 방법은 대상체에 의해 경험되는 간질 발작의 수를 약 5%, 약 10%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 100%만큼 예방하거나 감소시킬 수 있다.

[0233] 일부 경우에, 본 개시내용의 방법 및 조성물은 식이장애를 치료하는 데 이용된다. 식이장애는 대상체의 신체 또는 정신 건강에 부정적으로 영향을 미치는 비정상적 식이 거동에 의해 정해지는 정신 장애일 수 있다. 일부 경우에, 식이장애는 신경성 식욕부진증이다. 다른 경우에, 식이장애는 신경성 폭식증이다. 일부 경우에, 식이장애는 이식증, 반주장애, 회피성/제한적 음식 섭취 장애, 폭식 식이장애(BED), 기타 명시된 급식 및 섭식장애(OSFED), 강박성 과식, 당뇨병성 식증, 오소렉시아 너보사, 선택적 식이장애, 음주거식증, 임신 중 거식증, 또는 미식가 증후군이다. 일부 경우에, 조성물은 식이장애와 연관된 하나 이상의 분자의 생성을 증가시키거나 감소시키는 G-단백질 결합 수용체를 포함한다. 다른 경우에, 조성물은 식이장애와 연관된 하나 이상의 분자의 생성을 변경시키는 리간드-개폐성 이온 통로를 포함한다. 식이장애와 연관된 하나 이상의 분자는 바소프레신, 부신피질 자극호르몬 분비호르몬(CRH), 부신피질자극호르몬(ACTH), 코티솔, 에피네프린 또는 노르에피네프린을 포함하는 시상하부-뇌하수체-부신(HPA) 축의 분자뿐만 아니라; 세로토닌, 도파민, 뉴로펩타이드 Y, 렙틴 또는 그렐린을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0234] 일부 경우에, 조성물 및 방법은 외상 후 스트레스 장애(PTSD), 위식도 역류병(GERD), 중독(예를 들어, 알코올, 약물), 불안, 우울증, 기억 상실, 치매, 수면 무호흡증, 뇌졸중, 요실금, 기면증, 수전증, 운동장애, 심방세동, 암(예를 들어, 뇌종양), 파킨슨병, 또는 알츠하이머병을 치료하는 데 이용된다. 본 명세서의 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 신경퇴행성 질환 또는 장애의 다른 비제한적 예는 무의지증, 실서증, 알코올 사용장애, 난독증, 동맥류, 일과성 흑암시, 기억상실증, 근위축성 측색 경화증(ALS), 엔젤만 증후군, 실어증, 실행증, 거미막염, 아놀드키아리 기형, 아스퍼거 증후군, 운동실조, 운동실조-모세혈관확장증, 주의력 결핍 과잉행동장애, 청각 정보 처리 장애, 자폐 스펙트럼, 조울증, 벨마비, 상완신경총손상, 뇌손상, 뇌 상해, 뇌 종양, 카나반 병, 카크라스 망상, 수근관 증후군, 작열통, 중추 통증 증후군, 중심뇌교수초용해, 중심핵근육병증, 뇌장애, 뇌1 동맥류, 뇌동맥 경화증, 뇌 위축증, 피질하 경색과 백질뇌증을 동반하는 상염색체 우성 뇌동맥질환(CADASIL), 대뇌성 거인증, 뇌성마비, 대뇌의 혈관염, 경추관 협착증, 샤르코마리투스병, 키아리 기형, 무도병, 만성 피로 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증(CIDP), 만성 통증, 코핀-루우리 증후군, 혼수, 복합부위 통증 증후군, 압박 신경병증, 선천성 안면마비, 피질기저퇴화, 측두동맥염, 두개골유합증, 크로이츠펠트-야콥병, 누적 외상성 질환, 쿠싱 증후군, 순환성 장애, 거세포봉입체증(CIBD), 사이토메갈로바이러스 감염, 덴디-위커 증후군, 도슨병, 드 모르시에르 증후군(De Morsier's 증후군), 데저린-클롬프케 마비, 데제린-소타스병, 수면위상지연 증후군, 치매, 피부근육염, 발달성 운동조절장애, 당뇨병성 신경병증, 광범위경화증, 복시, 다운 증후군, 드라베 증후군, 뒤셴 근육 영양장애, 마비성 말장애, 자율신경 실조증, 난산증, 난필증, 이상운동증, 난독증, 근긴장이상, 빈안장 증후군, 뇌염, 뇌류, 뇌삼차신경 혈관종증, 유분증, 야뇨증, 간질, 여성에서의 간질-지적장애, 에르브 마비, 피부홍통증, 폭발성 머리 증후군, 파브리병, 파르 증후군, 실신 발작, 가족성 경련성 마비, 열성 발작, 피셔 증후군, 프레드릭 운동실조, 섬유근육통, 포비유 증후군, 태아 알코올 증후군, 취약 X 증후군, 취약 X-연관 떨림/운동실조 증후군(FXTAS), 고세병, 열성 경련 플러스를 동반한 전신 간질, 게르스트만 증후군, 거대세포성 동맥염, 거대세포 봉입체병, 글로보이드 세포 로이코디스트로피, 회백질 이소성, 길랑-바레 증후군, 전신 불안 장애, HTLV-1 연관 척수병, 할리포르텐-스파즈병, 두부외상, 두통, 얼굴떨림, 유전성 강직성 하반신마비, 유전성 혈관운동 신경성 유증, 귀 대상포진, 대상포진, 히라야마 증후군, 히르슈슈프룽병, 홀메스-아디 증후군, 전전뇌증, 헌팅턴병, 수두무뇌증, 수두증, 고코티솔증, 저산소증, 면역-매개 뇌척수염, 봉입체 근염, 색소실조증, 영아 레프섬병, 소아경련, 염증성 근육병증, 두개내 낭종, 두개내압향진, 쌍중심질 15, 슈베르 증후군, 카락 증후군, 컨스-세이어 증후군, 컨스본 증후군, 클라인-레빈 증후군, 클

리펠 파일 증후군, 크라베병, 라포라병, 람베르트-이튼 근무력 증후군, 랜도-클레프너 증후군, 측두외측(발렌베르크) 증후군, 학습장애, 라이병, 레녹스-가스토 증후군, 레쉬-니한 증후군, 백색질형성장애, 백질퇴행성백질뇌증, 루이스체 치매, 뇌회결손, 락트-인 증후군, 허리원반질환, 요추관협착증, 라임병 - 신경성 후유증, 마카도-조셉병(척수소뇌 운동실조 3형), 큰뇌증, 대시증, 상륙증후군, 피질 낭종을 동반한 거대뇌성 백질뇌병증, 대뇌증, 육아중성 구순염 증후군, 메니에르병, 뇌수막염, 맹케증후군, 이염소체 백색질형성장애, 소두증, 소시증, 편두통, 밀러 피셔 증후군, 미니-뇌졸중(일과성 허혈성 발작), 청각과민증, 사립체성 근육병증, 피비우스 증후군, 단지 근위축증, 운동 기술 장애, 모야모야병, 뮤코다당증, 다발-경색성 치매, 다초점성 운동 신경병증, 다발성 경화증, 다계통 위축, 근이영양증, 근육통성 뇌척수염, 중증근무력증, 수초탈락성 광범위경화증, 영아의 근간대성 뇌병증, 근육간대경련, 근육병, 근세관성 근육병, 선천성 근강직증, 기면증, 뉴로-베체트병, 신경섬유종증, 신경이완제 약성 증후군, AIDS의 신경학적 증상, 루푸스의 신경성 후유증, 신경근육긴장증, 신경지방갈색소증, 신경세포이동장애, 신경병증, 신경증, 니만-픽병, 비-24시간 수면각성장애, 비언어적 학습장애, 오셀리반-맥러트 증후군, 후두신경통, 척추 잠재 유합부전 연쇄, 오타하라 증후군, 척수소뇌 변성증, 안구운동 근육간대경련 증후군, 시신경염, 기립성 저혈압, 귀경화증, 과용 증후군, 반복시, 지각이상증, 파킨슨병, 선천성 이상근긴장증, 방풍양성 질환, 발작성 공격, 페리-롬버그 증후군, PANDAS, 펠리제우스-메르츠바하병, 주기성 마비, 말초 신경병증, 전반적 발달장애, 빛 재채기 반사, 피탄산축적병, 픽병, 신경압박, 뇌하수체 종양, PMG, 다발신경병증, 소아마비, 다왜소뇌회증, 다발근염, 공뇌증, 소아마비후 증후군, 대상포진 후 신경통(PHN), 기립성 저혈압, 프래더-윌리 증후군, 원발성 측삭 경화증, 프리온병, 진행성 반얼굴 위축, 진행성 다초점 백질뇌병증, 진행성 핵상성 마비, 안면실인증, 가뇌종양, 사분맹, 사지마비, 광견병, 신경근병증, 램지 헌트 증후군 I형, 램지 헌트 증후군 II형, 램지 헌트 증후군 III형, 라스무센 뇌염, 반사성 신경혈관 위축증, 레프심병, 램수면행동장애, 반복성 긴장 손상, 하지 불안 증후군, 레트로바이러스-연관 척수병, 레트 증후군, 레이 증후군, 규칙적 행동 장애, 롬베르그 증후군, 무도병, 샌드호프병, 설더병, 분열뇌증, 감각처리장애, 충격-시신경형성이상, 흔들린 아이 증후군, 대상 포진, 샤이-드래거 증후군, 쇼그렌 증후군, 수면무호흡증, 수면병, 배부름 재채기(Snatiation), 소토스 증후군, 경직, 이분척추, 척수손상, 척추종양, 척수성 근위축, 척추와 숨뇌근육 위축, 척수소뇌 운동실조, 분할, 스틸-리처드슨-올스제브스키 증후군, 전신근강직 증후군, 뇌졸중, 스티지-웨버 증후군, 말더듬, 아급성 경화성 범뇌염, 피질하 동맥경화 뇌병증, 표재성 철색소침착증, 시테남 무도병, 실신, 공감각, 척수공동증, 족근관 증후군, 만발성 이상운동증, 만발성 정신이상, 탈로프씨 낭종, 테이삭스병, 측두동맥염, 측두엽 간질, 파상풍, 척수 결박 증후군, 틱슨병, 흉곽출구 증후군, 삼차신경통, 토트마비, 투렛 증후군, 독성 뇌병증, 일과성 허혈성 발작, 해면체성 뇌병증, 횡단척수염, 외상성 뇌 상해, 떨림, 발모광, 삼차 신경병증, 열대성경성대마비, 트리파노소마증, 결절성 경화증, 운베리히트 룬드보그 라프병, 폰힉펠 린도우병(VHL), 빌리우이스크 뇌척수염(Viliuisk Encephalomyelitis: VE), 발렌베르크 증후군, 웨스트 증후군, 위플래쉬, 윌리엄 증후군, 윌슨병 또는 켈위거 증후군을 포함한다.

[0235] 일부 경우에, 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 뇌암 또는 뇌종양을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 백터 및 조성물로 치료될 수 있는 뇌암 또는 종양의 비제한적 예는 악성 뇌교종(등급 III 신경교종), 성상세포종(등급 II 신경교종), 뇌줄기 신경교종, 뇌실막세포종, 신경절교종, 신경절신경종, 교모세포종(등급 IV 신경교종), 신경교종, 청소년형 모양세포 성상세포종(JPA), 저등급 성상세포종(LGA), 수모세포종, 혼합 신경교종, 핼지교종, 시신경 신경교종, 모양세포 성상세포종(등급 I 신경교종), 및 원시신경외배엽(PNET)을 포함하는, 신경교종; 속귀신경집종(청신경초종), 말단비대증, 샘종, 연골육종, 척삭종, 두개인두종, 표피모양종양, 경정맥사구종, 천막하 수막종, 수막종, 뇌하수체 샘종, 뇌하수체 종양, 라스케 낭종을 포함하는, 두개골기반 종양; 뇌전이, 전이성 뇌 종양을 포함하는, 전이암; 뇌 낭종, 맥락총 유두종, CNS 림프종, 갑상선결절, 낭충병, 유피 종양, 배아세포종, 림프종, 비강 종양, 비인두 종양, 송과체종양, 술방울샘모세포종, 술방울샘종, 천막상 수막종, 및 혈관종양을 포함하는 다른 뇌종양; 성상세포종, 뇌실막세포종, 수막종, 및 신경초종을 포함하는, 척수 종양을 포함한다.

[0236] 본 개시내용은 대상체에서 통증을 제어하거나, 관리하거나, 예방하거나, 치료하기 위한 조성물 및 방법을 부분적으로 상정한다. "통증"은 대상체 신체에서의 불편한 느낌 및/또는 불쾌한 감각을 지칭한다. 통증의 느낌은 경증으로부터, 때때로 중증이며 변함없는 범위일 수 있다. 통증은 급성 통증 또는 만성 통증으로서 분류될 수 있다. 통증은 통각 수용 통증(즉, 조직 손상에 의해 야기되는 통증), 신경병성 통증 또는 심인성 통증일 수 있다. 일부 경우에, 통증은 질환(예를 들어, 암, 관절염, 당뇨병)에 의해 야기되거나 연관된다. 다른 경우에, 통증은 손상(예를 들어, 스포츠 상해, 외상)에 의해 야기된다. 본 명세서의 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 통증의 비제한적 예는 말초 신경병증, 당뇨병성 신경병증, 대상포진 후 신경통, 삼차 신경병증, 요통, 암과 연관된 신경병증, HIV/AIDS와 연관된 신경병증, 환각지 통증, 수근관 증후군, 뇌졸중 후 중추성 통증, 만성 알코올 사용

장애와 연관된 통증, 갑상선기능저하증, 요독증, 다발성 경화증과 연관된 통증, 척수손상과 연관된 통증, 파킨슨병과 연관된 통증, 간질, 골관절염 통증, 류머티즘성 관절염 통증, 내장 통증, 및 비타민 결핍증과 연관된 통증을 포함하는, 신경병성 통증; 및 중추 신경계 외상과 연관된 통증을 포함하는 통각 수용 통증, 좌상/염좌, 및 화상; 심근경색증, 급성 채장염, 수술 후 통증, 외상 후 통증, 신산통, 암과 연관된 통증, 섬유근육통과 연관된 통증, 수근관 증후군과 연관된 통증 및 요통을 포함한다.

- [0237] 본 명세서의 조성물 및 방법은 대상체에서의 통증 수준을 개선시키는 데 이용될 수 있다. 일부 경우에, 대상체에서의 통증 수준은 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 100%만큼 개선된다. 대상체에서의 통증 수준은 다양한 방법에 의해 평가될 수 있다. 일부 경우에, 통증 수준은 자기 보고에 의해 평가된다(즉, 인간 대상체는 그/그녀가 경험 중인 통증 수준의 언어적 보고를 표현한다). 일부 경우에, 통증 수준은, 예를 들어, 얼굴 표정, 사지 운동증, 발성, 안절부절 및 가딩(guarding)의 통증 거동 지표에 의해 평가된다. 이런 유형의 평가는, 예를 들어, 대상체가 자기 보고를 할 수 없을 때(예를 들어, 영어, 무의식 대상체, 비인간 대상체), 유용할 수 있다. 통증 수준은 본 개시내용의 조성물로 치료 후의 통증 수준을 본 개시내용의 조성물로 치료 전에 대상체가 경험한 통증 수준에 비교하여 평가될 수 있다.
- [0238] 다양한 실시형태에서, 대상체에서의 통증을 제어하거나, 관리하거나, 예방하거나, 치료하기 위한 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 상정된 조작된 수용체를 투여하는 단계를 포함한다. 임의의 특정 이론에 의해 구속되는 것을 원하는 일 없이, 본 개시내용은 대상체에서 통증을 완화시키는 뉴런 활성을 조절하기 위해 본 명세서에 개시된 백터를 이용하는 것을 상정한다.
- [0239] 다양한 실시형태에서, 뉴런 세포를 활성화시키거나 탈분극화시키는 조작된 수용체를 암호화하는 백터는 통증각을 감소시키는 하나 이상의 뉴런 세포, 예를 들어, 저해 개재뉴런에 투여된다(또는 이에 도입된다). 리간드의 존재 하에, 조작된 수용체를 발현시키는 뉴런 세포는 활성화되고, 이들 뉴런 세포를 자극하는 진통 효과를 강화시키는 통증에 대한 민감도를 감소시킨다.
- [0240] 다양한 실시형태에서, 뉴런 세포를 비활성화시키거나 과분극화시키는 조작된 수용체를 암호화하는 백터는 통증각 또는 통증에 대한 민감도, 예를 들어, 통증수용체, 말초 감각 뉴런, C-섬유, Aδ 섬유, Aβ 섬유, DRG 뉴런, TGG 뉴런 등을 증가시키는 하나 이상의 뉴런 세포에 투여된다(또는 도입된다). 리간드의 존재 하에, 조작된 수용체를 발현시키는 뉴런 세포는 비활성화되고 통증에 대한 민감도를 감소시키며, 진통 효과를 강력하게 한다.
- [0241] 통증수용체의 하위 집단에 대한 조작된 수용체 발현의 표적화는 다음 중 하나 이상에 의해 달성될 수 있다: 백터의 선택(예를 들어, AAV1, AAV1(Y705+731F+T492V), AAV2(Y444+500+730F+T491V), AAV3(Y705+731F), AAV5, AAV5(Y436+693+719F), AAV6, AAV6(VP3 변이체 Y705F/Y731F/T492V), AAV-7m8, AAV8, AAV8(Y733F), AAV9, AAV9(VP3 변이체 Y731F), AAV10(Y733F), 및 AAV-ShH10); 프로모터의 선택; 및 전달 수단.
- [0242] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 통증 감소에 효과적이다. 본 명세서에 상정된 백터, 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 통증의 예시적인 예는 급성 통증, 만성 통증, 신경병성 통증, 통각 수용 통증, 이질통, 염증성 통증, 염증성 통각과민, 신경병증, 신경통, 당뇨병성 신경병증, 인간 면역결핍 바이러스-관련 신경병증, 신경손상, 류머티즘성 관절염 통증, 골관절염 통증, 화상, 요통, 눈 통증, 내장 통증, 암 통증(예를 들어, 골암 통증), 치통, 두통, 편두통, 수근관 증후군, 섬유근육통, 신경통, 좌골신경통, 골반 과민성, 골반 통증, 대상포진 후 신경통, 수술 후 통증, 뇌졸중 후 통증 및 월경통을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0243] 통증은 급성 또는 만성으로서 분류될 수 있다. "급성 통증"은 갑자기 시작되며 보통 성질이 급격한 통증을 지칭한다. 급성 통증은 경증이고 잠시 동안 지속될 수 있거나, 중증이고 몇 주 또는 몇 개월 동안 지속될 수 있다. 대부분의 경우에, 급성 통증은 3개월 이상 지속되지 않으며, 통증의 기저 원인이 치료되거나 치유될 때 사라진다. 그러나, 변함없이 계속되는 급성 통증은 만성 통증을 야기할 수 있다. "만성 통증"은 급성 질병 또는 손상의 보통의 과정을 지나서 지속되거나 또는 3개월 초과 내지 6개월 동안 지속되고, 개인의 웰빙에 유해하게 영향을 미치는, 진행성 또는 재발성 통증을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 용어 "만성 통증"은 통증이 지속되어서는 안 될 때 지속되는 통증을 지칭한다. 만성 통증은 통각 수용 통증 또는 신경병성 통증일 수 있다.
- [0244] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 급성 통증을 감소시키는 데 효과적이다. 특정 실시형

태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 만성 통증을 감소시키는 데 효과적이다.

- [0245] 임상 통증은 환자의 증상 중에 불편함 및 비정상적 민감도를 특징으로 할 때 존재한다. 개체는 다양한 통증 증상이 존재할 수 있다. 이러한 증상은 1) 둔탁함, 작열감 또는 찌름통일 수 있는 자발적 통증; 2) 유해 자극(통각과민)에 반응한 지나친 통증; 및 3) 정상적으로는 무해한 자극에 의해 생성된 통증(allodynia-Meyer et al., 1994, Textbook of Pain, 13-44)을 포함한다. 다양한 형태의 급성 및 만성 통증을 앓고 있는 통증이 유사한 증상을 가질 수 있지만, 기저 메커니즘은 상이할 수 있고, 따라서, 상이한 치료 전략이 필요할 수 있다. 따라서 통증은 또한 통각 수용 통증, 염증성 통증, 및 신경병성 통증을 비롯한, 상이한 병리 생리학에 따른 다수의 상이한 하위유형으로 나누어질 수 있다.
- [0246] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 통각 수용을 감소시키는 데 효과적이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 염증성 통증을 감소시키는 데 효과적이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법은 신경병성 통증을 감소시키는 데 효과적이다.
- [0247] 유해수용성 통증은 조직 손상에 의해 또는 손상을 야기할 가능성이 있는 강한 자극에 의해 유도된다. 중등증 내지 중증의 급성 통각 수용 통증은 중추 신경계 외상, 좌상/염좌, 화상, 심근경색증 및 급성 췌장염으로부터의 통증, 수술 후 통증(임의의 유형의 수술적 절차 후의 통증), 외상 후 통증, 신산통, 암 통증 및 요통의 두드러진 특징이다. 암 통증은 만성 통증, 예컨대 종양 관련 통증(예를 들어, 뼈 통증, 두통, 안면통 또는 내장 통증) 또는 암요법과 연관된 통증(예를 들어, 화학요법 후 증후군, 만성 수술 후 통증 증후군 또는 방사선 치료 후 증후군)일 수 있다. 암 통증은 또한 화학요법, 면역요법, 호르몬 요법 또는 방사선요법에 반응하여 생길 수 있다. 요통은 헤르니아 또는 파열된 추간관 탈출증 또는 허리뼈면관절의 이상, 천장 관절, 척추주위근 또는 후종인대에 기인할 수 있다. 요통은 자연적으로 해결될 수도 있지만, 일부 환자에서, 12주 이상 지속되는 경우, 특히 쇠약하게 될 수 있는 만성 병태가 될 수 있다.
- [0248] 신경병성 통증은 신경계에서 원발진 또는 기능장애에 의해 개시되거나 야기되는 통증으로서 정의될 수 있다. 신경병성 통증의 병인은, 예를 들어, 말초 신경병증, 당뇨병성 신경병증, 대상포진 후 신경통, 삼차 신경병증, 요통, 암 신경병증, HIV 신경병증, 환각지 통증, 수근관 증후군, 뇌졸중 후 증추성 통증 및 만성 알코올 사용 장애와 연관된 통증, 갑상선기능저하증, 요독증, 다발성 경화증, 척수손상, 파킨슨병, 간질 및 비타민 결핍증을 포함한다.
- [0249] 신경병성 통증은 통증 장애, 질환에 관한 용어, 통증과 연관되거나 통증에 의해 야기되는 장애 또는 병태와 관련될 수 있다. 통증 장애의 예시적인 예는 관절염, 이질통, 전형적인 삼차 신경병증, 삼차 신경병증, 신체형 장애, 감각저항, 통각과민, 신경통, 신경통, 신경원성 통증, 무통증, 유통성 지각마비, 작열통, 궁둥신경 통증 장애, 퇴행성 관절 장애, 섬유근육통, 내장 질환, 만성 통증 장애, 편두통/두통 통증, 만성 피로 증후군, 복합부위 통증 증후군, 신경영양장애, 족저 근막염 또는 압과 연관된 통증을 포함한다.
- [0250] 염증 과정은 조직손상 또는 종창 및 통증을 초래하는 외래 물질의 존재에 반응하여 활성화된 복잡한 일련의 생화학적 및 세포의 사건이다. 관절 통증은 통상적인 염증성 통증이다.
- [0251] 본 명세서에 상정된 백터, 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 다른 유형의 통증은 근육통, 섬유근육통, 척추염, 혈청-음성(비-류머티즘성) 관절병증, 관절주위 류머티즘, 근이영양증, 글리코겐 분해, 다발근염 및 화농성근염을 포함하는, 근골격 장애; 협심증, 심근경색증, 승모판막 협착증, 심낭염, 레이노 현상, 경화부종 및 골격근 허혈에 의해 야기된 통증을 포함하는, 심장 및 혈관 통증; 두통, 예컨대 편두통(전구증을 동반한 편두통 및 전구증이 없는 편두통을 포함), 군발성 두통, 긴장성 두통 혼합 두통 및 혈관 장애와 연관된 두통; 및 치통, 귀 통증, 구강 작열감 증후군, 및 턱관절 근막통증을 비롯한, 구강안면 통증으로부터 초래된 통증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않음성 췌장.
- [0252] 인간 대상체에 의해 경험된 통증의 양을 감소시키기 위한 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법의 유효량은 다양한 통증 척도를 이용하여 결정될 수 있다. 환자 자신의 보고는 통증이 감소되는지의 여부를 평가하기 위해 사용될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Katz and Melzack (1999) Surg. Clin. North Am. 79:231] 참조. 대안적으로, 관찰 통증 척도가 사용될 수 있다. LANSS 통증 척도는 통증이 감소되는지의 여부를 평가하기 위해 사용될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Bennett (2001) Pain 92:147] 참조. 시각 아날로그 통증 척도가 사용될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Schmader (2002) Clin. J. Pain 18:350] 참조. 리커트(Likert) 통증 척도가 사용될 수 있으며; 예를 들어, 0은 통증 없음이며, 5는 중등증의 통증이고, 10은 가능한 최악의 통증이다. 아동에 대한 자기-보고 통증 척도는, 예를 들어, 안면 통증 척도; 왕-베이커(Wong-Baker) 안면 통증 평정 척도; 및 색 아날로그 척도

(Colored Analog Scale)를 포함한다. 성인에 대한 자기-보고 통증 척도는, 예를 들어, 시각 아날로그 척도; 언어 수치 평정척도; 언어 기술자 척도; 및 통증 평가 설문지를 포함한다. 통증 측정 척도는, 예를 들어, 앨더 헤이 환자분류 통증 스코어(Alder Hey Triage Pain Score)(Stewart et al. (2004) Arch. Dis. Child. 89:625); 행동 통증 척도(Payen et al. (2001) Critical Care Medicine 29:2258); 통증 평가 설문지(Cleeland and Ryan (1994) Ann. Acad. Med. Singapore 23: 129); 비언어적 통증 지표의 체크리스트(Feldt (2000) Pain Manag. Nurs. 1 : 13); 집중 치료 시 통증 관찰 점수(Critical-Care Pain Observation Tool)(Gelinas et al. (2006) Am. J. Crit. Care 15:420); COMFORT 척도(Ambuel et al. (1992) J. Pediatric Psychol. 17:95); 댈러스 통증 설문지(Dallas Pain Questionnaire)(Ozguler et al. (2002) Spine 27:1783); 통각계 통증 지표(Hardy et al. (1952) Pain Sensations and Reactions Baltimore: The Williams & Wilkins Co.); 안면 통증 척도 - 수정(Hicks et al. (2001) Pain 93:173); 얼굴 다리 활동 울음 마음 안정도 척도(Face Legs Activity Cry Consolability Scale); McGill Pain Questionnaire (Melzack (1975) Pain 1 :277); 기술자 차별 척도(Descriptor Differential Scale)(Gracely and Kwilosz (1988) Pain 35:279); 수치적 1 1점 박스(Jensen et al. (1989) Clin. J. Pain 5: 153); 수치적 평정 척도(Hartrick et al. (2003) Pain Pract. 3:310); 왕-베이커 얼굴 통증 평정 척도; 및 시각 아날로그 척도(Huskisson (1982) J. Rheumatol. 9:768)를 포함한다.

[0253] 특정 실시형태에서, 대상체에서의 통증을 완화시키는 방법이 제공되며, 상기 방법은 조작된 수용체를 뉴런 세포 내로 도입하는 단계 및 조작된 수용체를 활성화시키는 유효량의 리간드를 결합함으로써 세포 활성을 제어하여, 대상체에서의 통증을 완화시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 비표적(off-target) 효과, 예컨대 일반적 중추 신경계 우울증이 없는 통증에 대한 상당한 무통증을 제공한다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 비치료 대상체에 비해 대상체에서의 신경병성 통증의 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 감소를 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 결합제의 투여 전에 그리고 후에 대상체에서의 통증을 측정하는 단계를 포함하되, 대상체에서의 통증은 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 감소된다. 이러한 예에서, 측정하는 단계는 결합제 투여 후 4시간 이상에, 예를 들어, 결합제 투여 후 8시간, 12시간, 16시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일 또는 4일 이상에 일어날 수 있다.

[0254] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 벡터는 하나 이상의 뉴런 세포에 투여되거나 도입된다. 뉴런 세포는 동일한 유형의 뉴런 세포이거나, 상이한 유형의 뉴런 세포의 혼합된 집단일 수 있다. 일 실시형태에서, 뉴런 세포는 통증수용체 또는 말초 감각 뉴런이다. 감각 뉴런의 예시적 예는 후근 신경절(DRG) 뉴런 및 삼차 신경절(TGG) 뉴런을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 뉴런 세포는 뉴런 통증 순환에 연루된 저해 개재뉴런이다.

[0255] 일부 경우에, 조작된 수용체를 암호화하는 벡터는 이러한 벡터의 투여가 필요한 대상체에게 투여된다. 투여 방법의 비제한적 예는 피하 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 진피내 투여, 복강내 투여, 경구 투여, 주입, 두개내 투여, 초내 투여, 비강내 투여, 신경절내 투여, 척수내 투여, 대조 투여 및 신경내 투여를 포함한다. 일부 경우에, 투여는 벡터의 액체 제형 주사를 수반할 수 있다. 다른 경우에, 투여는 벡터의 고체 제형의 경구 전달을 수반할 수 있다. 일부 경우에, 경구 제형은 식품과 함께 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, 벡터는 벡터를 하나 이상의 뉴런 세포에 도입하기 위해 대상체에게 비경구로, 정맥내로, 근육내, 복강내, 초내로, 신경내로, 신경절내로, 척수내로 또는 뇌실내로 투여된다. 다양한 실시형태에서, 벡터는 rAAV이다.

[0256] 일 실시형태에서, AAV는 초내(IT) 또는 신경절내(IG) 투여에 의해 감각 뉴런 또는 통증수용체, 예를 들어, DRG 뉴런, TGG 뉴런 등에 투여된다. IT 경로는 AAV를 뇌척수액(CSF)에 전달한다. 이런 투여 경로는, 예를 들어, 만성 통증 또는 다른 말초 신경계(PNS) 또는 중추 신경계(CNS) 적응증의 치료에 적합할 수 있다. 동물에서, IT 투여는 대조를 통해 IT 카테터를 삽입함으로써 그리고 이를 요추 수준까지 꼬리쪽으로 전진시킴으로써, 달성되었다. 인간에서, IT 전달은 우수한 안전성 프로파일을 갖는 일상적인 침상열 처치인 요추 천자(LP)에 의해 용이하게 수행될 수 있다.

[0257] 특정 경우에, 벡터는 신경절내 투여에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 신경절내 투여는 하나 이상의 신경절에 의 직접 주사를 수반할 수 있다. IG 경로는 DRG 또는 TGG 실질 내로 직접적으로 AAV를 전달할 수 있다. 동물에서, DRG에 대한 IG 투여는 복잡하고 비침습적인 절차를 필요로 하기 때문에 인간에서 바람직하지 않은 개방적 신경수술적 절차에 의해 수행된다. 인간에서, DRG를 안전하게 표적화하는 최소 침습적, CT 영상-유도 기법이 사용될 수 있다. 전도 촉진 투여(convection enhanced delivery: CED)를 위한 맞춤형 바늘 조립기는 AAV를 DRG 실질 내로 전달하는 데 사용될 수 있다. 비제한적 예에서, 본 개시내용의 벡터는 만성 통증의 치료를 위한 하나

이상의 배근 신경절 및/또는 삼차 신경절에 전달될 수 있다. 다른 비제한적 예에서, 본 개시내용의 벡터는 간질을 치료하기 위해 결절신경절(미주신경)에 전달될 수 있다.

[0258] 또 다른 특정 경우에, 벡터는 두개내 투여에 의해(즉, 뇌 내로 직접적으로) 대상체에게 투여될 수 있다. 두개내 투여의 비제한적 예에서, 본 개시내용의 벡터는, 예를 들어, 간질 발작 병소를 치료하기 위해 뇌의 피질 내로, 예를 들어, 포만 장애를 치료하기 위해 뇌 시상 하부 내로, 또는 예를 들어, 포만 장애를 치료하기 위해 편도체 중심핵 내로 전달될 수 있다. 다른 특정 경우에, 벡터는 신경내 주사에 의해(즉, 신경 내로 직접적으로) 대상체에게 투여될 수 있다. 신경은 치료될 적응증, 예를 들어, 만성 통증을 치료하기 위해 궁둥신경 내로 주사 또는 간질 또는 포만 장애를 치료하기 위해 미주신경 내로 주사에 기반하여 선택될 수 있다. 또 다른 특정 경우에, 벡터는 피하 주사에 의해, 예를 들어, 만성 통증을 치료하기 위해 감각 신경 말단에 투여될 수 있다.

[0259] 벡터 용량은 대상체에게 전달되는 벡터 게놈 단위의 수로서 표현될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "벡터 게놈 단위"는 용량 중의 투여되는 개개 벡터 게놈의 수를 지칭한다. 개개 벡터 게놈의 크기는 일반적으로 사용되는 바이러스 벡터의 유형에 따라 다르다. 본 개시내용의 벡터 게놈은 약 1.0 킬로베이스, 1.5 킬로베이스, 2.0 킬로베이스, 2.5 킬로베이스, 3.0 킬로베이스, 3.5 킬로베이스, 4.0 킬로베이스, 4.5 킬로베이스, 5.0 킬로베이스, 5.5 킬로베이스, 6.0 킬로베이스, 6.5 킬로베이스, 7.0 킬로베이스, 7.5 킬로베이스, 8.0 킬로베이스, 8.5 킬로베이스, 9.0 킬로베이스, 9.5 킬로베이스, 10.0 킬로베이스 내지 10.0 초과의 킬로베이스 일 수 있다. 따라서, 단일 벡터 게놈은 뉴클레오타이드의 최대 10,000개 또는 초과의 염기쌍을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 벡터 용량은 약 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , 1×10^{12} , 2×10^{12} , 3×10^{12} , 4×10^{12} , 5×10^{12} , 6×10^{12} , 7×10^{12} , 8×10^{12} , 9×10^{12} , 1×10^{13} , 2×10^{13} , 3×10^{13} , 4×10^{13} , 5×10^{13} , 6×10^{13} , 7×10^{13} , 8×10^{13} , 9×10^{13} , 1×10^{14} , 2×10^{14} , 3×10^{14} , 4×10^{14} , 5×10^{14} , 6×10^{14} , 7×10^{14} , 8×10^{14} , 9×10^{14} , 1×10^{15} , 2×10^{15} , 3×10^{15} , 4×10^{15} , 5×10^{15} , 6×10^{15} , 7×10^{15} , 8×10^{15} , 9×10^{15} , 1×10^{16} , 2×10^{16} , 3×10^{16} , 4×10^{16} , 5×10^{16} , 6×10^{16} , 7×10^{16} , 8×10^{16} , 9×10^{16} , 1×10^{17} , 2×10^{17} , 3×10^{17} , 4×10^{17} , 5×10^{17} , 6×10^{17} , 7×10^{17} , 8×10^{17} , 9×10^{17} , 1×10^{18} , 2×10^{18} , 3×10^{18} , 4×10^{18} , 5×10^{18} , 6×10^{18} , 7×10^{18} , 8×10^{18} , 9×10^{18} , 1×10^{19} , 2×10^{19} , 3×10^{19} , 4×10^{19} , 5×10^{19} , 6×10^{19} , 7×10^{19} , 8×10^{19} , 9×10^{19} , 1×10^{20} , 2×10^{20} , 3×10^{20} , 4×10^{20} , 5×10^{20} , 6×10^{20} , 7×10^{20} , 8×10^{20} , 9×10^{20} 개 이상의 벡터 게놈 단위일 수 있다.

[0260] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 벡터는 적어도 약 1×10^9 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 1×10^{10} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 5×10^{10} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 1×10^{11} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 5×10^{11} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 1×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 5×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 6×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 7×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 8×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 9×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 10×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 15×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 20×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 25×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 적어도 약 50×10^{12} 개의 게놈 입자/ml, 또는 적어도 약 100×10^{12} 개의 게놈 입자/ml의 역가로 대상체에게 투여된다. 바이러스 역가에 대한 언급에서 사용되는 용어 "게놈 입자(genome particle: gp)" 또는 "게놈 등가물" 또는 "게놈 복제물"(genome copy: gc)은 감염성 또는 작용성과 상관없이, 재조합 AAV DNA 게놈을 함유하는 비리온의 수를 지칭한다. 특정 벡터 제제에서 게놈 입자의 수는 당업계에서 잘 이해되는 방법, 예를 들어, 게놈 DNA의 정량적 PCR, 또는 예를 들어, 문헌[Clark et al. (1999) Hum. Gene Ther., 10:1031-1039; Veldwijk et al. (2002) Mol. Ther., 6:272-278]의 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0261] 본 개시내용의 벡터는 유체 용적으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 벡터는 약 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml, 0.4ml, 0.5ml, 0.6ml, 0.7ml, 0.8ml, 0.9ml, 1.0ml, 2.0ml, 3.0ml, 4.0ml, 5.0ml, 6.0ml, 7.0ml, 8.0ml, 9.0ml, 10.0

ml, 11.0ml, 12.0ml, 13.0ml, 14.0ml, 15.0ml, 16.0ml, 17.0ml, 18.0ml, 19.0ml, 20.0ml 또는 20.0ml 초과
 용적으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 벡터 용량은 대상체에게 투여되는 벡터의 농도 또는 역가로서 표현될
 수 있다. 이 경우에, 벡터 용량은 용적 당 벡터 게놈 단위의 수(즉, 게놈 단위/용적)로서 표현될 수 있다.

[0262] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 벡터는 적어도 약 5×10^9 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 6×10^9 개의 감
 염성 단위/ml, 적어도 약 7×10^9 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 8×10^9 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 9×10^9
 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 1×10^{10} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 1.5×10^{10} 개의 감염성 단위/ml, 적어도
 약 2×10^{10} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 2.5×10^{10} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 5×10^{10} 개의 감염성 단위/
 ml, 적어도 약 1×10^{11} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 2.5×10^{11} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 5×10^{11} 개의 감
 염성 단위/ml, 적어도 약 1×10^{12} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 2.5×10^{12} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 $5 \times$
 10^{12} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 1×10^{13} 개의 감염성 단위/ml, 적어도 약 5×10^{13} 개의 감염성 단위/ml, 적어
 도 약 1×10^{14} 개의 감염성 단위/ml의 역가로 대상체에게 투여된다. 바이러스에 대한 언급에서 사용되는 용어 "감
 염 단위(infection unit: iu)," "감염성 입자" 또는 "복제 단위"는, 예를 들어, 문헌[McLaughlin et al.
 (1988) J. Virol., 62:1963-1973]에 기재된 바와 같은 복제 중심 분석으로서도 알려진 감염성 중심 분석에 의해
 측정되는 바와 같은 감염성 및 복제-적격 재조합 AAV 벡터 입자의 수를 지칭한다.

[0263] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 벡터는 적어도 약 5×10^{10} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 1×10^{11} 개의
 형질도입 단위/ml, 적어도 약 2.5×10^{11} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 5×10^{11} 개의 형질도입 단위/ml, 적어
 도 약 1×10^{12} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 2.5×10^{12} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 5×10^{12} 개의 형질도
 입 단위/ml, 적어도 약 1×10^{13} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 5×10^{13} 개의 형질도입 단위/ml, 적어도 약 $1 \times$
 10^{14} 개의 형질도입 단위/ml의 역가로 대상체에게 투여된다. 바이러스 역가에 대한 언급에서 사용되는 용어 "형질
 도입 단위(transducing unit: tu)"는, 예를 들어, 문헌[Xiao et al. (1997) Exp. Neurobiol., 144:113-124;
 또는 Fisher et al. (1996) J. Virol., 70:520-532 (LFU assay)]에 기재된 바와 같은 기능성 분석에서 측정되
 는 기능성 이식유전자 산물의 생성을 초래하는 감염성 재조합 AAV 벡터 입자의 수를 지칭한다.

[0264] 벡터 용량은 일반적으로 투여 경로에 따라 결정될 것이다. 특정 예에서, 신경절내 주사는 약 0.1ml 내지 약 1.0
 ml의 용적으로 약 1×10^9 내지 약 1×10^{13} 개의 벡터 게놈을 포함할 수 있다. 다른 특정 경우에, 초내 주사는 약
 1.0ml 내지 약 12.0ml의 용적으로 약 1×10^{10} 내지 약 1×10^{15} 개의 벡터 게놈을 포함할 수 있다. 또 다른 특정 경
 우에, 두개내 주사는 약 0.1ml 내지 약 1.0ml의 용적으로 약 1×10^9 내지 약 1×10^{13} 개의 벡터 게놈을 포함할 수
 있다. 다른 특정 경우에, 신경내 주사는 약 0.1ml 내지 약 1.0ml의 용적으로 약 1×10^9 내지 약 1×10^{13} 개의 벡
 터 게놈을 포함할 수 있다. 다른 특정 예에서, 척수내 주사는 약 0.1ml 내지 약 1.0ml의 용적으로 약 1×10^9 내
 지 약 1×10^{13} 개의 벡터 게놈을 포함할 수 있다. 또 다른 특정 경우에, 대조 주입은 약 0.5ml 내지 약 5.0ml의
 용적으로 약 5×10^9 내지 약 5×10^{13} 개의 벡터 게놈을 포함할 수 있다. 또 다른 특정 경우에, 피하 주사는 약
 0.1ml 내지 약 1.0ml의 용적으로 약 1×10^9 내지 약 1×10^{13} 개의 벡터 게놈을 포함할 수 있다.

[0265] 일부 경우에, 벡터는 주입에 의해 대상체에게 전달된다. 주입에 의해 대상체에게 전달되는 벡터 용량은 벡터 주
 입 속도로서 측정될 수 있다. 벡터 주입 속도의 비제한적 예는 신경절내, 척수내, 두개내 또는 신경내 투여에
 대해 1 내지 10ml/분; 및 초내 또는 대조 투여에 대해 10 내지 1000ml/분을 포함한다. 일부 경우에, 벡터는
 MRI-유도 전도 촉진 투여(CED)에 의해 대상체에게 전달된다. 이 기법은 거대 용적의 뇌 전체적으로 분포된 증가
 된 바이러스 확산 및 도입을 가능하게 할 뿐만 아니라 바늘 경로를 따라서 벡터의 역류를 감소시킨다.

[0266] 다양한 실시형태에서, 뉴런 세포를 비활성화시키거나 과분극화시키는 조작된 수용체를 암호화시키는 벡터를 통
 증감각 또는 통증에 대한 민감도를 증가시키는 하나 이상의 뉴런 세포에 투여하는 단계, 및 조작된 수용체를 발
 현시키는 뉴런 세포에 특이적으로 결합하는 리간드를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하여, 세포를 비활성화시
 키고, 통증에 대한 민감도를 감소시키며, 진통 효과를 강력하게 하는 방법이 제공된다.

[0267] 다양한 실시형태에서, 뉴런 세포를 활성화시키거나 분극화시키는 조작된 수용체를 암호화하는 벡터를 통증감각

또는 통증에 대한 민감도를 감소시키는 하나 이상의 뉴런 세포에 투여하는 단계, 및 조작된 수용체를 발현시키는 뉴런 세포를 대상체에 특이적으로 결합시키는 리간드를 투여하는 단계를 포함하여, 세포를 활성화시키고, 통증에 대한 민감도를 감소시키며, 진통 효과를 강력하게 하는 방법이 제공된다.

- [0268] 리간드의 제형은 다양한 경로에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 투여 방법의 비제한적 예는 피하 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 경피 투여, 진피내 투여, 복강내 투여, 경구 투여, 주입, 두개내 투여, 초내 투여, 비강내 투여, 신경절내 투여, 및 신경내 투여를 포함한다. 일부 경우에, 투여는 리간드의 액체 제형 주사를 수반할 수 있다. 다른 경우에, 투여는 리간드의 고체 제형의 경구 전달을 수반할 수 있다. 특정 경우에, 리간드는 경구 투여(예를 들어, 알약, 정제, 캡슐 등)에 의해 투여된다. 일부 경우에, 경구 조성물은 식품과 함께 투여될 수 있다. 다른 특정 경우에, 리간드는 대상체의 뇌척수액(CSF)에 대한 전달을 위해 초내 주사(즉, 척수의 지주막하 공간 내로)에 의해 투여된다. 다른 특정 경우에, 리간드는 국소로(예를 들어, 진피 패치, 크림, 로션, 연고 등) 투여된다.
- [0269] 대상체에게 투여되는 리간드의 투약량은 절대적 한계로 처리되지 않지만, 조성물 및 이의 활성 성분의 특성 및 이의 원치않는 부작용(예를 들어, 항체에 대한 면역 반응), 치료 중인 대상체 및 치료 중인 병태의 유형 및 투여 방식에 좌우될 것이다. 일반적으로, 용량은 치료적 유효량, 예컨대 목적하는 생물학적 효과를 달성하는 데 충분한 양, 예를 들어, 대상체에 의해 경험되는 통증 수준을 감소시키거나 약화시키는 데 효과적인 양일 것이다. 특정 실시형태에서, 용량은 예방적 양 또는 유효량일 수 있다. 리간드의 치료적 유효량은 투여 경로, 치료 중인 적응증 및/또는 사용을 위해 선택된 리간드에 좌우될 것이다.
- [0270] 일 실시형태에서, 리간드는 벡터의 투여 전에 대상체에게 처음 투여된다. 리간드의 치료적 유효량은 벡터의 전달 후 일정 시간에 대상체에게 투여될 수 있다. 일반적으로, 벡터의 전달 후에, 벡터에 의해 암호화된 단백질(즉, 조작된 수용체)을 생성하기 위해 대상체의 하나 이상의 세포에 일정 기간이 필요할 것이다. 이 일정 기간 동안에, 대상체에 대한 리간드의 투여는 대상체에게 유리하지 않을 수도 있다. 이 상황에서, 조작된 수용체의 양이 대상체의 하나 이상의 세포에 의해 생성된 후에 리간드를 투여하는 데 적합할 수 있다.
- [0271] 일 실시형태에서, 벡터가 대상체에게 투여되는 것과 거의 동시에 리간드가 대상체에게 처음 투여된다.
- [0272] 일 실시형태에서, 대상체에 대한 벡터의 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 또는 12시간, 며칠, 몇 주, 몇 개월 또는 몇 년에 리간드가 처음 투여된다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 벡터의 전달 후 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일 또는 30일 초과에 상기 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 예에서, 치료적 유효량의 리간드는 벡터의 전달 후 적어도 1주에 대상체에게 투여된다. 추가 예에서, 치료적 유효량의 리간드는 적어도 연속 3일 동안 매일 대상체에게 투여된다.
- [0273] 치료적 유효량 또는 용량의 본 개시내용의 리간드는 mg 또는 mg의 리간드/kg의 대상체 체중으로서 표현될 수 있다. 일부 예에서, 치료적 유효량의 리간드는 약 0.001mg/kg, 약 0.005mg/kg, 약 0.01mg/kg, 약 0.05mg/kg, 약 0.1mg/kg, 약 0.5mg/kg, 약 1mg/kg, 약 2mg/kg, 약 3mg/kg, 약 4mg/kg, 약 5mg/kg, 약 6mg/kg, 약 7mg/kg, 약 8mg/kg, 약 9mg/kg, 약 10mg/kg, 약 20mg/kg, 약 30mg/kg, 약 40mg/kg, 약 50mg/kg, 약 60mg/kg, 약 70mg/kg, 약 80mg/kg, 약 90mg/kg, 약 100mg/kg, 약 120mg/kg, 약 140mg/kg, 약 160mg/kg, 약 180mg/kg, 약 200mg/kg, 약 220mg/kg, 약 240mg/kg, 약 260mg/kg, 약 280mg/kg, 약 300mg/kg, 약 320mg/kg, 약 340mg/kg, 약 360mg/kg, 약 380mg/kg, 약 400mg/kg, 약 420mg/kg, 약 440mg/kg, 약 460mg/kg, 약 480mg/kg, 약 500mg/kg, 약 520mg/kg, 약 540mg/kg, 약 560mg/kg, 약 580mg/kg, 약 600mg/kg, 약 620mg/kg, 약 640mg/kg, 약 660mg/kg, 약 680mg/kg, 약 700mg/kg, 약 720mg/kg, 약 740mg/kg, 약 760mg/kg, 약 780mg/kg, 약 800mg/kg, 약 820mg/kg, 약 840mg/kg, 약 860mg/kg, 약 880mg/kg, 약 900mg/kg, 약 920mg/kg, 약 940mg/kg, 약 960mg/kg, 약 980mg/kg, 약 1mg/kg, 약 2mg/kg, 약 3mg/kg, 약 4mg/kg, 약 5mg/kg, 약 6mg/kg, 약 7mg/kg, 약 8mg/kg, 약 9mg/kg, 약 10mg/kg, 또는 10 mg/kg 초과일 수 있다.
- [0274] 특정 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 리간드의 용량은 적어도 약 0.001 마이크로그램/킬로그램($\mu\text{g}/\text{kg}$), 적어도 약 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 적어도 약 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 적어도 약 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 적어도 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 적어도 약 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.001 밀리그램/킬로그램(mg/kg), 적어도 약 0.005mg/kg, 적어도 약 0.01mg/kg, 적어도 약 0.05mg/kg, 적어도 약 0.1mg/kg, 적어도 약 0.5mg/kg, 적어도 약 1mg/kg, 적어도 약 2mg/kg, 적어도 약 3mg/kg, 적어도 약 4mg/kg, 적어도 약 5mg/kg, 적어도 약 5mg/kg, 적어도 약 6mg/kg, 적어도 약 7mg/kg, 적어도 약 8mg/kg, 적어도 약 8mg/kg, 적어도 약 9mg/kg, 또는 적어도 약 10mg/kg 이상이다.

- [0275] 특정 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 리간드의 용량은 적어도 약 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 적어도 약 10mg/kg, 적어도 약 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 적어도 약 10mg/kg, 적어도 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 적어도 약 10mg/kg, 적어도 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 적어도 약 10mg/kg, 적어도 약 0.01mg/kg 내지 적어도 약 10mg/kg, 적어도 약 0.1mg/kg 내지 적어도 약 10mg/kg, 또는 적어도 약 1mg/kg 내지 적어도 약 10mg/kg, 또는 이들의 임의의 개재 범위이다.
- [0276] 일부 양상에서, 치료적 유효량의 리간드는 몰농도(즉, M 또는 mol/l)로서 표현될 수 있다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 약 1nM, 2nM, 3nM, 4nM, 5nM, 6nM, 7nM, 8nM, 9nM, 10nM, 20nM, 30nM, 40nM, 50nM, 60nM, 70nM, 80nM, 90nM, 100nM, 200nM, 300nM, 400nM, 500nM, 600nM, 700nM, 800nM, 900nM, 1mM, 2mM, 3mM, 4mM, 5mM, 6mM, 7mM, 8mM, 9mM, 10mM, 20mM, 30mM, 40mM, 50mM, 60mM, 70mM, 80mM, 90mM, 100mM, 200mM, 300mM, 400mM, 500mM, 600mM, 700mM, 800mM, 900mM, 1000mM 이상일 수 있다.
- [0277] 치료적 유효량의 리간드는 매일 1회 또는 1회 초과로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 필요한 대로(예를 들어, 통증 경감이 필요할 때) 투여된다. 리간드는 연속으로(예를 들어, 치료 요법의 지속기간 동안 중단 없이 매일) 투여될 수 있다. 일부 경우에, 치료 요법은 1주 미만, 1주, 2주, 3주, 1개월 또는 1개월 초과일 수 있다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 1일, 적어도 2 연속일, 적어도 3 연속일, 적어도 4 연속일, 적어도 5 연속일, 적어도 6 연속일, 적어도 7 연속일, 적어도 8 연속일, 적어도 9 연속일, 적어도 10 연속일, 또는 적어도 10 연속일 초과 동안 투여된다. 특정 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 3 연속일 동안 투여된다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 1주당 1회, 1주당 2회, 1주당 3회, 1주당 4회, 1주당 5회, 1주당 6회, 1주당 7회, 1주당 8회, 1주당 9회, 1주당 10회, 1주당 11회, 1주당 12회, 1주당 13회, 1주당 14회, 1주당 15회, 1주당 16회, 1주당 17회, 1주당 18회, 1주당 19회, 1주당 20회, 1주당 25회, 1주당 30회, 1주당 35회, 1주당 40회 또는 1주당 40회 초과로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 1일당 1회, 1일당 2회, 1일당 3회, 1일당 4회, 1일당 5회, 1일당 6회, 1일당 7회, 1일당 8회, 1일당 9회, 1일당 10회 또는 1일당 10회 초과로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 치료적 유효량의 리간드는 적어도 1시간마다, 적어도 2시간마다, 적어도 3시간마다, 적어도 4시간마다, 적어도 5시간마다, 적어도 6시간마다, 적어도 7시간마다, 적어도 8시간마다, 적어도 9시간마다, 적어도 10시간마다, 적어도 11시간마다, 적어도 12시간마다, 적어도 13시간마다, 적어도 14시간마다, 적어도 15시간마다, 적어도 16시간마다, 적어도 17시간마다, 적어도 18시간마다, 적어도 19시간마다, 적어도 20시간마다, 적어도 21시간마다, 적어도 22시간마다, 적어도 23시간, 또는 적어도 1일마다 투여된다. 리간드의 용량은 대상체에게 지속적으로, 또는 1일당 1, 2, 3, 4 또는 5회; 1주당 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7회, 1개월당 1, 2, 3 또는 4회, 2, 3, 4, 5 또는 6개월마다 1회, 또는 1년 1회, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 대상체에게 투여될 수 있다. 치료의 지속기간은 1일, 1, 2 또는 3주, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 또는 11개월, 1, 2, 3, 4, 5년 이상, 또는 더 길게 지속될 수 있다.
- [0278] 본 명세서에 개시된 방법 및 조성물에 의해 치료되는 대상체는 인간일 수 있거나, 비-인간 동물일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료하다" 및 이의 문법적 동어는 일반적으로 질환의 증상을 감소시키거나, 제거하거나, 예방하기 위한 조성물 또는 방법의 사용을 지칭하며, 치료적 이점 및/또는 예방적 이점을 달성하는 것을 포함한다. 치료적 이점은 치료 중인 장애 또는 병태의 진행을 늦추거나, 진행을 멈추거나, 진행을 반전시키거나, 증상의 근절 또는 개선을 의미한다. 치료의 예방적 이점은 병태 위험을 감소시키거나, 병태 진행을 늦추거나, 병태 발생 가능성을 감소시키는 것을 포함한다.
- [0279] 비인간 동물의 비제한적 예는 비인간 영장류, 가축 동물, 집안 반려동물 및 실험실 동물을 포함한다. 예를 들어, 비인간 동물은 유인원(예를 들어, 침팬지, 개코원숭이, 고릴라 또는 오랑우탄), 구대륙 원숭이(예를 들어, 레서스 원숭이), 신대륙 원숭이, 개, 고양이, 들소, 낙타, 소, 사슴, 돼지, 당나귀, 말, 노새, 라마, 양, 염소, 버팔로, 순록, 야크, 마우스, 래트, 토끼, 또는 임의의 다른 비인간 동물일 수 있다. 본 명세서에서 기재된 바와 같은 조성물 및 방법은 수의학적 동물을 치료할 수 있다. 수의학적 동물은 개, 고양이, 말, 소, 양, 마우스, 래트, 기니피그, 햄스터, 토끼, 뱀, 거북이 및 도마뱀을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 양상에서, 조직 또는 세포 집단을 조성물과 접촉시키는 것은 조성물을 세포 집단 또는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투여는 시험관내에서, 예를 들어, 조성물을 세포 배양 시스템에 첨가함으로써 일어난다. 일부 양상에서, 투여는 생체내에서, 예를 들어, 특정 경로를 통한 투여에 의해 일어난다. 1종 초과 조성물이 투여되는 경우에, 조성물은 동시에(예를 들어, 동일한 날에) 동일한 경로를 통해, 또는 상이한 시간에 동일한 경로를 통해 투여될 수 있다. 대안적으로, 조성물은 동시에(예를 들어, 동일한 날에) 상이한 경로를 통해 또는 상이한 시간에 상이한 경로를 통해 투여될 수 있다.
- [0280] 조성물이 필요한 대상체에게 투여되는 횟수는 의학 전문가의 재량, 장애, 장애의 중증도 및 제형에 대한 대상체의 반응에 의존한다. 일부 양상에서, 조성물의 투여는 적어도 1회 일어난다. 추가 양상에서, 투여는 주어진 기

간에 1회 초과, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 초과로 일어난다. 각각의 투여의 투약량 및/또는 투여 빈도는 환자의 병태 및 생리학적 반응에 기반하여 필요하다면 조절될 수 있다.

[0281] 일부 실시형태에서, 조성물은 대상체의 병태에서 목적하는 생리학적 효과 또는 개선을 달성하기 위한 충분한 시간의 양으로 투여될 수 있다. 대상체의 병태가 개선되지 않는 경우에, 의사의 재량으로 조성물은 대상체의 질환 또는 병태 증상을 개선시키거나 달리 제어하거나 제한하기 위해, 만성적으로, 즉, 대상체 수명의 지속기간 내내를 비롯한, 장기간의 시간 동안 투여될 수 있다. 대상체의 상태가 개선되는 경우에, 의사의 재량으로, 조성물은 지속적으로 투여될 수 있고; 대안적으로, 투여 중인 약물의 용량은 일시적으로 감소되거나 특정 시간 길이 동안 일시적으로 연기될 수 있다(즉, "약물 휴지기(drug holiday)"). 약물 휴지기의 길이는 2일 내지 1년, 단지 예로서, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 10일, 12일, 15일, 20일, 28일, 35일, 50일, 70일, 100일, 120일, 150일, 180일, 200일, 250일, 280일, 300일, 320일, 350일 및 365일로 다르다. 약물 휴지기 동안의 용량 감소는 10% 내지 100%, 단지 예로서 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 및 100%일 수 있다.

[0282] 조성물이 1회 초과로 투여될 때, 각각의 투여는 동일한 행위자에 의해 그리고/또는 동일한 지리학적 위치에서 수행될 수 있다. 대안적으로, 각각의 투여는 상이한 행위자에 의해 그리고/또는 상이한 지리학적 위치에서 수행될 수 있다.

[0283] 인간 및 수의학적 치료와 관련하여, 투여되는 특정 제제(들)의 양은 치료 중인 장애 및 장애의 중증도; 사용되는 특정 제제(들)의 활성; 환자의 연령, 체중, 일반적 건강상태, 성별 및 식이요법; 투여 시간, 투여 경로 및 사용되는 특정 제제(들)의 배설률; 치료 지속시간; 사용되는 특정 제제(들)와 조합되거나 동시에 사용되는 약물; 처방하는 의사 또는 수의사의 판단; 및 의학 및 수의학 분야에 공지된 유사한 인자를 포함하는, 다양한 인자에 의존할 수 있다. 유사하게, 주어진 조성물의 유효 농도는 환자 또는 대상체의 연령, 성별, 체중, 일반적 상태 및 전반적 건강상태를 비롯한 다양한 인자에 좌우될 수 있다.

[0284] **실시예**

[0285] **실시예 1. 조작된 수용체의 발견 및 특성규명**

[0286] $\alpha 7$ -nAChR로부터의 리간드 결합 도메인 및 인간 GlyR1 α 로부터의 염화물-수행 이온 포어 도메인을 포함하는 키메라 LGIC 수용체를 조작하고, 아세틸콜린, 니코틴, 및 몇몇 소분자 작용제 리간드에 대한 이들 반응성에 대해 평가하였다. 이어서, 이들 "모" 키메라 수용체에서 아미노산 치환을 생성하였고, 돌연변이체를 이들 리간드에 대한 반응성에 대해 제시하였다.

[0287] 조작된 키메라 수용체 중에서 그리고 키메라 수용체와 야생형 $\alpha 7$ -nAChR 사이의 효능(EC_{50}) 및 전류 유통(I_{max})의 차이를 관찰하였는데, 이는 조작된 수용체의 세포외 도메인에 기여하는 도메인이 통로 특성에서 영향력이 큰 역할을 한다는 것을 시사한다. 이들 조작된 통로에서의 아미노산 치환은 통로의 반응성을, 일부 경우에 상이한 리간드에 대해 차별적으로 추가로 변경시켰다. 이들 결과는 독특한 통로 특성을 갖는 LGIC 수용체의 툴박스(toolbox)가 조작되어, 질환에서 뉴런의 활성을 제어하는 데 사용될 수 있는 치료제의 개발을 위한 통로를 제공할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0288] **물질 및 방법**

[0289] **수용체 작제:** 표준 분자 생물학 기법에 의해 BamHI 및 EcoRI 부위를 이용하여 개개 모 키메라 수용체를 pcDNA3.1(+)(인비트로젠(Invitrogen))에 클로닝시켰다. 부위 지정 돌연변이유발에 의해 아미노산 치환을 도입하였다.

[0290] **플레이트 판독기 YFP 퀀티 분석:** 렌티-X 293T 세포(LX293T, 클론테크(Clontech))를 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(인비트로젠)을 함유하는 DMEM에서 유지하였다. 플레이트 판독기 분석을 위해, LX293T 세포를 분석 2일 전에 음이온에 대해 향상된 민감도를 나타내는 돌연변이체 YFP(H148Q/I152L) 수용체를 안정하게 발현시키는 세포를 생성하는 렌티바이러스로 감염시키고, 폴리-d 라이신(써모 사이언티픽(Thermo Scientific))으로 코팅한 96-웰 조직 배양 플레이트에서 20,000개의 세포/웰의 밀도로 세포를 분할하였다. 다음날, 세포를 표준 퓨젠(Fugene) 프로토콜(프로메가(Promega))을 이용하여 웰당 0.1 μ g의 DNA로 일시적으로 형질감염시켰다. 분석 일에, 세포를 1X 세포의 용액(1X ECS: 140mM NaCl, 5mM KCl, 1mM MgCl₂, 2mM CaCl₂, 10mM HEPES, 10mM 글루코스, pH 7.2, mOsm 300)에서 2회 세척하였다. 마지막 세척 후에, 100 μ l의 1X ECS를 웰에 첨가하였고, 플레이트를 37°C에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 인큐베이션시키는 동안, 약물을 1X ECS-NaI(140mM NaCl을 140mM

NaI로 대체한 것을 제외하고 1X ECS와 동일한 성분)에서 2X 농도로 희석시켰다. 이어서, 플레이트를 플렉스스테이션3(Flexstation3)(몰레큘러 디바이시스(Molecular Devices)) 상에서 판독하였다. 한 번에 8개의 웰로 플레이트의 각각의 웰을 2분 동안 플렉스스테이션3(몰레큘러 디바이시스)를 이용하여 다음과 같이 판독한다: 1) 기준 YFP 형광을 17초 동안 판독하고, 2) 100 μ l의 리간드를 첨가하고 나서, 3) 이어서, YFP 형광의 변화를 남아있는 시간 동안 1.3초마다 측정한다.

[0291] **전기생리학:** HEK293T 연구를 위해, 이온 통로를 암호화하는 cDNA를 표준 제조법 기법을 이용하여 pcDNA3.1 내로 클로닝시켰다. 클론테크(Clontech)(렌티-X(Lenti-X)(상표명) 293T 세포주)로부터의 HEK293T 세포를 표준 세포 배양 프로토콜을 이용하여 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신으로 보충한 DMEM에서 40 내지 50% 합류까지 배양시키고 나서, 플젠 6을 이용하여 15cm 접시당 18 μ g의 농도로 이온 통로 플라스미드로 감염시키고, 추가 24 시간 동안 성장시켰다. 이어서, 전체 세포 구성을 확립하기 위해 용량-반응 관계를 미세유체학 기반 플랫폼을 통해 평가할 수 있는 배지 처리 전기생리학적 시스템(IonFluxHT 및/또는 머큐리(Mercury), 플릭시온 바이오사이언시스) 상에서 세포를 분석하였다. 리나그(Lynagh) 및 린치(Lynch)로부터 적합하게 된 바와 같은 세포의 완충제(140mM NaCl, 5mM KCl, 2mM CaCl₂, 1mM MgCl₂, 10mM HEPES, 및 10mM 글루코스, NaOH를 이용하여 pH 7.2, mOsm 310), 세포내 완충제(145mM CsCl, 2mM CaCl₂, 2mM MgCl₂, 10mM HEPES, 및 10mM EGTA, CsOH를 이용하여 pH 7.2, mOsm 305), 및 세포외 완충제로 희석시킨 시험 화합물(새로 제조한 저장액)로 양상블 플레이트를 프라임시켰다. 이어서, 세포를 아큐타제(Accutase)를 이용하여 플레이트로부터 방출시키고 나서, 원심분리시키고, 세포외 완충제에서 재현탁시키고 나서, 양상블 플레이트에 부하하였다. 이어서, 세포에 전체 세포 구성을 프라임, 트래핑, 파괴 및 확립하기 위한 표준 프로토콜을 실시하였고, 세포를 기록 내내 -60mV에서 보유하였다. 기준을 기록한 후에, 용량 반응 관계를 평가하기 위해 이온플럭스(IonFlux) 소프트웨어를 이용하여 시험 화합물의 점진적 용량을 적용하였다. 이어서, 데이터를 .csv 형식으로 전환시키기 위해 맞춤 파이썬(Python) 스크립트를 이용하여 데이터를 오프라인 분석하였고, 흔적을 재플롯팅하고 나서, QC 측정을 적용하여 불안정한 기록을 거부하였다(즉, 기준에서의 접근 저항 및/또는 표준 편차에 기반한 문턱값뿐만 아니라 인공물 기각). 이어서, 피크 전류를 계산하고, 힐 식에 의해 기재된 바와 같이 4-모수 로지스틱 식을 이용하여 집단 데이터를 적합화하였다.

[0292] 제노푸스 난모세포 연구를 위해, 등록상표가 있는 자동 주사 장치를 이용하여 0.04 μ g/ μ l의 최종 농도로 이온 통로에 대해 암호화하는 cDNA의 주사를 수행하였고, 수용체 발현을 적어도 2일 후에 시험하였다. 2개의 전극을 이용하여 난모세포를 찌르고, 이들의 막 전위를 실험 내내 -80mV에서 유지하였다. 모든 기록을 18 $^{\circ}$ C에서 수행하였고, 세포를 mM로: NaCl 82.5, KCl 2.5, HEPES 5, CaCl₂.2H₂O 1.8, MgCl₂.6H₂O 1, pH 7.4를 함유하는 OR2 배지에 쏟았다. 난모세포가 충분히 낮은 유지 전류를 가진다면 기록을 진행하였고, 이 경우에, 이어서, 이들에 리간드 또는 시험 화합물 적용을 실시하였고(5 내지 10s 세척 간격), 용량 간에 100s의 세척이 있었다. 표준 2 전극 전압 클램프 구성(TEVC)을 구비한 자동 공정을 이용하여 아세틸콜린 또는 다른 작용제에 의해 유발되는 전류를 기록하였다. 데이터를 캡처하고 나서, Matlab(매스웍 인코포레이티드(Mathworks Inc.)) 하에 실행하는 HiQScreen 등록상표 데이터 획득 및 분석 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. 아세틸콜린을 물에서 진한 저장액(10⁻¹ M)으로서 준비하고, 이어서, 기록 배지에서 희석시켜 목적하는 시험 농도를 얻었다. 니코틴을 물에서 저장액(10⁻¹M)으로서 희석시키고, 냉동을 유지시킨 다음에, 목적하는 농도에서 실험 직전에 희석시켰다. 화합물을 OR2에서 저장액(10⁻¹M)으로서 준비하고, 이어서, 기록 배지에서 희석시켜 목적하는 시험 농도를 얻었다. OR2에서 화합물-1에 대한 저장액을 만들고 HCl을 이용하여 pH 5로 조절하였다. 이 저장액의 최종 농도에서 희석물이 유의한 변화를 도입하지 않았다는 것을 평가하기 위해, 비색분석법을 이용하여 최종 용액의 pH를 확인하였다(Galietta L.J.V., et al. 2001. FEBS Letters 499: 220-224. Kruger W., et al. (2005). Neuroscience Letters 380: 340-345.)

[0293] **결과**

[0294] 인간 "α7-nAChR"의 비천연 소분자에 대한 노출 후 음이온 전류를 전도하는 LGIC를 생성하기 위해, α7-nAChR의 리간드 결합 도메인에 융합된 인간 GlyR α1 소집단의 염화물-전도성 이온 포어 도메인을 포함하는 융합 단백질을 조작하였다. 일부 융합 단백질에서, α7-nAChR의 β1-β2 루프 서열 및/또는 Cys 루프 서열은 GlyR α1로부터의 대응하는 서열로 대체하였다(도 4에서의 개략도 참조). 다른 융합 단백질에서, 세포외 도메인의 3' 서열과 이온 포어 도메인의 5' 서열 사이의 접합 부위("진-M1 링커")를 이동시켰다. 또 다른 융합 단백질에서, GlyR α1 이온 포어 도메인의 막관통 도메인 2와 막관통 도메인 3 사이의 세포외 루프 서열("M1-M2 링커")을 α7-nAChR로부터의 대응하는 M1-M3 링커 서열로 대체하였다. 다양한 용량의 천연 리간드, 즉, 아세틸콜린에 대한 이들 조작된 키메라 LGIC의 반응을 1초 동안 아세틸콜린의 적용 후 전기생리학에 의해 평가하였다. 각각의 통로에 대해 상이한 EC₅₀, I_{max} 값 및 탈감작 역학을 관찰하였는데(도 3), 키메라의 이온 포어 도메인에 기여하는 단백질의

세포의 영역에 대응하는 통로 이중성 서열의 리간드 결합 도메인에 포함시키는 것이 이온 통로의 특성을 변경시킨다는 것을 시사한다.

[0295] 통로 내로 삽입된 이중성 도메인의 영향을 더 양호하게 이해하기 위해, 아세틸콜린에 대해서 뿐만 아니라 비천연 리간드 TC-6987, AZD-0328, 및 파시니클린/RG3487에 대한 야생형 $\alpha 7$ -nAChR 및 다양한 조작된 키메라 LGIC 수용체의 리간드-의존적 반응 프로파일을 평가하였다. 수용체를 HEK291T 세포에서 일시적으로 발현시켰고, 약물을 첨가하고 1초 후에 자동 패치 클램프 시스템(플러시온 바이오사이언시즈) 상에서 전류를 측정하였다. 세포의 도메인에서 GlyR $\alpha 1$ Cys-루프 서열의 포함은 조작된 수용체 상에서 모든 소분자의 효능을 증가시켰다(EC_{50} 의 좌측 이동)(예를 들어, 서열번호 35, 도 4c 대 서열번호 16, 도 4b). 이중성 Cys 루프 서열 길이를 증가시키는 것은 모든 화합물에 대해 EC_{50} 을 우측으로 보통으로 이동시켰지만, I_{max} 값을 상당히 증가시켰는데(서열번호 33, 도 4d 대 서열번호 35, 도 4c), 이는 효능의 보통의 감소 그러나 전반적으로 전도도의 증가를 나타내었다. 세포 외 도메인에서 GlyR $\alpha 1$ 의 Cys-루프와 $\beta 1$ - $\beta 2$ 루프 서열 둘 다의 포함은 전체 Cys-루프 서열 단독에 의해 관찰되는 것로부터 약 1 log만큼 민감도를 감소시켰지만, 추가로 전도를 대략 2배 증가시켰고, 통로의 비활성화율을 늦추었다(서열번호 41, 도 4e 대 서열번호 33, 도 4d). 수용체가 제노푸스 난모세포에서 발현되고 증가된 용량의 화합물의 적용 10초 후에 전류가 수동 패치 클램프 시스템 상에서 측정되는 제2 모델 시스템에서 이들 결과를 확인하였다(도 5).

[0296] 전반적으로, 서열번호 33은 대략 야생형 $\alpha 7$ -nAChR로서 아세틸콜린, ABT-126 및 TC-6987에 대해 민감하고, TC-6987은 서열번호 33에 대해 야생형과 유사한 부분적 작용제 활성을 나타낸다. 서열번호 33은 야생형보다 니코틴에 대해 대략 2배 덜 민감하고, AZD-0328 및 파시니클린/RG3487에 대해 각각 대략 3배 및 10배 더 민감하다. GlyR $\alpha 1$ 로부터의 $\beta 1$ - $\beta 2$ 루프 도메인을 추가로 포함하는 서열번호 41은 야생형 $\alpha 7$ -nAChR과 비슷하게 ABT-126, TC-6987 및 AZD-0328에 대해 민감하지만, 아세틸콜린 및 니코틴에 대해서는 덜 민감하고, 서열번호 41에 대한 아세틸콜린 및 니코틴에 대한 EC_{50} 은 야생형보다 대략 4배 및 7배 더 크다(우측 이동). 서열번호 41은 서열번호 33보다 파시니클린/RG3487에 대해 덜 민감하지만, 야생형보다 파시니클린/RG3487에 대해 훨씬 더 민감하고, EC_{50} 은 대략 2배 더 낮다(좌측 이동)(도 5).

[0297] 천연 및 비천연 리간드에 대한 조작된 LGIC 수용체의 반응성을 추가로 조율하기 위해, 알파7-nAChR에서 각각의 리간드의 결합 포켓을 모델링하고, 결합 포켓을 형성하는 아미노산 잔기를 맵핑하였다. 이어서, 돌연변이체 키메라 LGIC의 라이브러리를 생성하였고, 각각의 돌연변이체 키메라 LGIC는 결합 포켓의 하나 이상의 아미노산에서 치환을 포함한다. 리간드에 대한 신규한 반응 프로파일을 갖는 것에 대해 이들 돌연변이체 LGIC를 선별하기 위해, 보다 고속대량 형식으로 통로 기능을 평가하도록 음이온 리포터 분석을 진행하였다. 이 분석에서, 형광이 음이온의 존재 하에 켜지는 YFP 리포터를 발현시키는 세포를 관심 대상의 통로를 암호화하는 통로를 암호화하는 DNA로 형질감염시킨다. 리간드에 대한 노출 시, 활성화되는 통로는 음이온을 유동시키고, 플레이트 판독기 상에서 검출될 수 있는 YFP의 용량-의존적 켜짐을 초래할 것이다. 도 6은 시간에 따라 YFP의 형광 켜짐에 의해 측정되는 바와 같이, 증가된 농도의 아세틸콜린에 대한 4개의 조작된 키메라 LGIC 수용체(서열번호 29, 서열번호 33, 서열번호 35, 서열번호 41)의 반응을 도시한다. 이들 켜짐 플롯은 전기생리학과 음이온 리포터 접근 사이의 유사성을 입증한다. 도 7은 아세틸콜린(ACH) 또는 AZD-0328 중 하나에 대한 조작된 키메라 LGIC 수용체 서열번호 33 및 서열번호 41의 켜짐 플롯을 제공한다. 모 키메라는 유사한 농도의 상이한 리간드에 상이하게 반응한다.

[0298] 모 키메라 서열번호 33에 기반한 돌연변이체 키메라 LGIC 수용체의 라이브러리를 음이온 리포터 플레이트 판독기 분석을 이용하여 아세틸콜린 및 AZD-0328에 대한 반응성에 대해 선별하였다. 도 8은 다양한 용량의 아세틸콜린 또는 AZD-0328에 의한 자극 후 YFP 형광의 켜짐 백분율의 히트맵을 제공한다. 다수의 아미노산 치환은 리간드에 대한 반응성을 감소시키거나(도 8a 내지 도 8f, EC_{50} 의 우측 이동) 리간드에 대한 반응성을 증가시켰는데(도 8i, EC_{50} 의 좌측 이동), 화합물 둘 다에 의한 결합 및 활성화에 중요한 아미노산의 중복을 시사한다. 그러나, 아세틸콜린에 반응하여 좌측 이동을 나타내지만 AZD-0328에 반응하여 우측 이동을 나타내거나(도 8g), 또는 모 키메라에 비해 아세틸콜린에 대해 훨씬 우측 이동을 나타내지만 AZD-0328에 반응하여 유의한 변화를 나타내지 않는 돌연변이체를 또한 확인하였는데(도 8h), 리간드에 대한 반응을 분리시키는 단일 돌연변이의 능력을 입증한다.

[0299] 상이한 리간드의 EC_{50} 을 더 양호하게 특성규명하기 위해 관심 대상의 몇몇 돌연변이체에 대해 용량 반응 곡선을 생성하였다(도 9). 서열번호 33에서의 치환 L131S, L131T 및 S172D는 아세틸콜린에 대한 EC_{50} 의 2 log 이상의

증가를 초래하였지만(1 log 이하, 일부 경우에, 0.5 log 미만), 돌연변이되지 않은 서열번호 33에 비해 AZD-0328에 대해 EC₅₀의 약간의 증가만을 초래하였다(도 9). W77M의 치환은 아세틸콜린에 대한 반응성의 이동을 생성하지 않았지만, AZD-0328에 대한 EC₅₀에서 상당한 증가(2 log 초과)를 생성하였다. 이들 용량 반응 곡선은 특정 아미노산 잔기의 치환은 모 키메라 상에서 관찰된 것으로부터의 선택 리간드의 EC₅₀을 극적으로 변화시킬 수 있다는 것을 확인하였다.

[0300] 플레이트 판독기에 의해 결정된 EC₅₀을 확인할 뿐만 아니라 최대 전류 흐름의 더 양호한 이해를 진전시키기 위해, 전기생리학을 이용하여 L131S, L131T, S172D 및 W77M 돌연변이를 분석하였다. L131S의 치환은 모 키메라 서열번호 33에 비해 아세틸콜린의 EC₅₀에서 상당한 우측 이동(약 2 log, 80 내지 100배)을 야기하였지만, AZD-0328에 대한 EC₅₀은 단지 2배 우측 이동된다(도 10a). 잔기 131의 T로의 치환은 대신에 훨씬 더 큰 영향을 가졌고, 아세틸콜린에 대한 대략 2.5 log 및 AZD-0328에 대한 대략 1 log의 EC₅₀의 우측 이동을 초래하였다(도 10d). S172D의 치환은 또한 모 키메라에 대한 아세틸콜린의 EC₅₀의 상당한 우측 이동을 야기하였지만(약 2-log, 또는 58배), S172D에 대한 AZD-0328에 대한 EC₅₀은 단지 2배 우측 이동된다. W77M의 치환은 모 키메라에 비해 아세틸콜린 EC₅₀의 보통의 좌측 이동(2배)을 야기하였지만, W77M에 대한 AZD-0328에 대한 EC₅₀은 상당히 우측 이동된다(2.5 log 초과). 이들 결과는 플레이트 판독기에 의해 관찰되는 단일 점 돌연변이와 아세틸콜린 및 비천연 리간드 반응 분리의 전기생리학적 확인을 제공한다.

[0301] **실시예 2. 동물 모델에서 질환을 치료하는 조작된 수용체의 효능 평가**

[0302] α7-nAChR로부터의 리간드 결합 도메인 및 인간 GlyR α1 소집단으로부터의 염화물-전도성 이온 포어 도메인을 포함하는 키메라 LGIC 수용체를 소분자 리간드의 투여 후 신경병성 통증의 래트 모델에서 무통증을 제공함에 있어서 이들의 효능에 대해 평가한다.

[0303] **물질 및 방법**

[0304] **AAV 벡터 생성:** 표준 분자 생물학 기법을 이용하여 8개의 발현 카세트를 작제하였다. 모두 α7-nAChR의 리간드 결합 도메인 및 GlyR α1의 Cys-루프 도메인 및 이온 포어 도메인을 포함하는 조작된 키메라 수용체에 연결된 인간 시냅신-1(hSYN) 프로모터를 함유한다. 이들의 설계는 다음과 같다:

[0305] (a) 키메라 1: 추가적인 변화 없음.

[0306] (b) 키메라 2: 1과 유사할 뿐만 아니라 야생형 수용체 또는 이것이 유래된 모 키메라 수용체보다 아세틸콜린에 대해 덜 반응성인 조작된 수용체를 제공하지만, 비천연 리간드 AZD-0328에 대해 수용체의 반응성을 유지하는 도 8h로부터의 아미노산 치환을 포함한다.

[0307] (c) 키메라 3: 1과 유사할 뿐만 아니라 야생형 수용체 또는 이것이 유래된 모 키메라 수용체보다 아세틸콜린과 비천연 리간드 둘 다에 대해 덜 반응성인 조작된 수용체를 제공하는 도 8a 내지 도 8f로부터의 아미노산 치환을 포함한다.

[0308] (d) 키메라 4: 유사할 뿐만 아니라 비천연 리간드 AZD-0328 및 파시니클린 내지 약 야생형 수용체 수준의 EC₅₀을 회복시키는 도 8i로부터의 아미노산 치환을 포함한다.

[0309] (e) 키메라 5: 1과 동일할 뿐만 아니라 GlyR α1로부터의 β1-2 루프 도메인을 포함한다.

[0310] (f) 키메라 6: 2와 동일할 뿐만 아니라, GlyR α1로부터의 β1-2 루프 도메인을 포함한다.

[0311] (g) 키메라 7: 3과 동일할 뿐만 아니라 GlyR α1로부터의 β1-2 루프 도메인을 포함한다.

[0312] (h) 키메라 8: 4와 동일할 뿐만 아니라, GlyR α1로부터의 β1-2 루프 도메인을 포함한다.

[0313] 이들 카세트를 AAV 바크미드(bacmid)에 서브클로닝시키고, 정제하고 나서, Sf9 곤충세포에 형질감염시켜 재조합 바칼로바이러스를 생성하고, 이어서, 증폭시켰다. 재조합 AAV 벡터를 생성하기 위해 hSYN-α7-nAChR/GlyR α1 카세트를 함유하는 증폭된 재조합 바칼로바이러스 및 Rep 및 AAV6(Y705+731F+T492V) Cap 유전자를 함유하는 다른 재조합 바칼로바이러스를 이용하여 Sf9 세포를 감염시킨다. 바이러스 벡터를 정제하고, qPCR을 이용하여 바이러스 역가를 결정하고, SDS-PAGE를 사용하여 AAV 벡터를 확인한다.

[0314] **거동 실험 및 통증 모델:** 신경병성 통증 병태를 모방하는 모델에서의 기계적 과민증을 생성하기 위해, 여분 신

경 손상(spared nerve injury: SNI) 모델(기계적 이질통의 검증된 모델)을 사용한다(Shields et al., 2003, The Journal of Pain, 4, 465-470). 이 모델을 총 비골신경 및 비복신경의 절편화 및 경골 가지의 단리에 의해 생성한다. 와이어-메쉬 그리드 상에 래트를 위치시키고, 폰 프레이 필라멘트(von Frey filament)로 뒷발의 발바닥을 자극함으로써 기계적 회수 역치를 평가한다.

[0315] **래트의 척수 내로의 AAV 주사:** 요추 척수의 2개 세그먼트(약 1.5 내지 2mm)를 노출시키기 위해 요팽대 수준에서 등쪽 반측후궁절제술을 행하고, 이후에 경막을 절개하고, 반영하였다. 바이러스 용액을 유리 마이크로피펫(광유로 미리 채움)에 장입한다. 마이크로피펫을 정위(stereotactic) 장치 상에 장착된 수동 마이크로-주사기에 연결한다. 바이러스 용액을 배각부분(좌측)에 대해 표적화한다. 노출된 영역 내의 전후방향(rostro-caudal) 축을 따라서, 등거리 선형 방식으로 각각 240nl의 6회 주사를 수행한다. 각각의 주사 후에, 1분의 휴지 시간이 관찰되며, 이어서, 근육층을 봉합하고, 피부를 스테플(staple)로 봉합하고 나서, 열 패드를 이용하여 동물을 회복시킨 후에 이들을 우리에 복귀시켰다. 마지막 거동 검사 후에 조직학적 분석을 위해 동물을 관류시킨다.

[0316] **래트의 후근 신경절(DRG) 내로의 AAV 신경절내 주사:** 주사를 봉규산염 유리 모세관(0.78/1mm 내경/외경)을 이용하여 뽀족한 지점까지 잡아당기고, 폴리에틸렌 튜빙(0.4/0.8mm 내경/외경)에 의해 미량주사 펌프에 장착된 주사기에 부착한다. 바늘을 (단지 바늘을 잡거나 조작하는데 사용하기 위해) 바깥쪽으로 단히는 정위 프레임(stereotaxic frame)의 연장된 아암(arm) 상에 장착한다. 튜빙, 주사기 및 바늘을 모두 물로 채운다. 1마이크로리터의 공기를 바늘 내로 취한 후에, 3 μ l의 바이러스 벡터 용액을 취한다. 각각의 주사에 대해 이 용적과 별개로 바늘에 장입한다. 수술 전에 동물을 마취시켰다. 등쪽 정중선을 따라서 절개 후에, 척추골의 제거에 의해 L4 및 L5 DRG를 노출시킨다. DRG 위에 놓인 신경외막을 개방하고 나서, 신경절에 내에, 노출된 신경절의 표면으로부터 400 μ m의 깊이로 유리 바늘을 삽입하였다. 유리 모세관 튜 주변 조직을 봉합하기 위해 3분 지연 후에, 1.1 μ l 바이러스 용액을 0.2 μ l/분의 속도로 주사하였다. 2분의 추가 지연 후에, 바늘을 제거한다. L4 신경절에 처음 주사한 후에 L5 신경절에 주사한다. 척수 위에 놓인 근육을 5-0 봉합으로 느슨하게 봉합하고, 상처를 봉합한다. 37 $^{\circ}$ C에서 동물을 회복시키고 수술후 무통증으로 되게 하였다.

[0317] **래트에서의 AAV 초내 주사:** 래트를 처음 마취시키고, 이어서, 정위 프레임에 이들의 머리를 고정시켜 수직으로 위치시켰다. 목덜미능선에서 그루브를 노출시키기 위해 목의 기저부에서 절개를 행한다. 수조막 내 절개를 너적 수액이 누설되는 깊이까지(1 내지 2mm) 행한다. 이어서, 4cm 32 G 초내 카테터를 요추 척수 방향으로 서서히 삽입하고, 피부를 카테터에 의해 봉합한다. 이어서, 래트를 회복시킨다. 이어서, 래트를 마취시키고 나서, 벡터(6 μ l)를 투여한다. 카테터를 6 μ l의 PBS로 씻어내고, 이어서, 제거하고 나서, 래트를 회복시켰다.

[0318] **결과**

[0319] 이 SNI 모델을 래트의 총 비골신경 및 비복신경의 절편화 및 경골 가지의 단리에 의해 생성한다. 문헌[Chaplan & Yaksh]의 업-다운(up-down) 방법을 사용하여 기계적 역치를 결정 한 후에, 척수, DRG, 또는 초내 공간 내로 AAV.hSYN-a 7-nAChR/GlyR α 1을 주사한다. 편측성 벡터 주사의 3주 후에, 동물의 기계적 움츠림 역치(mechanical withdrawal threshold)가 변하지 않는다는 것을 검증하기 위해 동물을 다시 검사한다. 33rpm의 최대 속도로 가속된 로타로드(accelerating rotarod)(미국에 소재한 스톨팅(Stoelting))을 이용하여 주사 전에 그리고 후에 운동 협응을 또한 검사한다. 로타로드 상에서 래트가 소비한 지속시간을 기록하고, 컷오프는 300초이다. 각각의 래트를 3회 훈련 시험에서 살펴보고, 2시간 후에 검사한다. 키메라 1 및 키메라 5를 받은 동물은 합성 리간드의 부재하에서 조차 일부 무통증을 경험하는 것으로 나타나는데, 이는 아세틸콜린의 천연 유래 수준이 키메라 수용체를 활성화시킬 수 있다는 것을 시사한다. 연구에 남아있는 동물은 기계적 움츠림 또는 AAV의 주사로부터 초래되는 운동 협응이 변화 없음을 나타낸다.

[0320] 후속적으로, 각각의 키메라 코호트에서 래트의 절반에 AZD-0328 또는 파시니클린의 단일 IP 주사를 투여하고, 기계적 역치는 IP 주사 후 1, 2, 5, 7 및 13일에 업-다운 방법을 이용하여 검사하였다. 고용량의 리간드에서 검사할 때, 기계적 과민증의 완전한 반전이 모든 래트에서 관찰된다. 저용량에서 검사할 때, 키메라 1, 2, 4, 5, 6 및 8을 받은 래트는 기계적 과민증의 완전한 반전을 경험한 반면, 키메라 3 및 7을 받은 래트(비천연 리간드에 대한 반응성을 감소시키는 치환은 포함하지만 효과를 억제하는 치환은 포함하지 않음)는 과민증의 부분적 반전만을 경험한다. 대측성측 상에 변화가 없으며, 즉, AZD-0328은 벡터의 부재 하에서 측정 가능한 효과를 갖지 않는다. 반전은 적어도 2일 동안 지속되었다. 제3일에, 역치가 손상 후 기준까지 회복되었을 때, AZD-0328을 다시 IP로 주사하고, 또한 비-손상 기준 역치에 대한 회복이 관찰된다. 이들 동물은 48시간 동안 따랐고, 역치는 기준에 남아있었다. 이어서, 동물을 조직학을 위해 관류시킨다.

[0321] **실시예 3. 만성 통증을 앓고 있는 환자의 치료**

[0322] 비제한적 예에서, 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 만성 근통을 앓고 있는 환자를 치료한다. 환자를 하나 이상의 배근 신경절(즉, 요추, 경추 또는 흉추 DRG 내로 신경절내 전도 촉진 투여)에 직접적으로 전달한 1.0ml의 용적으로 AAV.hSYN- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 시냅신-1(SYN1) 프로모터의 제어 하에 α 7-nAChR/GlyR α 1 키메라를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 필요하다면(즉, 통증 에피소드 동안) 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 자가 투여한다.

[0323] **실시예 4. 만성 통증을 앓고 있는 환자의 치료**

[0324] 비제한적 예에서, 만성 두개안면(예를 들어, 삼차 신경병증 또는 턱관절 기능장애)을 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 환자를 삼차 신경절(즉, 신경절내 전도 촉진 투여)에 직접적으로 전달하는 0.150ml 용적의 AAV.hSYN- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 시냅신-1(SYN1) 프로모터의 제어 하에 α 7-nAChR/GlyR α 1 키메라를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 필요하다면(즉, 통증 에피소드 동안) 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 자가 투여한다.

[0325] **실시예 5. 비만인 환자의 치료**

[0326] 비제한적 예에서, 비만인 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 환자를 AAV의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 1.0ml의 용적으로 그렐린(Ghrelin)- α 7-nAChR/GlyR α 1을 미주신경(즉, 신경내) 위 가지(gastric branch)에 직접 전달한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 선택적 뉴런 발현을 위한 인간 그렐린(Ghrelin) 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 과도한 체중감소를 위해(즉, 식욕 억제를 위해) 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0327] **실시예 6. 비만인 환자의 치료**

[0328] 비-제한적 예에서, 비만인 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 체장을 자극하는 배근 신경절에 직접적으로(즉, 신경절내) 전달되는 1.0ml 용적의 AAV-TRPV1- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 환자를 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 통증수용체에서의 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 TRPV1 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 과도한 체중감소를 위해 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0329] **실시예 7. 비만인 환자의 치료**

[0330] 비-제한적 예에서, 비만인 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 시상하부에서 뇌 시상 하부 핵(PVH)에 직접적으로 전달된(즉, 두개내, 전도 촉진 투여) 1.0ml의 용적의 AAV-SIM1- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 환자를 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 프로-오피오멜라노코르틴(pro-opiomelanocortin: POMC) 뉴런에서 선택적 뉴런 발현을 위해 그리고 궁극적으로 식욕억제 경로의 자극을 위해 인간 싱글-마인디드 패밀리 BHLH 전사 인자 1(Single-Minded Family BHLH Transcription Factor 1: SIM1)의 제어 하에 조작된 통로를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 과도한 체중감소를 위해(즉, 식욕 억제를 위해) 0.15mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0331] **실시예 8. PTSD를 앓고 있는 환자의 치료**

[0332] 비제한적 예에서, 외상 후 스트레스 장애(PTSD)를 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 환자를 C6 성상신경절에 직접적으로 전달된(즉, 신경절내) 1.0ml 용적의 AAV-hSYN1- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, 선택적 뉴런 발현을 위해 AAV 벡터는 인간 시냅신-1(hSYN1) 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 과도한 PTSD 증상에 대해(즉, 불안에 대해) 0.15mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0333] **실시예 9. 우울증을 앓고 있는 환자의 치료**

[0334] 비제한적 예에서, 치료-내성 우울증(treatment-resistant depression: TRD)을 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 환자를 미주신경 내로 직접적으로 전달된(즉, 신경내) 1.0ml 용적의 AAV-hSYN1- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 시냅신-1(hSYN1) 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 우울증 증상에 대해 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0335] **실시예 10. GERD를 앓고 있는 환자의 치료**

[0336] 비제한적 예에서, 위식도 역류질환(GERD)을 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 환자를 하부식도괄약근(LES) 미주신경 및 근층간신경총(즉, 신경내) 또는 민무늬근(근육내)에 각각 직접적으로 전달되는 1.0ml 용적의 AAV-hSYN1- α 7-nAChR/GlyR α 1 또는 AAV-CAG- α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 시냅신-1(hSYN1) 프로모터 또는 LES 근세포에서 발현을 위해 CAG 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 GERD 증상(즉, 위산역류)에 대해 0.15mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0337] **실시예 11. 간질을 앓고 있는 환자의 치료**

[0338] 비제한적 예에서, 간질과 연관된 발작을 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 치료한다. 운동피질(즉, 두개내)과 같은 사전 결정된 발작 병소에 직접적으로 1.0ml 용적의 AAV-CamKII α - α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터 계놈으로 환자를 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 흥분성 뉴런에서 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 칼슘/카모듈린-의존적 단백질 키나제 II α (CamKII α) 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 간질 증상(즉, 발작)에 대해 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

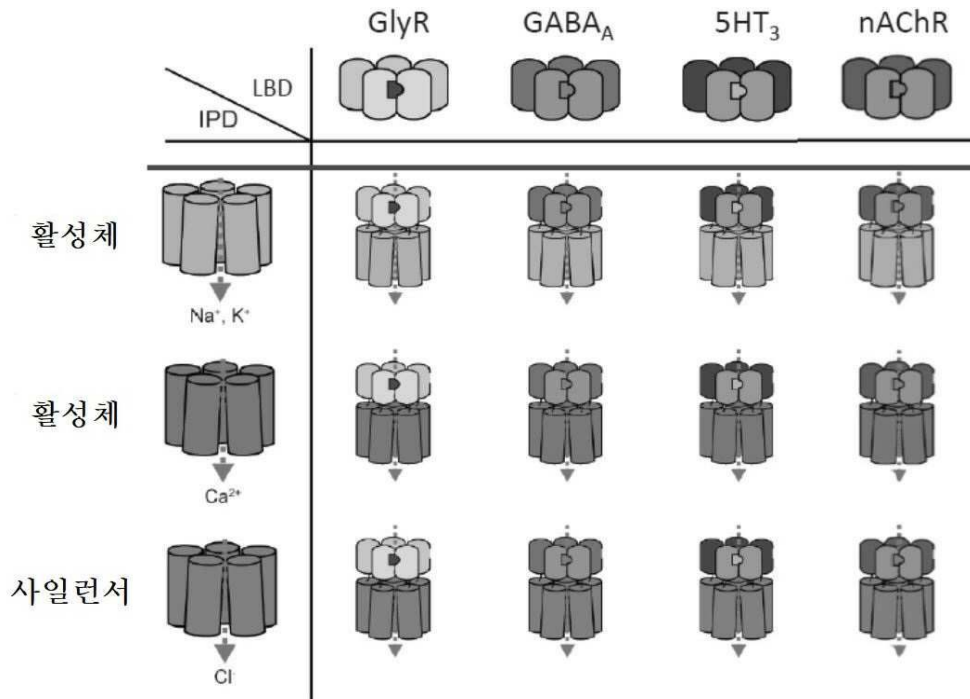
[0339] **실시예 12. 운동장애를 앓고 있는 환자의 치료**

[0340] 비제한적 예에서, 운동장애(예를 들어, 파킨슨증후군 떨림)을 앓고 있는 환자를 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법을 치료한다. 환자를 시상하핵(즉, 두개내 STN)에 직접적으로 전달한 1.0ml 용적의 AAV-CamKII α - α 7-nAChR/GlyR α 1의 10^{13} 개의 벡터로 제1일에 치료한다. 본 실시예에서, AAV 벡터는 흥분성 뉴런에서 선택적 뉴런 발현을 위해 인간 칼슘/카모듈린-의존적 단백질 키나제 II α (CamKII α) 프로모터의 제어 하에 조작된 수용체를 암호화한다. 주사 2주 후에, 환자는 AZD-0328에 대한 처방을 위해 병원에 복귀한다. 환자는 운동장애 증상(즉, 떨림)에 대해 0.1mg/kg의 AZD-0328을 경구로 매일 자가 투여한다.

[0341] 상기 서술한 것은 단지 본 개시내용의 원칙을 예시한다. 본 명세서에서 경험적으로 기재하거나 나타내지 않았지만, 당업자가 본 개시내용의 원칙을 구현하고 정신과 범주 내에 포함되는 다양한 배열을 고안할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 더 나아가, 본 명세서에 열거된 모든 실시예 및 조건적 언어는 원칙적으로 독자가 본 개시내용의 원칙 및 본 발명자에 의해 더 장래의 기술에 기여하는 개념을 이해하는 데 도움을 주는 것으로 의도되며, 이러한 구체적으로 열거되는 실시예 및 병태에 대한 제한은 없는 것으로 해석되어야 한다. 게다가, 본 개시내용의 원칙, 양상 및 실시형태를 열거하는 본 명세서의 모든 상태뿐만 아니라 이의 구체적 실시예는 이의 구조적 동등물과 기능적 동등물을 둘 다 포함하는 것으로 의도된다. 추가적으로, 이러한 동등물은 현재 공지된 동등물과 장래에 개발되는 동등물, 즉, 구조와 상관없이 동일한 기능을 수행하는 임의의 개발 요소를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, 본 개시내용의 범주는 본 명세서에 나타내고 기재한 예시적인 실시형태를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 오히려, 본 개시내용의 정신과 범주는 첨부하는 청구범위에 의해 구현된다.

도면

도면1



도면2

대략 12개의 "모" 수용체를 생성 (LBD/IPD 융합)

돌연변이체 라이브러리를 생성 (오류 유발 PCR을 통해 LBD를 돌연변이시킴)

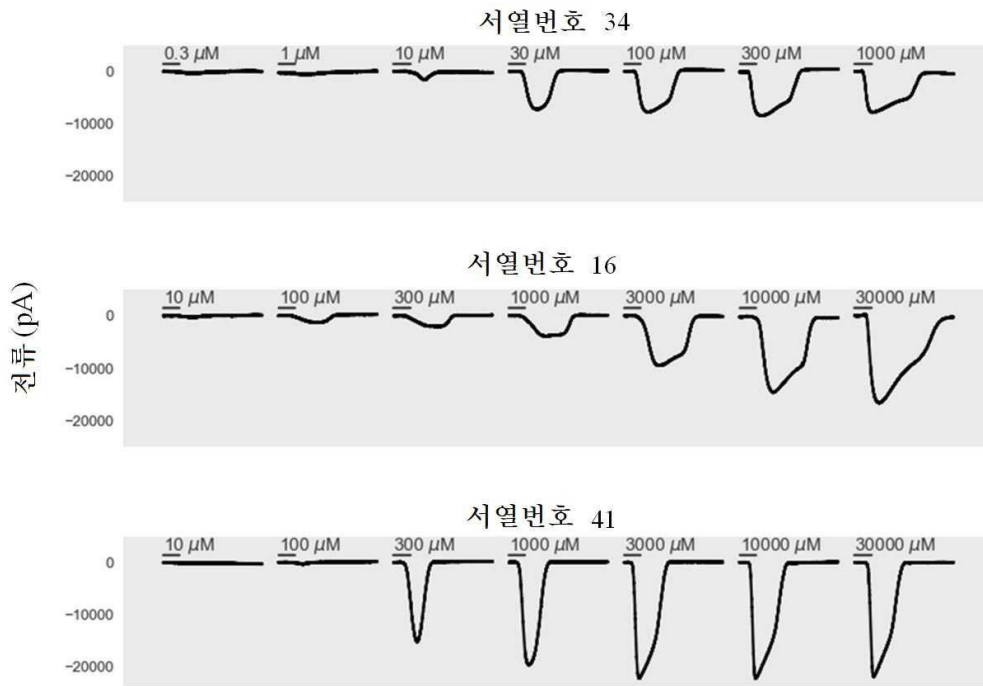
1^o 선별 (리간드에 대한 기능성 돌연변이체에 대한 HT 효모 선별)

2^o 선별 (리간드와 함께 포유류 세포를 이용하는 LT 시험관내 기능성 선별)

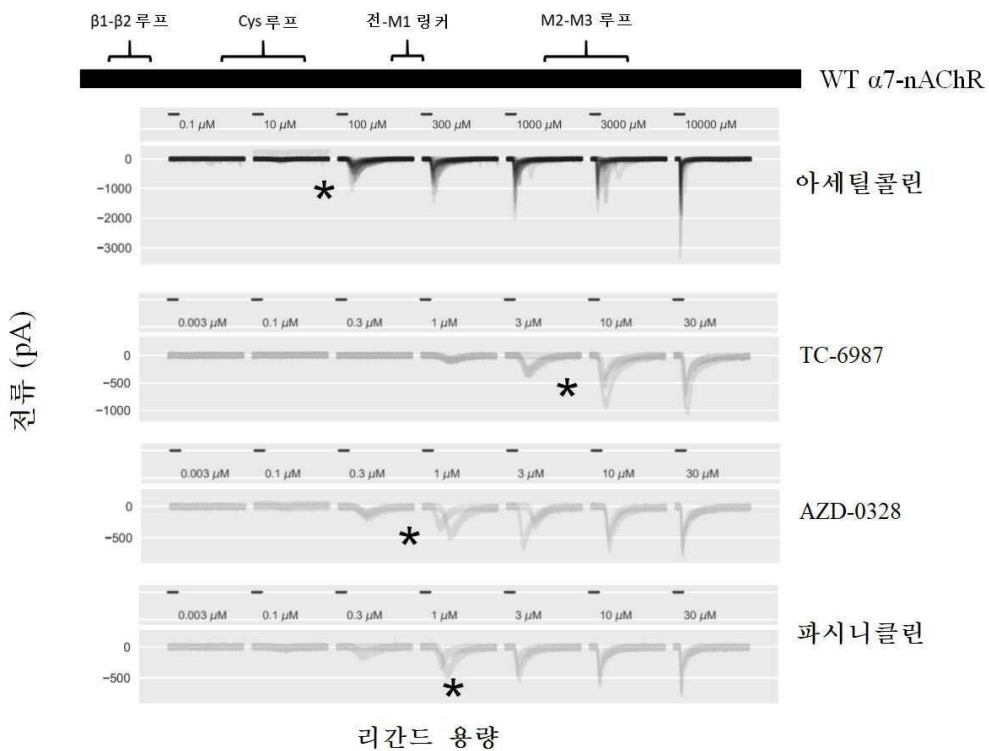
시험관내 검증 및 특성규명(뉴런에 대한 전기생리학)

생체내 검증(적절한 동물 모델에서)

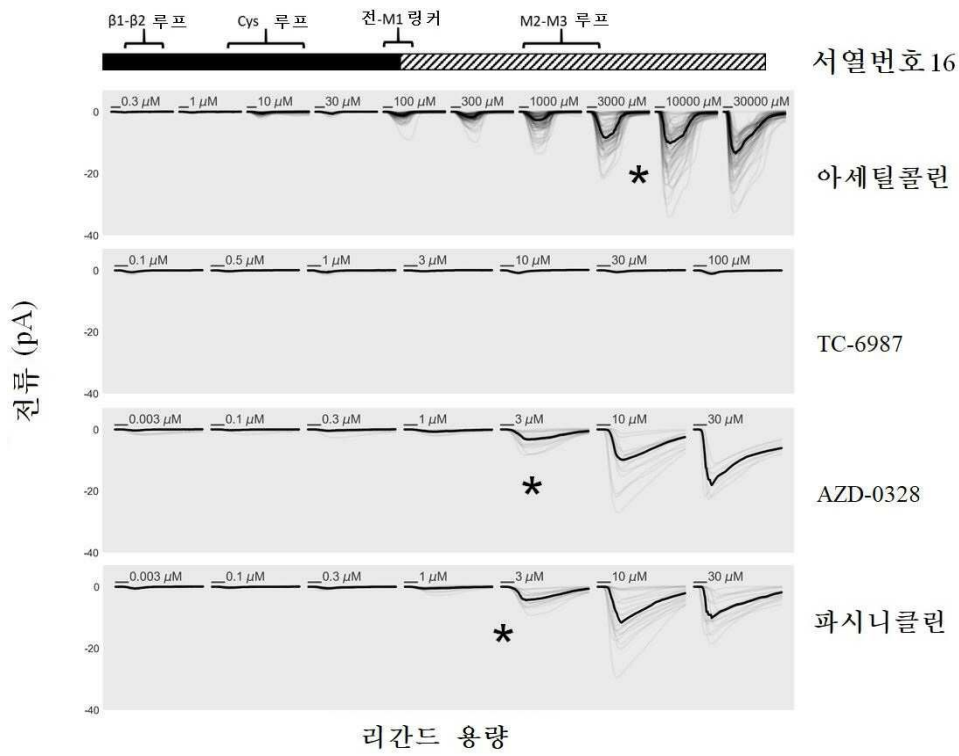
도면3



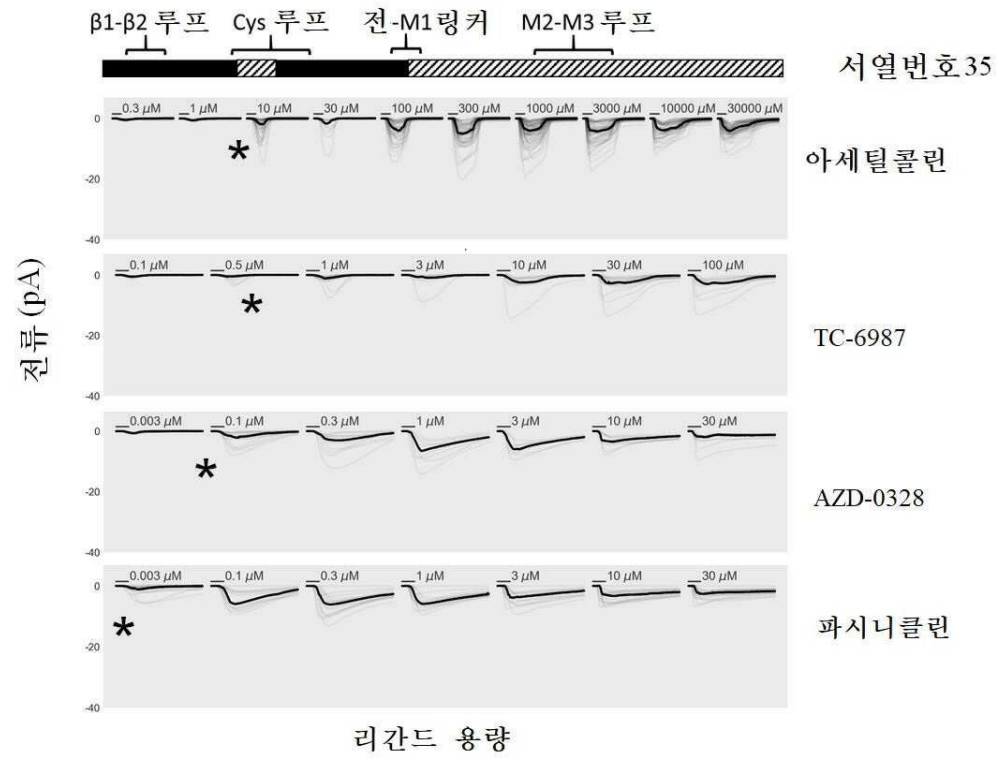
도면4a



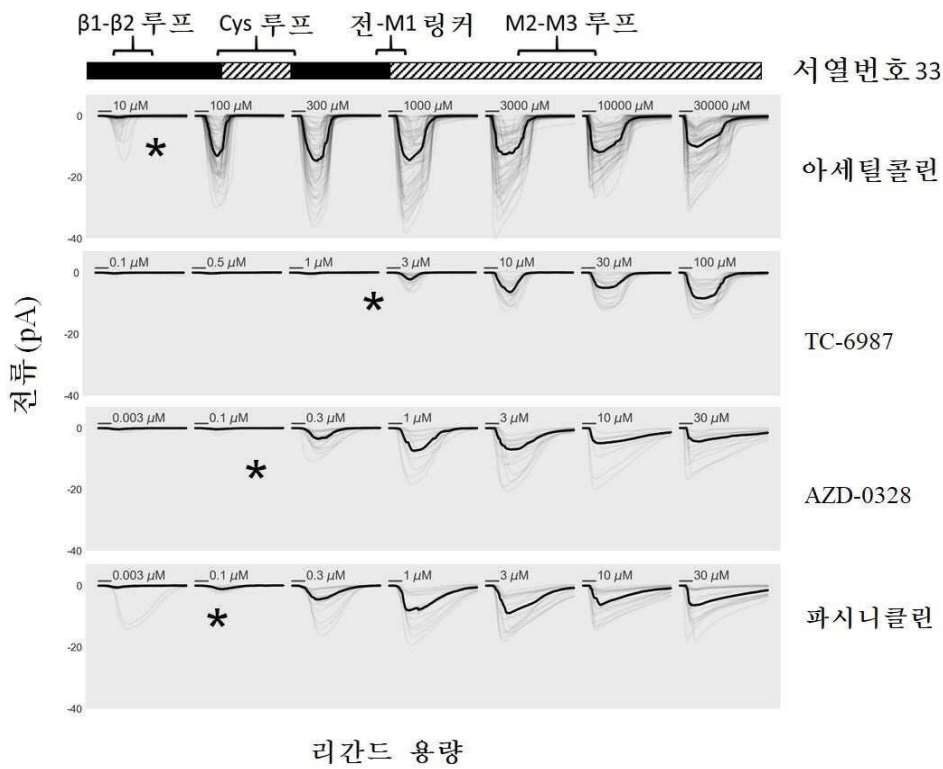
도면4b



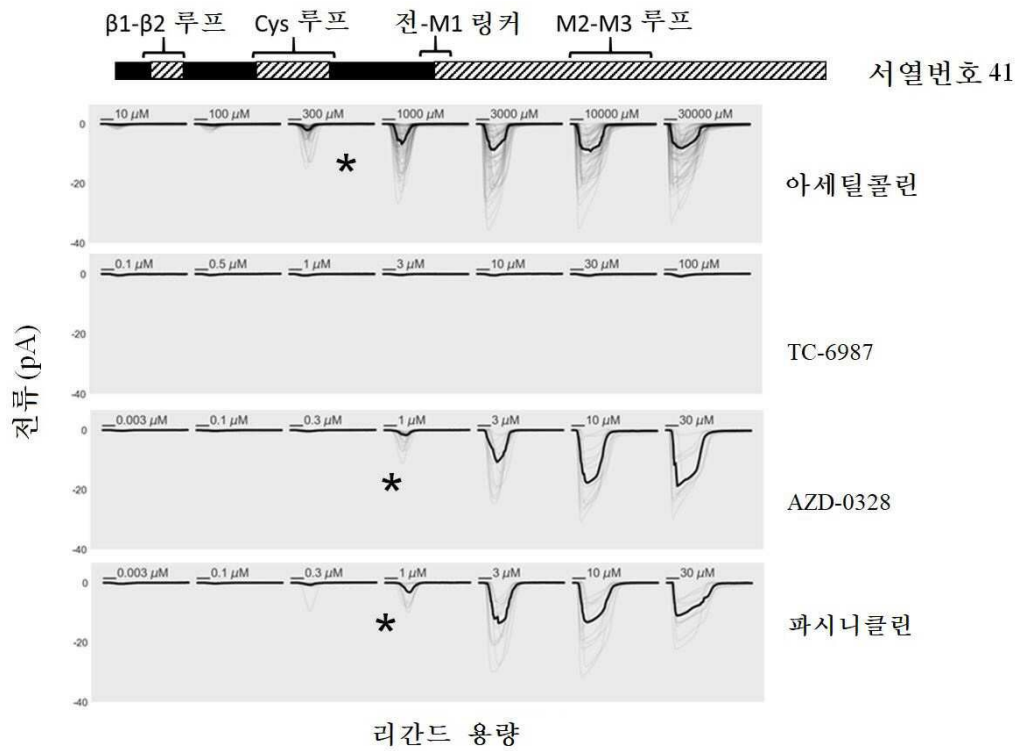
도면4c



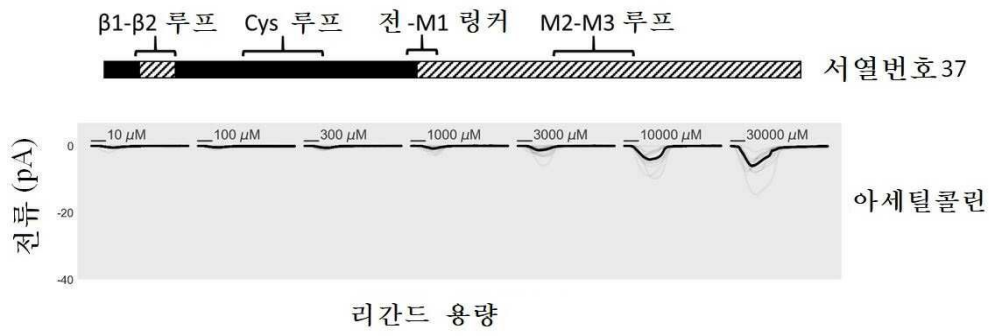
도면4d



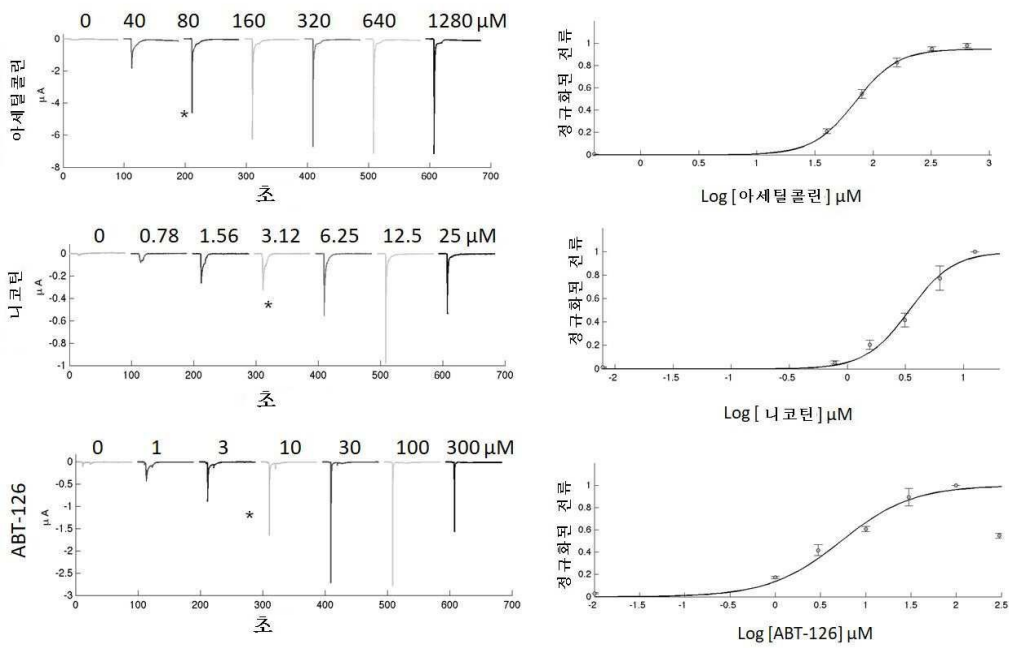
도면4e



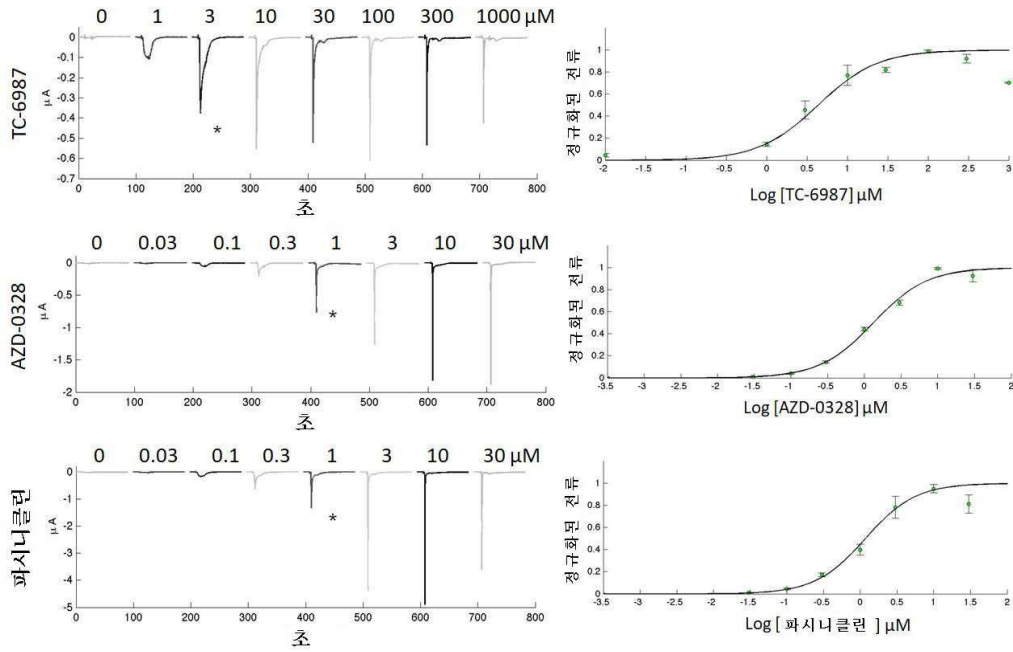
도면4f



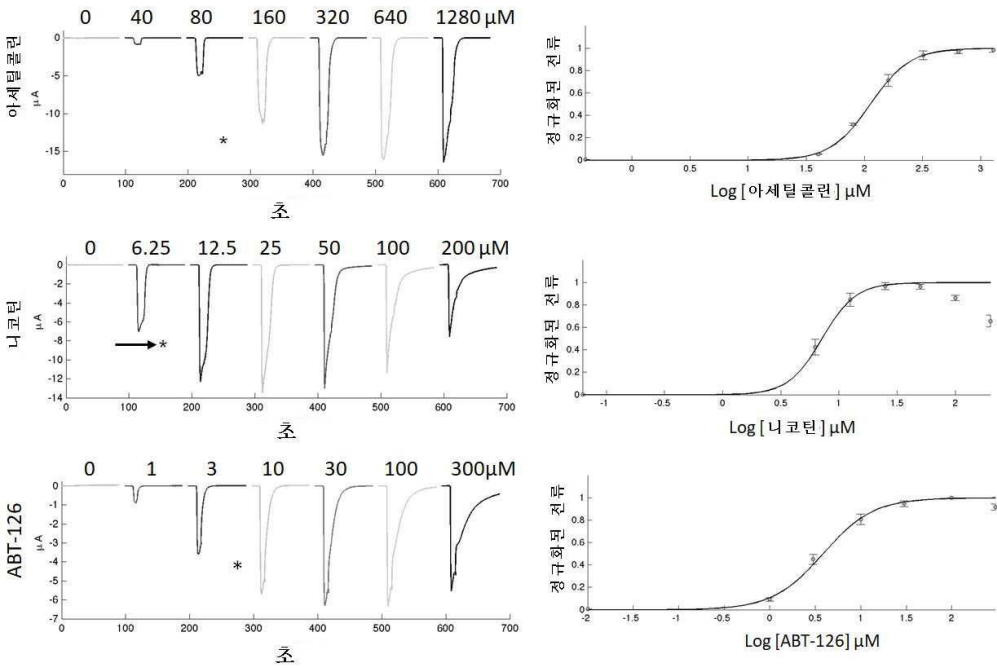
도면5a



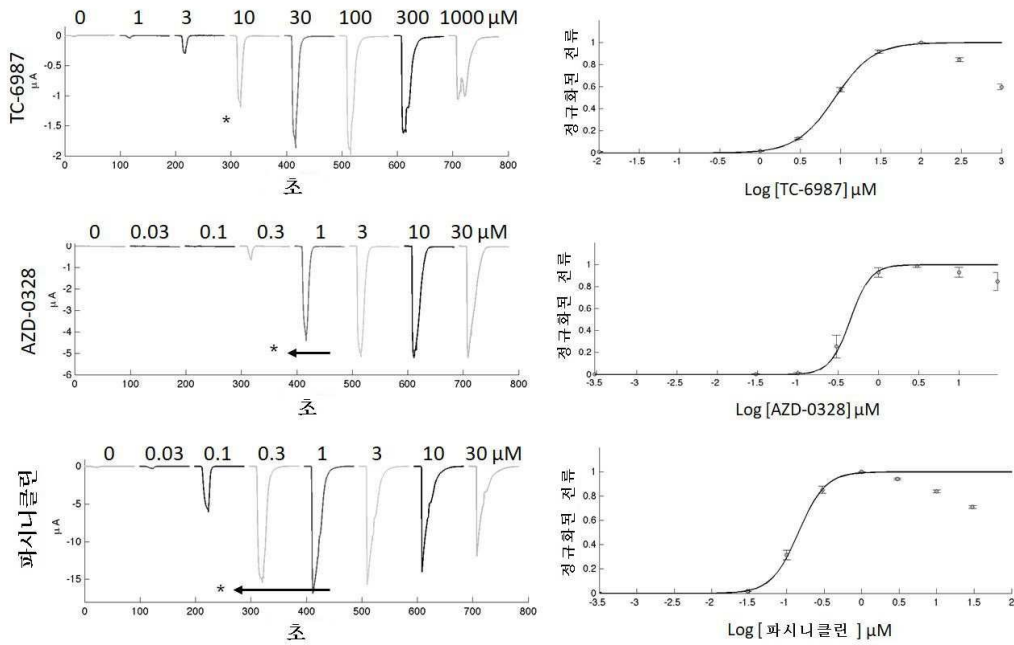
도면5b



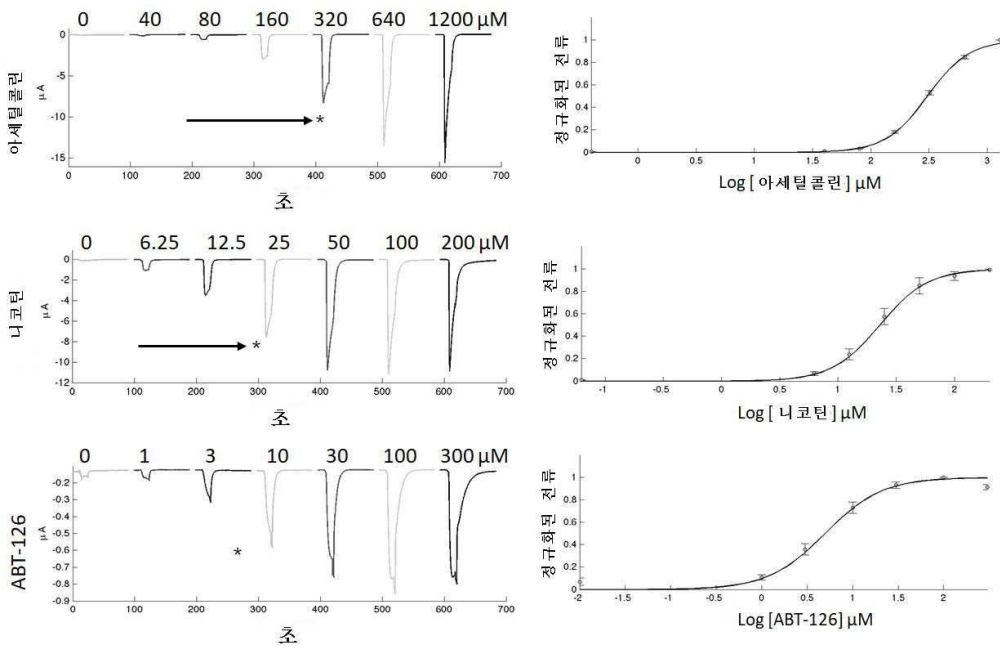
도면5c



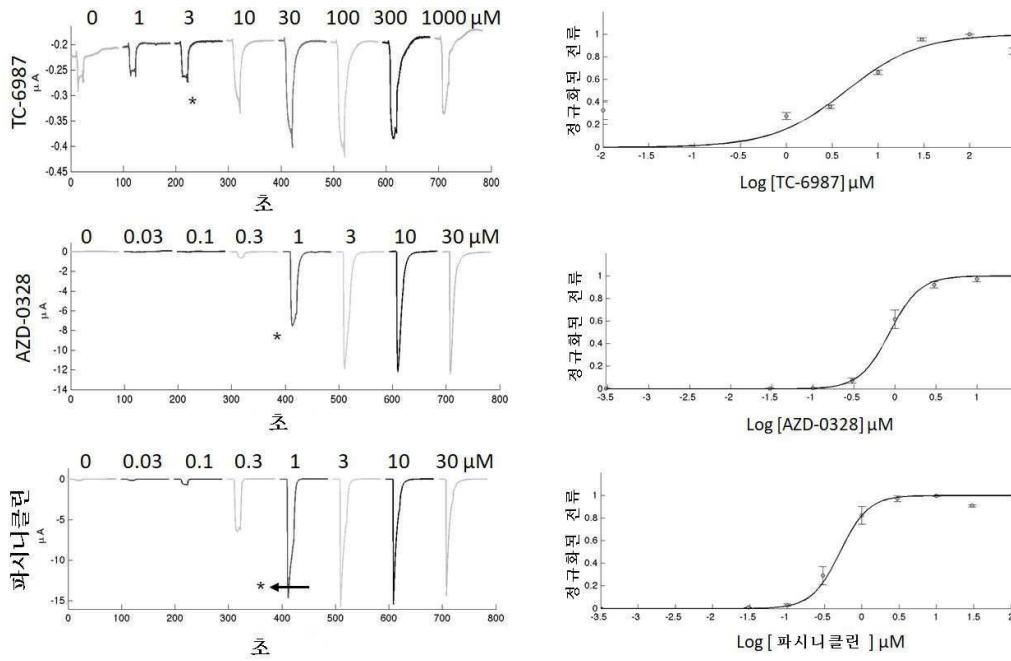
도면5d



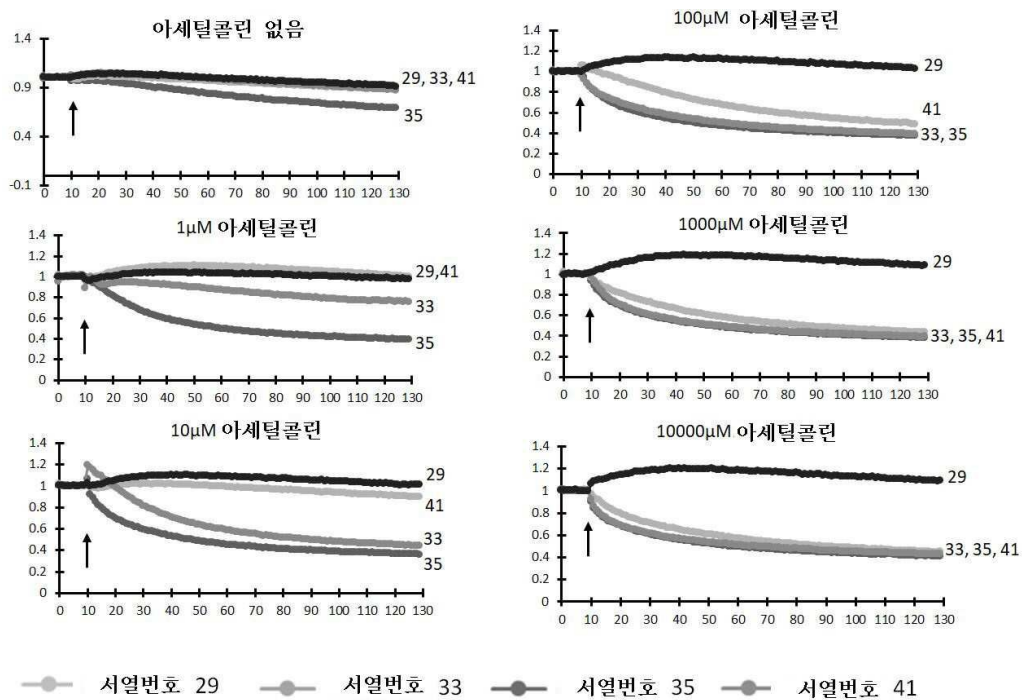
도면5e



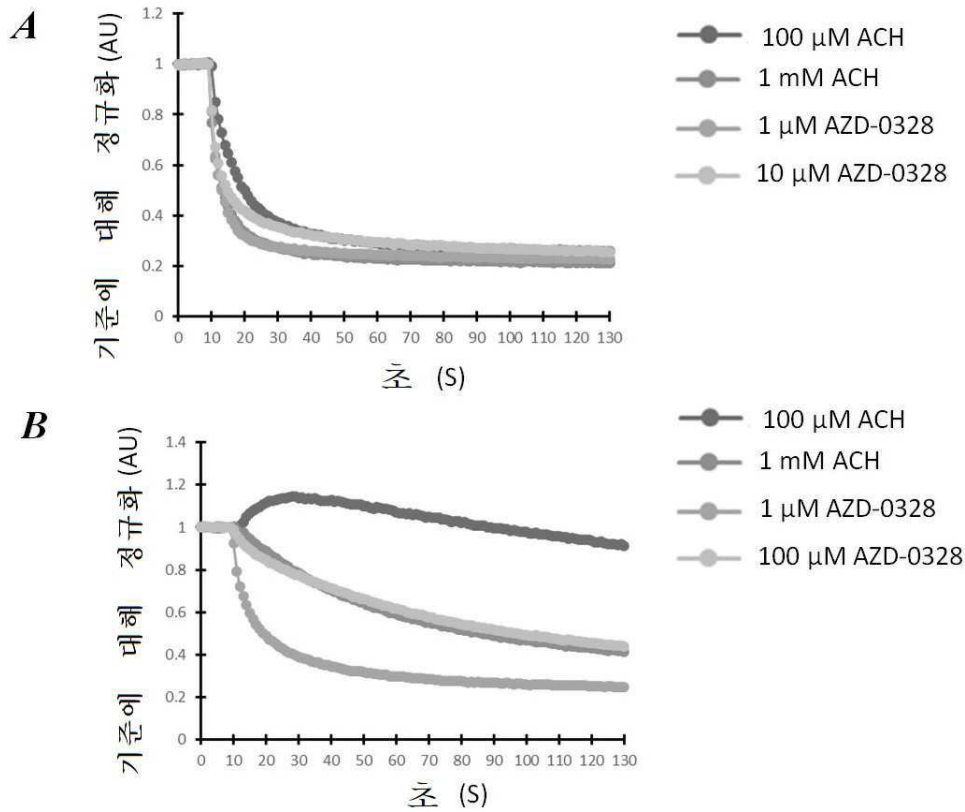
도면5f



도면6



도면7



도면8a

		아세틸콜린						AZD-0328									
		10μM	10μM	100μM	100μM	3mM	3mM	100nM	100nM	300nM	300nM	30μM	30μM	아미노산	동연변이		
서열번호 33		20.867	27.799	83.961	82.195	84.906	85.016	83.682	83.622	85.278	85.947	86.67	86.699				
	서열번호 29	-0.677	2.251	-1.564	1.481	-1.345	-0.449	1.331	1.035	-2.173	0.997	0.454	-0.358				
서열번호 33 변이체		-10.109	-16.868	-9.316	-17.342	7.934	-11.626	-7.435	-9.033	-3.826	-6.302	42.118	62.986	W77	H		
			0.529	64.362	66.647	79.862	82.309	16.825	2.633	18.687	0.958	82.459	81.578	W77	I		
			-4.968	69.209	76.773	81.68	80.549	28.245	20.458	47.912	62.32	83.205	81.73	W77	V		
			-2.552	-2.371	71.421	72.872	81.354	82.315	-2.212	-5.871	12.053	12.586	81.849	82.349	W77	F	
			8.214	11.835	80.622	79.864	82.59	14.377	-0.919	-0.803	44.279	-22.477	83.085	9.448	W77	Y	
			-0.477	-9.639	30.054	47.818	81.027	80.487	-8.074	3.076	1.03	6.925	81.782	81.331	W77	D	
				-0.796	26.175	48.527	83.191	83.373	3.239	0.189	-7.522	-6.608	84.489	83.304	W77	A	
				-1.391	-2.038	4.322	70.452	63.404	5.727	-4.173	-2.366	0.071	25.02	26.124	W77	G	
				-9.137	-14.278	-12.452	-12.853	51.313	66.657	-10.729	-10.127	-2.829	0.407	31.034	33.787	W77	Q
				-15.397	-9.602	29.004	10.615	81.259	19.256	-17.303	-16.641	-17.089	-19.56	79.482	77.939	W77	C
				-14.795	-6.996	-4.544	-2.411	74.917	25.798	-6.854	-17.865	-8.139	-20.444	82.563	81.688	W77	N
				-0.595	-3.821	2.708	17.964	79.948	78.188	-15.108	13.223	12.003	9.973	79.477	81.575	W77	E
				-4.809	-11.127	-12.713	-14.963	-12.466	-12.043	-20.583	-9.599	-18.529	-12.742	80.951	82.666	R101	I
				-16.875	-12.38	-10.484	-18.389	17.137	5.158	-6.645	-8.503	-18.758	-10.022	82.37	81.956	R101	S
				-5.956	-13.803	-21.706	-13.845	-15.378	-17.305	-19.267	-14.213	-12.33	-11.97	81.312	80.992	R101	D
				-14.579	-16.834	60.291	66.016	80.757	77.367	-9.582	-3.663	59.47	50.59	82.011	81.769	R101	F
			-6.873	-15.037	43.913	45.127	81.213	79.71	17.545	6.512	71.347	72.339	83.756	82.996	R101	C	
			-7.953	-16.688	56.949	56.968	80.138	80.09	15.458	11.252	70.4	69.734	81.519	82.955	R101	Y	
			-4.503	-14.088	57.777	58.617	81.878	77.536	-3.301	-10.064	70.559	66.357	83.254	83.936	R101	H	
			-13.732	-19.477	32.316	27.316	81.42	80.498	-5.485	-12.215	65.705	68.678	83.92	83.489	R101	K	
			-11.826	-12.408	-8.821	-13.361	79.549	76.007	-13.839	-6.514	45.632	36.809	79.816	81.824	R101	P	
			-13.857	-15.236	1.234	0.729	80.535	78.8	-14.126	-12.672	41.962	52.515	81.829	80.814	R101	Q	
			-8.131	-20.055	-10.796	-20.805	77.366	72.162	-8.611	-1.412	-2.182	-9.674	83.643	82.575	R101	G	
			-23.28	-23.213	-18.41	-23.304	79.675	73.826	-8.068	-14.53	2.197	3.376	81.467	82.694	R101	A	
			-10.284	-10.355	-4.98	-12.608	45.528	31.836	-11.292	-6.218	2.661	-15.393	81.617	81.828	R101	L	

도면8b

아세트알콜린							AZD-0328							
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이
-8.825	-5.902	-15.651	-14.863	73.106	60.353		-15.654	-11.495	-19.873	-13.362	81.388	82.216	R101	V
-12.94	-14.64	-13.293	-20.217	80.589	78.137		-15.508	-15.687	-7.671	-9.861	80.782	82.744	R101	M
-9.439	-13.859	-16.524	-16.685	80.799	78.189		-16.325	-20.258	-17.956	-20.703	83.492	82.773	R101	T
-9.788	-17.533	-20.59	-15.009	81.049	78.375		-18.045	-21.771	-15.833	-13.726	84.483	83.66	R101	N
-10.661	-13.963	-18.961	-10.812	80.387	79.493		-8.036	-12.823	9.227	18.225	83.97	83.498	R101	E
-12.041	-12.655	26.08	43.573	69.94	69.329		-0.123	4.059	50.957	62.591	75.045	74.876	W108	Y
1.632	5.295	4.878	2.558	3.235	4.624		2.171	-16.564	3.106	-2.296	31.438	29.871	Y115	L
4.79	1.529	-8.445	-9.506	28.672	13.609		-2.62	5.001	-4.496	-4.462	74.353	71.576	Y115	M
-5.235	1.01	-5.817	-3.438	-1.955	-1.577		3.753	1.007	-1.649	2.958	77.845	76.219	Y115	D
-12.41	-9.124	58.305	54.254	80.195	79.498		-5.85	3.792	-9.389	-10.658	5.074	10.509	Y115	W
-12.236	-12.669	-6.875	-7.433	74.786	76.761		-11.535	-10.853	-14.086	-13.952	51.469	50.254	Y115	G
-3.14	-3.913	2.466	-1.665	75.312	78.777		-5.226	-16.949	-7.833	-7.27	80.021	78.832	Y115	A
5.316	11.723	8.942	12.164	73.29	72.871		4.112	14.773	12.968	7.834	41.069	49.76	Y115	I
-5.125	-3.183	-0.136	-1.925	79.586	80.033		8.072	8.114	-2.068	1.45	61.366	68.801	Y115	V
-15.93	-12.145	-9.491	-4.244	48.332	40.085		-9.522	-2.566	-11.667	-9.665	-6.218	43.391	Y115	P
-8.458	-2.409	-17.987	-7.442	72.439	72.407		3.783	8.65	-5.97	-8.59	19.388	73.971	Y115	S
1.102	3.538	2.143	-0.135	61.266	57.222		7.902	13.556	3.557	3.402	-15.096	54.888	Y115	Q
-13.916	-1.356	-6.706	-7.938	9.499	8.206		2.103	4.589	-2.229	0.03	49.586	50.348	Y115	T
-12.908	-7.317	-8.935	-10.913	63.132	65.816		2.084	3.07	-4.011	-2.946	34.019	47.012	Y115	C
-6.519	-8.946	-11.913	-10.677	57.632	55.247		1.72	0.767	43.349	43.681	80.1	80.488	Y115	E
-21.809	-5.743	-9.829	-6.514	76.009	76.712		-12.875	0.19	-4.929	-1.761	79.476	80.143	Y115	H
-7.143	-6.201	-9.845	-10.034	-12.141	-11.832		-17.289	-6.651	-12.767	-11.875	43.697	60.972	T128	M
-11.633	-8.407	-12.308	-12.082	2.43	6.274		-14.564	-9.879	-8.513	-10.97	77.705	83.222	T128	R
-11.768	-9.307	68.297	61.27	83.747	82.861		-9.069	0.04	68.56	63.847	83.136	83.653	T128	S
-2.884	0.966	57.607	44.48	80.656	80.303		-2.647	-9.613	24.726	35.957	82.021	84.359	T128	E
-3.346	-7.812	-4.049	-4.488	76.746	79.387		-9.159	-11.781	-16.312	-3.687	84.228	81.674	T128	G
-6.907	-7.255	-7.511	-7.219	76.783	79.073		-8.2	-8.874	-5.865	-3.224	81.212	83.003	T128	A
-13.703	-10.415	-12.227	-14.158	6.511	51.313		-16.363	-14.933	-17.238	-14.949	51.045	56.619	T128	I
-3.459	-2.067	0.996	-5.252	72.1	78.08		-6.012	-17.155	-3.456	-6.976	81.847	82.461	T128	P
-2.828	-8.351	-3.389	-6.828	65.138	60.242		-14.677	-8.966	-4.288	-5.309	79.745	80.21	T128	F
-11.607	-8.285	-4.938	-8.718	36.198	30.949		-12.783	-10.117	-10.029	-13.61	78.39	81.821	T128	W

서열번호 33
변이체

도면8c

아세트알콜린							AZD-0328							
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이
-7.376	-6.2	-7.445	-6.898	78.692	78.855		-8.67	-10.111	-6.719	-5.846	81.528	83.29	T128	Q
-6.905	-11.483	4.531	20.583	77.041	80.124		-12.381	-11.096	19.428	3.651	80.497	81.494	T128	C
-5.893	-2.954	-12.299	-5.003	29.544	65.881		-5.32	-8.049	-6.133	-5.357	82.376	83.918	T128	N
-6.889	-5.165	-10.937	6.517	34.776	70.94		-10.404	-12.506	-7.863	-5.756	80.502	78.456	T128	Y
4.317	1.756	-3.098	-5.05	33.439	33.24		-4.236	-6.722	-4.73	-0.302	83.065	84.277	T128	D
-10.201	-8.367	-8.8	-6.515	52.63	62.062		-11.444	-11.61	-9.991	-7.084	77.925	83.024	T128	K
-17.555	-12.582	-9.386	-14.272	71.44	61.115		-16.164	-14.655	-8.821	-13.147	69.952	77.065	T128	H
-6.826	-14.226	27.188	28.546	50.674	78.435		-10.006	-18.114	51.294	48.49	77.971	80.036	T128	V
4.937	-3.387	-7.557	-2.078	-6.747	-5.618		-11.176	-7.977	-9.242	-7.453	76.182	75.769	N129	I
-6.173	-6.145	-16.274	-11.45	19.342	32.583		-12.057	-13.639	-15.999	-9.471	79.157	76.213	N129	V
-6.739	-3.799	-3.78	-5.285	4.198	-5.142		-6.818	1.319	-7.815	-3.12	81.744	81.521	N129	P
-13.436	-8.73	-12.355	-12.849	-3.451	-7.8		-15.746	-14.641	-13.372	-10.802	79.467	80.673	N129	W
-1.742	-8.271	-8.539	-15.355	-9.501	-7.284		-8.972	-15.574	-13.984	-5.593	81.143	82.407	N129	T
-5.417	-0.622	-7.572	-7.759	-4.92	-4.898		1.691	0.912	-5.45	-1.348	83.912	82.28	N129	D
-7.959	-7.555	-8.831	-12.437	-8.829	-8.041		-7.124	-4.035	-9.548	-5.056	81.111	80.732	N129	E
-9.816	-2.456	-11.107	-10.838	79.077	79.862		-15.645	-13.413	-2.576	8.006	75.764	81.989	N129	G
-6.222	-8.236	-14.23	-8.99	44.486	18.493		-14.33	-14.098	-8.165	-9.971	82.727	81.359	N129	A
-8.186	-9.87	-11.441	-14.394	79.246	72.661		-15.003	-10.2	-11.3	-2.176	80.676	82.591	N129	S
-6.738	-9.01	-10.033	-13.826	81.937	79.201		-12.981	-8.799	3.724	10.486	83.242	82.683	N129	Q
-13.043	-7.593	-11.891	-13.406	38.623	44.524		-8.525	-11.496	-14.04	-10.407	79.051	77.785	N129	C
-7.657	-3.695	-5.851	-9.004	78.557	78.77		-6.028	-7.443	18.455	30.104	82.477	80.595	N129	Y
-11.215	-9.001	-4.666	-11.226	81.383	78.104		-12.409	-12.835	35.455	46.328	77.247	80.185	N129	F
-14.438	-7.153	-7.615	-8.016	78.816	73.637		-12.837	-9.703	31.806	52.417	76.652	82.348	N129	M
-9.048	-5.826	-8.224	-2.833	79.845	80.178		-6.654	-6.457	32.769	37.231	80.144	80.964	N129	R
-5.828	-7.079	-2.95	-7.323	82.378	81.201		-0.289	-4.373	60.981	64.424	81.351	81.331	N129	H
-11.839	-10.777	12.365	31.95	78.879	78.557		-16.847	-3.981	56.871	57.395	-12.332	80.365	N129	L
4.408	5.704	0.795	4.774	25.856	27.313		-1.506	-4.046	10.218	10.069	30.433	33.789	L131	P
-9.899	0.435	-7.862	-3.572	45.363	51.016		17.766	13.983	52.577	44.526	82.08	81.721	L131	T

서열번호 33
변이체

도면8d

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM	100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이			
3.932	-10.341	-5.595	-7.042	80.597	80.055	-1.688	-8.127	32.709	26.851	81.875	81.827	L131	K			
2.379	1.696	2.398	-1.491	79.379	80.219	5.254	7.158	69.07	70.106	81.521	80.929	L131	R			
12.472	-10.451	71.302	73.095	82.709	82.229	-0.309	-9.028	-3.135	2.668	83.426	82.476	L141	G			
-10.377	-0.575	52.167	49.38	80.901	82.329	-2.911	7.115	-3.583	-3.353	82.723	82.282	L141	A			
7.328	5.513	73.655	77.204	79.965	79.102	-1.251	-0.232	0.45	2.832	80.689	79.84	L141	V			
5.194	6.614	41.961	41.46	80.214	80.386	-0.399	4.193	-1.456	4.205	79.789	80.895	L141	D			
20.499	-13.707	70.495	70.979	81.782	80.44	10.498	9.299	16.452	21.59	82.765	82.498	L141	H			
28.116	18.795	71.594	72.816	75.322	78.111	4.174	19.335	32.257	15.705	79.792	79.401	L141	C			
5.304	5.719	79.596	80.376	80.594	80.029	27.504	15.49	77.19	73.334	80.978	82.367	L141	Y			
-0.374	1.72	-6.884	-8.38	60.747	63.195	-10.065	-5.633	-9.605	-6.578	76.084	76.943	L141	P			
-13.924	-11.588	6.411	-0.213	77.955	78.762	-8.358	-8.358	-10.409	-2.466	81.968	81.392	L141	W			
-13.209	-12.992	-13.604	-18.938	46.621	39.269	-16.483	-16.724	-15.419	-9.807	45.375	47.641	L141	S			
2.017	-12.679	17.358	-0.65	81.34	81.613	-3.991	-1.374	-0.73	-2.371	82.913	83.961	L141	Q			
6.581	6.482	10.205	3.21	79.956	80.925	2.068	8.839	3.963	2.189	81.251	83.493	L141	T			
12.471	13.496	21.159	28.979	82.98	81.339	4.904	3.578	3.975	8.158	81.998	83.118	L141	N			
13.864	-9.402	-2.934	3.539	50.15	55.995	14.257	5.757	11.061	-1.698	59.531	73.837	L141	R			
-5.771	-5.291	12.381	33.648	79.734	79.042	-0.726	-5.077	-8.476	-0.473	72.949	79.035	L141	E			
11.192	3.201	81.67	82.165	84.173	84.335	38.957	25.629	82.631	81.522	84.726	86.287	S170	H			
-22.905	-15.989	-16.504	-21.682	33.502	41.022	-14.593	-13.683	-14.843	-13.437	57.972	63.768	S170	W			
3.275	-10.445	-0.667	1.713	84.151	84.048	-1.687	-2.608	7.34	10.4	85.172	85.579	S170	Q			
-5.373	-11.513	-9.324	-13.032	80.599	80.6	-7.494	-7.053	46.106	40.447	82.297	83.098	S170	E			
5.221	-4.603	16.953	28.141	81.696	80.905	4.698	-1.749	11.789	17.696	84.217	84.869	S170	Y			
-21.289	-14.111	-10.647	-7.801	-7.501	-8.948	-8.018	-7.181	-12.816	-11.102	51.421	38.587	W171	Y			
-12.279	-7.063	10.489	10.903	85.228	85.082	-4.409	2.36	-3.487	1.758	84.512	85.125	W171	G			
-14.827	-9.137	-19.264	16.722	82.573	82.967	-6.179	-3.142	-8.695	-2.587	82.237	83.738	W171	A			
-3.108	4.167	6.535	2.325	82.288	82.436	1.134	7.727	4.21	4.561	81.279	82.561	W171	P			
-0.578	-7.464	-13.86	-10.027	51.093	45.709	-0.52	-0.832	-0.806	2.59	86.093	86.072	W171	F			
-20.222	-20.614	-21.619	-17.539	80.035	80.976	-8.675	-8.674	-15.45	-10.811	42.831	47.109	W171	S			

서열번호 33
변이체

도면8e

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM	100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	Amino acid	Mutation			
-20.939	-25.862	-23.938	-21.543	79.918	81.003	-19.482	-17.857	-21.478	-16.947	35.504	38.667	W171	C			
-13.758	-15.721	-14.94	-15.098	34.261	44.392	-10.403	-6.673	-9.925	-9.983	59.182	63.933	W171	H			
-1.307	-6.802	-11.454	-11.715	-6.212	-6.254	-14.425	-12.176	-11.326	-10.537	72.943	73.637	S172	F			
5.548	6.225	-0.929	3.712	4.57	7.005	-3.692	-3.559	-2.051	1.367	79.286	78.323	S172	Y			
-9.919	-0.322	-6.855	-4.777	3.286	10.219	1.693	-5.194	-4.127	-6.311	82.668	82.563	S172	R			
-12.007	36.799	50.377	59.762	68.877	72.356	-15.691	-14.212	17.526	23.618	74.852	78.018	S172	C			
-22.746	5.089	67.716	74.271	81.923	81.871	-5.341	5.689	73.152	-9.564	83.974	84.51	S172	I			
-2.225	25.749	43.459	47.542	83.184	83.114	10.982	5.745	74.331	73.246	85.281	84.203	S172	M			
-20.96	10.264	-0.529	10.642	79.643	79.464	-5.869	1.287	11.204	6.12	83.322	82.381	S172	L			
4.31	-2.372	-7.45	-8.386	65.421	64.811	-7.972	-7.39	-4.425	-2.616	85.528	85.347	S172	Q			
-5.542	-7.129	-14.167	-11.096	28.796	34.956	-6.669	-8.587	-7.332	-7.564	78.607	81.661	S172	N			
-8.731	-4.849	7.136	23.677	80.431	81.704	-9.804	-11.829	23.113	25.875	81.05	82.432	S172	H			
8.684	3.132	1.897	6.645	83.475	83.485	-3.573	-0.184	45.957	32.617	83.364	83.802	S172	G			
-5.709	0.559	4.65	-1.753	81.936	81.749	9.206	6.452	70.477	65.69	84.963	84.163	S172	K			
-3.309	-1.338	10.076	-12.442	39.576	51.528	1.958	5.27	13.825	23.388	54.864	54.803	Y210	A			
-2.266	1.69	-0.979	5.626	81.399	81.815	6.027	3.222	3.042	8.19	82.945	82.043	Y210	F			
-10.515	0.332	21.567	13.032	80.677	82.43	-0.902	-5.949	-2.575	-0.553	81.97	82.518	Y210	W			
-11.503	-14.064	-13.546	-2.495	6.126	2.213	-4.725	2.181	-3.915	-0.221	52.008	-6.229	C212	A			
-7.332	-10.326	-12.268	-3.379	17.006	18.174	-7.04	-1.566	-5.734	-6.012	72.38	57.485	C212	L			
6.585	5.589	-0.008	-3.116	47.291	43.523	-1.325	0.722	3.167	-1.544	7.169	15.025	C212	F			
12.279	1.411	9.231	2.788	74.213	61.215	6.167	-0.048	3.801	1.553	15.61	18.506	C212	Y			
12.564	3.313	4.314	-0.473	78.52	64.032	-0.76	2.674	4.247	5.181	14.065	18.231	C212	K			
8.903	7.462	9.323	8.482	49.054	33.678	4.729	6.543	8.051	5.228	10.621	6.259	C212	H			
4.621	5.49	-0.583	3.482	70.361	73.411	3.563	2.69	1.302	-0.457	80.994	82.462	C212	I			
10.329	10.394	8.619	12.291	59.368	61.671	4.763	9.847	10.472	3.556	81.723	82.175	C212	V			
1.907	8.11	2.19	5.586	80.798	82.405	2.532	4.375	3.642	3.551	29.117	40.462	C212	P			
5.72	7.741	4.457	-0.297	49.271	57.819	2.202	4.165	2.696	0.534	56.807	57.796	C212	M			
-0.117	0.65	0.512	2.504	78.365	78.428	-1.09	0.908	-0.793	4.377	28.376	28.168	C212	W			

서열번호 33
변이체

도면8f

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이		
5.409	2.45	1.03	-2.647	82.106	80.823		-3.801	-2.106	-0.829	-1.665	81.552	80.25	C212	R		
4.368	3.2	0.572	-2.178	58.541	47.818		-5.339	-4.771	-3.892	-2.109	9.586	10.13	C213	M		
-3.416	-5.101	-4.998	-5.53	34.524	32.807		-6.779	-3.835	-7.064	-9.753	37.308	35.2	C213	A		
-1.892	-4.111	-3.661	-3.069	78.843	79		-2.647	-2.928	-2.169	-3.845	29.477	31.802	C213	L		
-6.662	-3.921	-0.819	-2.555	62.32	40.203		-6.345	-1.448	-4.341	-4.95	50.598	45.819	C213	I		
2.662	4.034	2.682	-3.012	70.628	65.41		5.357	9.696	3.692	-0.129	50.634	54.23	C213	V		
1.127	-2.39	-5.781	-4.103	31.507	21.781		0.213	3.285	4.52	1.009	40.828	48.876	C213	P		
11.643	11.455	7.928	4.849	76.326	74.619		1.938	3.638	7.285	5.183	78.054	77.837	C213	F		
7.54	-1.394	0.407	0.747	49.088	48.747		-6.157	-3.88	-4	-3.449	59.292	65.984	C213	W		
7.671	10.741	69.427	70.863	81.904	82.608		0.89	2.036	28.977	31.636	83.335	82.88	Y217	F		
12.817	7.866	8.275	5.87	37.682	41.026		-1.003	4.238	5.748	0.567	5.531	12.718	Y217	T		
8.228	-7.419	-9.12	3.641	72.373	70.304		3.415	3.103	-2.895	-2.679	51.291	43.961	Y217	A		
6.088	4.604	1.205	5.032	76.484	76.894		4.414	5.839	-0.973	1.777	61.923	57.385	Y217	I		
8.495	14.772	6.807	3.753	80.344	80.133		2.083	1.164	3.446	3.511	43.599	38.8	Y217	V		
8.238	9.36	8.037	3.462	27.066	33.39		1.892	6.5	2.421	6.416	24.222	15.967	Y217	M		
5.859	8.696	33.675	28.62	80.358	81.861		-0.294	-2.989	12.479	12.674	83.022	81.68	Y217	W		
11.601	7.001	10.467	11.496	79.492	77.41		2.128	-5.95	-4.137	3.289	78.35	78.003	Y217	S		
7.612	6.716	7.242	6.051	28.765	29.987		9.808	1.758	7.648	3.035	22.721	23.829	Y217	Q		
10.391	7.529	4.732	-1.185	51.361	49.396		-5.658	-4.647	-5.358	-1.753	41.694	28.869	Y217	C		
15.492	1.445	-1.907	0.818	20.874	18.309		5.052	3.559	4.285	7.826	31.33	30.912	Y217	H		

도면8g

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이		
18.703	18.97	81.891	82.035	81.984	82.18		79.11	80.725	82.833	82.922	82.18	83.095				
-1.96	-4.029	-5.912	-5.452	-3.158	-3.083		-5.328	-8.836	-8.052	-8.729	-7.297	-1.287				
19.297	31.263	80.445	78.98	81.833	83.6		-8.336	-11.601	-8.988	-7.23	79.324	78.051	W77	M		
-12.41	-9.124	58.305	54.254	80.195	79.498		-5.85	3.792	-9.389	-10.658	5.074	10.509	Y115	W		
79.15	82.304	83.652	83.304	83.959	84.006		41.68	18.698	81.264	82.772	85.117	85.072	S172	T		
-12.007	36.799	50.377	59.762	68.877	72.356		-15.691	-14.212	17.526	23.618	74.852	78.018	S172	C		

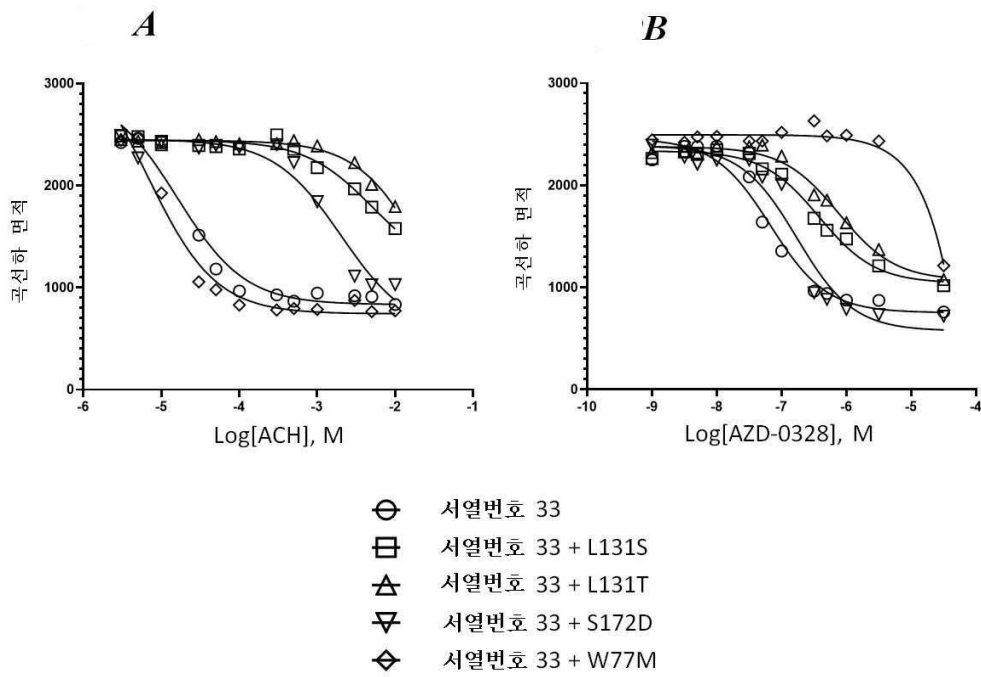
도면8h

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이		
13.204	23.203	82.696	81.283	81.398	82.007		80.057	81.338	83.297	83.504	84.186	83.746				
-8.106	-4.64	-9.956	-5.991	-6.095	-8.164		-10.757	-7.938	-11.334	-9.065	-8.169	-12.079				
-7.125	-5.087	-7.962	-5.152	69.506	68.092		42.897	44.726	69.607	71.078	81.283	81.589	L131	S		
-9.899	0.435	-7.862	-3.572	45.363	51.016		17.766	13.983	52.577	44.526	82.08	81.721	L131	T		
6.046	7.12	22.528	16.578	80.094	79.979		67.254	64.242	78.931	76.476	80.4	77.789	L131	D		
1.864	-0.236	3.597	4.693	80.257	80.972		68.241	68.78	81.873	82.722	83.35	81.859	S172	D		

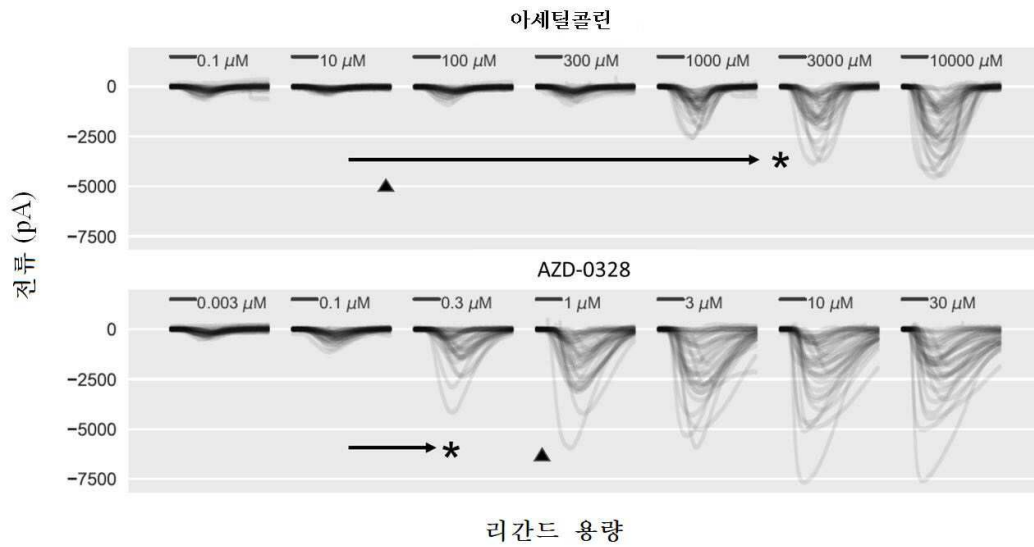
도면8i

아세틸콜린										AZD-0328						
10uM	10uM	100uM	100uM	3mM	3mM		100nM	100nM	300nM	300nM	30uM	30uM	아미노산	돌연변이		
	-13.596	80.556	80.523	81.799	80.029		75.809	75.088	82.168	81.273	83.97	83.211				
	-18.801	-22.353	-23.161	-20.184	-19.912		-22.549	-15.956	-18.27	-18.188	-17.063	-17.736				
29.328	35.169	81.623	82.767	82.878	82.463		82.163	82.898	83.029	83.098	83.65	82.227	L131	N		
59.079	57.417	79.356	79.527	78.495	79.237		19.003	20.434	72.357	74.723	81.51	81.243	L141	I		
79.595	81.334	82.86	82.253	84.309	83.801		84.1	83.563	84.37	84.565	85.579	85.546	S170	G		
86.289	85.498	85.634	85.68	86.964	86.621		87.396	86.693	86.375	87.03	87.04	87.288	S170	A		
79.31	79.149	85.179	85.128	86.678	86.833		87.243	87.155	87.221	87.606	87.671	88.67	S170	L		
42.719	46.386	85.087	85.489	86.933	87.384		85.519	85.659	86.888	87.225	87.608	87.044	S170	I		
80.341	82.597	86.065	86.782	86.837	86.98		87.615	87.644	87.638	88.236	87.833	88.337	S170	V		
81.821	83.297	83.852	84.919	84.577	85.1		86.2	87.299	86.899	86.969	87.041	87.829	S170	P		
77.673	79.674	84.842	85.579	85.675	86.858		86.566	86.718	86.732	87.727	87.617	87.147	S170	F		
80.334	82.543	85.589	85.193	85.794	85.725		86.701	86.959	86.215	87.198	86.913	87.274	S170	M		
85.772	85.39	85.684	85.662	85.976	86.239		86.818	86.968	87.121	87.714	87.103	87.795	S170	T		
80.759	82.478	81.442	80.404	81.512	82.123		82.889	83.342	82.978	83.479	82.304	83.38	S170	C		
79.15	82.304	83.652	83.304	83.959	84.006		41.68	18.698	81.264	82.772	85.117	85.072	S172	T		
	72.897	80.133	77.691	81.896	73.77		65.288	69.259	81.668	80.95	81.747	81.69	S188	I		
	78.593	79.868	80.592	82.473	83.909		67.308	70.233	82.566	83.837	83.346	83.613	S188	V		
	69.29	77.428	76.634	81.094	82.422		14.512	16.915	80.882	80.255	83.183	82.017	S188	P		
	74.25	79.108	80.983	81.949	82.07		46.631	51.182	82.164	83.37	83.449	81.4	S188	F		
	76.013	81.415	81.074	83.443	82.197		57.026	62.061	82.63	83.162	83.935	82.769	S188	M		
	70.38	75.335	76.721	79.045	75.88		14.642	17.576	74.121	75.832	81.009	79.91	S188	W		
	77.141	81.645	82.152	83.9	82.719		56.645	58.266	81.206	82.651	84.783	84.585	S188	Q		
30.728	80.036	82.285	81.624	83.26	83.341		79.091	78.134	83.353	83.775	84.586	82.494	S188	T		

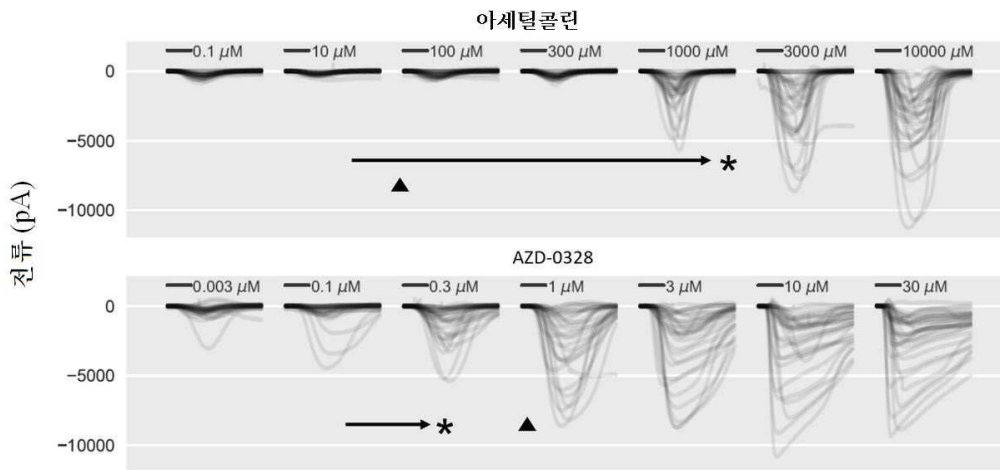
도면9



도면10a

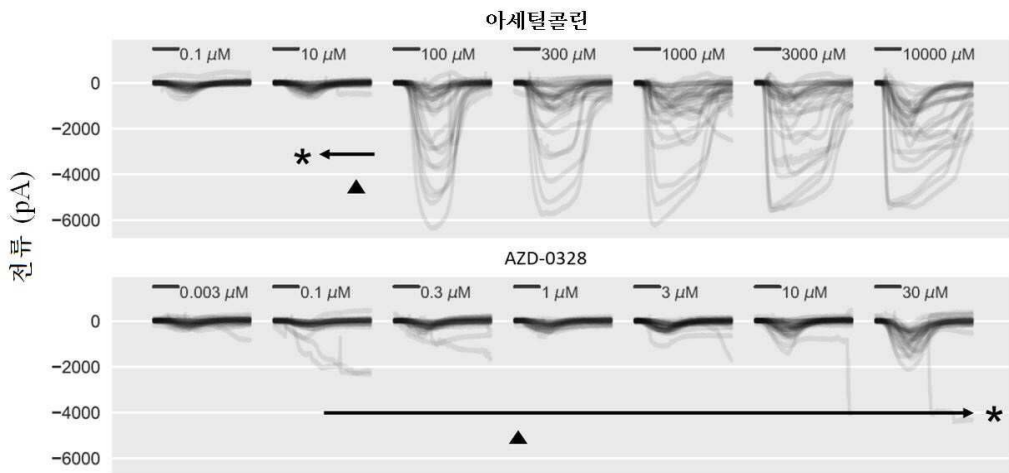


도면10b



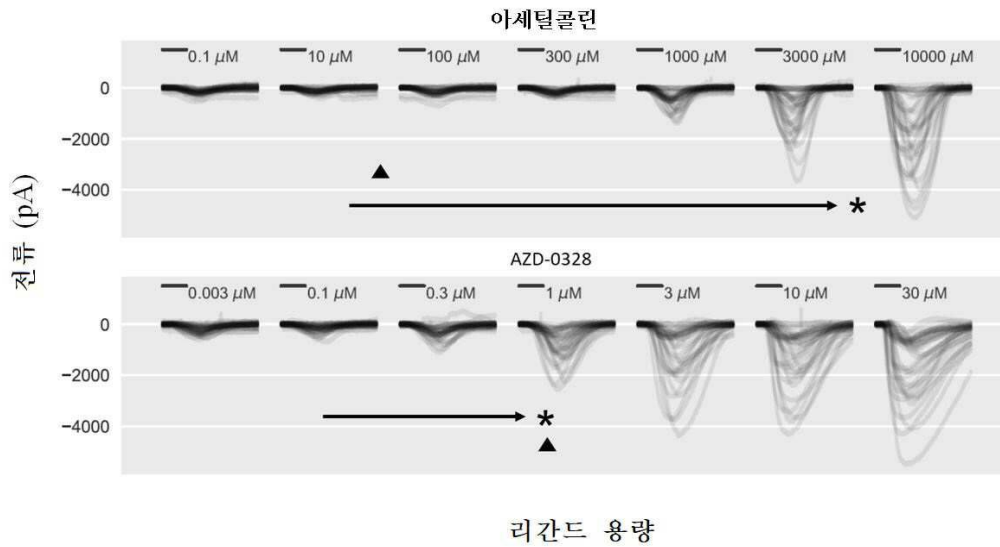
리간드 용량

도면10c



리간드 용량

도면10d



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Coda Biotherapeutics, Inc.
 Greenberg, Kenneth P.
 Keifer, Orion Jr.
 Makinson, Stefanie
 Lau, Anthony

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR NEUROLOGICAL DISEASES

<130> SWCH-012/04WO 322917-2117

<150> 62/590,911

<151> 2017-11-27

<150> 62/659,911

<151> 2018-04-19

<160> 57

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1835

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

caacagacac gctggagttt aacaaacage aatactcttc gcgctcctga aaagcaggtc

60

tggacgctct ccgtgggtgct gaaacgcctc gcagccgccg ctgtccgtgg tatctacgac 120
 ccctcgcctc caatttcccc tggggtcttc cctccgcgcc cctgttcccc gcctcccttt 180
 aacatctgga ttattttttg caatagcgct ttctggtttt gtaagtgccca atttgaacaa 240
 tttttgcccc cataactcgt ggactacaaa gcacaaggac ctgaaaaatg tacagcttca 300
 atactcttcg actctacctt tgggagacca ttgtattctt cagccttgct gcttctaagg 360
 aggctgaagc tgcctcctcc gcaccaagc ctatgtcacc ctcggatttc ctggataagc 420
 taatggggag aacctccgga tatgatgccca ggatcaggcc caattttaa ggtccccag 480

tgaacgtgag ctgcaacatt ttcatcaaca gctttggttc cattgctgag acaacctg 540
 actatagggt caacatcttc ctgcggcagc aatggaacga cccccgctg gcctataatg 600
 aataccctga cgactctctg gacctggacc catccatgct ggactccatc tggaaacctg 660
 acctgttctt tgccaacgag aagggggccc acttccatga gatcaccaca gacaacaaat 720
 tgctaaggat ctcccgaat gggaatgtcc tctacagcat cagaatcacc ctgacactgg 780
 cctgccccat ggacttgaag aatttccca tggatgtcca gacatgtatc atgcaactgg 840
 aaagctttgg atatacgatg aatgacctca tctttgagtg gcaggaacag ggagccgtgc 900

aggtagcaga tggactaact ctgccccagt ttatctttaa ggaagagaag gacttgagat 960
 actgcaccaa gcactacaac acaggtaaat tcacctgcat tgaggccccg ttccacctgg 1020
 agcggcagat gggttactac ctgattcaga tgtatatcc cagcctgctc attgtcatec 1080
 tctcatggat ctcttctgg atcaacatgg atgctgcacc tgctcgtgtg gcctaggca 1140
 tcaccactgt gctcaccatg accaccaga gctccggctc tcgagcatct ctgccaagg 1200
 tgtcctatgt gaaagccatt gacatttga tggcagtttg cctgctcttt gtgttctcag 1260
 ccctattaga atatgctgcc gttactttg tgtctcggca acataaggag ctgctccgat 1320

tcaggaggaa gcggagacat cacaagagcc ccatgtttaa tctattccag gaggatgaag 1380
 ctggagaagg ccgctttaac ttctctgcct atgggatggg cccagcctgt ctacaggcca 1440
 aggatggcat ctcagtcaag ggcgccaaca acagtaacac caccaacccc cctcctgcac 1500
 catctaagtc ccagaggag atgcgaaaac tcttcatcca gagggccaag aagatcgaca 1560
 aaatatcccg cattggcttc cccatggcct tctcatttt caacatgttc tactggatca 1620
 tctacaagat tgtccgtaga gaggacgtcc acaaccagtg aagggtctga aaggttgggg 1680
 gaggctggga gaggggaacg tgggaatagc acaggaatct gagagactaa ggaagagaag 1740

gggaacggag ggagggggca cacttacaca actctctctg caafatgtgc aatagcaaaa 1800
 tgcagtgatg catgaatttt aaaaaaaaaa aaaaa 1835

<210> 2

<211> 457

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

<211> 3356

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

```

tccttaaagg cgcgcgagcc gagcggcgag gtgcctctgt ggccgcaggc gcaggcccgg      60
gcgacagccg agacgtggag cgcgccggct cgtcgcagct ccgggactca acatgcgctg      120
ctcgccggga ggcgctctggc tggcgtggc cgcgtcgctc ctgcacgtgt ccctgcaagg      180

cgagtccag aggaagcttt acaaggagct ggtcaagaac tacaatccct tggagaggcc      240
cgtggccaat gactcgcaac cactcaccgt ctacttctcc ctgagcctcc tgcagatcat      300
ggacgtggat gagaagaacc aagttttaac caccaacatt tggctgcaaa tgtcttggac      360
agatcactat ttacagtgga atgtgtcaga atatccaggg gtgaagactg ttcgtttccc      420
agatggccag atttggaaac cagacattct tctctataac agtgcctgat agcgctttga      480
cgccacattc cacactaacg tgttggtgaa ttcttctggg cattgccagt acctgcctcc      540
aggcatattc aagagttcct gctacatcga tftacgctgg tttccctttg atgtgcagca      600

ctgcaaaactg aagtttgggt cctggtctta cggaggctgg tccttggatc tgcagatgca      660
ggaggcagat atcagtggct atatcccaa tggagaatgg gacctagtgg gaatccccgg      720
caagaggagt gaaaggttct atgagtgtc caaagagccc taccctgatg tcaccttcac      780
agtgaccatg cgccgcagga cgctctacta tggcctcaac ctgctgatcc cctgtgtgct      840
catctccgcc ctgcacctgc tgggtttcct gcttctgca gattccgggg agaagatttc      900
cctggggata acagtcttac tctctcttac cgtcttcatg ctgctcgtgg ctgagatcat      960
gcccccaaca tccgattcgg taccattgat agcccagtac ttcgccagca ccatgatcat      1020

cgtgggcctc tcggtggtgg tgacagtgat cgtgctgcag taccaccacc acgaccccga      1080
cgggggcaag atgcccaagt ggaccagagt catccttctg aactggtgcg cgtggttctt      1140
gcgaatgaag aggccccggg aggacaaggt gcgccccgcc tgccagcaca agcagcggcg      1200
ctgcagcctg gccagtgtgg agatgagcgc cgtggcgccc ccgcccgcca gcaacgggaa      1260
cctgctgtac atcggcttcc gcggcctgga cggcgtgcac tgtgtcccga cccccgactc      1320
tgggtagtgg tgtggccgca tggcctgctc ccccacgcac gatgagcacc tctgcacgg      1380
cgggcaacce cccgaggggg acccggactt ggccaagatc ctggaggagg tccgctacat      1440

tgccaaccgc ttccgctgcc aggacgaaag cgaggcggtc tgcagcgagt ggaagttcgc      1500
cgctgtgtg gtggaccgcc tgtgctcat ggccttctcg gtcttcaaca tcatctgcac      1560
catcggcatc ctgatgtcgg ctccaactt cgtggaggcc gtgtccaaag actttgcgta      1620

```

accacgcctg gtictgtaca tgtggaaaac tcacagatgg gcaaggcctt tggcttggcg 1680
 agatttgggg gtgctaacc aggacagcat tacacgccac aactccagtg ttccttctg 1740
 gctgtcagtc gtgttgctta cggtttcttt gttacttttag gtagtagaat ctcagcactt 1800
 tgtttcatat ttcagatgg gctgatagat atccttggca catccgtacc atcggtcagc 1860

agggccactg agtagtcatt ttgcccatta gccactgcc tggaaagccc ttcggagagc 1920
 tccccatggc tectcaccac cgagacagtt ggttttgcac gtctgcatga aggtctacct 1980
 gaaaattcaa catttgcttt ttgcttgtgt acaaaccag attgaagcta aaataacca 2040
 gactcactaa atcctttcca ataattgact ggtggaagga aaacaaaaaa caaaaactaa 2100
 aaacctctta gcttttctgc aattcaactt tttattttta tttttatttc tatcaaagac 2160
 ggtagagaga aacagcttga tgctgtttct acattaaaa aaaaaaaaa agacagactg 2220
 ttggtcttac taaggatgtt tttaccagcc tgectgactt ctgcaaacct accctgtcaa 2280

ggagatcaaa gggacgcagg tttctgttta tttgaacaa gggccaggcc ccgcgagtg 2340
 tctttggtag atcccagata actcctaggt gctgctctca gacactgagg agttgagcaa 2400
 atctgttcta ttctgcagaa cccacaggac aaataagagt tctactagaa ttaacagccc 2460
 aaaagaatag ctacagctaa gtgaagccac ttacgtgggc tttaaaaaa taatgtgta 2520
 gctgattcac atgcactgga gtttaattagt cttagaaatg tgtgcatcca taaaaatgca 2580
 caacataaag tgaacatatt cctaggccct tttgcctgt gtcagggcca ggaagtagag 2640
 gctgggaact ctctgttcc ccagtatggc aggcgccagg gaggggatgg tgtggcccat 2700

cccttctctg gatactggc cagtggcagg cagcagggag gagctggcgg accctcagtg 2760
 actgacaagc cagcaattct gatttctggc ctttgggagt ctgcctgctc caagccagtc 2820
 caccacgct gcagcccaa aagctggctc aaagtcttg ggtggattca ctggagatgg 2880
 gcaacttaaa acaagagaaa ctttaatttt taaacctaag tgatgataca getcttccct 2940
 tagattatcg cccaggctgg agtgcagtgg catgatctca gctcactgca agctccacct 3000
 cctgggttca tgccattctc ctgcctcagc ctcccccca gtaactggga atacaggcgc 3060
 ccgccacat gcctggctaa tttttgtat ttttagtaga gatagggttt catcatgtta 3120

gccaggatgg tctcattctt attctttaat gagatcagag ggtaattcac caagaaagac 3180
 ctctctgtt ccattgtgtc atccaacaac tgetcagagc tcaaaattat agaaggcttc 3240
 tgagccccta gagattttta atttgcttct aatccctgag gtgggaacat catgagggaa 3300
 gatttgattt tcagagttaa ataaattgta tgtgcttttc cagccaaaa aaaaaa 3356

<210> 4

<211> 502

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

130 135 140

Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp

145 150 155 160

Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp

165 170 175

Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

180 185 190

Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg

195 200 205

Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val

210 215 220

tcattgtgcg gctgggtgcac aagcaagacc tgcagcagcc cgtgcctgct tggctgcgtc 1380
 acctggttct ggagagaatc gcctggctac tttgcctgag ggagcagtca acttcccaga 1440

ggccccage caccteccaa gccaccaaga ctgatgactg ctcagccatg gaaaccact 1500
 gcagccacat gggaggacc caggacttcg agaagagccc gagggacaga ttagccctc 1560
 ccccaccacc teggaggcc tgcctggcgg tgtgtgggct gctgcaggag ctgtcctcca 1620
 tccggcaatt cctggaaaag cgggatgaga tccgagaggt ggcccagac tggctgcgcg 1680
 tgggctccgt gctggacaag ctgctattcc acatttacct gctagcgggt ctggcctaca 1740
 gcatcacct ggttatgctc tggccatct ggcagtagc ttagtgagg acagcccagt 1800
 ggaggagggg gtacagtctt ggttaggtgg ggacagagga tttctgctta ggcccctcag 1860

gaccaggga atgccaggga cattttcaag acacagacaa agtcccgtgc cctgtttcca 1920
 atgccaatte atctcagcaa tcacaagcca aggtctgaac ccttcacca aaaactgggt 1980
 gttcaaggcc cttacacct tgtcccacc ccagcagctc accatggctt taaaacatgc 2040
 tgtcttagat caggagaaac tgggcactc cctaagtcca ctctagtgt ggacttttc 2100
 ccattgacce teacctgaat aagggacttt ggaattctgc ttctctttca caacttget 2160
 tttaggttga aggcaaaacc aactctctac tacacaggcc tgataactct gtacaggct 2220
 tcttaacce ctagtgtctt tttttcttc acctcacttg tggcagcttc cctgaacct 2280

catccccat cagatgatgg gagggggaag aataaaatgc agtgaaccc taaaaaaaaa 2340
 aaa 2343

<210> 6
 <211> 516
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6

Met Leu Gly Lys Leu Ala Met Leu Leu Trp Val Gln Gln Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 Ala Leu Leu Leu Pro Thr Leu Leu Ala Gln Gly Glu Ala Arg Arg Ser
 20 25 30
 Arg Asn Thr Thr Arg Pro Ala Leu Leu Arg Leu Ser Asp Tyr Leu Leu
 35 40 45
 Thr Asn Tyr Arg Lys Gly Val Arg Pro Val Arg Asp Trp Arg Lys Pro
 50 55 60

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

 355 360 365
 His Lys Gln Asp Leu Gln Gln Pro Val Pro Ala Trp Leu Arg His Leu
 370 375 380
 Val Leu Glu Arg Ile Ala Trp Leu Leu Cys Leu Arg Glu Gln Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Gln Arg Pro Pro Ala Thr Ser Gln Ala Thr Lys Thr Asp Asp Cys
 405 410 415
 Ser Ala Met Gly Asn His Cys Ser His Met Gly Gly Pro Gln Asp Phe

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

 485 490 495
 Leu Ala Val Leu Ala Tyr Ser Ile Thr Leu Val Met Leu Trp Ser Ile
 500 505 510
 Trp Gln Tyr Ala
 515
 <210> 7
 <211> 5723
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 7

gctccgggccc agcgcggcggc cggcggcggc ggcggcagca gcaggagcag ccccggctgc 60
gggtcgcgac ggcggcgggg cgccccctcc cccgtgccgg ggcgcggcgg agggatgtgg 120
ggccttgccg gaggaaggct tttcggcatc ttctcggccc cggctgtggt ggctgtggtg 180

tgctgcgcc agagtgtgaa cgatcccggg aacatgtcct ttgtgaagga gacggaggac 240
aagctgttga aaggctacga cattcgccta agaccgact tcgggggtcc cccggctcgc 300
gtggggatga acatcgacat cgccagcatc gacatggttt ccgaagtcaa catggattat 360
accttaacca tgiattttca acaatattgg agagataaaa ggctcgccta ttctgggac 420
cctctcaacc tcacgttga caatcgagtg gctgaccagc tatgggtgcc cgacacatat 480
ttcttaaatg acaaaaagtc atttgtgcat ggagtgcag tgaaaaaccg catgatccgt 540
cttcaccctg atgggacagt gctgtatggg ctcagaatca ccacgacagc agcatgcatg 600

atggacctca ggagataccc cctggacgag cagaactgca ctctggaaat tgaaagctat 660
ggctacacca cggatgacat tgagttttac tggcggaggc gggacaaggc tgttaccgga 720
gtggaaagga ttgagctccc gcagttctcc atcgtggagc accgtctggt ctcgaggaat 780
gttgtcttcg ccacaggtgc ctatctcga ctgtcactga gctttcggtt gaagaggaac 840
attggatact tcattcttca gacttataatg ccctctatac tgataacgat tctgtcgtgg 900
gtgtccttct ggatcaatta tgatgcatct gctgctagag ttgccctcgg gatcacaact 960
gtgctgacaa tgacaacct caacacceac cttcgggaga ccttgcccaa aatccctat 1020

gtcaaagcca ttgacatgta cttatgggc tgcttcgtct ttgtgttctt ggccttctg 1080
gagtatgcct ttgtcaacta cattttcttt ggaagaggcc ctcaaaggca gaagaagctt 1140
gcagaaaaga cagccaaggc aaagaatgac cgttcaaaga gcgaaagcaa cgggtggat 1200
gctcatgtaa atattctgtt gacatcgctg gaagttcaca atgaaatgaa tgaggtctca 1260
ggcggcattg gcgataccag gaattcagca atatcctttg acaactcagg aatccagtac 1320
aggaaacaga gcatgcctcg agaaggcat gggcgattcc tgggggacag aagcctcccg 1380
cacaagaaga ccatctacg gaggaggtct tcacagctca aaattaaaat acctgatcta 1440

accgatgtga atgcataga cagatggtcc aggatcgtgt ttccattcac tttttctctt 1500
ttcaacttag tttactggct gtactatgtt aactgagtga ctgtacttga tttttcaaag 1560
acttcattta aactgagtg aaatattact ctgcctgtca agttttata cctgtacaca 1620
cacagacaca caagcagaca cacacatata tacatacga attgtatata tatgtgaact 1680
ttctcagcat atatataaaa tacacgtgta tatgaggatg tatgtgtata tgtttataca 1740
cacaggagtc agtgcccatg tgtatggaag acaaatcac atacatata acattttgca 1800

gctatggaca atttaccaca ggatgcataat taaagaaagt catagttttt ttctttttta 1860

attgaaaggg acaagtatca tctaaatatt atgccttgag aatgagggcg tgaacacaaa 1920

tatcatcccc aaatgtgtct tgtattatca taagttagat gttttagttt aaaaatcaga 1980

aagacattct tagttaatct ttgaaaactc atacagtggg attgctagtt taaaatgagt 2040

cacttacttc atatcctctc gttcagttta gtaagcaaag gcttcttggc ttctctggtg 2100

atggggtttg ttttcatcgg gcatacgttt tctgcaatgg tttagtggct ggggtgagcc 2160

actggcagtg tgcttacctg ttgtctgaaa catagataga tcccacgttg atgtctgaac 2220

gaccgtcttt tgaaaactca tcgggagtga atggcatctc gttgtaagta ctctaataa 2280

cagtgtgtag ttigtctctg ttgttcactt ggagtggatc cagcttact gtcattgtcg 2340

aacacagtga cacgtttggc cagtgcatt tcaatcactg aaaatgtgct ctacatctcg 2400

tatggatttc taggcctgat atccaacaga aagcatagac gtctcagttt attcgttact 2460

ctaaggtaaa accatctagg atgattttcc cccttgcaat tatgttatca ttcttataac 2520

attgtatgtt aatagaaaat atatttgcatt aatatgcata tataatgata ttaccaaga 2580

ttttgtttct tacgcttct atcatggcag catgcgatgt catattttcc tttatgtgat 2640

gtaactactt tctgttatct agaaattaag attgaagcta aaacacttct actgttcaat 2700

ttcagaaact aagaatcacc ctcatgcctt ttttctgta tctgacatat ttcataagca 2760

catccaacta ctcttagact gactaggatt ctgcaggaac atgacccgta cacaccacgc 2820

gtcacccaac gaccatgac cgttctctga ggcaaaggag ggcaacctga cagcaaacac 2880

agtcaactgtt ggttcttct gatccacagc ctcatcagta tttggacttt ttaaagctcg 2940

tagaaacaag acaaggtgca ccggtttcat agacgcaacc ttaacttact atttagatga 3000

gatctttcta aagaaaaaaa aaagagatga tatatttttt gtaacaata ttctatcac 3060

aggcatccat aaactgaaat gactacagtt gtgcaaacag gtgtcacagt gaagttgagc 3120

atttgagaaa aaaaataaaa agcaaaattt gcaggaagaa ctgctaaatt aatactttat 3180

cccaaaatgc cacgtatgcc tcaacctctc tgttctatcc aaaaccaagg accagagtgc 3240

tccaatggta ggccccagtt gtctcgatgt aggtagaggc accacctcc cggaggatgc 3300

gtgtgggtgt gactatcccc atgagctgac cactactga ttttctttg gtggccgtaa 3360

caacctttaa tttgtgggca tctgcaacag ttcaaaaacc accatcagat aaaacataat 3420

ccacaaaatc tcacgctaga ggcaattacc tactttttaga ccttttccc tctttcattc 3480

ctatcttttt cctcctaate gctgctctct ggttttattt tcatctggag actagccagg 3540

gatttctttg gcitttgctt ttctctgacc attttttcca tgggtaacaa tgggggatcc 3600
taaaagttaa acagattggg aaaaaccttg ttaagtggcc ttatcattat tatcatgtta 3660
aagaaaaaaa atacatttgc aaagacctta tccctttcaa tacttcaggt atctttttct 3720
glatccagta attaaagggt tgagggtccac atgcagaaga gggaccccaa aatgtaaatg 3780
gatgtggaca aaaaacagta atggtctatt taagtgtata attatacta ttcagaactg 3840
tgacattaat tctttctggg agaaaagtga tttaaaactt ttttgatgca tagttgaggt 3900
accxaaatat caaaggcaga gaccccatgg ggctccaaag agctgcagtc tccttcccaa 3960

ggttttctgg atataaattt gcatggtata gtcataatag cttttgagct ttttatatgc 4020
atitggcacc aagactggga tccacaactt tglagacact gcgatgaagt taacatatta 4080
gctatactat aaatagtgtt tgtaactaca cacacacaca cacacacaca cacaaatata 4140
tacatatatt ctgtaaaaaa aaaaaaaaaac tttttaagat ccttgggtat gtgtttgctt 4200
tactccattt cagaagaaaa ttacttttct tctaacaaaa ttattttata gcttctccat 4260
ttttaaact tgtgagagca ttgagaagag aactctgact gtgtaacag aagagagttg 4320
aattggagtc tctgtttgtg taaaatgacc tctcgttact ccacagtagt tatttgagcc 4380

agtgactgag tccgcttgag gaattctgaa cccggacctc tgacgttggt gggaggtggc 4440
tgttaccac acccagacct cttgagtaag gacagaaacg ttatcattgg ggatataatg 4500
agatttcttt cttaacaatt gaaagtaata aagagttaat tttctcagta gtcctgtctt 4560
tccaaaatgc gccacagggg ctcaagatct acagaagaat cttgttatga cagtttgta 4620
ttaccatata tcagatatcc ttgagataat ggaagagccc tgctacataa ctccctacag 4680
agaaagactg atagacttga gtatgcttta aaacaagtgt tattcctggt caccaacccc 4740
gggactgtgg aggggtttca ctgtctatac catgcgacat ccatttccc tgaatctcaa 4800

acgaactaga aagtatgtca tgataatatt tccattagat ttggaagcta cctgtacatc 4860
tgcaatattg tgtttttaac gccagcacc agaactttga catgttcagt cactccctga 4920
aaggcacttc tctctgtcc aaacacagcg ttgacatfff tactgaggag atcatctcaa 4980
aggtgatgcc aaacgagctt ggggctgggt ttaaggggac aggcacattg cagttgtagg 5040
tgttcatttt cagcatctag tagataatcc attggtgttt gtcccacat tgggtgattc 5100
taacaagaat gtgtccaact ttgaatctcc tggcttgaat gtataaacca tcaactaatt 5160
cttatittaa ctctccact gaaaaccagt tcataattct ggccatttta tgtaagcaaa 5220

actgaacaat tggigaaaca ttttgttact cttggaattg actctggctg tcagtgtgag 5280
ccattagagt aacatcgaat cttggggcaa agaactgccc aggtgaatta aatitttcca 5340
ggacactagc tagtgtgctt tggattgatt acctcttcta ctgcattgaa aggcccatg 5400

ttttctgaa atactaaatt cccaacacct gggtaaacaa tgaccttcca gagagtggct 5460
 cccgtatgcc tctccctagg accaacccca tgaacatggt ttgtcacgtt tgtctcatgt 5520
 ttctacttca caagtcagtg agtgtgttta aggtaagtac aggattattc tagtaggaat 5580
 aggcgattgc tgcataatc aattctcatg ttgatttcat tttattgtaa agataaattt 5640

aaaccagtt ttgcttaagc acattgatgt aatTTTTTgg tattatttga catgaaaaaa 5700
 cagcaaaatt gagtgataga tac 5723

<210> 8

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Trp Gly Leu Ala Gly Gly Arg Leu Phe Gly Ile Phe Ser Ala Pro
 1 5 10 15
 Val Leu Val Ala Val Val Cys Cys Ala Gln Ser Val Asn Asp Pro Gly
 20 25 30
 Asn Met Ser Phe Val Lys Glu Thr Val Asp Lys Leu Leu Lys Gly Tyr
 35 40 45
 Asp Ile Arg Leu Arg Pro Asp Phe Gly Gly Pro Pro Val Cys Val Gly
 50 55 60
 Met Asn Ile Asp Ile Ala Ser Ile Asp Met Val Ser Glu Val Asn Met
 65 70 75 80
 Asp Tyr Thr Leu Thr Met Tyr Phe Gln Gln Tyr Trp Arg Asp Lys Arg
 85 90 95
 Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Leu Asn Leu Thr Leu Asp Asn Arg Val
 100 105 110
 Ala Asp Gln Leu Trp Val Pro Asp Thr Tyr Phe Leu Asn Asp Lys Lys
 115 120 125
 Ser Phe Val His Gly Val Thr Val Lys Asn Arg Met Ile Arg Leu His
 130 135 140
 Pro Asp Gly Thr Val Leu Tyr Gly Leu Arg Ile Thr Thr Thr Ala Ala
 145 150 155 160

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

405	410	415	
Gly Asp Arg Ser Leu Pro His Lys Lys Thr His Leu Arg Arg Arg Ser			
420	425	430	
Ser Gln Leu Lys Ile Lys Ile Pro Asp Leu Thr Asp Val Asn Ala Ile			
435	440	445	
Asp Arg Trp Ser Arg Ile Val Phe Pro Phe Thr Phe Ser Leu Phe Asn			
450	455	460	
Leu Val Tyr Trp Leu Tyr Tyr Val Asn			
465	470		
<210> 9			
<211> 3174			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<400> 9			
taataatggc cgtaagctta aaatagatcc agggaggagc tcattaacgt gaacatagaa			60
agcagttccg cacctctggc cttactctc ttggaaattg ctttggcca tttttacttc			120
cttttattcg acgcaccaga aaataagact ttaccaaca tttttactgc atttgacgat			180
gaactaattt agaccggcta aaataattgt tccactggga cacaggaatt caacctcagt			240
tcagaaaatc cctgacatct gacgtaggag gatttatagg tttagtggaa attgctttct			300
cctgctctcc agattgcatc ctgtgggttg atttttttt tgcatgagta aacatccttc			360
taataatgaa cagaccaata atgtcttaag agagaaaag aacaatcttt tcctttttgc			420
tgtttctgga gagagctgtt tgaatttga aacctatgtt ggctgtcca aatatgagat			480
ttggcatctt tcttttggg tgggatggg ttttggccac tgaaagcaga atgcactggc			540
ccggaagaga agtccacgag atgtctaaga aaggcaggcc ccaaagacaa agacgagaag			600
tacatgaaga tgcccacaag caagtcagcc caattctgag acgaagtctt gacatcacca			660
aatcgctctt gacaaagtca gaacagcttc tgaggataga tgaccatgat ttcagcatga			720
ggcctggctt tggaggccct gccattctg ttggtgtgga tgtgcagtg gagagtttgg			780
atagcatctc agaggttgac atggacttta cgatgaccct ctacctgagg cactactgga			840
aggacgagag gctgtctttt ccaagcacca acaacctcag catgacgttt gacggccggc			900
tggtcaagaa gatctgggtc cctgacatgt ttttcgtgca ctccaaacgc tecttcatcc			960
acgacaccac cacagacaac gtcatgttgc gggccagcc tgatgggaaa gtgctctata			1020

gtctcagggt tacagtaact gcaatgtgca acatggactt cagccgattt cccttggaca 1080
 cacaacgtg ctctcttgaa attgaaagct atgcctatac agaagatgac ctcatgctgt 1140
 actggaaaaa gggcaatgac tccttaaaga cagatgaacg gatctcactc tcccagttcc 1200
 tcattcagga attccacacc accaccaaac tggctttcta cagcagcaca ggctggtaca 1260
 accgtctcta cattaatttc acgttgcgtc gccacatctt cttcttcttg ctccaaactt 1320

 atttccccgc taccctgatg gtcatgctgt cctgggtgtc cttctggatc gaccgcagag 1380
 ccgtgcctgc cagagtcccc ttaggtatca caacgggtct gaccatgtcc accatcatca 1440
 cgggcgtgaa tgcctccatg ccgcgcgtct cctacatcaa ggccgtggac atctacctct 1500
 gggtcagctt tigtttcgtg ttctctcgg tgctggagta tgcggccgtc aactacctga 1560
 ccactgtgca ggagaggaag gaacagaagc tgcgggagaa gcttccctgc accagcggat 1620
 tacctccgc ccgactgcg atgctggacg gcaactacag tgatggggag gtgaatgacc 1680
 tggacaacta catgccagag aatggagaga agccccagag gatgatggtg cagctgaccc 1740

 tggcctcaga gaggagctcc ccacagagga aaagtcagag aagcagctat gtgagcatga 1800
 gaatcgacac ccacgccatt gataaatact ccaggatcat ctttcagca gcatacttt 1860
 tattcaattt aatatactgg tctatcttct cctagatgct tgtaattcta caaatttcac 1920
 atttccatgg catgcactac agaaataact gtataatgaa aaagtattta aggatatggt 1980
 taaaaaaaaa tcccaggacc cacccatggt ttactatcc cttctgcagc tttccaaagc 2040
 tacattgacg agacacttac tggtttaatt tgcacttatt aaccatctat tgaatacaca 2100
 gcattatatt aggtgctgca ggaaatacga cactgtagcg actgatgtta gttgttacc 2160

 agatcccctg gaaaagcaca ctaccagtgt tgtgggcaca tttagttcca cccgttagac 2220
 ccttgatgct attcacatga ataatttatt ttctcaagt gtcattacat tgttcaggct 2280
 acgtgaactt ggaagcact acagccatt tgcataaat tcacatgcac ctaaatcctc 2340
 actttgacag aaactcatgc ttcagtttat aacctattac ctattttgta tgcgactcca 2400
 cctccgatg tttattttaa taaaaggcaa tgataacatt cacattattt ttctttatat 2460
 gctgtgggtc acagcctta ccccttcaca agaaaagctc tttagattgg cgcaattgct 2520
 tctgattttg gtgaaatttt ccctggtagg gaaacttga agataagagt acacacatgc 2580

 attttgtctg ttgtgtcata gaggtaacta ggctagaaaa tttgtgtta aatgttccct 2640
 attttatata atcaccactt catgtttctt cttcttggag catgtccttg ttc aaagaga 2700
 agtgctttct cagtgatgtg atatcttcac tgaggaactt gggtagagaa tgatttcttc 2760
 tgcataaaca cttaaggaa atacataatt tgggactact tgtaactcat tagaatgaga 2820
 aatactcaca tggtttctta agagaaaaag aacatcggaa agcaaaataa atgggaagat 2880

atcactggac atctgcattt atactcgaag taccagcatt ttctatggac cagaaaactg 2940
 ccatcaccta gaccacacag cccagatacc aggcagacgg atggcccaat ggcaactgat 3000

gtcagggcat ggggtaaagg agagggttct aatctggtgt atcacttaaa aacagttatt 3060
 tatattatat atctgctata tagatcaacc tccaccaaac ttaccaaac agcatttggt 3120
 ttatttgaaa ctacttttaa taaagtgaat tatatacaca aaaaaaaaaa aaaa 3174

<210> 10

<211> 479

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Leu Ala Val Pro Asn Met Arg Phe Gly Ile Phe Leu Leu Trp Trp

1 5 10 15

Gly Trp Val Leu Ala Thr Glu Ser Arg Met His Trp Pro Gly Arg Glu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asp Asp His Asp Phe Ser Met Arg Pro Gly Phe Gly Gly Pro Ala

85 90 95

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

100 105 110

Glu Val Asp Met Asp Phe Thr Met Thr Leu Tyr Leu Arg His Tyr Trp

115 120 125

Lys Asp Glu Arg Leu Ser Phe Pro Ser Thr Asn Asn Leu Ser Met Thr

130 135 140

Phe Asp Gly Arg Leu Val Lys Lys Ile Trp Val Pro Asp Met Phe Phe

145 150 155 160

Val His Ser Lys Arg Ser Phe Ile His Asp Thr Thr Thr Asp Asn Val

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

<210> 11

<211> 4620

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

atgccttatt ttacaagact cattttgttc ttgttttgc t gatggttct cgtggagagc 60
 agaaaaccca agaggaagcg atggacaggg caggtggaaa tgccaagcc aagtcactta 120
 tataagaaga accttgaigt gaccaagatc cggaagggaa agcctcagca gcttctcaga 180
 gtggacgagc acgacttcag catgagacc gccttcggag gccctgccat cccggtgggc 240
 gtggacgtac aggtggagag cctggacagc atctccgagg tggacatgga cttcactatg 300
 acctgtacc tgcggcatta ctggaaggat gagaggctag ctttctccag cgccagcaac 360

 aagagcatga cttcgatgg ccggctgggtg aagaagatct gggtcctga tgtcttcttt 420
 gttcactcca aaagatcgtt cactcatgac accaccactg acaacatcat gctgaggggtg 480
 ttcccagatg gacacgtgct gtacagcatg aggattacgg t cactgccat gtgcaacatg 540
 gacttcagcc actttccctt ggactcccag acctgttctt tggagctgga gagctatgcc 600
 tatacagatg aagatcfaat gctgtactgg aagaatgggg atgaatcct aaaaacagat 660
 gagaagatct cttgtctca gtttctgatt cagaaattc acacaacttc caggctggcc 720
 ttctacagca gcaactggctg gtacaaccgt ctgtacatta acttcacgtt gcgtcgccac 780

 atcttcttct tcttctcca aacatattc cctgccactc tgatggtcat gctgtcctgg 840
 gtgtccttct ggatcgaccg cagagctgtg cctgccagag tttcactggg t atcacgacg 900
 gtgtgacca tgaccacat catcacgggc gtgaatgcct ccatgccgcg cgtctcctac 960
 gtcaaggccg tggacatcta cctctgggtc agctttgtgt t cgtgttctc ctcggtgctg 1020
 gagtatcgcg ctgtcaacta cctgaccacc gtgcaggagc gcaaggaac gaagctcgcg 1080
 gagaagtcc cgtgcatgtg tggaaatgctt cattcaaaa ccatgatgct ggatggaagc 1140

tacagtgagt ctgaggccaa cagcctggct gggtagccca gaagccatat cctgacagaa 1200

gaagaaaggc aagacaaaat agtgggtccac ctgggcctga gtgggtgaagc caacgctgcc 1260

agaaagaagg ggcctctgaa gggccagacg ggttttcgta tcttcagaa tacccatgcc 1320

attgacaaat accttaggtt gatattccct gcctcctaca ttttttcaa ctttaattat 1380

tggtcagtgt tttcctaggg gctccaaggc tgttcctaga agagggcata gacatcgagg 1440

gggcctggcc agtcattgac agacggactt gttgaccaca cgcccctcac caaacaatgc 1500

agcagctact ggaccacct gagcagcact catctctcag agaagcccag gacccctcca 1560

gctgccctga ccccagacc cgtggggctg ctccatgttc atgctgtctc gcgtcacact 1620

tcacatctct ctgggacctt ctgttcttgt gtgtgaacta attcacaaga actcccctcc 1680

tataaacaag gattcaaatg cctcctagac attcttagac cctcagattg cctaggagtc 1740

agttgtggag ggaaaaggaa aaactgaagt acaagcttag gggcattctg gataggagat 1800

aggaaattaa gaacaaaaaa caccctgtaa acccattgaa cttgatataag tgcctaccta 1860

gaagggaaaa gagctgagat cccagacagg aatgatattg gcctgtggga gtatggcaac 1920

ccacaggatt ctgcaatatt agaggagatt attcatttat ccatccattc aaccattcat 1980

taaatattga ggtcccactc tgtgccaggt acggtagaaa tgagaaaata gtctctttcc 2040

ttagagatct tctctaagtt gtgctcattc tacatatggc atgatgtact tctgctcttt 2100

cccctccttc aaccccgttt accccacaga cccattctgt ttgctgttgc ttttactctt 2160

aggcatataa ggcagggtcc aggagaggcc aggtccagaa ctttcaacta tcctcctcca 2220

gtgaagttac acagatagca ctaattttgc ccagcaatga catgtagcaa tgtgcatgga 2280

gtattgccag ccagagaaac ttaccaggc tcaccacggt gtacagtttt tttattgggg 2340

tcggtcatgg atttatagct gattgccac atggctgact ttagtctttt gccctccag 2400

aggttaagct ggtacctga ggtccaggc acctatcata aatcacattg ttggcataga 2460

ctatctggtg tggcccaagg ccccagtaga caaagacct tctatctcac aggacattcc 2520

aaggcatag aggttgcttc ctagttaaagg ttagtctttt actacacagc aactcttgtc 2580

aattccctat tgtaaatgtt aattgcggtg ttactattat atattcaggc aataaacatt 2640

ttaaagtatc tctgactag gtacattggg gtccaaatta agaataagag tagtcgaagc 2700

tctcagagaa ggaactagta aaggaaatac cacacaaata tctataatat aagattaaga 2760

gtgttttagt cctcagtaat agttcagtgt gagatgggaa ttccaaggga ggaaaaacag 2820

tcccaccagg gagacagacc tcatggagaa agcagccctg agatgccctt tgaaggtcag 2880

gattttaaga agaagaaatg gagcagaatg catcctagat ctgggctgtc tcatatggta 2940
gccactagcc acatgtctat ttaaatttaa attagtaaaa attaaaaata ttagccaggt 3000
gtgggtgtgt gtgcctgggg ttctagctac tcaggaggct gaggcgggag gattgcttga 3060
gccaggaat tccaggctgc cgtgagctgt gatcaagcca ctgcagtcca gcctgagtga 3120
cagagcgaga ccctatctct aaaataataa ttattattat ttaaattagt tgaagttaa 3180
taaaattgaa aactcagttc cttggttaca ccatccacac tcaagtgggc ttagtaagca 3240
cagttgctag tagctactgc actgggctgg gcagcctaaa gaccaggaag ctctaccagc 3300

caagagacca gcttgagcgg acgcatgggg agaatgggaa ggtttgccat tgcagagaac 3360
agggtttgtg ggcaagtcac tcatittgac aggatcctag gctgtgataa gaggaggtga 3420
gcgactagct tttccacaa cactagggat caaggcaggt cccaccatg ccggtgctta 3480
tgaggacagc ttccccacta tggagttgct ggaccaaga ctactagatt tcccagtctc 3540
acagaccaat gaagaacaaa aatgcataaa tatgggtaat tgggtggtac agggcatctg 3600
gacttgttta gaaacctttt tttctttct gagacagagt ttcactcttg ttgctcaggc 3660
tggagtgcaa tggttgatc ttggctcacc acaacctctg cctccccggg tcaagcaatt 3720

ctcctgcctc agccctggag tagctgggat tacaggcatg cgccaccatg cctggctaac 3780
ttttgtattt tttagtagag atggggtttc tccatgttag tcagcctggt ctgtaactcc 3840
tgacctcagg tgatccgctt gcctcagcct cccaaagtgc tgtgattaca ggcgtgagcc 3900
accacaccg gccagaaacc tttatctat agagactctc ccaggccaca gtgctgctcg 3960
aagaatgata attctattgt cattaatat atcatattgc tttgcttgta agtcttattt 4020
aattccaacc ctctctgct tctgactgca ttgttttcat gcattatggc tcatataaca 4080
tagttgcctg ttcacaaatt aaaacaaata tttatttttg ctagcttcta tgttaaactg 4140

gagttaatte tatagcagac atatttagaa tcataaacag tgtttatca tgcagggcca 4200
tgatacaatg acaccattgt atttagcatt gccttattac agtatactag tctgacacta 4260
cttgagaaaa gtaggaaatt taaagaggta aagtggagac aacattggtg ggagtagaaa 4320
acaggaacta aggaaatagt gagaacatgg gatgattcac cctggaggca ggaagacaga 4380
gaagcaaaca caattgttat caggaatgca tgaatgatac tttacttcac tgaatctaag 4440
acatggtgaa atgtaagatg cacccatatt ttatgtactg agaaaaata ctaacaatca 4500
aattctggaa tgccaatgat tataatatga atcctgattt caccaatatg aaactgtgaa 4560

aaaatgtaa tgttacaata aaagaaatgg gttttataca aaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

<210> 12

<211> 465

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Pro Tyr Phe Thr Arg Leu Ile Leu Phe Leu Phe Cys Leu Met Val

1 5 10 15

Leu Val Glu Ser Arg Lys Pro Lys Arg Lys Arg Trp Thr Gly Gln Val

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

Asp Phe Ser Met Arg Pro Ala Phe Gly Gly Pro Ala Ile Pro Val Gly

65 70 75 80

Val Asp Val Gln Val Glu Ser Leu Asp Ser Ile Ser Glu Val Asp Met

 85 90 95

Asp Phe Thr Met Thr Leu Tyr Leu Arg His Tyr Trp Lys Asp Glu Arg

 100 105 110

Leu Ala Phe Ser Ser Ala Ser Asn Lys Ser Met Thr Phe Asp Gly Arg

 115 120 125

Leu Val Lys Lys Ile Trp Val Pro Asp Val Phe Phe Val His Ser Lys

 130 135 140

Arg Ser Phe Thr His Asp Thr Thr Thr Asp Asn Ile Met Leu Arg Val

145 150 155 160

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

 165 170 175

Met Cys Asn Met Asp Phe Ser His Phe Pro Leu Asp Ser Gln Thr Cys

 180 185 190

Ser Leu Glu Leu Glu Ser Tyr Ala Tyr Thr Asp Glu Asp Leu Met Leu

 195 200 205

Tyr Trp Lys Asn Gly Asp Glu Ser Leu Lys Thr Asp Glu Lys Ile Ser

 210 215 220

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

<210> 13

<211> 1404

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

```

atggtcctgg ctttccagtt agtctccttc acctacatct ggatcatatt gaaaccaaat      60
gttttgctg ctictaacat caagatgaca caccagcggg gctcctcttc aatgaaacaa      120
acctgcaaac aagaaactag aatgaagaaa gatgacagta ccaaagcgcg gcctcagaaa      180

tatgagcaac ttctccatat agaggacaac gatttcgcaa tgagacctgg atttgagagg      240
tctccagtgc cagtaggtat agatgtccat gttgaaagca ttgacagcat ttcagagact      300
aacatggact ttacaatgac tttttatctc aggcatfact ggaaagacga gaggctctcc      360
tttctagca cagcaaacaa aagcatgaca ttgatcata gattgaccag aaagatctgg      420
gtgcctgata tctttttgt ccaactctaa agatccttca tccatgatac aactatggag      480
aatatcatgc tgcgcgtaca ccctgatgga aacgtctctc taagtctcag gataacggtt      540
tcggccatgt gcittatgga tttcagcagg tttcctcttg aactcaaaa ttgttctctt      600

gaactggaaa gctatgccta caatgaggat gacctaatgc tatactggaa acacggaaac      660
aagtccttaa ataactgaaga acatatgtcc ctttctcagt tcttcattga agacttcagt      720
gcatctagtg gattagcttt ctatagcagc acaggttggg acaataggct tttcatcaac      780
tttgtgctaa ggaggcatgt tttctctttt gtgctgcaaa cctatttccc agccatattg      840
atggtgatgc tttcatgggt ttcattttgg attgaccgaa gagctgttcc tgcaagagtt      900
tccttgggaa tcaccacagt gctgaccatg tccacaatca tcactgctgt gagcgcctcc      960
atgccccagg tgcctacct caaggctgtg gatgtgtacc tgtgggtcag ctccctcttt      1020

gtgttctctg cagtcattga gtatgcagct gtgaactacc tcaccacagt ggaagagcgg      1080
aaacaattca agaagacagg aaagatttct aggatgtaca atattgatgc agttcaagct      1140
atggcctttg atggttgita ccatgacagc gagattgaca tggaccagac ttcctctctt      1200
ctaaactcag aagacttcat gagaagaaaa tcgatatgca gccccagcac cgattcatct      1260
cggataaaga gaagaaaatc cctaggagga catgttgta gaatcattct ggaaaacaac      1320
catgtcattg acacctatc taggatttta tccccattg tgtatatttt atttaatttg      1380
ttttactggg gtgtatatgt atga      1404

```

<210> 14

<211> 467

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Val Leu Ala Phe Gln Leu Val Ser Phe Thr Tyr Ile Trp Ile Ile

1 5 10 15

Leu Lys Pro Asn Val Cys Ala Ala Ser Asn Ile Lys Met Thr His Gln

 20 25 30

Arg Cys Ser Ser Ser Met Lys Gln Thr Cys Lys Gln Glu Thr Arg Met

 35 40 45

Lys Lys Asp Asp Ser Thr Lys Ala Arg Pro Gln Lys Tyr Glu Gln Leu

 50 55 60

Leu His Ile Glu Asp Asn Asp Phe Ala Met Arg Pro Gly Phe Gly Gly

65 70 75 80

Ser Pro Val Pro Val Gly Ile Asp Val His Val Glu Ser Ile Asp Ser

 85 90 95

Ile Ser Glu Thr Asn Met Asp Phe Thr Met Thr Phe Tyr Leu Arg His

 100 105 110

Tyr Trp Lys Asp Glu Arg Leu Ser Phe Pro Ser Thr Ala Asn Lys Ser

 115 120 125

Met Thr Phe Asp His Arg Leu Thr Arg Lys Ile Trp Val Pro Asp Ile

 130 135 140

Phe Phe Val His Ser Lys Arg Ser Phe Ile His Asp Thr Thr Met Glu

145 150 155 160

Asn Ile Met Leu Arg Val His Pro Asp Gly Asn Val Leu Leu Ser Leu

 165 170 175

Arg Ile Thr Val Ser Ala Met Cys Phe Met Asp Phe Ser Arg Phe Pro

 180 185 190

Leu Asp Thr Gln Asn Cys Ser Leu Glu Leu Glu Ser Tyr Ala Tyr Asn

 195 200 205

Glu Asp Asp Leu Met Leu Tyr Trp Lys His Gly Asn Lys Ser Leu Asn

 210 215 220

Thr Glu Glu His Met Ser Leu Ser Gln Phe Phe Ile Glu Asp Phe Ser

225 230 235 240
 Ala Ser Ser Gly Leu Ala Phe Tyr Ser Ser Thr Gly Trp Tyr Asn Arg

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

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

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

 435 440 445
 Ile Leu Phe Pro Ile Val Tyr Ile Leu Phe Asn Leu Phe Tyr Trp Gly
 450 455 460
 Val Tyr Val
 465

<210> 15

<211> 1320

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 15

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60
ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacctcctg 180
cagatcatgg acgtggatga gaagaacaa gtttaacca ccaacattg gctgcaatg 240
tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattctt tctataacag tgctgatgag 360
cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
ctgcctccag gcatattcaa gatttctgc tacatgatg tacgtggtt tccctttgat 480
gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggtggtc cttggatctg 540

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtgca aagagcccta ccccgatgtc 660
accttcacag tgaccatgcg ccgaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccgctct 840
cgagcatctc tgccaaggt gtccatgtg aaagccattg acattggat ggcagtttgc 900
ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960

cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
ctattccagg aggatgaagc tggagaagc cgctttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140
accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
aggccaaga agatcgaaa aatatcccgc attggcttcc ccatggcctt cctcattttc 1260
aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtccgtagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 16

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 16

Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu
 20 25 30
 Leu Val Lys Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser
 35 40 45
 Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

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

 115 120 125
 Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp
 145 150 155 160
 Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175
 Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

 180 185 190
 Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220

Thr Met Arg Arg Arg Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240
 Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met
 245 250 255
 Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr
 260 265 270
 Met Thr Thr Gln Ser Ser Gly Ser Arg Ala Ser Leu Pro Lys Val Ser
 275 280 285
 Tyr Val Lys Ala Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys Leu Leu Phe Val
 290 295 300
 Phe Ser Ala Leu Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe Val Ser Arg Gln

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

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

<210> 17
 <211> 439
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 17

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

 20 25 30

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

 35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

 50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

 85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

 100 105 110

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

 115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

 130 135 140

Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp

145 150 155 160

Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp

 165 170 175

Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

 180 185 190

Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg

 195 200 205

Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val

 210 215 220

Thr Met Arg Arg Gln Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 18

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

<400> 19

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

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

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

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

 Thr Met Arg Arg Arg Thr Leu Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240

Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met
 245 250 255

Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr
 260 265 270

Met Thr Thr Gln Ser Ser Gly Ser Arg Ala Ser Leu Pro Lys Val Ser
 275 280 285

Tyr Val Lys Ala Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys Leu Leu Phe Val
 290 295 300

Phe Ser Ala Leu Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe Val Ser Arg Gln
 305 310 315 320

His Lys Glu Leu Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg His His Lys Ser
 325 330 335

Pro Met Leu Asn Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly Glu Gly Arg Phe
 340 345 350

Asn Phe Ser Ala Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu Gln Ala Lys Asp
 355 360 365

Gly Ile Ser Val Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr Thr Asn Pro Pro
 370 375 380

Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln
 385 390 395 400

Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly Phe Pro Met Ala
 405 410 415

Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg
 420 425 430

Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435

<210> 20
 <211> 1329
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
 <400> 20

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgctcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gagcctcctg 180

cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
 cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagtctctgc tacatcgatg tacgctggtt tcctttgat 480
 gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600

atccccgca agaggagtga aaggttctat gattgctgca aagagcceta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgacatgcg ccgaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
 agcctgctca ttgcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcttagcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccgctct 840
 gagatcatgc ccgcaacatc cgattcggta tcctatgtga aagccattga catttgatg 900
 gcagtttgcg tgctctttgt gttctcagcc ctattagaat atgctgccgt taactttgtg 960
 tctcggcaac ataaggagct gctccgattc aggaggaagc ggagacatca caagagcccc 1020

atgttgaate tattccagga ggatgaagct ggagaaggcc gctttaactt cctgcctat 1080
 gggatgggccc cagcctgtct acaggccaag gatggcatct cagtcaaggg cgccaacaac 1140
 agtaacacca ccaaccccc tctgcacca tctaagtccc cagaggagat gcgaaaactc 1200
 ttcatccaga gggccaagaa gatcgacaaa atatcccga ttggcttccc catggccttc 1260
 ctcattttca acatgttcta ctggatcadc tacaagattg tccgtagaga ggacgtccac 1320
 aaccagtga 1329

<210> 21

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 21

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

1 5 10 15

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

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

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

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

<210> 22

<211> 1332

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 22

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgctcgtcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctcgcaacca ctaccgtct acttctcct ggcctcctg 180

cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactatth acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattette tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagtctctgc tacatcgatg tacgctggtt tcctttgat 480
 gtgcagcact gcaaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccggca agaggagtga aaggttctat gagtgtcga aagagcccta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgacatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720

agcctgctca ttgcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcttagcat caccactgtg ctccatga ccaccagag ctccgctct 840
 gagatcatgc ccgcaacatc cgattcggta ccattgatag cccaggccat tgacatttg 900
 atggcagttt gcctgctctt tgtgttctca gccctattag aatatgctgc cgtaacttt 960
 gtgtctcgge aacataagga gctgctccga ttcaggagga agcggagaca tcacaagagc 1020
 cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080
 tatgggatgg gccagcctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140

aacagtaaca ccaccaacce cctcctgca ccactaagt ccccagagga gatgcgaaaa 1200
 ctcttcatcc agagggccaa gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatggcc 1260
 ttctcattt tcaacatgth ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgtc 1320
 cacaaccagt ga 1332

<210> 23

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 23

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

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

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

Leu Phe Ile Gln Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly
 405 410 415
 Phe Pro Met Ala Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr
 420 425 430
 Lys Ile Val Arg Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435 440

<210> 24

<211> 1323

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 24

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacccctctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
 cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360

cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc tacatcgatg tacgctggtt tcctttgat 480

gtgcagcact gcaaacgaa gtttgggtcc tggctttacg gagctggtc cttggatctg 540
cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccgaatg gagaatggga cctagtggga 600
atccccggca agaggagtga aaggttctat gagtgctgca aagagcccta ccccgatgtc 660
accttcacag tgacatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccggctct 840
cgagcatctc tgccaaggt gtccgattcg gtaccattga ttgacattg gatggcagtt 900

tgctgctct ttgtgttctc agccctatta gaatatgctg ccgttaactt tgtgtctcgg 960
caacataagg agctgctccg attcaggagg aagcggagac atcacaagag ccccatgttg 1020
aatctattcc aggaggatga agctggagaa ggccgcttta acttctctgc ctatgggatg 1080
ggcccagcct gtctacaggc caaggatggc atctcagtca agggcgccaa caacagtaac 1140
accaccaacc cccctctgac accatctaag tccccagagg agatgcgaaa actcttcate 1200
cagagggcca agaagatcga caaaatatcc cgcattggct tccccatggc cttcctcatt 1260
ttcaacatgt tctactggat catctacaag attgtccgta gagaggacgt ccacaaccag 1320

tga 1323

<210> 25
<211> 440
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
<400> 25

Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu
1 5 10 15
Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu
20 25 30
Leu Val Lys Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser
35 40 45
Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp
50 55 60

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccggca agaggagtga aaggttctat gagtgctgca aagagcccta ccccgatgct 660

accttcacag tgacatgga gcggcagatg ggttactacc tgattcagat gtatatccc 720
 agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctccatga ccaccagag ctccgctct 840
 gagatcatgc ccgaacatc cgattcggta ccattgatag cccaggccat tgacatttgg 900
 atggcagttt gcctgctctt tgtgttctca gcctattag aatatgctgc cgttaacttt 960
 gtgtctcggc aacataagga gctgctccga ttcaggagga agcggagaca tcacaagagc 1020
 cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080

tatgggatgg gccagcctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140
 aacagtaaca ccaccaacce ccctctgca ccatctaagt ccccagagga gatgcgaaaa 1200
 ctcttcatcc agagggcaaa gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatggcc 1260
 ttctcattt tcaacatgtt ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgctc 1320
 cacaaccagt ga 1332

<210> 27

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 27

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

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

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

<210> 28

<211> 1332

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 28

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctcgcaacca ctaccgtct acttctccct gaggctcctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gaagaacaa gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactatit acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
 cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360

 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc tacatcgatg tacgtgggtt tcctttgat 480
 gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccgaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccgca agaggagtga aaggttctat gactgctgca aagagcccta ccccgatgctc 660
 accttcacag tgaccatgcg ccgcaggacg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720

agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780

 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctacacatga ccaccagag ctccggetct 840
 gagatcatgc ccgaacatc cgattcggta ccattgatag cccaggccat tgacatttgg 900
 atggcagttt gcctgctctt tgtgttctca gcctattag aatatgctgc cgttaacttt 960
 gtgtctcggc aacataagga gctgctccga ttcaggagga agcggagaca tcacaagagc 1020
 cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080
 tatgggatgg gccacgctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140
 aacagtaaca ccaccaacc cctctctgca ccatctaagt cccagagga gatgcgaaaa 1200

 ctcttcatcc agagggccaa gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatggcc 1260
 ttctcattt tcaacatggt ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgtc 1320
 cacaaccagt ga 1332

 <210> 29
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
 <400> 29
 Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

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

 85 90 95
 Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile
 100 105 110

Leu Leu Tyr Asn Ser Ala Asp Glu Arg Phe Asp Ala Thr Phe His Thr
 115 120 125
 Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp
 145 150 155 160
 Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175
 Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro
 180 185 190
 Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220
 Thr Met Arg Arg Arg Thr Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240
 Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met
 245 250 255
 Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr
 260 265 270
 Met Thr Thr Gln Ser Ser Gly Ser Glu Ile Met Pro Ala Thr Ser Asp
 275 280 285
 Ser Val Pro Leu Ile Ala Gln Ala Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys
 290 295 300
 Leu Leu Phe Val Phe Ser Ala Leu Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe
 305 310 315 320
 Val Ser Arg Gln His Lys Glu Leu Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg
 325 330 335
 His His Lys Ser Pro Met Leu Asn Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly
 340 345 350
 Glu Gly Arg Phe Asn Phe Ser Ala Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu

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

405 410 415
 Phe Pro Met Ala Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr
 420 425 430
 Lys Ile Val Arg Arg Glu Asp Val His Asn Gln

435 440

<210> 30

<211> 1332

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 30

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacctcctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gaagaacaa gttttaacca ccaacattg gctgcaaatg 240
 tcttgacag atcactatit acagtggaat gtgtcagaat atccagggt gaagactgtt 300
 cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattctt tctataacag tgctgatgag 360
 cgcttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc tacatgatg tacgtggtt tcccttgat 480
 gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggtggtc cttggatctg 540

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccgca agaggagtga aaggttctat gactgctgca aagagcccta cccgatgtc 660
 accttcacag tgaccatgcg ccgcaggacg ctctactacc tgattcagat gtatattccc 720
 agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccggtctt 840
 gagatcatgc ccgcaacatc cgattcggta ccattgatag cccaggccat tgacatttgg 900

atggcagttt gcctgctctt tgtgttctca gcctattag aatagctgc cgtaaacttt 960

gigtctcggc aacataagga gctgctccga ttcaggagga agcggagaca tcacaagagc 1020

cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080

tatgggatgg gccacgctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140

aacagtaaca ccaccaacc cctctctgca ccatctaagt ccccagagga gatgcgaaaa 1200

ctcttcatcc agagggccaa gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatgccc 1260

ttctcattt tcaacatggt ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgtc 1320

cacaaccagt ga 1332

<210> 31

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 31

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

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

Lys Ile Val Arg Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435 440

<210> 32

<211> 1320

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 32

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgctgctcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctcgcaacca ctaccgtct acttctccct gaggctcctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240

 tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
 cgtttccag atggccagat ttggaaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc cccatggact tgaagaattt ccccatggat 480
 gtccagacat gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggtggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtgca aagagcccta ccccgatgct 660

 accttcacag tgaccatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
 agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccggctct 840
 cgagcatctc tgccaaggt gtcctatgtg aaagccattg acatttggat ggcagtttgc 900
 ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960
 cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020

ctattccagg aggatgaagc tggagaaggc cgctttaact tctctgccta tgggatgggc 1080

ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140

accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200

aggccaaga agatcgacaa aatatccgc attggcttcc ccatggcctt cctcatttc 1260

aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtcgtagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 33

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 33

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

 20 25 30

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

 35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

 50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

 85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

 100 105 110

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

 115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

 130 135 140

Ile Phe Lys Ser Ser Cys Pro Met Asp Leu Lys Asn Phe Pro Met Asp

145 150 155 160

Val Gln Thr Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175

Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro
 180 185 190

Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205

Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220

Thr Met Arg Arg Arg Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240

Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met
 245 250 255

Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr
 260 265 270

Met Thr Thr Gln Ser Ser Gly Ser Arg Ala Ser Leu Pro Lys Val Ser
 275 280 285

Tyr Val Lys Ala Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys Leu Leu Phe Val
 290 295 300

Phe Ser Ala Leu Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe Val Ser Arg Gln
 305 310 315 320

His Lys Glu Leu Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg His His Lys Ser
 325 330 335

Pro Met Leu Asn Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly Glu Gly Arg Phe
 340 345 350

Asn Phe Ser Ala Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu Gln Ala Lys Asp
 355 360 365

Gly Ile Ser Val Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr Thr Asn Pro Pro
 370 375 380

Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln
 385 390 395 400

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

aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtcgtagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 35

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 35

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

130 135 140

Ile Phe Lys Ser Ser Cys Pro Met Asp Leu Lys Asn Phe Pro Phe Asp

145 150 155 160

Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp

165 170 175

Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

180 185 190

Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220
 Thr Met Arg Arg Arg Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240

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

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

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

 Arg Glu Asp Val His Asn Gln

435

<210> 36

<211> 1320

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 36

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacccctctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gacaacatg gttttaacca ccaacattg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactatit acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattctt tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc tacatcgatg tacgttggtt tccctttgat 480
 gtgcagcact gcaaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggttggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccgaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtgca aagagcccta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgaccatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatatccc 720

agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctccatga ccaccagag ctccggctct 840
 cgagcatctc tgcccaaggt gtccatgtg aaagccattg acatttgat ggcagtttg 900
 ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960
 cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
 ctattccagg aggatgaagc tggagaagc cgttttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
 ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140

accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
 agggccaaga agatcgacaa aatatcccgc attggcttcc ccatggcctt cctcattttc 1260
 aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtccgtagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 37

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 37

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Thr Thr Met Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly

130 135 140

Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp

145 150 155 160

Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp

165 170 175

Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

180 185 190

Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg

195 200 205

Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val

210 215 220

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 38

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgctgctcct gcacgtgtcc 60
ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagagccccg tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gagcctcctg 180
cagatcatgg acattgctga gacaacatg gacttaacca ccaacattg getgcaaatg 240
tcttggacag atcactatct acagtggat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300
cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattctt tctataacag tgctgatgag 360
cgcttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
ctgcctccag gcatattcaa gattcctgc cccatggact tgaagaattt ccccatggat 480
gtccagacat gcaaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
atccccgca agaggagtga aaggttctat gattgctgca aagagcccta ccccgatgctc 660
accttcacag tgaccatcgc ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctaccatga ccaccagag ctccgctct 840
cgagcatctc tgcccaagg gtccatgtg aaagccattg acattggat ggcagtttgc 900
ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960

cataaggagc tgetccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
ctattccagg aggatgaagc tggagaaggc cgctttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140
accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
aggccaaga agatcgacaa aatatccgc attggcttcc ccatggcctt cctcattttc 1260
aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtccttagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 39

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 39

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

1 5 10 15
 Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu
 20 25 30
 Leu Val Lys Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser
 35 40 45
 Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

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

 115 120 125
 Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Pro Met Asp Leu Lys Asn Phe Pro Met Asp
 145 150 155 160
 Val Gln Thr Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175
 Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro

 180 185 190
 Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220
 Thr Met Arg Arg Arg Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 225 230 235 240
 Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met

 245 250 255

Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr
 260 265 270

Met Thr Thr Gln Ser Ser Gly Ser Arg Ala Ser Leu Pro Lys Val Ser
 275 280 285

Tyr Val Lys Ala Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys Leu Leu Phe Val
 290 295 300

Phe Ser Ala Leu Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe Val Ser Arg Gln
 305 310 315 320

His Lys Glu Leu Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg His His Lys Ser
 325 330 335

Pro Met Leu Asn Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly Glu Gly Arg Phe
 340 345 350

Asn Phe Ser Ala Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu Gln Ala Lys Asp
 355 360 365

Gly Ile Ser Val Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr Thr Asn Pro Pro
 370 375 380

Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln
 385 390 395 400

Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly Phe Pro Met Ala
 405 410 415

Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg
 420 425 430

Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435

<210> 40

<211> 1320

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 40

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgctgctcct gcacgtgtcc 60

ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagaggcccg tggccaatga ctcgcaacca ctcaccgtct acttctccct gaggcctcctg 180
 cagatcatgg acgtggatga gacaacatg gttttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc cccatggact tgaagaattt ccccatggat 480
 gtccagacat gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtgca aagagcccta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgaccatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720

agcctgctca ttgtcatcct ctcattggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctcacatga ccaccagag ctccggctct 840
 cgagcatctc tgccaaggt gtcctatgtg aaagccattg acatttggat ggcagtttgc 900
 ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960
 cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
 ctattccagg aggatgaagc tggagaagc cgttttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
 ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140

accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
 agggccaaga agatcgacaa aatatcccgc attggcttcc ccatggcett cctcattttc 1260
 aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtccgtagag aggacgtcca caaccagtga 1320

<210> 41

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 41

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20

25

30

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

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

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

405 410 415
 Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg
 420 425 430
 Arg Glu Asp Val His Asn Gln

435

<210> 42

<211> 1317

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 42

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgtcct gcacgtgtcc 60

ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacctcctg 180

cagatcatgg acgtggatga gacaaccatg gttttaacca ccaacattg gctgcaaatg 240

tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360

cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc cccatggact tgaagaattt ccccatggat 480
 gtccagacat gcaaactgaa gtttgggtcc tggctcttac gaggctggtc cttggatctg 540

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg gagaatggga cctagtggga 600
 atccccggca agaggagtga aaggttctat gagtgtctga aagagcccta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgacatgga gcggcagatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720
 agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctacacatga ccaccagag ctccggctct 840
 cgagcatctc tgcccaagggt gtcctatgtg aaagccattg acatttggat ggcagtttgc 900
 ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960

cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
 ctattccagg aggatgaagc tggagaaggc cgctttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
 ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140
 accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
 agggccaaga agatcgacaa aatatccgc attggcttcc ccatggcctt cctcattttc 1260
 aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtccttagag aggacgtcca caaccag 1317

<210> 43

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 43

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Thr Thr Met Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

His Lys Glu Leu Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg His His Lys Ser
 325 330 335
 Pro Met Leu Asn Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly Glu Gly Arg Phe
 340 345 350
 Asn Phe Ser Ala Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu Gln Ala Lys Asp
 355 360 365
 Gly Ile Ser Val Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr Thr Asn Pro Pro
 370 375 380
 Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln
 385 390 395 400
 Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly Phe Pro Met Ala
 405 410 415
 Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg
 420 425 430
 Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435

<210> 44

<211> 1317

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 44

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgcctct gcacgtgtcc 60
 ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120
 gagaggcccc tggccaatga ctcgcaacca ctaccgtct acttctccct gacccctctg 180
 cagatcatgg acattgctga gacaacatg gacttaacca ccaacatttg gctgcaaatg 240
 tcttggacag atcactattt acagtggaat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

 cgtttcccag atggccagat ttggaacca gacattcttc tctataacag tgctgatgag 360
 cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact cttctgggca ttgccagtac 420
 ctgcctccag gcatattcaa gatttctgc cccatggact tgaagaattt ccccatggat 480
 gtccagacat gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540
 cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccgaatg gagaatggga ctagtggga 600

atccccggca agaggagtga aaggttctat gaggctgca aagagcccta ccccgatgtc 660
 accttcacag tgaccatgga gcggcagatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720

agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780
 gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctccatga ccaccagag ctccggtctt 840
 cgagcatctc tgcccaaggt gtcctatgtg aaagccattg acatttggat ggcagtttgc 900
 ctgctctttg tgttctcagc cctattagaa tatgctgccg ttaactttgt gtctcggcaa 960
 cataaggagc tgctccgatt caggaggaag cggagacatc acaagagccc catgttgaat 1020
 ctattccagg aggatgaagc tggagaaggc cgctttaact tctctgccta tgggatgggc 1080
 ccagcctgtc tacaggccaa ggatggcatc tcagtcaagg gcgccaacaa cagtaacacc 1140

accaaccccc ctctgcacc atctaagtcc ccagaggaga tgcgaaaact cttcatccag 1200
 agggccaaga agatcgacaa aatatcccgc attggcttcc ccatggcett cctcattttc 1260
 aacatgttct actggatcat ctacaagatt gtcgtagag aggacgtcca caaccag 1317

<210> 45

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 45

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

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

 20 25 30

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

 35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

 50 55 60

Ile Ala Glu Thr Thr Met Asp Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

 85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

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

405 410 415
 Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg
 420 425 430
 Arg Glu Asp Val His Asn Gln

435

<210> 46

<211> 1329

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 46

atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg cgtcgctcct gcacgtgtcc 60

ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg tcaagaacta caatcccttg 120

gagaggcccc tggccaatga ctgcaacca ctaccgtct acttctcct gacctcctg 180

cagatcatgg acgtggatga gacaaccatg gttttaacca ccaacattg gctgcaaatg 240

tcttggacag atcactatct acagtggat gtgtcagaat atccaggggt gaagactgtt 300

cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattctt tctataacag tgctgatgag 360

cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaact ettctgggca ttgccagtac 420

ctgcctccag gcatattcaa gattcctgc tacatcgatg tacgctgggt tccctttgat 480

gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg gaggctggtc cttggatctg 540

cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atcccaatg gagaatggga cctagtggga 600

atccccggca agaggagtga aaggttctat gactgctgca aagagcccta ccccgatgct 660

accttcacag tgaccatgcg ccgcaggatg ggttactacc tgattcagat gtatattccc 720

agcctgctca ttgtcatcct ctcatggatc tccttctgga tcaacatgga tgctgcacct 780

gctcgtgtgg gcctaggcat caccactgtg ctccatga ccaccagag ctccgctct 840

gagatcatgc ccgcaacatc cgattcggta ccattgatag cccaggccat tgacatttgg 900
 atggcagttt gcctgctctt tgtgttctca gcctattag aatatgctgc cgttaacttt 960

gtgtctcggc aacataagga gctgetccga ttcaggagga agcggagaca tcacaagagc 1020
 cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080
 tatgggatgg gccagcctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140
 aacagtaaca ccaccaacce ccctctgca ccatctaagt ccccagagga gatgcgaaaa 1200
 ctcttcatcc agagggccaa gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatggcc 1260
 ttctcattt tcaacatggt ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgtc 1320
 cacaaccag 1329

<210> 47

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC

<400> 47

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

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60

Val Asp Glu Thr Thr Met Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met

65 70 75 80

Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly

85 90 95

Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp
 145 150 155 160
 Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175

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

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

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

 Gln Ala Lys Asp Gly Ile Ser Val Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr

cccatgttga atctattcca ggaggatgaa gctggagaag gccgctttaa cttctctgcc 1080
 tatgggatgg gccagcctg tctacaggcc aaggatggca tctcagtcaa gggcgccaac 1140
 aacagtaaca ccaccaacce ccctctcgca ccatctaagt ccccagagga gatgcgaaaa 1200
 ctcttcatcc agagggcca gaagatcgac aaaatatccc gcattggctt ccccatggcc 1260
 ttctcattt tcaacatgtt ctactggatc atctacaaga ttgtccgtag agaggacgtc 1320
 cacaaccagt ga 1332

<210> 49
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
 <400> 49

Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu
 20 25 30
 Leu Val Lys Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser
 35 40 45
 Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp
 50 55 60
 Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly
 85 90 95
 Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile
 100 105 110
 Leu Leu Tyr Asn Ser Ala Asp Glu Arg Phe Asp Ala Thr Phe His Thr
 115 120 125
 Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Pro Met Asp Leu Lys Asn Phe Pro Met Asp

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

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

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

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

 Thr Asn Pro Pro Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys
 385 390 395 400

Leu Phe Ile Gln Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly
 405 410 415

Phe Pro Met Ala Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr
 420 425 430

Lys Ile Val Arg Arg Glu Asp Val His Asn Gln
 435 440

<210> 50
 <211> 451

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
 <400> 50

Met Leu Leu Trp Val Gln Gln Ala Leu Leu Ala Leu Leu Leu Pro Thr
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg Asn Thr Thr Arg Pro
 20 25 30

Ala Leu Leu Arg Leu Ser Asp Tyr Leu Leu Thr Asn Tyr Arg Lys Gly
 35 40 45

Val Arg Pro Val Arg Asp Trp Arg Lys Pro Thr Thr Val Ser Ile Asp
 50 55 60

Val Ile Val Tyr Ala Ile Leu Asn Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu
 65 70 75 80

Thr Thr Tyr Ile Trp Tyr Arg Gln Tyr Trp Thr Asp Glu Phe Leu Gln
 85 90 95

Trp Asn Pro Glu Asp Phe Asp Asn Ile Thr Lys Leu Ser Ile Pro Thr
 100 105 110

Asp Ser Ile Trp Val Pro Asp Ile Leu Ile Asn Glu Phe Val Asp Val
 115 120 125

Gly Lys Ser Pro Asn Ile Pro Tyr Val Tyr Ile Arg His Gln Gly Glu
 130 135 140

Val Gln Asn Tyr Lys Pro Leu Gln Val Val Thr Ala Cys Ser Leu Asp
 145 150 155 160

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

145 150 155 160
 Ile Tyr Asn Phe Pro Phe Asp Val Gln Asn Cys Ser Leu Thr Phe Thr

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

 225 230 235 240
 Gln Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro Ser Leu Leu Ile
 245 250 255
 Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met Asp Ala Ala Pro
 260 265 270
 Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr Met Thr Thr Gln
 275 280 285
 Ser Ser Gly Ser Arg Ala Ser Leu Pro Lys Val Ser Tyr Val Lys Ala

 290 295 300
 Ile Asp Ile Trp Met Ala Val Cys Leu Leu Phe Val Phe Ser Ala Leu
 305 310 315 320
 Leu Glu Tyr Ala Ala Val Asn Phe Val Ser Arg Gln His Lys Glu Leu
 325 330 335
 Leu Arg Phe Arg Arg Lys Arg Arg His His Lys Ser Pro Met Leu Asn
 340 345 350
 Leu Phe Gln Glu Asp Glu Ala Gly Glu Gly Arg Phe Asn Phe Ser Ala

 355 360 365
 Tyr Gly Met Gly Pro Ala Cys Leu Gln Ala Lys Asp Gly Ile Ser Val
 370 375 380
 Lys Gly Ala Asn Asn Ser Asn Thr Thr Asn Pro Pro Pro Ala Pro Ser
 385 390 395 400

Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln Arg Ala Lys Lys
 405 410 415
 Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly Phe Pro Met Ala Phe Leu Ile Phe
 420 425 430
 Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg Arg Glu Asp Val
 435 440 445
 His Asn Gln
 450
 <210> 52
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence of chimeric LGIC
 <400> 52
 Met Trp Gly Leu Ala Gly Gly Arg Leu Phe Gly Ile Phe Ser Ala Pro
 1 5 10 15
 Val Leu Val Ala Val Val Cys Cys Ala Gln Ser Val Asn Asp Pro Gly
 20 25 30
 Asn Met Ser Phe Val Lys Glu Thr Val Asp Lys Leu Leu Lys Gly Tyr
 35 40 45
 Asp Ile Arg Leu Arg Pro Asp Phe Gly Gly Pro Pro Val Cys Val Gly
 50 55 60
 Met Asn Ile Asp Ile Ala Ser Ile Asp Met Val Ser Glu Val Asn Met
 65 70 75 80
 Asp Tyr Thr Leu Thr Met Tyr Phe Gln Gln Tyr Trp Arg Asp Lys Arg
 85 90 95
 Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Leu Asn Leu Thr Leu Asp Asn Arg Val
 100 105 110
 Ala Asp Gln Leu Trp Val Pro Asp Thr Tyr Phe Leu Asn Asp Lys Lys
 115 120 125
 Ser Phe Val His Gly Val Thr Val Lys Asn Arg Met Ile Arg Leu His
 130 135 140

Pro Asp Gly Thr Val Leu Tyr Gly Leu Arg Ile Thr Thr Thr Ala Ala
 145 150 155 160
 Cys Met Met Asp Leu Arg Arg Tyr Pro Leu Asp Glu Gln Asn Cys Thr
 165 170 175
 Leu Glu Ile Glu Ser Tyr Gly Tyr Thr Thr Asp Asp Ile Glu Phe Tyr
 180 185 190
 Trp Arg Gly Gly Asp Lys Ala Val Thr Gly Val Glu Arg Ile Glu Leu
 195 200 205
 Pro Gln Phe Ser Ile Val Glu His Arg Leu Val Ser Arg Asn Val Val

 210 215 220
 Phe Ala Thr Gly Ala Tyr Pro Arg Leu Ser Leu Ser Phe Arg Leu Lys
 225 230 235 240
 Arg Asn Ile Gly Tyr Met Gly Tyr Tyr Leu Ile Gln Met Tyr Ile Pro
 245 250 255
 Ser Leu Leu Ile Val Ile Leu Ser Trp Ile Ser Phe Trp Ile Asn Met
 260 265 270
 Asp Ala Ala Pro Ala Arg Val Gly Leu Gly Ile Thr Thr Val Leu Thr

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

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

385 390 395 400
 Pro Ala Pro Ser Lys Ser Pro Glu Glu Met Arg Lys Leu Phe Ile Gln

 405 410 415
 Arg Ala Lys Lys Ile Asp Lys Ile Ser Arg Ile Gly Phe Pro Met Ala

 420 425 430
 Phe Leu Ile Phe Asn Met Phe Tyr Trp Ile Ile Tyr Lys Ile Val Arg

 435 440 445
 Arg Glu Asp Val His Asn Gln

 450 455

<210> 53

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal amino acids of GABAR1

<400> 53

Ile Asp Arg Leu Ser Arg Ile Ala Phe Pro Leu Leu Phe Gly Ile Phe
 1 5 10 15

Asn Leu Val Tyr Trp Ala Thr Tyr Leu Asn Arg Glu Pro Gln Leu
 20 25 30

<210> 54

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid residues 260-281 of human CHRNA7

<400> 54

Glu Lys Ile Ser Leu Gly Ile Thr Val Leu Leu Ser Leu Thr Val Phe
 1 5 10 15

Met Leu Leu Val Ala Glu
 20

<210> 55

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide sequence

<400> 55

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

1 5 10 15

Phe Met Ser Gly Val Ala Asn

20

<210> 56

<211> 1780

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 56

atgttgtcaa gtgtaatggc tcccctgtgg gcctgcatcc tggaggctgc aggaattcta 60

gccacagata cacatcatcc ccaggattct gctctgtatc atctcagcaa gcagctatta 120

cagaaatatc ataaagaagt gagacctgtt tacaactgga ccaaggccac cacagictac 180

ctggacctgt tcgtccatgc tatattggat gtggatgcag agaatcaaat attaaagaca 240

agtgtatggt accaagaggt ctggaatgat gaatTTTTat cctggaactc cagcatgttt 300

gatgagatta gagagatctc cctacctctc agtgccatct gggccccga tatcatcatc 360

aatgagtttg tggacattga aagataccct gaccttcct atgtttatgt gaactcatct 420

gggaccattg agaactataa gcccatccag gtggtctctg cgtgcagttt agagacatat 480

gcttttccat ttgatgtcca gaattgcagc ctgaccttca agagcattct gcatacagtg 540

gaagacgtag acctggcctt tctgaggagc ccagaagaca ttcagcatga caaaaaggcg 600

tttttgaatg acagtgagtg ggaacttctc tctgtgtcct ccacatacag catcctgcag 660

agcagcgctg gaggatttgc acagattcag tttaatgtgg tgatgcgcag gcacccctg 720

gtctatgtcg tgagtctgct gattcctagc atctttctca tgctggtgga cctggggagc 780

ttctacctgc cacccaactg ccgagccagg attgtgttca agaccagtgt gctggggggc 840

tacaccgtct tcaggttcaa catgtccaac caggtgccac ggagtgtagg gaccaccct 900

ctgattgggc acttcttcac catctgcatg gccttcttgg ttctcagctt agctaagtcc 960

atcgtgttgg tcaaattcct ccatgatgag cagcgtggtg gacaggagca gccttcttg 1020

tgcttcgag gggacaccga tgctgacagg cctagagtgg aaccagggc ccaactgct 1080

gtggtaacag agtcctcgct gtatggagag cacctggccc agccaggaac cctgaaggaa 1140

gtctggtcgc agcttcaatc tatcagcaac tacctcaaaa ctcaggacca gacagaccaa 1200

caggaggcag agtggctggt cctcctgtcc cgctttgacc gactgctctt ccaaagctac 1260
 cttttcatgc tggggatcta caccatcact ctgtgctccc tctgggcact gtggggcggc 1320

gtgtgaagac tgaagtgttc ttcagtaatt gtgctggcac ttaggagaga gaggaggggg 1380
 aataatagtg ggtaaaaag ctttctgggt cgggtgtggt ggttcttgcc tatagtccca 1440
 gtgctttggg aggccatagc aggaggattg cttgagccca ggagttcgag accagccaga 1500
 gcaacatagt gagaccacat ctctaccagt aaataaataa ataaataaat aaataaataa 1560
 ataaataaat agctgggcat agtggctcat gcctgtactc tcagctactt gggaggttga 1620
 ggtgggagga ttgcttgagc ccaggatttc aaggctgcag tgagccatga ttgcaccact 1680
 gcaccccagc ctgggtgaca gagcaagacc ctgtctcaaa aaaaataaaa taaaaggctt 1740

tctgccttca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1780

<210> 57

<211> 441

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Met Leu Ser Ser Val Met Ala Pro Leu Trp Ala Cys Ile Leu Val Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr His Leu Ser Lys Gln Leu Leu Gln Lys Tyr His Lys Glu Val Arg

35 40 45

Pro Val Tyr Asn Trp Thr Lys Ala Thr Thr Val Tyr Leu Asp Leu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Val Trp Tyr Gln Glu Val Trp Asn Asp Glu Phe Leu Ser Trp Asn

85 90 95

Ser Ser Met Phe Asp Glu Ile Arg Glu Ile Ser Leu Pro Leu Ser Ala

100 105 110

Ile Trp Ala Pro Asp Ile Ile Ile Asn Glu Phe Val Asp Ile Glu Arg

115 120 125

Tyr Pro Asp Leu Pro Tyr Val Tyr Val Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu
 130 135 140
 Asn Tyr Lys Pro Ile Gln Val Val Ser Ala Cys Ser Leu Glu Thr Tyr
 145 150 155 160
 Ala Phe Pro Phe Asp Val Gln Asn Cys Ser Leu Thr Phe Lys Ser Ile
 165 170 175

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

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

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

 Gly Glu His Leu Ala Gln Pro Gly Thr Leu Lys Glu Val Trp Ser Gln

370 375 380
 Leu Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Gln Thr Gln Asp Gln Thr Asp Gln
 385 390 395 400
 Gln Glu Ala Glu Trp Leu Val Leu Leu Ser Arg Phe Asp Arg Leu Leu
 405 410 415
 Phe Gln Ser Tyr Leu Phe Met Leu Gly Ile Tyr Thr Ile Thr Leu Cys
 420 425 430

 Ser Leu Trp Ala Leu Trp Gly Gly Val
 435 440