(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년05월06일
(11) 등록번호 10-2106756
(24) 등록일자 2020년04월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 38/16* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0112649
(22) 출원일자 2013년09월23일
심사청구일자 2018년09월21일
(65) 공개번호 10-2014-0077100
(43) 공개일자 2014년06월23일
(30) 우선권주장
1020120145501 2012년12월13일 대한민국(KR)

(73) 특허권자
주식회사 젬백스앤카엘
대전광역시 유성구 테크노11로 58 (탑립동)
김상재
서울시 강남구 광평로 10길 15, 101동 405호(일원동, 상록수아파트)
(72) 발명자
김상재
서울시 강남구 광평로 10길 15, 101동 405호(일원동, 상록수아파트)
(74) 대리인
리앤목특허법인

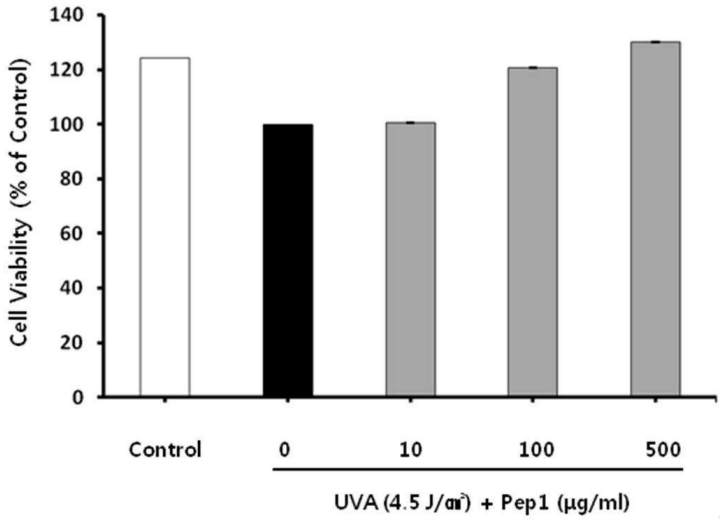
전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 **자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 명세서에는 유효성분으로서 펩티드 또는 그 단편을 포함하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 조성물이 개시된다. 특히 본 발명에 따른 펩티드가 포함된 조성물은 UVA 및 UVB 모두에 의한 피부 손상에 치료 또는 예방 효과가 우수한 장점이 있다.

대 표 도 - 도1



명 세 서

청구범위

청구항 1

유효성분으로서,

서열번호 1로 이루어지는 펩티드를 포함하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 약학 조성물로서,

상기 자외선에 의한 피부 손상은 일광화상, 홍반, 부종, 색소침착, 피부 염증, 피부 각화, 광알레르기, 광독성, 광감작현상, 및 광노화로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것인 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유효성분은 자외선에 의한 세포 독성 완화 기능을 수행하는, 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 자외선은 UVA인 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 자외선은 UVB인 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

유효성분으로서,

서열번호 1로 이루어지는 펩티드를 포함하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선용 화장료 조성물로서,

상기 자외선에 의한 피부 손상은 일광화상, 홍반, 부종, 색소침착, 피부 염증, 피부 각화, 광알레르기, 광독성, 광감작현상, 및 광노화로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것인 화장료 조성물.

청구항 6

유효성분으로서,

서열번호 1로 이루어지는 펩티드를 포함하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로서,

상기 자외선에 의한 피부 손상은 일광화상, 홍반, 부종, 색소침착, 피부 염증, 피부 각화, 광알레르기, 광독성, 광감작현상, 및 광노화로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것인 건강식품 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 명세서에는 인간 단백질 유래의 펩티드를 유효성분으로 포함한 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 텔로미어(telomere)는 염색체의 말단에 반복적으로 존재하는 유전 물질로서, 해당 염색체의 손상이나 다른 염색체와의 결합을 방지한다고 알려져 있다. 세포가 분열할 때마다 텔로미어의 길이는 조금씩 짧아지는데, 일정한 횟수 이상의 세포 분열이 있게 되면 텔로미어는 매우 짧아지고, 그 세포는 분열을 멈추고 죽게 된다. 반면 텔로미어를 길게 하면 세포의 수명이 연장된다고 알려져 있으며, 그 예로 암세포에서는 텔로머라제(telomerase)라는 효소가 분비되어 텔로미어가 짧아지는 것을 막기 때문에, 암세포가 죽지 않고 계속 증식할 수 있다고 알려져 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0003] (특허문헌 0001) 유럽특허공개 제1362597호

(특허문헌 0002) 유럽특허공개 제0841396호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명의 일측면은 피부에 유용한 펩티드를 제공하고자 한다.

[0005] 본 발명의 일측면은 인간 단백질 유래의 펩티드를 유효성분으로 포함하는 조성물을 제공하고자 한다.

[0006] 본 발명의 일측면은 피부 손상을 예방 또는 치료하는 효능을 갖는 펩티드를 제공하고자 한다.

[0007] 본 발명의 일측면은 자외선에 의한 피부 손상의 예방 또는 치료에 유용한 펩티드를 제공하고자 한다.

[0008] 본 발명의 일측면은 자외선에 의한 피부 손상의 예방 또는 치료 효능을 갖는 조성물을 제공하고자 한다.

[0009] 본 발명의 일측면은 자외선에 의한 피부 손상의 예방 또는 치료 효능을 갖는 화장료 조성물을 제공하고자 한다.

[0010] 본 발명의 일측면은 자외선에 의한 피부 손상의 예방 또는 치료 효능을 갖는 건강식품 조성물을 제공하고자 한다.

[0011] 본 발명의 일측면은 자외선에 의한 피부 손상의 예방 또는 치료 효능을 갖는 약학 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 일측면은 서열번호 1을 포함하는 펩티드, 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드, 또는 그것의 단편을 유효성분으로 포함하는, 자외선에 의한 세포 독성 완화 기능을 보유한 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 다른 일측면은 UVA 및 UVB 모두에 의한 피부 손상 예방 또는 치료에 우수한 효과가 있는 조성물은 제공한다.

[0014] 본 발명의 다른 일측면은 상기 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료용 조성물을 포함하는 화장료, 약학 또는 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 조성물은 서열번호 1을 포함하는 펩티드, 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드, 또는 그것의 단편을 유효성분으로 포함함으로써 우수한 자외선에 의한 세포 독성 완화 효과를 나타낸다. 따라서, 피부의 자외선에 의한 세포 독성 완화를 통하여 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 치료할

수 있다. 특히 본 발명에 따른 펩티드가 포함된 조성물은 UVA 및 UVB 모두에 의한 피부 손상에 치료 또는 예방 효과가 우수한 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명의 일측면에 따른 서열번호 1의 펩티드의 농도변화에 대한 자외선 조사에 의한 세포독성 완화효과에 따른 세포 생존율(Cell viability, %)을 측정한 결과를 도시한 그래프이다.

도 2는 자외선 B 조사 후 서열번호 1의 펩티드(Pep1)을 농도별로 첨가하였을 경우에 IL-1α, IL-6, TNF-α를 억제한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 서열번호 1 에 기재된 펩티드는 아래 표 1과 같다. 서열번호 2는 인간의 텔로머라제 전장 단백질의 서열이다. 서열번호 1은 텔로머라제로부터 유래된 펩티드로서 16개 아미노산으로 구성된 펩티드이다. 아래 표 1의 "이름"은 펩티드를 구별하기 위해 명명한 것이다. 본 발명의 다른 일측면에서, 서열 번호 1의 펩티드는 텔로머라제에 포함된 펩티드 중 해당 위치의 펩티드를 선별해 합성한 "합성 펩티드"를 포함한다.

표 1

[0018]

서열 번호	이름	텔로머라제 상 위치	서열	길이
1.	pep1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa
2.	telomerase	[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQ RGDPAAFRALVAQCLVCVPWDARPPPAAPSFRQVSCLKEL VARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTTSVR SYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFV LVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCE RAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKRPRR GAAPEPERTPVGQGGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAE EATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTP CPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPSLTGARRL VETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNH AQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEE EDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVPPGLWGS RHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRDCAWL RRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSF FYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRE LSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVV GARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASV LGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTI PQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFK SHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNE ASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTL LCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHA KTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFV QMPAHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTF NRGFKAGRNMRRKLFGVLRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTN IYKILLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTA SLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLL KLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAAN PALPSDFKTILD	1132 aa

[0019] 본 발명의 일측면은 서열번호 1의 단편들인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 상기 폴리뉴클레오티드를 이용하여 서열번호 1의 단편들인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드를 대량 생산할 수 있다. 예컨대, 서열번호 1의 단편들인 펩티드 중 하나 이상의 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 숙주 세포에 넣어 배양함으로써, 서열번호 1의 단편들인 펩티드 중 하나 이상의 펩티드를 대량 생산할 수 있다.

[0020] 본 명세서에 개시된 펩티드는 서열번호 1의 단편들인 펩티드와, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 96% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에 개시된 펩티드는 서열번호 1의 단편들인 펩티드와, 1개 이상의 아미노산, 2개 이상의 아미노산, 3개 이상의 아미노산, 4개 이상의 아미노산, 5개 이상의 아미노산, 6개 이상의 아미노산 또는 7개 이상의 아미노산이 변화된 펩티드를 포함할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일측면에서, 아미노산 변화는 펩티드의 물리화학적 특성이 변경되도록 하는 성질에 속한다. 예를 들어, 펩티드의 열안정성을 향상시키고, 기질 특이성을 변경시키고, 최적의 pH를 변화시키는 등의 아미노산 변화가 수행될 수 있다.

[0022] 본 명세서에서 "아미노산"이라 함은 자연적으로 펩티드로 통합되는 22개의 표준 아미노산들 뿐만 아니라 D-아이소머 및 변형된 아미노산들을 포함한다. 이에 따라, 본 발명의 일측면에서 펩티드는 D-아미노산을 포함하는 펩티드일 수 있다. 한편, 본 발명의 다른 측면에서 펩티드는 번역 후 변형(post-translational modification)된 비표준 아미노산 등을 포함할 수 있다. 번역 후 변형의 예는 인산화(phosphorylation), 당화(glycosylation), 아실화(acylation) (예컨대, 아세틸화(acetylation), 미리스토일화(myristoylation) 및 팔미토일화(palmitoylation)를 포함), 알킬화(alkylation), 카르복실화(carboxylation), 히드록실화(hydroxylation), 당화반응(glycation), 비오티닐화(biotinylation), 유비퀴티닐화(ubiquitinylation), 화학적 성질의 변화(예컨대, 베타-제거 탈이미드화, 탈아미드화) 및 구조적 변화(예컨대, 이황화물 브릿지의 형성)를 포함한다. 또한, 펩티드 컨쥬게이트를 형성하기 위한 가교제(crosslinker)들과의 결합과정에서 일어나는 화학반응들에 의해 생기는 아미노산의 변화, 예컨대 아미노기, 카르복시기 또는 사이드 체인에서의 변화와 같은 아미노산의 변화를 포함한다.

[0023] 본 명세서에 개시된 펩티드는 자연 그대로의 공급원으로부터 동정 및 분리된 야생형 펩티드일 수 있다. 한편, 본 명세서에 개시된 펩티드는 서열번호 1의 단편들인 펩티드와 비교하여 하나 이상의 아미노산이 치환, 결실 및/또는 삽입된 아미노산 서열을 포함하는, 인공 변이체일 수 있다. 인공 변이체에서 뿐만 아니라 야생형 폴리펩티드에서의 아미노산 변화는 단백질의 폴딩(folding) 및/또는 활성에 유의한 영향을 미치지 않는 보존성 아미노산 치환을 포함한다. 보존성 치환의 예들은 염기성 아미노산(아르기닌, 리신 및 히스티딘), 산성 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산), 극성 아미노산(글루타민 및 아스파라긴), 소수성 아미노산(루신, 이소로이신, 발린 및 메티오닌), 방향족 아미노산(페닐알라닌, 트립토판 및 티로신), 및 작은 아미노산(글리신, 알라닌, 세린 및 트레오닌)의 군의 범위 내에 있다. 일반적으로 특이적 활성을 변경시키지 않는 아미노산 치환이 본 분야에 공지되어 있다. 가장 흔하게 발생하는 교환은 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, 및 Asp/Gly, 그리고 이들과 반대인 것들이다.

[0024] 또한, 본 발명의 다른 일측면은 상기와 같은 인간 단백질 유래의 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편을 유효성분으로 포함하는 조성물을 제공한다.

[0025] 피부 세포는 외부로부터 가해지는 자외선, 환경오염물질, 급격한 기온의 변화 등과 같은 세포손상 자극들에 의해 세포내의 다양한 생화학적 변화가 유도되어 세포 손상 반응을 나타낸다. 피부 세포의 세포막이 활성산소나 다른 라디칼에 의해 지속적으로 손상을 입게 되면 단백질이나 지질단백질(lipoprotein)의 가교(cross- linkage)가 증가하거나 분해가 되어, 과산화 지질의 양도 증가하게 된다. 따라서, 세포막의 투과성이 변화하여 세포내의 이온 균형이 깨지게 되고, 이런 변화는 세포 내의 대사 찌꺼기의 배출을 막고, 이 대사 찌꺼기를 제독하는 세포의 기능을 또한 감소시키게 된다. 그리고, 세포 내의 칼륨 농도의 증가로 콜로이드 밀도가 증가하면, mRNA나 단백질의 합성이 방해를 받게 되어 세포 손상을 치유할 수 있는 능력은 더욱 떨어지게 된다.

[0026] 이처럼 세포 수준의 변화가 지속되면, 피부 조직의 구조(tissue structure)가 규칙성을 잃게 됨과 동시에 개별 세포들은 상대적으로 커지면서, 전체 세포 수는 감소하게 된다. 또한, 진피(dermis)에 국소적인 상흔이 나타나고, 콜라겐 섬유(collagen fiber)나 탄력섬유(elastic fiber)의 감소로 진피 두께가 줄어든다. 콜라겐 섬유끼리의 가교도 증가하며 탄력섬유의 미세한 구조도 손상되어 전체적으로 피부의 탄력 저하가 나타난다. 즉, 외부 자극원에 의한 피부 세포의 산화적 손상은 궁극적으로 피부의 노화를 촉진시키게 된다.

[0027] 이러한 산화적 세포 손상을 일으키는 물질들로는, 산화적 스트레스에 의해 발생하는 과산화수소(H_2O_2), 초과산화물 음이온(superoxide anion), 수산화라디칼 (hydroxy radical) 등이 있으며, 이러한 유해 활성 산소종들의 세

포내독성을 제거하기 위해 우리 신체는 글루타치온(glutathione), 초과산화물 불균등화 효소(superoxide dismutase;SOD)와 같은 내인성 항산화 시스템을 갖추고 있다. 그러나, 세포내 대사활동이 지나치게 증가하거나, 신체가 감염, 과도한 운동, 방사선 또는 화합물과 같은 외인성 스트레스에 노출되면 이러한 내인성 항산화 능력을 초과하게 되는 경우가 있으며, 이때 자유라디칼에 의한 세포 손상이 나타나게 된다.

[0028] 이에 본 발명의 일측면은 인간 단백질 유래의 펩티드로서, 서열번호 1의 단편들인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편을 유효성분으로 포함하는 조성물을 제공함으로써, 피부 세포 자체의 내인성 항산화력, 즉 세포의 생리적인 환원력을 증가시켜 자외선과 같은 자극으로부터 세포 손상을 억제할 수 있다. 따라서, 이를 피부에 도포 또는 투여할 경우 펩티드가 세포내 독성을 완화시킴으로써 자외선과 같은 자극으로부터 피부를 보호하고 피부의 손상을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0029] 본 발명의 일측면에 따른 조성물은 서열번호 1의 단편들인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드를 0.1 ㎍/㎎ 내지 1 ㎎/㎎, 구체적으로 1 ㎍/㎎ 내지 0.5 ㎎/㎎, 더 구체적으로 10 ㎍/㎎ 내지 0.1 ㎎/㎎ 함량으로 포함할 수 있다. 상기 범위로 포함하는 경우 본 발명의 의도한 효과를 나타내기에 적절할 뿐만 아니라, 조성물의 안정성 및 안전성을 모두 만족할 수 있으며, 비용 대비 효과의 측면에서도 상기 범위로 포함하는 것이 적절할 수 있다.

[0030] 본 발명의 일측면에 따른 조성물은 인간, 개, 닭, 돼지, 소, 양, 기니아피그 또는 원숭이를 포함하는 모든 동물에 적용될 수 있다.

[0031] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 경구, 직장, 경피, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 골수 내, 경막 내 또는 피하 등으로 투여될 수 있다.

[0032] 경구 투여를 위한 제형은 정제, 환제, 연질 또는 경질 캅셀제, 과립제, 산제, 액제 또는 유탁제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 비경구 투여를 위한 제형은 주사제, 점적제, 로션, 연고, 겔, 크림, 현탁제, 유제, 좌제, 패취 또는 분무제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 필요에 따라 희석제, 부형제, 활택제, 결합제, 붕해제, 완충제, 분산제, 계면 활성제, 착색제, 향료 또는 감미제 등의 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 당업계의 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0034] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물의 유효성분은 투여 받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적용량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 0.1 ㎍/kg/일 내지 1 g/kg/일, 구체적으로는 1 ㎍/kg/일 내지 10 ㎎/kg/일, 더 구체적으로는 10 ㎍/kg/일 내지 1 ㎎/kg/일, 보다 더 구체적으로는 50 ㎍/kg/일 내지 100 ㎍/kg/일이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 1일 1회 내지 3회 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물에 의하면, 자외선이 피부에 조사됨에 따른 다양한 증상 또는 질병을 예방 또는 개선할 수 있다. 예를 들면, 자외선에 의해 유발된 피부 자극으로 인한 일광화상, 홍반, 부종, 색소침착, 피부 염증, 피부 각화뿐만 아니라, 광알레르기, 광독성과 같은 광감작현상, 만성반응으로서 광노화 또는 흑색종과 같은 피부암 등의 발생을 예방 또는 개선할 수 있다.

[0036] 본 발명의 일측면에 따른 화장품 조성물은 국소 적용에 적합한 모든 제형으로 제공될 수 있다. 예를 들면, 용액, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 유상에 수상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 현탁액, 고체, 겔, 분말, 페이스트, 포말(foam) 또는 에어로졸의 제형으로 제공될 수 있다. 이러한 제형은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명의 일측면에 따른 화장품 조성물은 주사액 제형으로 제공될 수 있다. 이 주사액 제형의 화장품 조성물은 1개의 니들을 갖는 주사기, 복수개의 니들을 갖는 주사기, 패치, 마이크로 니들 또는 마이크로젯 방식으로 고속 분사하거나 알루미늄 호일(foil)에 레이저 빔을 가함으로써 유발되는 충격파를 통해 주사액을 분사하는 기구를 예로 들 수 있는 다양한 전달기구를 통하여 피부에 주입될 수 있다. 상기 레이저를 이용하는 방식에 의하면 주사바늘을 사용하지 않으므로, 주사시의 통증 및 주사 바늘 사용으로 인한 상처 등을 방지할 수 있다. 이와 같이 주사액 제형에 의하면 화장품 조성물에 포함된 활성성분을 피부와 같은 표적 부위에 직접적으로 전달할

수 있어 효과를 극대화시킬 수 있다. 또한, 레이저를 이용하는 방식에 의하면 주사바늘을 사용하지 않으므로, 주사시의 통증 및 주사 바늘 사용으로 인한 상처 등을 방지할 수 있다.

[0038] 본 발명의 일측면에 따른 화장품 조성물은 주 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서, 바람직하게는 주 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분들을 포함할 수 있다. 또한 본 발명의 일측면에 따른 화장품 조성물은 보습제, 에몰리언트제, 계면 활성제, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, pH 조정제, 유기 또는 무기 안료, 향료, 냉감제 또는 제한(制汗)제를 더 포함할 수 있다. 상기 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하며, 그 배합량은 화장품 조성물 전체 중량을 기준으로 0.01 내지 5 중량%, 구체적으로 0.01 내지 3 중량%일 수 있다.

[0039] 본 발명의 일측면에 따른 식품 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 정제, 과립제, 분말제, 액제, 고형 제제 등으로 제형화될 수 있다. 각 제형은 유효성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.

[0040] 상기 유효성분의 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 구체적으로는 1 ㎍/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 더 구체적으로는 10 ㎍/kg/일 내지 1 mg/kg/일, 보다 더 구체적으로는 50 ㎍/kg/일 내지 100 ㎍/kg/일이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 투여하고자 하는 대상의 연령, 건강 상태, 합병증 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.

[0041] 자외선은 체내에서 비타민D를 합성하고, 살균작용을 하는 등 이로운 역할을 하는 동시에 피부노화, 피부암, 건조, 피부염, 잔주름, 기미, 주근깨 등을 생기게도 한다. 자외선(Ultraviolet; UV)은 파장길이에 따라 A, B, C의 세 가지로 나뉘는데, 이 중 UVC는 오존층에서 차단되고, UVA와 UVB가 피부에 영향을 미친다. UVA는 자외선의 90% 이상을 차지하며 피부노화의 주원인으로 꼽힌다. 일출부터 일몰 때까지 하루 종일, 사계절 내내 존재한다. 구름 낀 흐린 날, 비 오는 날에도 피할 수 없으며 유리도 투과한다. UVB는 여름에 증가하며, UVA보다 파장이 짧아 피부 깊숙이 침투하지는 못하지만 과다하게 쪼이면 일광화상을 일으키거나 홍반, 물집, 화상, 염증을 일으키며 피부노화의 원인이 된다.

[0042] 이하, 본 발명에 따른 펩티드 PEP 1이 UVA 및 UVB에 미치는 영향을 실시예 및 실험예로 확인함으로써 본 발명의 구성 및 효과를 보다 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나 아래 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 그에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0043] 실시예 1: 펩티드의 합성

[0044] 본 명세서에 개시된 펩티드들은 종래에 알려진 고상 펩티드 합성법에 따라 제조하였다. 구체적으로, 펩티드들은 ASP48S(Peptron, Inc., 대한민국 대전)를 이용하여 Fmoc 고상 합성법(solid phase peptide synthesis, SPPS)을 통해 C-말단부터 아미노산 하나씩 커플링함으로써 합성하였다. 다음과 같이, 펩티드들의 C-말단의 첫번째 아미노산이 수지에 부착된 것을 사용하였다. 예컨대 다음과 같다:

[0045] NH_2-Lys(Boc)-2-chloro-Trityl Resin

[0046] NH_2-Ala-2-chloro-Trityl Resin

[0047] NH_2-Arg(Pbf)-2-chloro-Trityl Resin

[0048] 펩타이드 합성에 사용한 모든 아미노산 원료는 N-term이 Fmoc으로 보호(protection)되고, 잔기는 모두 산에서

제거되는 Trt, Boc, t-Bu (t-butylester), Pbf (2,2,4,6,7-pentamethyl dihydro-benzofuran-5-sulfonyl) 등으로 보호된 것을 사용하였다. 예컨대 다음과 같다:

[0049] Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ahx-OH, Trt-Mercaptoacetic acid.

[0050] 커플링 시약(Coupling reagent)으로는 HBTU[2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetamethylaminium hexafluorophosphate] / HOBt [N-Hydroxxybenzotriazole] /NMM [4-Methylmorpholine] 를 사용하였다. Fmoc 제거는 20%의 DMF 중 피페리딘(piperidine in DMF)을 이용하였다. 합성된 펩타이드를 Resin에서 분리 및 잔기의 보호기 제거에는 절단 칵테일(Cleavage Cocktail) [TFA (trifluoroacetic acid) /TIS (triisopropylsilane) / EDT (ethanedithiol) / H_2O=92.5/2.5/2.5/2.5] 를 사용하였다.

[0051] 아미노산 보호기가 결합된 출발 아미노산이 고상 지지체에 결합되어 있는 상태를 이용하여 여기에 해당 아미노산들을 각각 반응시키고 용매로 세척한 후 탈보호하는 과정을 반복함으로써 각 펩티드를 합성하였다. 합성된 펩티드를 수지로부터 끊어낸 후 HPLC로 정제하고, 합성 여부를 MS로 확인하고 동결 건조하였다.

[0052] 서열번호 1의 Pep 1을 예로 들어 구체적인 과정을 설명하면 다음과 같다.

[0053] 1) 커플링

[0054] NH_2-Lys(Boc)-2-chloro-Trityl Resin 에 보호된 아미노산(8당량)와 커플링 시약 HBTU(8당량)/HOBt(8당량)/NMM(16당량) 을 DMF에 녹여서 첨가한 후, 상온에서 2시간 동안 반응하고 DMF, MeOH, DMF순으로 세척하였다.

[0055] 2) Fmoc 탈보호

[0056] 20%의 DMF 중의 피페리딘(piperidine in DMF) 을 가하고 상온에서 5분 간 2회 반응하고 DMF, MeOH, DMF순으로 세척하였다.

[0057] 3) 1과 2의 반응을 반복적으로 하여 펩타이드 기본 골격 NH_2-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-chloro-Trityl Resin)을 만들었다.

[0058] 4) 절단(Cleavagge): 합성이 완료된 펩타이드 Resin에 절단 칵테일(Cleavage Cocktail) 을 가하여 펩타이드를 Resin에서 분리하였다.

[0059] 5) 얻어진 mixture에 Cooling diethyl ether를 가한 후, 원심 분리하여 얻어진 펩타이드를 침전시킨다.

[0060] 6) Prep-HPLC로 정제 후, LC/MS로 분자량을 확인하고 동결하여 powder로 제조하였다.

[0061] 실시예 2: 서열번호 1의 펩티드(Pep1)의 자외선에 의한 세포 독성 완화 효과 실험

[0062] 1)세포배양

[0063] 인간 진피 섬유아세포(human dermal fibroblast)를 Gibco로부터 구입하였다. 구입한 인간 진피 섬유아세포를 Medium 106 배지에서 LSGS(Low Serum Growth Supplement)를 첨가하여 37℃, 5% CO_2 조건하에서 배양하고 트립신처리법(Trypsinization)으로 계대 배양하여 3~5세대 세포를 얻었다.

[0064] 2)UVA 조사에 의한 세포독성 완화 효과

[0065] 상기와 같이 배양한 인간 진피 섬유아세포를 96-well plate에 1 x 10^4/well을 넣고 16~18시간 동안 배양하였다. UVA 조사 전에 배양배지를 제거한 후 인산염완충용액(PBS)로 세척한 후에 4.5 J/㎠ UVA를 조사하였다. UVA 조사 후에 serum을 첨가하지 않은 Medium 106 배지에 본 발명의 일측면에 따른 서열번호 1의 펩티드

(Pep1)를 농도별(10, 100, 500 ㎍/㎖)로 처리하여 24시간 배양하였다.

[0066] 24시간이 경과한 후에 MTT 용액(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide; 5 ㎎/㎖)를 10 ㎕ 첨가하고 2시간 동안 37℃, 5% CO_2 조건하에서 배양하였다. 배지를 제거하고 DMSO(dimethylsulfoxide)를 100 ㎕를 넣고 상온에서 10분간 흔들어준 다음, 570 ㎚에서 마이크로 플레이트 판독기를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 통하여 세포의 생존율을 계산한 결과를 도 1에 나타내었다. 이때 세포의 생존율은 하기 수학식 1에 의하여 계산하였다.

수학식 1

[0067]
$$\text{세포생존율}(\%) = \frac{(OD_{570}treated - OD_{570}blank)}{(OD_{570}untreated - OD_{570}blank)} \times 100$$

[0068] Blank: 세포 배양 배지만을 발색반응한 웰의 570㎚ 흡광도

[0069] treated: 시료(Pep1)를 처리한 웰을 발색 반응한 웰의 570㎚ 흡광도

[0070] untreated: 시료(Pep1)를 처리하지 않은 웰을 발색 반응한 웰의 570㎚ 흡광도

[0071] 도 1에 나타난 바와 같이, 자외선 조사 후 세포의 생존율은 자외선을 조사하지 않고, 본 발명의 일측면에 따른 서열번호 1의 펩티드(Pep1)도 첨가하지 않았을 때를 100%로 할 때, 자외선 조사시에는 80%로 감소한 것으로 나타났다. 또한, 자외선 조사 후 서열번호 1의 펩티드를 10, 100, 500 ㎍/㎖의 농도로 첨가한 경우 세포의 생존율이 농도가 증가함에 따라 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 펩티드를 100 ㎍/㎖의 농도로 첨가한 경우 세포의 생존율이 거의 100%로 나타났고, 펩티드를 500 ㎍/㎖의 농도로 첨가한 경우에는 세포의 생존율이 자외선을 조사하지 않은 경우보다 더 높게 나타났다. 이는 본 발명의 일측면에 따른 펩티드가 자외선 조사에 의해 발생하는 세포 독성을 완화시킴으로써 세포의 생존율도 그에 따라 증가한 것임을 의미한다. 따라서, 이를 통하여 본 발명의 일측면에 따른 펩티드에 의하면 자외선에 의한 피부의 손상을 예방하거나 이를 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0072] 실시예 3: 서열번호 1의 펩티드(Pep1)의 자외선 조사에 의한 염증성 사이토카인 발현 억제 효과 실험

[0073] 1)세포배양

[0074] 정상 인간 상피 각질형성세포(normal human epidermal keratinocyte)를 Gibco로부터 구입하였다. 구입한 정상 인간 상피 각질형성세포를 Keratinocyte-SFM 배지에 BPE(Bovine Pituitary Extract)와 EGF (Epidermal Growth Factor, Human Recombinant)를 첨가하여 37℃, 5% CO_2 조건하에서 배양하고 트립신처리법(Trypsinization)으로 계대 배양하여 3~5세대 세포를 얻었다.

[0075] 2)UVB 조사에 의한 염증성 사이토카인 억제 효과

[0076] 상기와 같이 배양한 인간 상피 각질형성세포를 12-well plate에 2 x 10^5/well을 넣고 16~18시간 동안 배양하였다. UVB 조사 전에 배양배지를 제거한 후 인산염완충용액(PBS)로 세척한 후에 25 mJ/㎠ UVB를 조사하였다. UVB 조사 후에 BPE(Bovine Pituitary Extract)와 EGF (Epidermal Growth Factor, Human Recombinant)를 첨가하지 않은 Keratinocyte-SFM 배지에 본 발명의 일측면에 따른 서열번호 1의 펩티드(Pep1)를 농도별(1, 10, 100, 500, 1000 ㎍/㎖)로 처리하여 24시간 배양하였다.

[0077] 24시간이 경과한 후에 배양 상층액을 수거하여 IL-1α, IL-6 및 TNF-α를 정량화하여 염증성 사이토카인 발현억제효과를 판단하였다. 염증성 사이토카인의 양은 ELISA를 이용하여 정량화하였으며, 염증성 사이토카인의 생성

율은 수학식 2에 의해 계산하였다.

수학식 2

$$염증성\ 사이토카인\ 발현\ 억제율(\%)=\{1-(St-B0)/(Bt-B0)\}\ x\ 100$$

[0078]

[0079] B0: 자외선을 조사하지 않고 시료(Pep1)를 처리하지 않은 웰의 염증성 사이토카인 생성량

[0080] Bt: 자외선을 조사하고 시료(Pep1)를 처리하지 않은 웰의 염증성 사이토카인 생성량

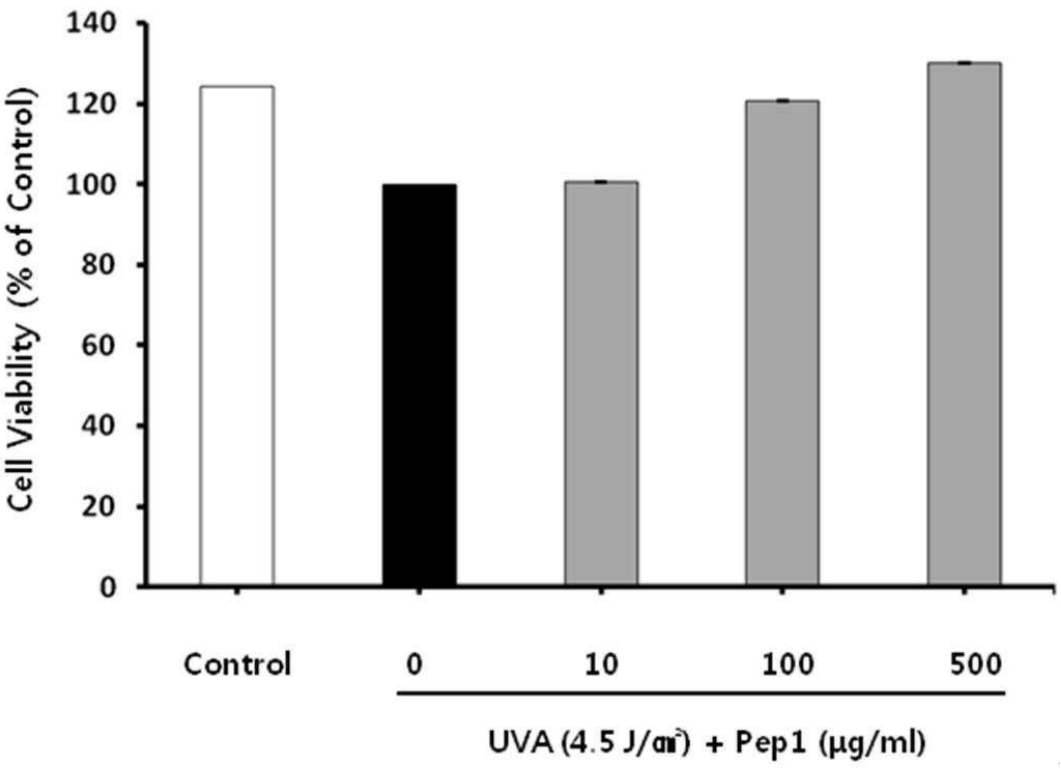
[0081] St: 자외선을 조사하고 시료(Pep1)을 처리한 웰의 염증성 사이토카인 생성량

[0082] 도 2에 나타난 바와 같이, 자외선 B 조사 후 서열번호 1의 펩티드(Pep1)을 농도별로 첨가하였을 경우에 IL-1α는 38.1%, 32.9%, 27.2%. 12.1%, 30.7% 억제하였고, IL-6는 55.6%, 51.6%, 34.4%, 33.5%, 36.8%를 억제하였으며, 또한 TNF-α는 20.7%, 20.3%, 16.1%, 20.4%, 32.4%를 억제하였다. 이러한 결과들은 낮은 펩티드(Pep1) 처리 농도에서도 자외선에 의한 염증 발생을 효과적으로 방어함을 알 수 있다.

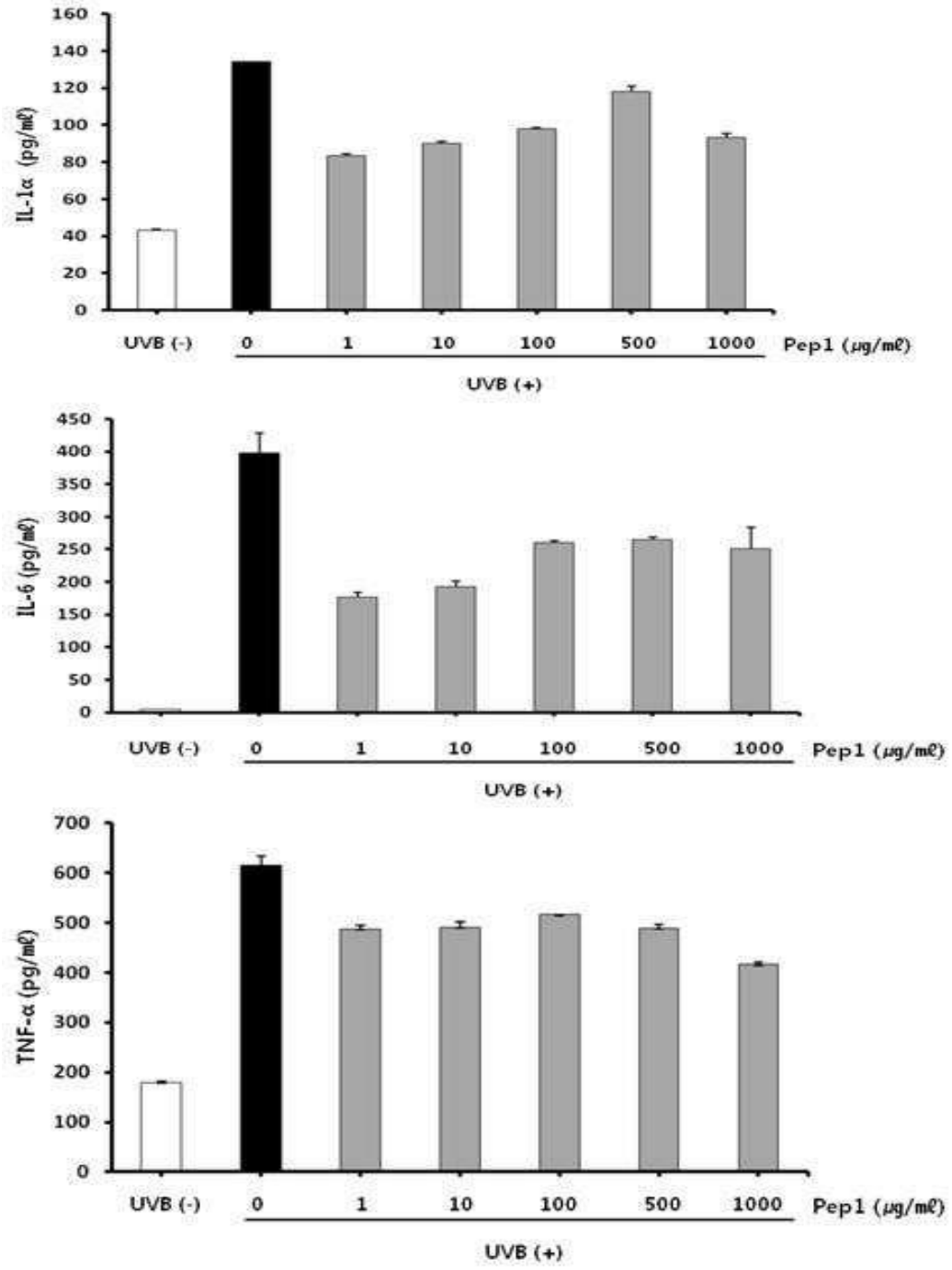
[0083] 따라서, 이를 통하여 본 발명의 일측면에 따른 펩티드에 의하면 자외선에 의한 염증 반응을 억제하여 피부의 손상을 예방하거나 이를 치료할 수 있음을 알 수 있다.

도면

도면1



도면2



서 열 목 록

<110> KAEL-GemVax Co.,Ltd.

KIM, SANGJAE

<120> Composition for preventing or treating skin damages caused by ultraviolet rays

<130> 13P540IND

<150> KR 10-2012-0145501

<151> 2012-12-13

<160> 2

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
1 5 10 15

<210> 2

<211> 1132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val

130 135 140

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

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

275 280 285
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
290 295 300
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305 310 315 320
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
325 330 335
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350

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

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln

420 425 430
Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445
Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460
Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480
Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510
Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525
Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540
Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560
Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr

565 570 575
Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590
Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605
His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

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

645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg

660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg

675 680 685

Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His

740 745 750

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

755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser

770 775 780

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

785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His

805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro

820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp

835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu

850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala

865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys

885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu

900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe

915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser

930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe

945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly

965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn

980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln

995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln

1010 1015 1020

Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala

1025 1030 1035 1040

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu

1045 1050 1055

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

1060 1065 1070

Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr

1075 1080 1085

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser

1090 1095 1100

Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn

1105 1110 1115 1120

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

1125 1130