



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월30일
(11) 등록번호 10-1883797
(24) 등록일자 2018년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/70 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7029471
(22) 출원일자(국제) 2011년04월15일
심사청구일자 2016년04월12일
(85) 번역문제출일자 2012년11월09일
(65) 공개번호 10-2013-0069625
(43) 공개일자 2013년06월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/032709
(87) 국제공개번호 WO 2011/130646
국제공개일자 2011년10월20일
(30) 우선권주장
61/324,657 2010년04월15일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20080026064 A1*
US20090117175 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
마린 폴리머 테크놀로지스, 인코퍼레이션.
미국 01923 매사추세츠, 덴버스 워터 스트리트 107
(72) 발명자
부르나키스 존 엔.
미국 29403 사우스캐롤라이나주 찰스턴 론디스 포인트 드라이브 23
핀키엘슈타인 세르지오
미국 02459 매사추세츠주 뉴튼 리틀필드 로드 24
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 59 항

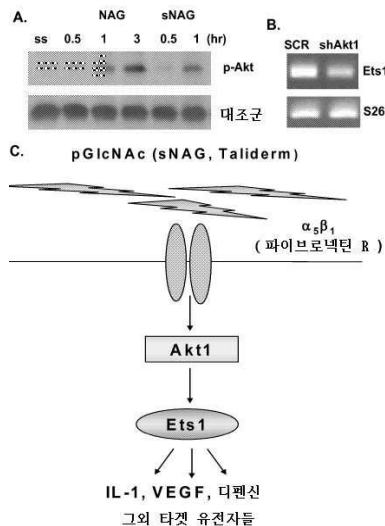
심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 폴리-N-아세틸글루코사민 나노섬유의 항-세균성 용도

(57) 요약

본 발명은 폴리-N-아세틸글루코사민 및/또는 이의 유도체로 이루어진 단섬유 ("sNAG 나노섬유")를 포함하는 조성물, 및 이러한 조성물의 항세균성 적용을 개시한다. sNAG 나노섬유는 박테리아 감염과 박테리아 감염과 관련된 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 조성물로 제형화할 수 있다. 또한, 이러한 조성물을 이용하는 용법도 개시한다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아 감염 치료를 위한 항세균용 조성물로서,

상기 조성물은 박테리아 감염으로 진단받거나 박테리아 감염의 증상들 중 한가지 이상을 나타내는 개체에게 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 감염은 피부 감염, 호흡기 감염, 비노기 감염 또는 생식기 감염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 감염은 위장 감염인, 조성물.

청구항 4

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아 감염에 의한 질환 또는 박테리아 미생물총 이상에 의한 질환 치료를 위한 항세균용 조성물로서,

상기 조성물은 박테리아 감염에 의한 질환 또는 박테리아 미생물총 이상에 의한 질환으로 진단받거나 박테리아 감염에 의한 질환 또는 박테리아 미생물총 이상에 의한 질환의 증상들 중 한가지 이상을 나타내는 개체에게 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 질환은 피부 질환인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 질환은 위장 질환인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 감염은 병원내 감염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 감염은 병원내 감염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아 감염에 의한 질환의 발병 또는 개시를 억제하기 위한 항세균용 조성물로서,

상기 조성물은 개체에게 국소 투여되고,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 10

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아 감염에 의한 질환의 재발 억제를 위한 항세균용 조성물로서,

상기 조성물은 개체에게 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 개체는 상처가 있거나 수술을 받은 개체인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 개체는 상처가 있거나 수술을 받은 개체인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 감염은 상처 부위가 아닌 곳에 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제4항에 있어서, 상기 감염은 상처 부위가 아닌 곳에 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제9항에 있어서, 상기 감염은 상처 부위가 아닌 곳에 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제10항에 있어서, 상기 감염은 상처 부위가 아닌 곳에 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 여드름 예방 또는 치료용 조성물로서,

상기 조성물은 개체에게 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의

길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 18

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아 감염에 의한 또는 박테리아 감염과 관련된 피부염 예방 또는 치료용 조성물로서,

상기 조성물은 개체에 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 19

폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유인 sNAG (shortened fibers of poly-N-acetylglucosamine) 나노섬유를 포함하는, 박테리아에 의해 감염된 상처 치료용 조성물로서,

상기 조성물은 박테리아 감염으로 진단받거나 박테리아 감염의 증상들 중 한가지 이상을 나타내는 개체의 상처 부위에 국소 투여되며,

상기 sNAG 나노섬유는 a) 1 μ m 내지 10 μ m 미만의 길이이거나, b) sNAG 나노섬유의 50% 이상이 1 내지 15 μ m의 길이를 가지고 있으며,

상기 sNAG 나노섬유는 70% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 및

상기 sNAG 나노섬유는 시험관내 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 영향을 미치지 않는 것인, 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 상처는 개방형 상처(open wound)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 개방형 상처는 총상, 자창(puncture wound), 열상(laceration wound), 자상(cut), 찰과상(abrasion), 관통상(penetration wound) 또는 수술창상(surgical wound)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서,

상기 상처는 자창이며,

상기 자창은 혈액투석 시술 또는 카테터 삽입 시술(catheterization procedure)에 의해 발생되며,

상기 개체는 혈액투석-관련 감염 또는 카테터 삽입-관련 감염으로 진단받은 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제16항 또는 제18항 내지 22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감염은 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 보르데텔라 퍼투시스(*Bordetella pertussis*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus*), 브루셀라 카니스(*Brucella canis*), 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis*), 브루셀라 수이스(*Brucella suis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumonia*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*), 클라미도필라 프사이탁시

(*Clamidophila psittaci*), 클로스트리듐 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리듐 디피쿨(*Clostridium difficile*), 클로스트리듐 퍼프린겐스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움(*Enterococcus faecium*), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 프랜시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*), 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 렙토스피라 뉴모필라(*Leptospira pneumophila*), 렙토스피라 인테로간스(*Leptospira interrogans*), 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), 미코박테리움 레프라이(*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumoniae*), 네이세리아 고노레애(*Neisseria gonorrhoeae*), 네이세리아 메닝기티데스(*Neisseria meningitides*), 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*), 살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소나이(*Shigella sonnei*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코커스 아갈락티애(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*), 비브리아 콜레라(*Vibria cholerae*), 및 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*) 중 한가지 이상의 종에 의한 박테리아 감염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제16항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 박테리아는 표준 항생제 요법(standard antibiotic therapy)에 내성인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제16항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감염은 MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피쿨 감염인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 인간인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 27

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 크림, 젤, 연고, 멤브레인, 산제, 스프레이 또는 좌제로서 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 28

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 하나 이상의 추가적인 항세균제를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 29

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 하나 이상의 항세균제와 병용하여 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 항세균제는 항생제인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 항세균제는 항생제인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 32

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 면역조절제와 함께 투여되지 않는 것을 특징으로 하

는 조성물.

청구항 33

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은, sNAG 나노섬유내 캡슐화되거나, 고정되거나, 제형화되는 추가적인 요법을 포함하지 않는 것인, 조성물.

청구항 34

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 추가적인 활성 성분을 포함하지 않는 것인, 조성물.

청구항 35

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 다른 요법과 병용되어 투여되지 않는 것인, 조성물.

청구항 36

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유의 50% 이상이 2 - 10 μm 의 길이를 가진 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 37

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유의 50% 이상이 4 - 7 μm 의 길이를 가진 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 38

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유 100%가 1 - 15 μm 의 길이를 가진 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 39

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 4 μm 내지 7 μm 의 평균 길이인, 조성물.

청구항 40

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 섬유의 길이는 주사 전자 현미경(SEM) 분석에 의해 결정되는 것인, 조성물.

청구항 41

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 폴리-N-아세틸글루코사민의 감마선 조사에 의해 제조되는 것인, 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 폴리-N-아세틸글루코사민은 건조된 섬유, 건조된 섬유 멤브레인, 또는 건조 및 동결건조된 물질 형태로 500 내지 2,000 kgy 에서 조사된 것인, 조성물.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 폴리-N-아세틸글루코사민은 현탁액, 슬러리 또는 져는 케이크 형태로 100 내지 500 kgy 에서 조사된 것인, 조성물.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 폴리-N-아세틸글루코사민은 건조된 섬유, 건조된 섬유 멤브레인, 또는 건조 및 동결건조된 물질 형태로 750 내지 1,250 kgy 에서 조사된 것인, 조성물.

청구항 45

제43항에 있어서, 상기 폴리-N-아세틸글루코사민은 현탁액, 슬러리 또는 져는 케이크 형태로 150 내지 250 kgy

에서 조사된 것인, 조성물.

청구항 46

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 미소조류의 폴리-N-아세틸글루코사민으로부터 제조된 것인, 조성물.

청구항 47

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 갑각류로부터 유래되지 않은 것인, 조성물.

청구항 48

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 80% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 49

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 90% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 50

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 95% 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 51

제4항 내지 제6항 또는 제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 박테리아 감염과 관련된 질환은 박테리아혈증 또는 패혈증인, 조성물.

청구항 52

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 검출가능한 이물질 반응(foreign body reaction)을 야기하지 않는 것인, 조성물.

청구항 53

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 조성물의 투약 또는 적용 당 sNAG 나노섬유 0.2 내지 20 mg/cm² 를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 54

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유는 MTT [3-(4,5-디메틸티아졸-2일)-2,5-디페닐 테트라졸리움 브로마이드] 분석에서 혈청-고갈시킨 인간 제대혈 내피세포의 대사율을 증가시키고, 상기 sNAG 나노섬유는 트립판 블루 배제 테스트에서 혈청-고갈시킨 인간 제대혈 내피세포를 세포자살로부터 보호하지 않는 것인, 조성물.

청구항 55

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유의 적외선(IR) 스펙트럼이 비-방사선 조사된 미세조류 폴리-N-아세틸글루코사민의 스펙트럼과 등가인, 조성물.

청구항 56

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유가 비-방사선 조사된 미세조류 폴리-N-아세틸글루코사민의 미소구조를 가지는 것인, 조성물.

청구항 57

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유가 적외선(IR) 스펙트럼, 원소 분석 및 주사 전

자 현미경 (SEM) 분석에 의해 결정된 섬유유 화학적 및 물리적 구조를 가지는 것인, 조성물.

청구항 58

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유가 용리 테스트, 근육내 이식 테스트 (intramuscular implantation test), 피부내 테스트 및 전신 테스트 중 어느 하나 또는 전부로 테스트하였을 때 무-반응성인, 조성물.

청구항 59

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sNAG 나노섬유가 근육내 이식 테스트로 테스트하였을 때 무반응성이거나, 용리 테스트로 테스트하였을 때 등급 0의 테스트 스코어를 가지는 것인, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2010년 4월 15일자 미국 가출원번호 61/324,657에 대한 우선권을 주장하며, 상기 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0002] 본 발명은 폴리-N-아세틸글루코사민의 단섬유(shortened fiber) 및/또는 이의 유도체("sNAG 나노섬유")를 포함하는 조성물, 및 상기 조성물의 항-세균성 용도에 관한 것이다. sNAG 나노섬유는 박테리아 감염 및 상기 감염으로 인한 질환의 예방 및/또는 치료용 조성물로 제형화될 수 있다. 또한, 상기 조성물을 이용하는 용법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 현재, 항생제는 박테리아 감염증의 표준 치료법이다. 그러나, 특정 항생제는 일부 개체에서 알레르기 반응을 유발하거나, 일부에서는 항생제로 인한 부작용이 발생하고 있어, 항생제의 지속적인 사용은 대개 그 효능의 강하로 이어진다. 아울러, 항생제 요법으로 종종 박테리아의 항생제 내성 균주가 출현되기도 한다. 이에, 내성을 유발하지 않거나 장기 사용으로 인한 효능 강하 없이도 감염과 싸우는데 유효한 새로운 항-세균제들이 계속적으로 요구되고 있다. 임상적인 상황에서, 예를 들어, 피부, 소화기 및 호흡기에서의 감염성 질환의 치료와 상처 치료에 사용할 수 있는, 항생제가 아닌 항-세균제가 필요한 실정이다.

[0004] 상처 감염은 세균 감염의 일종이다. 상처 감염은 특히 당뇨병과 같은 만성 질환을 앓고 있는 환자나 면역억제 기간 중에 발생하는 중요한 합병증이다. 이러한 환자들은, 호중구 및 대식세포의 이동 및 동원을 비롯하여, 적절한 염증 반응에 문제가 있어, 감염되기 쉽다 (Singer, A.J. and R.A. Clark, 1999, N Engl J Med 341(10): 738-46). 아울러, 박테리아 감염은 상처 치유의 손상과 패혈증을 유발할 수 있다. 다수의 현행 항생제 치료의 비효율성과 MRSA (메티실린-내성 스태필로코커스 아우레우스) 등의 항생제 내성 박테리아의 출현 증가로 인해, 새로운 임상 치료제가 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

[0005] 일 측면에서, 본 발명은 개체에서 박테리아 감염(들) 및/또는 박테리아 감염과 관련되거나 박테리아 감염으로 인한 질환의 치료 또는 예방 방법을 개시한다.

[0006] 특정 구현예에서, 본 발명은 개체에게 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 국소 투여하는 단계를 포함하는 박테리아 감염의 치료 방법을 개시한다. 일부 구현예에서, 개체는 박테리아 감염으로 진단받거나 또는 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상을 나타낸다. 박테리아 감염의 진단 방법 및 박테리아 감염의 증상 진단 방법은 당해 기술 분야에 공지되거나 본원에 기술된 방법이다. 박테리아 감염은 피부 감염, 위장 감염, 호흡기 감염, 비노기 감염, 생식기 감염, 또는 본원에 기술된 바와 같이 개체 체내 임의의 다른 장기나 조직의 감염일 수 있다. 일 구현예에서, 감염은 병원내 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피쿨(*C. difficile*) 감염이다.

[0007] 특정 구현예에서, 본 발명은 개체에게 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 국소 투여하는 단계를 포함하는 개체에서, 박테리아 불균형 또는 박테리아 감염과 관련된 질환의 치료 및/또는 예방 방법을 개시한다. 이러한 일 구현예에서, 본 방법은 박테리아 감염과 관련된 질환의 치료 및/또는 예방을 포함한다. 다른 구현예에서, 본

방법은 박테리아 불균형, 예컨대 본원에 기술된 바와 같은 박테리아 미생물총(microbiota)과 관련된 질환의 치료 및/또는 예방을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 방법은 기존재하는 박테리아 감염의 치료를 포함한다. 이러한 구현예들 중 일부에서, 치료할 개체는 상기한 질환의 하나 이상의 증상을 나타내거나 또는 박테리아 감염과 관련된 질환으로 진단받은 개체이다. 다른 구현예에서, 치료할 개체는 박테리아 불균형 관련 질환으로 진단되거나, 또는 이러한 불균형의 한가지 이상의 증상을 나타내는 개체이다. 질환은 피부 질환, 위장 질환, 호흡기 질환, 비뇨기 질환, 생식기 질환 또는 본원에 기술된 바와 같이 개체의 체내 임의의 다른 장기 또는 조직의 질환일 수 있다. 일부 구현예에서, 질환은 피부 질환 또는 위장 질환이다. 일 구현예에서, 질환은 병원내 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염, 또는 클로스트리듐 디피쿨 감염과 관련된다.

[0008] 일부 구현예에서, 본 발명은 개체에게 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 국소 투여하는 단계를 포함하는 박테리아 감염 및/또는 박테리아 감염과 관련된 질환의 예방 방법을 개시한다. 일부 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 박테리아 감염과 관련된 질환을 예방하기 위해 박테리아 감염 위험성이 높은 개체에게 투여된다. 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 상처를 가진 개체 또는 수술을 받은 개체에 투여된다. 일 구현예에서, 조성물은 면역저하(immunocompromised) 개체에게 투여된다. 일부 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 박테리아 감염 위험성이 높은 상처에 투여된다. 특정 구현예에서, 상처는 개방형 상처이다. 개방형 상처는 총상, 자창(puncture wound), 열상(laceration wound), 찰과상(abrasion), 자상(cut), 관통상(penetration wound), 수술창상(surgical wound) 또는 임의의 기타 상처일 수 있다. 특정 구현예에서, 상처는 자창, 예컨대 혈액투석 시술 또는 카테터 삽입술(catheterization procedure)로 인해 생기는 자창일 수 있다. 이러한 구현예에서, 치료할 개체는 혈액투석-관련 또는 카테터 삽입-관련 감염으로 진단받았을 수 있다. 일 구현예에서, sNAG 조성물로 예방할 박테리아 감염 및/또는 박테리아 감염 관련 질환은 상처 (예, 개방형 상처)가 아니거나 상처와 관련되지 않는다. 이러한 일 구현예에서, 박테리아 감염 및/또는 박테리아 감염과 관련된 질환은 상처 부위에 존재하는 것이 아니다 (예, 개방 상처 부위에서가 아님).

[0009] 일부 구현예에서, 본 발명은, 개체내 상처부위에 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 국소 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 박테리아에 의해 감염된 상처를 치료하는 방법을 개시한다. 일부 구현예에서, 치료할 개체는 박테리아 감염으로 진단되거나 또는 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상을 나타낸다. 특정 구현예에서, 상처는 개방형 상처이다. 개방형 상처는 총상, 자창, 열상, 찰과상, 자상, 관통상, 수술창상 또는 임의의 기타 상처일 수 있다. 특정 구현예들에서, 상처는 자창, 예컨대 혈액투석 시술 또는 카테터 삽입술로 인해 생기는 자창일 수 있다. 이러한 구현예들에서, 치료할 개체는 혈액투석-관련 또는 카테터 삽입-관련 감염으로 진단받았을 수 있다.

[0010] 본 발명의 방법을 이용하여 치료 또는 예방할 박테리아 감염은 하기 한가지 이상의 속에 속하는 박테리아의 감염을 포함한다: 보르데텔라(*Bordetella*), 보렐리아(*Borrelia*), 브루셀라(*Brucella*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 클라미디아(*Chlamydia*), 클라미도필리아(*Clamidophylia*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 코리네박테리움(*Corynebacterium*), 엔테로코커스(*Enterococcus*), 에스케리치아(*Escherichia*), 프랜시셀라(*Francisella*), 헤모필러스(*Haemophilus*), 헬리코박터(*Helicobacter*), 레지오넬라(*Legionella*), 렘토스피라(*Leptospira*), 리스테리아(*Listeria*), 미코박테리움(*Mycobacterium*), 마이코플라스마(*Mycoplasma*), 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 리케차(*Rickettsia*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 스태필로코커스(*Staphylococcus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 트레포네마(*Treponema*), 비브리아(*Vibria*) 및 예르시니아(*Yersinia*). 일부 구현예들에서, sNAG 조성물은 열거된 박테리아 속들 중 한가지 이상의 박테리아에 의한 감염과 관련된 질환 또는 이의 한가지 이상의 증상을 치료 및/또는 예방하는데 사용될 수 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 방법을 이용하여 치료 또는 예방할 박테리아 감염은, 하기 종들 중 한가지 이상의 종의 박테리아 감염을 포함한다: 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 보르데텔라 퍼투시스(*Bordetella pertussis*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus*), 브루셀라 카니스(*Brucella canis*), 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis*), 브루셀라 수이스(*Brucella suis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumonia*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*), 클라미도필라 프사이탁시(*Clamidophila psittaci*), 클로스트리듐 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리듐 디피쿨(*Clostridium difficile*), 클로스트리듐 퍼프링겐스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 페시움(*Enterococcus faecium*), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 프랜시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*), 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 레

지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 렙토스피라 뉴모필라(*Leptospira pneumophila*), 렙토스피라 인터로간스(*Leptospira interrogans*), 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), 미코박테리움 레프레이(*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumoniae*), 네이세리아 고노레아(*Neisseria gonorrhoeae*), 네이세리아 메닝기티데스(*Neisseria meningitidis*), 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*), 살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소나이(*Shigella sonnei*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코커스 아갈락티애(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*), 비브리아 콜레라(*Vibria cholerae*), 및 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*). 일부 구현예들에서, sNAG 조성물을 이용하여, 열거된 박테리아 종들 중 하나 이상의 박테리아의 감염과 관련된 질환 또는 이의 한가지 이상의 증상을 치료 및/또는 예방할 수 있다.

[0012] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 방법을 이용하여 치료 또는 예방할 박테리아 감염은 MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피컬 감염이다. 일부 구현예들에서, sNAG 조성물을 이용하여 MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피컬 감염과 관련된 질환, 또는 이의 하나 이상의 증상을 치료 및/또는 예방할 수 있다.

[0013] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 방법을 이용하여 치료 또는 예방할 박테리아 감염은, 표준 항세균제 요법에 내성인, 예컨대 하나 이상의 항생체에 내성인 것으로 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 박테리아에 의해 유발된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 방법을 이용하여 치료 또는 예방할 박테리아 감염은 MRSA, 예, 병원내 MRSA이다. 일부 구현예들에서, sNAG 조성물을 이용하여, 하나 이상의 항생체에 내성인 박테리아의 감염과 관련된 질환을 치료 및/또는 예방할 수 있다. 일 구현예에서, sNAG 조성물은 MRSA 관련 질환, 예컨대 병원내 MRSA와 관련된 질환의 치료 및/또는 예방에 사용할 수 있다.

[0014] 본원에 기술된 방법을 이용하여 치료할 개체는 포유류, 바람직하게는 인간일 수 있다. 또한, 개체는 가축 동물(예, 닭, 소, 돼지, 염소), 애완동물(예, 개 또는 고양이) 또는 임의의 다른 동물일 수 있다.

[0015] 본원에 기술된 방법에서 고려되는 sNAG 나노섬유는 아래 5.1 항목에 기술된 바와 같이 다양한 길이, 폭 및 분자량을 가진 것일 수 있다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분(및 특정 구현예들에서, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 이상), 또는 100%는, 길이가 1 - 15 μm 이다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분(특정 구현예들에서, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 이상), 또는 100%는 길이가 약 2 - 10 μm , 또는 4 - 7 μm 이다. 전술한 길이의 sNAG 나노섬유는, 예컨대 아래 항목 5.2에 기술된 바와 같이 수득할 수 있다.

[0016] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 폴리-N-아세틸글루코사민 또는 이의 유도체의 방사선 조사, 예컨대 감마선 조사에 의해 제조된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 건조된 섬유 형태의 폴리- β 1 \rightarrow 4-N-아세틸글루코사민의 방사선 조사(예, 500-2,000 kgy)에 의해, 또는 젖은 섬유(wet fiber) 형태의 폴리- β 1 \rightarrow 4-N-아세틸글루코사민의 방사선 조사(예, 100-500 kgy)에 의해 제조된다.

[0017] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 미소조류(microalgae)로부터 유래된다. 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유는 갑각류로부터 유래되지 않는다. 또 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유는 미소조류, 갑각류(예, 새우), 진균 또는 임의의 다른 소스로부터 유래될 수 있다.

[0018] 일 구현예에서, sNAG 나노섬유는 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드 및/또는 글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 이때, sNAG 나노섬유를 구성하는 모노사카라이드 중 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 보다 높은 비율이 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드이다. 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유는 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드 및/또는 글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 이때 sNAG 나노섬유의 모노사카라이드의 70% 이상이 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드이다.

[0019] 특정 구현예들에서, 본원의 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 시험관내 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 대해 영향을 미치지 않거나, 또는 시험관내 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존에 실질적으로 영향을 미치지 않는다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, 예컨대, 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물에 sNAG 나노섬유를 시험관내에서 처리하거나 sNAG 나노섬유와 배양하였을 때, 시험관내 박테리아 배양물의 박테리아 증식 또는 생존의 감소 정도는, 1 log, 0.75

log, 0.5 log, 0.25 log, 0.2 log 또는 0.1 log 미만이다. 박테리아 증식 또는 생존에 대한 sNAG 나노섬유의 효과 테스트와 테스트 결과에 대한 평가는, 예컨대 아래 항목 5.1, 실시예 2 (예, 항목 6.2.2.5) 및 도 11E에서 설명된다.

[0020] 특정 구현예들에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 생물적합성 테스트 또는 테스트들에서 무-반응성이다. 예컨대, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 용리 테스트, 근육내 이식 테스트, 피부내 테스트 또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 무-반응성일 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 용리 테스트, 근육내 이식 테스트, 피부내 테스트 또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 무-반응성일 수 있다. 다른 구현예에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는, 용리 테스트, 근육내 이식 테스트, 피부내 테스트 또는 전신 테스트로 테스트하였을 때, 등급 0 또는 등급 1이다. 또 다른 구현예에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 용리 테스트, 근육내 이식 테스트, 피부내 테스트 또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 반응성을 보인다고 해도 그 반응성은 약하다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 또는 상기 나노섬유를 포함하는 조성물은 근육내 이식 테스트로 측정시 무-반응성이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 예컨대 적용 부위에서, 알레르기성 반응 또는 자극을 초래하지 않는다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 예컨대 적용 부위에서, 알레르기 반응을 야기한다 해도 그 정도는 가볍다.

[0021] 본원에 기술된 조성물의 고려되는 투여 방식은, 국소, 예컨대 피부에 국소; 상처 부위, 수술 부위, 박테리아 감염 부위 또는 감염 증상 (예, 부은 곳) 부위에 국소; 피부, 점막 (예, 질, 항문, 목, 눈, 귀)와 같은 신체 표면 또는 기타 조직의 표면에 국소 적용하는 방식이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 상기 나노섬유를 포함하는 조성물을 드레싱, 붕대, 매트, 스프레이, 액체, 현탁액, 멤브레인, 분말, 연고, 크림, 페이스트, 좌제 또는 젤로 제형화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 상기 나노섬유를 포함하는 조성물은 크림, 젤, 연고, 멤브레인, 분말, 스프레이 또는 좌제로서 제형화된다.

[0022] 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 방법에 이용하기 위한 조성물을 개시한다. 구체적인 구현예에서, 상기 조성물은 sNAG 나노섬유를 포함한다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 sNAG 나노섬유와, 박테리아 감염, 박테리아 감염과 관련된 질환 또는 그 증상을 치료 및/또는 예방하는데 유용한 하나 이상의 추가적인 활성 성분을 포함한다. 일부 구현예들에서, 추가적인 활성 성분은 항생제이다. 상기한 추가적인 항생제는 항생제일 수 있다. 다른 구현예에서, 이러한 추가적인 항생제는 아연이다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 항생제를 포함하지 않는다. 또 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 어떠한 추가적인 항생제도 포함하지 않는다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 단독 활성 성분으로서 sNAG 나노섬유를 포함하며, 어떠한 추가적인 활성 성분도 포함하지 않는다.

[0023] 구체적인 구현예들에서, 조성물은 sNAG 나노섬유와 항생제를 포함한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 항생제의 예로는, 마이크로라이드 (예, 에리트로마이신, 아지트로마이신), 아미노글리코시드 (예, 아미카신, 젠타마이신, 네오마이신, 스트렙토마이신), 세팔로스포린 (예, 세파드록실, 세파클로르, 세폭탁심, 세페픽), 플루오로퀴놀론 (예, 시프로플록사신, 레보플록사신), 페니실린 (예, 페니실린, 암피실린, 아목시실린), 테트라사이클린 (예, 테트라사이클린, 독시사이클린) 및/또는 카바페넴 (예, 메로페넴, 이미페넴)을 포함한다. 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 및 제제는 상기한 조성물에 사용될 수 있다. 일부 구현예들에서, 조성물은 sNAG 나노섬유와, 스타필로코커스 아우레우스의 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피쿨 감염을 치료 또는 예방하기 위해 통상적으로 사용되거나 또는 이를 치료하거나 예방하는데 효과적인 제제 (예, 이러한 감염에 효과적이거나 통상적으로 사용되는 항생제)를 포함한다.

[0024] 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 한가지 이상의 추가적인 항생제 또는 임의의 다른 적합한 요법과 병용하여 투여된다. 일부 구현예들에서, 상기 추가적인 항생제 또는 요법은 항생제 (예, 당해 기술 분야에 공지되거나 또는 본원에 기술된 바와 같이, 박테리아 감염 또는 치료할 박테리아 감염과 관련된 질환에 대한 표준 항생제 요법)이다. 일부 구현예들에서, 추가적인 항생제는 스타필로코커스 아우레우스 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피쿨 감염을 치료 또는 예방하는데 효과적이거나 이의 치료 또는 예방에 통상적으로 사용되는 제제 (예, 이러한 감염에 효과적이거나 통상적으로 사용되는 항생제)이다. 일부 구현예들에서, 추가적인 요법은 sNAG 나노섬유 조성물의 투여 전, 투여와 동시에 또는 투여 후에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 임의의 다른 요법과 병용하여 투여되지 않으며, 예컨대 항생제와 병용하여 투여되지 않는다.

[0025] **3.1 용어**

[0026] 본원에서, 용어 "sNAG 나노섬유", "sNAG", "Taliderm" 또는 "Talyed" (이전에는, "Taliderm"으로 알려져

있음)는 상호 호환적으로 사용되며, 폴리-N-아세틸글루코사민 및/또는 이의 유도체로 구성된 단섬유(shortened fiber)를 지칭한다.

- [0027] 본원에서, 용어 "약"은, 주어진 수치에 대해, 수득되는 수치가 구체적으로 표시된 수치와 동일하거나 실질적으로 동일한 (예, 10%, 5% 또는 1% 이내) 범위인 것을 의미한다. 일 구현예에서, "약"은 주어진 수치의 10% 이내 또는 범위이다. 일 구현예에서, "약"은 주어진 수치의 5% 이내 또는 범위이다. 일 구현예에서, "약"은 주어진 수치의 1% 이내 또는 범위이다.
- [0028] 본원에서, 용어 "질환", "장애" 또는 "병태"는 상호 호환적으로 개체의 의학적 상태를 의미한다. 구체적인 구현예에서, 질환은 박테리아 감염과 관련되거나 박테리아 감염으로 유발된 병적 상태이다.
- [0029] 본원에서, 용어 "박테리아 감염"은 세포 또는 개체에서의 박테리아의 침입, 증식(multiplication) 및/또는 존재를 의미한다.
- [0030] 본원에서, 수와 관련된 용어 "log"는 \log_{10} 이다.
- [0031] 본원에서, 용어 "요법들" 및 "요법"은 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 증상 또는 병태의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있는, 임의의 프로토콜(들), 방법(들), 조성물, 제형 및/또는 제제(들)을 지칭할 수 있다. 특정 구현예들에서, 용어 "요법"은 sNAG 나노섬유(들) 또는 sNAG 나노섬유(들)를 포함하는 약학 조성물을 지칭한다. 다른 구현예에서, 용어 "요법"은 sNAG 나노섬유(들) 또는 sNAG 나노섬유(들)를 포함하는 약학 조성물 이외의 다른 요법을 지칭한다. 구체적인 구현예들에서, "추적인 요법" 및 "추가적인 요법들"은 sNAG 나노섬유(들) 또는 sNAG 나노섬유(들)를 포함하는 약학 조성물을 지칭한다. 구체적인 구현예에서, 요법은 보강 요법(adjuvant therapy)으로서 sNAG 나노섬유(들) 또는 sNAG 나노섬유(들)를 포함하는 약학 조성물의 사용을 포함하며, 예컨대, sNAG 나노섬유 조성물과, 항생제와 같은 약물 요법 및/또는 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 증상 또는 병태의 치료 및/또는 예방에 유용한 기타 요법들의 병용 사용을 포함한다.
- [0032] 본원에서, 개체에게 sNAG 나노섬유 조성물을 투여하는 것과 관련된 문구에서 "유효량"은 유의한 또는 치료학적 효과를 발생시키는 sNAG 나노섬유의 양을 지칭한다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 "유효량"은 다음과 같은 효과들 중 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 그 이상의 효과를 달성하는데 충분한 양을 지칭한다: (i) 박테리아 감염의 소거; (ii) 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 해소, (iii) 박테리아 감염 소거에 필요한 시간 단축; (iv) 박테리아 감염의 중증도 및/또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 중증도의 약화 또는 완화; (v) 박테리아 감염 및/또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 지속 기간 단축; (vi) 박테리아의 내성 균주 또는 균주들의 발생의 예방 또는 지연, 또는 발생된 박테리아의 내성 균주의 수 축소; (vii) 박테리아 감염 및/또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 재발 방지; (viii) 박테리아 세포 집단의 감소 또는 소거; (ix) 박테리아 감염으로 인한 또는 박테리아 감염과 관련된 병태의 중증도 경감 및/또는 지속 기간의 단축; (x) 개체의 병원 입원을 감소; (xi) 입원 기간 단축; (xii) 개체의 생존을 증가; (xiii) 다른 요법의 치료학적 효과 강화 또는 증대; (xiv) 사망률 감소; (xv) 한 개체에서 다른 개체로, 또는 하나의 장기나 조직에서의 다른 장기나 조직으로의 박테리아 전파 감소 또는 차단; (xvi) 박테리아의 수적 증가 방지; (xvii) 박테리아 감염 또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 전개 또는 개시의 예방; (xviii) 박테리아 감염과 관련된 증상의 수 감소; (xix) 박테리아 감염으로 인한 또는 박테리아 감염과 관련된 병태의 지속 기간 및/또는 중증도의 완화; (xx) 박테리아 감염과 관련된 박테리아 독소 또는 독소들의 생산 저해 또는 감소; (xxi) 박테리아 감염과 관련된 염증의 안정화 또는 경감; (xxii) 하나 이상의 디펜신 단백질 및/또는 디펜신-유사 단백질의 발현 유도; (xxiii) 하나 이상의 Toll-유사 수용체의 발현 유도; (xxiv) 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 하나 이상의 증상의 소거 또는 경감에 유의한, 하나 이상의 단백질의 발현 유도; (xxvi) 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환으로 인한 장기 부전의 경감; (xxvii) 박테리아 감염에 의해 유발되거나 박테리아 감염과 관련된 병태의 개시, 전개 또는 재발의 예방; 및/또는 (xxviii) 당해 기술 분야에 잘 알려져 있는 방법, 예컨대, 설문 조사에 의한 평가시 삶의 질 향상. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 "유효량"은 본원에, 예컨대 아래 항목 5.6에 명시된 sNAG 나노섬유 조성물의 양을 지칭한다.
- [0033] 본원에서, 용어 "노년층(elderly human)"은 65세 이상의 인간이다.
- [0034] 본원에서, 용어 "성인"은 18세 이상의 인간이다.
- [0035] 본원에서, 용어 "어린이"는 1세 - 18세의 인간이다.
- [0036] 본원에서, 용어 "영아"는 출생 후 1세 이하의 인간이다.

- [0037] 본원에서, 용어 "조산 영아"는 임신 기간 37주 미만의 시기(예, 37주, 36주, 35주, 34주, 33주, 32주, 31주, 30주, 29주, 28주 이전, 또는 임신 28주 미만)에 태어난 1세 이하의 인간이다.
- [0038] 본원에서, 용어 "유아"는 1세 - 3세의 인간이다.
- [0039] 본원에서, 용어 "대부분"은 50% 이상, 예로 50.5%, 51%, 55%, 등을 의미한다.
- [0040] 본원에서, 용어 "개체" 및 "환자"는 상호 호환적으로 동물 (예, 소, 말, 양, 돼지, 닭, 칠면조, 메추라기, 고양이, 개, 마우스, 랫, 토끼, 기니아 피그 등)을 지칭한다. 구체적인 구현예에서, 개체는 비-영장류 또는 인간과 같은 영장류 등의 포유류이다. 구체적인 구현예들에서, 개체는 인간이다. 본원에 기술된 방법들에 따라 환자를 치료하는 것에 관한 더 많은 정보들은 아래 항목 5.5를 참조한다.
- [0041] 본원에서, 유전자의 발현에서, (예로, 유전자에 의해 생성되는 단백질 또는 펩타이드의 수준에 대하여) 용어 "저발현"은 유전자의 "정상" 발현 보다 낮은 발현을 의미한다. 구체적인 구현예에서, "저발현"은 유전자의 "정상" 발현을 기준으로 90% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55% 미만, 50% 미만, 45% 미만, 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25%, 또는 20% 미만의 발현을 지칭한다. 다른 구체적인 구현예에서, "저발현"은 유전자의 "정상" 발현을 기준으로 약 20배, 약 15배, 약 10배, 약 5배, 약 4배, 약3배, 약2배 또는 약 1.5배 낮은 수준으로의 유전자 발현을 지칭한다.

도면의 간단한 설명

- [0042] **도 1.** 나노섬유는 Ets1의 상류 조절자인 Akt 1의 활성화를 자극한다. (A)혈청 고갈된 EC의 NAG 및 sNAG 자극에 따른 반응성 포스포-Akt의 웨스턴 블롯 분석. (B) 스크램블 대조군(scrambled control; "SCR") 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스 중 하나를 감염시키고, Ets1과 로딩 대조군으로서의 S26의 발현을 측정한, EC의 RT-PCR. (C) 신호를 sNAG 나노섬유에서 Akt1, Ets1 및 디펜신으로 전달하는 신호 전달 경로 도식도.
- 도 2.** Akt1 null 동물에서의 지연성 상처 치유는 Taliderm 처리에 의해 부분적으로 회복된다. (A) Taliderm 처리 유 및 무 조건에서의 WT 및 AKT1 null 마우스의 대표적인 상처 사진. (B) 상처 발생 3일째 마우스 피부 절편의 H&E 염색 결과.
- 도 3.** sNAG 나노섬유는 일차 내피세포에서의 사이토신과 디펜신의 발현을 자극한다. (A) α-디펜신에 대한 항체를 이용한, sNAG 처리된 EC 및 무처리된 EC의 면역조직화학적 분석 결과. (B) EC에 나노섬유 처리시 α-디펜신 1-3이 분비됨을 보여주는 ELISA (무혈청 조건, 5 μg/ml 또는 10 μg/ml sNAG 처리).
- 도 4.** sNAG 나노섬유는 일차 내피세포에서 디펜신 발현을 Akt1 의존적인 양상으로 자극한다. (A) 및 (B) sNAG ("snag") 처리 또는 무처리, PD98059 (MAPK 저해제, "PD") 처리 또는 무처리, Wortmannin (PI3K 저해제, "wtm") 또는 스크램블형 대조군 ("SCR"), 또는 Akt1 ("AKT1") shRNA 렌티바이러스 감염 조건에서의, 나타난 유전자들의 발현을 평가한, 무혈청 EC ("ss")에 대한 정량적인 RT-PCR 분석 결과.
- 도 5.** sNAG 나노섬유는 마우스 각질형성세포에서 β-디펜신 3의 발현을 자극한다. (A) 3일째 WT 및 Akt1 null 동물의 파란된 포매된 마우스 피부 상처 절편에 대한, β-디펜신 3 (상단 위측 패널에서 밝게 염색되어 표시됨; 예, 굵은 백색 화살표 참조) 및 Involucrin 항체를 이용한 면역형광 염색. (B) NIHImageJ 소프트웨어 (TX=Taliderm; Akt1=Akt1 null)를 이용한 β-디펜신 3 면역형광 염색의 정량화. (C) β-디펜신 3 (밝게 염색되어 표시됨; 예, 굵은 백색 화살표 참조) 및 TOPRO-3 (핵 염색, 예로 얇은 백색 화살표 참조)를 이용한 WT 및 Akt1 null 처리 및 무처리 각질형성세포의 면역형광 염색 사진. WT 및 Akt1 Taliderm로 처리된 상처에서 β-디펜신 3의 염색이 강함에 주목한다.
- 도 6.** Akt1 의존적인 전사 인자 결합부의 대략도. 지노매틱스 소프트웨어를 이용하여, 전사 개시부의 500 bp 상류를 DEF1, 4, 및 5 (ETS-검정색 타원형; FKHD-줄무늬 타원형; CREB-백색 타원형; NFKB-바둑판무의 타원형)의 mRNA에서의 보존부를 분석하였다.
- 도 7.** sNAG 처리는 디펜신의 시험관내 발현 및 분비를 발생시킨다. (A) 지정된 기간 동안 sNAG (50 μg/ml)로 처리되고, β-디펜신 3 및 α-디펜신 1을 발현한, 혈청 고갈된 상태 ("SS")의 일차 내피 세포의 RT-PCR 분석. (B) 혈청 고갈시킨 내피 세포 (무처리) 또는 sNAG 나노섬유를 처리한 (5시간 동안 10 μg/ml) 내피 세포의 면역형광 표지. 항체들은 α-디펜신 5 (FITC, 상단 좌측 패널), β-디펜신 3 (Texas Red, 상단 우측 패널)에 대한 것이다. 핵은 TOPRO-3 (Blue, 하단 좌측 패널)로 염색하였다. 하단 우측 패널은 3중 오버레이이다. (C) 고갈 (무처리) 또는 sNAG 나노섬유 처리한 (5시간 동안 10 μg/ml) 각질형성세포(HaCat)의 면역형광 표지. 항체들은

α -디펜신 5 (FITC, 상단 좌측 패널), β -디펜신 3 (Texas Red, 상단 우측 패널)에 대한 것이다. 핵은 TOPRO-3 (Blue, 하단 좌측 패널)로 염색하였다.

도 8. sNAG 유도성 디펜신 발현은 Akt1에 의존적이다. (A) PD098059 ("PD")(50 μ M), wortmannin ("WTM") (100nm)를 사전 처리 또는 무처리한 다음, 3시간 동안 sNAG를 처리 또는 무처리한 혈청 고갈시킨 내피 세포에서 분리한 총 RNA에서의 α -디펜신 1에 대한 프라이머를 이용한 정량적인 RT-PCR 분석. 정량화는 S26 단백질 서브유닛에 상대적이다. (B) PD098059 (50 μ M), wortmannin (100 nm)을 처리 또는 무처리하고, 3시간 동안 sNAG를 처리 또는 무처리한 혈청 고갈시킨 내피 세포에서 분리한 총 RNA에서의 β -디펜신 3 발현의 정량화, S26에 상대적으로 나타냄. (C) 지정된 시간 동안 sNAG로 자극된 혈청 고갈시킨 내피 세포 (SS)에서의 포스포-Akt의 웨스턴 블롯 분석. 라인은 레인이 없어진 위치를 표시한다. (D) 스크램블형 대조군 (SCR) 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스를 감염시키고, sNAG를 처리 또는 무처리하고, α -디펜신 4의 발현을 평가한, 혈청 고갈시킨 내피 세포의 정량적인 RT-PCR. 정량화는 S26 단백질 서브유닛에 상대적으로 나타낸다. (E) 스크램블형 대조군 (SCR) 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스를 감염시키고, sNAG를 처리 또는 무처리한, 혈청 고갈시킨 내피 세포로부터 분리한 총 RNA로부터의 β -디펜신 3 발현의 정량화. 정량화는 S26 단백질 서브유닛에 상대적으로 나타낸다. 모든 실험들은 3세트 이상으로 행하였고, 독립적으로 3번 이상 반복하였고, p 값을 나타낸다.

도 9. 시험관내 sNAG 유도성 디펜신 발현에는 Akt1이 필요하다. (A) WT (n=3) 마우스와 Akt1 마우스의 상처 발생 후 3일째 수득한 경피 상처 절편의 파라핀 포매체. 상처에는 sNAG 멤브레인을 처리 또는 무처리하였다. 면역형광에는 β -디펜신 3 (그린, 상단 우측 패널에서 밝게 염색되는 것으로 보임, 예로 백색 굵은 화살표 참조), Involucrin (레드) 및 Topro (블루, 핵 염색, 예, 백색 얇은 화살표 참조)에 대한 항체를 사용하였다. (B) 3일째 회수한 sNAG 처리한 WT의 파라핀 포매한 절편. 면역형광에는 β -디펜신 3 (그린, 상단 우측 패널에서 밝게 염색되는 것으로 보임, 예로 백색 굵은 화살표 참조), Involucrin (레드) 및 Topro (블루, 핵 염색, 예, 백색 얇은 화살표 참조)에 대한 항체를 사용하였다. 이러한 저배율 (20x)은 상피층에서 발현되는 β -디펜신 3를 더 잘 확인하기 위해 포함시킨다. 스케일 막대 = 50 μ m. (C) 파라핀 포매한 절편에서의 β -디펜신 3 발현에 대한 정량화는 NIH ImageJ 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 실험은 3번 독립적으로 반복 실시하였고, p 값을 나타낸다.

도 10. sNAG 처리는 야생형 마우스에서 상처의 봉합(closure)을 증가시킨다. sNAG 멤브레인을 처리 및 무처리한 C57B16 야생형 동물로부터 유래한 상처 조직 절편의 H&E 염색. 상처 발생 후 경과 일은 각 패널의 좌측에 나타낸다. 굵은 검정색 라인은 각질형성세포의 세포층에 따라 그려져 있으며, 상처의 봉합을 보여준다. 검정색 화살표는 상처 기저부(wound bed)의 가장자리를 표시한다.

도 11. sNAG 처리는 Akt1 의존적인 방식으로 박테리아 감염을 감소시킨다. (A) WT 마우스에서 스태필로코커스 아우레우스로 감염된 상처의 조직 그람 염색. WT 마우스에는 4 mm 바이옴시 펀치를 이용하여 상처를 내었다. 마우스에 상처를 만든 후 즉시, 1×10^9 cfu/ml로 접종하였다. 감염 후 30분 경과 후, 처리군의 마우스에 Taliderm을 처리하였다. 피부 샘플은 처리 5일 후 취하여, 분석용으로 절편화하였다. 조직의 그람 염색을 수행하였다. 검보라 염색은 그람-양성 박테리아와 박테리아를 식균한 호중구이다. 절편은 20x 및 40x 배율에서 나타낸다. (B) WT 및 Akt1 null 마우스 (n=3)로부터 스태필로코커스 아우레우스로 감염된 상처 조직을 파라핀 포매한 절편에 대한 조직 그람 염색 결과. 감염된 상처에는 sNAG 멤브레인을 처리 또는 무처리하였고, 상처 기저부를 분석을 위해 3일 및 5일째에 회수하였다. 검보라색 염색은 상처 기저부에 그람 양성 박테리아의 존재를 표시한다. 검정 화살표는 검정 양성 염색의 예를 표시한다. 무처리 WT에서는 양성 염색이 축적되지만, sNAG가 처리된 WT 동물에서는 염색이 없음에 유념하여야 한다. 스케일 막대 = 50 μ m. (C) 상처 발생 후 5일째의 CFU는 처리 및 무처리 WT (n= 3) 및 Akt1 마우스 (n=3) 둘다를 이용하여 스태필로코커스 아우레우스로 감염된 상처에서 정량화하였다. sNAG 처리된 야생형 마우스는 Akt1 null 동물과 비교하여 상처 기저부내 박테리아의 양(bacteria load)의 유의한 감소를 보인다 (p<.01). 모든 실험은 독립적으로 3번 반복하였고, p 값을 표시한다. (D) (C)에 기술된 유사한 방식으로의 상처 발생 후 3일째의 감염된 상처에서 정량화한 CFU. 감염 상처에 sNAG 처리시, 3일째 WT 및 Akt1 null 동물에서 CFU의 유의한 감소가 나타나지만, WT 동물들은 약 10배 차이를 나타내고, Akt1 동물은 2배 차이를 나타낸다. (E) sNAG 나노섬유를 다양한 양으로 처리 또는 무처리한 스태필로코커스 아우레우스 배양물에서의 CFU의 정량 분석. 각 실험은 독립적으로 3번 수행하였고, p 값을 나타낸다. (F) β -디펜신 3 펩타이드 (1.0 μ M)를 처리 또는 무처리한 WT 마우스 (n=3)에서의 상처 발생 후 3일째에 회수한 스태필로코커스 아우레우스로 감염된 상처에 대한 조직 그람 염색 결과. β -디펜신 3 펩타이드로 처리된 감염된 상처에서는 그람 양성 염색이 감소됨에 유념하여야 한다. (G) β -디펜신 3 펩타이드로 처리 또는 무처리된, 스태필로코커스 아우레우스로 감염된 WT 마우스 (n=3)에서의 CFU의 정량화. 펩타이드로 처리된 감염된 상처에

서는 CFU의 유의한 감소가 관찰된다 ($p < .05$). 스케일 막대 = 50 μm . 각 실험은 독립적으로 3번 수행하였고, p 값을 나타낸다.

도 12. 스타필로코커스 아우레우스로 감염된 상처의 sNAG 처리에 의한 디펜신 발현의 신속한 유도. (A) 스타필로코커스 아우레우스로 감염된 상처로부터 3일째에 회수한 조직의 파라핀 포매 조직 단편은, β -디펜신 3 (그린, 상단 우측 패널과 하단 중간 패널에서 밝게 염색되어 표시됨; 예, 굵은 백색 화살표 참조), 케라티노사이트를 표시하기 위한 Involucrin (레드), 및 TOPRO-3 (블루, 핵 염색, 예로 얇은 백색 화살표 참조)에 대한 항체를 이용하여, sNAG 처리한 WT ($n=3$) 및 무처리 WT 마우스 ($n=3$)에 대해 면역형광을 수행하였다. 비특이적인 이차 항체만으로 염색한 일차 대조군 무첨가로 도시한다. 된 일차 대조군된 일차 대조군. 스케일 막대 = 50 μm . (B) NIH ImageJ 소프트웨어를 이용한 파라핀 포매된 절편에서의 β -디펜신 3 발현의 정량화. sNAG로 처리된 스타필로코커스 아우레우스 감염 상처에서는 β -디펜신 3 염색의 유의한 증가가 확인된다 ($p < .05$). 실험들은 독립적으로 3번 수행하였고, p 값을 나타낸다.

도 13. β -디펜신 3에 대한 항체는 sNAG 처리의 항세균 효과를 방해한다. (A) 3일 후 회수한 WT 마우스 ($n=3$)에 sNAG 처리한 스타필로코커스 아우레우스 감염 상처에 대한 파라핀 포매한 조직 그람 염색 결과. sNAG 처리된 상처에 β -디펜신 3 항체 또는 sNAG 처리를 수행하기 전에 이소형 대조군 염소 IgG 항체를 처리하였다. 나타낸 이미지는 β -디펜신 3에 대한 항체 처리시 마우스 기저부에서의 그람 양성 염색 (검정 화살표시)의 축적 증가를 보여준다. 스케일 막대 = 20 μm . (B) β -디펜신 3 항체 ($n=3$) 또는 sNAG 처리 전 대조군 IgG 항체 ($n=3$)가 처리된, 스타필로코커스 아우레우스로 감염된 WT 마우스에서의 CFU 정량화. β -디펜신 3의 이용은 CFU를 유의하게 증가시켰다 ($p < .05$).

도 14. sNAG 처리는 슈도모나스 에어루지노사에 의한 박테리아 감염을 감소시킨다. 마우스에 4 mm 바이옵시 펀치를 이용하여 상처를 만들고, 여기에 슈도모나스 에어루지노사를 1.5×10^9 cfu/ml로 접종한 다음, 감염된 상처에 감염 후 30분째에 sNAG 멤브레인을 처리 ($n=6$) 또는 무처리 ($n=6$)하고, 분석을 위해 상처 기저부를 3일째에 회수하여, 30분간 배양한 다음, 도말하여, 처리 및 무처리된 감염 상처에서의 CFU를 정량화하였다. sNAG 처리 마우스는 무처리 동물과 비교하여 상처 기저부내 박테리아 양의 유의한 감소를 나타낸다 ($p < .05$).

도 15. pGlcNAc 섬유의 화학적 및 물리적 구조에 대한 방사선 조사의 영향. (A) pGlcNAc의 분자량과 방사선 조사 수준/방사선 조사 포물레이션 간의 상관 관계. (B) 비-방사선 조사된 pGlcNAc 슬러리 (상위 라인), 100 kGy로 방사선 조사된 pGlcNAc 슬러리 (하위 라인) 및 200 kGy로 방사선 조사된 pGlcNAc 슬러리 (중간 라인)의 적외선(IR) 스펙트럼. (C) pGlcNAc의 주사 전자 현미경 (SEM) 분석. (D) sNAG의 주사 전자 현미경 (SEM) 분석.

도 16. pGlcNAc는 대사율에 영향을 미치지 않는다. 각 기간 동안 (즉, 24시간 및 48시간), 4개의 막대 각각의 실체는 (좌에서 우로) 다음과 같다: 혈청 고갈 (SS), VEGF, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 pGlcNAc (NAG) 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 pGlcNAc (NAG).

도 17. pGlcNAc는 혈청 고갈에 의해 유도되는 세포 사멸로부터 인간 체대혈 내피세포 (EC)를 보호하였다. 각 기간 동안 (즉, 24, 48 및 72시간), 5개의 막대 각각의 실체는 (좌에서 우로) 다음과 같다: 혈청 고갈 (SS), VEGF, pGlcNAc (NAG) 50, 100 및 250 $\mu\text{g/ml}$.

도 18. sNAG는 대사율의 현저한 증가를 유도하였다. 5개의 막대 각각의 실체는 (좌에서 우로) 다음과 같다: 혈청 고갈 (SS), VEGF, sNAG 50, 100 및 200 $\mu\text{g/ml}$.

도 19. sNAG는 혈청 고갈에 의해 유도되는 세포 사멸로부터 EC를 보호하지 않았다. 각 기간 동안 (즉, 24 및 48시간), 5개의 막대 각각의 실체는 (좌에서 우로) 다음과 같다: 혈청 고갈 (SS), VEGF, sNAG 50, 100 및 200 $\mu\text{g/ml}$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

5. 상세한 설명

[0043]

[0044]

본 발명자들은, sNAG 나노섬유는 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 및 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로 감염된 경피 상처의 박테리아 감염을 감소시킨다는 것을 발견하게 되었다. 임의의 특정한 작용 기전에 결부되지 않으며, 6.2 항목에 제시된 데이터는, sNAG의 항세균 효과가 박테리아와 sNAG와의 직접 상호작용이 원인이 아니라, 예컨대 Akt1 활성화에 의한 디펜신의 조절 등의 하류 효과로 인한 것임을

시사한다. 구체적으로, 데이타는, 박테리아 배양물에 sNAG 나노섬유의 시험관내 처리가 박테리아의 수에 영향을 미치지 않으며, 즉 sNAG 나노섬유가 직접 박테리아의 증식을 저해하지 않는다는 것을 보여준다. 6.2.2.5 항목에 기술되고 도 11E에 예시된 구체적인 예에서, sNAG 나노섬유는 스타필로코커스 아우레우스의 증식 또는 생존에 직접 영향을 미치지 않는다. 아래 6.2.2.5 항목에 기술된 테스트를 사용하여, 박테리아 증식 또는 생존에 대한 sNAG 나노섬유의 직접 효과 결여를 테스트할 수 있다. 이러한 예로, 용액 중의 스타필로코커스 아우레우스 배양물에 다양한 농도로 sNAG 나노섬유를 3시간 동안 처리한 다음, 배양물을 도말하여 37°C에서 밤새 배양한 다음, 박테리아 CFU/ml을 측정하였다. 도 11E에 나타낸 바와 같이, 박테리아 증식 또는 생존에 대한 효과는 관찰되지 않았다.

[0045] 본 발명의 발명자들은, sNAG 나노섬유가 디펜신의 발현을 자극할 수 있으며, 상기 디펜신이 선천적인 항세균 반응을 부스팅할 수 있음을 확인하였다. 디펜신은 선천적인 면역(innate immunity)에서 중요한 역할을 하며, 항세균 활성화에 기능하는 것으로 광범위하게 인정되고 있다. 아래 6.1 및 6.2 항목에 나타낸 예들에서 입증되는 바와 같이, 본 발명의 발명자들은, sNAG 나노섬유가 내피세포에서의 α- 및 β- 타입의 디펜신 둘다, 그리고 시험관내 각질형성 세포와 생체내 상처 치유 모델에서의 β-타입의 디펜신의 발현을 증가시킬 수 있다는 것을 확인하였다.

[0046] 아울러, 아래 6.1 및 6.2 항목에 나타낸 예들에서 입증되는 바와 같이, 특정 작용 기전으로 결부시키고자 하는 것은 아니나, Akt1은 시험관내 및 생체내 상처 치유 모델에서의 sNAG-의존성 디펜신 발현에 중요한 것으로 보인다. 일관되게, sNAG 처리는 야생형 대조군 동물의 경우 스타필로코커스 아우레우스로 감염된 피부 상처에 대해 박테리아 감염을 감소시켰지만, 동일하게 처리한 Akt1 null 동물에서는 감소되지 않았다.

[0047] 또한, 본 발명의 발명자들은, 다수의 Toll-유사 수용체들을 인간 내피 세포의 sNAG 처리에 의해 상향-조절할 수 있다는 것을 확인하였다. Toll-유사 수용체들 ("TLR들" 또는 "TLR")은 선천 면역의 활성화를 유도하는 박테리아 성분의 특이적인 분자 패턴을 인지하는 고도로 보존된 수용체들이다. 최근 연구에서는 인간 디펜신 발현을 TLR 활성화와 연결지었다. 특히, TLR의 자극은 디펜신 합성 증가를 유도할 수 있다. 즉, 임의의 작용 기전으로 결부하고자 하는 것은 아니나, sNAG 나노섬유는 선천 면역의 자극제로서 작용할 수 있으며, Akt1의 활성화를 통해 박테리아를 소거할 수 있다.

[0048] 즉, 본 발명은 박테리아 감염 및 박테리아 감염과 관련된 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 새로운 방법으로서 sNAG 나노섬유의 용도에 관한 것이다. 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유를 이용한 박테리아 감염의 치료시 환자에서의 박테리아의 수를 감소시킨다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 사용은 상처 봉합을 강화하면서, 상처의 박테리아 감염을 동시에 근절, 감소 또는 예방한다.

[0049] **5.1 sNAG 나노섬유**

[0050] 본 발명은 sNAG 나노섬유 조성물을 개시한다. sNAG 나노섬유는 폴리-N-아세틸글루코사민 및/또는 이의 유도체(들)로 구성된 섬유를 포함하며, 이들의 대부분은 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법, 예컨대 주사 전자 현미경 검정 ("SEM")으로 측정시 길이가 30 μm 이하, 적어도 1 μm이다. 이러한 sNAG 나노섬유는, 예컨대 본원에 기술된 바와 같이, 수득할 수 있다.

[0051] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 길이가 약 30 μm 미만, 25 μm 미만, 20 μm 미만, 15 μm 미만, 12 μm 미만, 10 μm 미만, 9 μm 미만, 8 μm 미만, 7 μm 미만, 6 μm 미만, 5 μm 미만, 4 μm 미만 또는 3 μm 미만, 및 1 μm 이상이다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 길이는 약 15 μm 미만 또는 약 12 μm 미만 및 적어도 1 μm 이상이다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유 모두 (100%), 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 길이는 약 15 μm 미만 - 1 μm 이상이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 길이가 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 또는 7 μm 이하 및 1 μm 이상이다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는

는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 길이가 1 - 15 μm , 2 - 15 μm , 2 - 14 μm , 1 - 12 μm , 2 - 12 μm , 1 - 10 μm , 2 - 10 μm , 3 - 12 μm , 3 - 10 μm , 1 - 9 μm , 2 - 9 μm , 3 - 9 μm , 1 - 8 μm , 2 - 8 μm , 3 - 8 μm , 4 - 8 μm , 1 - 7 μm , 2 - 7 μm , 3 - 7 μm , 4 - 7 μm , 1 - 6 μm , 1 - 5 μm , 1 - 4 μm , 또는 1 - 3 μm 이다.

[0052] 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 약 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2 μm 의 길이를 가진다. 다른 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 약 2 - 약 10 μm , 약 3 - 약 8 μm , 또는 약 4 - 약 7 μm 의 길이를 가진다. 다른 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유 모두 (100%), 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 SEM으로 측정시, 약 2 - 약 10 μm , 약 3 - 약 8 μm , 또는 약 4 - 약 7 μm 의 길이를 가진다.

[0053] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 전자 현미경 검정으로 측정시 0.005 - 5 μm 의 두께 및/또는 직경의 범위이다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, 평균 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5, 0.55, 0.6, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3 또는 4 μm 의 두께 및/또는 직경이거나, 또는 그 사이의 임의 범위이다 (예, 0.02 - 2 μm , 0.02 - 1 μm , 0.02 - 0.75 μm , 0.02 - 0.5 μm , 0.02 - 0.5 μm , 0.05 - 1 μm , 0.05 - 0.75 μm , 0.05 - 0.5 μm , 0.1 - 1 μm , 0.1 - 0.75 μm , 0.1 - 0.5 μm , 등). 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 약 0.02 - 1 μm 의 두께 또는 직경이다. 다른 구체적인 구현예에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은 약 0.05 - 0.5 μm 의 두께 또는 직경을 가진다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유들 모두 (100%) 약 0.02 - 1 μm 또는 약 0.05 - 0.5 μm 의 두께 또는 직경을 가진다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은 약 0.02 - 2 μm , 0.02 - 1 μm , 0.02 - 0.75 μm , 0.02 - 0.5 μm , 0.02 - 0.5 μm , 0.05 - 1 μm , 0.05 - 0.75 μm , 0.05 - 0.5 μm , 0.1 - 1 μm , 0.1 - 0.75 μm , 또는 0.1 - 0.5 μm 의 두께 또는 직경을 가진다.

[0054] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은 1 - 15 μm 의 길이와, 약 0.02 - 1 μm 의 두께 또는 직경을 가진다.

[0055] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 분자량은 100 kDa 미만, 90 kDa 미만, 80 kDa 미만, 75 kDa 미만, 70 kDa 미만, 65 kDa 미만, 60 kDa 미만, 55 kDa 미만, 50 kDa 미만, 45 kDa 미만, 40 kDa 미만, 35 kDa 미만, 30 kDa 미만, 또는 25 kDa 미만이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은, 100 kDa 미만, 90 kDa 미만, 80 kDa 미만, 75 kDa 미만, 70 kDa 미만, 65 kDa 미만, 60 kDa 미만, 55 kDa 미만, 50 kDa 미만, 45 kDa 미만, 40 kDa 미만, 35 kDa 미만, 30 kDa 미만, 또는 25 kDa 미만의 분자량을 가진다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은 약 5 kDa - 100 kDa, 약 10 kDa - 100 kDa, 약 20 kDa - 100 kDa, 약 10 kDa - 80 kDa, 약 20 kDa - 80 kDa, 20 kDa - 75 kDa, 약 25 kDa - 약 75 kDa, 약 30 kDa - 약 80 kDa, 약 30 kDa - 약 75 kDa, 약 40 kDa - 약 80 kDa, 약 40 kDa - 약 75 kDa, 약 40 kDa - 약 70 kDa, 약 50 kDa - 약 70 kDa, 또는 약 55 kDa - 약 65 kDa의 분자량을 가진다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%,

75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)은 약 60 kDa의 분자량을 가진다.

- [0056] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 1% - 5%, 5% - 10%, 5% - 15%, 20% - 30% 또는 25% - 30%으로 탈아세틸화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 중 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30%가 탈아세틸화된다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 중 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만 또는 1% 미만이 탈아세틸화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 중 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 또는 전체 (100%)가 탈아세틸화된다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 중 1% 미만, 5% 미만, 10% 미만, 15% 미만, 20% 미만, 25% 미만, 30% 미만, 35% 미만, 40% 미만, 45% 미만, 50% 미만, 55% 미만, 60% 미만, 65% 미만, 70% 미만, 75% 미만, 80% 미만, 85% 미만, 90% 미만, 95% 미만, 99% 미만 또는 100%가 탈아세틸화된다.
- [0057] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 70% - 80%, 75% - 80%, 75% - 85%, 85% - 95%, 90% - 95%, 90% - 99% 또는 95% - 100%로 아세틸화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100%로 아세틸화된다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9%로 아세틸화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상으로 또는 전체(100%)가 아세틸화된다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 1% 미만, 5% 미만, 10% 미만, 15% 미만, 20% 미만, 25% 미만, 30% 미만, 35% 미만, 40% 미만, 45% 미만, 50% 미만, 55% 미만, 60% 미만, 65% 미만, 70% 미만, 75% 미만, 80% 미만, 85% 미만, 90% 미만, 95% 미만, 99% 미만으로 또는 100%가 아세틸화된다.
- [0058] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 하나 이상의 글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%로 더 포함할 수 있다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 하나 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 글루코사민 모노사카라이드를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%로 더 포함할 수 있다.
- [0059] 일 측면에서, sNAG 나노섬유는 MTT 분석에서 혈청 고갈시킨 인간 제대혈 내피세포 ("EC")의 대사율을 증가시킨다. MTT 분석은 실험실 테스트이며, 세포 증식(세포 성장)을 측정하기 위한 표준 색도계 분석법 (색 변화를 측정하는 분석)이다. 간략하게는, 노란색 MTT (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드, 테트라졸)는 살아있는 세포의 미토콘드리아에서 퍼플 포르마잔으로 환원된다. 이러한 환원은, 미토콘드리아 리덕타제 효소가 활성을 나타낼 때에만 이루어지며, 따라서, 변환은 생활성 (살아있는) 세포의 수와 직결될 수 있다. 세포의 대사율은 당해 기술 분야의 당업자에게 공통적으로 공지된 기타 기법들로도 확인할 수 있다.
- [0060] 다른 측면에서, sNAG 나노섬유는 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 EC를 세포자살로부터 지키지 못한다. 트립판 블루 배제 테스트는 세포 현탁물에 존재하는 생활성 세포의 수를 결정하기 위해 사용하는 염료 배제 테스트이다. 원칙적으로, 살아있는 세포는 트립판 블루, 에오신 또는 프로피듐과 같은 특정 염료를 배제하는 무손상 세포 막을 가지고 있지만, 사멸 세포는 그렇지 않다. 세포의 생활성은 당해 기술 분야의 당업자에게 공통적으로 공지된 기타 기법들로 확인할 수 있다.
- [0061] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유가 MTT 분석에서 무혈청 배양한 인간 제대혈 내피세포의 대사율을 증가시키거나, 및/또는 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 인간 제대혈 내피세포를 세포자살로부터 지키지 못하는, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 개시한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 MTT 분석에서 무혈청 배양한 인간 제대혈 내피 세포의 대사율을 증가시키거나, 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 인간 제대혈 내피세포를 세포자살로부터 지키지 못한다.
- [0062] 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유는 생물학적으로 적합하다. 생물학적 적합성은 용리 테스트, 근육내 이식, 피부내 테스트 또는 동물 개체로의 전신 주입과 같은 비제한적인 방법 등의 다양한 기법으로 확인할 수 있다. 이러한 테스트는 미국 특허 6,686,342에 기술되어 있으며 (예, 실시예 10 참조), 그 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.
- [0063] 특정 구현예들에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 생물학적 적합성 테스트 또는 테스트들에 무-반응성이다. 예컨대, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 용리 테스트, 근육내 이식, 피부내 테스트 및/또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 무-반응성일 수 있다. 다른 구현예들에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 용리 테스트, 근육내 이식 테스트, 피부내 테스트 또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 등급 0 또는 등급 1의 테스트

스코어를 가진다. 또 다른 구현예에서, 본 방법에 사용되는 sNAG 나노섬유는 용리 테스트, 근육내 이식, 피부내 테스트 및/또는 전신 테스트로 테스트하였을 때 대부분 약하게 반응성을 나타낸다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 알레르기 반응 또는 과민증을 야기하지 않는다. 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 대부분 약한 알레르기 반응 또는 약한 과민증을 예컨대 적용 부위에서 야기한다. 관련 테스트와 테스트 결과의 평가는 예컨대 미국 특허 6,686,342와 하기 6.8 항목에 기술되어 있으며, 상기 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0064] 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유는 근육내 이식 테스트로 검사하였을 때 무-반응성이다. 일 측면에서, 근육내 이식 테스트는 아래 6.8.3 항목에 기술된 근육내 이식 테스트 - ISO 4주 이식이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 용리 테스트로 측정시 생물학적 반응성을 나타내지 않는다 (용리 테스트 등급 = 0). 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 테스트 스코어가 "0"이거나, 및/또는 피부내 주입 테스트에 의해 측정시 대부분 미약한 자극제이다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 클리그만 테스트(Kligman test)에서 피내 반응(intradermal reaction) (즉, 등급 I 반응)을 유발하지 않으며, 및/또는 클리그만 테스트에 의해 측정시 약한 알레르기 발생 가능성을 가진다.

[0065] 특정 측면들에서, sNAG 나노섬유는 면역중성(immunoneutral)이다 (즉, 이는 면역 반응을 유발하지 않음).

[0066] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 생분해성이다. sNAG 나노섬유는 바람직하게는 환자에게 투여 또는 이식된 후, 약 1일, 2일, 3일, 5일, 7일 (1주), 8일, 10일, 12일, 14일 (2주), 17일, 21일 (3주), 25일, 28일 (4주), 30일, 1달, 35일, 40일, 45일, 50일, 55일, 60일, 2달, 65일, 70일, 75일, 80일, 85일, 90일, 3달, 95일, 100일 또는 4달 이내에 분해된다.

[0067] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 검출가능한 이물질 반응(foreign body reaction)을 야기하지 않는다. 이물질 반응은 상처를 치유하는 동안에 발생할 수 있는데, 이러한 것으로는 상해 부위에서의 삼출액의 축적, 피사 영역을 제거하기 위한 염증 세포의 침윤 및 과립 상태 조직의 형성을 포함할 수 있다. 이물질이 지속적으로 존재하게 되면 완전한 치유를 어렵게할 수 있다. 이물질 반응은, 상처 치유시 발생하는 흡수(resorption) 및 복원(reconstruction) 보다는, 이물 거대 세포(foreign body giant cell)의 형성, 이물 대상의 캡슐화 및 만성 염증이 특징적이다. 캡슐화는 이물질 주변으로 필름, 일반적으로 무혈성 콜라겐 셸이 침착되어 숙주 조직으로부터 이를 효과적으로 격리시키는 것을 의미한다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유로 부위 (예, 상처 또는 상처에 박테리아 감염된 부위)를 처리하면 처리 후 1일, 3일, 5일, 7일, 10일 또는 14일내에 검출가능한 이물질 반응을 도출하지 않는다. 이러한 일 구현예에서, sNAG 나노섬유로 부위 (예, 상처)의 처리는, 처리 후 1일, 3일, 5일, 7일, 10일 또는 14일내의 이물질 캡슐화를 발생시키지 않는다.

[0068] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, (i) 대부분의 섬유의 길이가 약 1 - 15 μm 인 섬유를 포함하며, 그리고 (ii) (a) MTT 분석에서 무혈청 배양한 EC의 대사율을 높이거나, 및/또는 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 EC를 세포자살로부터 보호하지 않으며, (b) 근육내 이식 테스트로 테스트하였을 때, 무-반응성이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, (i) 대부분의 섬유의 길이가 약 1 - 12 μm 인 섬유를 포함하며, 그리고 (ii) (a) MTT 분석에서 무혈청 배양한 EC의 대사율을 높이거나, 및/또는 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 EC를 세포자살로부터 보호하지 않으며, (b) 근육내 이식 테스트로 테스트하였을 때, 무-반응성이다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유, (i) 대부분의 섬유의 길이가 약 4 - 7 μm 인 섬유를 포함하며, 그리고 (ii) (a) MTT 분석에서 무혈청 배양한 EC의 대사율을 높이거나, 및/또는 트립판 블루 배제 테스트에서 무혈청 배양한 EC를 세포자살로부터 보호하지 않으며, (b) 근육내 이식 테스트로 테스트하였을 때, 무-반응성이다.

[0069] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 당해 기술 분야의 방법으로 측정시 스타필로코커스 아우레우스와 같은 박테리아의 증식 또는 생존에 직접적인 영향을 미치지 않는다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 아래 6.2.2.5 항목에 기술된 방법으로 측정시 스타필로코커스 아우레우스와 같은 박테리아의 증식 또는 생존에 직접적인 영향을 미치지 않는다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 박테리아의 증식 또는 생존에 대해 시험관내 직접적인 영향을 미치지 않는다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유는 그람 음성 박테리아의 증식 또는 생존에 (예, 시험관내에서) 직접적인 영향을 미치지 않는다. 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유는 그람 양성 박테리아의 증식 또는 생존에 (예, 시험관내에서) 직접적인 영향을 미치지 않는다. 또 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유는 그람 음성 박테리아 또는 그람 양성 박테리아의 증식 또는 생존에 (예, 시험관내에서) 직접적인 영향을 미치지 않는다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유 조성물은 박테리아 (예, 그람 양성 박테리아, 그람 음성 박테리아 또는 2가지 타입 모두)에 결합하지 않는다. 일부 구현예들에서, 박테리아 배양물과 sNAG 나노섬유 (예, sNAG 나노섬유 50-500 μg)의 시험관내 배양시, 배양 10분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 6시간,

12시간, 24시간, 48시간, 72시간 또는 96시간내에 박테리아의 수를 감소시키지 못한다 (박테리아 배양물은 그람 양성 및/또는 그람 음성일 수 있음). 일부 구현예들에서, 스타필로코커스 아우레우스 배양물과 sNAG 나노섬유 (예, sNAG 나노섬유 약 80 μg -300 μg , 또는 약 100-200 μg)의 시험관내 배양시, 배양 2시간, 3시간, 6시간 또는 24시간내에 박테리아의 수를 낮추지 못한다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, 예컨대, 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물에 sNAG 나노섬유를 시험관내에서 처리 또는 함께 배양하였을 때, 시험관내 박테리아 증식 또는 생존의 감소 정도는 1 log 미만, 0.9 log 미만, 0.8 log 미만, 0.75 log 미만, 0.7 log 미만, 0.6 log 미만, 0.5 log 미만, 0.4 log 미만, 0.3 log 미만, 0.25 log 미만, 0.2 log 미만, 0.1 log 미만, 0.05 log 미만, 또는 0.025 log 미만이다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는, 예컨대, 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물에 sNAG 나노섬유를 시험관내에서 처리 또는 함께 배양하였을 때, 시험관내 박테리아 증식 또는 생존의 감소 정도는 1×10^4 미만, 2×10^4 미만, 3×10^4 미만, 4×10^4 미만, 5×10^4 미만, 6×10^4 미만, 7×10^4 미만, 8×10^4 미만, 9×10^4 미만, 또는 10×10^4 cfu/ml 미만이다. 박테리아 증식 또는 생존에 대한 sNAG 나노섬유 효과 테스트와 테스트 결과에 대한 평가는, 예컨대 실시예 2 (예, 6.2.2.5 항목) 및 도 11E 에 기술되어 있다.

[0070] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 (i) 섬유 (i) 섬유의 대부분이 약 1 - 15 μm , 1 - 12 μm , 또는 4 - 7 μm 길이인 섬유를 포함하며, (ii) 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물의 시험관내 박테리아 증식 또는 생존 효과를 가지지 않으며, 및 (iii) 생물학적 적합성 테스트 (예, 근육내 이식 테스트)로 테스트하였을 때 무-반응성이다.

[0071] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 sNAG 나노섬유 조성물로 처리되거나 이에 노출된 세포, 조직 또는 장기에서 특정한 유전자 발현 (예, RT-PCR, 마이크로어레이 또는 ELISA로 측정시, RNA 또는 단백질 발현) 패턴을 유도한다. 구체적으로, 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 하나 이상의 디펜신 단백질, 하나 이상의 디펜신-유사 단백질, 및/또는 하나 이상의 Toll-유사 수용체의 발현을 유도한다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 항세균 효과를 가지는 것으로 공지된 하나 이상의 단백질의 발현을 유도한다.

[0072] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 하나 이상의 α -디펜신 (예, DEFA1 (즉, α -디펜신 1), DEFA1B, DEFA3, DEFA4, DEFA5, DEFA6), 하나 이상의 β -디펜신 (예, DEFB1 (즉, β -디펜신 1), DEFB2, DEFB4, DEFB103A, DEFB104A, DEFB105B, DEFB107B, DEFB108B, DEFB110, DEFB112, DEFB114, DEFB118, DEFB119, DEFB123, DEFB124, DEFB125, DEFB126, DEFB127, DEFB128, DEFB129, DEFB131, DEFB136), 및/또는 하나 이상의 Θ -디펜신 (예, DEFT1P)의 발현을 유도한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, DEFA1, DEFA3, DEFA4, DEFA5, DEFB1, DEFB3, DEFB103A, DEFB104A, DEFB108B, DEFB112, DEFB114, DEFB118, DEFB119, DEFB123, DEFB124, DEFB125, DEFB126, DEFB128, DEFB129 및 DEFB131 중 하나 이상의 발현을 유도한다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 하나 이상의 Toll 수용체 (예, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, 및/또는 TLR12)의 발현을 유도한다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 하나 이상의 IL-1, CEACAM3, SPAG11, SIGIRR (IL1-유사 수용체), IRAK1, IRAK2, IRAK4, TBK1, TRAF6 및 IKKi의 발현을 유도한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 IRAK2, SIGIRR, TLR1, TLR2, TLR4, TLR7, TLR8, TLR10 및 TRAF6 중 하나 이상의 발현을 유도한다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 상기에서 열거한 유전자 산물들 중 하나 이상의 발현을 유도한다.

[0073] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 상기 열거된 유전자들 중 하나 이상의 발현을, sNAG 나노섬유 처리 전의 개체의 세포, 조직 또는 장기에서의 하나 이상의 상기 열거된 유전자들의 발현 수준 (예, 상기 열거된 유전자들 중 하나 이상의 발현에 대해 공지된 평균 수준)과 비교하여, 약 0.25 배 이상, 0.5배 이상, 1배 이상, 1.5배 이상, 2배 이상, 2.5배 이상, 3배 이상, 3.5배 이상, 4배 이상, 4.5배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 12배 이상, 15배 이상 또는 20배 이상의 양으로 유도한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 상기 열거된 유전자들 중 하나 이상의 발현을, sNAG 나노섬유 처리 전의 개체의 세포, 조직 또는 장기에서의 하나 이상의 상기 열거된 유전자들의 발현 수준 (예, 상기 열거된 유전자들 중 하나 이상의 발현에 대해 공지된 평균 수준)과 비교하여, 약 10% 이상, 25% 이상, 50% 이상, 75% 이상, 100% 이상, 125% 이상, 150% 이상, 175% 이상, 200% 이상, 225% 이상, 250% 이상, 275% 이상, 300% 이상, 350% 이상, 400% 이상, 450% 이상, 500% 이상, 550% 이상, 600% 이상, 650% 이상, 700% 이상, 750% 이상, 800% 이상, 900% 이상 또는 1000% 이상의 양으로 유도한다.

다.

- [0074] 일부 구현예들에서, 장쇄 폴리-N-아세틸글루코사민, 키틴 및/또는 키토산이 아닌, sNAG 나노섬유는, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지되거나 본원에 기술된 방법으로 측정시, 상기 열거된 하나 이상의 유전자의 발현을 유도한다. 이들 중 일부의 구현예들에서, 장쇄 폴리-N-아세틸글루코사민, 키틴 및/또는 키토산은, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지되거나 본원에 기술된 방법으로 측정시, sNAG 나노섬유에 의해 유발되는 상기 열거된 하나 이상의 유전자의 발현 수준과 비교하여, 상기 열거된 하나 이상의 유전자의 발현을 유도하지 않거나, 또는 낮은 수준 (예, 1.25배 보다 높은, 1.5배 보다 높은, 2배 보다 높은, 2.5배 보다 높은, 3배 보다 높은, 3.5배 보다 높은, 4배 보다 높은, 4.5배 보다 높은, 5배 보다 높은, 6배 보다 높은, 7배 보다 높은, 8배 보다 높은, 9배 보다 높은, 또는 10배 보다 높은 정도로 낮게)으로 유도한다.
- [0075] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 아래 6.2-6.5 항목의 표 I, II, III, V, VIII 및 IX에 나타낸 하나 이상의 유전자 발현 프로파일과 일치하거나, 유사하거나, 거의 동일하거나 또는 등가인 유전자 발현 프로파일을 유도한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 아래 6.2-6.5 항목의 표 I, II, III, V, VIII 및 IX에서 sNAG 처리에 의해 상향 조절되는 것으로 입증된 하나 이상의 유전자의 발현을 유도한다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 아래 6.2-6.5 항목의 표 I, II, III, V, VIII 및 IX에서 sNAG 처리에 의해 상향 조절되는 것으로 입증된 유전자의 대부분 또는 유전자들 모두의 발현을 유도한다. 이들 중 일부 구현예에서, 유전자 발현 수준은, 세포, 조직 또는 장기에 sNAG 나노섬유 조성물을 처리한 후, 1시간, 2시간, 4시간, 5시간, 6시간, 8시간, 10시간, 12시간, 14시간, 16시간, 18시간, 20시간, 24시간, 48시간, 3일 또는 5일째에, 당해 기술 분야의 당업자에게 공지되거나 본원에 기술된 방법에 의해, 측정한다.
- [0076] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 장쇄 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유에 의해 유도되는 프로파일과 상이한, 유전자 발현 프로파일을 유도한다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유에 의해 유도되는 유전자 발현 프로파일은, 아래 6.2-6.5 항목의 표 I, II, III, V, VIII 및 IX에 나타낸 하나 이상의 유전자 발현 프로파일과 일치하거나, 유사하거나, 거의 동일하거나 또는 등가이며, 장쇄 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유에 의해 유도되는 유전자 발현 프로파일은 아래 6.5 항목의 표 VIII 및/또는 IX에 나타낸 것과 일치하거나, 유사하거나, 거의 동일하거나 또는 등가이다. 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 키틴 또는 키토산에 의해 유도되는 유전자 발현 프로파일과 상이한 유전자 발현 프로파일을 유도한다.
- [0077] 특정 구현예에서, sNAG 나노섬유는 폴리-N-아세틸글루코사민 및/또는 이의 유도체를 방사선 조사함으로써 수득한다. 폴리-N-아세틸글루코사민과 이의 유도체에 대한 하기 5.1.1 항목과, 방사선 조사를 이용한 sNAG 나노섬유의 제조 방법에 대한 아래 5.2 항목을 참조한다. 방사선 조사를 이용하여, 폴리-N-아세틸글루코사민 섬유 및/또는 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체 섬유의 길이를 단축시켜, 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 단섬유 및/또는 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체 단섬유, sNAG 나노섬유를 제조할 수 있다. 구체적으로, 방사선 조사를 이용하여, 폴리-N-아세틸글루코사민 또는 이의 유도체의 길이 및 분자량을 이의 미소구조를 파괴하지 않으면서 낮출 수 있다. sNAG 나노섬유의 적외선 (IR) 스펙트럼은 비-방사선 조사된 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 또는 이의 유도체의 스펙트럼과 유사하거나, 거의 동일하거나 또는 등가이다.
- [0078] 일 구현예에서, sNAG 나노섬유는 키틴 또는 키토산으로부터 유래되지 않는다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 키틴 또는 키토산으로부터 유래될 수 있거나, 또는 sNAG 나노섬유는 키틴 또는 키토산으로부터 유래될 수 있다.
- [0079] **5.1.1 폴리-N-아세틸글루코사민 및 이의 유도체**
- [0080] 미국 특허 5,622,834; 5,623,064; 5,624,679; 5,686,115; 5,858,350; 6,599,720; 6,686,342; 7,115,588 및 미국 특허 공개번호 2009/0117175 (각 문헌은 원용에 의해 본 명세서에 포함됨)에는 폴리-N-아세틸글루코사민 및 이의 유도체, 및 이의 제조 방법이 기술되어 있다. 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 β-1→4 배위를 가진다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 α-1→4 배위를 가진다. 폴리-N-아세틸글루코사민 및 이의 유도체는 폴리머의 형태이거나, 섬유의 형태일 수 있다.
- [0081] 폴리-N-아세틸글루코사민은, 예컨대, 정제된 형태, 미소 조류, 바람직하게는 규조(diatom)에 의해 제조되고 정제될 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민을 제조하기 위한 출발원으로서 사용될 수 있는 규조는, 비제한적으로, 코스시노디스쿠스(*Coscinodiscus*) 속, 사이클로텔라(*Cyclotella*) 속 및 칼라시오시라(*Thalassiosira*) 속에 속

하는 것을 포함한다. 폴리-N-아세틸글루코사민은 당해 기술 분야에 공지된 기계적 인가 방법 및 화학적/생물학적 방법 등의, 여러가지 다수의 방법을 통해, 구조 배양물로부터 수득할 수 있다 (예, 미국 특허 5,622,834; 5,623,064; 5,624,679; 5,686,115; 5,858,350; 6,599,720; 6,686,342; 및 7,115,588, 각 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함됨). 특정 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 조개류, 갑각류, 곤충, 진균 또는 효모 중 하나 이상으로부터 유래되지 않는다.

[0082] 일 구현예에서, 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민은, a) 세포 바디(cell body)와 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 폴리머 섬유를 포함하는 미소 조류에, 세포 바디로부터 N-아세틸글루코사민 폴리머 섬유를 분리시킬 수 있는 생물제제 (예, 하이드로플루오르)를 충분한 시간 동안 처리하여, 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 폴리머 섬유를 상기 세포 바디로부터 해리시키는 단계; b) 상기 세포 바디로부터 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 폴리머 섬유를 분리하는 단계; 및 c) 분리된 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 폴리머 섬유로부터 오염원을 제거하여, 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민 폴리머를 분리 및 정제하는 단계를 포함하는 방법으로 수득된다.

[0083] 다른 구현예들에서, 폴리-β-1→4-N-아세틸글루코사민은 조개류, 갑각류, 곤충, 진균 또는 효모 중 하나 이상으로부터 유래될 수 있다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 키틴 또는 키토산을 포함하지 않는다.

[0084] 폴리-N-아세틸글루코사민에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 탈아세틸화될 수 있다. 특정 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민의 1% - 5%, 5% - 10%, 5% - 15%, 20% - 30% 또는 25% - 30%가 탈아세틸화된다. 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민의 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30%가 탈아세틸화된다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만 또는 1% 미만으로 탈아세틸화된다. 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 1% 이하, 5% 이하, 10% 이하, 15% 이하, 20% 이하, 25% 이하, 30% 이하, 35% 이하, 40% 이하, 45% 이하, 50% 이하, 55% 이하, 60% 이하, 65% 이하, 70% 이하, 75% 이하, 80% 이하, 85% 이하, 90% 이하, 95% 이하, 99% 이하로 또는 전체가 탈아세틸화된다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민은 1% 미만, 5% 미만, 10% 미만, 15% 미만, 20% 미만, 25% 미만, 30% 미만, 35% 미만, 40% 미만, 45% 미만, 50% 미만, 55% 미만, 60% 미만, 65% 미만, 70% 미만, 75% 미만, 80% 미만, 85% 미만, 90% 미만, 95% 미만, 99% 미만으로, 또는 100%가 탈아세틸화된다.

[0085] 특정 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 아세틸화된 글루코사민 (즉, N-아세틸글루코사민) 모노사카라이드를 70% - 80%, 75% - 80%, 75% - 85%, 85% - 95%, 90% - 95%, 90% - 99% 또는 95% - 100%로 포함한다. 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 아세틸화된 글루코사민 (즉, N-아세틸글루코사민) 모노사카라이드를 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100%로 포함한다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 아세틸화된 글루코사민을 70% 보다 높은 비율로, 75% 보다 높은 비율로, 80% 보다 높은 비율로, 85% 보다 높은 비율로, 90% 보다 높은 비율로, 95% 보다 높은 비율로, 98% 보다 높은 비율로, 99% 보다 높은 비율로, 99.5% 보다 높은 비율로 또는 99.9% 보다 높은 비율로 포함한다. 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 아세틸화된 글루코사민을 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상으로 포함하거나, 모두 (100%) 아세틸화된 글루코사민이다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 아세틸화된 글루코사민을 1% 미만, 5% 미만, 10% 미만, 15% 미만, 20% 미만, 25% 미만, 30% 미만, 35% 미만, 40% 미만, 45% 미만, 50% 미만, 55% 미만, 60% 미만, 65% 미만, 70% 미만, 75% 미만, 80% 미만, 85% 미만, 90% 미만, 95% 미만, 99% 미만 또는 100% 미만으로 포함한다.

[0086] 일부 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 하나 이상의 글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%로 더 포함할 수 있다. 다른 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 조성물은 하나 이상의 N-아세틸글루코사민 모노사카라이드를 포함하며, 글루코사민 모노사카라이드를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%로 더 포함할 수 있다.

[0087] 또한, 폴리-N-아세틸글루코사민의 유도체는 본원에 기술된 조성물에 사용될 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 유도체 및 이의 제조 방법은 미국 특허 5,623,064 (예, 항목 5.4)에 기술되어 있으며, 이 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 유도체는, 비제한적으로, 부분 또는 완전히 탈아세틸화된 폴리-N-아세틸글루코사민, 또는 이의 탈아세틸화된 유도체를 포함할 수 있다. 아울러, 폴리-N-아세틸글루코사민은 황산화, 인산화 및/또는 질산화에 의해 유도체화될 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체는, 예로, 황산화된 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체, 인산화된 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체, 또는 질산

화된 폴리-N-아세틸글루코사민 유도체를 포함한다. 아울러, 폴리-N-아세틸글루코사민에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 하나 이상의 설폰닐기 또는 하나 이상의 O-아실기를 포함할 수 있다. 또한, 탈아세틸화된 폴리-N-아세틸글루코사민에서 하나 이상의 모노사카라이드는 N-아실기를 포함할 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민 또는 이의 탈아세틸화된 유도체에서 하나 이상의 모노사카라이드는 O-알킬기를 포함할 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 알칼리 유도체일 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 탈아세틸화된 유도체에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 하나 이상의 탈옥시할로젠 (deoxyhalogen) 유도체를 포함할 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 탈아세틸화된 유도체에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 염을 형성할 수 있다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 탈아세틸화된 유도체에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 금속 킬레이트를 형성할 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 금속은 아연이다. 폴리-N-아세틸글루코사민의 탈아세틸화된 유도체에서 하나 이상의 모노사카라이드 단위는 N-알킬리덴 또는 N-아릴리덴기를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 유도체는 아세테이트 유도체이다. 다른 구현예에서, 유도체는 아세테이트 유도체가 아니다. 일 구현예에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 또는 탈아세틸화된 폴리-N-아세틸글루코사민은 락트산으로 유도체화된다. 이때, 다른 구현예에서, 유도체는 락트산으로 유도체화되지 않는다.

[0088] **5.2 sNAG 나노섬유의 제조 방법**

[0089] 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유, 전술한 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유의 임의의 유도체는, 건조 폴리머 또는 섬유, 또는 폴리머 또는 섬유 멤브레인으로서 방사선 조사될 수 있다. 다른 예로, 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유, 및 전술한 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유의 임의의 유도체는 젖은 상태에서 방사선 조사될 수 있다. 방사선 조사에 의한 sNAG 나노섬유 제조 방법 및 이러한 방법으로 제조된 sNAG 나노섬유는 미국 특허 공개번호 2009/0117175에 기술되어 있으며, 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0090] 특정 구현예들에서, 폴리-N-아세틸글루코사민 폴리머 또는 섬유는 방사선 조사를 위한 현탁액/슬러리 또는 젖은 케이크(wet cake)로 제형화된다. 방사선 조사는, 폴리머 또는 섬유를 드레싱 등의 최종 제형으로 제형화하기 전에, 동시에 또는 이후에, 수행할 수 있다. 일반적으로, 현탁액/슬러리 및 젖은 케이크에서 폴리머 또는 섬유의 함량은 다양할 수 있으며, 예컨대, 증류수 1 ml 당 폴리머 또는 섬유 약 0.5 mg - 약 50 mg이 슬러리 제조에 사용되며, 젖은 케이크 제형에는 증류수 1 ml 당 폴리머 또는 섬유 약 50 mg - 약 1000 mg이 사용된다. 폴리머 또는 섬유는 먼저 동결건조하고, 액체 질소로 동결 후 분쇄하여, 현탁액/슬러리 또는 젖은 케이크를 만들기 더 쉽게 만든다. 또한, 현탁액/슬러리를 여과하여, 물을 제거하여, 젖은 케이크를 만든다. 특정 측면들에서, 폴리머 또는 섬유는, 증류수 1 ml 당 폴리머 또는 섬유 약 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 12 mg, 15 mg, 18 mg, 20 mg, 25 mg 또는 50 mg을 포함하는 현탁액으로서, 또는 상기 구현예들간의 임의 범위 (예, 1-10 mg/ml, 5-15 mg/ml, 2-8 mg/ml, 20-50 mg/ml 등)에서 방사선 조사된다. 다른 측면에서, 폴리머 또는 섬유는 증류수 1 ml 당 폴리머 또는 섬유를 약 50-1,000 mg으로 포함하는 젖은 케이크로서 방사선 조사된다. 구체적인 구현예들에서, 젖은 케이크는 폴리머 또는 섬유를 증류수 1 ml 당 약 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg, 또는 이들 사이의 임의 범위로 (예, 100-500 mg/ml, 300-600 mg/ml, 50-1000 mg/ml 등) 포함한다.

[0091] 방사선 조사는 바람직하게는 감마 방사선 조사, e-빔 조사 또는 x선 형태이다. 2가지 소스의 조사가 바람직하다: 방사능 핵종(radioactive nuclide) 및 전기(electricity). 구체적인 구현예에서, 방사능 핵종은 코발트-60 및 세슘-137이다. 이들 핵종 둘다 감마선을 방출하며, 이는 질량이 없는 광자이다. 감마선은 0.66 - 1.3 MeV의 에너지를 가진다. 전기를 이용하여, 전자를 발생시키고, 최대 10 MeV 또는 그 이상으로 에너지를 가속화한다. 폴리머 또는 섬유의 크기를 줄이기 위해 방사선 조사할 때, 고려해야되는 사항은, 10 MeV의 전자에 의한 물과 비슷한 밀도의 물질의 침투 깊이가 단면 노출시 약 3.7 cm, 양면 노출시 약 8.6 cm으로 제한된다는 것이다. 침투 깊이는 더 낮은 전자 에너지에서 감소된다. 전자 빔 경로에 금속 (일반적으로 텅스텐 또는 탄탈륨) 타겟을 배치함으로써, 전자 에너지를 X선으로 바꿀 수 있다. X선으로의 변환은 에너지 5 MeV 이상의 전자로 한정된다. X선은 질량이 없는 광자이며, 감마선과 비슷하게 폴리머 또는 섬유에 침투할 수 있다. 전자 에너지에서 X선 에너지로의 변환 효율은 약 8%에 불과하다. 낮은 변환 효율을 고려하여 X선 발생 시설에는 고효율 전자 빔 장치가 필요하다.

[0092] 특정 구현예에서, 방사선 조사는 감마선 조사이다.

[0093] 방사선의 흡수선량(absorbed dose)은 그레이 (gy) 또는 킬로그레이 (kgy)로 측정되는 산물의 중량 단위 당 흡수

되는 에너지이다. 건조된 폴리머 또는 섬유의 경우, 바람직한 흡수선량은 방사선의 약 500-2,000 kgy이며, 가장 바람직하게는, 약 750-1,250 kgy 또는 약 900-1,100 kgy이다. 젖은 폴리머 또는 섬유의 경우, 바람직한 흡수선량은 방사선의 약 100-500 kgy이고, 가장 바람직하게는 약 150-250 kgy 또는 약 200-250 kgy이다.

[0094] 방사선량은 폴리머 또는 섬유의 길이에 대한 효과 측면에서 기술될 수 있다. 구체적인 구현예들에서, 사용되는 방사선량은 바람직하게는 폴리머 또는 섬유의 길이를 폴리머 또는 섬유의 개시 길이에서 약 10% - 90%로 어느 곳에서도 단축시킨다. 구체적인 구현예들에서, 평균 길이는 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80% 또는 약 90%로, 또는 이들 수치 사이의 임의 범위 (예, 20-40%, 30-70%, 등)로 단축된다. 다른 예로, 사용되는 방사선량은 바람직하게는 폴리머 또는 섬유의 길이를 임의 부위에서 1 - 100 μm 단축시킨다. 구체적인 구현예들에서, 섬유의 개시 길이에 따라, 폴리머 또는 섬유의 평균 길이는 약 15 μm 미만, 약 14 μm 미만, 약 13 μm 미만, 약 12 μm 미만, 약 11 μm 미만, 약 10 μm 미만, 약 8 μm 미만, 약 7 μm 미만, 약 5 μm 미만, 약 4 μm 미만, 약 3 μm 미만, 2 μm 미만 또는 1 μm 미만으로 단축된다. 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)의 길이는, 약 20 μm 이하로, 약 15 μm 이하로, 약 12 μm 이하로, 약 10 μm 이하로, 약 8 μm 이하로, 약 7 μm 이하로 또는 약 5 μm 이하로 단축된다. 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유의 방사선 조사는, 섬유의 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)의 길이를, 임의 부위에서 약 1 - 20 μm , 약 1 - 15 μm , 약 2 - 15 μm , 약 1 - 12 μm , 약 2 - 12 μm , 약 1 - 10 μm , 약 2 - 10 μm , 약 1 - 8 μm , 약 2 - 8 μm , 약 1 - 7 μm , 약 2 - 7 μm , 약 3 - 8 μm , 약 4 - 7 μm , 약 1 - 5 μm , 약 2 - 5 μm , 약 3 - 5 μm , 약 4 - 10 μm , 또는 이를 포괄하는 상기한 길이 사이의 임의 범위로 단축시킨다.

[0095] 방사선량은 또한 폴리머 또는 섬유의 분자량에 대한 이의 효과 측면에서도 기술할 수 있다. 구체적인 구현예들에서, 사용되는 방사선량은 바람직하게는 폴리머 또는 섬유의 분자량을 폴리머 또는 섬유의 개시 분자량에서 약 10% - 90%로 임의 부위에서 감소시킨다. 구체적인 구현예들에서, 평균 분자량은 약 10%까지, 약 20%까지, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80% 또는 약 90%, 또는 이들 수치 사이의 임의 범위 (예, 20-40%, 30-70%, 등)로 감소된다. 다른 예로, 사용되는 방사선량은 바람직하게는 폴리머 또는 섬유의 분자량을 임의 부위에서 1,000 - 1,000,000 달톤으로 감소시킨다. 구체적인 구현예들에서, 섬유의 개시 분자량에 따라, 폴리머 또는 섬유의 평균 분자량은 1,000,000 달톤 미만, 750,000 달톤 미만, 500,000 달톤 미만, 300,000 달톤 미만, 200,000 달톤 미만, 100,000 달톤 미만, 90,000 달톤 미만, 80,000 달톤 미만, 70,000 달톤 미만, 60,000 달톤 미만, 50,000 달톤 미만, 25,000 달톤 미만, 10,000 달톤 미만, 또는 5,000 달톤 미만으로 감소된다. 특정 구현예들에서, 평균 분자량은, 500 달톤 이상, 1,000 달톤 이상, 2,000 달톤 이상, 3,500 달톤 이상, 5,000 달톤 이상, 7,500 달톤 이상, 10,000 달톤 이상, 25,000 달톤 이상, 50,000 달톤 이상, 60,000 달톤 이상 또는 100,000 달톤 이상으로 감소된다. 또한, 상기 평균 분자량 범위 사이의 임의 범위도 포함된다: 예컨대, 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유의 방사선 조사는, 평균 분자량을, 임의 부위에서 10,000 - 100,000 달톤, 1,000 - 25,000 달톤, 50,000 - 500,000 달톤, 25,000 - 100,000 달톤, 30,000 - 90,000 달톤, 약 40,000 - 80,000 달톤, 약 25,000 - 75,000 달톤, 약 50,000 - 70,000 달톤 또는 약 55,000 - 65,000 달톤 등으로 감소시킨다. 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유의 방사선 조사는, 대부분 (및 특정 구현예들에서, 섬유의 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)의 분자량을, 임의 부위에서 약 20,000 - 100,000 달톤, 약 25,000 - 75,000 달톤, 약 30,000 - 90,000 달톤, 약 40,000 - 80,000 달톤, 약 50,000 - 70,000 달톤, 또는 약 55,000 - 65,000 달톤으로 감소시킨다. 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유의 방사선 조사는, 대부분 (및 특정 구현예들에서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8%, 99.9%, 또는 100%, 또는 55% - 65%, 55% - 75%, 65% - 75%, 75% - 85%, 75% - 90%, 80% - 95%, 90% - 95%, 또는 95% - 99%)의 분자량을 약 60,000 달톤으로 감소시킨다.

[0096] 방사선 조사한 후, 슬러리를 여과 및 건조할 수 있으며, 젖은 케이프는 건조시켜, 본 발명의 실시예에 사용가능한 조성물 (예, 드레싱 및 분원에 기술된 기타 조성물)로 만들 수 있다.

[0097] **5.3 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물**

[0098] sNAG 나노섬유는 본원에 기술된 바와 같이 국소 투여용의 다양한 조성물로 제형화될 수 있다.

[0099] sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은, 크림, 멤브레인, 필름, 액체 용액, 현탁액, 산제, 페이스트, 연고, 좌제,

젤라틴성 조성물, 에어로졸, 젤, 또는 스프레이로서 제형화될 수 있다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 울트라-박막으로서 제형화된다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 드레싱, 매트 또는 붕대로서 제형화된다. 투여하기 전에, 액체 중의 용액 또는 현탁액으로 적합한 고형 제형도 포함된다. 또한, 상기한 조성물은, 정형 외과적 임플란트 (엉덩이, 무릎, 어깨용; 핀, 스크류 등), 심혈관 임플란트 (스텐트, 카테터 등) 및 항세균 활성이 유익한 기타 부분 등의 이식가능한 디바이스 내부 또는 상에 병합되는 것도 가능하다.

[0100] sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 적합한 부형제는 물, 염수, 염 용액, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 또한, 적합한 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 슈크로스, 젤라틴, 말트, 라이스, 밀가루, 백악(chalk), 실리카겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 오일 (페트롤륨, 동물, 식물 또는 합성 오리진의 오일, 예컨대 땅콩유, 콩기름, 미네랄 오일, 참깨 오일 등), 탈크, 소듐 클로라이드, 건조된 탈지유, 프로필렌, 글리콜 등을 포함할 수 있다. 또한, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 하나 이상의 습윤제, 유화제, pH 완충화제 및 기타 물질을 포함할 수 있다. 또한, sNAG 나노섬유 조성물은 생리학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 국소 적용에 적합한 생리학적으로 허용가능한 담체내에 혼합될 수 있다. 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 미국 약전 또는 동물 및 보다 구체적으로는 인간에 사용하기 위한 기타 일반적으로 공인된 약전에 열거되거나 또는 연방 또는 주 정부의 규제 기관으로부터 승인받은 것을 의미한다. 적합한 약제학적 담체의 예는 "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin에 기술되어 있다.

[0101] 조성물내 sNAG 나노섬유의 최종 함량은 다양할 수 있다. 예컨대, (예, 환자에게 투여하기 위해 준비된) 조성물내 sNAG 나노섬유의 함량은, 중량/부피로 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 98% 또는 약 99% 이상일 수 있다. 일 구현예에서, 조성물내 sNAG 나노섬유의 함량은 약 95%, 약 98%, 약 99, 또는 약 100%이다. 또한, (예, 환자에게 투여하기 위해 준비된) 조성물내 sNAG 나노섬유의 함량은 중량/부피로 약 50%-100%, 약 60%-100%, 약 70%-100%, 약 75%-100%, 약 80%-100%, 약 90%-100%, 약 95%-100%, 약 70%-95%, 약 75%-95%, 약 80%-95%, 약 90%-95%, 약 70%-90%, 약 75%-90% 또는 약 80%-90%일 수 있다. 조성물은 30% 보다 높은 비율의, 40% 보다 높은 비율의, 50% 보다 높은 비율의, 60% 보다 높은 비율의, 70% 보다 높은 비율의, 75% 보다 높은 비율의, 80% 보다 높은 비율의, 90% 보다 높은 비율의, 95% 보다 높은 비율의 또는 99% 보다 높은 비율의 sNAG 나노섬유 용액을 포함할 수 있다.

[0102] sNAG 나노섬유 조성물은 상처 드레싱으로 제형화될 수 있다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 배리어, 멤브레인, 또는 필름의 형태의 상처 드레싱으로서 제형화된다. 다른 예로, sNAG 나노섬유 조성물을 배리어, 멤브레인 또는 필름 등의 드레싱 후면(backing)에 첨가될 수 있다. 배리어, 멤브레인 또는 필름은 다양한 표준 크기로 적용될 수 있으며, 또한 잘라 치료할 면적에 맞게 크기를 조절할 수 있다. 후면은, 환자에게 적용하기 전에, 폴리머 또는 필름가 첨가 또는 코팅되는, 통상적인 드레싱 물질, 예컨대 붕대 또는 거즈일 수 있다. 다른 예로, sNAG 나노섬유는 스트링, 마이크로비드, 미소체 또는 마이크로파이버틸로 만들어진 배리어, 막 또는 필름으로서 제형화될 수 있거나, 또는 조성물은 배리어-형성 매트로서 제형화될 수 있다. 특정 구현예들에서, 드레싱의 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%는 sNAG 나노섬유로 구성된다. 특정 측면들에서, 드레싱은 거즈 또는 붕대와 같은 통상적인 드레싱 물질을 포함하지 않는다. 이러한 구현예들에서, sNAG 나노섬유 자체는 상처 드레싱으로서 제형화된다.

[0103] sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 임의의 적합한 천연 또는 합성의 폴리머 또는 섬유를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 폴리머 또는 섬유의 예로는, 셀룰로스 폴리머, 잔탄, 폴리아라미드, 폴리아미드, 폴리이미드, 폴리아미드/이미드, 폴리아미드하이드라지드, 폴리아미드하이드라지드, 폴리이미다졸, 폴리벤족사졸, 폴리에스테르/아미드, 폴리에스테르/이미드, 폴리카보네이트/아미드, 폴리카보네이트/이미드, 폴리설펜/아미드, 폴리설펜 이미드 등, 이들의 공중합체 및 블렌드가 있다. 그의 적합한 클래스의 폴리머 또는 섬유로는 폴리비닐레텐 플루오라이드 및 폴리아크릴로나이트릴을 포함한다. 이들 폴리머 또는 섬유의 예로는, 미국 특허 RE 30,351; 4,705,540, 4,717,393; 4,717,394; 4,912,197; 4,838,900; 4,935,490; 4,851,505; 4,880,442; 4,863,496; 4,961,539; 및 유럽 특허 출원 0 219 878에 기술된 것이 있으며, 상기 문헌들 모두 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 폴리머 또는 섬유는 셀룰로스 폴리머, 폴리아미드, 폴리아라미드, 폴리아미드/이미드 또는 폴리이미드 중 하나를 하나 이상 포함할 수 있다. 특정 구현예들에서, 폴리머 또는 섬유로는 폴리아라미드, 폴리에스테르, 우레탄 및 폴리테트라플루오로에틸렌을 포함한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 한가지 이상의 타입의 폴리머를 포함한다 (예, sNAG 나노섬유 및 셀룰로스).

- [0104] 특정 측면들에서, sNAG 나노섬유는 조성물내 단독 활성 성분이다.
- [0105] 다른 구현예들에서, 조성물은, 예컨대 항세균 효과 및/또는 치유 (예, 상처 치유)를 촉진시키기 위해, 하나 이상의 추가적인 활성 성분을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 추가적인 활성 성분은 하나 이상의 항세균성 물질 (예, 항생제, 디펜신 펩타이드, 디펜신-유사 펩타이드 또는 Toll-수용체-유사 펩타이드), 또는 성장 인자이다. 구체적인 구현예들에서, 추가적인 활성 성분은, PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC, PDGF-DD, FGF-1, FGF-2, FGF-5, FGF-7, FGF-10, EGF, TGF- α (HB-EGF), 암피레굴린(amphiregulin), 에피레굴린(epiregulin), β 셀룰린(beta cellulin), 뉴레굴린(neuregulin), 에피겐(epigen), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, 태반 성장 인자(placenta growth factor: PLGF), 안지오프이에틴-1, 안지오프이에틴-2, IGF-I, IGF-II, 간세포 성장 인자 (HGF), 및 대식세포-자극 단백질 (MSP) 중 한가지 이상 등의 성장 인자이다. 다른 구현예들에서, 추가적인 활성 성분은 면역 시스템, 통증 완화 물질 또는 해열 물질을 부스팅하는 물질이다.
- [0106] 특정 구현예들에서, 추가적인 활성 성분은 아래 클래스의 항생제들 중 하나 이상의 항생제이다: 마이크롤라이드 (예, 에리트로마이신, 아지트로마이신), 아미노글리코시드 (예, 아미카신, 젠타마이신, 네오마이신, 스트렙토마이신), 세팔로스포린 (예, 세파드록실, 세파클로르, 세폭탁심, 세페픽), 플루오로퀴놀론 (예, 시프로플록사신, 레보플록사신), 페니실린 (예, 페니실린, 암피실린, 아목시실린), 테트라사이클린 (예, 테트라사이클린, 독시사이클린) 및/또는 카바페넴 (예, 메로페넴, 이미페넴)을 포함한다. 일부 구체적인 구현예에서, 상기 추가적인 활성 성분은, 반코마이신, 설과 약물 (예, 코-트리목사졸/트리에토프림-설과메톡사졸), 테트라사이클린 (예, 독시사이클린, 미노사이클린), 클린다마이신, 옥사졸리디논 (예, 리네졸리드), 답토마이신, 테이코플라닌, 퀴누프리스틴/달포프리스틴 (시너지드(synergid)), 티게사이클린, 알리신, 박시트락신, 니트로푸란토인, 과산화수소, 노보비오신, 네틸미신, 메틸글리옥살, bee 디펜신-1, 토브라마이신, 클로르헥시딘 디글루코네이트, 클로르헥시딘 글루코네이트, 레보플록사신, 아연 및 은 중 하나이다. 일부 구현예들에서, 조성물은 sNAG 나노섬유와, 스타필로코커스 아우레우스 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피콜 감염을 치료 또는 예방하기 위해 통상적으로 사용되거나 또는 이를 치료 또는 예방하는데 유효한, 추가적인 활성 성분 (예, 상기한 감염에 대해 유효한 또는 통상적으로 사용되는 항생제)을 포함한다.
- [0107] sNAG 나노섬유 조성물은, 콜라겐을 포함할 수 있지만, 특정 측면들에서는 sNAG 나노섬유 조성물은 콜라겐을 포함하지 않는다.
- [0108] 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 임의의 추가적인 요법을 포함하지 않는다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 항세균제, 디펜신, 펩타이드, 디펜신-유사 펩타이드, Toll-수용체-유사 펩타이드 또는 성장 인자를 포함하지 않는다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 항생제를 포함하지 않는다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 추가적인 요법 (예, 항생제)을 포함할 수 있다. 그러한 일 구현예에서, 추가적인 요법 (예, 항생제)은 sNAG 나노섬유내 캡슐화되거나, 고정되거나, 제형화되지 않는다.
- [0109] 다른 측면에서, sNAG 나노섬유 조성물은 상당량의 단백질 물질을 포함하지 않는다. 구체적인 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물의 단백질 함량은 0.1 중량% 이하, 0.5 중량% 이하 또는 1 중량% 이하이다. 다른 구현예들에서, 상기 조성물의 단백질 함량은 코마시 염색에 의해 검출할 수 없다.
- [0110] 일 구현예에서, 또한 sNAG 나노섬유 조성물에 아연이 포함된다. 아연은, 이의 항균 특성 외에도, 상처 치유에 역할을 한다 (Andrews *et al.*, 1999, Adv Wound Care 12:137-8). 아연은 바람직하게는 아연 옥사이드, 아연 설페이트, 아연 아세테이트 또는 아연 글루코네이트와 같이 염 형태로 첨가된다.
- [0111] **5.4 sNAG 조성물의 항세균 용도**
- [0112] 매우 다양한 박테리아 감염 및 박테리아 감염과 관련된 질환은 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물의 투여를 통해 치료 및/또는 예방할 수 있다 (예, 5.4.1 및 5.4.2의 항목을 참조함). 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 정균제(bacteriostatic)이다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 살균제이다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 그람 양성 박테리아에 의한 감염 및/또는 이와 관련된 임의 질환을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물을 사용하여 그람 음성 박테리아에 의한 감염 및/또는 이와 관련된 임의 질환을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 그람 양성 박테리아 및 그람 음성 박테리아에 의한 감염 및/또는 이와 관련된 임의 질환을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다.
- [0113] 본원에 기술된 조성물을 이용하여 치료 및/또는 예방할 수 있는 박테리아 감염은, 아쿠아스피릴룸 (*Aquaspirillum*) 과, 아조스피리움(*Azospirillum*) 과, 아조토박테레이시아(*Azotobacteraceae*) 과, 박테리오데

이시이(*Bacteroidaceae*) 과, 바르토넬라(*Bartonella*) 종, 브델로비브리오(*Bdellovibrio*) 과, 캄필로박터(*Campylobacter*) 종, 클라미디아(*Chlamydia*) 종 (예, 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumoniae*)), 클로스트리듐(*Clostridium*), 엔테로박테리시이(*Enterobacteriaceae*) 과 (예, 시트로박터(*Citrobacter*) 종, 에드워드시엘라(*Edwardsiella*), 엔테로박터 에어로게네스(*Enterobacter aerogenes*), 에르위니아(*Erwinia*) 종, 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 하프니아(*Hafnia*) 종, 클렙시엘라(*Klebsiella*) 종, 모르가넬라(*Morganela*) 종, 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*), 프로비덴시아(*Providencia*), 살모넬라(*Salmonella*) 종, 세라티아 마르세센스(*Serratia marcescens*) 및 시겔알 플렉스네리(*Shigella flexneri*)), 가르디넬라(*Gardinella*) 과, 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 할로박테리시이(*Halobacteriaceae*) 과, 헬리코박터(*Helicobacter*) 과, 레지오날레이시이(*Legionellaceae*) 과, 리스테리아(*Listeria*) 종, 메틸로코케이시이(*Methylococcaceae*) 과, 미코박테리아 (예, 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*)), 네이세리이시이(*Neisseriaceae*) 과, 오셔노스피릴룸(*Oceanospirillum*) 과, 파스테렐레이시이(*Pasteurellaceae*) 과, 뉴모코커스(*Pneumococcus*) 종, 슈도모나스 종, 리조비에이시이(*Rhizobiaceae*) 과, 스피릴룸(*Spirillum*) 과, 스피로소메이시이(*Spirosomaceae*) 과, 스타로코커스 (예, 메티실린 내성의 스트렙토코커스 아우레우스 및 스타필로코커스 피로게네스), 스트렙토코커스 (예, 스트렙토코커스 엔테리디티드(*Streptococcus enteritidis*), 스트렙토코커스 패시애(*Streptococcus fasciae*) 및 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)), 밤피로비브리오 헬리코박터(*Vampirovibr Helicobacter*) 과, 및/또는 밤피로비브리오(*Vampirovibrio*) 과의 박테리아에 의한 감염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기한 박테리아에 의한 감염과 관련되거나 상기한 박테리아에 의해 야기되는 질환 역시 본원에 기술된 조성물을 이용하여 예방 및/또는 치료할 수 있다.

[0114] 본원에 기술된 조성물을 이용하여 치료 및/또는 예방할 수 있는 박테리아 감염은, 아래 속에 속하는 박테리아에 의한 감염을 포함한다: 보르데텔라(*Bordetella*), 보렐리아(*Borrelia*), 브루셀라(*Brucella*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 클라미디아(*Chlamydia*), 클라미도필리아(*Clamidophylia*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 코리네박테리움(*Corynebacterium*), 엔테로코커스(*Enterococcus*), 에스케리치아(*Escherichia*), 프랜시셀라(*Francisella*), 헤모필러스(*Haemophilus*), 헬리코박터(*Helicobacter*), 레지오넬라(*Legionella*), 랩토스피라(*Leptospira*), 리스테리아(*Listeria*), 미코박테리움(*Mycobacterium*), 마이코플라스마(*Mycoplasma*), 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 리케차(*Rickettsia*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 스타필로코커스(*Staphylococcus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 트레포네마(*Treponema*), 비브리아(*Vibria*) 및 예르시니아(*Yersinia*). 특정 구현예에서, 상기한 박테리아에 의해 야기되거나 상기한 박테리아에 의한 감염과 조합된 질환도 본원에 기술된 조성물을 이용하여 예방 및/또는 치료할 수 있다.

[0115] 본원에 기술된 조성물을 이용하여 치료 및/또는 예방할 수 있는 박테리아 감염은 하기 중에 속하는 박테리아에 의한 감염을 포함한다: 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 보르데텔라 퍼투스시스(*Bordetella pertussis*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus*), 브루셀라 카니스(*Brucella canis*), 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis*), 브루셀라 수이스(*Brucella suis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumonia*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*), 클라미도필라 프사이탁시(*Clamidophila psittaci*), 클로스트리듐 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리듐 디피쿨(*Clostridium difficile*), 클로스트리듐 퍼프린겐스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 코리네박테리움 디프테리에(*Corynebacterium diphtheriae*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움(*Enterococcus faecium*), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 프랜시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*), 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 랩토스피라 뉴모필라(*Leptospira pneumophila*), 랩토스피라 인테로간스(*Leptospira interrogans*), 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), 미코박테리움 레프라이(*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumoniae*), 네이세리아 고노레에(*Neisseria gonorrhoeae*), 네이세리아 메닝기티데스(*Neisseria meningitides*), 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*), 살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소네이(*Shigella sonnei*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코커스 아갈락티애(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumonia*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*), 비브리아 콜레라(*Vibria cholerae*), 및 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*).

특정 구현예에서, 상기한 박테리아에 의해 유발되거나 상기한 박테리아에 의한 감염과 관련된 질환도 본원에 기술된 조성물을 이용하여 예방 및/또는 치료할 수 있다.

[0116] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 호기성 박테리아에 의한 감염 및/또는 이와 관련된 질환을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다. 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 혐기성 박테리아에 의한 감염 및/또는 이와 관련된 질환을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다.

[0117] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 슈도모나스 에어루지노사 감염을 치료 및/또는 예방하는데 사용된다. 슈도모나스는 블루-그린 색소 피오시아닌을 생산하며 특징적인 달콤한 냄새를 발하는 임상 분리물들, 흙, 물, 기타 습한 환경, 식물 및 동물에서 발견되는 그람 음성의 호기 박테리아이다. 슈도모나스 에어루지노사는 비노기 감염, 폐렴, 호흡계 감염, 피부염, 연조직 감염, 박테리아혈증, 골과 관절의 감염, 위장 감염 및 다양한 전신 감염을 야기하는 것으로 알려져 있다. 이는 감염의 주된 요인, 특히 화상 환자, 낭성 섬유증 환자, 면역억제된 환자 (예, AIDS 및 암 환자) 및 1주일 이상 병원에 입원한 환자에서의 주된 감염 요인인 것으로 알려져 있다. 이 균주는 비제한적으로 폐렴, 비노기 감염 및 박테리아 혈증 등의 병원내 감염의 흔한 요인이다. 이러한 감염들 중 한가지 또는 모두는 본원에 기술된 조성물로 예방 및/또는 치료할 수 있다.

[0118] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 스타필로코커스 감염, 특히 스타필로코커스 아우레우스 감염을 치료 및/또는 예방한다. 본 구현예와 본원에 기술된 다른 구현예들에서 sNAG 나노섬유 조성물의 사용은, 내성 유기체의 출현을 방지할 뿐만 아니라 박테리아 감염을 항생제와는 독립적으로 제거 가능하게 한다.

[0119] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 하나 이상의 항생제에 대해 내성인 박테리아를 격퇴할 수 있다. 예컨대, 본원에 기술된 조성물은 하나 이상의 항생제에 내성인, 예컨대, MRSA (메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스), VRSA (반코마이신-내성 스타필로코커스 아우레우스), VRE (반코마이신-내성 엔테로코커스), 페니실린-내성 엔테로코커스, PRSP (페니실린-내성 스트렙토코커스 뉴모니아), 이소니아지드/리팜핀-내성 미코박테리움 누베르콜로시스 및 기타 항생제-내성 박테리아 균주 (예, 에스케리치아 콜라이, 살모넬라, 캄필로박터 및 스트렙토코쿠스에 내성 균주들)와 같은 기존 항생제에 내성인 박테리아를 치료하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 다약제 내성 박테리아를 치료할 수 있다.

[0120] 일부 구체적인 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 메티실린-내성의 스타필로코커스 아우레우스를 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다 ("MRSA"; 이는 또한 다약제 내성의 스타필로코커스 아우레우스 또는 옥사실린-내성 스타필로코커스 아우레우스 ("ORSA")로 칭해질 수 있음). MRSA는, 비제한적으로 페니실린류 (페니실린, 메티실린, 디클록사실린, 나프실린, 옥사실린 등) 및 세파소스포린을 포함하는, β -락탐 항생제에 대해 내성이 발현된 임의의 스타필로코커스 아우레우스 균주이다. 공지된 MRSA들 중 일부는, 에리트로마이신 및 시프로플록사신에 대해 내성인, EMRSA15 및 EMRSA16 (또한, MRSA252로도 알려져 있음); CC8 (또한, ST8:USA300이라고도 함); ST1:USA400; ST8:USA500; ST59:USA1000; ST93 균주; ST80 균주; 및 ST59 균주를 포함한다. MRSA는 인간에서 가장 일반적인 감염증의 원인이다. MRSA는 심각한 건강상의 문제이며, 스타필로코커스 감염과 관련된 건강-관리의 약 50%를 야기한다. 미국에서, 94,000명 이상의 사람들에서 심각한 MRSA가 발생되고 있으며, 약 19,000명이 해마다 감염으로 사망하고 있다. 특히 유행하는 MRSA는 병원에 존재하며, MRSA 감염의 위험 요인은 이전 항생제 노출 (예, 퀴놀론 항생제), 집중 치료 유닛에 수용, 수술 및 MRSA-집락이 기생하는 환자에서의 노출을 포함한다. 개방형 상처를 가진 환자, 면역약화된 환자 (예, HIV/AIDS, 암, 이식 시술, 중증 천식이 원인임), 나이 어린 어린이 (예, 유아 및 소아), 및 노년층 (예, 나이든 사람)은 MRSA 감염이 발생할 위험성이 높다. 또한, MRSA 감염에 대한 보다 높은 위험성은 주사 약물 사용자, 당뇨병 환자, 피부과 병태를 가진 환자, 침습성 디바이스 (예, 혈관내 카테터)를 사용하는 환자, 및 한정된 공간 (감옥 입소자, 군인, 장기간 건강관리 시설, 예컨대 사설 요양원에 거주한 환자)에서 시간을 보내는 건강 관리 종사자 및 그의 사람들에서 관찰된다. 호흡기, 개방형 상처, 정맥내 카테터 및 비노기 이외의 영역도 감염 가능성이 있지만, 스타필로코커스 아우레우스는 대부분 흔히 전비공(콧구멍)에서 균락을 형성한다. 공동체-관련 MRSA 대부분은 피부와 연조직에 국한된다. MRSA의 시작 증상은 뾰루지와 비슷한 붉은색 혹, 거미 물린 자국 또는 열과 발진을 수반할 수 있는 종기를 포함하며, 혹은 이후에 고름이 찬 혹으로 진행될 수 있다. 공동체-관련 MRSA의 공통된 증상은 피사성 근막염 또는 화농성 근염, 피사성 폐렴, 감염성 심내막염, 뼈 또는 관절의 감염 등의 피부 감염이다. 일부 MRSA는 패혈증 및 독성 쇼크 증후군을 야기하는데, 이러한 균주(예, PVL, PSM)가 가지고 있는 독소가 원인일 수 있다. MRSA는 결합 조직염을 야기할 수 있다. 당해 기술 분야에 공지되거나 상기에 열거된 MRSA 균주, MRSA로 진단된 환자, MRSA의 증상, MRSA 위험성이 있는 환자 집단 및/또는 MRSA와 관련된 질환 중 임의의 것은 본원에 기술된 조성물로 치료할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 MRSA의 증상 한가지 이상의 개

시 또는 진행을 예방하거나, 또는 이들 증상들 (예, 본원에 기술된 증상들) 중 한가지 이상의 지속 기간 및/또는 중증도를 낮춘다.

[0121] 본원에 기술된 조성물은 원치않는 박테리아를 사멸시키거나 또는 손상을 입히기 위해 살세균제로서 사용할 수 있다. 예컨대, 본원에 기술된 조성물은, 확립된 박테리아 감염을 박테리아 감염의 예방을 위해 예방학적으로 치료하는데 사용할 수 있거나, 또는 감염되기 위한 개체의 부위나 박테리아가 증식할 가능성이 높은 부위 (예, 잇몸, 개방형 상처, 욕창, 질 부위 또는 서혜부)인 신체 부위에 국소적으로 투여할 수 있다.

[0122] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 증식 및/또는 박테리아 생존을 약 0.1 log, 0.2 log, 0.25 log, 0.3 log, 0.4 log, 0.5 log, 0.6 log, 0.7 log, 0.75 log, 0.8 log, 0.9 log, 1 log, 1.25 log, 1.5 log, 1.75 log, 2 log, 2.25 log, 2.5 log, 2.75 log, 3 log, 3.25 log, 3.5 log, 3.75 log, 4 log, 4.5 log, 5 log, 5.5 log, 6 log, 6.5 log, 7 log, 7.5 log, 8 log, 8.5 log, 9 log, 9.5 log, 10 log, 10.5 log, 11 log, 11.5 log, 12 log, 12.5 log, 13 log, 13.5 log, 14 log, 14.5 log, 또는 15 log의 콜로니 형성 단위 (CFU)/mL 이상으로 감소시킨다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 증식 및/또는 박테리아 생존을, 약 0.2 log - 15 log, 0.2 log - 10 log, 0.2 log - 5 log, 0.5 log - 15 log, 0.5 log - 10 log, 0.5 log - 5 log, 0.5 log - 3 log, 1 log - 15 log, 1 log - 12 log, 1 log - 10 log, 1 log - 7 log, 1 log - 5 log, 1 log - 3 log, 1.5 log - 5 log, 2 log - 15 log, 2 log - 10 log, 2 log - 5 log, 3 log - 15 log, 3 log - 10 log, 3 log - 5 log, 4 log - 10 log, 2 log - 8 log, 3 log - 8 log, 4 log - 8 log, 2 log - 7 log, 3 log - 7 log, 2 log - 6 log의 콜로니 형성 단위 (CFU)/mL로, 및 이들 수치 간의 임의 수치로 감소시킨다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 증식 및/또는 박테리아 생존을, 1×10^{10} , 0.5×10^{11} , 1×10^{11} , 1.5×10^{11} , 2×10^{11} , 2.5×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 7×10^{11} , 1×10^{12} , 1.5×10^{12} , 2×10^{12} , 3×10^{12} , 5×10^{12} , 7×10^{12} , 8×10^{12} , 1×10^{13} , 1.5×10^{13} , 또는 2×10^{13} (CFU)/mL로 또는 그 이상으로, 또는 이들 수치 간의 임의 범위로 감소시킨다. 일부 구현예들에서, 이러한 박테리아 증식 및/또는 생존의 감소는, sNAG 나노섬유 조성물을 1회 적용/투여 또는 다회 적용/투여로 박테리아 감염을 치료한 후, 약 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 12시간, 15시간, 18시간, 20시간, 22시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간, 72시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 7일, 10일, 1주일, 2주일, 3주일, 4주일, 1달 또는 2달 이내에 달성된다.

[0123] 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물로 치료할 감염은 바이러스 감염, 진균 감염, 기생충 감염 또는 효모 감염이 아니다.

[0124] 박테리아 감염과 관련된 다양한 질환들 또는 질환 병태들은 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물로 치료 및/또는 예방할 수 있다 (예, 하기 5.4.2 항목 참조). 일 구현예에서, 기존재하는 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환의 치료 방법도 고려된다.

[0125] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 상처를 치유할 수 있다 (하기 5.4.1 항목 참조). 구체적인 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 박테리아에 감염된 상처를 치료한다. 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 상처의 박테리아 감염을 예방한다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 이용하여 상처 감염과 관련된 것으로 공지된 박테리아를 치료하며, 구체적으로 이를 이용하여 스태필로코커스 아우레우스/MRSA, 스트렙토코커스 피로게네스, 엔테로코키 및/또는 슈도모나스 에우루지노사 감염 및 이러한 감염과 관련된 질환을 치료한다.

[0126] 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상처 치료에 사용되지 않는다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 만성 상처 치료에 사용되지 않는다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 화상 상처 치료에 사용되지 않는다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 수술 상처 치료에 사용되지 않는다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 만성 상처, 화상 상처 및 외과적 상처 치료에 사용되지 않는다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상처 및/또는 화상 치료에 사용되지 않는다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 비-감염 상처 치료에 사용되지 않는다.

[0127] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아에 감염된 상처 치료에 사용되지 않는다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상처와 관련된 박테리아 감염 또는 상처에 의해 야기되는 박테리아 감염의 치료에 사용되지 않는다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 스태필로코커스 아우레우스/MRSA, 스트렙토코커스 피로게네스, 엔테로코키 및/또는 슈도모나스 에우루지노사 등의 상처 감염과 관련된 것으로 공지된 박테리아

의 치료에 사용되지 않는다.

- [0128] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 다양한 박테리아 감염과, 상처와 관련없는 박테리아 감염에 의해 야기되거나 박테리아 감염과 관련된 질환을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다 (하기 5.4.2 항목 참조).
- [0129] 특정 구현예들에서, 박테리아 감염과 관련된 질환의 치료는, 유익하거나 치료학적 효과를 수득하거나 또는 질환을 치료하기 위해, 본원에 기술된 조성물들 중 하나를 개체에 또는 개체의 집단에게 투여하는 것을 포함한다. 구체적인 구현예들에서, 이러한 치료는 개체 또는 개체 집단에서 아래 효과들 중 한가지, 2가지, 3가지, 4가지, 5가지 또는 그 이상을 달성한다: (i) 질환 또는 질환과 관련된 증상의 중증도를 경감 또는 완화; (ii) 질환 또는 이와 관련된 증상의 지속 기간 단축; (iii) 질환 또는 질환과 관련된 증상의 진행 방지; (iv) 질환 또는 질환과 관련된 증상의 경감; (v) 관련 증상의 발생 또는 개시의 예방; (vi) 관련 증상의 재발 예방; (vii) 개체 또는 개체 집단에서 다른 개체 또는 개체 집단으로의 질환 전파 예방 또는 감소; (viii) 질환 관련 장기 부전의 경감; (ix) 입원을 감소; (x) 입원 기간 단축; (xi) 생존율 증가; (xii) 질환의 해소; (xiii) 다른 요법의 예방학적 또는 치료학적 효과(들)의 강화 또는 개선; (xiv) 당해 기술 분야에 잘 알려진 방법, 예, 설문 조사에 의한 평가시 삶의 질 개선; (xv) 질환의 증상의 수 감소; 및/또는 (xvi) 사망을 감소. 일부 구현예들에서, 치료는 본원에 기술된 조성물을 이용한 임의의 요법을 포함한다.
- [0130] 일부 구현예들에서, 박테리아 감염의 치료는, 박테리아 감염 또는 박테리아 감염의 증상을 치료하기 위해, 본원에 기술된 조성물들 중 하나를 개체 또는 개체의 집단에 투여하는 것을 포함한다. 구체적인 구현예들에서, 이러한 치료는 개체 또는 개체 집단에서 아래 효과들 중 한가지, 2가지, 3가지, 4가지, 5가지 또는 그 이상을 달성한다: (i) 박테리아 감염의 소거; (ii) 박테리아 감염과 관련된 한가지 이상의 증상의 박멸, (iii) 박테리아 감염 소거에 필요한 시간 단축; (iv) 박테리아 감염의 중증도 및/또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 중증도의 약화 또는 완화; (v) 박테리아 감염 및/또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 지속 기간 단축; (vi) 박테리아의 내성 균주 또는 균주들의 발생 예방 또는 지연, 또는 발생된 박테리아의 내성 균주의 수 감소; (vii) 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 재발 방지; (viii) 박테리아 세포 집단의 감소 또는 소거 (예, 당해 기술 분야에 공지되거나 본원에 기술된 방법들 중 한가지에 의한 CFU/mL 또는 log 감소로 측정되는, 예컨대 환자 생물 샘플에서의, 박테리아 수 감소); (ix) 개체의 병원입원을 감소; (x) 입원 기간 단축; (xi) 개체의 생존율 증가; (xii) 다른 요법의 치료학적 효과 강화 또는 향상; (xiii) 사망을 감소; (xiv) 한 개체에서 다른 개체로, 또는 하나의 장거나 조직에서의 다른 장거나 조직으로의 박테리아 전파 감소 또는 차단; (xv) 박테리아의 수적 증가 방지; (xvi) 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 발생 또는 개시 예방; (xvii) 박테리아 감염과 관련된 증상의 수 감소; (xviii) 박테리아 감염과 관련된 박테리아 독소 또는 독소들의 생산 저해 또는 감소; (xix) 박테리아 감염과 관련된 염증의 안정화 또는 경감; (xx) 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환으로 인한 장기 부전의 경감; 및/또는 (xxi) 당해 기술 분야에 잘 알려져 있는 방법, 예컨대, 설문 조사에 의한 평가시 삶의 질 향상.
- [0131] 특정 구현예들에서, 개체에 본원에 기술된 조성물의 투여로 다음과 같은 한가지 이상이 이루어진다: (i) 하나 이상의 디펜신 단백질 및/또는 디펜신-유사 단백질의 발현 유도; (ii) 하나 이상의 Toll-유사 수용체의 발현 유도; 및/또는 (iii) 박테리아 감염 또는 이와 관련된 한가지 이상의 증상의 소거 또는 경감에 유익한, 한가지 이상의 단백질의 발현 유도.
- [0132] 특정 구현예들에서, 박테리아 감염의 예방은 하기 효과들 중 한가지 이상을 달성하기 위해 개체 또는 개체 집단에 본원에 기술된 조성물들 중 한가지를 투여하는 것을 포함한다: (i) 박테리아 감염 또는 박테리아 감염 관련 증상의 발생 또는 개시 저해; 및/또는 (ii) 박테리아 감염 또는 박테리아 감염 관련 증상의 재발 저해.
- [0133] 다른 구현예들에서, 박테리아 감염의 예방은 박테리아 감염과 관련된 질환을 예방하기 위해 개체 또는 개체 집단에 본원에 기술된 조성물들 중 하나를 투여하는 것을 포함한다. 구체적인 구현예들에서, 상기한 예방으로 개체 또는 개체 집단에서 하기 효과들 중 한가지 이상을 달성한다: (i) 박테리아 감염 관련 질환 또는 이의 증상의 발생 또는 개시 저해; 및/또는 (ii) 박테리아 감염 관련 질환 또는 이와 관련된 증상의 재발 저해.
- [0134] **5.4.1 상처에서의 박테리아 감염의 치료 또는 예방**
- [0135] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은, 임의의 신체 조직에 작용하는 박테리아에 감염된 매우 다양한 상처를 치료 또는 박테리아로 감염될 위험이 있는 상처의 감염을 예방하는데 유용할 수 있다.
- [0136] 2가지 타입의 개방형 또는 폐쇄형 상처가 있다. 개방형 상처는 상처를 야기하는 물체에 따라 분류된다. 예컨대, 절개 또는 절개된 상처 (수술 상처 포함)는 나이프, 면도칼 또는 유리 스플린터 등의 깨끗하고 끝이 날카로

운 물체에 의해 만들어진다. 열상은 경조직 위에 있는 연조직에 무딘 충격에 의해 발생된 부정형의 상처 (예, 두개골 위를 덮고 있는 피부의 열상), 또는 분만에 생기는 것과 같이 피부나 기타 조직이 찢어진 것이다. 찰과상과 까진 상처는 피부의 최상층 (상피)가 벗겨진 표재 상처이다. 자창은 손톱이나 바늘 등의 피부에 자창을 만드는 물체에 의해 생긴다. 관통상은 신체를 찌르는 나이프와 같은 물체에 의해 생긴다. 총상은 총알 또는 유사 추진체가 체내로 (예, 사입구(entry wound)) 및/또는 신체를 통과 (예, 사출구(exit wound))함으로써 생긴다. 의학적 측면에서, 모든 자상 및 총상은 개방형 상처로 간주된다. 또한, 개방형 상처는 열, 화학적 또는 전기적 상해에 의해 유발되는 화상도 포함한다. 폐쇄형 상처는 타박상 (보다 일반적으로는 피부 아래 조직을 손상시키는 둔기에 의한 멍), 혈종 (또한, 혈관에 대한 손상에 의해 생기는 혈액 종양(blood tumor)으로도 지칭됨), 및 (장기간에 걸쳐 적용되는 상당한 또는 극심한 힘에 의해 생기는) 압좌 손상 (crushing injur)을 포함한다.

[0137] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아로 감염된 개방형 상처를 치료 또는 개방형 상처에서의 박테리아 감염을 예방하는데 사용된다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 총상, 자창 및/또는 관통상의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 수술 후 박테리아 감염, 수술 부위의 박테리아 감염, 카테터 관련 박테리아 감염 또는 투석 관련 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 개방형 상처, 총상, 자창 및/또는 관통상에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용되지 않는다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 수술 후 박테리아 감염, 수술 부위의 박테리아 감염, 카테터 관련 박테리아 감염 또는 투석 관련 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용되지 않는다.

[0138] 일부 구현예들에서, 상처는 만성 상처이다. 만성 상처는 외과 상처 (예, 피부 이식 공여 부위), 피부 궤양 (예, 당뇨병성 궤양, 정맥 정체성 궤양, 다리 궤양, 동맥 기능부전 궤양(arterial insufficiency ulcer) 또는 압박 궤양) 또는 화상 등의, 적절하게 치유되지 못한 임의의 상처일 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 만성 상처 감염 (당뇨병성 궤양, 정맥 정체성 궤양, 다리 궤양, 동맥 기능부전 궤양, 압박 궤양, 외과 상처 또는 화상과 관련된 감염)을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 만성 상처의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용되지 않는다 (예, 당뇨병성 궤양, 정맥 정체성 궤양, 다리 궤양, 동맥 기능부전 궤양, 압박 궤양, 외과 상처 또는 화상과 관련된 박테리아 감염을 예방하는데 사용되지 않음).

[0139] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 병원내 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 병원내 박테리아 감염 중에서, 외과 상처의 박테리아 감염이 주를 이루며, 모든 수술 환자에서의 통계는 최대 8%이다. 여러가지 타입의 감염증에 대한 직접 비용은 해마다 약 450억 달러에 달한다. 다수의 병원성 박테리아 (hospital-contracted bacteria)에서는 항생제 내성이 발생되어, 따라서 비-항생제성 치료가 바람직하다. 본원에 기술된 sNAG 조성물을 병원 현장에 사용함으로써, 많은 비용을 부담하여, 항생제 내성 종들의 발생을 현저하게 낮출 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 외과 박테리아 감염 등의 병원내 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다.

[0140] 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 출혈성 상처 (예, 출혈성 표면 상처)에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 총상, 자창, 관통상 또는 외과 상처에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하기 위해, 상기한 상처를 치료하는데 사용할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 출혈성 상처 (예, 출혈성 표면 상처)에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용되지 않는다.

[0141] 본원에 기술된 조성물은 피부의 상피 또는 진피층에 발생하는 상처 뿐만 아니라 각막 및 상피가 덧대어 있는 장기에서의 상해 등의 피부 상처에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용하여, 이러한 상처에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방할 수 있다. 상처는 절개, 마찰, 불, 화학적 노출, 외과 시술 (예, 수술 절개, 피부 이식) 등의 매우 다양한 신체 외상에 의해 생길 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 눈의 상피층, 기질층 및 내피층에서 발생하는 상처 등의 각막 및 공막의 상처에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하기 위해, 이러한 상처를 치료하는데 사용할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 피부 상처에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데에는 사용되지 않는다.

[0142] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염으로 진단된 환자의 상처 치료에 사용할 수 있다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물이 박테리아에 의해 감염된 상처를 치료하는데 사용되는 경우, 상처는 박테리아 항원의 존재에 대한 테스트 또는 분석에 의해 박테리아 감염된 것으로 확인한다. 일 구현예에서, 상

처 배양은 환자의 상처에서의 박테리아 감염을 검출하기 위해 수행한다. 또 다른 구현예들에서, 상처는 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상의 존재에 의해 감염된 것으로 결정된다.

[0143] 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 다음과 같은 한가지 이상의 박테리아 감염 증상이 환자에서 나타날 때, 환자에서 상처를 치료하는데 사용할 수 있다: 상처가 천천히 치유됨; 상처 부위의 열, 발적 및/또는 부어오름; 상처 부위의 민감성; 상처 부위에서의 체액 또는 고름 배액; 및/또는 열. 상처의 박테리아 감염 증상은, 국소 홍반, 국소 통증, 국소 열, 봉소염, 부종, 농양, 끈적한 변색된 화농성일 수 있는 삼출, 상처 치유 지연, 상처 안쪽 및 가장자리 둘다에서의 조직의 변색, 취약성(friable), 출혈성 과립 조직(bleeding granulation tissue), 상처 부위에서의 이취 발생, 드레싱 교체 부위에서의 예상하지 못한 통증 및/또는 민감성, 림프관염(즉, 상처에서 기원하여, 질환에 걸린 부위에서 배액하는 압통 림프선의 팽창을 유도하는 붉은선), 및 상처의 기저부에서 상처 포켓팅/브릿지 연결성 상처와 관련된 분리 상처(wound breakdown) (즉, 상처 기저부 전체에 과립 조직이 일정하게 전파되는 것과는 반대로, 기저부에서 과립 조직의 스트립이 발생된 상처)를 포함하나, 이로 한정되지 않는다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기에서 열거한 한가지 이상의 증상 개시 또는 발생을 예방하거나, 이러한 한가지 이상의 증상의 지속 기간 및/또는 중증도를 낮춘다.

[0144] 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상처의 박테리아 감염의 상처 치유 및 치료, 또는 상처 박테리아 감염의 상처 치유 및 예방을 위해 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상처 박테리아 감염을 동시에 치료 또는 예방하면서 상처 치유를 강화하기 위해 사용된다. sNAG 나노섬유 조성물의 상처 치유에 대한 효과 및 상처 치유 적용에서의 일부 sNAG 나노섬유의 용도는 미국 특허 공개번호 2009/0117175에 기술되어 있으며, 문헌의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다 (예, 실시예 2).

[0145] **5.4.2 기타 박테리아 감염의 치료 또는 예방**

[0146] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은, 피부, 위장관, 호흡관, 비뇨기, 생식기관, 혈액, 목, 귀, 눈, 동(sinus) 또는 임의의 신체 기타 장기 또는 조직에서의 박테리아 감염을 치료 및/또는 예방하기 위해 사용할 수 있다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은 피부 병태, 위장 병태, 호흡기 병태 및/또는 박테리아 감염과 관련된 임의의 기타 장기 또는 조직의 병태를 치료 및/또는 예방하기 위해 사용할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은 박테리아 감염을 치료 또는 예방하기 위해 환자의 피부, 입, 귀, 눈, 항문 또는 서혜부에 국소 적용한다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상처 부위가 아닌 및/또는 상처와 관련되거나 상처에 의해 야기되지 않는, 신체의 장기 또는 조직에서의 박테리아 감염을 치료 및/또는 예방하기 위해 사용할 수 있다.

[0147] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은 기존재하는 박테리아 감염을 치료하는데 사용한다. 예컨대, 이러한 조성물은 본원에 기술되거나 당해 기술 분야에 공지된 테스트들 중 한가지 등의 테스트 또는 분석에 의해 박테리아 감염으로 진단된 개체를 치료하는데 사용할 수 있다. 다른 예에서, 상기한 조성물은, 당업자에게 공지되거나 (예, 치료의/의사에 의해 박테리아 감염 증상인 것으로 결정됨) 및/또는 본원에 기술된 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상 등의, 박테리아 감염과 관련된 질환 또는 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상을 나타내는 환자를 치료하는데 사용할 수 있다.

[0148] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 미생물총의 불균형과 관련된 병태, 또는 박테리아 미생물총 이상 또는 변형과 관련된 병태를 치료하는데 사용된다. 예컨대, 상기 조성물은 대조군 개체 (예, 피부 병태 증상이 없음 개체)와 피부 박테리아 미생물총이 상이한 환자의 피부 병태를 치료하는데 사용할 수 있다. 즉, 상기 조성물은, 대조군 개체 (예, 장 병태 증상이 없음 개체)와 장 박테리아 미생물총 (또는 다른 조직 또는 장기의 미생물총)이 상이한 환자의 장 병태를 치료하는데 사용할 수 있다.

[0149] 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염에 의해 악화되거나 이와 관련된 것으로 공지된 임의의 질환 (예, 여드름)을 치료하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 슈도모나스 에어루지노사로 감염된 낭성 섬유증 환자를 치료하는데 사용할 수 있다.

[0150] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아에 의해 분비 또는 배출되는 독소에 대해 유효하다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 독소 (및/또는 박테리아 독소에 의해 야기되는 병태 또는 증상), 예컨대 바실러스 안트라시스, 클로스트리듐 디피실, 코리네박테리움 디프테리아, 슈도모나스 에어루지노사에 의해 생산되는 독소; 내독소 및/또는 사이톨리신(cytolysin)을 저해/감소시키는데 사용할 수 있다. 일부 디펜신은 바실러스 안트라시스, 클로스트리듐 디피실, 코리네박테리움 디프테리아, 슈도모나스 에어루지노사에 의해 생산되는 독소 및 사이톨리신 (적혈구 세포를 용혈시키는 그람 양성 세균에 의해 생산되는 내독소) 등의

박테리아 독소를 저해할 수 있다. 이러한 디펜신의 기능을 감안하면, 디펜신 발현 및 분비를 발생시키는 경로의 활성화는 박테리아 감염을 항생제-독립적인 소거시킬 수 있으며, 따라서 박테리아 내성 발생을 방지할 수 있다.

[0151] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 피부의 한가지 이상의 박테리아 감염, 또는 박테리아 감염과 관련된 피부의 질환들을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 국소 피부 감염 및/또는 확산된 피부 감염을 치료하는데 사용한다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 피부의 상피, 진피 및/또는 피하(하피) 조직에 침범하는 박테리아 감염과 관련된 피부의 질환 또는 피부 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 이들 중 일부 구현예들에서, 피부의 질병이 발생한 층으로는, 상피의 하나 이상의 층들(즉, 배아층(stratum basale), 유극층(stratum spinosum), 과립층(stratum granulosum), 투명층(stratum lucidum) 및 각질층(stratum corneum)), 진피의 한가지 이상의 타입의 조직(즉, 콜라겐, 엘라스틴 조직 및 세망 섬유), 진피의 하나 이상의 층(즉, 상부 유두층 및 하부 망상층); 및/또는 하피의 한가지 이상의 타입의 조직(즉, 지방, 엘라스틴 및 연결 조직)을 포함한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 피부 표면에서의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 피부의 스태필로코커스("Staph") 감염 및/또는 피부의 스트렙토코커스("Strep") 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 피부의 스태필로코커스 알부스(*Staphylococcus albus*) 및/또는 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 감염을 치료하는데 사용된다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 봉소염, 농가진, 모낭염, 홍색염, 옹, 종기, 농양, 단독 및/또는 피부 욕을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 봉소염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 봉소염은 심부 진피와 피하 조직에서 발생되며, 일반적으로 얼굴, 팔 및 다리에서 발생하며, 대부분은 박테리아 감염을 일으키는 피부 파괴로 인해 항상 발생된다. 봉소염의 증상으로는, 피부가 파괴된 주위로 피부의 부어오름, 통증, 민감성, 물질의 표면 신호, 림프절 간의 붉은 선, 열 및 오한 중 한가지 이상이 있다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 머리 모낭에서의 피부의 박테리아 감염(예, 모낭염)을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 모낭염의 증상으로는 부어오름, 모발 주변의 농포, 경결절 및 통증이 있다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 여드름 치료 또는 예방에 사용할 수 있다. 여드름 출현은 흔한 박테리아 감염 증상이다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염과 관련되거나 박연으로 인한 피부염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기 열거된 증상들 중 한가지 이상의 개시 또는 발병을 예방하거나, 또는 이들 증상들 중 한가지 이상의 지속 기간 및/또는 중증도를 낮춘다.

[0152] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염과 관련된 위장 질환 또는 한가지 이상의 장/소화기 박테리아 감염을 치료 및/또는 예방하는데 사용할 수 있다. 장에서의 박테리아 감염의 공통된 형태는 살모넬라, 시겔라, 에스케리치아 콜라이, 클로스트리듐, 스태필로코커스, 리스테리아 및 에르시니아이다. 이들 박테리아는 설사와 위장염이라고 하는 위와 장에 염증을 야기한다. 장에서의 박테리아 감염의 증상으로는, 복부 경련과 통증, 혈변, 식욕 부진, 때로 구토를 동반한 구역질, 열 및 설사가 있으나, 이로 한정되지 않는다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 대개 박테리아 감염과 관련있는 한가지 이상의 식중독 증상을 나타내는 환자의 치료에 사용된다.

[0153] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 *Staph* 감염(예, 스태필로코커스 아우레우스 감염)과 관련된 질환의 치료에 사용할 수 있다. 일부 이들 구현예에서, 상기 질환은 피부, 코, 입 및/또는 생식기 부분의 *Staph* 감염이다. 일부 구현예들에서, 질환은 폐렴, 수막염, 심내막염, 독소성 쇼크 증후군 및/또는 패혈증이다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 한가지 이상의 항생제에 내성인 *Staph* 박테리아, 예컨대 메티실린 내성 *Staph aureus* ("MRSA")를 치료하는데 사용할 수 있다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 *Staph* 감염으로 진단된 개체 또는 한가지 이상의 *Staph* 감염의 증상을 나타내는 개체에 투여된다(예, 붉은색 혹은, 외피가 딱딱한 붉은 색 혹은, 고름이 찬 혹은 농양, 종기, 눈의 다래끼, 물질 및/또는 붉은색의 딱지 생긴 피부, 예로, 코와 입 주변의 붉은색의 딱지 생긴 피부, 또는 독소성 쇼크 증후군 증상 중 한가지 이상의 발현). 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기 열거된 증상들 중 한가지 이상의 개시 또는 발현을 예방하거나, 또는 이들 증상들 중 한가지 이상의 지속 기간 및/또는 중증도를 낮춘다.

[0154] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염과 관련된 감기를 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 예컨대, 본원에 기술된 조성물은 표준 통속 완화 약물 치료의 사용에도 불구하고 낫지 않는 감기를 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 부비강, 귀 또는 목의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 이러한 박테리아 감염의 증상으로는 국소 통증과 부기를 포함한다. 부비강에 박테리아가 감염되면 콧물과 얼굴 또는 이마 중 어느 부분에서 급성 통증이 발생할 수 있다. 일 구현예

에서, 본원에 기술된 조성물은 strep으로 감염된 목 (스트렙토코커스 피오게네스)을 치료하는데 사용된다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기 열거된 증상들 중 한가지의 개시 또는 발병을 예방하거나, 또는 이들 증상들 중 한가지 이상의 중증도 및/또는 지속 기간을 낮춘다.

[0155] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 생식기, 비뇨기 또는 항문의 박테리아 감염, 또는 박테리아 감염과 관련된 비뇨기 또는 생식기의 질환을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일부 이러한 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염과 관련된 성적 접촉으로 전염되는 질환을 치료하는데 사용할 수 있다. 이러한 감염의 증상으로는, 통증성 배뇨, 혼탁 분비물(cloudy discharge) 및/또는 성교시 통증이 있으나, 이로 한정되는 것은 아니다. 일부 이러한 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 매독, 임질, 클라미디아증, 트리코모나스증을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 클라미디아증을 치료하는데 사용된다. 다른 구현예에서, 본 발명은 임질을 치료하는데 사용된다. 임질의 증상은 국소적 콜반 통증, 소양증 및 과민증, 통증성 배뇨, 진노란색 또는 푸른색의 분비물, 월경 기간 사이의 출혈이다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아의 질 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 박테리아성 질 감염의 증상으로는 질 분비물, 냄새, 질 소양증 및 복부 통증이 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기 열거된 증상들 중 한가지의 개시 또는 발생을 예방하거나, 또는 이들 증상들 중 한가지 이상의 중증도 및/또는 지속 기간을 낮춘다.

[0156] 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 호흡기 감염 (예, 폐의 박테리아 감염), 또는 박테리아 감염과 관련된 호흡기 질환을 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일부 구현예들에서, 이러한 조성물은 상기도 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 일 구현예에서, 상기 조성물은 결핵을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 결핵은 무코박테리움 투베르쿨로시스(mycobacterium tuberculosis)에 의해 발생되며, 기침 또는 타액에 의해 사람에서 사람에게로 전파되는 고감염성 질환이다. 따라서, 본원에 기술된 조성물은 결핵으로 진단받았거나 결핵 증상을 보이는 개체 뿐만 아니라 이들 개체와 접촉한 개체 (예, 가족, 관리인 또는 의료 요원)를 치료하는데 사용할 수 있다. 결핵 증상으로는 각혈, 과도한 체중 감소, 피로, 식욕 부진 및 지속적인 발열이 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 상기 열거된 증상들 중 한가지의 개시 또는 발병을 예방하거나, 또는 이들 증상들 중 한가지 이상의 중증도 및/또는 지속 기간을 낮춘다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 폐렴 및/또는 스트렙토코커스 뉴모니아 감염을 치료하는데 사용된다. 다른 구현예에서, 이러한 조성물은 기관지염을 치료하는데 사용된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 모락셀라 카타르할리스(*Moraxella catarrhalis*), 스트렙토코커스 뉴모니아 및/또는 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenza*)를 치료하는데 사용된다.

[0157] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 점막 (예, 입 점막)의 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 점막의 질환/병태를 치료 또는 예방하는데 사용된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 구강의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 예를 들어, 이러한 조성물은 치은염, 카리에스 및/또는 충치 등의 입 내 박테리아 감염과 관련된 병태를 치료 또는 예방하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 구강 위생 제품에 사용할 수 있다.

[0158] 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 중이 감염과 같은 귀내 박테리아 감염 또는 이러한 감염과 관련된 질환을 치료하는데 사용된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염에 의해 야기되는 중이염의 치료에 사용된다.

[0159] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 심장 판막 및 카테터 등의 이식 보형물의 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는데 사용된다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염을 예방하기 위해 동물에게 물린 상처, 예로 고양이 또는 개에 물린 상처를 치료하는데 사용된다.

[0160] 본원에 기술된 조성물은, 나병 (한센병), 콜레라, 탄저병 (예, 피부 탄저, 폐 탄저, 위장 탄저), 백일해 (pertussis), 서해 육아종, 세균성 질염, 임질, 신생아 안염(thalmia neonatorum), 패혈성 관절염, 매독, 선천성 매독, 백일해(whooping cough), 미코박테리움 아비움 합병증(mycobacterium avium complex), 유티저 (melioidosis), 렙토스피라증(leptospirosis), 과상풍, 성홍열(scarlet fever), strep 감염, 침습성 그룹 A 스트렙토코커스 질환, 스트렙토코커스 독소성 쇼크 증후군, 수막구균 질환, 박테리아혈증, 패혈성 인두염(strep throat), 장티푸스 발열 타입의 살모넬라증(Typhoid fever type salmonellosis), 이질, 대장염, 위장염 및 장염을 동반한 살모넬라증, 세균성 이질, 아메바성 이질, 시겔라증(shigellosis), 디프테리아, 피부 디프테리아, 호흡기 디프테리아, 냉방병, 결핵, 잠복기 결핵, 헤모필러스 인플루엔자 B, 장티푸스 열, 비브리오 파라헤몰리티쿠스(vibrio parahaemolyticus), 비브리오 불니피쿠스(vibrio vulnificus), 비브리오, 예르시니아증, 휘플

질환, 급성 맹장염, 수막염, 뇌염, 농가진, 봉소염, 옹, 종기, 여드름, 패혈증(sepsis), 균혈증(septicemia), 폐렴, 미코플라스마 뉴모니아, 수막구균 질환, 수막염, 워터하우스-프리더리센 증후군(Waterhouse-Friderichsen syndrome), 프토마인 식중독, staph 식중독, 독소성 쇼크 증후군, 괴사성 폐렴, 균혈증, 급성 감염성 심내막염, 땀샘의 감염 (예, 한선염(Hidradenitis suppurativa)), 진드기로 전파되는 박테리아 질환 (예, 로키산열(Rocky Mountain Spotted Fever), 라임병), 보툴리누스 중독(botulism), 페스트 (예, 선 페스트(bubonic plague), 폐렴성 페스트(pneumonic plague)), 야토병, 브루셀라병, 급성 장염, 비임균성 요도염, 성병성 림프육아종(lymphogranuloma venerium), 트라코마, 신생아의 포임소체 결막염(inclusion conjunctivitis of the newborn), 앵무병(psittacosis), 위막성 대장염(pseudomembranous colitis), 가스 괴저병(gas gangrene), 급성 식중독, 설사, 여행자 설사, 유아 설사, 출혈성 대장염, 용혈성-요독증 증후군, 기관지염, 리스테리아증, 혐기성 봉소염, 소화 궤양, 폰티악 열병(Pontiac fever), 방광염, 자궁내막염, 중이염, 부비강염, 스트렙토코커스 인후염(streptococcal pharyngitis), 류마티스성 열(rheumatic fever), 단독(erysipelas), 산욕열(puerperal fever), 괴사성 근막염(necrotizing fasciitis), 병원내 감염(nosocomial infections), 슈도모나스 감염 및/또는 묘소병(cat scratch disease) 등의, 박테리아 감염과 관련된 다양한 질환의 치료 또는 예방에 사용할 수 있으나, 상기한 질환으로 한정되지 않는다.

[0161] **5.5 환자 집단**

[0162] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은 나이브(naive) 개체, 즉, 박테리아 감염되지 않은 개체에 투여할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염될 위험성이 있는 나이브 개체에 투여한다.

[0163] 일 구현예에서, 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은 박테리아 감염으로 진단된 환자에게 투여할 수 있다. 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 한가지 이상의 박테리아 감염 증상을 나타내는 환자에게 투여할 수 있다.

[0164] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염으로 진단된 환자에게 투여한다. 특정 구현예들에서, 환자는 본원에 기술된 조성물로 투여받기 전에 박테리아 감염으로 진단된다. 예컨대, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 항원이 환자로부터 취한 생물 샘플에서 검출되는 경우에 환자에게 투여할 수 있다. 일 구현예에서, 생물 샘플은 본원에 기술된 조성물에 의해 치료할 부위 또는 영역 또는 본원에 기술된 조성물을 투여할 영역으로부터 수득한다. 일 구현예에서, 면봉을 사용하여 박테리아 감염을 검출하기 위해 감염이 의심되는 부위에서 세포 또는 고름을 채집한다. 다른 구현예에서, 유체는 박테리아 감염을 검출하기 위해 감염이 의심되는 부위 (예, 상처)에서 흡입한다. 또 다른 구현예에서, 조직 바이옱시는 박테리아 감염을 검출하기 위해 수행한다. 감염이 의심되는 부위가 상처인 구현예에서, 상처 배양을 수행하여 박테리아 감염을 검출할 수 있다. 다른 구현예에서, 생물 샘플은 환자의 혈액, 뇨, 타액 또는 변으로부터 수득한다. 일부 구현예들에서, 혈액 또는 뇨 검사를 수행하여 박테리아 감염을 검출할 수 있다 (예, 박테리아 감염이 혈액 또는 기타 조직/장기로 전파된 것으로 의심되는 경우). 일부 구현예들에서, 채집 샘플 (예, 세포, 조직 또는 체액)은 한가지 타입 이상의 박테리아의 존재에 대해 PCR과 같은 DNA 검출 방법으로 이용하여 검사한다. 다른 구현예들에서, 면역형광 분석, 혈청 검사, 배양 (예, 혈액 한천 배양) 또는 당해 기술 분야에 공지되거나 및/또는 실시되는 임의의 기타 검사는 박테리아 감염을 실험실에서 진단하는데 사용할 수 있다.

[0165] 다른 구체적인 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염과 관련된 질환으로 진단되거나 또는 이러한 질환의 한가지 이상의 증상을 나타내는 환자에게 투여할 수 있다. 특정 구현예들에서, 환자는 본원에 기술된 조성물을 투여하기 전에, 박테리아 감염과 관련된 질환으로 진단되거나, 또는 박테리아 감염과 관련된 질환의 한가지 이상의 증상을 나타낸다. 박테리아 감염과 관련된 질환은 (본원에 기술된 바와 같이) 환자의 증상의 평가 및/또는 환자 생물 샘플에서의 박테리아 항원의 검출 등의 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 진단할 수 있다. 일 예에서, 본원에 기술된 조성물은 의사 또는 다른 의학 전문가의 처방에 의해 박테리아 감염과 관련된 질환으로 진단된 환자에게 투여할 수 있다. 다른 예로, 환자는 박테리아 감염과 관련된 질환의 한가지 이상의 증상 검출 시 본원에 기술된 조성물을 사용할 수 있다.

[0166] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 감염, 예컨대 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 보르테텔라 퍼투시스(*Bordetella pertussis*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus*), 브루셀라 카니스(*Brucella canis*), 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis*), 브루셀라 수이스(*Brucella suis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 클라미도필라 프사이탁시(*Chlamydia psittaci*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumonia*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*), 클

로스트리듬 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리듬 디피쿨(*Clostridium difficile*), 클로스트리듬 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듬 테타니(*Clostridium tetani*), 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움(*Enterococcus faecium*), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 프랜시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*), 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 렙토스피라 뉴모필라(*Leptospira pneumophila*), 렙토스피라 인테로간스(*Leptospira interrogans*), 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), 모락셀라 카타르할리스(*Moraxella catarrhalis*), 미코박테리움 레프라이(*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumoniae*), 네이세리아 고노레아(*Neisseria gonorrhoeae*), 네이세리아 메닝기티데스(*Neisseria meningitides*), 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 뉴모시스티스 지로벡시(*Pneumocystis jiroveci*), 리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*), 살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소나이(*Shigella sonnei*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 에피데미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코커스 아갈락티아(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*), 비브리아 콜레라(*Vibria cholerae*), 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*) 및/또는 본원에 기술되거나 당해 분야에 공지된 임의의 다른 박테리아 감염에 의한 박테리아 감염으로 진단되어진 환자에게 투여한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 MRSA 또는 슈도모나스 에어루지노사에 의한 박테리아 감염으로 진단된 적 있는 환자에게 투여한다.

[0167] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 감염과 관련된 질환, 예컨대 나병 (한센병), 콜레라, 탄저병 (예, 피부 탄저, 폐 탄저, 위장 탄저), 백일해(pertussis), 서해 육아종, 세균성 질염, 임질, 신생아 안염 (thalmia neonatorum), 폐혈성 관절염, 매독, 선천성 매독, 백일해(whooping cough), 미코박테리움 아비움 합병증(mycobacterium avium complex), 유비저(melioidosis), 렙토스피라증(leptospirosis), 파상풍, 성홍열 (scarlet fever), strep 감염, 침습성 그룹 A 스트렙토코커스 질환, 스트렙토코커스 독소성 쇼크 증후군, 수막구균 질환, 박테리아혈증, 폐혈성 인두염(strep throat), 장티푸스 발열 타입의 살모넬라증(Typhoid fever type salmonellosis), 이질, 대장염, 위장염 및 장염을 동반한 살모넬라증, 세균성 이질, 아메바성 이질, 시겔라증 (shigellosis), 디프테리아, 피부 디프테리아, 호흡기 디프테리아, 냉방병, 결핵, 잠복기 결핵, 헤모필러스 인플루엔자 B, 장티푸스 열, 비브리오 파라헤몰리티쿠스(vibrio parahaemolyticus), 비브리오 볼니피쿠스(vibrio vulnificus), 비브리오, 예르시니아증, 휘플 질환, 급성 맹장염, 수막염, 너염, 농가진, 봉소염, 용, 종기, 여드름, 패혈증(sepsis), 균혈증(septicemia), 폐렴, 미코플라스마 뉴모니아, 수막구균 질환, 수막염, 워터하우스-프리티리센 증후군(Waterhouse-Friderichsen syndrome), 프토마인 식중독, staph 식중독, 독소성 쇼크 증후군, 괴사성 폐렴, 균혈증, 급성 감염성 심내막염, 땀샘의 감염 (예, 한선염(Hidradenitis suppurativa)), 진드기로 전파되는 박테리아 질환 (예, 로키산열(Rocky Mountain Spotted Fever), 라임병), 보툴리누스 중독 (botulism), 페스트 (예, 선 페스트(bubonic plague), 폐렴성 페스트(pneumonic plague)), 야토병, 브루셀라병, 급성 장염, 비임균성 요도염, 성병성 림프육아종(lymphogranuloma venerium), 트라코마, 신생아의 포임소체 결막염(inclusion conjunctivitis of the newborn), 앵무병(psittacosis), 위막성 대장염 (pseudomembranous colitis), 가스 괴저병(gas gangrene), 급성 식중독, 설사, 여행자 설사, 유아 설사, 출혈성 대장염, 용혈성-요독증 증후군, 기관지염, 리스테리아증, 혐기성 봉소염, 소화 궤양, 폰티악 열병(Pontiac fever), 방광염, 자궁내막염, 중이염, 부비강염, 스트렙토코커스 인후염(streptococcal pharyngitis), 류마티스성 열(rheumatic fever), 단독(erysipelas), 산욕열(puerperal fever), 괴사성 근막염(necrotizing fasciitis), 병원내 감염(nosocomial infections), 슈도모나스 감염 및/또는 묘소병(cat scratch disease)으로 진단되어진 환자에게 투여한다.

[0168] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 감염 증상이 발현하기 전 또는 감염 증상이 심각해지기 전에 (예, 환자에게 치료 또는 입원이 필요해지기 전) 박테리아 감염된 환자에게 투여된다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 감염 증상이 발현된 후 또는 감염 증상이 심각해진 후 (예, 환자에게 치료 또는 입원이 필요해진 후) 박테리아 감염된 환자에게 투여된다.

[0169] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 동물이다. 특정 구현예들에서, 동물은 조류이다. 특정 구현예들에서, 동물의 개과 동물이다. 특정 구현예들에서, 동물은 고양이이다. 특정 구현예들에서, 동물은 말이다. 특정 구현예들에서, 동물의 소이다. 특정 구현예들에서, 동물은 포유류, 예컨대, 말, 돼지, 마우

스 또는 영장류, 바람직하게는 인간이다. 일부 구현예들에서, 동물은 애완동물 또는 농장 동물이다.

- [0170] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 인간 성인이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 50세 이상인 인간 성인이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 노년 인간이다.
- [0171] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 인간 조산 영아이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 인간 유아이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 인간 어린이이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 인간 영아이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여받을 개체는 6세 미만의 영아가 아니다. 특정 구현예에서, 본원에 기술된 조성물을 투여받을 개체는 2세 이상 또는 이하이다.
- [0172] 또 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염을 발생시킬 위험성 (예, 고위험성)이 있는 환자에게 투여할 수 있다. 박테리아 감염의 발병 위험성이 높은 환자는, 비제한적으로, 노년 (예, 인간 노년) 및 면역억제된 개체를 포함한다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 비제한적으로, 면역억제된 환자 (예, 암 치료 또는 이식 시술의 결과로서), 인간 어린이, 인간 조산 영아, 인간 노년층, 당뇨병 환자, 암 진단 받은 환자, 전통적인 항생제 코스로 치료받은 적 있는 환자, 수술을 받은 적 있는 환자 및/또는 상처가 있는 환자와 같이, 박테리아 감염이 발병할 위험성이 있는 환자에게 투여한다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 박테리아 감염이 발병할 위험성이 있는 환자에게, 예컨대, 연령, 영양부족, 질환, 화학요법으로 인해 면역시스템이 약화된 개체, 전통적인 항생제 코스로 치료받은 적 있는 개체 또는 상처 (예, 개방형 상처)를 가지고 있는 개체에게, 예방학적으로 투여할 수 있다. 다른 구현예들에서, 박테리아 감염이 발병할 위험성이 있는 환자는 HIV/AIDS 환자, 암 환자, 이식 시술을 받은 적 있는 환자, 천식 환자 (예, 중증 천식 환자), 약물 사용자, 피부병리학적 병태를 가진 환자, 침습성 디바이스 (예, 혈관내 카테터)가 장착된 환자, 건강 관리 종사자 또는 한정된 시설 (예, 감옥 수감자, 군인, 사설 요양소와 같은 장기간 건강관리 시설에 있는 환자 등)에서 시간을 보내는 환자이다. 본원에 기술된 조성물을 투여받게 될 환자는 또한 만성 폐색성 폐 질환 (COPD), 폐기종, 비염, 기관지염, 후두염, 편도선염 및/또는 낭성 섬유증을 앓고 있는 환자일 수 있다.
- [0173] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 바이러스 감염 (예, HIV/AIDS), 진균 감염 또는 효모 감염으로 진단받은 적 없는 환자에게 투여된다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 하기 한가지 이상의 환자 그룹에 속하지 않는 환자에게 투여된다: 면역억제된 환자, 암 환자, HIV/AIDS 환자, 천식 환자, 이식 시술을 받은 환자, 수술을 받은 환자 및/또는 상처를 가지고 있는 환자. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물이 투여될 환자는 상처 (예, 만성 상처 또는 예컨대 수술 또는 전쟁 외상으로 인한 개방형 상처)를 가지지 않는다.
- [0174] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 하나 이상의 디펜신 펩타이드를 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나, 또는 하나 이상의 디펜신 펩타이드를 코딩하는 유전자 또는 유전자들내 돌연변이/삭제를 가지고 있는 개체이다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 하나 이상의 α-디펜신 (예, DEFA1, DEFA1B, DEFA3, DEFA4, DEFA5, DEFA6), 하나 이상의 β-디펜신 (예, DEFB1, DEFB2, DEFB4, DEFB103A, DEFB104A, DEFB105B, DEFB107B, DEFB108B, DEFB110, DEFB112, DEFB114, DEFB118, DEFB119, DEFB123, DEFB124, DEFB125, DEFB126, DEFB127, DEFB128, DEFB129, DEFB131, DEFB136), 및/또는 하나 이상의 θ-디펜신 (예, DEFT1P)을 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나 변형된 개체이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 DEFA1, DEFA3, DEFA4, DEFA5, DEFB1, DEFB3, DEFB103A, DEFB104A, DEFB108B, DEFB112, DEFB114, DEFB118, DEFB119, DEFB123, DEFB124, DEFB125, DEFB126, DEFB128, DEFB129 및 DEFB131 중 하나 이상을 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나 변형된 개체이다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 하나 이상의 Toll 수용체 (예, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, 및/또는 TLR12)를 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나 변형된 개체이다. 또 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 IL-1, CEACAM3, SPAG11, SIGIRR (IL1-like receptor), IRAK1, IRAK2, IRAK4, TBK1, TRAF6 및 IKKi 중 하나 이상을 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나 변형된 개체이다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물을 투여할 개체는 IRAK2, SIGIRR, TLR1, TLR2, TLR4, TLR7, TLR8, TLR10 및 TRAF6 중 하나 이상을 발현하지 않거나 발현 수준이 낮거나 변형된 개체이다. 유전자의 낮은 발현 수준은 정상적인 발현 수준 보다 낮은 (예컨대, 1.25배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배 이상 낮은) 수준이며, 이때 정상적인 발현 수준은 당업자들이 개체가 속하는 종에서 정상인 것으로 간주하는 수준 및/또는 동일 종의 개체들 대부분에서의 발현 수준이다. 유전자의 발현 수준 변형은, 정상적인 발현 수준과 상이한 (예, 20%, 25%, 30%, 50%, 75%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300% 이상으로 상이한) 수준이며, 이때 정상적인 발현 수준은 당업자들이 개체가 속하는 종에서 정상인 것으로 간주하는 수준 및/또는 동

일 종의 개체들 대부분에서의 발현 수준이다. 여기에서, 하나 이상의 디펜신 유전자의 "정상" 발현은: (i) 증상을 나타내지 않거나 또는 치료할 질환 또는 감염으로 진단되지 않은 개체에서 확인되는 것으로 공지된 평균 발현 수준; (ii) 증상을 나타내지 않거나 또는 치료할 질환 또는 감염으로 진단되지 않은, 3명, 5명, 10명, 20명, 25명, 50명 또는 그 이상의 개체에서 검출되는 평균 발현 수준; 및/또는 (iii) 질환 또는 감염이 개시되기 전에 본원에 기술된 조성물을 투여받은 환자에서 검출되는 발현 수준이다.

[0175] **5.6 sNAG 나노섬유 조성물의 투여 방식**

[0176] 특정 구현예들에서, 본 발명은 sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물을 그러한 치료가 필요한 환자에게 국소 투여하는, 박테리아 감염과 관련된 질환 또는 박테리아 감염을 치료 또는 예방하기 위한 방법을 개시한다. 일부 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 박테리아 감염 또는 질환에 대한 위험성이 높은 조직 또는 장기에 국소 적용된다.

[0177] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유 및/또는 sNAG 나노섬유 조성물의 유효량이 개체에게 투여된다.

[0178] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자에서 박테리아 감염 부위에 또는 박테리아 감염과 관련된 질환에 걸린 부위에 국소적으로 투여한다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자에서 박테리아 감염 부위와 그 주변에, 또는 박테리아 감염과 관련된 질환에 걸린 부위에 국소적으로 투여한다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자에서 박테리아 감염 부위의 근접하여, 또는 박테리아 감염과 관련된 질환에 걸린 부위에 근접하여 적용한다. 또 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 박테리아 감염 위험성이 높은 부위에 국소적으로 투여한다.

[0179] 본원에 기술된 sNAG 나노섬유 조성물은, 비제한적으로, 피부에 국소적으로, 신체 임의의 다른 표면 (예, 점막)에 국소적으로 등의 당해 기술 분야에 잘 알려져 있는 다수의 적합한 국소 투여 수단에 의해, 흡입에 의해, 코 내로, 질로, 직장으로, 볼로 또는 설하로 투여할 수 있다. 국소 투여 방식은 치료 또는 예방할 질환에 따라 달라질 수 있다. sNAG 나노섬유 조성물은 국소 투여를 위한 다양한 타입으로 제형화될 수 있다.

[0180] 일 구현예에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자의 피부에 적용된다. 예를 들어, 이러한 조성물은 피부의 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 피부의 질환을 치료 및/또는 예방하기 위해, 환자의 피부에 국소적으로 적용할 수 있다.

[0181] 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 환자의 점막 표면에 국소적으로 적용될 수 있다. 예컨대, 이러한 조성물은 구강 또는 잇몸의 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 구강 또는 잇몸의 질환을 치료 및/또는 예방하기 위해, 환자의 구강 점막에 국소적으로 적용할 수 있다.

[0182] 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자내 상처에 적용한다. 예컨대, 이 조성물은, 상처의 박테리아 감염 또는 상처의 박테리아 감염과 관련된 질환을 치료 및/또는 예방하기 위해, 상처 부위에 직접 또는 환자의 상처 부위에 근접하여 국소적으로 적용할 수 있다. 이러한 일 구현예들에서, 상처는 예컨대 본원에 기술된 방법들 중 한가지 방법에 의해 진단시 박테리아가 감염된 상처이다. 상처는 본원에 기술된 타입들 중 한가지 타입의 상처일 수 있다. 또 다른 구현예들에서, sNAG 나노섬유를 포함하는 조성물은 환자내 상처에 적용되지 않거나 또는 환자에서 박테리아로 감염된 상처에 적용되지 않는다.

[0183] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 환자의 생식기, 비뇨기 또는 항문의 표면/영역에 국소적으로 적용할 수 있다. 예컨대, 이러한 조성물은 생식기, 비뇨기 또는 항문의 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 상기한 조직의 질환을 치료 및/또는 예방하기 위해, 생식기, 비뇨기 또는 항문 표면/영역에 국소적으로 적용할 수 있다.

[0184] 국소 적용을 위한 상기 열거된 방법들은, 크림, 연고, 젤, 액체 용액, 멤브레인, 필름, 스프레이, 페이스트, 분말 또는 당해 기술 분야에 공지되어 있거나 본원에 기술된 임의의 기타 제형의 형태로 sNAG 나노섬유를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또한, sNAG 나노섬유는 환자의 피부에서의 국소 감염/병태를 예컨대 치료하기 위해 드레싱 또는 붕대로 적용될 수 있다.

[0185] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 환자의 구강 및/또는 호흡기관내 스프레이로서 적용할 수 있다. 예컨대, 상기 조성물은 입, 코, 잇몸, 인후 또는 폐의 박테리아 감염, 또는 박테리아 감염과 관련된 입, 코, 잇몸, 인후 또는 폐의 질환/병태를 치료 및/또는 예방하기 위해, 스프레이로서 적용할 수 있다. 이러한 일 구현예에서, 조성물은 흡입제로서 투여되도록 제형화될 수 있다.

[0186] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 환자의 직장, 질 또는 요도에 좌제로서 적용할 수 있다. 예컨대,

상기한 조성물은 소화관, 비뇨기관 또는 생식기의 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련있는 상기 조직의 질환을 치료 및/또는 예방하기 위해 좌제로서 적용할 수 있다.

[0187] 다른 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 외과적 시술 부위에 적용할 수 있다. 예를 들어, 상기한 조성물은 외과적 시술을 수행하거나 또는 외과적 시술을 수행한 적 있는, 조직 또는 장기의 표면에, 크립, 연고, 젤, 멤브레인 또는 분말로서 살포, 적용되거나 또는 상기 표면에 피복될 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 외과적 절개부, 적출된 조직의 부위 또는 외과적 스티치 또는 봉합부에 적용된다. 본원에 기술된 조성물의 이러한 투여는 수술 후 감염을 예방할 수 있다. 예컨대, 본원에 기술된 조성물은 박테리아 감염 위험성이 높은 것으로 알려져 있는 외과적 시술 중에 또는 이후에 사용할 수 있다. 박테리아 감염 위험성이 높은 것으로 알려져 있는 외과적 시술은 장 절제, 위장의 외과적 시술, 신장 수술 등이다. 본원에 기술된 조성물은 상기 열거되거나 기타 외과적 시술들 중 임의의 시술 부위에 적용할 수 있다.

[0188] 또 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 환자에서 박테리아 감염을 예방하기 위해, 환자 체내에서 사용되거나 또는 삽입되는, 디바이스에, 예컨대 구강 위생 제품, 카테터, 수술 기구 또는 기타 제품에 코팅될 수 있다.

[0189] 일부 구현예들에서, 본원의 방법은 환자에서 박테리아 감염의 검출/진단을 포함하는 단계를 포괄한다. 일부 구현예들에서, 검출/진단은 환자의 생물 샘플에서의 하나 이상의 박테리아 또는 박테리아 항원에 대한 검사 또는 분석을 포함한다. 다른 구현예들에서, 진단은 환자가 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상 또는 박테리아 감염과 관련된 질환을 앓고 있는지를 평가하는 것을 포함한다.

[0190] 본원에 기술된 조성물은 서방성(sustained release) 특성을 나타내거나, 및/또는 이러한 조성물의 서방성을 형성하는 제형으로 투여할 수 있다. 일부 구현예들에서, sNAG 나노섬유는 상기 5.1 항목에 기술된 바와 같이 시간 경과에 따라 생분해가능하며, sNAG 나노섬유의 이러한 특성이 본원에 기술된 조성물의 서방성을 형성하거나 또는 기여할 수 있다. 또 다른 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 서방성 능력을 나타내도록 제형화된다. 본원에 기술된 조성물은, 환자에게 상기 조성물의 투여 후, 약 6시간, 12시간, 18시간, 24시간 (1일), 2일, 3일, 5일, 7일 (1주일), 10일, 14일 (2주일), 3주일 또는 4주일 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 지속적으로 방출될 수 있다.

[0191] 고려되는 치료 요법은 sNAG 나노섬유 조성물 (예, 크립, 멤브레인 또는 드레싱)의 1회 투약 또는 1회 적용, 또는 sNAG 나노섬유 조성물의 다회 투약 또는 다회 적용 요법을 포함한다. 투약 또는 적용은 매시간, 매일, 매주 또는 매달로 투여할 수 있다. 예컨대, sNAG 나노섬유 조성물의 투약은 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회, 1일 4회, 1일 5회, 3시간 마다, 6시간 마다, 12시간 마다, 24시간 마다, 48시간 마다, 72시간 마다, 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 2일 마다, 2주에 한번, 3주에 1번, 4부에 1번 또는 1달에 1번으로 투여할 수 있다.

[0192] sNAG 나노섬유 조성물은 1주, 2주, 3주, 1달, 2달, 3달, 4달, 5달, 6달, 9달, 1년, 1.5년, 2년, 2.5년, 3년, 4년, 5년, 7년, 10년 이상의 기간 동안 투여될 수 있다. 이러한 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 치료 기간 동안 어떠한 부작용을 야기하지 않거나 또는 사소한 부작용을 야기한다. 이러한 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 치료에 반응하여 박테리아의 내성 균주 발생을 야기하지 않거나 또는 이의 효능을 상실하지 않는다. 다른 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 자극 (예, 중도 내지 중증 자극) 또는 알레르기 (예, 중간 내지 중증 알레르기)를 야기하지 않는다.

[0193] 조성물내 sNAG 나노섬유의 농도는 다양할 수 있다. 일반적으로, sNAG 나노섬유는 유효량으로 사용한다. 유효량은 본원에 기술된 한가지 이상의 효과를 달성하는데 충분한 양, 예컨대 박테리아 감염을 경감 또는 박멸하거나 또는 박테리아 감염의 한가지 이상의 증상을 경감 또는 해소시키는데 유효한 양일 수 있다. 예컨대, 조성물은 환자에게 국소 전달하기 적합한 형태로, 조성물의 투약/적용 당 sNAG 나노섬유를 약 0.2 - 20 mg/cm²로 포함할 수 있다. 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 환자에게 국소 전달하기 적합한 형태로, 조성물의 투약/적용 당 sNAG 나노섬유를 약 0.25 - 20 mg/cm², 약 0.5 - 20 mg/cm², 약 1 - 20 mg/cm², 약 1 - 15 mg/cm², 약 1 - 12 mg/cm², 약 1 - 10 mg/cm², 약 1 - 8 mg/cm², 약 1 - 5 mg/cm², 약 2 - 8 mg/cm², 또는 약 2 - 6 mg/cm²로 포함한다.

[0194] **5.7 병용 요법**

[0195] sNAG 나노섬유 조성물은, 면역계를 부스팅하는 물질, 항세균제 (예, 항생제), 디펜신 펩타이드, 디펜신-유사 펩타이드, 통증 완화 요법 (예, 진통제), 해열 요법 및/또는 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환의

치료 및/또는 예방을 위해 통상적으로 사용되거나 또는 이에 대해 유효한 것으로 공지된 기타 제제 또는 약물과 같은, 다른 요법들과 병용하여 투여할 수 있다.

[0196] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 추가적인 항생제, 예컨대 항생제와 병용 투여된다. 이러한 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상기한 박테리아 감염 또는 상기한 질환을 치료하기 위해 일반적으로 사용되는 표준 요법과 병용하여, 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환을 치료하는데 사용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 상기한 박테리아 감염 또는 상기한 질환에 대해 유효한 것으로 공지된 표준 항생제 (예, 항생제)와 병용하여, 박테리아 감염 또는 박테리아 감염과 관련된 질환으로 진단되거나 증상을 나타내는 환자에게 투여할 수 있다.

[0197] 특정 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 하기 클래스 항생제 중 한가지와 병용하여 투여된다: 마이크로라이드 (예, 에리트로마이신, 아지트로마이신), 아미노글리코시드 (예, 아미카신, 젠타마이신, 네오마이신, 스트렙토마이신), 세팔로스포린 (예, 세파드록실, 세파클로르, 세폭탁심, 세페핌), 플루오로퀴놀론 (예, 시프로플록사신, 레보플록사신), 페니실린 (예, 페니실린, 암피실린, 아목시실린), 테트라사이클린 (예, 테트라사이클린, 독시사이클린) 및/또는 카바페넴 (예, 메로페넴, 이미페넴). 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 스타필로코커스 아우레우스 감염, MRSA 감염, 슈도모나스 감염 또는 클로스트리듐 디피컬 감염을 치료 또는 예방하기 위해 일반적으로 사용되거나 또는 이를 치료 또는 예방하는데 유효한 물질 (예, 항생제)와 병용하여 투여된다.

[0198] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 반코마이신, 설과 약물 (예, 코-트리목사졸/트리에토프림-설과메톡사졸), 테트라사이클린 (예, 독시사이클린, 미노사이클린), 클린다마이신, 옥사졸리디논 (예, 리네졸리드), 닥토마이신, 테이코플라닌, 퀴누프리스틴/달포프리스틴 (시너지드(synercid)), 티게사이클린, 알리신, 박시트락신, 니트로푸란토인, 과산화수소, 노보비오신, 네틸미신, 메틸글리옥살 및 bee 디펜신-1 중 하나 이상과 병용하여 투여된다. 또한, 본원에 기술된 조성물은, 과산화수소, 토브라마이신, 클로르헥시딘 디글루코네이트, 클로르헥시딘 글루코네이트, 레보플록사신 및 은 중 하나 이상을 포함하는 드레싱과 병용하여 투여된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 스타필로코커스 아우레우스 감염, 특히 MRSA 감염을 치료 또는 예방하기 위해 열거된 물질들 중 하나 이상과 함께 투여된다.

[0199] 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 다른 요법의 투여 전 (예, 1분 전, 15분 전, 30분 전, 1시간 전, 2시간 전, 3시간 전, 6시간 전, 12시간 전, 24시간 전 또는 그 이상의 시간 전, 또는 이들 시간 사이의 기간 전), 동시에, 또는 투여 후 (예, 1분 후, 15분 후, 30분 후, 1시간 후, 2시간 후, 3시간 후, 6시간 후, 12시간 후, 24시간 후 또는 그 이상의 시간 후, 또는 이들 시간 사이의 임의 기간 후)에 투여된다. 예컨대, 상기 조성물은 항생제 (예, 항생제)의 투여 전, 동시에 또는 투여 후에 투여될 수도 있다.

[0200] 일부 이러한 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은, 환자가 다른 항생제 (예, 항생제)를 이용한 박테리아 감염의 치료 코스를 진행한 후, 박테리아 감염 또는 박테리아 감염 관련 질환을 치료 또는 예방하기 위해, 환자에게 투여할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 기술된 조성물은 하나 이상의 항생제 (예, 항생제)에 대해 내성이 발생된 환자에게 투여할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 항생제 (예, 박테리아 감염의 치료를 위해 일반적으로 사용되는 항생제)를 이용한 치료 코스를 시술 받았고 상기 항생제에 대해 내성이 발생된 환자에게 투여할 수 있다.

[0201] 그러나, 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 단독으로 투여된다. 이러한 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 임의의 다른 요법과 함께 투여되지 않으며, 예를 들어, 면역조절제, 항생제(예, 항생제), 디펜신 펩타이드, 디펜신-유사 펩타이드, 통증 완화 요법 (예, 진통제) 또는 해열 요법과 함께 투여되지 않는다. 일 구현예에서, sNAG 나노섬유 조성물은 항생제와 병용하여 투여되지 않는다. 특정 구현예들에서, sNAG 나노섬유 조성물은 항바이러스제, 항진균제 또는 항효모제와 병용하여 투여되지 않는다.

[0202] **5.8 키트**

[0203] 본 발명은 또한 전술한 임의의 sNAG 나노섬유 조성물을 포함하는 약학 팩 또는 키트를 개시한다. 팩 또는 키트는 본원에 기술된 조성물을 포함하는 하나 이상의 성분이 충전된 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 바람직하게는 조성물을 오염없이 쉽게 꺼내는 밀폐되고, 방수되며 멸균된 패키지 안에 포함된다. 용기를 구성할 수 있는 물질은 알루미늄 호일, 플라스틱 또는 쉽게 멸균되는 통상적인 기타 물질이다. 키트는 조성물을 1회 투여 또는 다회 투여하기 위한 물질을 포함할 수 있으며, 바람직하게는, 각 투여를 위한 물질은 별개, 방수되는, 멸균 패키지에 제공된다.

- [0204] 다른 구현예에서, 2개의 구획을 구비한 용기가 제공된다. 제1 구획에는 전술한 임의의 sNAG 나노섬유 조성물이 포함되며, 다른 제2 구획에는 다른 항세균제와 같이 다른 활성 성분이 포함된다. 현장 또는 임상에서, 제1 구획내 조성물은 환자에게 이후 투여하기 위해, 제2 구획내 성분과 쉽게 조합할수 있다.
- [0205] 부가적으로, 응급 용도나 군사적 용도로 고안된 키트는 가위, 외과용 메스, 클램프, 지혈대, 탄성 또는 비탄성 봉대 등과 같은 미리 멸균된 일회용 기구를 더 포함할 수 있다.
- [0206] 선택적으로, 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 용도 또는 판매를 규제하는 정부 기관으로부터 승인받은 형태의 고지가, 선택적으로 상기한 키트 또는 팩에 첨부될 수 있으며, 상기 고지에는 인간 투여를 위한 제조, 용도 또는 판매 기관에 의한 승인이 나타나 있다. 예컨대, 키트에는 FDA 승인에 대한 고지 및/또는 사용 설명서가 포함될 수 있다.
- [0207] 본원의 키트는 상기 용도 및 방법에 사용할 수 있다.
- [0208] **6. 실시예**
- [0209] **6.1 실시예 1: 해조 구조 유래의 sNAG 나노섬유는 Akt1/Ets1-의존적인 경로를 통해 상처 치유와 디펜신의 발현을 촉진시킨다**
- [0210] 본 실시예는 sNAG 나노섬유가 피부의 상처 치유와 디펜신의 발현을 촉진시키며, Akt1 → Ets1 경로가 sNAG 나노섬유에 의한 피부 상처 치유의 조절에 중요한 역할을 한다는 것을 입증한다.
- [0211] **6.1.1 재료 및 방법**
- [0212] sNAG/Taliderm 나노섬유는 Marine Polymer Technologies로부터 제조 및 공급받았으며, 상처 치료용 적정 패치로 만들었다. 야생형 C57 블랙 및 Akt1 null 마우스는 사우스 캐롤라이나 의학 대학의 동물 시설에서 사육하였다. 7-12주령의 야생형 및 Akt1 null 마우스는 50% 순수 산소와 50% 이소플루란 가스로 마취하였다. 상처 발생 직전에, Nair 헤어 제거 로션을 등에 도포하여 모든 원치않는 체모를 제거하였다. 4 mm의 원형의 등 피부 면적을 적출 바이옵시 펀치를 이용하여 제거하였다. 0일에 각 상처에 Taliderm을 도포하거나, 처리하지 않고 방치하였다. 1, 3, 5 및 7일째에, 상처의 사진을 촬영하고, 측정된 다음, 상처 부위와 주변 조직을 모두 확보하기 위해 8 mm 바이옵시 펀치를 이용하여 적출하였다. 야생형과 Akt1 null 마우스의 Taliderm 처리 및 무처리 상처 샘플을 H&E 및 면역형광 염색을 위한 준비로 파라핀으로 포매하였다.
- [0213] 파라핀으로 포매한 절편을 단편으로 잘라, 염색하기 위해 현미경 슬라이드 위에 두었다. 슬라이드는 자일렌으로 행귀 파라핀을 제거한 다음, 등급화된 알코올 시리즈를 처리하여 재수화하였다. 그런 후, 절편을 투과화를 위해 0.1% Triton x100 중에서 인큐베이션하였다. 그 후, 절편을 끓는 항원 복원 용액(boiling Antigen Retrieval solution) 중에서 인큐베이션하였다. 1% 동물 혈청을 사용하여 블로킹한 다음, 1차 염소 항체 β-디펜신 3를 1:400으로 희석하여 함께 인큐베이션하였다. 절편을 1차 항체와 4도시 습윤 챔버에서 밤새 인큐베이션하였다. 면역형광 2차 당나귀 α-염소 488 항체 1:200 희석물을 사용한 다음, TOPRO-3로 핵을 염색하였다. 공초점 현미경으로 이미지를 포착하였다.
- [0214] 헤마톡실린 및 에오신 염색을 이용하여, 상피, 진피, 근육 및 혈관 등의 기본 구조를 가시화하였고, 상처에서의 배향성(orientation)과 대략적인 위치를 확인하였다. 또한, H&E 염색으로 Akt1-독립적인 방식으로 Taliderm에 의해 자극되는 세포 타입의 동정에 착수하였다.
- [0215] 그외 물질 및 방법들은 표 설명 부분과 아래 결과 항목에 기술되어 있으며, 당해 기술 분야에 공지된 방법에 따라 수행하였다.
- [0216] **6.1.2 결과**
- [0217] sNAG 나노섬유는 Ets1의 상류 조절자인 Akt 1의 활성화를 자극한다. 도 1A는 무혈청에서 배양한(serum starved) EC의 NAG 및 sNAG 자극에 대한, 포스포-Akt 반응을 확인한 웨스턴 블롯 분석이다. 도 1B는 스크램블형 대조군(scrambled control) 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스 중 하나를 감염시키고, Ets1과 로딩 대조군으로서의 S26의 발현을 측정한다, EC의 RT-PCR 분석 결과이다. 도 1C는 신호를 sNAG 나노섬유에서 Akt1, Ets1 및 디펜신으로 전달하는 신호 전달 경로를 예시한 것이다.
- [0218] Akt1 null 동물에서의 지연성 상처 치유는 Taliderm (sNAG) 처리에 의해 부분적으로 회복된다. 도 2A는 Taliderm 처리 및 무처리시의 WT 및 AKT1 null 마우스의 대표적인 상처 사진이다. 도 2B는 상처 발생 3일째 마우스 피부 절편에 대한 H&E 염색 결과이다. 야생형과 Akt1 상처 절제 조직에 대한 H&E 염색에서, 각질형성세

포의 증식과 이동에서 Taliderm 의존적인 증가가 확인된다. 점선은 상처 가장자리 한쪽에서 반대쪽에서의 각질 형성세포의 증식 영역을 나타낸다. 야생형과 Akt1 처리군 상처 조직 둘다에서, 야생형 및 AKT1 대조군과 비교하여, 상처 가장자리를 따라 재상피화가 명백하게 확장되었다. 이는, Taliderm이 Akt1 경로와는 무관하게 각질 형성세포의 보충을 증가시킴을 의미한다. Taliderm은 상처 가장자리를 따라 상피의 완전한 재상피화를 유도하지만, 야생형과 비교하여, 기저 조직에서의 신혈관 형성은 여전히 매우 부족하다. 이는, Akt1 동물에서의 적혈구 세포의 상당한 출혈과 침윤에 의해 입증된다.

[0219] sNAG 나노섬유는 일차 내피세포에서 사이토카인과 디펜신 발현을 자극한다. 도 3A는 α -디펜신에 대한 항체를 이용한, sNAG 처리된 EC 및 무처리된 EC의 면역조직화학적 분석 결과를 보여준다. 도 3B는 EC에 나노섬유 처리 시 α -디펜신 1-3이 분비됨을 보여주는 ELISA 결과를 나타낸다.

[0220] sNAG 나노섬유는 일차 내피세포에서 디펜신 발현을 Akt1 의존적인 방식으로 자극한다. 도 4A 및 4B는 sNAG 처리 또는 무처리, PD98059 (MAPK 저해제) 처리 또는 무처리, Wortmannin (PI3K 저해제) 또는 스크램블형 대조군, 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스 감염 조건에서의, 나타난 유전자들의 발현을 평가한, 무혈청 배양한 EC에 대한 정량적인 RT-PCR 분석 결과를 보여준다.

[0221] sNAG 나노섬유는 마우스 각질형성세포에서 β -디펜신 3의 발현을 자극한다. 도 5A는 3일째 WT 및 Akt1 null 동물의 파라핀 포매된 마우스 피부 상처 절편에 대한, β -디펜신 3 및 Involucrin 항체를 이용한 면역형광 염색 결과를 나타낸다. 경피 상처 치유 모델은 WT 및 Akt1 null 마우스 둘다에서 개발하여, Taliderm의 효과를 생체 내에서 평가하였다. 이러한 결과들은, β -디펜신 3 발현이 Akt1-의존적인 방식으로 Taliderm 처리 동물에서 증가됨을 보여준다. 치유 상처에서의 디펜신 발현을 증가시키는 Taliderm의 능력은 상처 감염을 치료 및 제어하는데 중요한 영향을 미친다. 도 5B는 NIHImageJ 소프트웨어를 이용한 β -디펜신 3 면역형광 염색을 정량화한 것이다. 도 5C는 β -디펜신 3 및 TOPRO-3를 이용한 WT 및 Akt1 null 처리 및 무처리 각질형성세포의 면역형광 염색 사진이다. WT 및 Akt1의 Taliderm 처리된 상처에서는 β -디펜신 3 염색이 강함에 주목하여야 한다. 상처 절편의 면역형광 표지는, Taliderm 처리한 상처에서 Akt1 의존적인 방식으로 β -디펜신 3 발현이 증가됨을 보여준다. Akt1 처리 상처에서는 β -디펜신 3의 적절한 수준의 발현 증가가 확인되지만, 야생형의 처리 상처에서는 보다 현저한 증가가 확인된다. 이는, β -디펜신 3 발현이 나노섬유 적용시 증가될 뿐만 아니라 Akt1 경로에 적어도 부분적으로 의존적임을 의미한다. β -디펜신 3 발현은 각질형성 세포로 한정되는 것으로 보이는데, 이 발현은 각질형성세포 특이적임을 의미한다.

[0222] Akt1 의존적인 전사 인자 결합부. 도 6은 Akt1 의존적인 전사 인자 결합부의 대략도를 나타낸다. 지노매틱스 소프트웨어를 이용하여, 전사 개시부의 500 bp 상류를 DEF1, 4, 및 5의 mRNA 상의 보존부에 대해 분석하였다.

[0223] **6.1.3 결론**

[0224] 제공된 데이터들은, Ets1의 sNAG 나노섬유 자극화로 이들 나노섬유에 의해 Akt1의 활성화가 초래됨을 보여준다. 나노섬유 처리는, IL-1 (공지된 Ets1 타겟), VEGF 및 수종의 디펜신 (β 3, α 1, α 4 및 α 5), 화학유인물질 (chemoattractant)로서 작용하는 것으로 최근 입증된 소형 항-미생물 펩타이드 등의, 세포 동원(cellular recruitment)에 참여하는 유전자의 발현을 현저하게 증가시켰다. PI3K/Akt1 경로의 약리학적 저해와 shRNA를 이용한 Akt1 낮다운 둘다에 의해, 이들 주화성 인자들의 발현이 감소되었다. Akt1 null 마우스는 Taliderm 나노섬유에 의해 부분적으로 회복되는 지연형 상처 치유 표현형을 나타내었다. Taliderm 처리 상처에서도 Akt1 의존적인 디펜신의 발현 증가가 확인되었다.

[0225] Taliderm 처리 상처에서의, β -디펜신 3 발현 증가와 각질형성세포 증식은, Taliderm의 효과적인 상처 치유 산물로서의 유익한 사용을 나타내준다. Taliderm은 Akt1 의존적인 방식으로 각질형성세포에서 항미생물 펩타이드의 발현을 증가시키는 것으로 작용하는데, 이는 sNAG 나노섬유의 기능에서의 Akt1의 필연적인 역할을 시사해준다. 이는, shRNA를 이용한 PI3K/Akt1 경로 및 Akt1 낮다운 저해가 이들 주화성 인자의 발현을 감소시킨다는 연구소(Buff, Muise-Helmericks, 미공개)의 다른 실험들의 결과와 관련된다.

[0226] β -디펜신 3의 발현 증가는 Akt1-의존적이지만, 8 mm 상처 절제물의 H&E 염색(도 2B)에서, Taliderm이 상처 재상피화에서 Akt1과는 독립적으로 작용하는 것으로 나타났다. 신생 각질형성세포는 전체 상처 가장자리까지 걸쳐 있지만, 기저 조직은 혈관 증식에 동일한 자극을 나타내지 않았다. 이는, Akt1의 부재가 진피에서 혈관 및 다량의 부유성 적혈구 세포의 누수에 원인임을 의미한다. 이는, 혈관형성 증가에서 Taliderm이 Akt1 경로에 의존적임을 시사한다.

[0227] 요컨대, (i) sNAG 나노섬유(Taliderm)는 혈관신생을 자극함으로써 부분적으로 상처 치유를 증가시키며; (ii) 내

피 세포에 sNAG 나노섬유를 처리하면 Akt1/Est1 의존적인 경로가 활성화되어, 세포 자동성(cell motility) 및 사이토카인 분비에 변화가 발생되며; (iii) Taliderm 처리 상처에서는 β-디펜신 3의 발현이 Akt1 의존적인 방식으로 증가되는 것으로 나타나며; (iv) Akt1 null 동물에 Taliderm을 처리하면 부분적으로 표현형이 회복되어, 각질형성세포의 증식/이동을 현저하게 증가시키며; 및 (v) 생물정보학 분야에서는, ETS1이 sNAG 활성화된 경로에 참여할 가능성이 높아, 상처 치유 및 사이토카인의 분비를 증가시킬 수 있는 것으로 확인된다.

[0228] 이러한 결과들을 종합하면, 피부 상처 치유의 조절에서 sNAG 나노섬유가 Akt1 → Ets1 경로의 중추적인 역할을 하며, 상처 치유를 강화하기 위한 새롭고 유효한 방법으로서 이들 나노섬유의 용도를 뒷받침해준다.

[0229] **6.2 실시예 2: sNAG 나노섬유는 디펜신 발현을 증가시키고, 상처 봉합 속도를 증가시키고, 간접적인 디펜신-의존적인 항세균 효과를 가진다.**

[0230] 본 실시예는, sNAG 나노섬유가 생체내에서 스타필로코커스 아우레우스에 대해 강력한 항세균 효과를 가지며, 이러한 효과는 디펜신-의존적이며, 간접적임을, 입증한다. 또한, 본 실시예에서는, sNAG 나노섬유가 각질형성세포와 내피세포에서 시험관내에서, 그리고 피부 상처에서 생체내에서 디펜신의 발현을 Akt-1의존적인 방식으로 유도하며, 상처 봉합 속도를 증가시킴을 보여준다.

[0231] **6.2.1 재료 및 방법**

[0232] **조직 배양, 약리학적 저해, ELISA:** 인간 제대혈 EC (Lonza)은 내피세포 기본 배지 2(Lonza)에서 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 유지시켰다. 내피세포 기본 배지 2 (EBM2)에는 Lonza 절차에 기술된 바와 같이 EC 성장 배지 2 SingleQuots와 1% 페니실린/스트렙토마이신 (Invitrogen)을 첨가하였다. 혈청 고갈(Serum starvation)은 0.1% 소태아 혈청 (Valley Biomedical)이 첨가된 EMB2에서 24시간 동안 80-90%에서 수행한 다음, 멸균주 중의 고도로 정제된 pGlcNAc (50 µg/ml) 나노섬유 (sNAG) (Marine Polymer Technologies, Inc., Danvers, Mass., USA)로 자극하였다. 본 실험에 사용한 pGlcNAc 구조-유래 나노섬유는 긴 형태 (NAG)로부터 파생된 짧은 생분해성 섬유이며, 이의 평균 길이는 4 - 7 µm이고, 폴리머 분자량은 약 60,000 Da이다. PD098059 (50 µM) 또는 wortmannin (100 nM)를 이용한 저해를 위해, sNAG (50 µg/ml)로 3시간 자극하기 전 45분간 세포에 전처리하였다.

[0233] **통계 분석:** 각 정량 실험은 독립적으로 3회 이상 적어도 3세트로 수행하였다. 모든 통계 분석은 마이크로소프트 엑셀을 이용하여 평균, 표준편차를 계산하고, 스튜던트 t-검사를 사용하였다.

[0234] **렌티바이러스 감염:** Akt1을 겨냥한 미션 shRNA 렌티바이러스 구조체를 Sigma/Aldrich에서 구입하였다. 스크램블형 pLKO.1 shRNA 벡터는 Addgene에서 구입하였다. 렌티바이러스는 293T 세포에서 증폭시키고, 상기와 같이 보충된 DMEM에서 유지시켰다. 렌티바이러스 생성은 Addgene으로부터 구입한 psPAX2 및 pMD2.G 패키징 벡터를 Addgene 사의 렌티바이러스 입자 생산 프로토콜에 따라 사용하여 수행하였다. 타겟 세포에 감염시키기 위해, 세포 7.5 X 10⁵ 개를 100 mm² 플레이트에 도말하여, 밤새 인큐베이션하였다. 다음날, 최종 농도 1 µg/ml 폴리브렌(polybrene)과 스크램블형 대조군 또는 Akt1 shRNA 렌티바이러스를 이용하여 형질전이시켰다. 형질전이 후, 내피 세포는 밤새 혈청 고갈시키고, 3시간 동안 sNAG (50g/ml)로 자극하였다. 모든 감염체들은 RT-PCR에 의해 적절한 낮다운에 대해 모니터링하였다.

[0235] **RT-PCR:** 반정량적 RT-PCR을 위해, 제조사의 지침에 따라 RNAsol (Teltest, Inc.)로 RNA를 추출하였다. Superscript 제1 가닥 합성 키트 (Invitrogen)와 올리고(dT)를 이용하여, 제조사의 지침에 따라, 총 RNA 2 µg 으로부터 cDNA를 합성하였다. PCR 반응물에는 동량의 cDNA와 1.25 µM의 적정 프라이머 쌍 (Sigma- Prologo, St. Louis, MO, USA)을 포함시켰다. 본 분석에 사용된 모든 프라이머 서열은 다음과 같다:

표 1

[0236]

Akt1 F	5' GAGGCCGTCAGCCACAGTCTG 3'
Akt1 R	5' ATGAGCGACGTGGCTATTGTG 3'
β-디펜신3 F	5' GTGGGTGAAGCCTAGCAG 3'
β-디펜신 3 R	5' TTTCTTTCTTCGGCAGCATT 3'
α-디펜신1 F	5' CACTCCAGCAAGAGCTGAT 3'
α-디펜신1 R	5' TCCCTGGTAGATGCAGGTC 3'
S26 F	5' CTCCGGTCCGTGCTCCAAG 3'
S26 R	5' CAGAGAATAGCTGTCTTCAG 3'

- [0237] 사이클 조건은 다음과 같다: 5분간 94°C; 30-35회로서, 1분간 94°C → 1분간, 55-65°C (프라이머 T_m을 토대로 함) → 1분간, 72°C; 7분간 72°C 및 4°C로 냉각. 사이클의 횟수는 사용한 각 프라이머 쌍에 대한 선형 분석 범위 내에서 경험을 통해 결정하였다. 반정량적인 RT-PCR을 내부 대조군으로서 리보솜 단백질 서브유닛 S26 프라이머로 수행하였다. 산물들은 바이오라드 분자 이미징 시스템(Hercules, CA, USA)에서 가시화하였다. 실시간 PCR은, 둘다 Stratagene 사에서 구입한 Mx3000P 실시간 PCR 시스템과 브릴리언트 CYBR 그린 QPCR 키트로 수행하였다. 리보솜 서브유닛 S26을 검출하는 프라이머를 내부 대조군으로서 사용하였다.
- [0238] **적출 상처 치유 모델:** 야생형 C57Bl/6와 Akt1^{-/-} [43]를 모든 실험들에서 사용하였다. 전체 단백질의 발현을 차단하는 번역 개시부위에서 삽입에 의한 돌연변이 유발 전략을 이용하여 Akt1 null 동물을 제작하였다. 8-12주령의 마취시킨 성체 마우스에 상처를 만들었다. 4 mm 바이옵시 펀치 (Miltex)로 2곳에 전층(full thickness) 피부 상처를 야기하여, 각 옆구리에 2개의 동일한 상처를 만들었다. 마우스를 O₂/이소플루란 기화 마취 장치 (VetEquip, Inc.)를 이용하여 마우스를 마취시켰다. 이소플루란은 유도용으로는 4%로 사용하였고, 외과적 시술시에는 2%로 사용하였다. 외과적 시술하기 전에, 털 제거에 의해 체모를 제거하고, 그 부분을 행군 다음 70% 에탄올로 살균하였다. 상처 부위에 증류수로 젖힌 sNAG 멤브레인을 처리하거나 처리하지 않고 두었다. 3일 및 5일에, 동물을 안락사시키고, 8 mm 바이옵시 펀치 (Miltex)를 이용하여 주변 피부를 포함하여 전체 상처 부위를 도려냈다. 상처 피부는 4°C에서 밤새 4% 파라포름알데하이드에서 고정된 후, 파라핀 포매한 다음, 분석하기 위해 조직 절편을 만들었다.
- [0239] **헤마톡실린 및 에오신 염색 (H&E):** 모든 H&E 염색은 미국 사우스 캘리포니아 의과대학 조직학 코어 기관 재생 의학 및 세포 생물학 분과에서 수행하였다. 간략하게는, 절편을 자일렌으로 세척하고, 일련의 등급화된 알코올을 처리하여 재수화한 다음, 헤마톡실린에 넣고, 산 알코올을 첨가하였다. 그런 후, 샘플을 암모니아수에 넣고, 에탄올로 행군 다음, 에오신에 노출시킨 후, 등급화된 알코올을 처리하여 탈수화하고, 자일렌으로 세척하였다. 절편을 Cytoseal-XYL (Richard-Allan Scientific)을 이용하여 탑재하였다. H&E 절편을 올림푸스 BX40 현미경 (4x 대물렌즈, 0.13)으로 가시화하고, 올림푸스 카메라 (Model DP25)와 DP2-BSW 입수 소프트웨어를 이용하여 포착하였다.
- [0240] **박테리아 접종, 조직 그람 염색, 콜로니 형성 단위 정량화:** 8-12주령의 수컷 마우스에 상기와 같이 상처를 만들었다. 스타필로코커스 아우레우스 (ATCC 25923) 콜로니 하나를 취하여, 37°C에서 밤새 배양한 다음, OD₆₀₀=0.53으로 조절하였다. 스타필로코커스 아우레우스 1 mL을 10,000rpm으로 회전시키고, 멸균 PBS에 재현탁한 다음, 15 μ l를 사용하여 각 상처에 접종하였다. 접종 후 30분간 처리군에 sNAG 멤브레인을 적용하였다. 상처 발생 후 3일 및 5일째에 마우스를 안락사시키고, 8 mm 바이옵시 펀치를 이용하여 상처 피부를 회수하였다. 동물 당 상처 피부 하나를 4°C에서 4% 파라포름알데하이드에서 밤새 고정하고, 다른 상처 피부는 배양하여 박테리아 정량을 위해 항생제가 무첨가된 LB 배지 상에 도말하였다 (하기 참조). 조직 그람 염색용 상처 피부는 파라핀으로 포매시키고, 절편화하였다. 절편들을 자일렌으로 세척하고, 알코올 시리즈로 재수화한 다음 제조사에서 제시한 절차에 따라 조직 그람 염색 (Sigma-Aldrich)으로 염색하였다.
- [0241] 배양을 위해, 상처 절편을 30분간 37°C에서 교반하면서 배양한 0.5 ml 박테리아 배지에 배지시켰다. 콜로니 형성 단위 (CFU)를 37°C에서 밤새 배양한 희석물 시리즈에서 정량하였다. 플레이트/희석 당 콜로니의 수를 세고, CFU/ml로 계산하였다.
- [0242] sNAG 처리한 박테리아 배양물로부터 CFU/ml을 측정하기 위해, 스타필로코커스 아우레우스 액체 배양물에 sNAG를 다양한 농도로 (10.8 mg/ml sNAG 10 μ l 및 20 μ l) 3시간 동안 처리하였다. 그런 후, 배양물을 37°C에서 밤새 배양하여, CFU/ml을 측정하였다.
- [0243] **β -디펜신 3 펩타이드 적용:** 생물 활성 인간 β -디펜신 3 펩타이드 (Peptide Institute, Inc.)를 시험 농도 3가지 (1.0 μ M, 2.5 μ M, 5.0 μ M)로 사용하여, 전술한 감염된 상처 치유 모델에서 배양된 박테리아에 대한 효과를 검사하였다. 각 농도는 박테리아 증식에 부정적으로 작용하였으며, 그래서 최저 농도를 분석용으로 선택하였다. 각 상처에 스타필로코커스 아우레우스를 감염시킨 후, 펩타이드 10 μ l를 적용하였다. 3일 후, 상처를 회수하여, 절편화를 위해 포매시킨 다음 그람 염색하거나, 또는 전술한 바와 같이 CFU/ml 정량화를 위해 배양하였다.
- [0244] **β -디펜신 3 항체 차단:** 야생형의 수컷 마우스에 상처를 낸 다음, 전술한 바와 같이 스타필로코커스 아우레우스

15 μ l를 감염시켰다. 접종 후, 상처 부위 한곳에는 β -디펜신 3 항체 (Santa Cruz) 0.2 ug/mL을 처리하고, 다른 곳에는 정상 염소 IgG 대조 항체 (Santa Cruz) 0.2 ug/mL을 처리하였다. 0일째에 항체 처리한 후, 모든 마우스에 sNAG 멤브레인을 적용하였다. 항체는 24시간 마다 적용하였다. 3일째에 마우스를 안락사시키고, 8 mm 바이옵시 펀치를 이용하여 상처 생검을 취하였다. 상처 생검은 4°C에서 4% 파라포름알데하이드에서 밤새 고정시키고, 파라핀으로 포매한 다음 절편으로 자르고, 조직 그람 염색으로 분석하였다. CFU/ml 정량화는 전술한 바와 같이 3일째에 회수한 상처 생검으로부터 수행하였다.

[0245] **면역형광, 현미경:** 파라핀 포매한 조직 절편을 자일렌과 등급화된 알코올 시리즈를 처리하여 재수화시켰다. 절편에 0.01% Triton-X100을 처리하고, 항원 미은폐 용액(antigen unmasking solution) (Vector Laboratories)을 이용하여 가압하에 5분간 항원 부활(antigen retrieval) 과정을 수행한 다음, 냉각시켰다. 피부 절편을 β -디펜신 3 염소 다클론 항체 (Santa Cruz), involucrin 토끼 다클론 항체 (Santa Cruz), 및 TO-PRO 3-요오드화물 (Molecular Probes)로 표지하였다. 절편을 4°C에서 일차 항체와 밤새 인큐베이션한 다음, 실온에서 1시간 동안 적합한 2차 면역형광 항체 (Invitrogen)와 인큐베이션하였다. 각 항체에 대한 대조군 절편들은 일차 항체 첨가 없이 염색하였다. 조직 절편은 올림푸스 FluroView 레이저 스캐닝 공초점 현미경 (Model IX70)으로 가시화하고, 올림푸스 카메라 (Model FV5-ZM)와Fluoview 5.0 입수 소프트웨어를 이용하여 이미지를 포착하였다. 모든 조직 절편들은 60x 유침 렌즈 (oil immersion lens)를 이용하여 이미지를 영사하였다.

[0246] HUVEC는 혈청 고갈 처리하거나, 또는 배양물에서 5시간 동안 sNAG를 처리하고, α -디펜신 5 (FITC), β -디펜신 3 (Texas Red), 또는 TOPRO 3 (Blue)에 대한 항체로 염색하였다. 이미지는 면역형광 현미경으로 입수하였다. 세포 배양물의 디펜신 발현을 Zeiss Axiovert 100M 공초점 현미경을 이용하여 가시화하고, 주변 온도에서 매질로서 물을 이용하고 LSM 510 카메라 (Zeiss Fluor 63xW/1.2A objective)를 이용하여 이미지를 포착하였다.

[0247] **웨스턴 블롯 분석:** 내피세포는 주어진 시간 동안 sNAG (50 μ l/ml)로 자극시키기 전에, 혈청 고갈 처리하였다. 그런 후, 세포를 용혈시키고, 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 웨스턴 블롯 분석에 사용되는 항체는 다음과 같다: PI3K의 항-p85 서브유닛 및 포스포특이적인 Akt 항체 (Cell Signaling Technologies).

[0248] **6.2.2 결과**

[0249] **6.2.2.1. 각질형성세포와 내피세포는 sNAG에 의한 자극시 디펜신을 발현 및 분비한다**

[0250] 본 실시예는, sNAG 처리가 선천적인 면역 반응의 일군인 소형 항미생물 펩타이드인 디펜신의 발현을 조절함을 입증한다.

[0251] 시험관내에서 디펜신 발현에 대한 sNAG의 처리 효과를 조사하기 위해, 일차 인간 제대혈 내피세포 배양물을 사용하였다. 내피세포는 sNAG로 자극시 α -타입과 β -타입의 디펜신 둘다를 발현한다. 도 7A에 나타낸 바와 같이, sNAG로 처리된 내피세포에서는 자극 1시간 이내에 β -디펜신 3와 α -디펜신 1 mRNA 발현을 상향-조절하는 것으로 보여진다. 또한, sNAG 처리에 의한 α -디펜신 4 및 5의 유사한 상향-조절도 관찰되었다 (데이터 미기재). 25종 이상의 상이한 디펜신 유전자가 포함된 맞춤형 제작한 유전자 어레이를 사용하여, 일차 내피 세포에서의 α -타입의 디펜신과, 각질형성세포에서의 β -타입의 디펜신의 발현을 검증하였다. 내피세포의 sNAG 자극은, α -디펜신 1, 4 및 5와 β -디펜신 3의 특이적인 발현을 증가시키는 것으로 확인되었다. 아울러, 인간 각질형성세포의 sNAG 자극시, β -디펜신 유사 유전자들의 발현이 증가되었으며, 이들 수종은 표 1에 나타낸다. 이러한 결과들은, sNAG 자극에 반응하여, 3종 이상의 α -디펜신 유전자들과 β -디펜신 3가 일차 내피세포에서 발현되고, 복수의 β -디펜신 유전자들이 일차 각질형성세포들에서 발현됨을 시사한다.

[0252] **표 I: 유전자 어레이 분석을 통해 sNAG에 의해 상향-조절된 복수의 디펜신 유전자들이 확인된다**

표 2

HUVEC	유전자명	배수 변화	각질형성세포	유전자명	배수 변화
	α -디펜신 1	+1.36		β -디펜신 1	+1.4
	α -디펜신 4	+2.74		β -디펜신 126	+1.73
	α -디펜신 5	+2.46		β -디펜신 105B	+2.55
	β -디펜신 1	+2.19		β -디펜신 123	+1.65
	β -디펜신 4	+3.06		β -디펜신 129	+1.46

[0254] sNAG-의존적인 디펜신 발현이 또한 단백질 수준에서도 발생하는지를 검사하기 위해, sNAG로 자극한 내피세포를

대상으로 α 디펜신과 β 디펜신 둘다에 대한 항체들을 이용하여 면역형광 분석을 수행하였다. 도 7B에 나타낸 바와 같이, β -디펜신 3와 α -디펜신 5 둘다 상피 세포 타입에 sNAG 자극시 상향-조절되었다. 그러나, 일차 인간 각질형성세포 (HaCat)를 sNAG로 자극하는 경우에는 α -디펜신의 발현 증가는 발생되지 않았지만, β -디펜신 3의 발현은 증가되었다(도 7C). 요컨대, 이러한 실험들은, sNAG 자극이 일차 각질형성세포와 일차 내피세포 둘다에서 디펜신 펩타이드를 상향-조절시킴을 시사해준다.

[0255] **6.2.2.2. sNAG-의존적인 디펜신 발현에는 Akt1이 요구된다**

[0256] 기존에 공개된 데이터에 따르면, 일차 내피세포를 sNAG로 자극하면 인테그린의 활성화, Ets1 발현 및 MAP 키나제 활성화가 이루어지는 것으로 보인다 (Vournakis, J.N., et al., 2008, J Vasc Res. 45(3):222-32). 내피세포 및 드로소필라에서 Ets1의 상류 Akt1 위치가 발굴되었다 (Lavenburg, K.R., et al., 2003, FASEB J.17(15):2278-80). 디펜신 발현을 담당하는 신호전달 경로의 해명에 착수하기 위해, 내피세포를 혈청 고갈시키고, sNAG로 자극화하기 전에, PI3K (wortmannin) 또는 MAP 키나제 (PD098059)에 대한 약리학적 저해제로 사전-처리하였다. 정량적인 실시간 PCR 분석에서, α -디펜신 1 mRNA 수준은 PI3K/Akt 경로 또는 MAP 키나제 경로 중 한가지 경로를 저해한 후에, 크게 감소되는 것으로 나타났다 (도 8A). β -디펜신 3의 RT-PCR에서도, 이들 경로의 저해에 의해 수준이 마찬가지로 감소되는 것으로 나타났다 (도 8B). 단기간 내피세포에 sNAG를 처리하면 Akt1의 활성화의 표준 지표인 Akt1의 인산화가 이루어진다 (도 8C). Akt1이 실제 디펜신 발현에 필요한지를 검증하기 위해, Akt1을 겨냥한 shRNA를 렌티바이러스로 전달하는 방식을 사용하였다. sNAG를 처리한 후, 스크램블형 (SCR) 대조군 또는 Akt1 shRNA로 감염된 혈청 고갈 처리된 내피세포의 정량적인 RT-PCR을 통해, Akt1 발현이 sNAG-의존적인 α -디펜신 발현에 필요하다는 것이 검증되었다 (도 8D). β -디펜신은 상피 세포에서 발현되는 것으로 알려져 있기 때문에, Akt1을 겨냥한 렌티바이러스에 의한 shRNA 전달을 인간 각질형성세포 (HaCat)에 대해 사용하였다. 스크램블형 (SCR) 대조군을 감염시킨 혈청 고갈 처리된 각질형성세포에 sNAG 처리시, Akt1 낮다운에 의해 정지되는, β -디펜신 3의 발현이 현저하게 증가되었다 (도 8E). 이러한 결과는, sNAG 처리가 내피세포에서 Akt1을 활성화시킨다는 것을 보여주며, sNAG-의존적인 디펜신 발현에는 내피세포와 각질형성세포 둘다 Akt1을 필요로 한다는 것을 강력하게 시사해준다.

[0257] **6.2.2.3. 피부 상처 부위로의 sNAG 처리는 디펜신 발현을 생체내에서 증가시킨다**

[0258] 생체내에서 디펜신 발현이 Akt1 의존적인지를 검증하기 위해, 절제 상처 치유 모델로 야생형 및 Akt1 null 동물을 사용하였다. 대부분의 포유류의 백혈구에서는 α -디펜신을 발현하지만 (인간, 토끼, 랫 및 햄스터), 마우스의 백혈구는 α -디펜신을 발현하지 않는다. 따라서, 이들 마우스 모델에서의 β -디펜신 발현에 초점을 맞추었다. 피부 상처에 얇은 생분해성 막으로 sNAG를 건조된 형태로 3일간 처리하였을 때, 야생형 동물의 각질형성세포에서 β -디펜신 3의 발현이 통계적으로 유의하게 증가되었다 (도 9A). Involucrin (Watt, F.M., 1983, J Invest Dermatol. 81(1 Suppl):100s-3s) 염색 (붉은색)을 이용하여 각질형성세포의 층들을 표시하였고, β -디펜신 3의 발현이 상피 층으로만 국한되는 것으로 나타났다. sNAG-의존적인 디펜신 발현이 Akt1에 의존적인지를 평가하기 위해, Akt1 null 동물 모델을 이용하여 유사 분석을 수행하였다. sNAG 멤브레인을 처리한 Akt1 null 마우스의 경우 상처에서 β -디펜신 3 발현 유도가 현저하게 감소된 것으로 나타났다 (도 9A). β -디펜신 3를 발현하는 상피층을 더 잘 보기 위해, 도 9B에 3일째 회수한 야생형 동물의 sNAG 처리 상처의 사진을 도시한다. 피부 상처로의 sNAG 처리는 주로 피부의 초기저(suprabasal) 층에서의 β -디펜신 3의 발현을 유도하였다 (도 9B). 도 9C에 나타난 정량 분석 결과는, sNAG 처리된 야생형 동물에서의 β -디펜신 3 발현 증가율이 대략 5배이고, 이러한 증가에는 Akt1이 필요함을 보여준다.

[0259] **6.2.2.4. sNAG 처리는 WT 동물에서 상처 봉합 속도를 증가시킨다**

[0260] 이전의 결과들은 sNAG 처리에 반응하여 당뇨병 마우스 모델에서의 상처 봉합 속도가 증가됨을 입증해주었다. 야생형 동물에서의 유사 효과를 sNAG로 조사하였다. 야생형 동물에 절제 상처를 만들고, sNAG 멤브레인 형태를 처리하거나 무처리하였다. 조직 절편을 상처 발생 후 1일, 3일 및 5일째에 취하여, H&E 염색을 수행하였다. 도 10에 나타낸 바와 같이, 야생형 상처에 sNAG 처리시 상처 발생 후 3일째에 굵은 선으로 표시한 바와 같이 완전한 봉합이 이루어졌다. 이는 대조군 상처 보다 2일 일찍 이루어졌다. Akt1 null 동물에서는 상처 봉합이 지연되는 것으로 나타났고; 이들 동물들은 상처 발생 후 7일째까지 완전히 봉합되지 않았다. Akt1 null 동물에서의 상처 봉합 지연은 sNAG 처리에 의해 회복되지 않았다 (데이터 미기재). 이러한 사실은, sNAG가 디펜신 발현을 유도할 뿐만 아니라 야생형 마우스에서의 상처 치유 속도를 빠르게 함을 시사하며, 새롭고 유효한 치료제일 수 있음을 보여준다.

[0261] **6.2.2.5. sNAG는 스태필로코커스 아우레우스에 대한 효과적인 항미생물제이다**

- [0262] 디펜신 펩타이드는 그람 양성 박테리아와 그람 음성 박테리아에 대해 활성인 항미생물 특성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 내피세포로의 sNAG 처리는 디펜신 발현 (α - 및 β -타입 둘다)을 증가시키고, 피부 상처로의 sNAG 처리는 β -디펜신 3 발현을 생체내에서 급격하게 증가시키므로, 박테리아 감염된 상처에 대한 sNAG 처리의 항미생물 효능이 확인되었다.
- [0263] sNAG가 피부 상처에서 박테리아의 양을 감소시키는지 확인하기 위해, 야생형 및 Akt1 null 동물을 대상으로 피부 상처 치유를 수행한 다음 스타필로코커스 아우레우스를 감염시켰다. 감염된 상처에는 감염 후 3일 또는 5일 동안 sNAG를 처리하거나 처리하지 않고 두었다. 도 11A 및 11B에서 조직 그람 염색으로 알 수 있는 바와 같이, sNAG로 처리된 야생형 동물에서는 무처리 상처와 비교하여 상처 발생 후 5일까지 그람 양성 염색에 현저한 감소가 나타났다. 이와는 대조적으로, Akt1 null 동물의 경우, 상처 발생 후 5일째에 무처리 상처의 그람 염색한 조직에서는 그람 양성으로 염색된 호중구가 축적되었으며 (도 11B), 이는 sNAG 처리에 의해 회복되지 않는 이들 동물에서는 박테리아 제거 잠재력이 없음을 의미한다. 이러한 결과들은, Akt1 null 동물이 sNAG 처리에 의해 회복되지 않는 면역 제거(immune clearance) 이전에 결함이 있음을 시사한다.
- [0264] sNAG-특이적인 박테리아의 콜로니 형성 단위 (CFU) 변화를 정량하기 위해, 야생형과 Akt1 null 마우스의, sNAG 처리 또는 무처리된, 감염된 상처를 수집하여 배양하였다. 도 11C에 나타난 바와 같이, 상처 발생 후 5일째에, 박테리아의 수는 sNAG 처리한 야생형 동물에서 현저하게 (10배) 감소되었다. 그러나, Akt1 null 동물에서 검출되는 박테리아의 수는 야생형과 비교하여 감소되었지만, sNAG 처리는 Akt1 null 동물에서의 박테리아의 절대 수에는 거의 효과가 없었다. 감염 후 3일 째에 (도 11D), sNAG 처리된 야생형 마우스에서의 CFU는 무처리 대조군과 비교하여 비슷하게 10배 감소되었다. sNAG 처리된 Akt1 null 동물에서는 무처리 Akt1 null 동물과 비교하여 CFU의 2배 감소가 확인되었다. 일반적으로, Akt1 null 동물들은 상처 부위 당 박테리아의 양이 적었는데, 이는 디펜신 발현 외에도 다른 프로세스에 대한 Akt1-의존적인 작용을 반영할 수 있다. 이러한 결과들은, sNAG 처리가 Akt1 null 마우스가 아닌 야생형 마우스에서 감염된 피부 상처내 박테리아 수를 현저하게 감소시킨다는 것을 시사하며, 이는 디펜신이 항세균성 반응을 매개할 가능성을 시사한다.
- [0265] sNAG 처리의 항세균 효과가 박테리아 증식 또는 생존에 대한 나노섬유의 직접 효과에 의한 것인지를 보기 위해, 스타필로코커스 아우레우스 박테리아 배양물에 다양한 함량의 sNAG로 용액 중에서 3시간 처리하고, 콜로니 형성 단위를 측정하였다. 도 11E에 나타난 바와 같이, sNAG 처리는 스타필로코커스 아우레우스의 증식에 직접적인 효과가 없었는데, 이는 sNAG가 박테리아 증식을 직접적으로 저해하지 않으며, 디펜신의 상향 조절을 통해 작동할 수 있음을 의미한다.
- [0266] **6.2.2.6. 디펜신 펩타이드의 적용은 sNAG 항세균 효과를 모방한다**
- [0267] 디펜신 펩타이드의 첨가가 sNAG 처리에서 나타나는 결과와 유사하게 박테리아 감염을 차단할 수 있는지를 확인하기 위해, 전술한 바와 같이 야생형 마우스에 상처를 만들고 스타필로코커스 아우레우스를 접종한 다음, 생물학적으로 활성인 인간 β -디펜신 3 펩타이드 (1.0 μ m)를 3일간 처리하였다. 조직 바이옱시를 조직 그람 염색으로 염색하고, CFU를 정량하였다. 도 11F-G는 이들 실험의 결과를 나타낸다. 감염된 마우스에 β -디펜신 3 펩타이드를 처리하면 박테리아 수가 감소되어, sNAG를 처리한 야생형 마우스에서 나타나는 결과와 유사하게, 생활성 박테리아가 약 7.5배 감소되었다 (도 11G).
- [0268] 디펜신 발현을 유도하는 기전들 중 하나는 박테리아 LPS에 의한 자극을 통해, Toll 유사 수용체의 활성화를 통해 이루어질 가능성이 있다 (Selsted, M.E. and A.J. Ouellette, 2005, Nat Immunol. 6(6):551-7). 박테리아 감염만으로도 β -디펜신 발현을 테스트한 기간 이내에 유도할 수 있는지를 테스트하기 위해, 상처 유발 후 3일 후 야생형 동물의 감염된 상처에서 β -디펜신의 발현을 조사하였다. 도 12A에 나타난 바와 같이, 박테리아 감염 단독으로는, sNAG 처리에서 확인된 바와 같이, 감염 3일 이내에 β -디펜신의 발현을 유도하지 못하였다. 그러나, 야생형 동물에서 감염된 상처에 대한 sNAG를 처리하면 비슷한 기간 이내에 β -디펜신의 발현이 약 3 내지 5배 증가되었다 (도 12B). 이러한 결과는, sNAG 처리가 디펜신 발현을 신속하게 유도하여, 스타필로코커스 아우레우스 감염된 상처에서 박테리아를 상당히 제거함을 시사해준다.
- [0269] **6.2.2.7. β -디펜신 3에 대한 항체는 sNAG의 항세균 효과를 차단한다**
- [0270] 디펜신은 분비형 단백질이기에, 본 발명자들은, β -디펜신 3에 대한 항체가 항세균 활성을 차단할 수 있다고 가설을 만들었다. 이 가설을 테스트하기 위해, 전술한 바와 같이, 상처를 만들고 스타필로코커스 아우레우스를 감염시킨 다음 sNAG를 처리하였다. 상처에 β -디펜신 3 항체 또는 이소형 대조군 중 하나를 처리하였고, 3일간 매일 1회 적용하였다. 상처 절편을 회수하여 그람 양성 박테리아를 염색하였다. 도 13A에 나타난 바와 같이,

β -디펜신 항체가 처리된 상처의 절편에서의 그람 양성 박테리아가 이소형 대조군 항체를 처리한 경우에 비해 보다 많았다. 각 확인된 절편은 딱지 바로 밑에 있는 상처 부위에서 취하였다. 이들 상처 부위에서의 CFU 정량화를 통해, 스태피로코커스 아우레우스 감염시킨 상처에 sNAG를 처리하기 전에 β -디펜신 3를 중화시킨 결과, 박테리아가 현저하게 증가되는 것으로, 확인되었다. IgG 이소형 대조군으로 처리된 동물의 경우, 생활성 박테리아의 약 5배 감소가 확인되었다 (도 13B). 요컨대, 이들 결과들은, sNAG 처리가 상처 치유 속도를 증가시킬 뿐만 아니라, 내인성 항세균 반응을 촉진시키고, 상처 감염을 동시에 감소시키지 않으면서 새로운 상처 치유 강화 요법으로서의 본 나노섬유의 용도를 뒷받침해주는 것으로, 보인다.

[0271] **6.2.3 결론**

[0272] 여기에서 확인된 결과들은, 해양 구조 유래 나노섬유, sNAG는, 상처 감염을 동시에 낮추면서 상처 치유를 강화하는 새로운 효과적인 방법으로서 사용할 수 있음을 입증해준다. 데이터는, 지혈용으로 현재 사용되는 이러한 FDA 승인받은 물질이, 일차 내피세포에서 α 및 β 타입의 디펜신 둘다의 발현을 자극하고, 일차 각질형성세포에서의 β -타입의 디펜신의 상향-조절을 자극함으로써 보여준다.

[0273] 디펜신은 선천적인 면역시스템의 필수 요소이다. 이 펩타이드는 그람 양성 및 그람 음성 박테리아, 진균 및 수많은 바이러스에 대해 활성인 항미생물 특성을 가지고 있다. 디펜신은 포유류, 곤충 및 식물에서 확인되는 소형 (3-4 kDa) 시스테인 함유량이 높은 양이온성 펩타이드이며, 이황화 결합 패턴에 따라 여러가지 유형(α , β 및 θ)으로 분류된다. α -디펜신은 호중구에 특이적인 것으로 생각되며, 매우 고 농도로 발견되며 (총 세포 단백질의 약 5-7%를 차지함) (Ganz, T. and R.I. Lehrer, 1994, Curr Opin Immunol. 6(4):584-9), 항미생물 반응이 이루어지는 동안에 방출된다 (Ganz, T., 1987, Infect Immun. 55(3):568-71). 또한, 토끼 폐포 대식세포는 토끼 호중구와 비슷한 수준으로 α -디펜신을 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Ganz, T., et al., 1989, J Immunol. 143(4):1358-65). β -디펜신은 상피 세포 타입들, 예컨대 각질형성세포, 점성 상피세포 (Harder, J., et al., 1997, Nature 387(6636):861; 및 Harder, J., et al., 2001, J Biol Chem. 276(8):5707-13), 구강 조직 및 침샘 (Mathews, M., et al., 1999, Infect Immun. 67(6):2740-5), 및 감염성 또는 염증성 자극에 반응하여 상향-조절될 수 있는 신장에서 발견된다 (Ganz, T. and R.I. Lehrer, 1994, Curr Opin Immunol. 6(4):584-9). 인간 β -디펜신 1 (hDEFB1)은 상피 조직의 가장 중요한 항미생물 펩타이드들 중 한가지이다. 디펜신 발현 및 분비는 상처 치료제 창안에 매우 중요할 수 있다. 디펜신에 의한 항미생물 작용은 선천 면역의 일부분으로 간주되며, 비특이적이며 넓은 스펙트럼을 가진다. 따라서, 항생제 과다 사용에서 확인되는 바와 같은, 박테리아 내성 획득은, 발생되지 않는다.

[0274] 본원에 제시된 데이터는 또한 시험관내 및 생체내 Akt1이 디펜신 발현에 필요함을 입증해준다. sNAG 처리는 야생형 대조군 동물에서 피부 상처에 대한 스태피로코커스 아우레우스 감염을 감소시키지만, 비슷하게 처리한 Akt1 null 동물에서는 그렇지 않았다. 또한, 야생형 경피 상처를 sNAG로 자극하면 상처 봉합 속도가 증가한다는 점에 주목해야 한다. β -디펜신을 항체로 차단하면 sNAG-항세균 활성이 감소된다. 요컨대, 이러한 결과들은, 박테리아 감염의 제거를 담당하는 디펜신의 발현 조절에 있어서의 Akt1의 중요한 역할을 시사해주며, sNAG 처리가 야생형 동물에서 이들 경로들을 활성화시킴을 보여준다.

[0275] 데이터에 따르면, 감염된 상처에 sNAG의 처리는 디펜신 발현의 유도를 통해 적어도 부분적으로 환자에서 박테리아의 수를 현저하게 낮출 수 있는 것으로 보인다. 스태피로코커스 아우레우스는 피부와 코에서 서식하는 흔히 발견되는 박테리아이다. 이 균주는 종종 수술 후 상처 감염을 야기하는 병원내 감염의 일반적인 요인이다. 병원에서의 스태피로코커스 아우레우스 감염은 수년간 건강관리 종사자들에서 유행하고 있으며, 치료하기 위한 항생제의 과도한 사용으로 항생제 내성 균주가 출현하게 되었다. 본원에 제시된 데이터는, Staph 감염된 상처를 sNAG로 치료하면 박테리아의 수가 급격하게 감소됨을 보여준다. 예컨대, 도 11A 및 11B에서, WT 치료 마우스에서 진보라색의 그람 염색의 미비는, 스태피로코커스 아우레우스 감염이 이들 상처에서 제거되었음을 의미한다. 시험관내 및 생체내 데이터 모두, 박테리아 감염을 감소시켜, 상처 치유를 강화하기 위한, 상처 치료에 있어서의 Taliderm/sNAG의 용도에 대한 강력한 증거를 제공한다.

[0276] 대조 실험에서, sNAG의 항세균 효과가 물질과 박테리아 간의 직접 상호작용에 의한 것이 아니라, Akt1 활성화에 의한 디펜신의 조절 등의 하류 작용이 원인인 것으로 확인된다. 디펜신이 선천 면역에 중요한 작용자이며 항미생물 활성에 작용한다는 것은 널리 용인되는 사실이다. 디펜신 기능에 대한 대부분의 증거는, 정제된 디펜신 펩타이드를 이용한 시험관내 혼합 실험들 (Selsted, M.E. and A.J. Ouellette, 2005, Nat Immunol. 6(6):551-7)에서의 또는 정제된 활성 펩타이드의 직접 적용을 이용하는 도 11에 나타난 바와 같은 유사 실험에서의, 박테리아 직접 사멸이다. 본원의 데이터에 따르면, 야생형 동물에 sNAG를 국소 적용함으로써 디펜신의 발현을 유도

한 결과, 항세균 반응이 이루어지는 것으로 확인된다. 최근에는, 인간 디펜신 3 유전자를 발현하는 형질전환 마우스 모델이, 야생형 동물의 사망을 발생시키는 감염인 스타필로코커스 아우레우스에 대해 내성을 나타낸다는 것이, 입증되어 (Salzman, N.H., et al., 2003, Nature 422(6931):522-6), 다시금 항미생물 반응 조절에서의 디펜신의 중요성이 시사되었다.

[0277] 디펜신의 α -서브유닛은 호중구에서 특이적으로 발현하는 반면, β -타입 디펜신은 본래 상피에 존재하는 것으로 알려져 있다. 배양시와, 피부 상처 치유 모델 둘다에서, 인간 각질형성세포네트 sNAG의 반응하여 유도되는 β -타입의 디펜신 발현이 검출되었다. 생체내 데이터는, β -디펜신 3는 주로 sNAG로 처리한 후 초기저층에서 발현됨을 보여준다. 이는 피부의 유극층과 과립층으로 인간 β -디펜신 2가 국지화됨을 보여주는 기존 데이터와 부합된다 (Oren, A., et al., 2003, Exp Mol Pathol. 74(2):180-2). 피부는 상해 및 감염에 계속적으로 접촉되며, 기계적인 장벽으로서 기능할 뿐만 아니라 감염에 대한 활성 방어를 구축하는 능력을 유지하고 있다. 피부의 외층에서의 β -디펜신의 발현은 피부의 선천적인 면역에서의 그 역할을 뒷받침한다. 그러나, 데이터는, 내피세포에서의 3종의 α -디펜신 (1, 4 및 5)의 발현을 sNAG가 특이적으로 자극함을 보여준다. 이는, RT-PCR, 유전자 어레이 분석, 면역형광 및 ELISA에 의해 확인된다 (데이터 미기재). 조직 회복에서의 내피세포와 백혈구 간의 상호작용은 상처 치유의 초기 단계와 대부분의 중요한 단계들 중 한 단계이다. 맥관 구조로부터 백혈구의 관외 유출 과정은 주화성 인자에 의해 개시되며, 따라서, α -디펜신이 sNAG에 의해 유도되며, 필수 호중구/내피세포 상호작용에 기여할 수 있다는 점에서 흥미롭다. 최근에는, 디펜신이 미생물 세포의 저해 이상의, 수상 돌기 (Hubert, P., et al., 2007, FASEB J. 21(11):2765-75)와, T 세포, 단핵구 및 대식 세포 (Garcia, J.R., et al., 2001, Cell Tissue Res. 306(2):257-64), 그리고 각질형성세포 (Niyonsaba, F., et al., 2007, J Invest Dermatol. 127(3):594-604)에 대한 주화성을 나타냄으로써 후천적인 면역 반응에 기여하는 등의 생물학적 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 이전의 연구를 통해, 인간 β 디펜신 1과 2가 미성숙 수상 돌기 세포와 T 세포를 CC-케모카인 수용체 6 (CCR6)를 통해 주화성으로 유인하는 능력을 가지며 (Yang, D., et al., 1999, Science 286(5439):525-8), 인간 β 디펜신 2가 CCR6 수용체를 통해 TNF α 처리된 호중구를 주화성으로 유인할 수 있는 것으로 확인되었다 (Niyonsaba, F., H. Ogawa, and I. Nagaoka, 2004, Immunology 111(3):273-81). 또한, 인간 β -디펜신 2와 3는 대식세포, 단핵구 및 호중구에서 발현되는 수용체인 CCR2와의 상호작용에 의해 주화성을 유도하는 것으로 확인되고 있다 (Rohrl, J., et al., 2010, J Immunol, 2010). 흥미롭게도, 데이터에 따르면, sNAG 처리가 내피세포에서 α 및 β -디펜신 둘다의 발현을 유도한다. 요컨대, 최근 데이터에서는, 디펜신이 이의 항미생물 특성에 의해서 뿐만 아니라 적절한 치유가 필요한 다른 세포 타입에 대한 주화성에 의해서도 상처 치유를 매개할 수 있음을 시사해준다. 그러나, β -디펜신 3의 단독 적용만으로는, 상처 봉합은 증가되지 않았는데 (데이터 미기재), 이는 단일 디펜신의 국소 적용이 주화성, 세포 동원 및 상처 봉합 증가에 필수적인 세포 상호작용을 유지시키지 않는다는 것을 암시한다.

[0278] 야생형과 Akt1 낮다운 동물 2가지를 이용한 생체내 데이터에서, sNAG-유도성 β -디펜신 3 발현에 Akt1이 필요 조건임이 검증되었다. 마우스 백혈구는 다른 포유류 백혈구 대부분과 유사하게 α -디펜신을 발현하지 않기 때문에 (Ganz, T., 2004, C R Biol. 327(6):539-49), 침윤성 면역 세포의 생체내 α -디펜신 염색은 불가능하였다. 기도 상피 세포에 α 디펜신 1-3을 시험관내에 처리하면, PI3K 및 MAPK 경로의 활성화가 필수적인 세포 이동이 용량 및 시간 의존적인 양상으로 증가되었다 (Arbiou, J., et al., 2004, Am J Respir Cell Mol Biol. 30(2):193-201). 내피세포의 sNAG 자극은 MAPK의 활성화를 발생시키는 것으로 확인되었으며 (Vournakis, J.N., et al., 2008, J Vasc Res. 45(3):222-32), 본원에 제시된 데이터에 따르면, MEK의 약리학적 저해는 또한 디펜신의 발현을 시험관내에서 저해한다. 이러한 결과들은 이들 2가지 경로가 sNAG에 의한 디펜신의 발현 조절에 영향을 미친다는 것을 시사하며, Akt1을 제거하면 시험관내 및 생체내에서 이의 발현이 현저하게 감소되었다. 골수 세포에서, β -디펜신 1 발현은 부분적으로 Ets-패밀리 구성원 PU.1에 의해 전사 수준에서 제어된다 (Yaneva, M., et al., 2006, J Immunol. 176(11):6906-17; 및 Ma, Y., Q. Su, and P. Tempst, 1998, J Biol Chem. 273(15):8727-40). PU.1은 B 세포 계통에서의 Akt1의 하류 타겟이다 (Rieske, P. and J.M. Pongubala, 2001, J Biol Chem. 276(11):8460-8). 일차 내피세포에서, Akt1은 드러소필라에서 기관지 발생기에 시험관내 및 생체내에서 Est1의 상류인 것으로 확인되었다 (Lavenburg, K.R., et al., 2003, FASEB J. 17(15):2278-80). 내피세포의 sNAG 자극으로 내피 세포의 이동에 필수적인 Est1의 발현이 (아마도 Akt1을 통해) 증가하였다 (Vournakis, J.N., et al., 2008, J Vasc Res. 45(3):222-32).

[0279] 따라서, 지금까지 sNAG 처리로 인해 일련의 후속적인 활성들이 이루어진다: 지혈, 세포 이동, 세포 증식, 상처 봉합 증가 및 전술한 바와 같이 항세균 기능을 발현하는 선천적인 면역 반응의 자극.

[0280] 만성적인 상처와 상처 감염으로 인한 합병증을 앓고 있는 집단에서 당뇨병 환자의 극적인 증가를 감안하면, 새

로운 임상 치료제가 매우 필요하다. 이점에서, 조류 유래의 pGlcNAc 나노섬유는 상처 치유 속도를 높일 뿐만 아니라 선천적인 면역을 자극하여 항세균 활성을 제공하는 것으로 기술된다. 이러한 사실에 대한 분명한 중요성은 병원내 감염에 적용된다. 병원내 감염 중에서도 수술 상처 감염이 가장 많으며, 통계적으로 모든 수술 환자들 중 최대 8%에서 발생한다. 이러한 유형의 감염에 대한 직접 비용은 연간 대략 450억 달러에 이른다. 디펜신이 선천 면역 시스템의 일부라는 것을 감안하면, 이들 경로를 활성화함으로써 내성 유기체의 발생을 차단할 수 있을 뿐만 아니라 박테리아 감염을 항생제-독립적인 방식으로 소거할 수 있을 것이다. 병원 환경에서의 sNAG의 사용은 많은 비용을 부담하게 될 것이며, 항생제 내성 종의 발생을 현저하게 줄일 수 있을 것이다. 요컨대, 이러한 사실들은, 이들 조류 유래의 pGlcNAc 나노섬유가 임상적인 영역에서 매우 유익함을 시사한다.

6.3 실시예 3: sNAG는 슈도모나스 에어루지노사에 대한 효과적인 항미생물제이다

본 실시예는 sNAG 나노섬유가 슈도모나스 에어루지노사에 대해 생체내 항세균 활성을 가짐을 보여준다.

재료 및 방법: 8-12주령의 야생형 C57Bl/6 수컷 마우스에 4 mm 바이옵시 펀치 (Miltex)로 상처를 만들어, 양쪽 옆구리에 2개의 동일한 상처를 내었다. 마우스는 O₂/이소플루란 기화 마취 장치 (VetEquip, Inc.)를 이용하여 마취시켰다. 이소플루란은 유도시에는 4%로 사용하고, 수술시에는 2%로 사용하였다. 외과적 시술하기 전에, 털을 제거하고, 슈도모나스 에어루지노사를 취하여 37°C에서 밤새 배양하고, OD₆₀₀ = 0.53으로 조정하였다. 각 상처에 슈도모나스 에어루지노사를 1.5x10⁹ cfu/상처로 접종하였다. 접종 후 30분 후에, 상처 부위에 증류수로 젖신 sNAG 멤브레인을 처리 (실험군, n=6)하거나 처리하지 않고(대조군, n=6) 두었다. 3일에, 동물을 안락사시키고, 8 mm 바이옵시 펀치 (Miltex)를 이용하여 주변 피부를 포함하여 전체 상처 부위를 도려냈다. 동물 당 상처 1개씩 4°C에서 밤새 4% 파라포름알데라이드에서 고정한 후, 파라핀 포매한 다음, 분석하기 위해 조직 절편을 만들었고, 다른 상처는 배양하여 박테리아 정량화를 위해 항생제가 첨가되지 않은 LB 배지에서 배양하였다. 배양을 위해, 상처 절편은 0.5 ml 박테리아 배지에 넣고, 교반하면서 37°C에서 30분간 인큐베이션하였다. 37°C에서 연속 희석물을 밤새 배양하는 방법을 이용하여 콜로니 형성 단위 (CFU)를 정량하였다. 플레이트 당/희석 당 콜로니의 수를 세어, CFU/ml을 산출하였다.

결과: 그람 음성 박테리아로 감염된 상처에 대한 sNAG 처리 효능을 평가하였다. 도 14에 나타낸 바와 같이, 감염 3일 후, 박테리아의 수는 sNAG 처리한 동물에서 무처리 동물에 비하여 현저하게 감소 (2배 이상)되었다. 이는, sNAG 처리가 감염된 피부 상처에서 (실시예 2에서 확인된 그람 양성 박테리아의 수를 감소시킬 뿐만 아니라) 그람 음성 박테리아, 특히 슈도모나스 에어루지노사의 박테리아의 수를 현저하게 감소시킴을 시사한다.

6.4 실시예 4: sNAG 나노섬유는 디펜신과 Toll 수용체 유전자들 다수의 발현을 상향조절한다.

본 실시예는 다수의 디펜신과 Toll-유사 수용체들이 인간 내피세포의 sNAG 처리에 의해 상향조절됨을 보여준다.

재료 및 방법: 인간 칩 프로브들을 예폭시 슬라이드 상에 프린팅하였다. HUVEC 세포를 6.2 항목에 기술된 바와 같이 배양한 다음, 5시간 동안 sNAG 나노섬유 ("sNAG")로 처리하였다. RNAsol (Teltest, Inc.)을 제조사의 지침에 따라 사용하여 RNA를 추출하고, 이를 Amino Allyl MessageAMP™ II aRNA 증폭 키트 (Applied Biosystems)로 증폭시키고, 표지하였다. RT O/N에서 블로킹 용액 (Sigma Tris-완충화된 염수 pH 8.0, 1000 ml dH₂O, 1% BSAw/v, Na₂S₂O₈ 0.05%)에 침지함으로써, aRNA와의 혼성화용 슬라이드를 준비하고, 세척 후 건조하였다. sNAG-처리 세포 유래의 표지된 타겟 aRNA가 함유된 샘플을 상기 슬라이드와 혼성화 (65 μl/슬라이드; 5분간 95°C에서 변성; 48시간 37°C에서 혼성화, 0.1% SDS + 5 X SSC + 1% BSA)한 후, 세척 및 건조하였다. 퍼킨-엘머의 스캔어레이 장치 및 스캔어레이 익스프레스 소프트웨어 V3.0, updated로 슬라이드를 스캐닝하고, 혼성화를 검출하였다. 상향 조절된 유전자를 동정하기 위해, Agilent GeneSpring GX v.11 생물정보 데이터 분석을 이용하여 마이크로어레이 데이터를 분석하였다.

분석 대상 유전자들: IL-1, CEACAM3, SPAG11, 디펜신 ("DEFA" = α-디펜신, 및 "DEFB" = β-디펜신); Toll-유사 수용체 ("TLR"), SIGIRR (단일 IG IL-1-관련 수용체), 및 TRAF6 (TNF 수용체 관련 인자 6). 양성 대조군: 1433Z (티로신-3-모노하이드로게나제/트립토판 5 모노하이드로게나제 액티션 단백질); GAPD (글리세르알데하이드-3-포스페이트 데하이드로게나제); RPL13A (리보솜 단백질 L13a); UBC (유비퀴틴 C); ACTB (액틴 B).

결과: 마이크로어레이 유전자 칩 분석 결과와 마이크로어레이 결과에 대한 Q-PCR 검증 결과는 아래 표 II-VI에 나타낸다. 커스텀 유전자 칩을 이용하여, 복수의 디펜신 및 Toll-유사 수용체가 인간 내피세포의 sNAG 처리에 의해 상향 조절됨을 확인하였다.

[0290] Toll-유사 수용체 (TLR)는 박테리아 구성성분의 특이적인 분자 패턴을 인지하여, 선천적인 면역의 활성화를 유도하는, 고도로 보존된 수용체이다. 흥미롭게도, 드로소필라에는 후천적인 면역 시스템이 없지만, 여전히 미생물 감염에 내성을 나타낸다 (Imler, J.L. and J.A. Hoffmann, 2000, Curr Opin Microbiol, 3(1):16-22). 이러한 숙주 방어는 TLR에 의해 유도되는 항미생물 펩타이드인 dToll 및 18-wheeler의 합성에 의해 방어를 제공하는 선천적인 면역 시스템의 결과이다 (Lemaitre, B., et al., 1996, Cell 86(6):973-83; 및 Williams, M.J., et al., 1997, EMBO J. 16(20):6120-30). 또한, 최근 연구에서는 인간 디펜신 발현을 TLR 활성화와 연결시켰다. 인간 β -디펜신 2는 TLR-2 의존적인 방식으로 기도의 상피 세포에서 유도되는 것으로 확인되었다 (Hertz, C.J., et al., 2003, J Immunol. 171(12): p. 6820-6). Toll-유사 수용체 4는 단핵구에서 클라미디아 뉴모니아에 반응하여 이루어지는 인간 β -디펜신 2의 유도를 매개하는 것으로 확인되었다 (Romano Carratelli, C., et al., 2009, FEMS Immunol Med Microbiol. 57(2):116-24). 중요한 점은, PI3K/Akt 경로가 병원체에 대한 세포성 반응을 조절하는 TLR 신호 전달의 중요한 요소라는 것이다 (Weichhart, T. and M.D. Saemann, 2008, Ann Rheum Dis. 67 Suppl 3:iii70-4). TLR의 자극이 디펜신 합성 증가를 유발할 수 있는 것으로 알려져 있어, 본 연구는, 선천 면역과 Akt1의 활성화를 통한 박테리아 제거의 자극인자로서의 sNAG의 가능성을 제안한다.

[0291] 표 II: sNAG 자극에 반응하여 상향 조절된 유전자들 중 일부 리스트

표 3

유전자	기능
IL-1	면역 방어에 참여하는 전염증성 사이토카인
CEACAM3	수종의 박테리아 종에 대한 식균 작용을 지시하는 세포 부착 분자
SPAG11	항미생물 특성을 나타내는 β -디펜신-3 유사 분자
디펜신	항미생물 활성을 나타내는 디펜신 시리즈
TLR	Toll-유사 수용체: 감염으로 세포성 반응을 자극하는데 중요한 인자

표 4

유전자	리간드/기능	유도 배수
TLR1	박테리아 및 미코박테리아 유래의 트리아실 리포펩타이드	7.6
TLR4	LPS, 바이러스 단백질, Hsp60 (클라미디아)	5.064
TLR7	합성 화합물	3.271
TLR8	합성 화합물	2.067
TRAF6	하류 신호전달 모듈레이터	6.167
SIGRR	IL-1 수용체 관련 TLR 모듈레이터	5.895

[0294] 표 III: 디펜신 마이크로어레이 유전자 발현

[0295] (sNAG에 대한 HUVEC 반응, 10 μ g/ml, 5시간)

표 5

유전자 명 [Oligo ID]	HUVEC_10s_48h37C 정규화됨 (배수)
D107A_HUMAN [H300005354]	4.2 (2.6 - 5.2)
DEFA4 [H200000646]	4.2 (3.243 - 4.946)
DEFA5 [H200005803]	4.8 (3.664 - 6.123)
DEFB1 [H200004191]	2.7 (1.7 - 3.7)
DEFB103A [H300008014]	9.8 (7.4 - 12.5)
DEFB118 [H200017001]	2.7 (1.502 - 4.779)
DEFB119 [H300002796]	6.2 (4.68 - 8.04)
DEFB123 [H300009262]	8.9 (7.791 - 11.1)
DEFB124 [H300001942]	3.8 (1.6 - 5.1)
DEFB126 [H200012496]	9.2 (8.286 - 10)
DEFB129 [H300005026]	5.2 (4.338 - 6.277)
ACTB_HUMAN [H300006234]	6.8 (6.603 - 7.284)
GAPD [H200007830]	16.9 (12.81 - 21.13)
RPL13A [opHsV04TC000041]	9.4 (7.311 - 12.01)

UBC [H200014214]	7.2 (5.789 - 9.979)
1433Z_HUMAN [opHsV04TC000038]	0.6 (0.4 - 0.844)

[0297] 표 IV: DEFCB3 마이크로어레이 유전자 교정(validation)

[0298] (AB Prism 7000; sNAG (10 µg/ml), HUVEC, 5 h)

표 6

[0299] TaqMan 상대적인 qPCR 배수 변화 계산 (ABI 방법)

샘플	DEFB3	1433z	$\Delta Ct = DEFB3 - 1433z$	시간Ct = ΔCt 처리군 - ΔCt 무처리군	무처리군 대비 DEFB3의 배수 변화
무처리	37.41±0.74	14.71±0.26	22.7±0.78	0.00±0.78	1.4 (1.22-1.7)
처리군	40.30±1.0	17.84±0.07	22.46±1.0	-0.24±1.0	1.8 (1.24-2.36)

[0300] 표 V: Toll-유사 수용체 마이크로어레이 유전자 발현

표 7

[0301]

유전자 명 [Oligo ID]	배수 변화
SIGIRR [opHsV0400002471]	5.895 (3.916 - 7.926)
TLR1 [H300000701]	7.612 (3.796 - 11.33)
TLR4 [H200007406]	5.064 (1.085 - 10.66)
TLR7 [H200008345]	3.271 (1.938 - 3.938)
TLR7 [H300006695]	2.2 (1.5 - 2.7)
TLR8 [H200016915]	2.067 (1.8 - 2.2)
TRAF6 [H200010465]	6.167 (5.2 - 7)
1433Z_HUMAN [opHsV04TC000038]	0.573 (0.4 - 0.844)

[0302] 표 VI: TLR1 & 4의 실시간 Q-PCR 유전자 교정 (HUVEC, 10µg/ml sNAG, 5 h)

표 8

[0303]

샘플	타겟 C_T ave	타겟 C_T sd	기준 (1433z) C_T ave	기준 (1433z) C_T sd	$\Delta C_T = \Delta C_T$ 타겟 - ΔC_T 1433z 기준	$sd = (S_{\text{타겟}}^2 + S_{\text{기준}}^2)^{1/2}$	시간Ct = ΔC_T 테스트 샘플(처리군) - ΔC_T 교정(무처리군)	시간Ct sd = ΔC_T sd	Fold up $2^{-(\text{시간Ct} + sd)}$	Fold down $2^{(\text{시간Ct} - sd)}$	배수 평균
TLR1											
무처리	31.12	1.2	17.84	0.34	13.28	1.25	0	1.25	0.42	2.37	0.83
처리	28.54	0.37	17.53	0.2	11.01	0.42	-2.27	0.42	3.60	6.46	5.03
TLR4											
무처리	26.97	0.44	17.84	0.34	9.13	0.56	0	0.56	0.68	1.47	0.62
처리	25.04	0.38	17.53	0.2	7.51	0.43	-1.62	0.43	2.28	4.14	3.21

[0304] 6.5 실시예 5: sNAG와 장섬유 NAG는 유전자 발현 프로파일의 상이하다

[0305] 본 실시예는 sNAG 나노섬유가 p-GlcNAc 장섬유와 유전자 발현 측면에서, 특히 일부 디펜신 및 Toll-유사 수용체의 발현에 대한 이의 효과 측면에서 상이함을 보여준다.

[0306] 재료 및 방법: 인간 디펜신 칩 프로브 (농도: 20 µM, 수: 18-20, 용매: SSC 기반의 스폿팅 완충액)를 표준 기법을 이용하여 에폭시 슬라이드 상에 프린팅하였다. HUVEC와 HaCat 세포를 6.2 항목에 기술된 바와 같이 배양하고, 장섬유 ("LNAG") 또는 sNAG 나노섬유 ("sNAG")를 2시간 또는 20시간 동안 처리하였다. RNAsol

(Teltest, Inc.)을 제조사의 지침에 따라 사용하여 RNA를 추출하고, 이를 Amino Allyl MessageAMP™ II aRNA 증폭 키트 (Applied Biosystems)로 증폭시켰다. RNA 증폭 동안에, LNA 처리 세포의 aRNA와 sNAG 처리 세포의 aRNA를 Cy3 또는 Cy5 형광 염료로 차별적으로 표지하였다. RT O/N에서 블로킹 용액 (Sigma Tris-완충화된 염수 pH 8.0, 1000 ml dH₂O, 1% BSAw/v, NaN₃ 0.05%)에 침지함으로써, aRNA와의 혼성화용 슬라이드를 준비하고, 세척 후 건조하였다. LNA 및 sNAG-처리 세포 유래의 차별적으로 표지된 타겟 aRNA가 동량으로 함유된 샘플을 혼합하고, 이를 상기 슬라이드와 혼성화 (65 μl/슬라이드; 5분간 95°C에서 변성; 48시간 37°C에서 혼성화, 0.1% SDS + 5 X SSC + 1% BSA)한 후, 세척 및 건조하였다. 아래 예시된 표 VII의 도표는 실험 계획을 나타낸다:

[0307] 표 VII:

[0308] aRNA의 표지

표 9

명칭	aRNA ng/ μl(100μl)	260/280 nm	표지용 2 0μg(μl)	사용 염료	표지된 농 도 Pmol/μl	260/280	총 표지된 aRNA(20μl)	
HaCat_e14d3_ctr	897.42	2.09	22.29	cy3	851.58	1.34	17031.6	37μl
HaCat_e14d3_LNAG100	1339.08	2.07	14.94	cy5	687.01	1.87	13740.2	
HaCat_e14d3_sNAG100	1515.62	2.05	13.20	cy5	519.15	1.93	10383	
HUVEC_e18d4_ctr	1656.37	2.05	12.07	cy3	529.11	1.88	19577.07	
HUVEC_e18d4_LNAG100	1078.63	2.07	18.54	cy5	760.26	1.9	15205.2	
HUVEC_e18d4_sNAG100	1447.87	2.06	13.81	cy5	617.57	1.84	12351.4	

[0310] aRNA 혼성화

표 10

	샘플 ID	총 aRNA / 슬라이드(n g)	aRNA 농도(ng/ μl)	총 vol. (ml)	10% SDS (μl)	20x SSC (μl)	D (μl)	H ₂ O	총 Vol (ml)	칩 ID 37°C 48h	칩 ID 37 °C 48h
HaC at	Actr	800	851.58	0.9	2	50	125.9	200		D1038	D1034
	ALNAG100 (Mix 1)	800	687.01	1.2	0	0					
	Actr	800	851.58	0.9	2	50	125.5	200		D1037	D1033
	AsNAG100 (Mix 2)	800	519.15	1.5	0	0					
HUV EC	Vctr	800	529.11	1.5	2	50	125.4	200		D1036	D1032
	VLNAG100 (Mix 3)	800	760.26	1.1							
	Vctr	800	529.11	1.5	2	50	125.2	200		D1035	D1031
	VsNAG100 (Mix4)	800	617.57	1.3							

[0312] 퍼킨-엘머의 스캔 어레이 장치 및 스캔어레이 익스프레스 소프트웨어 V3.0, updated로 슬라이드를 스캐닝하고, 혼성화를 검출하였다. 각 슬라이드를 Cy5, Cy3 및 혼성 형광물질로 가시화하였다. 상향-조절 및 하향-조절된 유전자들을 동정하기 위해, Agilent GeneSpring GX v.11 생물정보 데이터 분석을 이용하여 마이크로어레이 데이터를 분석하였다.

[0313] 분석 대상 유전자들: DEFA1, DEFA3, DEFA4, DEFA5, DEFA6, DEFB1, DEFB013A, DEFB104A, DEFB105B, DEFB108B, DEFB112, DEFB114, DEFB118, DEFB119, DEFB123, DEFB124, DEFB125, DEFB126, DEFB127, DEFB128, DEFB129, DEFB131, 및 DEFB4 ("DEFA" = α-디펜신, 및 "DEFB" = β-디펜신); TLR1, TLR10, TL2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7 및 TLR8 ("TLR" = Toll 수용체); SIGIRR (단일 IG IL-1-관련 수용체); IRAK2 (IL-1 수용체-조합 키나제 1); TRAF6 (TNF 수용체 조합 인자 6); D106A (β-디펜신 106), D107A (β-디펜신 107). 음성 대조군: 3개의 랜덤 서열 (1, 2, 3). 양성 대조군: 1433Z (티로신-3-모노하이드로게나제/트립토판 5 모노하이드로게나제 액티션(actition) 단백질); GAPD (글리세르알데하이드-3-포스페이트 데하이드로게나제); RPL13A (리보솜 단백질

L13a); UBC (유비퀴틴 C); ACTB (액틴 B).

[0314] **결과:** 마이크로어레이 유전자 칩 분석 결과는 하기 표 VIII 및 IX에 나타난다. 표 VIII은 LNAG 섬유 또는 sNAG 나노섬유 중 하나에 2시간 또는 24시간 노출시킨 후, 인간 제대혈 내피세포 ("HUVEC")에서의 유전자 발현을 나타낸다. 표 IX는 LNAG 섬유 또는 sNAG 나노섬유 중 하나에 2시간 또는 24시간 노출시킨 후, 인간 각질형성세포주 (HaCat)에서의 유전자 발현을 나타낸다. 그 결과, 폴리-N-아세틸글루코사민 장섬유 ("LNAG")에 의해 유도되는 유전자 발현 프로파일이 sNAG 나노섬유 ("sNAG")에 의해 유도되는 유전자 발현 프로파일과 다른 것으로 나타났다. 특히, LNAG와 sNAG는 디펜신 유전자와 Toll 수용체 유전자의 발현에 대한 효과가 상이하였다.

[0315] **표 VIII: 인간 제대혈 내피세포(HUVEC)에서의 마이크로어레이 디펜신 유전자 발현, 배수 변화**

표 11

[0316]

명칭	[2h, LNAG]	[2h, sNAG]	명칭	[20h, LNAG]	[20h, sNAG]
1433Z_HUMAN	0.039	0.329	1433Z_HUMAN	-0.046	-0.180
ACTB_HUMAN	-0.140	0.032	ACTB_HUMAN	0.874	-0.413
D106A_HUMAN	-1.376	-0.195	D106A_HUMAN	1.107	0.522
D107A_HUMAN	1.825	1.431	D107A_HUMAN	-1.007	0.372
DEFA1	0.407	-1.107	DEFA1	-0.333	0.384
DEFA3	0.000	0.528	DEFA3	1.195	-2.335
DEFA4	-1.007	-0.123	DEFA4	0.496	2.636
DEFA5	-0.863	0.451	DEFA5	-0.287	-0.476
DEFA6	1.969	0.805	DEFA6	0.333	-1.402
DEFB1	0.315	1.441	DEFB1	1.933	0.413
DEFB103A	1.426	1.486	DEFB103A	0.628	1.348
DEFB104A	1.296	2.260	DEFB104A	1.543	0.344
DEFB105B	0.616	0.667	DEFB105B	0.723	-0.162
DEFB108B	2.210	0.441	DEFB108B	0.351	1.895
DEFB112	0.000	-0.528	DEFB112	-0.862	1.107
DEFB114	0.000	0.667	DEFB114	-0.862	1.799
DEFB118	-0.142	0.631	DEFB118	0.456	0.577
DEFB119	0.137	1.472	DEFB119	0.808	-1.530
DEFB123	1.664	1.814	DEFB123	0.390	-0.375
DEFB124	1.242	1.533	DEFB124	1.113	1.357
DEFB125	1.169	1.969	DEFB125	1.269	-2.053
DEFB126	-0.064	0.801	DEFB126	1.818	0.385
DEFB127	1.723	0.000	DEFB127	0.000	1.085
DEFB128	1.602	-0.528	DEFB128	0.805	2.238
DEFB129	1.528	0.407	DEFB129	1.936	-0.005
DEFB131	-0.333	0.636	DEFB131	-0.723	-0.608
DEFB4	0.406	0.567	DEFB4	0.401	-0.190
GAPD	0.420	0.602	GAPD	0.616	0.324
IRAK2	-0.035	1.106	IRAK2	1.084	0.984
RPL13A	0.671	1.329	RPL13A	0.789	0.208
SIGIRR	0.358	1.481	SIGIRR	1.870	-0.050
TLR1	-0.194	1.089	TLR1	0.196	-0.631
TLR10	0.000	-0.333	TLR10	-0.528	0.644
TLR2	0.653	2.078	TLR2	1.848	4.494
TLR3	-0.528	-0.333	TLR3	-1.484	-1.361
TLR4	0.613	2.073	TLR4	2.616	0.634
TLR5	1.723	1.181	TLR5	0.723	-0.417
TLR6	1.333	0.528	TLR6	0.246	-0.482
TLR7	1.839	1.274	TLR7	-0.160	0.199
TLR8	-0.033	0.843	TLR8	-0.371	1.219
TRAF6	1.569	0.472	TRAF6	0.731	3.266
UBC	-0.285	0.072	UBC	-0.009	-0.265

[0317] 표 IX: 인간 각질형성세포(HaCat)에서의 마이크로어레이 디펜신 유전자 발현, 배수 변화

표 12

명칭	2h, LNAG	2h, sNAG	명칭	20h, LNAG	20h, sNAG
1433Z	0.255	-0.282	1433Z	0.000	0.205
GAPD	0.041	-0.191	GAPD	0.000	0.378
RPL13A	-0.532	0.698	RPL13A	0.000	-1.187
UBC	0.136	-0.065	UBC	0.834	-0.023
ACTB	0.130	0.447	ACTB	0.333	0.988
음성 대조군	0.000	0.000	음성 대조군	0.000	0.000
음성 대조군	0.000	0.000	음성 대조군	0.000	0.000
음성 대조군	0.000	0.000	음성 대조군	0.000	0.000
DEFB1	-0.647	1.390	DEFB1	-0.333	-0.426
DEFB126	0.348	1.737	DEFB126	1.000	0.744
DEFB129	0.382	1.464	DEFB129	-0.528	-0.931

[0319] 6.6 실시예 6: sNAG 멤브레인에 대한 방사선 조사 효과

[0320] sNAG 멤브레인의 제조 방법. sNAG 멤브레인은 기존에 개시된 바와 같이 제조한 미소조류 pGlcNAc 섬유로부터 유래된다 (Vournakis *et al.* 미국 특허 5,623,064; 및 5,624,679를 참조함, 상기 문헌들은 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다). 간략하게는, 미소조류를 규정된 배양 배지를 이용하여 특수 생물반응조 조건에서 배양하였다. 고밀도 배양물로부터 미소조류를 회수한 후, 단계적 선별 및 정제 공정을 통해 섬유를 분리하여, 주사용수 (wfi)에 현탁된 순수 섬유 배치를 제조하였다. 섬유를 농축 및 오븐 건조시켜 패치로 만들고, 이를 포장하여, 감마-방사선을 조사하여 멸균하였다. 섬유의 크기는 평균 20-50nm x 1-2nm x ~ 100 μm이다. 섬유 배치를 화학적 및 물리적 테스트 파라미터를 이용하여 각각 품질 관리하고, 각 배치는 개봉하기 전에 엄격한 순도 기준을 충족시켰다. 최종 배치에는 단백질, 금속 이온 및 기타 성분들이 실질적으로 없어야 한다. 그런 후, 섬유에 방사선을 조사하여 짧게 만들어, sNAG 멤브레인을 제조하였다. 간략하게는, 출발 물질에는 pGlcNAc 슬러리 60 g이 1 mg/mL의 농도로 포함되어 있다. pGlcNAc 슬러리의 농도는 0.2 μm 필터로 5 mL을 여과하여 검증하였다. pGlcNAc 15 g이 함유된 pGlcNAc 슬러리 15 L를 젖은 케이크가 형성될 때까지 여과하였다. 젖은 케이크를 감마 방사선 조사 가능한 용기인 호일 파우치로 옮기고, 200 kGy 감마선을 조사하였다. 그외 조사 조건에서, 도 15A에 나타난 바와 같이, pGlcNAc 조성물에 대한 효과를 테스트하였다.

[0321] pGlcNAc 멤브레인에 대한 조사 효과. 방사선 조사는 pGlcNAc의 분자량을 감소시키지만, 방사선 조사는 섬유의 미소구조를 파괴시키지는 않았다. 여러가지 조건으로 pGlcNAc에 방사선을 조사하였다: 건조, 동결건조한 물질; 건조 멤브레인; 농축 슬러리 (30 : 70 중량/부피); 및 희석 슬러리 (5 mg/ml). 건조 폴리머 및 젖은 폴리머에 대한 조사량 각각 1,000 kgy 및 200 kgy에서, (분자량 500,000 - 1,000,000 달톤으로의) 적합한 분자량 감소를 달성하였다 (도 15A).

[0322] 섬유의 화학 구조 및 물리 구조는 적외선 (IR) 스펙트럼 (도 15B), 원소 분석 및 주사 전자 현미경 (SEM) 분석으로 확인한 결과 방사선 조사하는 내내 유지되었다. 방사선 조사한 섬유를 현미경으로 관찰한 결과, 입자 길이의 감소가 확인되었다 (도 15C 및 15D). 섬유 대부분의 길이는 약 15 μm 미만이었으며, 평균 길이는 약 4 μm이었다.

[0323] 6.7 실시예 7: sNAG 나노섬유와 긴 형태의 p-GlcNAc 섬유는 제대혈 내피세포의 대사율과 혈청 고갈에 미치는 효과가 상이하다

[0324] 재료 및 방법. 수집한, 멀티-도너 인간 제대혈 내피세포 (EC)(Cambrex)를, Cambrex 절차에 기술된 바와 같이 EC 성장 배지 2 SingleQuot이 보충된 내피세포 기본 배지 2 (Cambrex)에서 37°C, 5% CO₂ 조건에서 유지시켰다. 혈청 고갈은 0.1% 소태아 혈청(Gibco BRL)이 첨가된 RPMI-1640 배지에서 24시간 동안 80-89% 컨플루언시로 배양하여 수행한 다음, 도 설명에 표시된 양의 VEGF 165 (20 ng/ml, R&D Systems) 또는 고도로 정제된 pGlcNAc 나노섬유 또는 sNAG 나노섬유 (Marine Polymer Technologies, Inc., Danvers, Mass., USA)로 멸균수 중에서 자극하였다. 세포 증식/생활성 평가를 위해, 2가지 다른 분석: 혈구계산기로 직접 세포를 계수하는 트립판 블루 배제와 MTT [3-(4,5-디메틸티아졸-2일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드] 분석을 제조사(Promega)가 권고한 절차

로 실시하였다.

[0325]

결과-pGlcNAc:

[0326]

pGlcNAc는 대사율에 영향을 주지 않았다. 도 16에 나타낸 바와 같이, pGlcNAc는 MTT 분석으로 측정된 바와 같이 대사율을 높이지 않았으며, 이는 이 폴리머 물질이 세포 증식세포에서 현저한 증가를 야기하지 않는다는 것을 의미한다.

[0327]

pGlcNAc는 혈청 고갈에 의해 유발되는 세포 사멸로부터 EC를 보호한다. pGlcNAc 함유가 EC에 직접적인 영향이 있는지를 테스트하기 위해, 혈청 고갈시킨 EC 세포에 VEGF 또는 여러가지 농도의 pGlcNAc 함유를 처리하였다. 도 17에 나타낸 바와 같이, 혈청 고갈 후 48 및 72시간째에, 도말한 세포(대조군) 총 수와 비교하여, 48 또는 72시간 후 세포 수가 약 2배 감소되었다. 48시간째에, 이러한 세포수 감소는 VEGF의 추가에 의해 또는 pGlcNAc 함유 50 또는 100 µg/mL의 농도로 추가시 회복되었다. 72시간째에, 세포 수 감소는 VEGF의 추가에 의해 회복되었고, 또는 pGlcNAc 함유 100 µg/mL로 추가에 의해 거의 회복되었다. 이러한 결과들은, VEGF와 마찬가지로, pGlcNA 함유의 처리가 혈청 고갈로 인한 세포 사멸을 방지한다는 것을 의미한다.

[0328]

결과-sNAG:

[0329]

sNAG는 현저한 대사율 증가를 유도하였다. MTT 분석에 의해 측정되는 바와 같이, sNAG는 50, 100 또는 200 µg/mL의 농도에서 VEGF에 비해 EC 대사율을 더 높게 증가시켰다 (도 18).

[0330]

sNAG는 혈청 고갈로 인한 세포 사멸로부터 EC를 보호하지 않는다. sNAG 함유가 EC에 대한 직접 효과를 발휘하는지를 보기 위해, 혈청 고갈시킨 EC 세포에 VEGF 또는 여러가지 농도의 sNAG 함유를 처리하였다. 도 19에 나타낸 바와 같이, 혈청 고갈 후 48시간째에, 도말한 세포(대조군) 총 수와 비교하여, 세포 수가 약 2배 감소되었다. 이러한 세포수 감소는 VEGF의 추가에 의해서는 회복되었지만, sNAG 함유를 50, 100 또는 200 µg/mL의 농도로 처리한 경우에는 회복되지 않았다. 이러한 결과는, VEGF와는 다르게, sNAG 함유의 처리가 혈청 고갈로 인한 세포 사멸을 방지하지 않음을 의미한다.

[0331]

결론: 상기 결과들은, 장섬유인 pGlcNAc와는 다르게, sNAG가 MTT 분석에서 혈청 고갈시킨 EC의 대사율을 증가시키지만, 트랩판 블루 배제 검사에서 혈청 고갈시킨 EC의 세포사멸은 회복시키지 않는다는 것을 보여준다.

[0332]

6.8 실시예 8. sNAG에 대한 전임상 검사

[0333]

6.8.1 검체

[0334]

상기 6.2.1 항목에서 언급된 바와 같이 제조한 sNAG를 포함하는 대조 검체를 이용하였다. 검체는 Marine Polymer Technologies, Inc. 사로부터 멸균 상태로 제공받았다.

[0335]

6.8.2 생체적합성 검사- L929 MEM 용출 검사 - ISO 10993-5

[0336]

검체에 대한 생체적합성은 마우스 섬유모세포 L9929 포유류 세포에서 검사하였다. 검체에 노출시킨 후 48시간째에 L929 세포에서는 생물학적 반응은 관찰되지 않았다 (0 등급). 양성 대조군 (4 등급) 및 음성 대조군 (0 등급)에서 수득되는 세포 반응 관찰 결과로, 테스트 시스템의 적합성을 검증하였다. 프로토콜의 기준을 토대로, 검체는 무독성인 것으로 간주되었고, 국제 표준화 기관 (IOS) 10993-5 지침의 용출 검사 요건들을 충족하였다. 아래 표 X를 참조한다.

[0337]

표 X:

표 13

[0338]

시간	검체			대조군								
				보통			음성			양성		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24시간	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3
48시간	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4
등급		반응성		반응성								

0	없음	개별 내세포질 과립(intracytoplasmic granule) 존재; 세포 용혈 없음
1	매우 약함	등근형의 느슨하게 부착되고, 내세포질 과립이 없는 세포는 20% 이하임; 용혈된 세포로 가끔 존재함
2	약함	등근형의 내세포질 과립이 결여된 세포가 50% 이하임, 전체적인 세포 용혈은 없음, 세포 사이에 빈 공간 존재
3	보통	등근형의 세포를 포함하거나 세포 용혈된 경우가 세포층의 70% 이하임
4	심각	거의 모든 세포층이 완전히 파괴됨

[0339] **6.8.3 근육내 이식 테스트 ISO - 4주 이식**

[0340] **6.8.3.1. 재료 및 방법**

[0341] 검체가 국소 독성 효과를 일으킬 가능성을 평가하기 위해, 근육내 이식 검사 - ISO - 4주 이식("근육내 이식 검사")를 사용하였다. 간략하게는, 검체를 뉴질랜드 백토끼의 척추 주위 근육 조직으로 4주간 이식하여 두었다. 그런 후, 2종의 대조군을 이용하여 검체를 각각 평가하였다: 양성 대조군 Surgicel (Johnson and Johnson, NJ) 및 음성 대조군 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱).

[0342] *검체와 대조 검체의 준비.* 검체는 약 폭 1 mm x 길이 10 mm으로 측정하였다. 2종의 대조 검체도 준비하였다. 양성 대조군인 Surgicel (C1)은 약 폭 1 mm x 길이 10 mm로 측정되었으며, 멸균 처리되었다. 음성 대조군인 플라스틱 (C2)은 약 폭 1 mm x 길이 10 mm로 측정되었으며, 70% 에탄올에 침지방식에 의해 멸균 처리되었다.

[0343] *수술 전 절차.* 각 동물은 이식하기 전에 체중을 측정하였다. 테스트 당일, 동물의 등쪽을 털이 제거되게 깎고, 잘려나간 털은 진공을 이용하여 제거하였다. 각 동물을 적절하게 마취시켰다. 이식하기 전에, 수술 준비액으로 이식부를 소독하였다.

[0344] *수술(dose administration).* 4개의 검체 조각을, 각 토끼의 척추 주변 근육 각각에 척추 중심선에서 약 2.5 cm로 평행하게 서로 약 2.5 cm 간격으로 외과적으로 이식하였다. 검체 조각을 척추 한쪽에 이식하였다. 비슷한 방식으로, 양성 대조 검체 조각(Surgicel)을 각 동물의 대측성 근육에 이식하였다. 2개의 음성 대조군 조각 (음성 대조군 플라스틱)은 검체와 척추 양쪽 C1 대조군 이식 부위에서 뒷쪽으로 (꼬리쪽으로) 이식하였다. 검사에는 8개 이상의 검체 조각과 8개의 각 대조 검체 조각이 필요하다.

[0345] *수술 후 절차.* 동물은 4주간 유지시켰다. 동물은 이 기간 동안 매일 관찰하여, 이식부의 적절한 치유와 임상적인 독성 신호를 확인하였다. 관찰 항목에는 모든 임상적인 징후들이 포함된다. 관찰 기간 종료시, 동물의 체중을 측정하였다. 각 동물에 주사용 바르비투레이트를 주사하여 희생시켰다. 출혈 없이 조직을 절단하기 위해 충분한 시간을 가졌다.

[0346] *개략적인 관찰.* 각 동물에서 검체 또는 대조 검체가 이식된 척추 주위 근육을 모두 절개하였다. 외과용 메스를 이용하고 이식부 주위를 조심스럽게 자르고 조직을 들어 올려, 근육 조직을 적출하였다. 적출한 임식 조직을 총체적으로 조사하였고, 조직병리학적 검사를 위해 조직의 보전성을 파괴시킬 수 있는 과도한 침습적인 과정을 수행하지 않았다. 조직을 10% 중성의 포르말린 완충액이 들어 있는 적절하게 표시한 용기에 넣었다.

[0347] *조직병리학.* 포르말린에서 고정된 후, 이식 부위 각각을 큰 조직 덩어리에서 절제하였다. 이식한 물질이 포함된 이식 부위를 육안으로 검사하였다. 각 부위를 염증, 피낭(encapsulation), 출혈, 괴사 및 변색의 신호를 아래 체계에 따라 평가하였다:

[0348] 0 = 정상

[0349] 1 = 약함

[0350] 2 = 보통

[0351] 3 = 현저함

[0352] 육안 검사 후, 이식 물질을 인 시츄로 두고, 이식 부위가 포함된 조직 절편을 만들었다. Toxikon에서 헤마톡실린 및 에오신 염색된 절편의 조직병리학적 슬라이드를 제작하였다. 이 슬라이드를 광현미경 검경으로 평가하여, 등급을 매겼다.

[0353] 이식물의 병리학적 효과 평가. 각 이식 부위에 대한 현미경 검경을 통해 아래 생물학적 반응 카테고리를 평가하였다:

- [0354] 1. 염증 반응:
- [0355] a. 다형핵형 백혈구(Polymorphonuclear leukocyte)
 - [0356] b. 림프구
 - [0357] c. 호산구
 - [0358] d. 형질세포(Plasma cell)
 - [0359] e. 대식세포
 - [0360] f. 사이언트 세포
 - [0361] g. 괴사
 - [0362] h. 퇴행(degeneration)
- [0363] 2. 치유 반응:
- [0364] a. 섬유증
 - [0365] b. 지방 침윤

[0366] 각 반응 카테고리들은 아래 체계로 등급을 매겼다:

- [0367] 0 = 정상
- [0368] 0.5 = 매우 약함
- [0369] 1 = 약함
- [0370] 2 = 보통
- [0371] 3 = 심각

[0372] 이식체/조직 계면에서 정상적인 조직과 정상적인 혈관 구조의 특징을 가지고 있는 변질되지 않은 영역까지의 폭을 측정함으로써, 관여된 영역의 상대적인 크기를 평가하였다. 관여된 영역의 상대적인 크기는 아래 체계에 따라 평가하였다:

- [0373] 0 = 0 mm, 없음
- [0374] 0.5 = 최대 0.5 mm, 매우 약함
- [0375] 1 = 0.6 - 1.0 mm, 약함
- [0376] 2 = 1.1 - 2.0 mm, 보통
- [0377] 3 = > 2.0 mm, 심각

[0378] 근육내 이식 검사를 아래 참조문헌을 토대로 수행하였다:

- [0379] 1. ISO 10993-6, 1994, 의학 디바이스의 생물학적 평가 - Part 6: 이식 후 국소 효과 검사.
- [0380] 2. ISO 10993-12, 2002, 의학 디바이스의 생물학적 평가 - Part 12: 샘플 및 표준 물질의 준비.
- [0381] 3. ASTM F981-04, 2004, 근육 및 뼈에 대한 물질의 영향에 관한 외과적 이식체의 생체물질과의 친화성을 평가하기 위한 표준 실무.
- [0382] 4. ASTM F763-04, 2004, 이식 물질의 단기 스크리닝을 위한 표준 실무.
- [0383] 5. ISO/IEC 17025, 2005, 검사 및 교정 기관의 자격에 대한 일반 요건.

[0384] 근육내 이식 검사 결과는 아래 기준에 따라 평가하였다:

- [0385] 1. 평점 계산: 각 이식 부위에 대한 총 점수를 측정한다. 각 동물에서 검사 부위들의 평균 값을 동물의 대조군

부위의 평균 값과 비교한다. 모든 동물들에서 검사 부위와 대조군 부위 간의 평균 차이를 계산하고, 아래에 따라 일차 생물반응율(initial Bioreactivity Rating)을 정한다:

- [0386] 0 - 1.5 반응 없음*
- [0387] > 1.5 - 3.5 정도의 반응
- [0388] > 3.5 - 6.0 중도의 반응
- [0389] > 6.0 중증 반응
- [0390] * - 값은 영(0)으로 기록한다.

[0391] 2. 평점 수정: 병리학적 관측자가 생물반응성의 계산 수치를 검토한다. 모든 인자 (예, 상대적인 크기, 반응 패턴, 염증 대 해소)에 대한 관찰 결과를 토대로, 병리학적 관측자가 생물반응성 평점을 수정할 수 있다. 평점 수정의 근거는 서술적 보고(narrative report) 형태로 제시된다 (검사 물질의 생체적합성에 대해 설명하는 서술적 보고는 병리학적 관측자가 제공함).

[0392] **6.8.3.2. 결과**

[0393] 그 결과, 검체는 4주간 이식하였을 때, 양성 대조군 Surgicel과 비교하였을 때 무-반응성이었고 (생물반응성 평점 0.2), 음성 대조군인 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱)과 비교하였을 때 무반응성 (생물반응성 평점 0.0)이었다.

[0394] **임상적인 결과.** 아래 표 XI은, 검체와 감염, 피낭, 출혈, 괴사 또는 변색에 대해 유의한 신호가 없는 것으로 확인된 대조군 이식체의, 4주째의 육안 검사 결과를 나타낸다. 일부 검사 부위와, 대부분의 양성 대조군들은 육안으로 검사할 수 없었으며, 시리즈 절편으로 현미경 검경을 수행하였다.

[0395] **표 XI: 이식 4주째 육안 검사**

표 14

동물 번호 : 60959															
조직 부위	T1	T2	T3	T4	검사 평균	C1-1	C1-2	C1-3	C1-4	대조군 C1 평균	C2-1	C2-2	C2-3	C2-4	대조군 C2 평균
염증	0	NSF	0	NSF	0	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
피낭	0	NSF	0	NSF	0	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
출혈	0	NSF	0	NSF	0	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
괴사	0	NSF	0	NSF	0	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
변색	0	NSF	0	NSF	0	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
총	0	N/A	0	N/A		N/A	N/A	N/A	N/A	0	0	0	0		
동물 번호 : 60961															
조직 부위	T1	T2	T3	T4	검사 평균	C1-1	C1-2	C1-3	C1-4	대조군 C1 평균	C2-1	C2-2	C2-3	C2-4	대조군 C2 평균
염증	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	NSF	0	0
피낭	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	NSF	0	0
출혈	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	NSF	0	0
괴사	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	NSF	0	0
변색	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	NSF	0	0
총	N/A	N/A	N/A	N/A		N/A	N/A	N/A	N/A		0	0	N/A	0	
동물 번호 : 60968															
조직 부위	T1	T2	T3	T4	검사 평균	C1-1	C1-2	C1-3	C1-4	대조군 C1 평균	C2-1	C2-2	C2-3	C2-4	대조군 C2 평균
염증	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
피낭	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
출혈	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
괴사	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0

변색	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	NSF	NSF	NSF	NSF	N/A	0	0	0	0	0
총	N/A	N/A	N/A	N/A		N/A	N/A	N/A	N/A		0	0	0	0	0

T = 검사 부위 (대표적인 절편들을 현미경 검사함)
 C1 = Surgicel (물질의 특성으로 인해, 대표적인 절편들을 현미경으로 검사함)
 C2 = 음성 대조군 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱)

평가 척도

0 = 무반응 2 = 보통 반응 NSF = 확인되는 부위가 없음
 1 = 경도 반응 3 = 중증 반응 N/S = 적용 불가

[0397] 이식 부위 관찰 결과 (현미경 검경). 아래 표 XII은, 염증, 섬유증, 출혈, 괴사 또는 퇴행에 대한 유의한 신호가 나타나지 않은 검체 이식 부위에 대한 현미경 평가 결과를, 각 대조 검체 이식 부위와 비교하여 나타낸다. 4주간의 생물반응성 평점은 (동물 3마리의 평균) 0.2, (C1 - Surgicel) 및 0.0 (C2 - 음성 대조군 플라스틱)이었고, 대조군 이식 부위 어느 쪽과의 비교해도 반응이 없음을 의미한다. 병리학자는, 검사 물질의 소정의 특성으로 인해 예상하지 못했던 인 시츄 검체 주위로 보통 수준의 다양한 형태의 조직구 (대식세포) 침윤이 있다고 언급하였다.

[0398] 표 XII: 이식 4주째 현미경 검사

표 15

[0399]

동물 번호: 60959												
카테고리	검사 부위**			대조군 부위								
반응	T1	T2	T3	C1-1	C1-2	C1-3	C1-4	C2-1	C2-2	C2-3	C2-4	
이물질	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
관여 영역의 실제 크기	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*다형	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*립프구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*호산구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*형질 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*대식세포	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*자이언트 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*퇴행	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*괴사	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*섬유증	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*지방 침윤	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	
총	1.5	2.0	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.0	1.5	

T = 검사 부위
 C1 = Surgicel
 C2 = 음성 대조군 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱)

동물 검사 스코어 (평균*) = 2.0
 동물 C1 스코어 (평균*) = 1.5
 동물 C2 스코어 (평균*) = 1.4
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C1 스코어) = 0.5
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C2 스코어) = 0.6
 * 생물반응성 평점 계산에 이용됨
 ** T4에서 부위 확인 안됨

[0400]

[0401] 표 XII: 이식 4주째 현미경 검사 (Cont)

표 16

[0402]

동물 번호: 60961									
카테고리	검사 부위**			대조군 부위**					
	T1	T2	T3	C1-1	C1-2	C1-3	C2-1	C2-2	C2-3
반응									
이물질	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
관여 영역의 실제 크기	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
*다형	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5
*립프구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
*호산구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
*형질 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
*대식세포	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
*자이언트 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
*퇴행	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
*괴사	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
*섬유증	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
*지방 침윤	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5
총	1.5	2.0	2.0	2.5	1.5	2.5	2.5	2.5	2.5

T = 검사 부위
 C1 = Surgicel
 C2 = 음성 대조군 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱)

동물 검사 스코어 (평균*) = 1.8
 동물 C1 스코어 (평균*) = 2.2
 동물 C2 스코어 (평균*) = 2.5
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C1 스코어) = -0.4
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C2 스코어) = -0.7
 * 생물반응성 평점 계산에 이용됨
 ** T2, C1-2 및 C1-4에서 부위 확인 안됨

[0403]

표 XII: 이식 4주째 현미경 검사

표 17

[0404]

동물 번호: 60968												
카테고리	검사 부위				대조군 부위**							
	T1	T2	T3	T4	C1-1	C1-2	C1-3	C2-1	C2-2	C2-3	C2-4	
반응												
이물질	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
관여 영역의 실제 크기	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
*다형	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.5	
*립프구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*호산구	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*형질 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*대식세포	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*자이언트 세포	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*퇴행	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*괴사	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
*섬유증	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
*지방 침윤	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
총	2.0	2.5	2.0	2.5	2.0	1.5	2.0	2.5	2.5	2.0	2.5	

T = 검사 부위
 C1 = Surgicel
 C2 = 음성 대조군 고밀도 폴리에틸렌 (음성 대조군 플라스틱)

동물 검사 스코어 (평균*) = 2.3
 동물 C1 스코어 (평균*) = 1.8
 동물 C2 스코어 (평균*) = 2.4
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C1 스코어) = 0.5
 동물 스코어 (평균 검사 스코어 - 평균 C2 스코어) = -0.1
 * 생물반응성 평점 계산에 이용됨
 ** C1-4에서 부위 확인 안됨

	C1	C2
동물 스코어 60759 =	0.5	0.6
동물 스코어 60961 =	-0.4	-0.7
동물 스코어 60968 =	0.5	-0.1
생물반응성 평점 =	0.2	= 무반응
생물반응성 평점 =	-0.1	= 무반응

[0405] 6.8.4 피부내 주입 검사 - ISO 10993-10

[0406] 검체의 주사용 USP 0.9% 소듐 클로라이드 (NaCl) 및 면실유 (CSO) 추출물을 대상으로, 뉴질랜드 백토끼에 피부내 주입 후 자극을 발생시킬 가능성을 평가하였다. 검체의 부위에서는 대조 검체를 주입한 부위 보다 유의하게 높은 생물학적 반응이 나타나지 않았다. 프로토콜의 기준을 토대로, 검체는 무시가능한 자극제인 것으로 간주되었고, ISO 10993-10 가이드라인의 조건들을 충족하였다. 결과는 하기 표 XIII에 나타낸다.

[0407] 표 XIII:

[0408] 피부내 검사 피부 반응 스코어

[0409] NaCl 추출물

표 18

[0410]

동물 #	비히클	시간	부위 번호 Scoring (ER/ED)										
			T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	
61917	NaCl	0시간 [†]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		24시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		48시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		72시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
61919	NaCl	0시간 [†]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		24시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		48시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		72시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
총			0.0					0.0					
[†] = 주입 직후, 평가 기준으로 사용되지 않음 검체에 대한 총 평균 스코어* = 0.0 대조 검체에 대한 총 평균 스코어* = 0.0 검체와 대조 검체 간의 총 평균 차이 스코어 = 0.0 - 0.0 = 0.0													

[0411]

[0412] CSO 추출물

표 19

[0413]

동물 #	비히클	시간	부위 번호 Scoring (ER/ED)										
			T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	
			61917	CSO	0시간 [†]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		24시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		48시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		72시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
61919	CSO	0시간 [†]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		24시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		48시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		72시간	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
총			0.0					0.0					

[†] = 주입 직후, 평가 기준으로 사용되지 않음
 검체에 대한 총 평균 스코어* = 0.0
 대조 검체에 대한 총 평균 스코어* = 0.0
 검체와 대조 검체 간의 총 평균 차이 스코어 = 0.0 - 0.0 = 0.0

 ER = 홍반; ED = 부종; T = 검사 부위; C = 대조군 부위
 *총 평균 스코어 = (총 홍반 + 부종) / 12
 (동물 2 마리 x 3가지 평가 기간 x 2개의 평가 기준)

[0414]

6.8.5 클리그만 최대화 테스트 - ISO 10993-10

[0415]

검체의 주입용 UPS 0.9% 소듐 클로라이드 (NaCl)와 면실유 (CSO) 추출물들은 카르틀리 기니아피그에서 유도 기간을 거친 후 검사시 진피내 반응을 유발하지 않았다 (0% 민감화). 따라서, 클리그만의 평가 체계에 따라, 이는 등급 I 반응이며, 검체는 약한 알레르기 가능성이 있는 것으로 분류된다. 프로토콜의 기준에 따라, 등급 I의 민감화 정도는 유의한 것으로 간주되지 않으며, 검체는 ISO 10993-10 가이드라인의 조건들을 충족시킨다. 결과는 아래 표 XIV에 나타낸다.

[0416]

표 XIV:

[0417]

피부 검사 데이터

표 20

[0418]

그룹	동물 #	성별	스코어			민감하게 반응한 동물의 비율	알레르기 가능성
			25일	26일	27일		
검체 (NaCl 추출물)	1	수컷	0	0	0	0%	미약
	2	수컷	0	0	0		
	3	수컷	0	0	0		
	4	수컷	0	0	0		
	5	수컷	0	0	0		
	6	암컷	0	0	0		
	7	암컷	0	0	0		
	8	암컷	0	0	0		
	9	암컷	0	0	0		
	10	암컷	0	0	0		

검체 (CSO 추출물)	11	수컷	0	0	0	0%	미약
	12	수컷	0	0	0		
	13	수컷	0	0	0		
	14	수컷	0	0	0		
	15	수컷	0	0	0		
	16	암컷	0	0	0		
	17	암컷	0	0	0		
	18	암컷	0	0	0		
	19	암컷	0	0	0		
	20	암컷	0	0	0		
음성 대조군 (NaCl)	21	수컷	0	0	0	0%	미약
	22	수컷	0	0	0		
	23	암컷	0	0	0		
	24	암컷	0	0	0		
	25	암컷	0	0	0		
음성 대조군 (CSO)	26	수컷	0	0	0	0%	미약
	27	수컷	0	0	0		
	28	암컷	0	0	0		
	29	암컷	0	0	0		
	30	암컷	0	0	0		
양성 대조군 (DNCB)	31	수컷	2	1	0	100%	매우 강함
	32	수컷	2	2	1		
	33	암컷	3	2	1		
	34	암컷	3	2	1		
	35	암컷	3	3	2		

표 21

민감화 정도 (%)	등급	클래스
0-8	I	미약함
9-28	II	약함
29-64	III	보통
65-80	IV	강함
81-100	V	매우 강함

[0419]

[0420]

검사 결과들은 관찰된 민감화 퍼센트에 따라 해석하였다.

[0421]

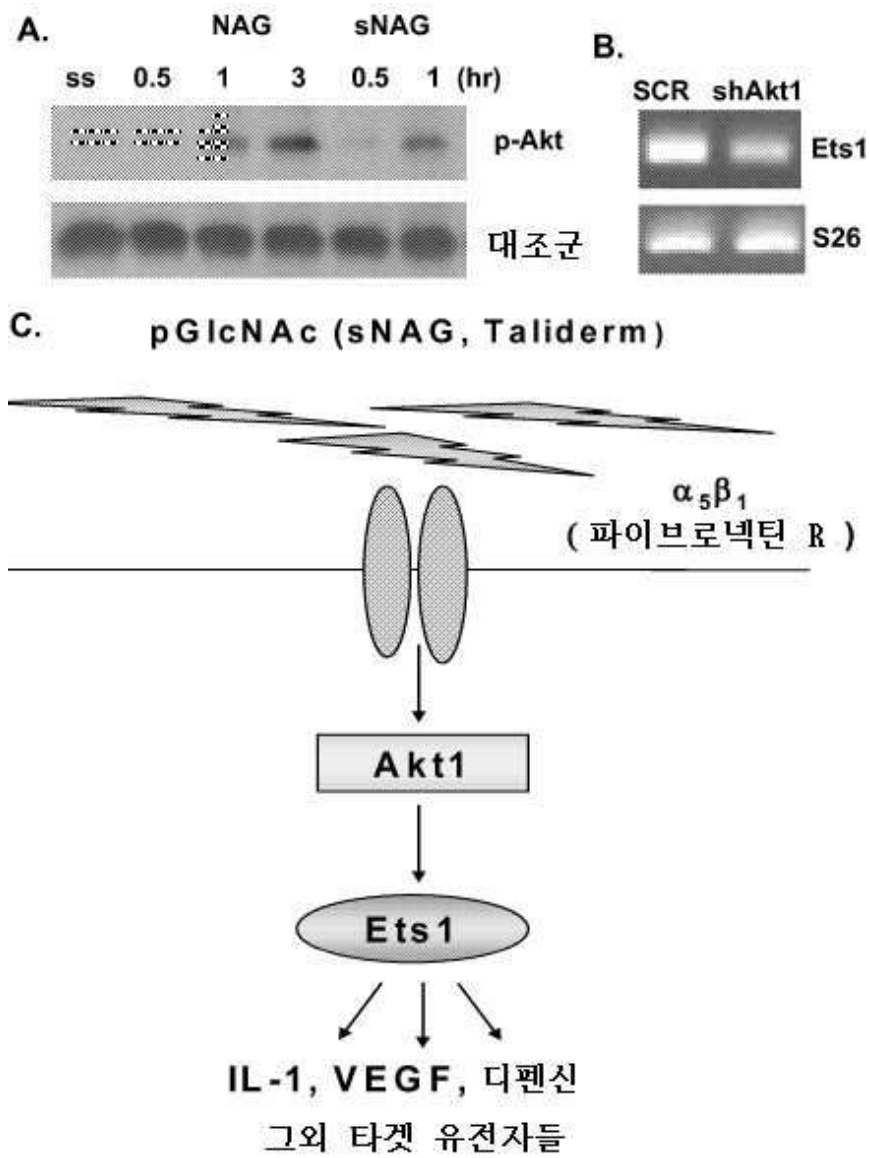
7. 원용에 의한 통합

[0422]

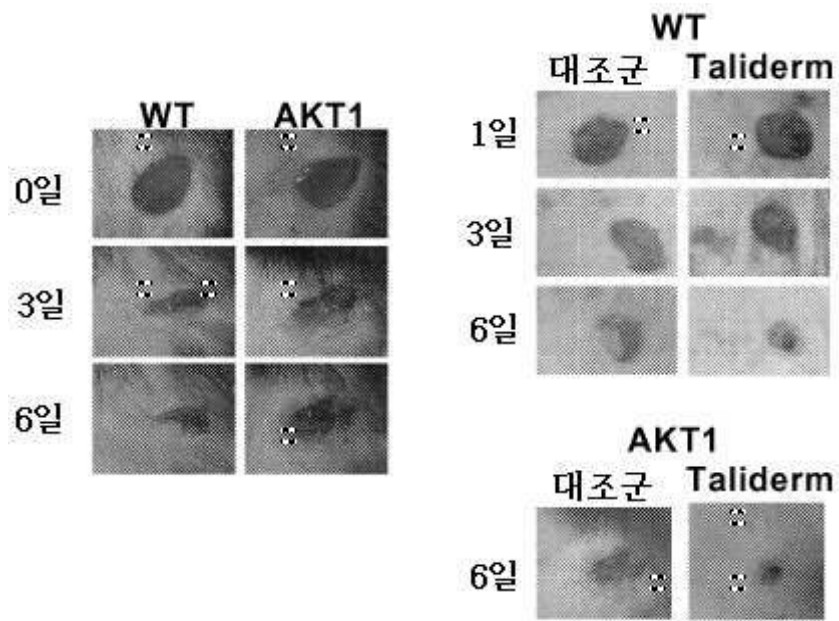
본 명세서에 인용되는 모든 공개물, 특히 및 특허 출원은, 각각의 개별 공개물 또는 특허 출원이 구체적으로 개별적으로 원용에 의해 본 명세서에 통합되는 것으로 기재된 대로, 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 전술한 본 발명은 명확한 이해를 돕기 위해 예시적으로 일부 상세하게 기술되었지만, 당해 기술 분야의 당업자에게는 본 발명의 교시된 바에 비추어 첨부된 청구범위의 범위나 사상으로부터 이탈되지 않으면서 소정의 변형과 수정이 이루어질 수 있다는 것이 자명할 것이다.

도면

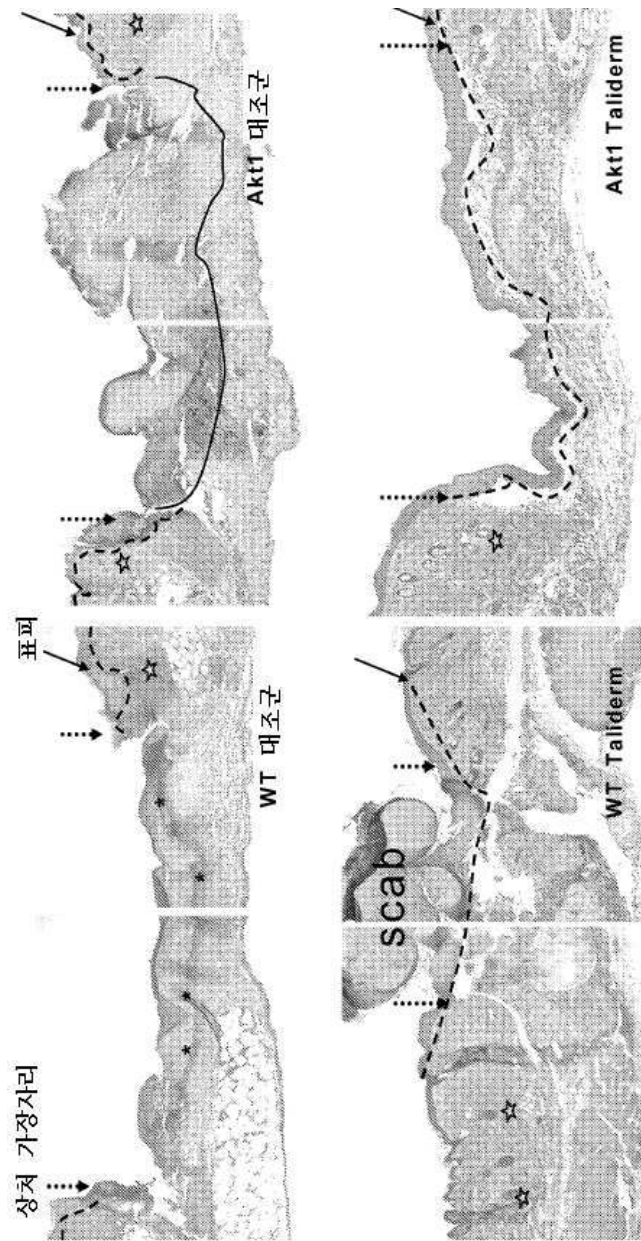
도면1



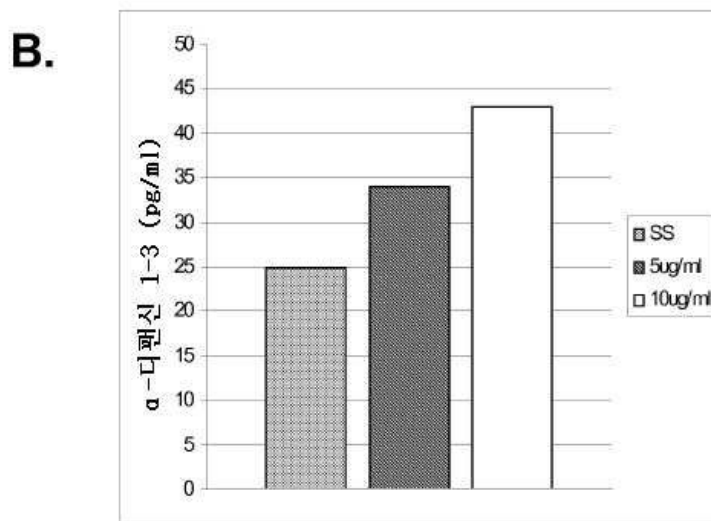
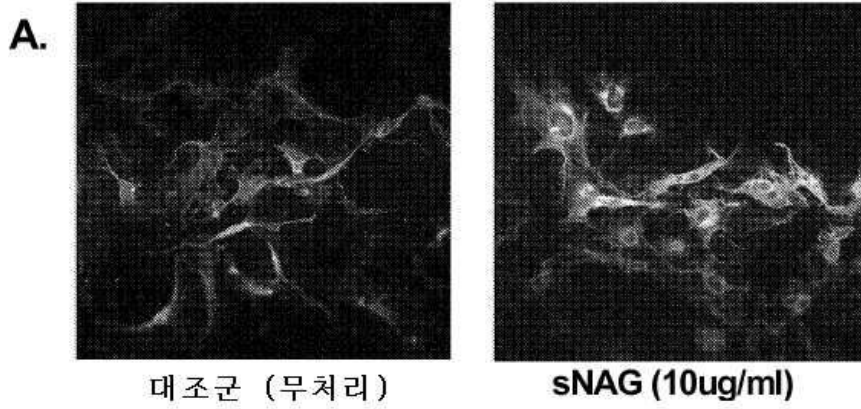
도면2a



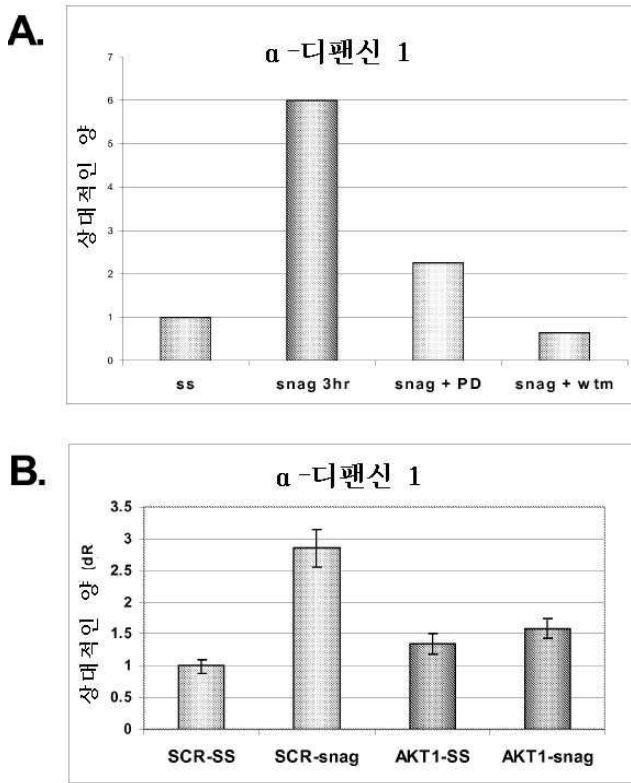
도면2b



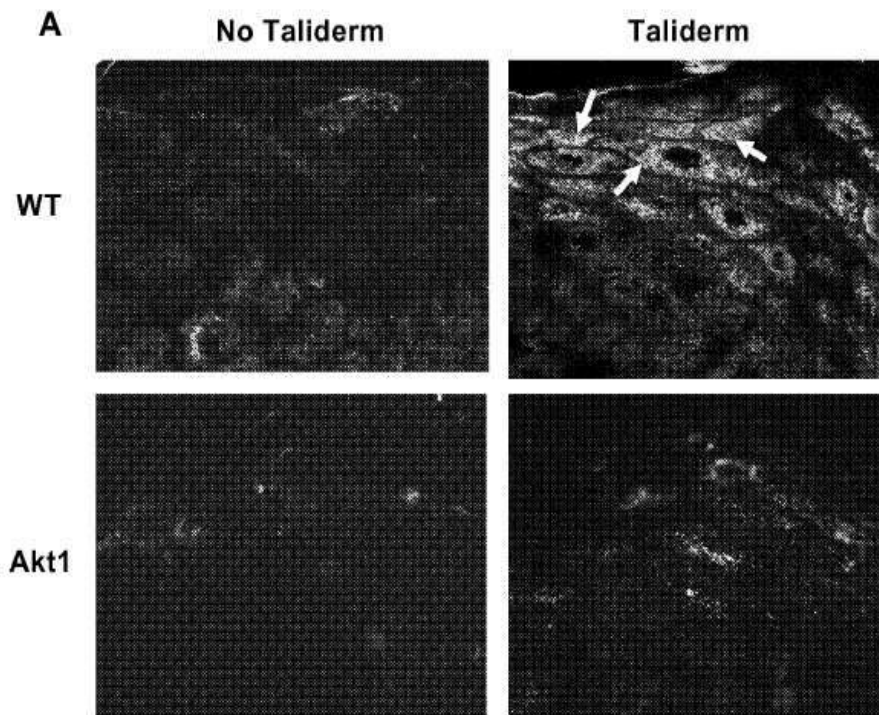
도면3



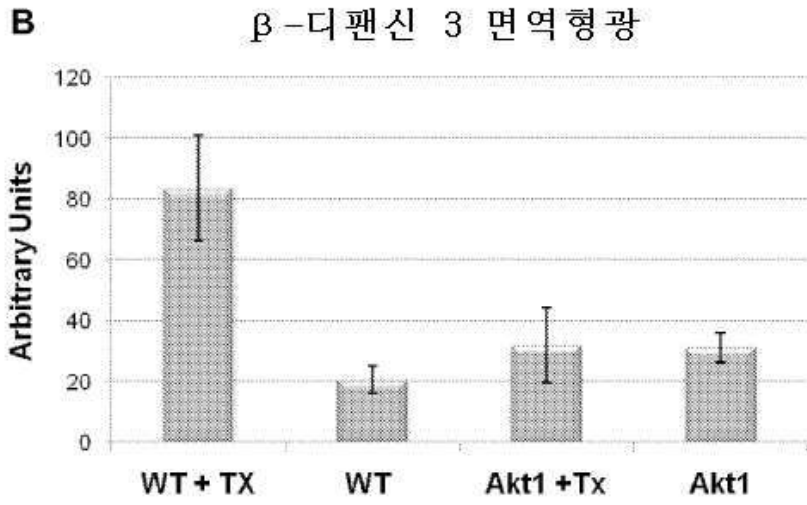
도면4



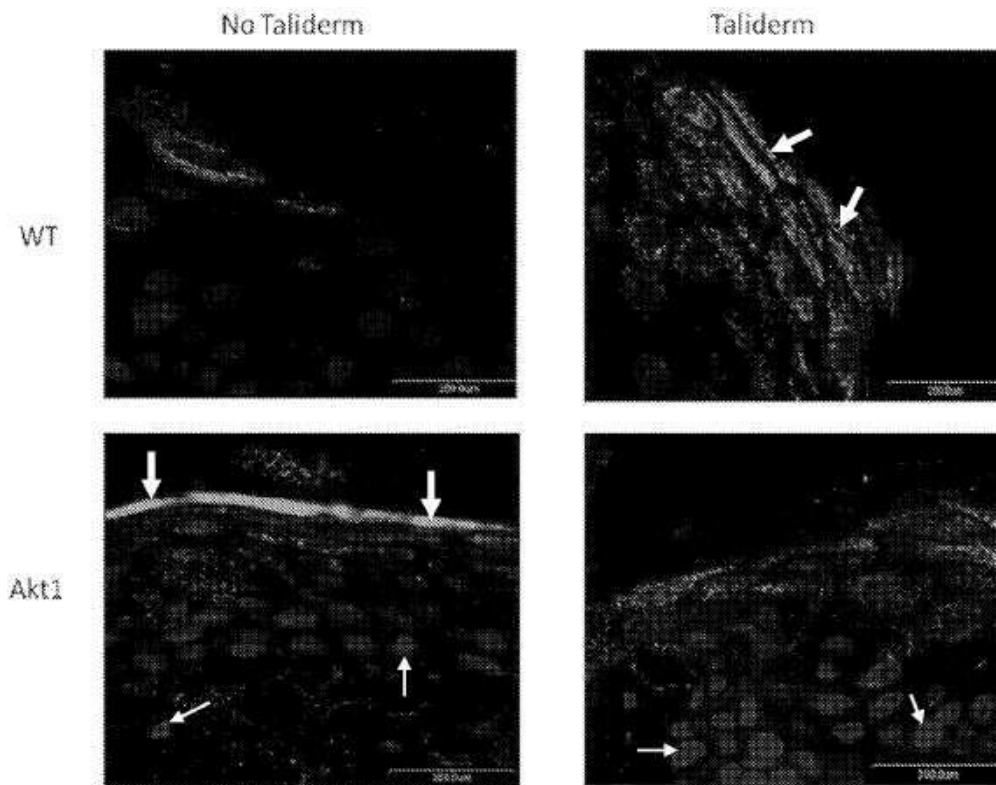
도면5a



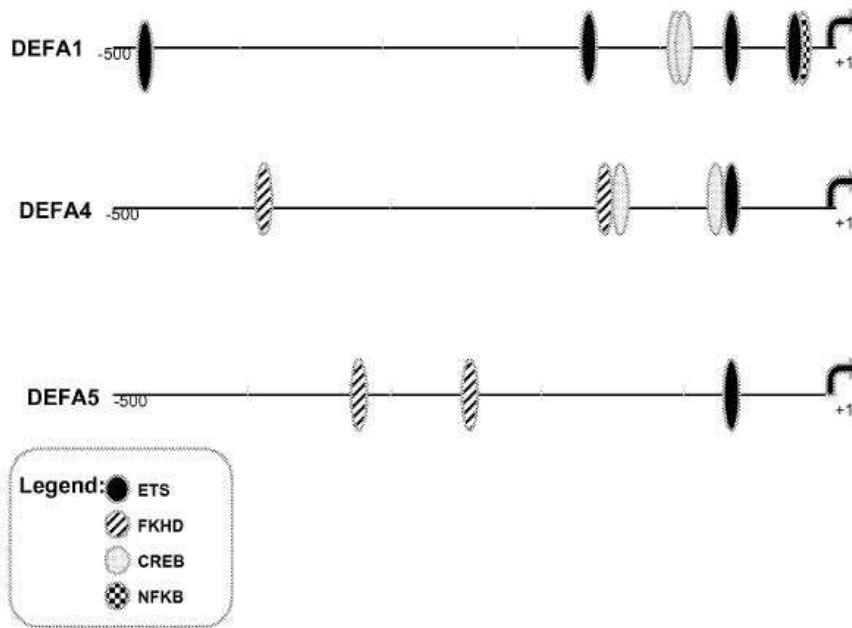
도면5b



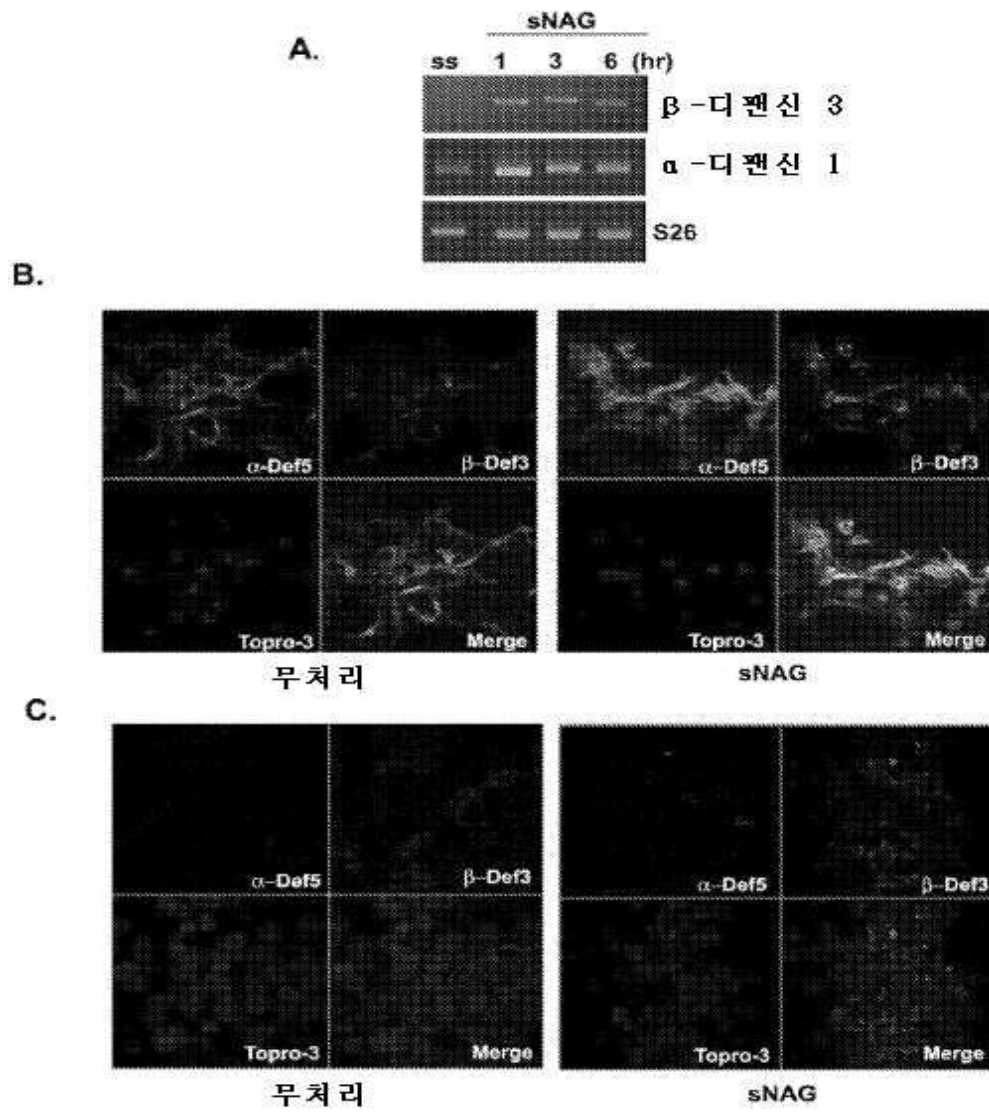
도면5c



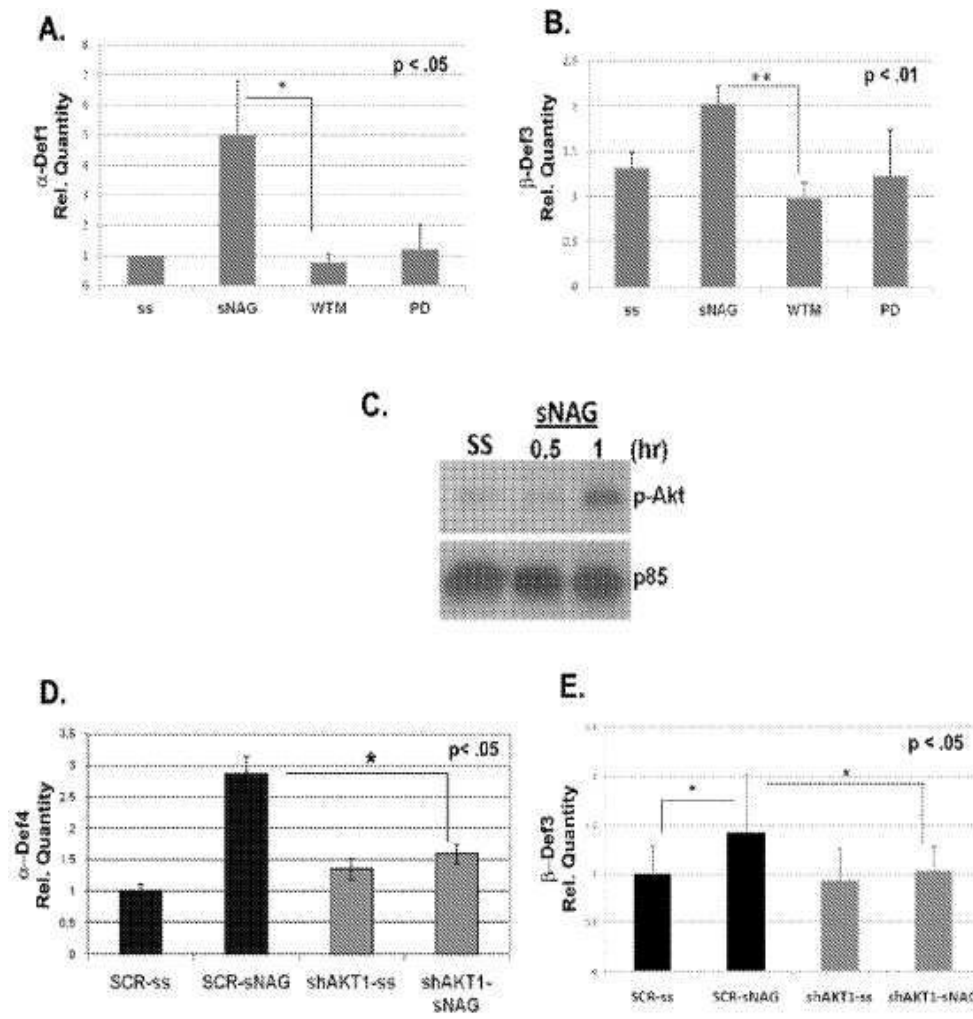
도면6



도면7

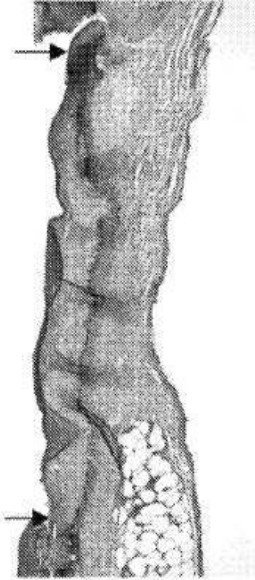
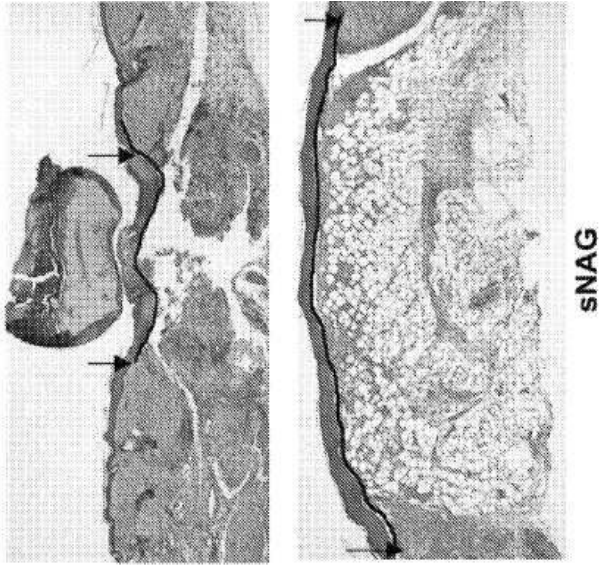


도면8

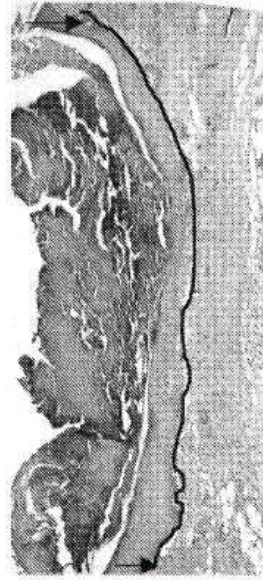


도면10

야생형



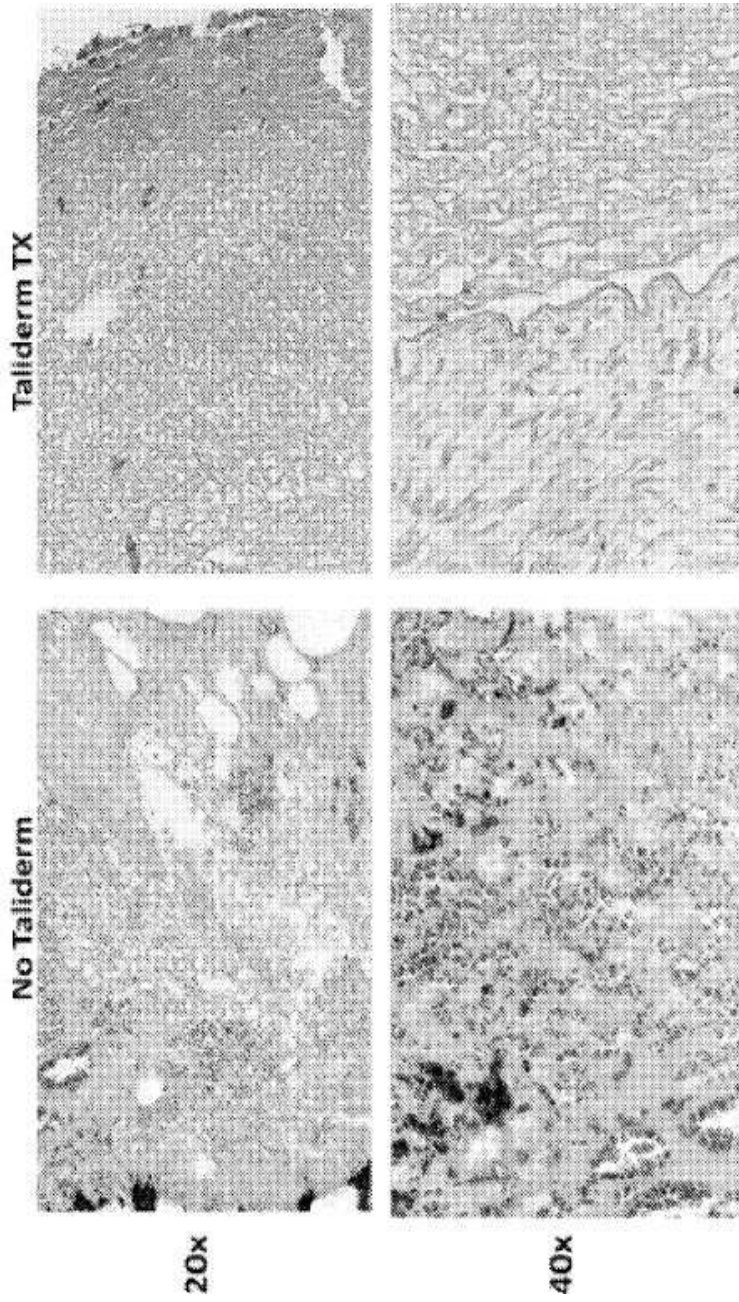
3일



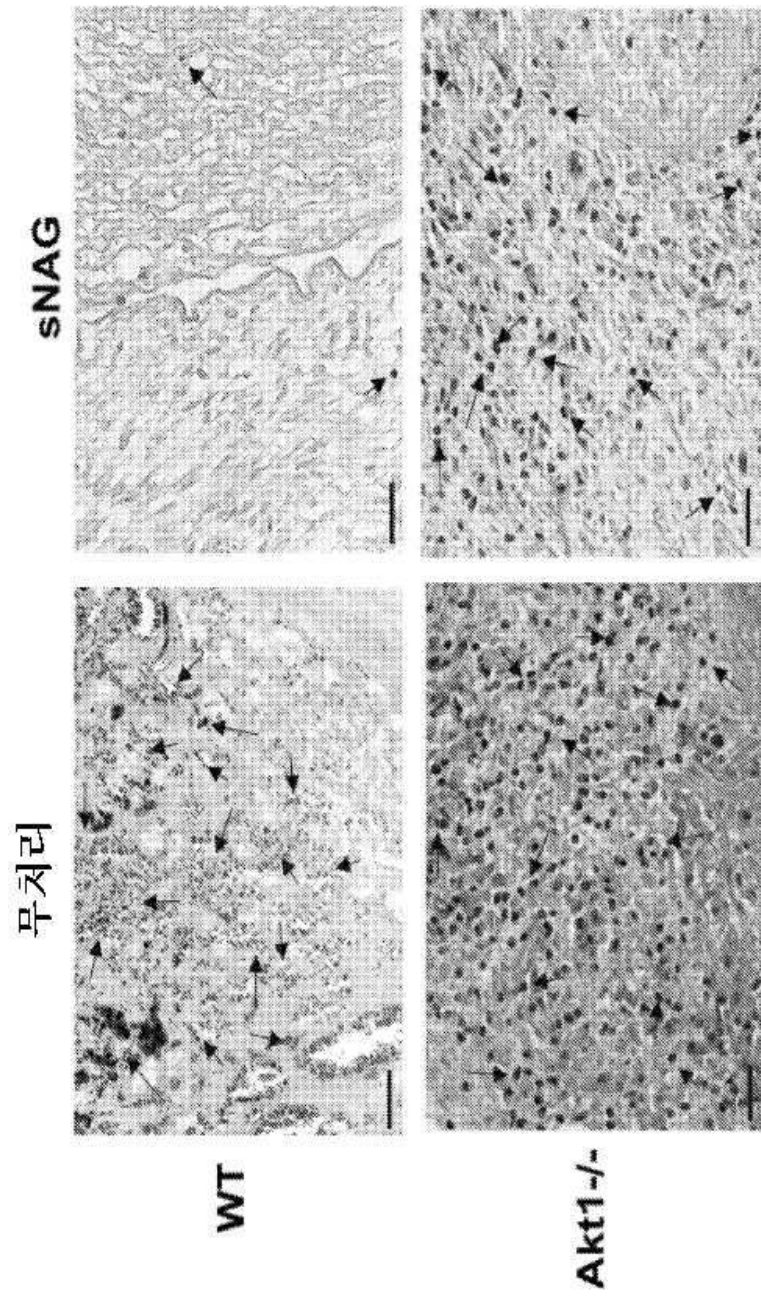
5일

무처리

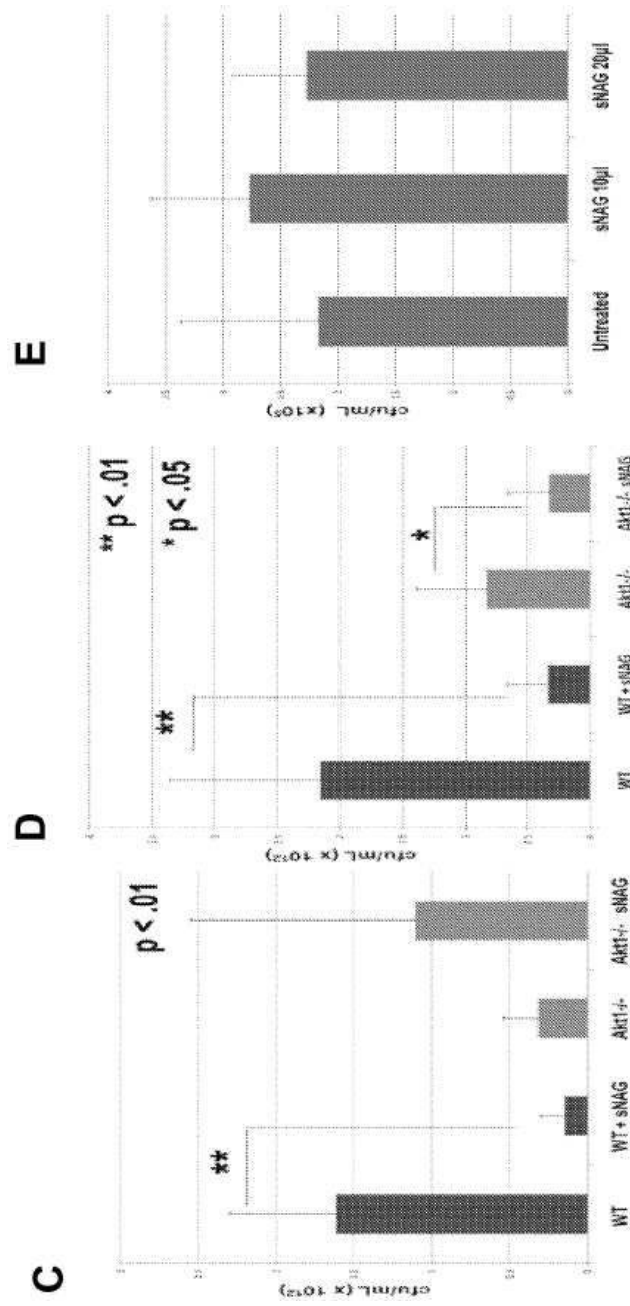
도면11a



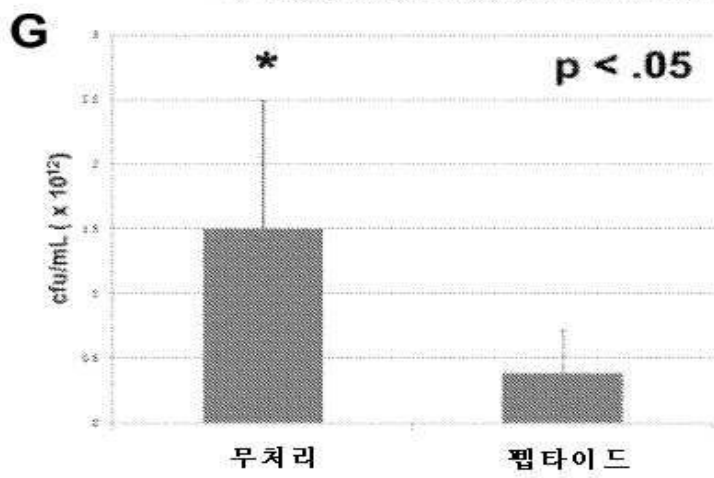
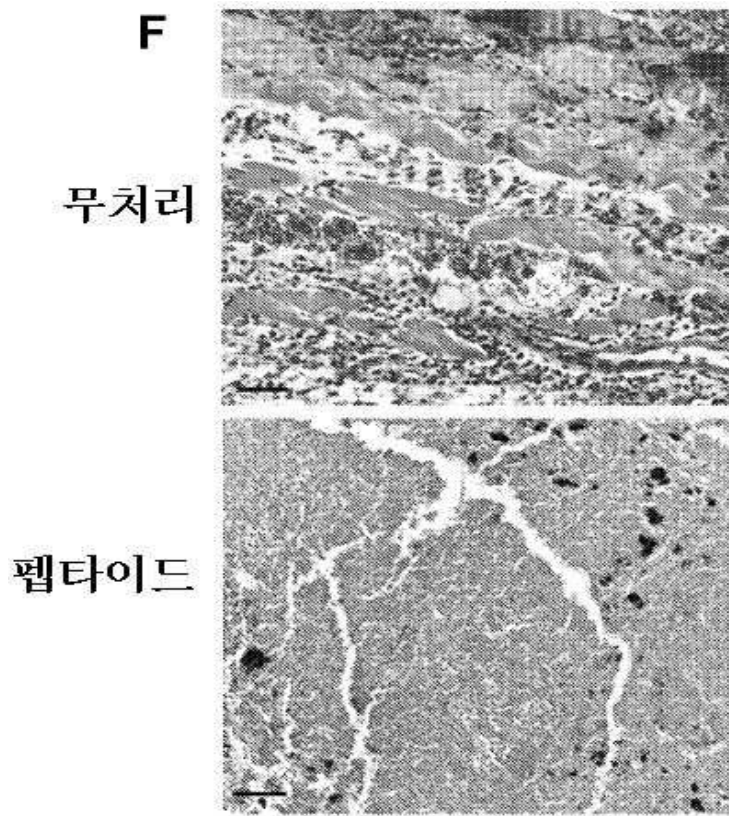
도면11b



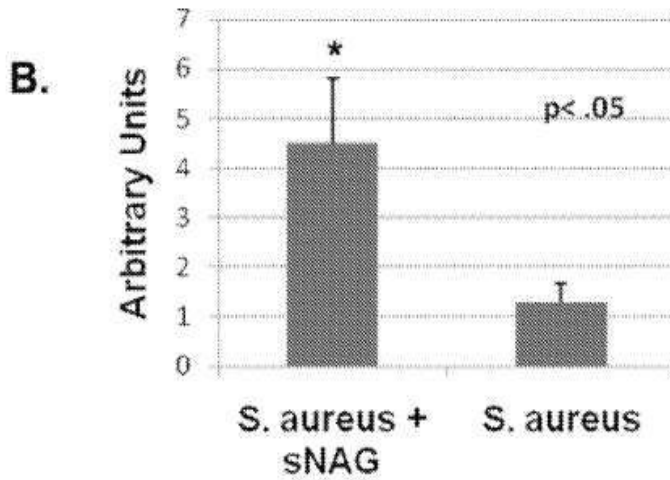
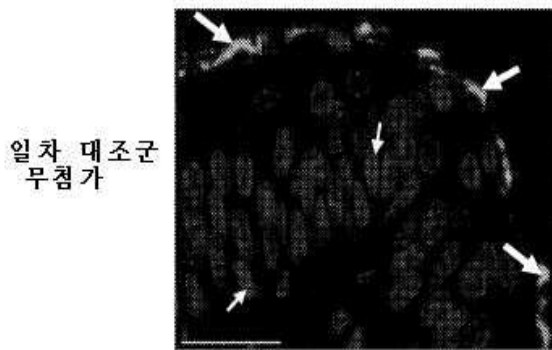
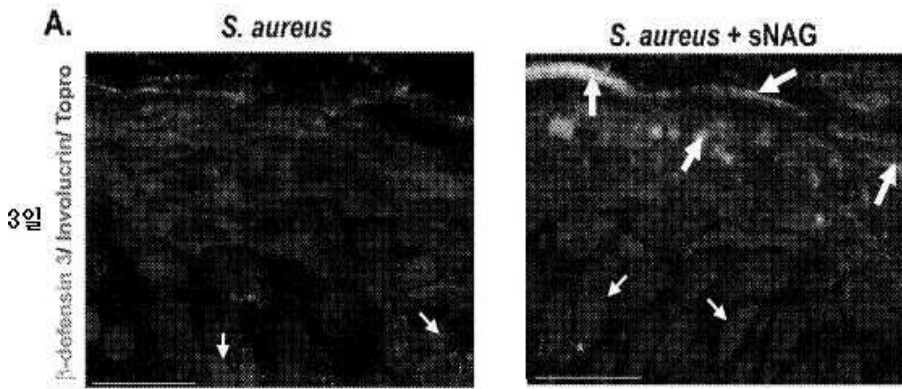
도면11c



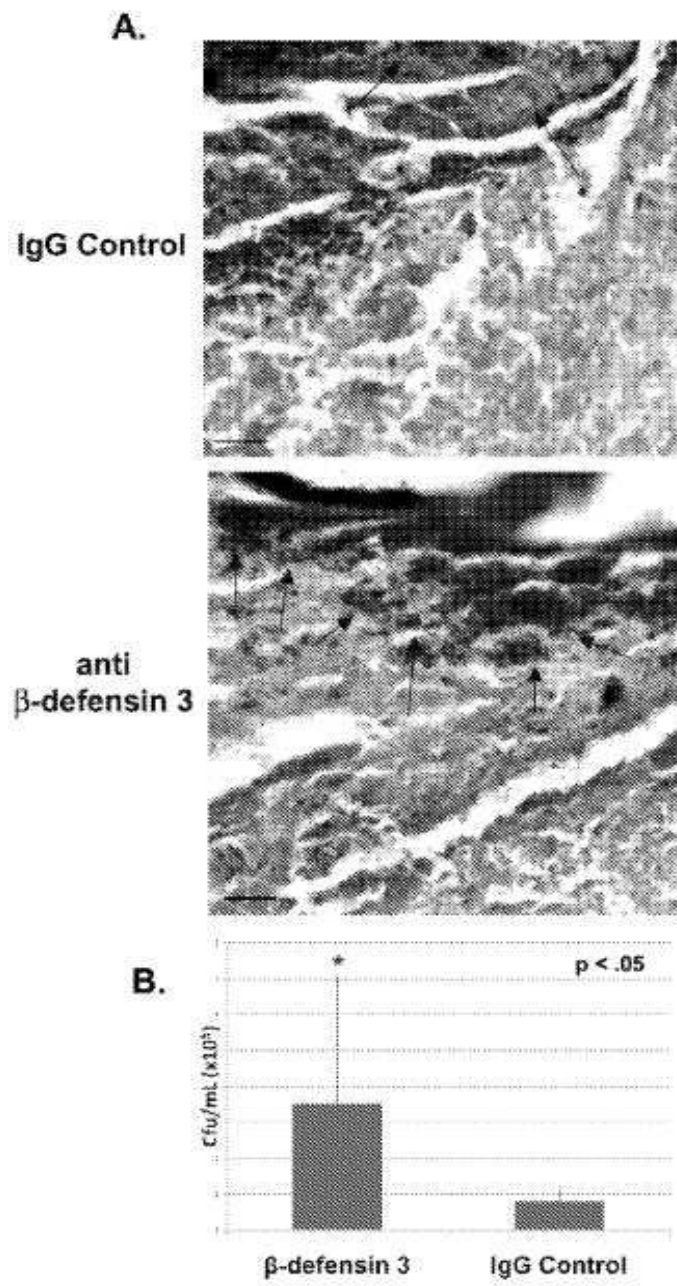
도면11f



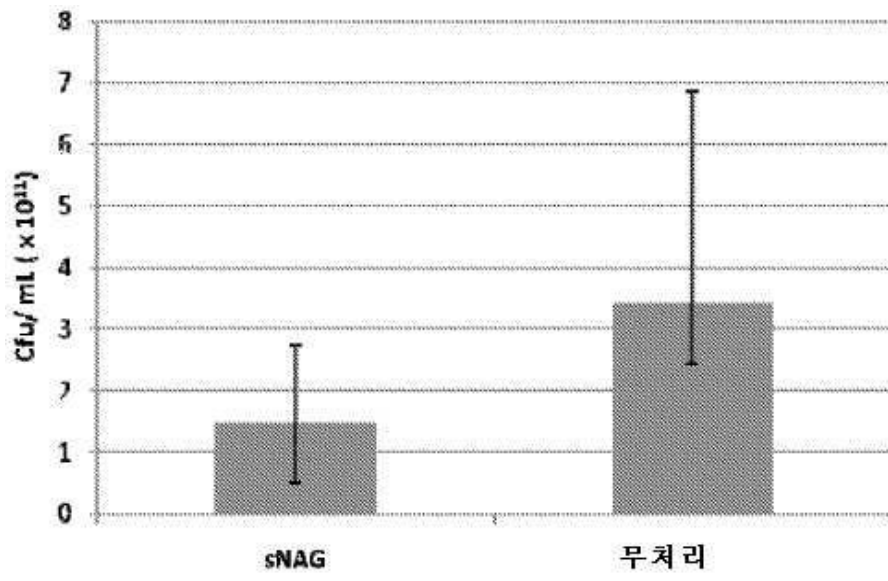
도면12



도면13

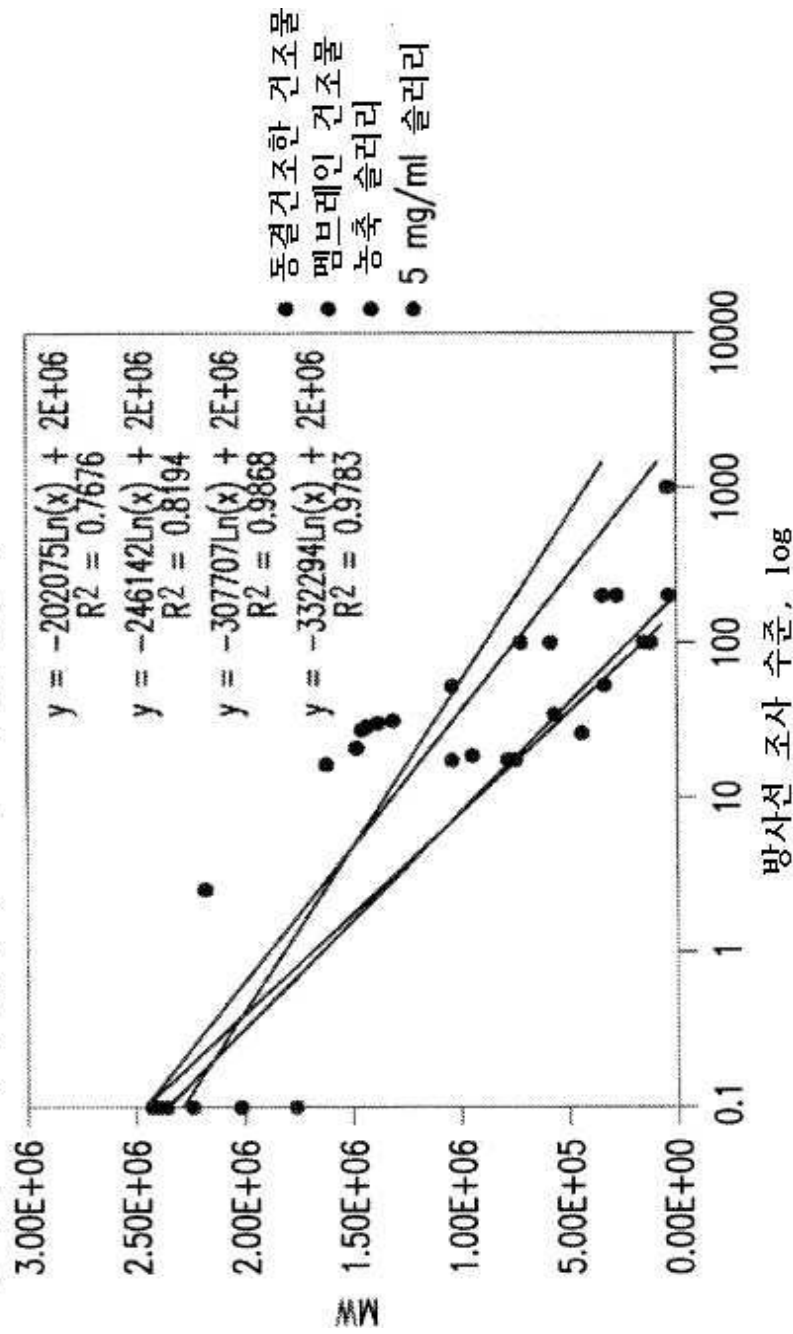


도면14

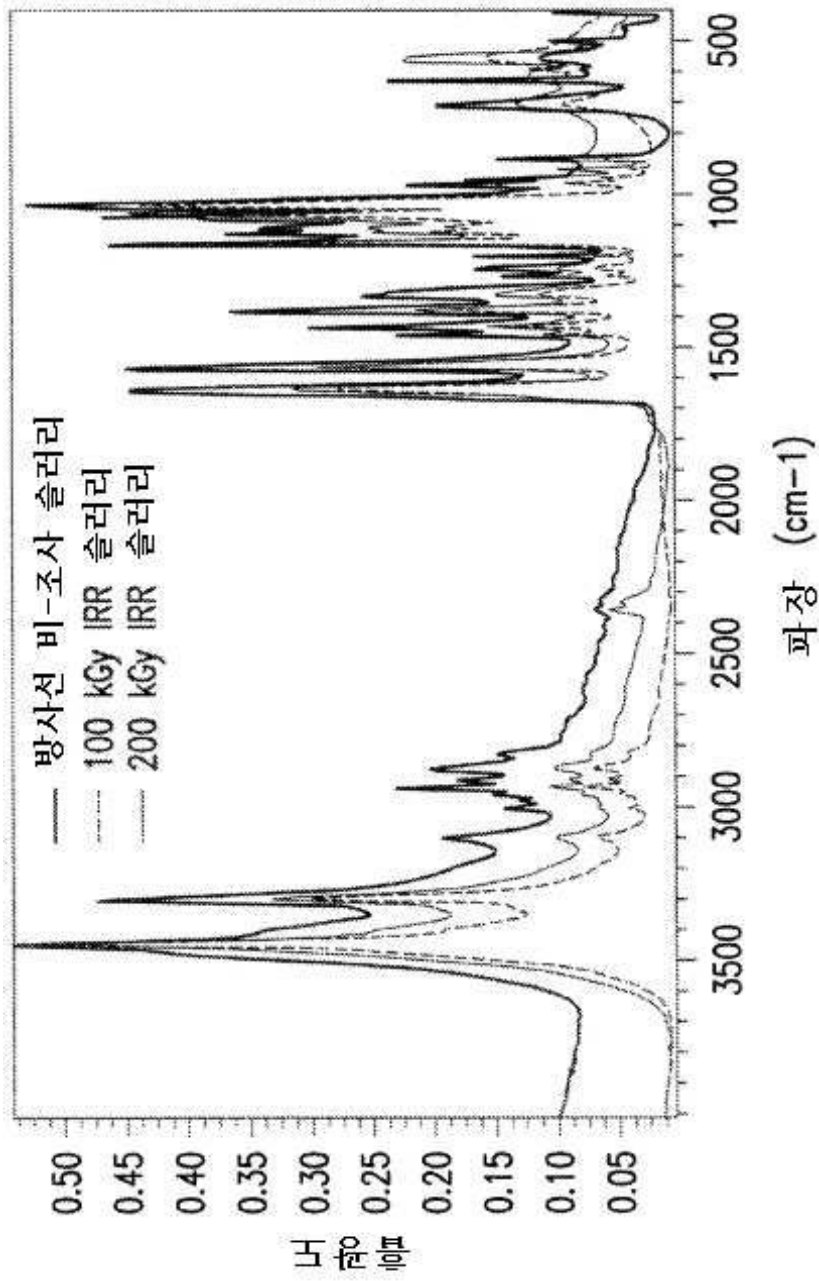


도면15a

방사선 조사에 있어 pGlcNAc의 분자량과 제형 간의 관련성



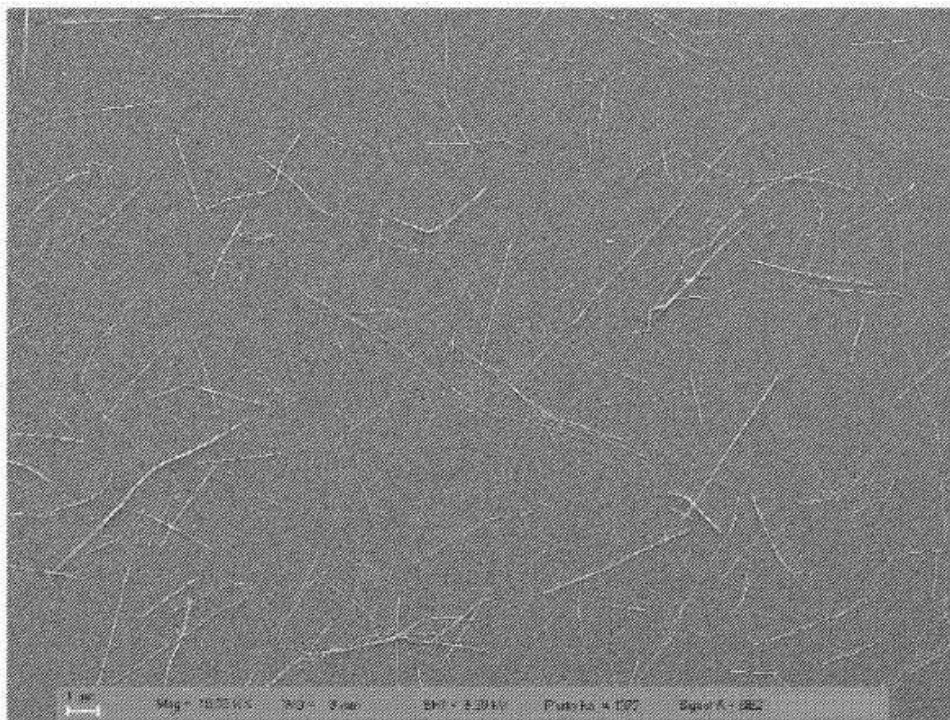
도면15b



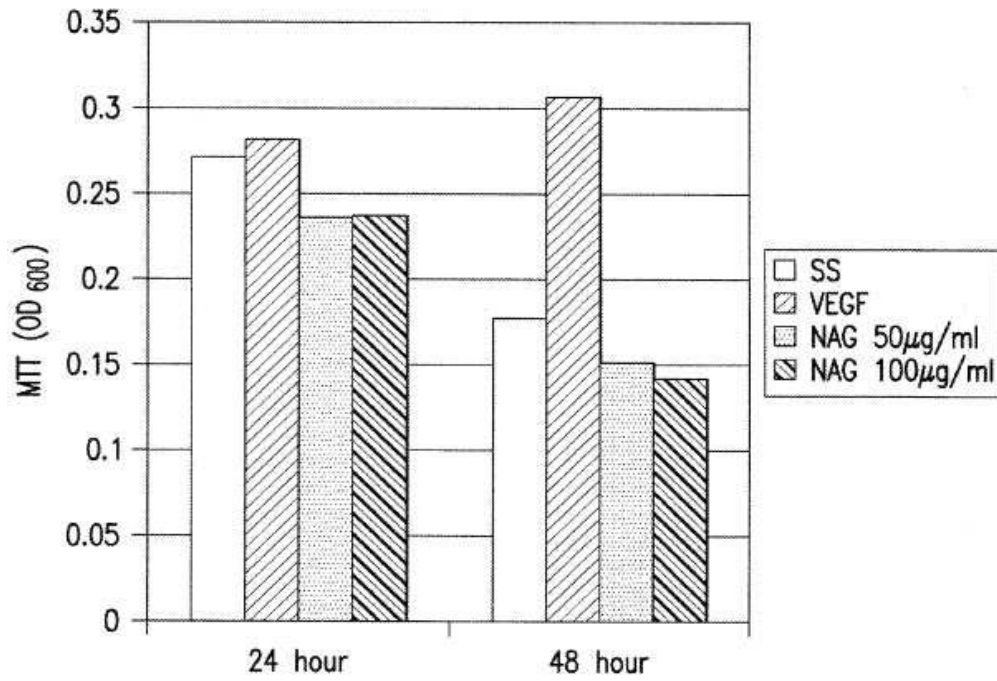
도면15c



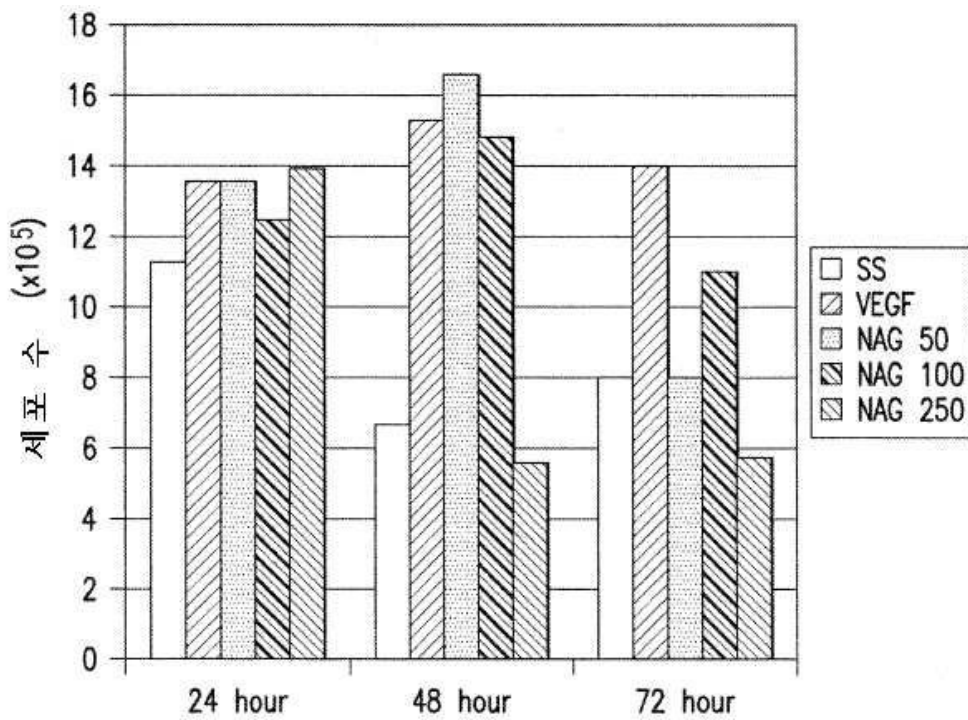
도면15d



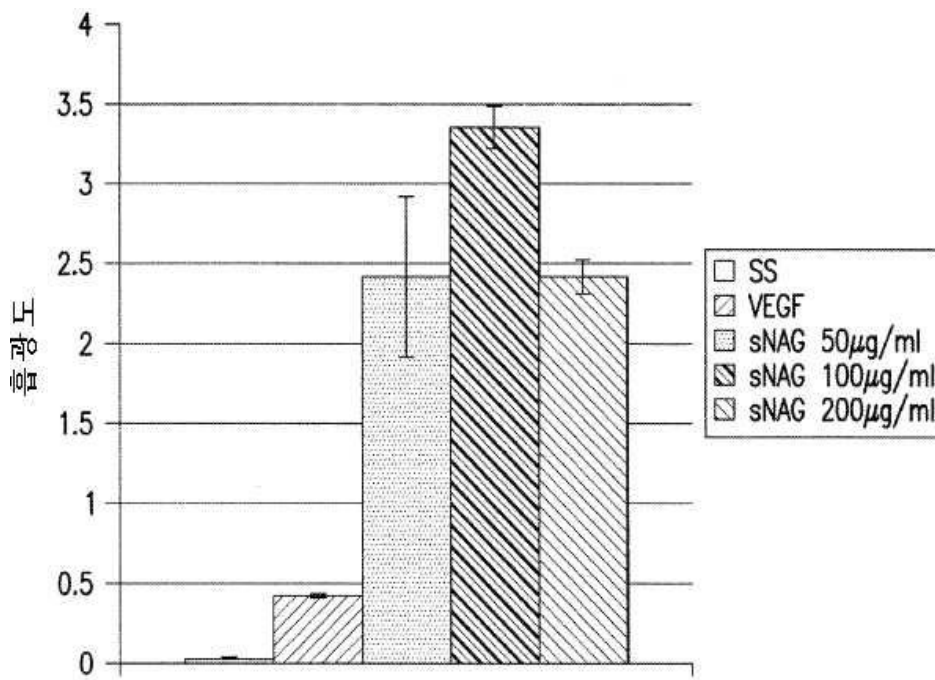
도면16



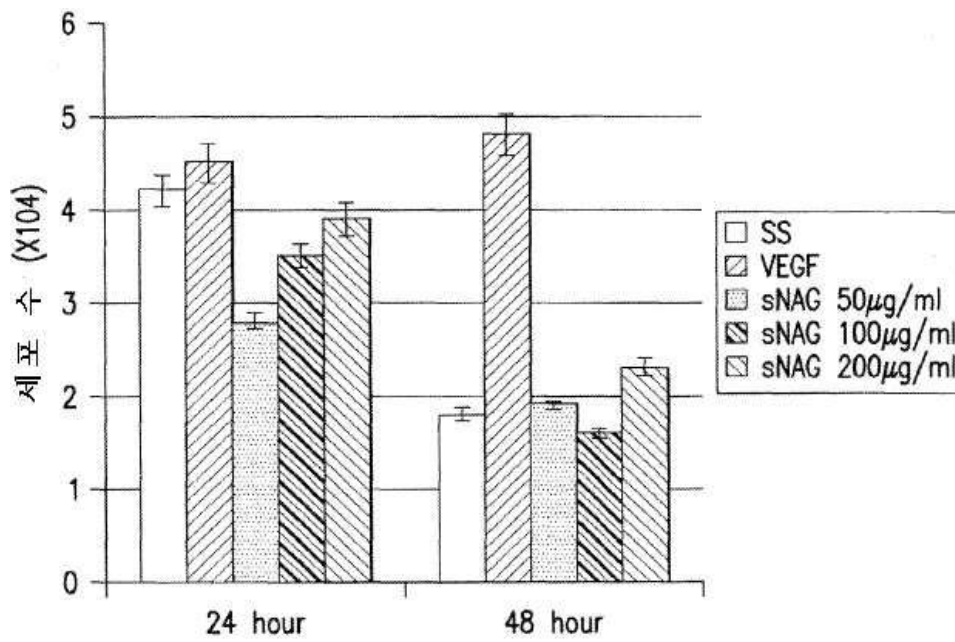
도면17



도면18



도면19



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 22

【변경전】

'상기 인간 개체는'

【변경후】

'상기 개체는'