

청구범위

- [청구항 1] 2개 이상의 유비퀴틴이 공유결합되어 형성된 폴리유비퀴틴 스캐폴드, 및 서로 다른 결합 부위 (binding sites)에 대해 특이적인 결합 모이어티 (binding moieties)를 포함하는 2개 내지 10개의 생체분자를 포함하는, 다기능성 다중특이적 생체분자 중합체로서, 상기 생체분자는 다른 생체분자, 저분자 화합물 (small molecule chemical compounds) 또는 나노입자와 특이적으로 결합하는 활성부위 (active sites)를 포함하고, 상기 유비퀴틴의 N-말단, C-말단, 또는 N-말단 및 C-말단 둘 모두에 직접 결합되거나 링커에 의해 결합되며, 상기 생체분자의 생체 내 안정성 및 지속시간을 연장하는 캐리어 (carrier)가 상기 유비퀴틴의 N-말단, C-말단, 또는 N-말단 및 C-말단 둘 모두에 직접 결합되거나 링커에 의해 결합된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체 (multivalent multispecific multimeric biomolecule complex).
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 링커는 GGGGS 또는 EAAAK가 1개 내지 30개 반복하여 조합된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.
- [청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 유비퀴틴의 N-말단에 결합된 생체분자는 상기 멀티머 생체분자 중합체의 원위 말단 (distal end)인 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.
- [청구항 4] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 유비퀴틴의 C-말단 또는 N-말단, 또는 둘 모두에 결합된 생체분자는 멀티머 생체분자 중합체의 근위 말단 (proximal end)인 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.
- [청구항 5] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 캐리어는 알부민, 항체단편, Fc domain, transferrin, XTEN (genetic fusion of non-exact repeat peptide sequence), CTP (carboxy-terminal peptide), PAS (proline-alanine-serine polymer), ELK (elastin-like peptide), HAP (homo-amino acid polymer), GLK (gelatin-like protein), PEG (poly ethylene glycol), 및 지방산 (fatty acid)으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.
- [청구항 6] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리유비퀴틴 스캐폴드는 유비퀴틴의 하나 이상의 라이신이 아르기닌 또는 알라닌을 포함한 다른 아미노산으로 치환된 것인 공여체 유비퀴틴과 N-말단으로부터 6번째, 11번째, 27번째, 29번째, 33번째, 48번째 또는 63번째 라이신이 아르기닌 또는 알라닌을 포함한 다른 아미노산으로 치환된 것인 수용체 유비퀴틴이 공유결합을 통해 연결되어 형성된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.
- [청구항 7] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 유비퀴틴의 N말단에서부터 73번째

류신이 프롤린을 포함한 다른 아미노산으로 치환된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.

[청구항 8]

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 생체분자는 인슐린, 인슐린 유사체, 글루카곤, 글루카곤-유사 펩타이드류, GLP-1 및 글루카곤 이중 작용제, GLP-1 및 GIP 이중 작용제, GLP-1 및 글루카곤 및 GIP 삼중 작용제, 엑센딘-4 (exendin-4), 엑센딘-4 (exendin-4) 유사체, 인슐린 분비 펩타이드 및 그 유사체, 인간 성장 호르몬 (human growth hormone), 성장호르몬 방출 호르몬 (GHRH), 성장 호르몬 방출 펩타이드, 과립구집락자극인자 (G-CSF), 항비만 펩타이드, 지프로테인 관련 수용체 (G-protein-coupled receptor), 랩틴, GIP (Gastric inhibitory polypeptide), 인터루킨류, 인터루킨 수용체류, 인터루킨 결합 단백질류, 인터페론류, 인터페론 수용체류, 사이토카인 결합 단백질류, 마크로파지 활성화인자, 마크로파지 펩타이드, B 세포인자, T 세포인자, 알러지 억제인자, 세포 괴사 당단백질, 면역독소, 림포독소, 종양 괴사인자 (TNF), 종양 억제인자, 전이 성장인자, 알파-1 안티트립신, 알부민, α -락트알부민, 아포리포단백질-E, 적혈구 생성인자 (EPO), 고당쇄화 적혈구생성인자, 안지오프이에틴류, 헤모글로빈, 크롬빈, 트롬빈 수용체 활성화 펩타이드, 트롬보모듈린, 혈액인자 VII, VIIa, VIII, IX, 및 XIII, 플라즈미노젠 활성화인자, 피브리-결합 펩타이드, 유로키나제, 스트렙토키나제, 히루딘, 단백질 C, C-반응성 단백질, 레닌 억제제, 콜라게나제 억제제, 수퍼옥사이드 디스뮤타제, 혈소판 유래 성장인자 상피세포 성장인자, 표피세포 성장인자, 안지오프이에틴, 안지오프이에틴, 골 형성 성장인자, 골 형성 촉진 단백질, 칼시토닌, 아트리오펩틴, 연골 유도인자, 엘카토닌, 결합조직 활성화인자, 조직인자 경로 억제제, 여포자극 호르몬 (FSH), 황체 형성 호르몬 (LH), 황체 형성 호르몬 방출 호르몬 (LHRH), 신경 성장인자류, 부갑상선 호르몬 (PTH), 릴렉신, 씨크레틴, 소마토메딘, 부신피질 호르몬, 콜레스티스토키닌, 췌장 폴리펩타이드, 가스트린 방출 펩타이드, 코티코트로핀 방출인자, 갑상선 자극호르몬 (TSH), 오토탁신, 락토페린, 미오스타틴, 수용체, 수용체 길항물질, 섬유아세포 성장인자 (Fibroblast growth factor), 아디포넥틴 (Adiponectin), 인터루킨 수용체 길항제 (interleukin receptor antagonist), 세포표면항원, 바이러스 유래 백신 항원, 단일클론 항체, 다중클론 항체 및 항체 단편류로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체.

[청구항 9]

(i) 유비퀴틴 C-말단 태그 (tag)가 융합 또는 링커에 의해 결합된 생체분자 (bio-molecules)를 원핵세포 또는 진핵세포를 포함하는 숙주세포로부터 재조합 발현시키고, 및
(ii) 상기 숙주세포의 용해물 (cell lysates) 또는 정제산물에 유비퀴틴화를 위한 E1, E2 및 E3 효소, 또는 E1 및 E2 효소를 가하고 반응시키는 것을

포함하고,
 폴리유비퀴틴 스캐폴드, 서로 다른 결합 부위 (binding sites)에 대해 특이적인 결합 모이어티 (binding moieties)를 포함하는 2개 이상의 생체분자 및 생체내 지속시간을 연장하는 캐리어(carrier)가 유비퀴틴의 N-말단 또는 C-말단에 직접 또는 링커로 결합된, 다기능성 다중특이적 생체분자 중합체를 제조하는 방법으로서,
 상기 폴리유비퀴틴 스캐폴드는 2개 이상의 유비퀴틴이 공유결합을 통해 연결되어 형성되고,
 상기 생체분자는 2개 내지 10개의 생체분자로 구성되고, 다른 생체분자, 저분자 화합물 (small molecule chemical compounds) 또는 나노입자와 특이적으로 결합하는 활성부위 (active sites)를 가지며, 상기 유비퀴틴의 N-말단, C-말단, 또는 N-말단 및 C-말단 둘 모두에 링커로 결합된 것인, 다기능성 다중특이적 멀티머 생체분자 중합체 (multivalent multispecific multimeric biomolecule complex)를 제조하는 방법.

[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 E2 효소는 유비퀴틴의 N-말단으로부터 6번째, 11번째, 27번째, 29번째, 33번째, 48번째 또는 63번째의 라이신과 결합하는 것인, 방법.

[청구항 11] 제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 E2 효소는 E2-25K 유비퀴틴 컨주게이션 (ubiquitin conjugating) 효소인 것인, 방법.

[청구항 12] 제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 E2 효소는 유비퀴틴 컨주게이션 효소 복합체인 Ucb13-MMS2인 것인, 방법.

[청구항 13] 제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 유비퀴틴 C-말단 태그는 2개 이상의 유비퀴틴이 헤드-투-테일 (head-to-tail) 또는 분기 형태 (branched type or iso-peptide branch type) 형태로 반복 연결된 것인, 방법.

[청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 헤드-투-테일 또는 분기 형태로 연결되는 유비퀴틴은, N 말단에서부터 75번째 및 76번째 글라이신이 발린을 포함한 다른 아미노산으로 치환된 것인, 방법.