



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월13일

(11) 등록번호 10-2239886

(24) 등록일자 2021년04월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/50 (2006.01) C07K 7/64 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 7/50 (2013.01)
C07K 7/64 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0042544

(22) 출원일자 2019년04월11일

심사청구일자 2019년04월11일

(65) 공개번호 10-2019-0118984

(43) 공개일자 2019년10월21일

(30) 우선권주장
1020180042366 2018년04월11일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌
KR101581926 B1*

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 5 항

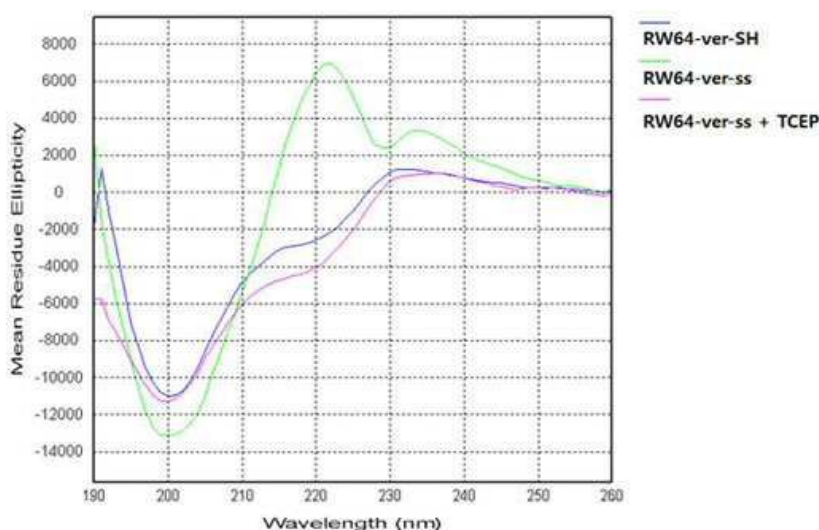
심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 환원-감응성 펩타이드 구조체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 환원적 환경에 감응하는 펩타이드 구조체 및 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도19



(56) 선행기술조사문헌

KR1020180016079 A

KR1020140133478 A

KR1020110002794 A

J. AM. CHEM. SOC., Vol. 132, pp.
9526-9527(2010.04.21.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017R1A2A2A05069773

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 중견연구(후속연구지원)

연구과제명 고차원 자기조립 인공단백질 소재의 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교

연구기간 2017.09.01 ~ 2020.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

하기 구조식 1로 표시되고, 2개의 시스테인 잔기를 포함하는 환원-감응성 펩타이드 구조체로서,

[구조식 1]



상기 식에서

상기 X는 하나 이상의 친수성 아미노산 또는 친수성 기능기이고;

상기 H는 하나 이상의 소수성 아미노산 또는 소수성 β -sheet 서열이고;

상기 A는 링커이며;

상기 X가 친수성 아미노산일 때 n은 6 내지 8이고;

상기 X가 친수성 기능기일 때 n은 2이며;

상기 H가 소수성 아미노산일 때 m은 4 내지 6이며;

상기 H가 소수성 β -sheet 서열일 때 m은 1이며,

상기 친수성 기능기는 RGD 펩타이드로 이루어지고,

상기 소수성 β -sheet 서열은 WKWEEKWE 서열로 이루어진,

상기 펩타이드 구조체는 서열번호 2, 3, 5 내지 13 및 15 내지 17 중 하나 이상의 아미노산 서열로 이루어진 것인, 펩타이드 구조체.

청구항 8

하기 구조식 1로 표시되고, 2개의 시스테인 잔기를 포함하는 환원-감응성 펩타이드 구조체로서,

[구조식 1]

X_n-A-H_m

상기 식에서

상기 X는 하나 이상의 친수성 아미노산 또는 친수성 기능기이고;

상기 H는 하나 이상의 소수성 아미노산 또는 소수성 β -sheet 서열이고;

상기 A는 링커이며;

상기 X가 친수성 아미노산일 때 n은 6 내지 8이고;

상기 X가 친수성 기능기일 때 n은 2이며;

상기 H가 소수성 아미노산일 때 m은 4 내지 6이며;

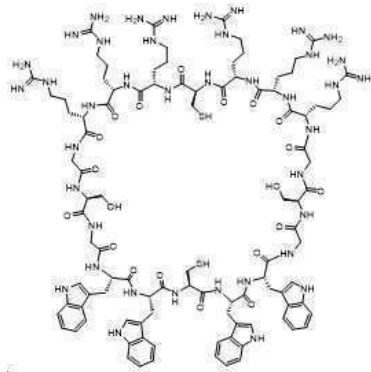
상기 H가 소수성 β -sheet 서열일 때 m은 1이며,

상기 친수성 기능기는 RGD 펩타이드로 이루어지고,

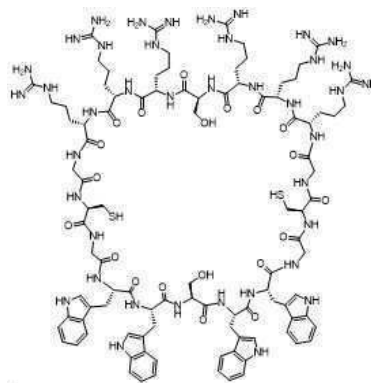
상기 소수성 β -sheet 서열은 WKWEWKWE 서열로 이루어진,

상기 펩타이드 구조체는 하기 화학식 2, 3, 5 내지 13 및 15 내지 17로 표시되는 구조체 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 펩타이드 구조체.

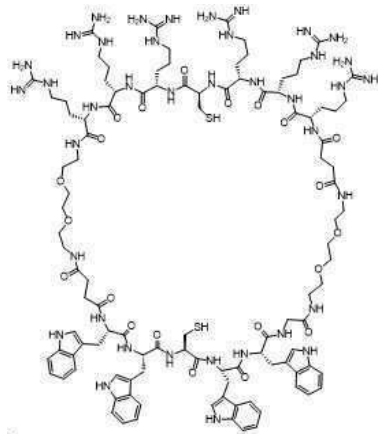
[화학식 2]



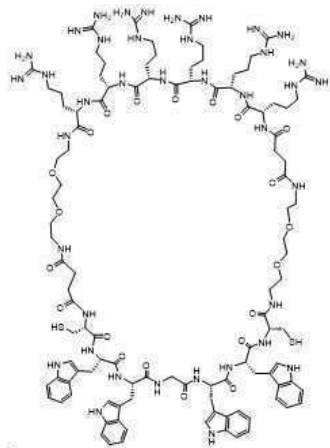
[화학식 3]



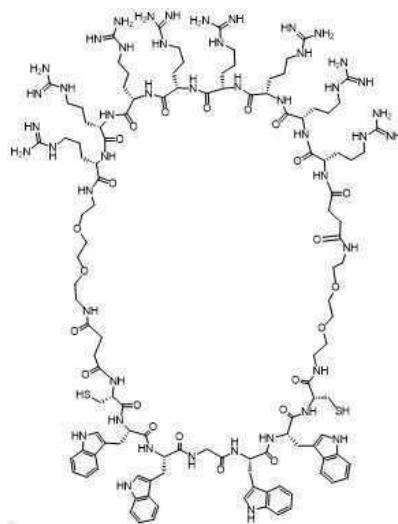
[화학식 5]



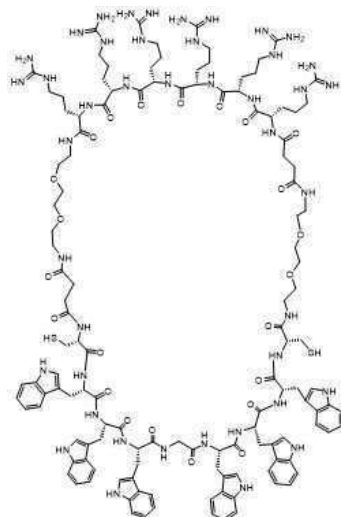
[화학식 6]



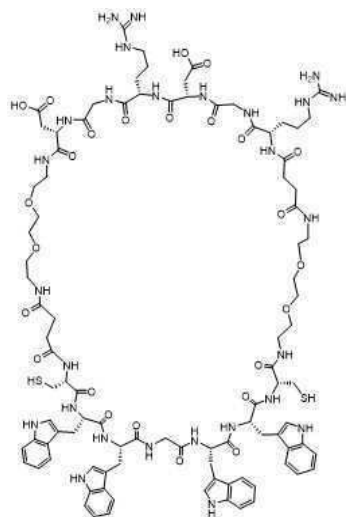
[화학식 7]



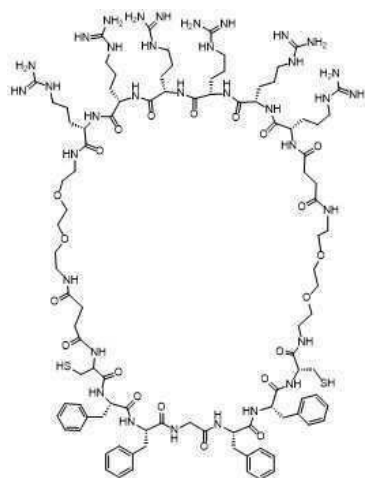
[화학식 8]



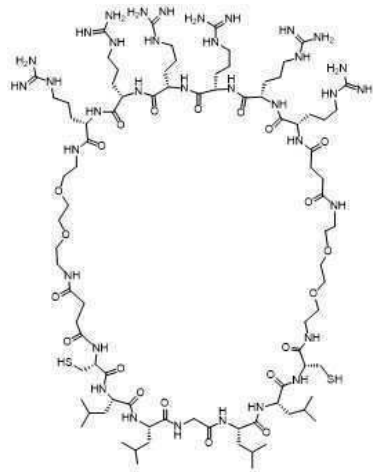
[화학식 9]



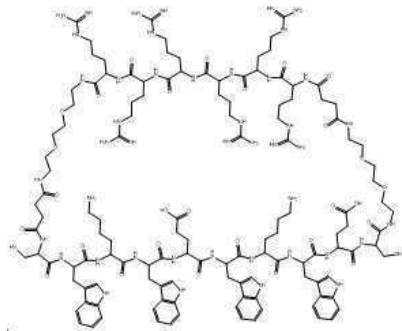
[화학식 10]



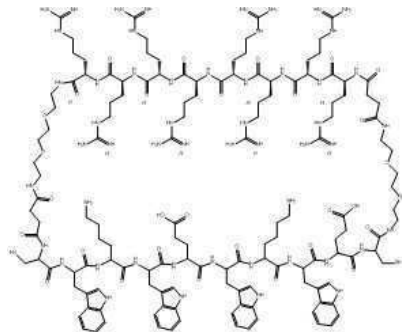
[화학식 11]



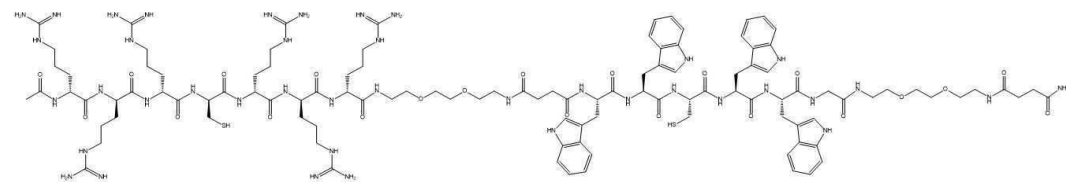
[화학식 12]



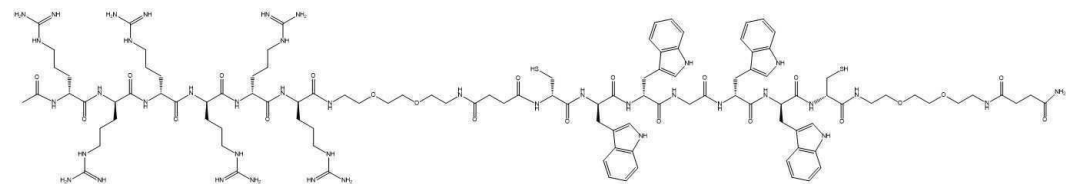
[화학식 13]



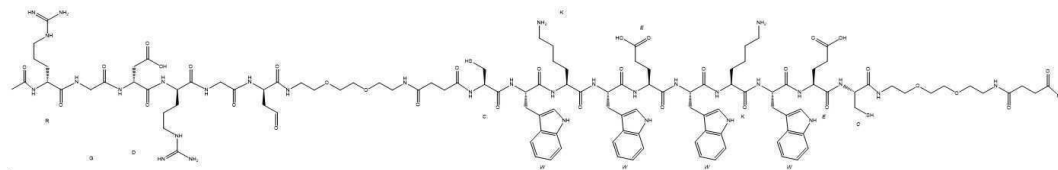
[화학식 15]



[화학식 16]



[화학식 17]



청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 펩타이드 구조체는 환원적 환경에서 자가조립하는 것인, 펩타이드 구조체.

청구항 12

제7항 또는 제8항의 펩타이드 구조체를 포함하는, 약물 전달용 조성물.

청구항 13

제7항 또는 제8항의 펩타이드 구조체를 포함하는, 조영제 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 환원적 환경에서 자가조립 구조를 형성하는 펩타이드 구조체 및 이의 다양한 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 과거 수년간, 항체, 항체 단편 및 세포 표면 수용체에 대한 리간드를 포함하는 광범위한 종양 특이적 치료용 단백질이 개발되어 있으며, 임상에서 시험되었다.

[0004] 펩타이드 자가조립은 최근 의학, 생명 분야에서 적합성과 다양한 응용성으로 각광받고 있다. 체내에 존재하는 물질인 펩타이드를 사용하기에 생체에 적합하여 불필요한 독성이 없으며 시간이 지나면 몸속에서 자연분해 되어 부작용을 최소화 할 수 있다.

[0005] 자가조립으로 만들어지는 다양한 구조들은 그 기능과 응용분야를 넓게 만들어준다. 약물을 특정 세포로 전달하는 약물전달 시스템이나 단백질의 구조를 변형시켜 약을 만드는 등 다양한 방향으로 연구되고 있다.

[0006] 자가조립이란 분자들 간의 인력, 반발력 등으로 인해 분자가 특정한 구조를 이루거나, 분자들이 모여 큰 단위체를 이루는 것을 말한다. 단백질이나 펩타이드를 이루는 다양한 아미노산 사슬은 소수성, 친수성, 양전하, 음전하 그리고 방향성 등 다양한 특성을 가지고 있어 사슬의 시퀀스에 따라 특정한 구조를 이루게 된다.

[0007] 아미노산 사슬은 α -helix, β -sheet 등의 2차 구조를 형성할 수 있으며, 소수성 결합, 수소결합, 정전기적 인력, 파이 파이 결합 등의 2차 결합을 통해 마이셀, 베시클, 나노파이버, 하이드로젤 등 다양한 구조를 형성할

수 있다.

- [0008] 자가조립에 작용하는 힘들은 주로 공유결합이 아닌 소수성, 정전기적 인력이나 수소결합과 같은 간접적인 힘들이기에, 이에 간섭하거나 방해하는 외부자극으로 자가조립 구조를 변화시킬 수 있다.
- [0009] 최근 이를 응용하여 세포 내부의 다양한 환경, 효소 등에 감응하는 펩타이드 자가조립에 대한 연구들이 진행되고 있다. 효소들에 의해 분자 내부 결합이 끊어지거나, pH에 의한 변화를 유도하는 연구는 활발히 진행되고 있지만 세포 내부 환원적 환경을 이용한 연구는 아직까지 널리 알려진 바 없다.
- [0010] 세포 내 글루타싸이온의 농도는 세포 외부에 비해 현저히 높은 수준으로 단백질이나 펩타이드의 이황화 결합이 쉽게 환원될 수 있다.
- [0011] 기존의 약물전달 방식은 외부에서 자가 조립을 이룬 뒤에 세포 내부로 들어가 분해되는 방식이었으나, 자가조립 구조의 크기로 인해 세포 내부로 도입되지 못하거나, 세포 내부에서 단분자 상태로 존재하므로 다양한 자가조립 구조의 활용성이 낮았다. 이에 따라 세포 환경에 맞추어 형성되어 약물전달 효율을 높일 수 있는 구조체의 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0013] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2014-0133478호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명의 목적은 환원 감응성 펩타이드 구조체를 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 환원 감응성 펩타이드 구조체를 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 목적은 환원 감응성 펩타이드 구조체를 포함하는 조영제 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0018] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 하기 구조식 1로 표시되고, 2개의 시스테인 잔기를 포함하는 환원-감응성 펩타이드 구조체에 관한 것이다.
- [0019] [구조식 1]
- [0020] X_n-A-H_m
- [0021] 상기 식에서
- [0022] 상기 X는 하나 이상의 친수성 아미노산이고;
- [0023] 상기 H는 하나 이상의 소수성 아미노산이고;
- [0024] 상기 A는 링커이며;
- [0025] 상기 n은 2 내지 8이고;
- [0026] 상기 m은 2 내지 6이다.
- [0027] 상기 펩타이드를 명명하는 일반적인 규칙은 구체적으로 지시된 예외사항이 없는 경우 3문자 또는 1문자 아미노산 코드를 기초로 할 수 있다. 예컨대, 아미노산 구조의 중심부를 3문자 코드(예컨대, Ala, Lys)로 표시하며, 3문자 코드의 앞에 "D-"를 적음으로써 D-입체형태(예컨대, D-Ala, D-Lys)를 구체적으로 지시하지 않은 경우라면 L-입체형태로 가정할 수 있다. 상기 펩타이드를 구성하는 아미노산 잔기는 천연 또는 비-천연아미노산 잔기일 수 있다.
- [0028] 구체적으로, 상기 X 는 친수성 아미노산으로 구성될 수 있고, 아르기닌, 글루타민, 아스파르트산, 글루탐산, 트

레오닌, 아스파라긴 및 세린으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있고,

[0029] 상기 H는 소수성 아미노산으로 구성될 수 있고, 트립토판, 페닐알라닌, 이소류신, 프롤린, 메티오닌, 발린, 알라닌 및 류신으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있다.

[0030] 또한 구체적으로, 상기 X는 시스테인을 추가로 포함하는 것일 수 있으며, 상기 H는 시스테인을 추가로 포함하는 것일 수 있다. 더욱 구체적으로, 상기 X는 하나의 시스테인을 포함하고, 상기 H는 하나의 시스테인을 포함할 수 있다. 또는 상기 H는 양 말단에 각각 시스테인을 포함할 수 있다.

[0031] 상기 시스테인 잔기는 상기 펩타이드 구조체의 자가조립을 억제할 수 있는 위치에 배치될 수 있고, 예컨대, 친수성 영역 및 소수성 영역이 가까워지도록 하는 이황화 결합 위치 또는 친수성 영역 및 소수성 영역이 가까워지기 어렵게 만드는 위치에 배치될 수 있다.

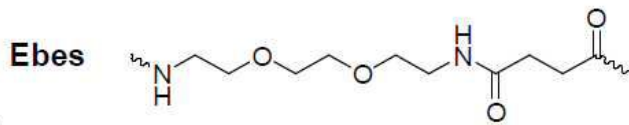
[0032] 특히, 상기 펩타이드 구조체는 통상의 조건에서 2개의 시스테인 잔기에 의한 이황화 결합에 의해 자가조립 구조를 이루기 어려우나, 환원적 환경에서 상기 이황화 결합이 절단되므로 다양한 구조로 자가조립할 수 있다.

[0033] 상기 펩타이드 구조체는 마이셀이나 베시클을 이룰 수 있다. 상기 펩타이드 구조체의 방향성 작용기를 가지고 있는 소수성 영역이 내부에 위치하고, 양전하를 띠는 친수성 부분이 외부에 위치하며, 아미노산 서열에 따라 파이버나 튜브 등 더욱 다양한 구조를 이룰 수 있다.

[0034] 상기 펩타이드 구조체는 친수성이 강하고 양전하의 아미노산이 많은 친수성 아미노산 영역, 반대편에 위치하는 소수성 아미노산 영역, 및 양자를 연결해주는 유연한 연결부위(링커)를 포함할 수 있다.

[0035] 상기 A는 링커로서 GSG시퀀스 또는 Ebes일 수 있다. 구체적으로, 상기 Ebes는 아래의 구조를 가지는 것일 수 있으나, 링커의 종류는 필요에 따라 적절히 변경하여 사용할 수 있다.

[0036] [구조식 2]



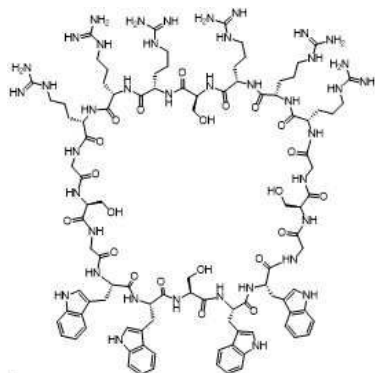
[0037]

[0038] 또한 구체적으로, 상기 펩타이드 구조체는 서열번호 1 내지 서열번호 17 중 하나 이상의 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있다.

[0039] 본 발명 일 실시예에서는 서열번호 1 내지 서열번호 17 중 하나 이상의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 구조체를 제조하였으며, 상기 펩타이드 구조체가 환원 조건에서 구조 및/또는 형태가 변형되는 것을 확인하였다.

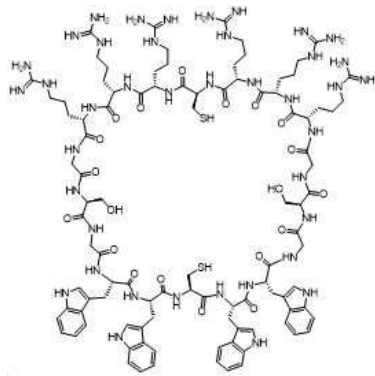
[0040] 구체적으로, 상기 펩타이드 구조체는 하기 화학식 1 내지 17로 표시되는 구조체 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 할 수 있다.

화학식 1



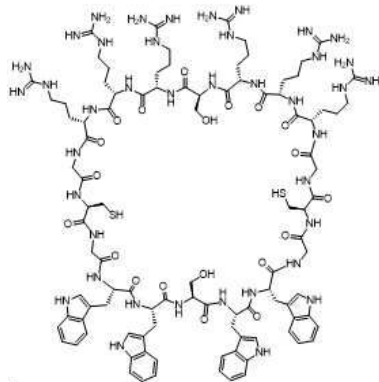
[0041]

화학식 2



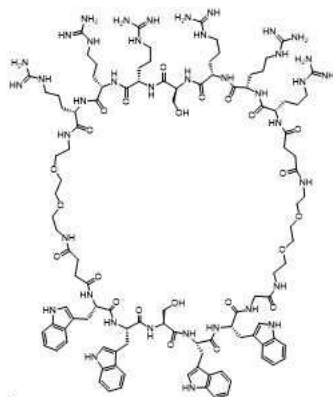
[0042]

화학식 3



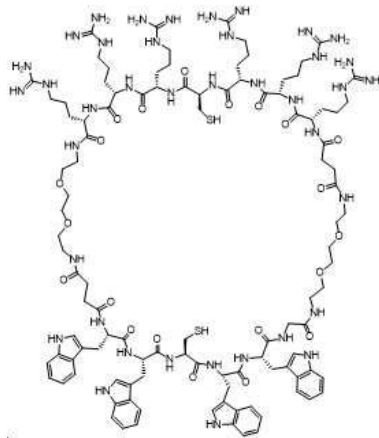
[0043]

화학식 4



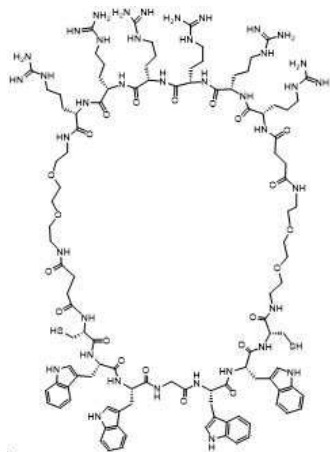
[0044]

화학식 5



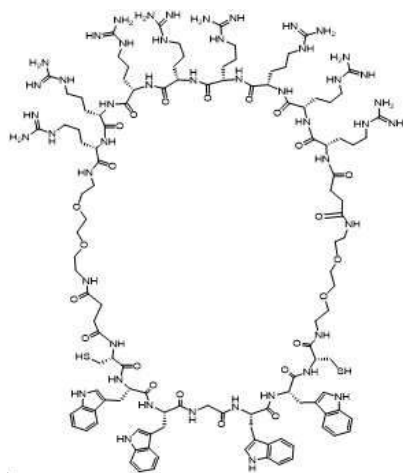
[0045]

화학식 6



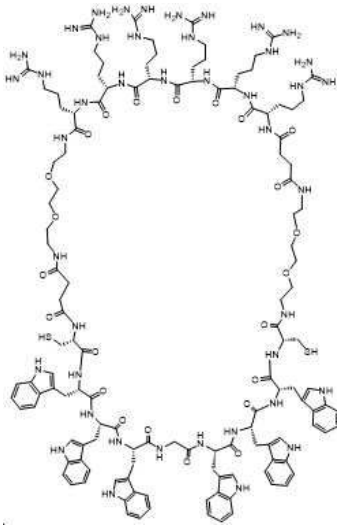
[0046]

화학식 7



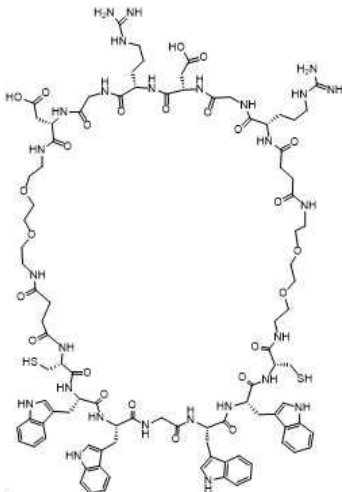
[0047]

화학식 8



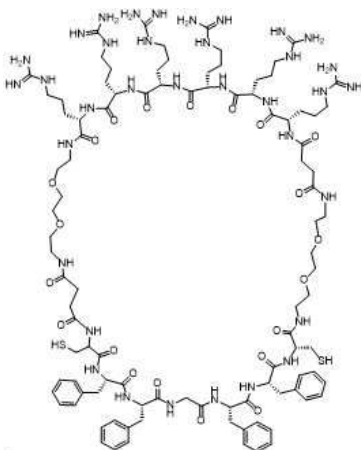
[0048]

화학식 9



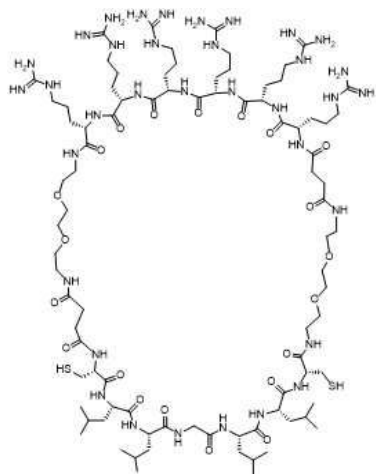
[0049]

화학식 10



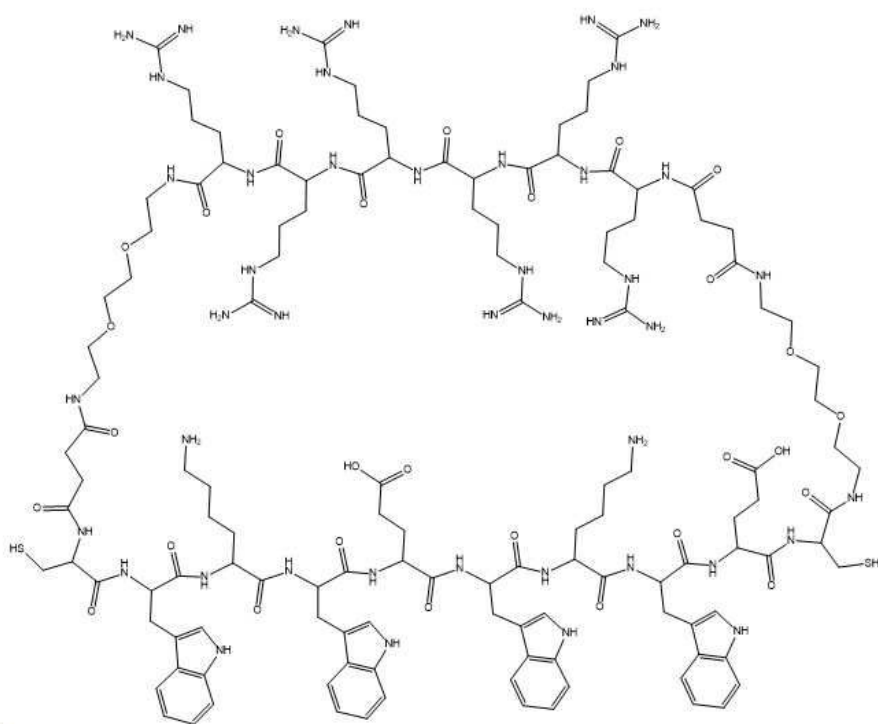
[0050]

화학식 11



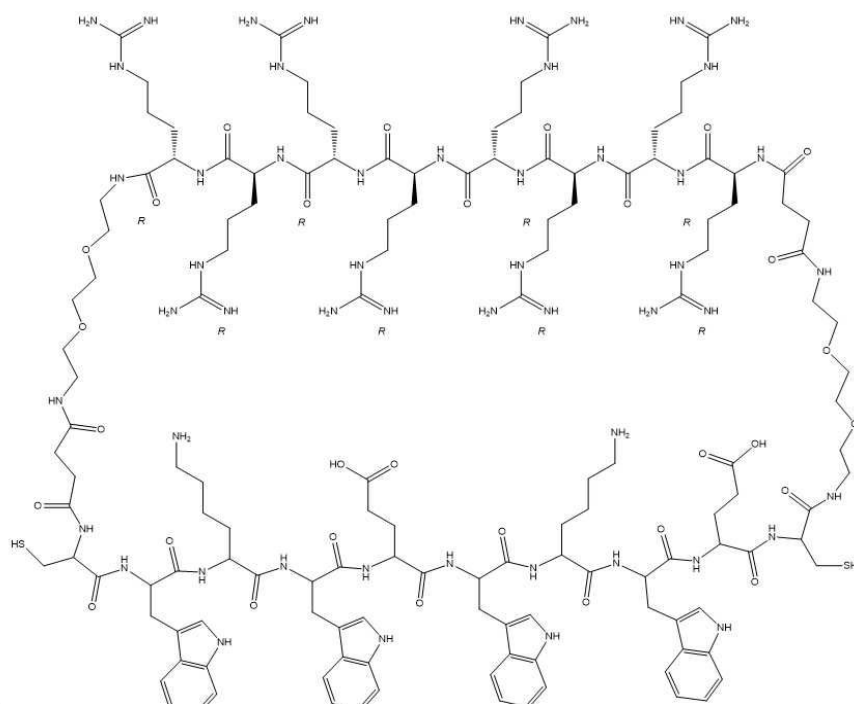
[0051]

화학식 12



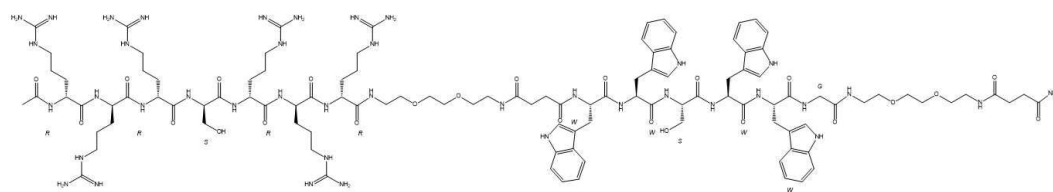
[0052]

화학식 13



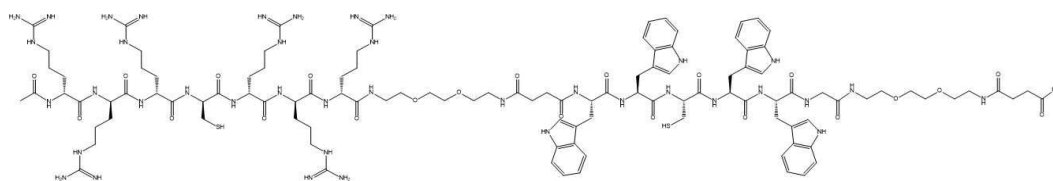
[0054]

화학식 14



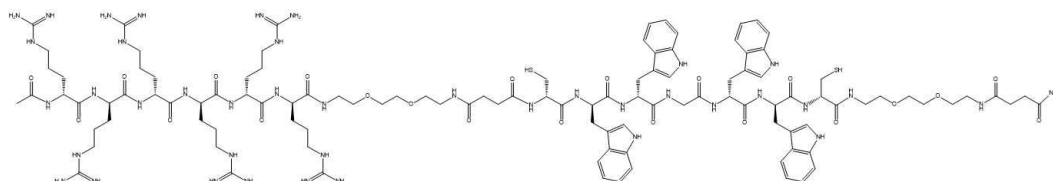
[0055]

화학식 15



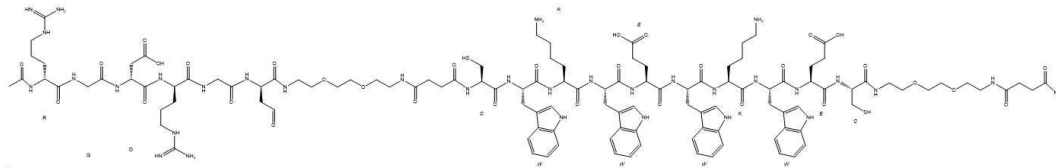
[0056]

화학식 16



[0057]

화학식 17



[0058]

[0060]

또한 구체적으로, 상기 펩타이드 구조체는 표적 지향성 펩타이드를 포함하는 것일 수 있다. 상기 본 발명의 표적 지향성 펩타이드는 RGD 펩타이드, 미토콘드리아 표적 펩타이드, Fc수용체 결합 펩타이드(Fc receptor binding peptide) 및 베타 엔도르핀 수용체 리간드(beta endorphine receptor ligand)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0061]

본 발명에서, “표적 지향성 펩타이드”는 생체 내 목적 부위로 본 발명의 펩타이드 구조체가 이동할 수 있도록 목적 부위의 세포 표면에 결합할 수 있는 펩타이드나 항체를 말한다.

[0062]

상기 생체 내 목적 부위는 필요에 따라 달라질 수 있으며, 암세포 또는 염증세포와 같이 치료제 또는 약물의 목적이 되는 부분일 수 있다. 상기 표적 지향성 펩타이드를 통해 본 발명의 펩타이드 구조체는 암세포, 염증세포 등 목적이 되는 부위에 도입될 수 있으며, 목적이 되는 부위에 따라 적절히 표적 지향성 펩타이드를 변경하여 사용할 수 있다.

[0063]

본 발명에서, 상기 펩타이드 구조체는 환원적 환경에서 자가조립하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0064]

본 발명에서 “환원적 환경”이란, 본 발명 펩타이드 구조체에 포함된 이황화 결합이 환원 반응을 일으킬 수 있는 조건을 말한다.

[0065]

예를 들어, 세포 내에는 글루타싸이온이 높은 농도로 존재함에 따라 펩타이드의 이황화 결합이 환원되어 절단될 수 있으며, 본 발명에서는 이러한 환원 반응으로부터 펩타이드 구조체가 세포 내에서 역자가조립이 이루어질 수 있도록 하였다.

[0066]

상기 “역자가조립”이란 역방향 자가조립으로서, 펩타이드를 자가조립하여 세포 내부로 진입시키던 기존의 방식과 달리 세포 내부의 엔도솜, 리소솜 등의 요인으로 인한 환경 변화에 의해 세포 내부에서 자가조립을 하게 되는 방식을 말한다.

[0067]

기존의 약물전달 방식은 외부에서 자가조립을 이룬 뒤에 세포 내부로 들어가 분해되는 방식이기 때문에 자가조립 구조가 너무 클 경우 세포 내부로 잘 들어가지 못하는 경우가 많으며, 세포 내부에서는 단분자 상태로 존재하기 때문에 다양한 자가조립 구조의 활용성이 떨어진다.

[0068]

본 발명의 역자가조립이 가능한 펩타이드 구조체를 기존의 약물전달 방식의 상기와 같은 단점을 보완할 수 있다. 단분자 상태이거나 작은 자가조립 구조체로 시작해 내부로 보다 쉽게 들어갈 수 있으며, 내부에서 다양한 자가조립 구조체를 유도하여 약리 활성을 역으로 이끌어 낼 수 있다.

[0069]

본 발명의 펩타이드 구조체는 세포 내부에 들어가면 세포 환경에 반응하여 이황화 결합이 환원되어 절단되면서 보유하고 있던 잠재 에너지가 방출되면서 이 에너지를 이용하여 세포 내부에서 급격히 자가조립 될 수 있다.

[0070]

즉, 상기 펩타이드 구조체는 환원적 환경에서 자가조립할 수 있으며, 표적 지향성 펩타이드와 함께 세포에 작용함으로써 다양한 약리 활성을 구현할 수 있다.

[0071]

본 발명의 다른 측면은 상기 펩타이드 구조체를 포함하는 약물 전달용 조성물에 관한 것이다.

[0072]

구체적으로, 상기 약물은 저분자량 약물, 유전자 약물, 단백질 약물 또는 이의 혼합물일 수 있다.

[0073]

상기 저분자량 약물은 해열제로서 안티피린(antipyrin), 안티페브린(antifebrin), 아스피린(aspyrin) 또는 살리피린(salipyrin)일 수 있고, 항염증제로서 아스피린(aspirin), 살리실레이트(salicylates), 이부프로펜(ibuprofen), 플루로비프로펜(Flurobiprofen), 피록시캄(pyroccikam), 나프로센(naproxen), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메소트렉세이트(methotrexate), 메클로에타민(mechlorethamine), 텍사메타손(dexamethasone), 프레드니솔론(prednisolone), 셀레콕시브(celecoxib),

발데코시브(valdecocixib), 니메술리드(nimesulide), 코르티손(cortisone) 또는 코르티코스테로이드(corticosteroid)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0074] 상기 유전자(gene) 약물은 작은 간섭 리보핵산(small interfering RNA, siRNA), 작은 헤어핀 리보핵산(small hairpin RNA, shRNA), 마이크로 리보핵산(microRNA, miRNA) 또는 플라스미드 데옥시리보핵산(plasmid DNA)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0075] 상기 단백질(protein) 약물은 단일클론 항체(monoclonal antibody) 계열의 트라스트주맙(trastuzumab), 리투시맙(rituximab), 베바시주맙(bevacizumab), 세투시맙(cetuximab), 보테조밋(bortezomib), 엘로티닙(erlotinib), 제피티닙(gefitinib), 이매티닙 메실레이트(imatinib mesylate), 수니티닙(sunitinib); 효소(enzyme) 계열의 L-아스파라지나제(L-asparaginase); 호르몬(hormone) 계열의 트리톨레린 아세테이트(triptorelin acetate), 메게스트롤 아세테이트(megestrol acetate), 플루타미드(flutamide), 비카루타마이드(bicalutamide), 고세레린(goserelin); 시토크롬 c(cytochrome c) 또는 p53 단백질일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0076] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 펩타이드 구조체를 포함하는 조영제 조성물에 관한 것이다.

[0077] 상기 펩타이드 구조체는 표적 지향성 펩타이드가 결합되어 있는 바 목적 부위에서의 환경 변화를 이용하여 조영 물질과 세포 내 물질 간의 반응을 통한 검출 및 진단이 가능하도록 할 수 있다. 일 예로 암 조직 내부에 침투하여 암 조직 내에 자가조립이 이루어지면서 암 조직 특이적인 물질과 함께 조립됨으로써 조영 물질과 반응할 수 있으며, 이러한 방식을 이용하여 다양한 종류의 암을 진단하기 위한 조영제로서 활용될 수 있다.

[0078] 상기 조영제는 MRI 조영제로서 상자성 물질, 가돌리늄과 망간의 착화합물 형태로서, Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA, GdDOTA, Gd-DO3A 및 초상자성 물질인 산화철로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함할 수 있고, PET 조영제로서 방사성 동위원소 ^{18}F , ^{124}I , ^{64}Cu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{11}In 으로 이루어지는 군에서 선택된 하나 이상을 포함할 수 있으며, 킬레이트 DOTA 및 DTPA 착화합물 형태로서 상기 펩타이드 구조체에 도입 또는 결합될 수 있다.

[0079] 상기 조영제 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 더욱 포함할 수 있다.

[0080] 본 발명에 따른 조영제 조성물에 사용되는 담체는 의약 분야에서 통상 사용되는 담체 및 비히클을 포함하며, 구체적으로 이온 교환 수지, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질(예, 사람 혈청 알부민), 완충 물질(예, 각종 인산염, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분적인 글리세라이드 혼합물), 물, 염 또는 전해질(예, 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨 및 아연 염), 교질성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈계 기질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로즈, 폴리아릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 양모지 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 조영제 조성물은 또한 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 또는 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0081] 본 발명에 따른 조영제 조성물을 생체 또는 시료에 투여하고, 상기 생체 또는 시료로부터 형광을 나타내는 나노 구조체에 의해 발산되는 신호를 감지하여 영상을 획득할 수 있으며, 생체 또는 시료 내에서 발광되는 형태를 분석하여 질환에 대한 진단용도로 활용할 수 있다.

[0082] 상기 “시료”는 진단하고자 하는 대상으로부터 분리한 조직 또는 세포를 의미한다. 또한 상기 조영제 조성물을 생체 또는 시료에 주입하는 단계는 의약 분야에서 통상적으로 이용되는 경로를 통해 투여될 수 있으며, 예를 들어 정맥내, 복강내, 근육내, 피하 또는 국부 경로 등의 비경구 투여를 이용할 수 있다.

발명의 효과

[0084] 본 발명의 펩타이드 구조체는 환원적 환경에서 자가 조립하므로, 단분자 상태 또는 작은 자가조립 구조체로 세포 내 침투가 용이하고, 세포 내에서 다양한 자가조립 구조를 이룰 수 있으므로 치료 및 진단 용도로서 잠재력이 우수하다.

[0085] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정된 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0087] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64-ver-GSG)의 환원형(왼쪽) 및 산화형(오른쪽)의 HPLC 정제 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW64(왼쪽) 및 RW64-ver 산화형(오른쪽)의 HPLC 정제 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW64-lat 산화형(왼쪽) 및 RW66-lat 산화형(오른쪽)의 HPLC 정제 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW84-lat 산화형(왼쪽) 및 RGD2W4-ver(오른쪽)의 HPLC 정제 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RL64-lat 산화형(왼쪽) 및 RF64-lat(오른쪽)의 HPLC 정제 결과를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64-ver)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64-lat)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW66-lat)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW84-lat)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RGD2W4-lat-환원형)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RGD2W4-lat-산화형)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RL64-lat)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RF64-lat)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(lin-(RGD)2-W β 환원형)를 AFM을 통해 관찰한 것이다.

도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64, RW64-lat, RW66-lat, RW84-lat 및 RW64-ver)를 서큘러 다이크로이즘 분광기(Circular Dichroism spectrometer)를 통해 관찰한 것이다.

도 17은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64, RL64-lat, RF64-lat 및 RGD2W4-lat)를 서큘러 다이크로이즘 분광기(Circular Dichroism spectrometer)를 통해 관찰한 것이다.

도 18은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64-lat-SH(환원형), RL64-lat-ss(산화형) 및 RW64-lat-ss+TCEP)를 통해 관찰한 것이다.

도 19는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RW64-ver-SH(환원형), RW64-ver-ss(산화형) 및 RW64-ver-ss+TCEP)를 서큘러 다이크로이즘 분광기(Circular Dichroism spectrometer)를 통해 관찰한 것이다.

도 20은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체(RGD2W β -lat-SH 및 lin-(RGD)2W β -lat-SH(환원형))를 서큘러 다이크로이즘 분광기(Circular Dichroism spectrometer)를 통해 관찰한 것이다.

도 21은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW64-ver 환원형(왼쪽), 산화형(오른쪽)구조를 모델링한 것이다.

도 22는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW64-lat 환원형(왼쪽), 산화형(오른쪽)구조를 모델링한 것이다.

도 23은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW64 산화형, RW64-ver 산화형, RW64-lat 산화형 순서대로 구조를 모델링한 것이다.

도 24는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RW84-lat 산화형(왼쪽), RW66-lat 산화형(오른쪽)구조를 모델링한 것이다.

도 25는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 RGD2W4-lat 산화형, RF64-ver 산화형, RL64-lat 산화형 순서대로 구조를 모델링한 것이다.

도 26은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 R6-W β 환원형(왼쪽) 및 산화형(오른쪽)구조를 모델링한 것이다.

도 27은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 (RGD)2-Wβ 환원형의 구조를 모델링한 것이다.

도 28은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 lin-RW64의 구조를 모델링한 것이다.

도 29는 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 lin-RW64-ver의 구조를 모델링한 것이다.

도 30은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 lin-RW64-lat의 구조를 모델링한 것이다.

도 31은 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드 구조체 lin-(RGD)2-Wβ의 구조를 모델링한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

1. 펩타이드 설계

디자인한 펩타이드 구조체는 17종이며, 아미노산 서열은 하기 표 1과 같다.

표 1

펩타이드 구조체	서열	서열번호
RW64-GSG	cyclo-[RRRSRRR-GSG-WWSWW-GSG]	1
RW64-ver-GSG	cyclo-[RRRCRRR-GSG-WWCWW-GSG]	2
RW64-lat-GCG	cyclo-[RRRSRRR-GCG-WWSWW-GCG]	3
RW64	cyclo-[RRRSRRR-Ebes-WWSWW-Ebes]	4
RW64-ver	cyclo-[RRRCRRR-Ebes-WWCWW-Ebes]	5
RW64-lat	cyclo-[RRRRRR-Ebes-CWGWWC-Ebes]	6
RW84-lat	cyclo-[RRRRRRR-Ebes-CWGWWC-Ebes]	7
RW66-lat	cyclo-[RRRRRR-Ebes-CWGWWWC-Ebes]	8
(RGD)2W4-lat	cyclo-[RGDRGD-Ebes-CWGWWC-Ebes]	9
RF64-lat	cyclo-[RRRRRR-Ebes-CFFGFFC-Ebes]	10
RL64-lat	cyclo-[RRRRRR-Ebes-CLLGLLC-Ebes]	11
R6-Wβ-lat	cyclo-[RRRRRRR-Ebes-CWKWEKWEK-Ebes]	12
(RGD)2-Wβ-lat	cyclo-[RGDRGD-Ebes-CWKWEKWEK-Ebes]	13
lin-RW64	lin-[RRRSRRR-Ebes-WWSWW-Ebes]	14
lin-RW64-ver	lin-[RRRCRRR-Ebes-WWCWW-Ebes]	15
lin-RW64-lat	lin-[RRRRRR-Ebes-CWGWWC-Ebes]	16
lin-(RGD)2-Wβ-lat	lin-[RGDRGD-Ebes-CWKWEKWEK-Ebes]	17

cyclo: 고리형 구조 lin: 선형 구조

6 내지 8개의 친수성 아미노산과 4 내지 6개의 소수성 아미노산을 링커(GSG 시퀀스 또는 Ebes)를 이용해 연결하였다.

또한, 친수성 성질을 가진 표적 지향성 펩타이드인 RGD 기능기를 친수성 아미노산 영역에 포함시킨 링커를 제작하였다. RGD 기능기의 경우 암세포의 표면에 많이 발현되는 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린에 특이적으로 결합할 수 있고 그 결합으로 인해 엔도사이토시스를 유발하여 펩타이드 나노 구조체가 세포 안으로 들어갈 수 있게 하는 기능을 갖는다. 또한 친수성 성질을 가지고 있어 펩타이드가 생체 조건에서 잘 용해될 수 있게 해주는 기능을 갖는다.

소수성 아미노산 영역은 아미노산 구조에 따라 자가 조립 구조적 특성의 변화를 확인하기 위해, 소수성 β -sheet 서열을 포함하는 링커를 제작하였다. 상기 소수성 β -sheet 서열을 가진 아미노산 서열은 베시클 또는 마이셀 위주의 구조가 아닌 파이버, 튜브 형태의 자가조립 구조체를 형성할 수 있게 하는 기능을 갖는다. 이러한 소수성 아미노산은 주로 자기조립체의 구조적 특성을 조절하는 기능을 가진다.

환원적 환경에 감응할 수 있도록 하기 위해 2개의 시스테인 잔기를 소정의 위치에 배치하였다. 특히 시스테인 위치에 따른 세포 외부에서의 자가조립 조절 능력을 확인하기 위해 시스테인 아미노산은 크게 두가지 방식 (1) 친수성 구역과 소수성 구역이 가까워지도록 이황화결합을 할 수 있는 위치, (2) 친수성 부분과 소수성 부분이 가까워지기 어렵도록 반대편에 위치하도록 이황화 결합을 할 수 있는 위치에 배치하였다.

- [0097] 수직으로 이황화 결합을 하는 경우 'ver(vertical)'로 명명하고, 수평으로 이황화 결합을 하는 경우 'lat(lateral)'로 명명하였다.
- [0099] **2. 합성 및 실험 방법**
- [0100] 2-1. 펩타이드 합성
- [0101] 합성은 SPPS(Solid phase peptide synthesis)를 이용하여 2-chloro-trityl chloride 레진에서 합성을 진행하였다. Fmoc protecting group으로 아민기가 보호되어 있고, 결사슬에 다른 protecting group이 있는 L형 아미노산을 이용하였다.
- [0102] 첫 아미노산은 몰수(mol)기준으로 레진의 5배 당량만큼 사용하였으며, 10당량의 DIPEA(N, N-diisopropylethylamine)와 함께 1ml의 MC에 녹여 vial상에서 2시간 동안 반응을 진행하였다. Fmoc 제거에는 20% 피페리딘의 nmp(N-Methyl-2-pyrrolidone) 용액을 10분정도 반응시켰다.
- [0103] 첫 아미노산을 제외한 나머지 아미노산 합성은 4.5당량의 HOBt(Hydroxybenzotriazole)와 HCTU를 5당량의 아미노산과 10당량의 DIPEA(N,N-diisopropylethylamine)를 nmp(N-Methyl-2-pyrrolidone)에 녹여 10분간 인큐베이션 후 한시간 정도 반응시켰다. 각 반응은 셰이커 상에서 진행되었으며 마지막 아미노산까지 반복하여 수행하였다.
- [0104] 2-2. 고리형 펩타이드 합성
- [0105] 헤드-투-테일 원형화(Head to Tail cyclization) 방법을 사용하여 고리형 펩타이드를 제조하였다. 마지막 아미노산까지 합성한 후 Fmoc를 제거한 펩타이드 레진에 20% 아세트산과 20%의 트라이플루오로에탄올(trifluoroethanol)의 MC용액을 이용하여 레진에서 분리하였다. 분리하여 얻어낸 펩타이드 용액은 감압 증류를 이용하여 용매만 증발시켜 펩타이드를 수득하였다.
- [0106] 2당량의 HOBt와 HATU 8당량의 DIPEA를 DMF(Dimethylformamide)에 녹여 합성한 펩타이드를 넣고 70 °C에서 3시간 동안 cyclization 반응을 진행하였다. 반응이 끝난 용액은 다시 감압증류를 이용해 최대한 농축시킨 후 MC 3ml, TBME 3ml, 그리고 헥세인(hexane) 30ml를 순서대로 넣어 펩타이드를 침전시켰다.
- [0107] 상층 용액을 제거하고 2.5% thioanisole, 2.5% 1,2-ethanedithiol, 95% TFA(2,2,2-trifluoroacetic acid) 이 함유된 reagent K 용액을 3시간 가량 처리하여 불필요해진 보호기(protecting group)를 제거하였다. 그 후 아르곤 가스로 용액을 증발시킨 후 TBME를 넣어 침전된 펩타이드를 얻어내었다. 그 후 HPLC를 이용한 정제과정을 거쳐 사용하였다.
- [0108] 2-3. 선형 펩타이드 합성
- [0109] 링크 아마이드(Rink Amide)레진을 이용하여 합성을 하였다. 상기 레진의 Fmoc를 제거한 뒤, 첫 아미노산부터 SPE-tube에서 합성을 하였다. 마지막 아미노산의 Fmoc를 제거한 뒤 10당량의 무수초산(acetic anhydride)와 20당량의 DIPEA를 넣어 acetylation을 시켰다.
- [0110] 이후 상층 용액을 제거하고 2.5% 티오아니솔(thioanisole), 2.5% 1,2-에테인다이티올(1,2-ethanedithiol), 95% TFA(2,2,2-trifluoroacetic acid) 이 함유된 reagent K 용액을 3시간 가량 처리하여 불필요해진 보호기(protecting group)를 제거하였다. 그 후 아르곤 가스로 용액을 증발시킨 후 TBME를 넣어 침전된 펩타이드를 수득하였다. 그 후 HPLC를 이용한 정제과정을 거쳐 사용하였다.
- [0111] 2-4. 펩타이드의 이황화 결합 형성
- [0112] pH 6 내지 8에서 이황화 결합이 용이하게 형성되므로, 탄산암모늄이나 기타 완충용액을 사용하여 이황화결합이 잘 생성될 수 있는 용액 환경을 조성하였다. 펩타이드의 용해도에 따라 ACN(acetonitrile)을 넣어 용해도를 조절하였으며, 이황화 결합이 잘 형성되지 않는 펩타이드의 경우 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 넣어 산화를 촉진시켰다. 상기 조성의 용액에 펩타이드를 넣고, 공기 중의 산소에 12 내지 24시간 노출시켜 산화시켰다.
- [0113] 2-5. 펩타이드 정제
- [0114] 정제에는 고성능액체크로마토그래피(HPLC)를 사용하였다. C4 컬럼을 이용하였으며, 3차 증류수를 바탕으로 하여 20 내지 40%의 ACN, 0.1% TFA(trifluoroacetic acid) 수용액을 40분간 흘려주어 정제를 진행하였으며, 흡광도는 230nm로 설정하였다.
- [0115] 이황화 결합이 생성되면 컬럼에서 분리되는 ACN의 농도가 달라지기 때문에, 이를 통해 이황화 결합의 생성 여부

를 판단할 수 있다. (도 1 내지 도 5)

[0116] 2-6. AFM(Atomic force microscopy) 측정

[0117] 합성된 펩타이드를 30% HFIP (Hexafluoro-2-isopropanol) 수용액에 20 μ M 농도가 되도록 녹였다. 이때 초음파 (Sonication)을 통해 펩타이드가 단분자 상태로 고르게 녹아있도록 하였다. 이 용액을 -80 °C상에서 빠르게 얼려 동결건조 시킨 뒤, 동일 부피의 증류수를 넣고 하루 동안 incubation 시켰다. 그 후 이 샘플을 마이카에 올려 건조시켜 AFM을 통해 구조를 관찰하였다.

[0118] 2-7. CD(Circular dichroism) 측정

[0119] 준비된 펩타이드 샘플을 각각 100 ml씩 path length 1mm인 큐벳에서 Chirscan Circular Dichroism spectrometer 장비를 이용하여 CD 스펙트럼을 측정하였다(260 내지 190nm). Molar ellipticity는 펩타이드 농도 및 아미노산 개수로 나누어 산출하였다.

[0120] **3. AFM 실험결과**

[0121] 자기조립체 구조를 AFM을 통하여 확인하였다.

[0122] 3-1. RW64-ver 및 RW64-lat

[0123] 이황화 결합으로 인한 자가조립 구조의 차이를 보기 위해 RW64를 기본형으로 하여 수직으로 이황화 결합을 만든 RW64-ver와 수평으로 이황화 결합을 만든 RW64-lat의 자가조립 구조를 관찰하였다.

[0124] AFM사진과 AFM에서의 크기를 측정한 표를 보면, 기본형인 RW64(도 6)에 비해 RW64-ver(도 7)는 크기가 약 10% 감소하였으며, 일부 베시클 구조체의 높이는 절반 정도의 높이를 나타내었다.

[0125] 또한, RW64-lat(도 8)의 경우 크기는 유사하였으며, 베시클이 아닌 마이셀을 이룬 구조체가 관찰되었다.

[0126] 3-2. RW66-lat

[0127] 트립토판(W)의 개수를 증가시킨 RW66-lat의 자가조립 구조를 관찰하였다.

[0128] RW66-lat의 경우 크기가 일정한 마이셀을 형성하였으며, 이러한 마이셀 구조는 트립토판(W)간의 파이-파이 상호작용으로 중심부에서 강하게 결합하여 형성된 것이다(도 9).

[0129] 3-3. RW84-lat

[0130] 아르기닌(R) 개수를 증가시킨 RW84-lat의 자가조립 구조를 관찰하였다.

[0131] 아르기닌(R) 개수가 증가된 RW84-lat은 친수성 부분 및 소수성 부분의 키기 비율 변화로 아르기닌의 개수가 2개 적은 RW64-lat에 비해 크기가 감소하였다(도 10).

[0132] 3-4. RGD2W4-lat

[0133] 친수성 부분이 암세포에 결합할 수 있는 RGD 서열을 두 번 반복하여 만든 RGD2W4-lat의 환원형 및 산화형 자가조립 구조를 관찰하였다.

[0134] RGD2W4-lat 환원형(도 11)과 달리, 이황화 결합을 형성한 산화형에서는 베시클 구조체 주변에 응집이 관찰되었다(도 12). 응집은 자가조립을 하지 못한 분자들이 정전기적 인력에 의해 일부 베시클 구조체들에 응집된 것이다.

[0135] 3-5. RL64-lat 및 RF64-lat

[0136] 소수성 부분을 다른 아미노산 페닐알라닌(F), 류신(L)으로 바꾸어 자가조립 구조를 관찰하였다.

[0137] 소수성 부분을 다른 아미노산으로 사용한 RL64-lat(도 13) 및 RF64-lat(도 14)은 사이즈가 감소하였으나, 상기 RW66-lat, RW84-lat 등과 유사한 형태로 자가조립을 하였다.

[0138] 즉, 상기 결과는 친수성과 소수성 부분의 종류 및 크기(아미노산 개수)가 변하더라도 동일한 경향의 자가조립 특성을 가지며, 이황화 결합에 의해 변화됨을 의미한다.

[0139] 3-6. lin-(RGD)2-W β -lat

[0140] 고리형구조가 아닌 선형 구조를 가진 펩타이드 구조체의 자가조립 구조를 관찰하였다. 친수성 부분을 암세포에

결합할 수 있는 RGD 서열을 두 번 반복하였으며, 소수성 부분을 β -sheet 서열로 바꾸었다.

[0141] lin-(RGD)₂-W β -lat은 선형 구조임에도 불구하고 안정적으로 원통형 마이셀 구조가 형성된 것을 관찰하였다(도 15). 즉, 이는 소수성 부분이 β -sheet로 바뀌에 따라 자가조립 구조체가 달라짐을 의미한다.

[0142] 4. CD(circular dichroism)실험 결과

[0143] 펩타이드의 2차 구조가 어떻게 변화하는지 더 명확하게 파악하기 위해 CD를 측정하였다. 데이터 상 산화형과 환원형의 구분을 위하여 이황화결합이 있는 산화형은 -ss를, 싸이올기가 있는 환원형은 -SH로 표시하였다.

[0144] 도 16의 RW64, RW64-lat, RW66-lat, RW84-lat 및 RW64-ver 와 달리, 도 17의 친수성기가 RGD서열인 RGD2W4-lat 에서는 200nm부근 피크가 약한 것으로 나타났으며, 이는 알지닌이 많은 친수성기에 의한 것으로 보인다. 또한, 트립토판(W)이 결합됨에 따라 수평으로 이황화결합을 만들어 그 거리가 가까워지면 225nm부근에서 아래로의 피크가 생성되었다. 좌우로 이황화 결합을 형성한 경우 및 예외적으로 RGD2W4-lat에서만 유사한 결과가 나타났으며, 트립토판의 개수가 늘어나 좌우로 이황화 결합의 영향이 일부 달라졌을 때 피크가 좌측으로 이동한 것이 이를 뒷받침하였다.

[0145] 또한 산화형에 TCEP를 가하여 환원시켰을 때 원래의 피크와 유사해지는 것을 확인하였다(도 18 및 도 19).

[0146] 상기 결과를 종합하면, RW64, RW64-ver, RW64-lat의 비교, RGD2W4-lat의 산화환원형 비교실험 결과, 이황화 결합으로 자가조립 구조가 억제되는 것으로 확인되었다. 또한 친수성, 소수성 부분의 크기 또는 비율을 달리하거나 다른 아미노산을 사용하여도 동일한 결과가 구현되었으며, TCEP와 같은 환원제가 있는 환원적 환경에서 이황화 결합이 끊어지며 본래의 자가조립 구조로 회복되었다.

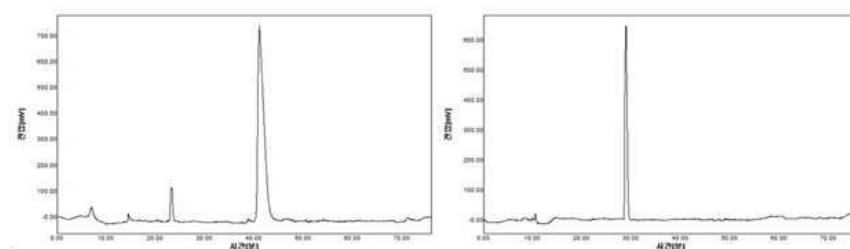
[0147] 또한, 소수성기로서 β -sheet을 이루는 소수성 작용기를 포함하는 lin-R6-W β -lat에서 215-220nm부근의 아래로 움푹 파인 피크가 관찰되었으며, 이는 β -sheet의 자가조립 구조를 보여준다(도 20).

[0148] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

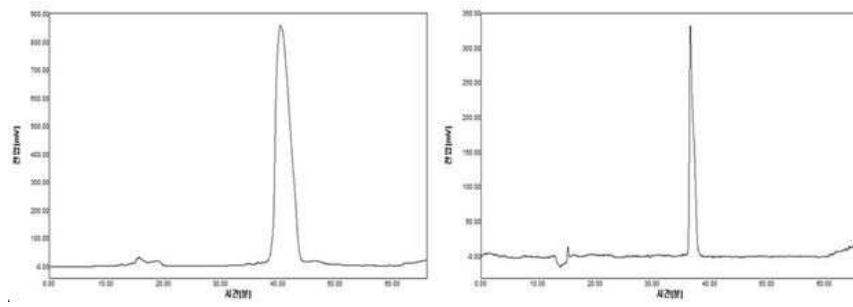
[0149] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

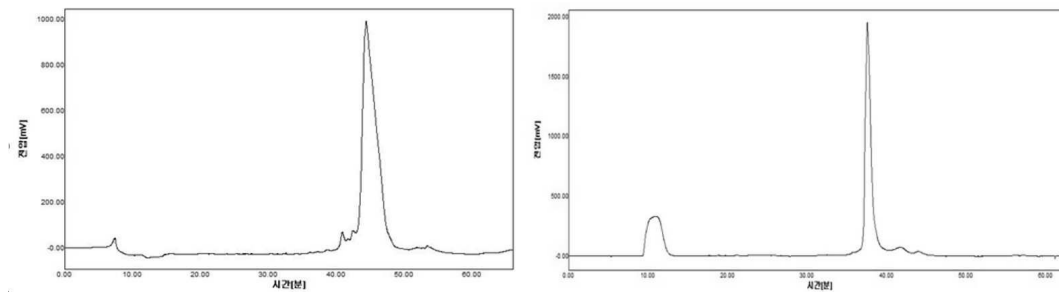
도면1



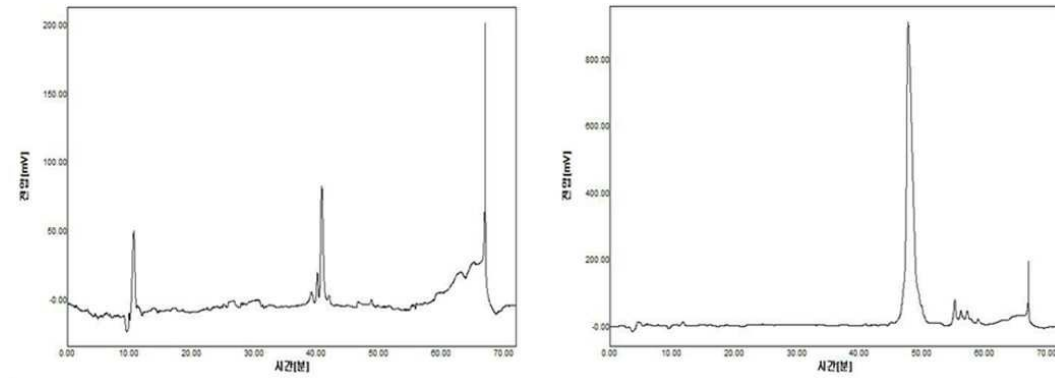
도면2



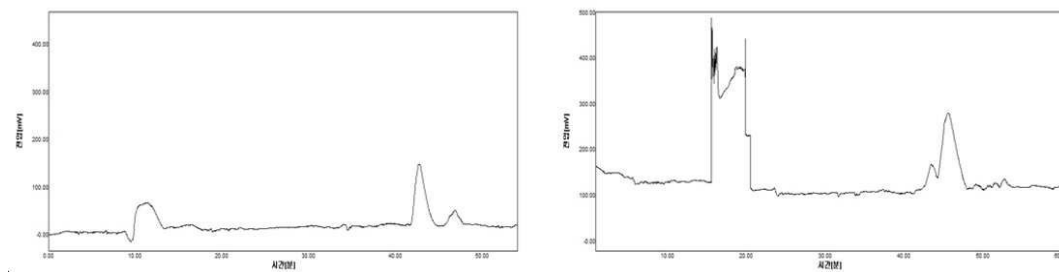
도면3



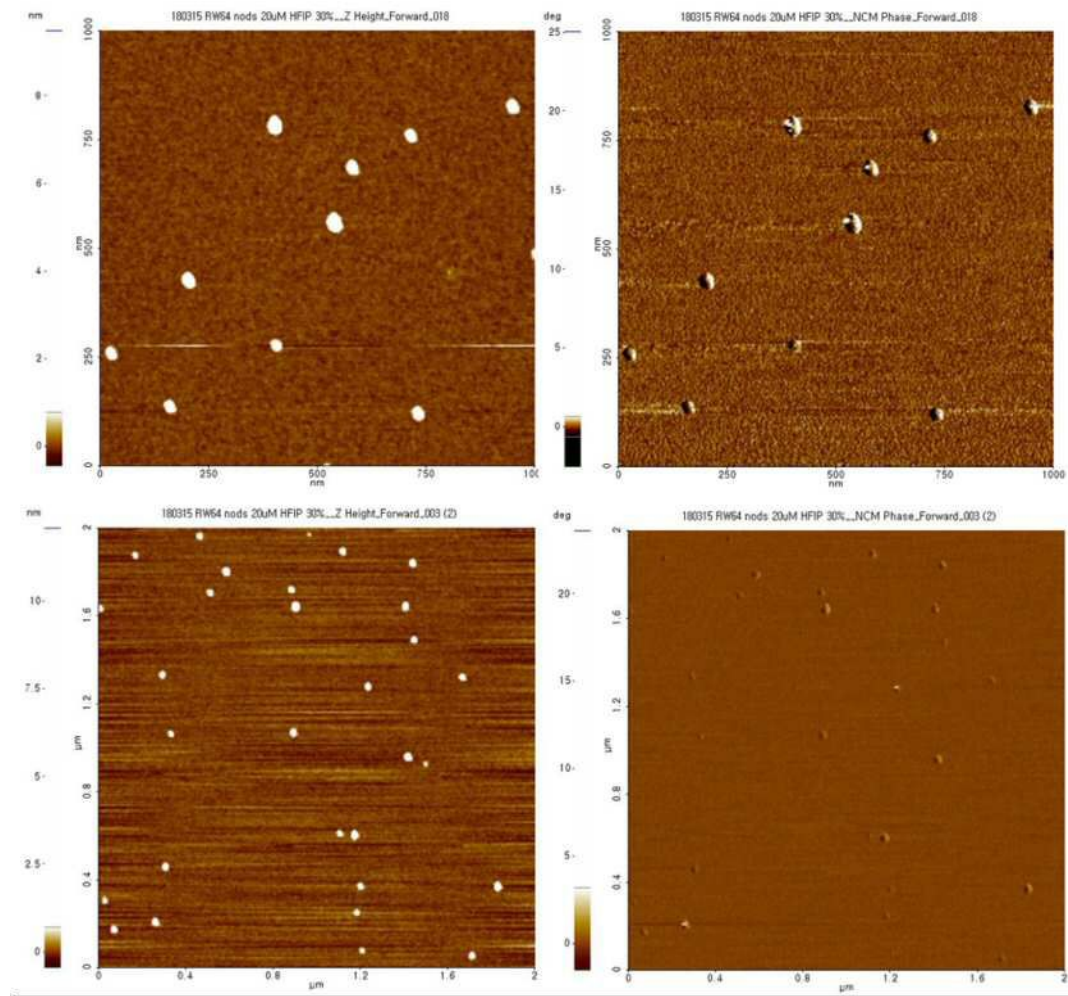
도면4



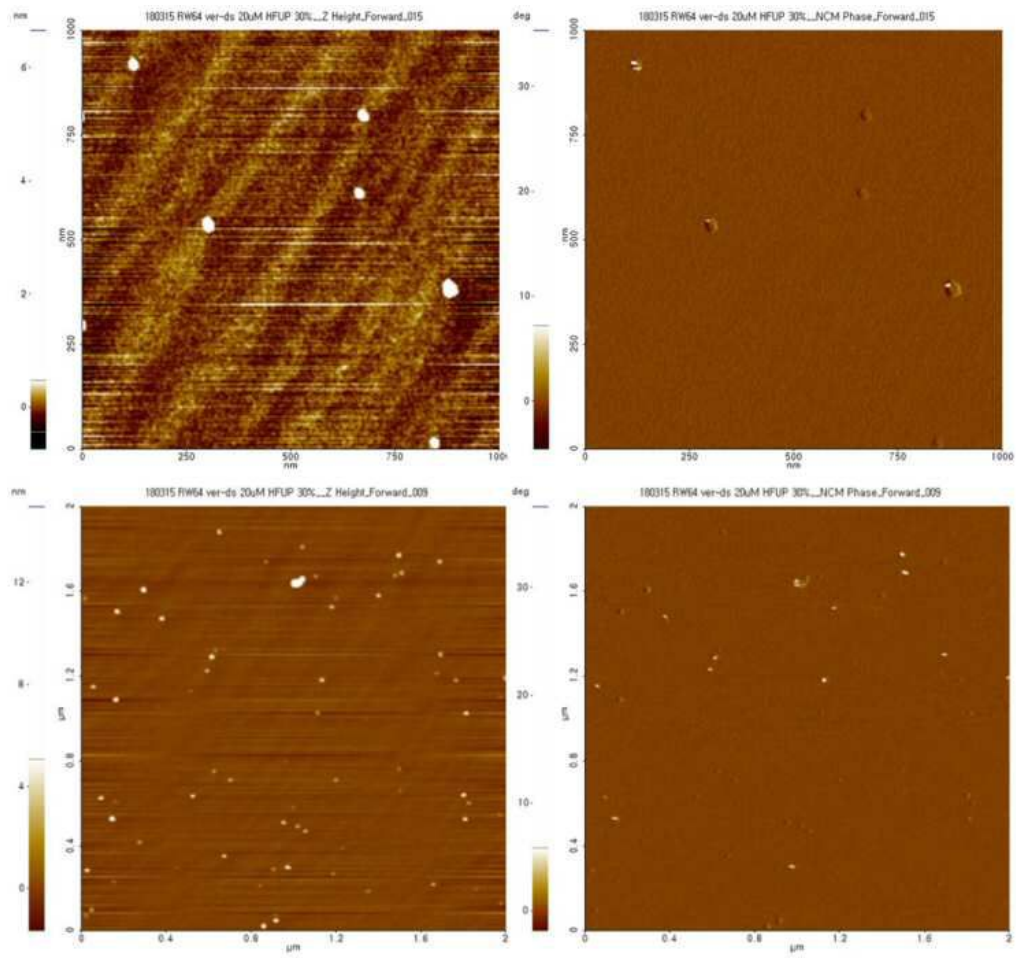
도면5



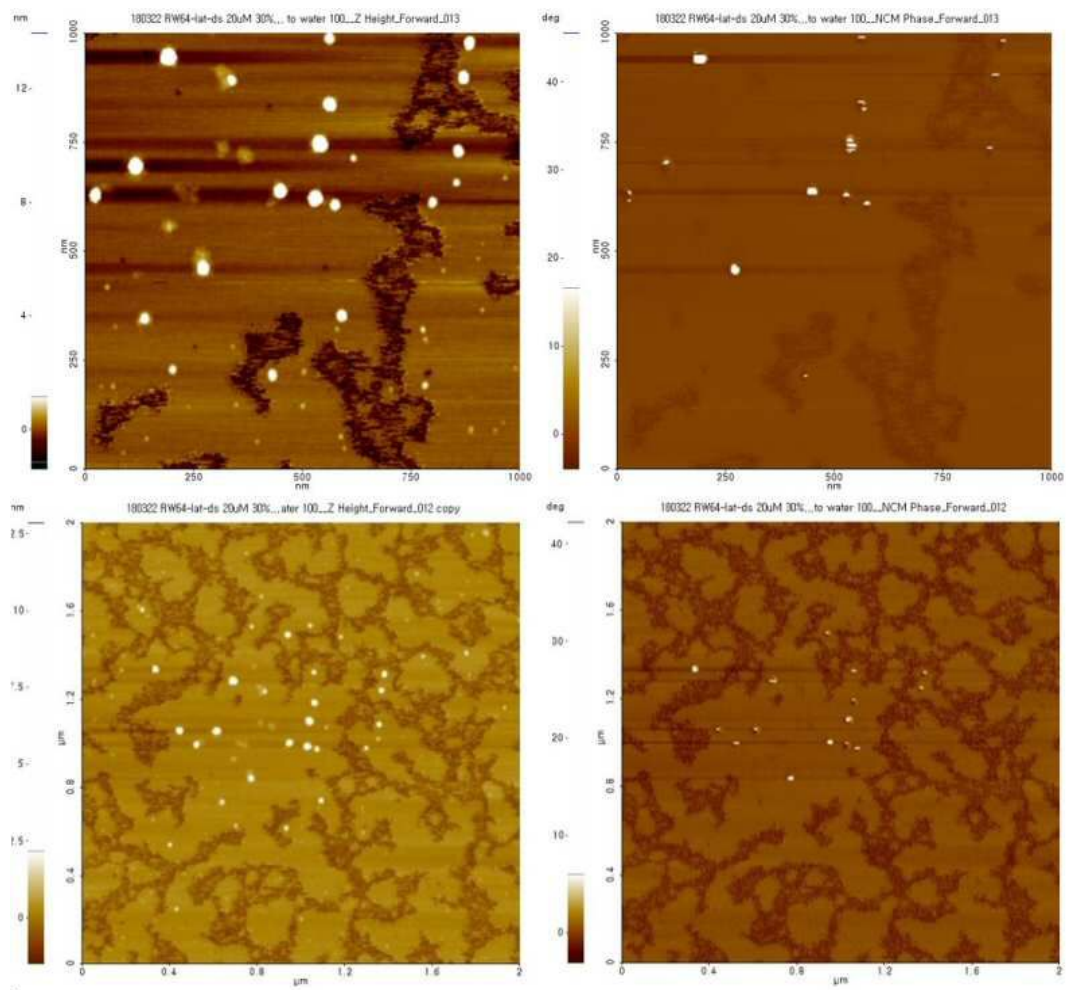
도면6



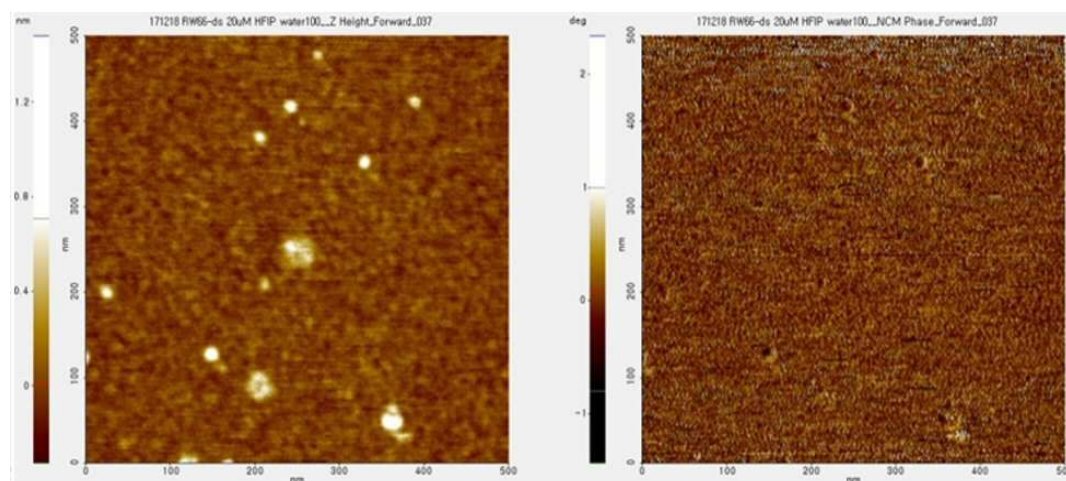
도면7



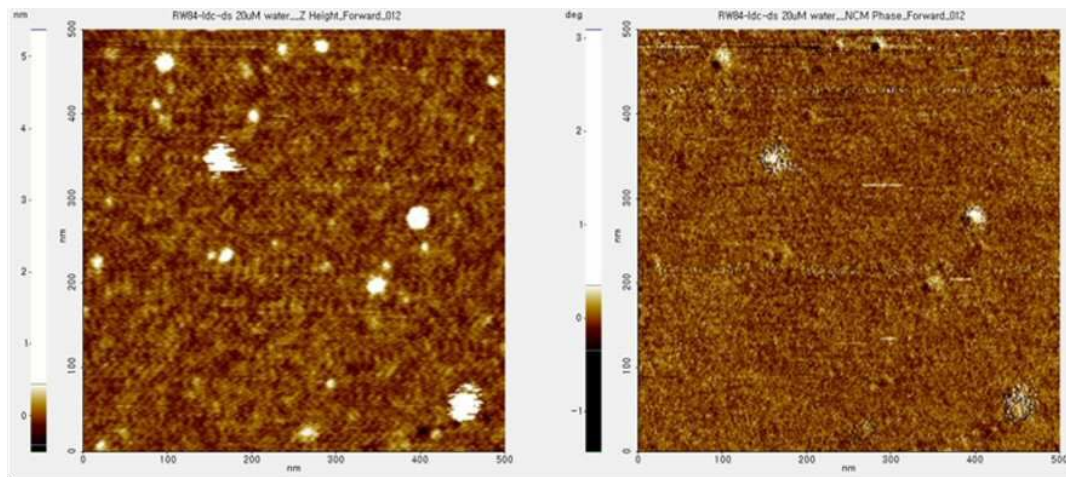
도면8



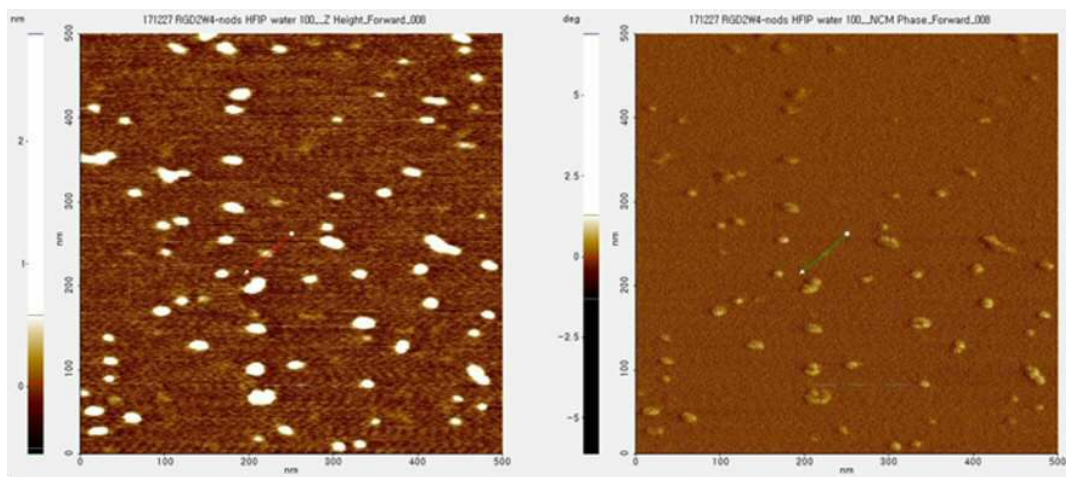
도면9



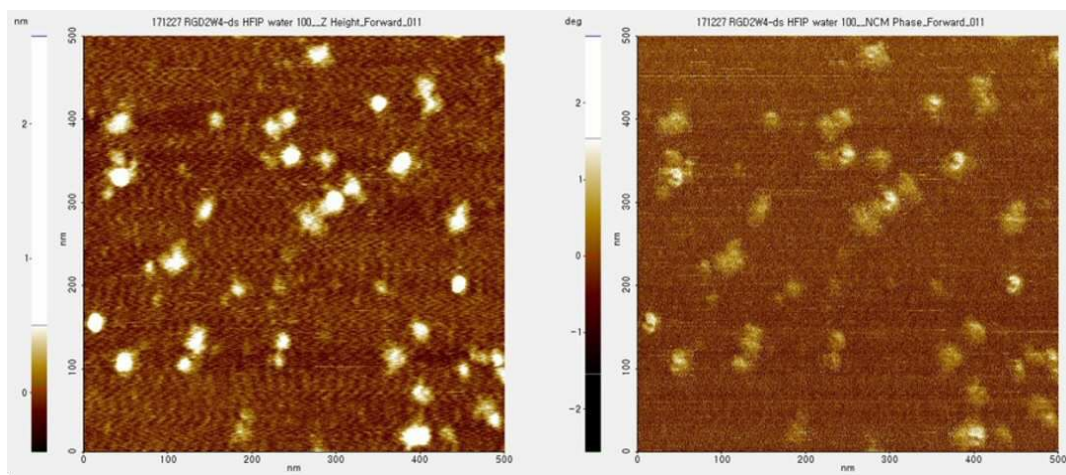
도면10



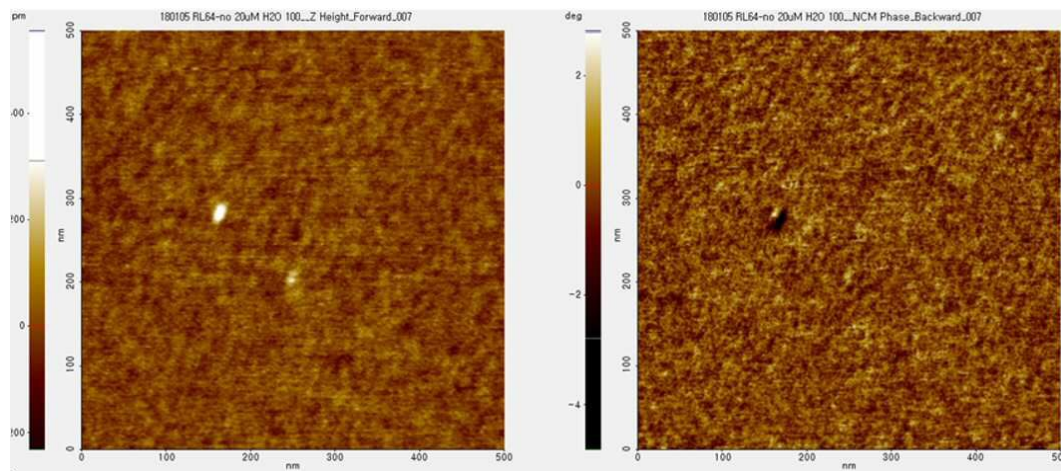
도면11



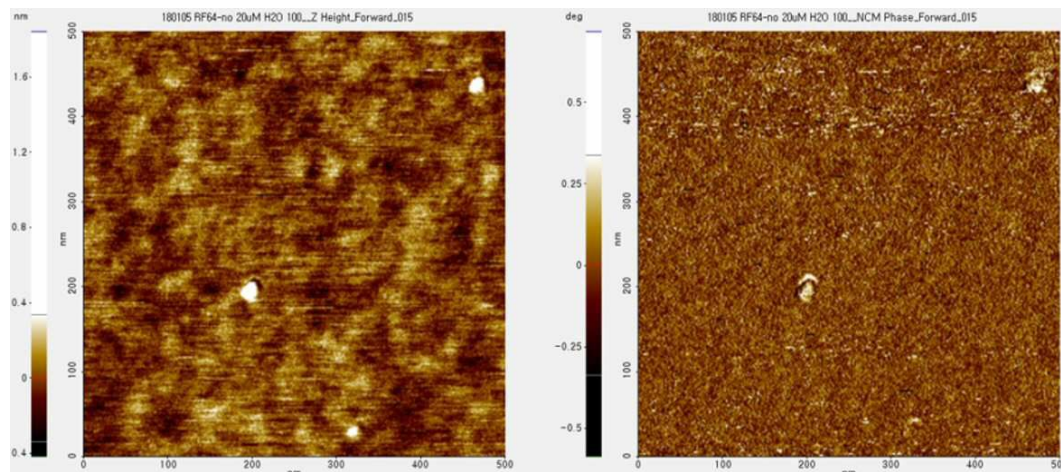
도면12



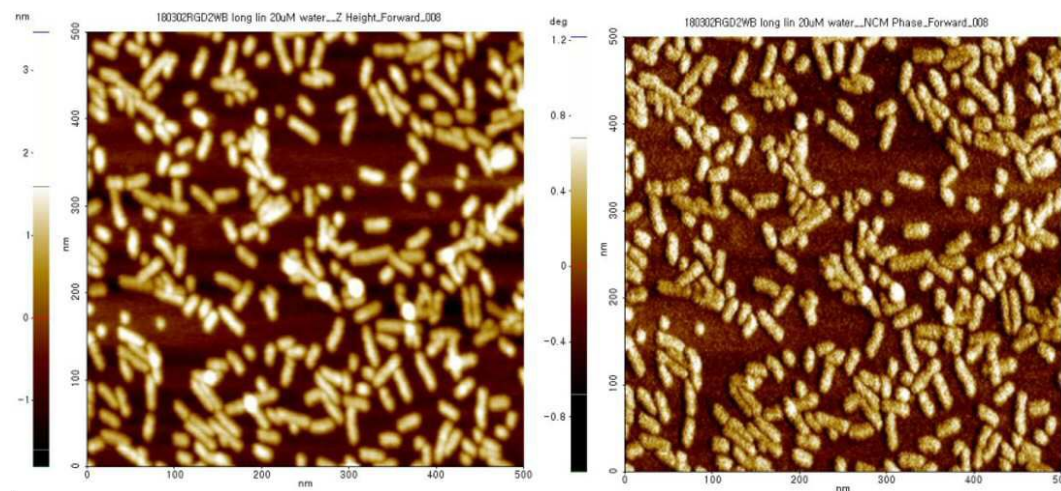
도면13



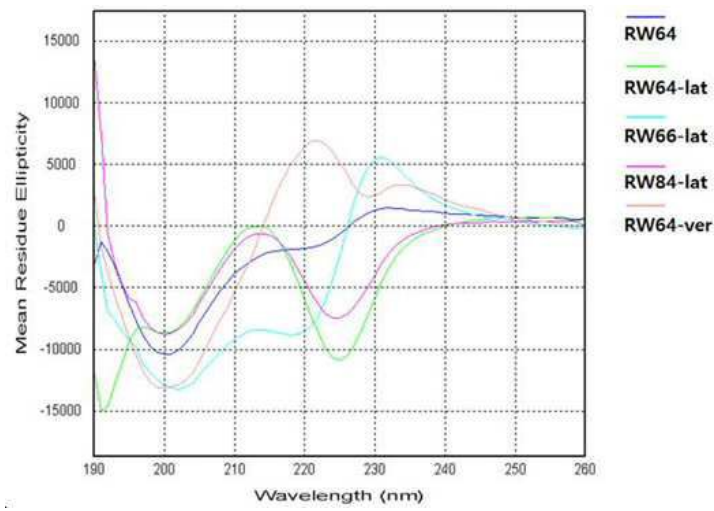
도면14



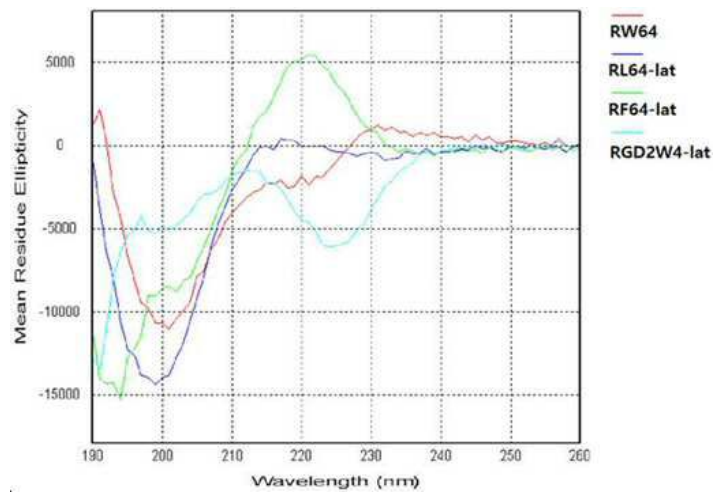
도면15



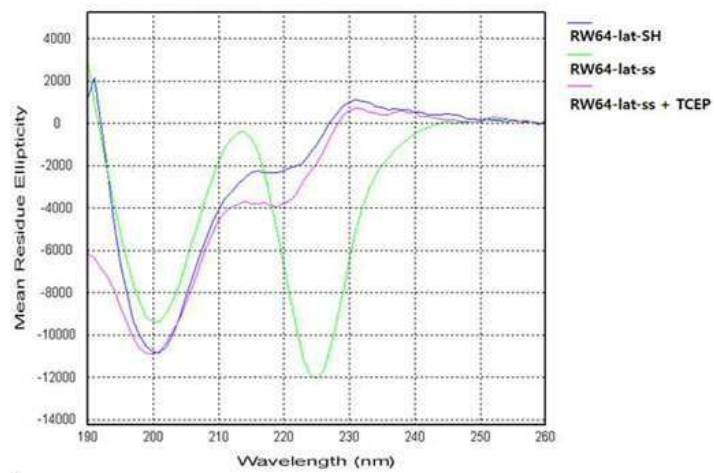
도면16



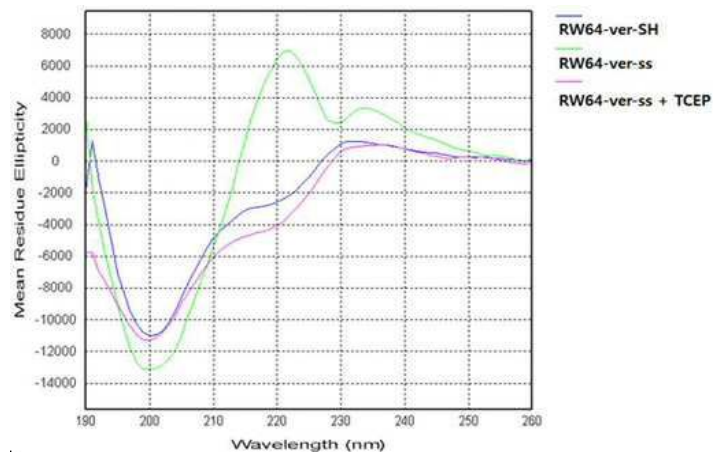
도면17



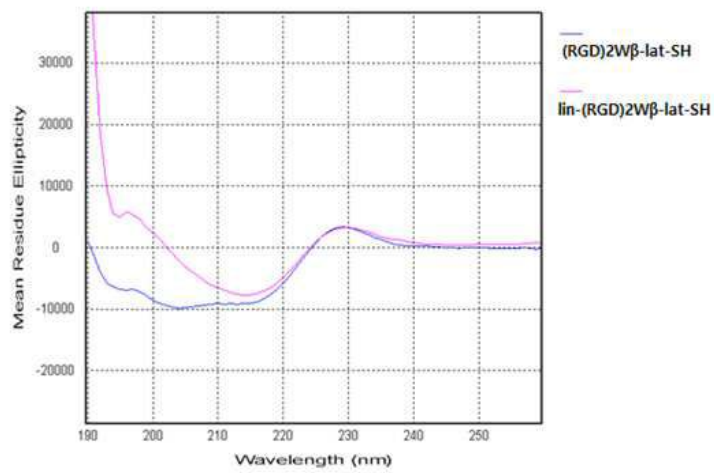
도면18



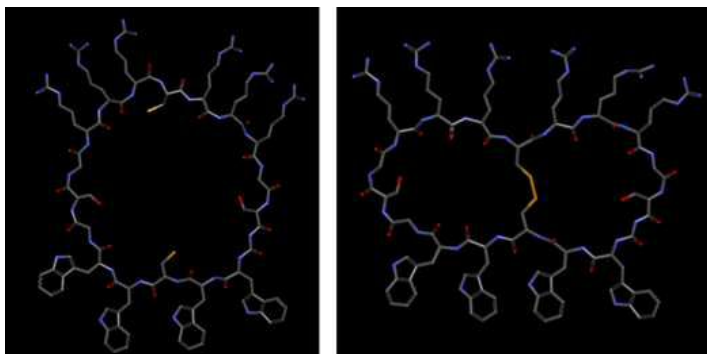
도면19



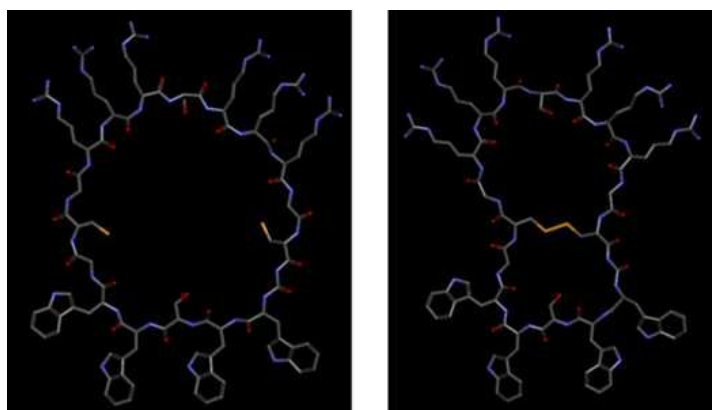
도면20



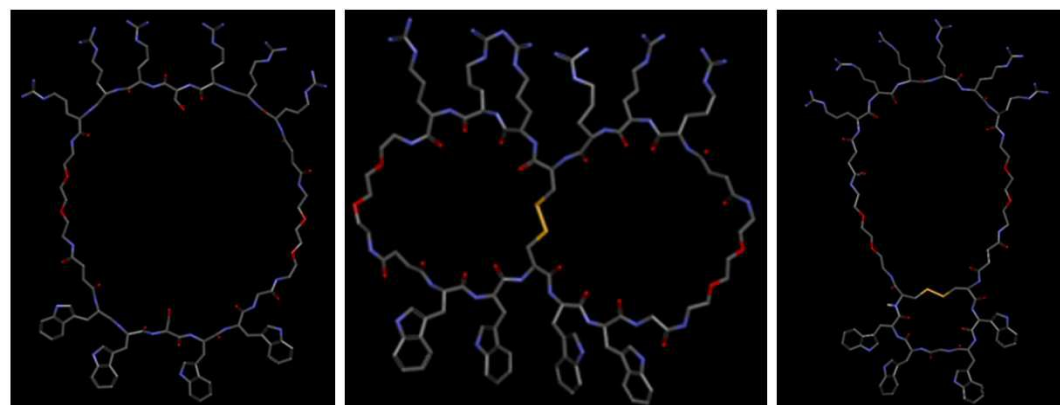
도면21



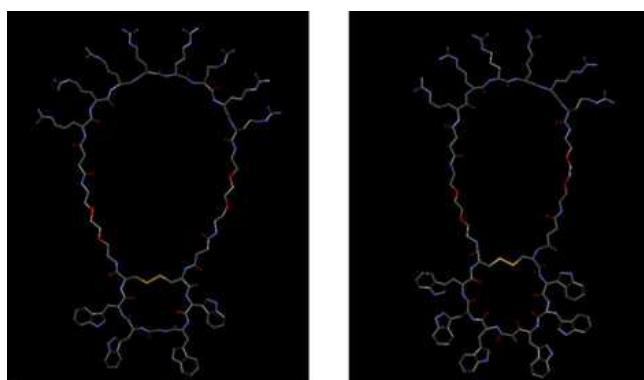
도면22



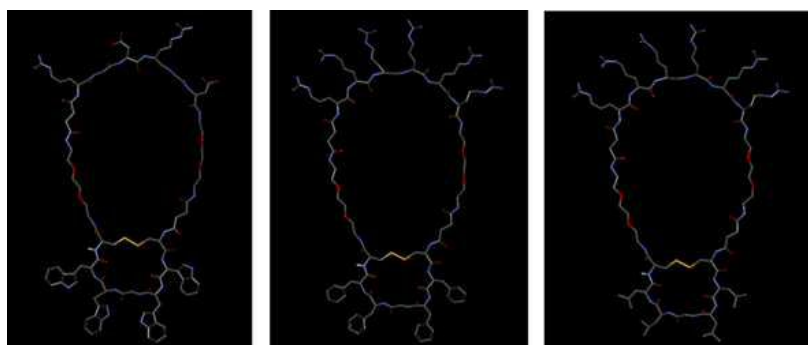
도면23



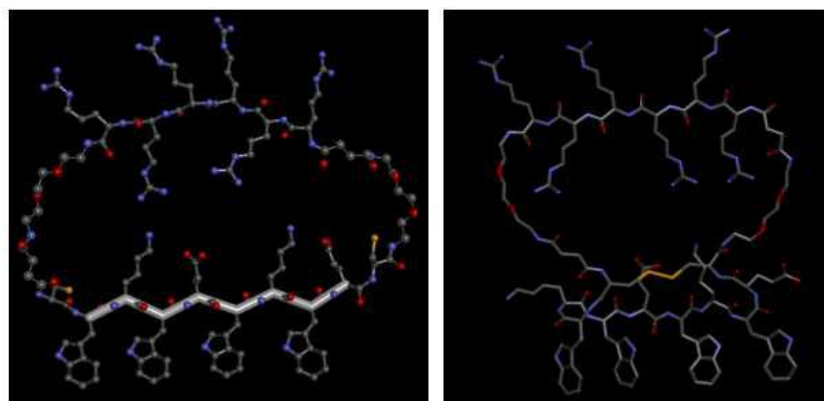
도면24



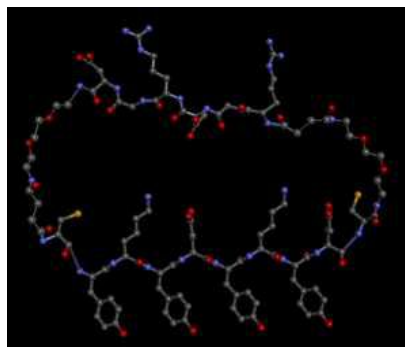
도면25



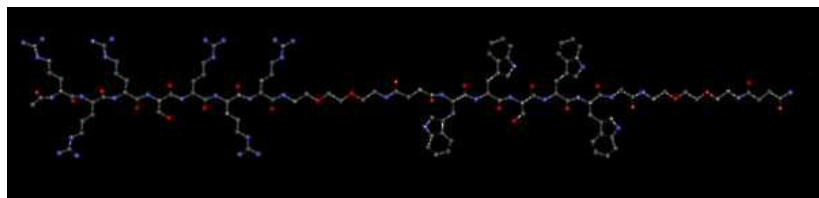
도면26



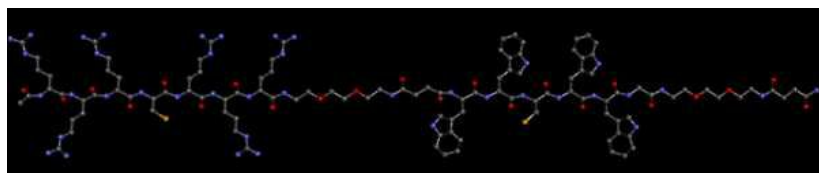
도면27



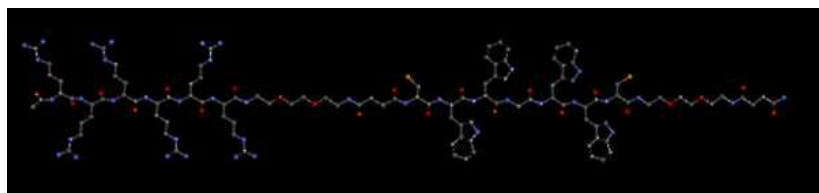
도면28



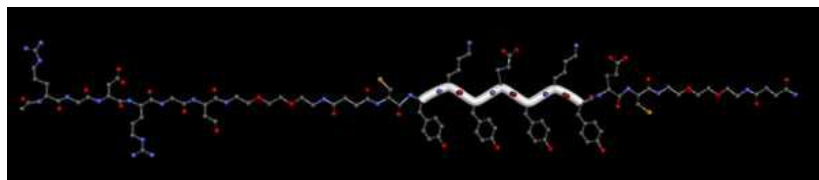
도면29



도면30



도면31



서열 목록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University

<120> A REDUCTION-SENSITIVE PEPTIDE STRUCTURE AND USES THEREOF

<130> 19PP30241

<150> KR 10-2018-0042366

<151> 2018-04-11

<160> 17

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW64-GSG

<400> 1

Arg Arg Arg Ser Arg Arg Arg Gly Ser Gly Trp Trp Ser Trp Trp Gly

1

5

10

15

Ser Gly

<210

> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW64-ver-GSG

<400> 2

Arg Arg Arg Cys Arg Arg Arg Gly Ser Gly Trp Trp Cys Trp Trp Gly

1 5 10 15

Ser Gly

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW64-lat-GCG

<400> 3

Arg Arg Arg Ser Arg Arg Arg Gly Cys Gly Trp Trp Ser Trp Trp Gly

1 5 10 15

Cys Gly

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW64

<400> 4

Arg Arg Arg Ser Arg Arg Arg Trp Trp Ser Trp Trp Gly

1 5 10

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW64-ver

<400> 5

Arg Arg Arg Cys Arg Arg Arg Trp Trp Cys Trp Trp Gly

1 5 10

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> RW64-lat

<400> 6

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Trp Trp Gly Trp Trp Cys

1 5 10

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW84-lat

<400> 7

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Trp Trp Gly Trp Trp Cys

1 5 10 15

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RW66-lat

<400> 8

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Trp Trp Trp Gly Trp Trp Trp Cys

1 5 10 15

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> (RGD)2W4-lat

<400> 9

Arg Gly Asp Arg Gly Asp Cys Trp Trp Gly Trp Trp Cys

1 5 10
 <210> 10
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> RF64-lat
 <400> 10
 Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Phe Phe Gly Phe Phe Cys

1 5 10
 <210> 11

 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> RL64-lat
 <400> 11
 Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Leu Leu Gly Leu Leu Cys

1 5 10
 <210> 12
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> R6-WB-lat
 <400> 12
 Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Trp Lys Trp Glu Trp Lys Trp

1 5 10 15
 Glu Cys

<210> 13
 <211> 16
 <212> PRT

<
 213> Artificial Sequence
 <220><223> (RGD)2-WB-lat
 <400> 13

Arg Gly Asp Arg Gly Asp Cys Trp Lys Trp Glu Trp Lys Trp Glu Cys

1 5 10 15

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> lin-RW64

<400> 14

Arg Arg Arg Ser Arg Arg Arg Trp Trp Ser Trp Trp Gly

1 5 10

<210> 15

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> lin-RW64-ver

<400> 15

Arg Arg Arg Cys Arg Arg Arg Trp Trp Cys Trp Trp Gly

1 5 10

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> lin-RW64-lat

<400> 16

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys Trp Trp Gly Trp Trp Cys

1 5 10

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> lin-(RGD)2-WB-lat

<400> 17

Arg Gly Asp Arg Gly Asp Cys Trp Lys Trp Glu Trp Lys Trp Glu Cys

1

5

10

15