(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0082025
(43) 공개일자 2025년06월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61K 31/4412* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2024.01)
A61K 31/4412 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0168172
(22) 출원일자 2023년11월28일
심사청구일자 2023년11월28일

(71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
탁은영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
김지예
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

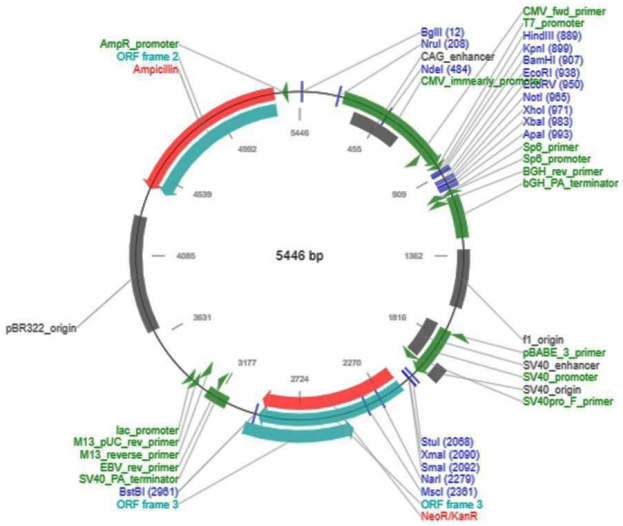
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물에 관한 것으로, SASH1 유전자의 동형체 (isoform)가 공통으로 발현하는 서열을 포함하는 SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본 발명의 벡터는 소라페닙의 항암 효과를 증가시키면서도 그 자체로 항암 효과가 우수하다는 점에서, SASH1 과발현 벡터 및/또는 소라페닙을 유효성분으로 포함하는 조성물은 암 예방 또는 치료용 물질로 유용하게 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자
남궁정만
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이승규
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
윤영인
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이주영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이은경
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
최지완
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
좌은경
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소
이륜진
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345350250
과제번호	2017R1D1A1B04032429
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)
연구과제명	B형 간염 간세포암에서 소라페닙과 특이적 항산화 저해제를 이용한 암세포 사멸에 관한 효과연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	서울아산병원
연구기간	2022.03.01 ~ 2022.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 SASH1 유전자 동형 (gene isoform)에서 공통으로 발현하는 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 동형의 엑손 20 (exon 20)에서 공통으로 발현하는 것인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자의 엑손 20 (exon 20)의 일부 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 500bp 내지 3,750bp 길이의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 엑손 20은 서열번호 4의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 엑손 20은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 5′ 말단으로부터 4,199번째 내지 7,949번째 염기를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 엑손 20의 일부 서열은 서열번호 1의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 9

제4항에 있어서,

상기 엑손 20의 일부 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 5′ 말단으로부터 6,608번째 내지 7,108번째 염기를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 벡터는 서열번호 1의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 벡터는 서열번호 2의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 벡터는 서열번호 3의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것인, 조성물.

청구항 14

SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙과의 병용투여용 조성물.

청구항 15

SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 조성물은 소라페닙 (sorafenib)을 추가적으로 더 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 17

SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 소라페닙 항암 효과 증진용 키트.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 키트는 소라페닙을 더 포함하는 것인, 키트.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것인, 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암의 치료를 위해서는 수술 요법, 방사선 치료 요법 및 화학요법 등이 사용되고 있다. 오늘날에는 약 60여 종의 다양한 항암제가 있으며 새로운 항암제 연구가 활발하게 진행됨에 따라 우수한 효과를 나타내는 항암제가 지속적으로 개발되고 있다. 그러나, 항암제들은 반복적으로 장기간 투여되거나 암이 재발된 경우에는 암세포가 항암제에 대한 내성을 획득함으로써 치료 효과를 상실하는 치명적인 단점이 있다.

[0003] 소라페닙 (Sorafenib, Nexavar®)은 타이로신 카이네이즈 (tyrosine kinase) 수용체를 표적으로 하여 항혈관신생 및 항증식 효과를 발휘하는 경구용 멀티-카이네이즈 억제제 (multi-kinase inhibitor)이다. 아시아 태평양 간연구 협회 (APASL)와 유럽 간 연구 협회 (EASL)의 새로운 지침에 따르면, 소라페닙은 국소치료에 부적합한 진행성 간세포암종 환자의 1차 치료제로 권고된다. 또한 AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases)에서도 소라페닙을 전신 제제로 권장하고 있다.

[0004] 그러나 소라페닙은 약물 감수성의 급격한 감소와 종양 세포의 내성 획득으로 인해 단기적 항암 효과를 나타낸다. 일반적으로 소라페닙 치료를 받는 간세포암종 환자는 6개월 이내에 내성을 갖게 되며, 전체 생존 기간은 단 3개월 증가하게 된다. 종양 미세 환경, 상피에서 중간엽으로의 전이 및 암 줄기세포와 같은 몇 가지 메커니즘이 소라페닙에 대한 낮은 종양 세포 민감도와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.

[0005] 따라서, 소라페닙의 내성을 극복하고 항암 효과를 증진하기 위한 물질 및 조합 등에 대한 연구가 활발히 진행중이나 아직까지 보고된 바가 적다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) (대한민국 공개특허) 제10-2021-0006945호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 하나의 목적은 SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙과의 병용투여용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙 (sorafenib)을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 소라페닙 항암 효과 증진용 키트를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 키트를 제공하는 것이다.

[0014] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명은 SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙 (sorafenib)을 유효성분으로 포함하는, 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 SASH1 유전자 동형 (gene isoform)에서 공통으로 발현하는 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 동형의 엑손 20 (exon 20)에서 공통으로 발현할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자의 엑손 20 (exon 20)의 일부 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0019] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 500bp 내지 3,750bp 길이의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20은 서열번호 4의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 5′ 말단으로부터 4,199번째 내지 7,949번째 염기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20의 일부 서열은 서열번호 1의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20의 일부 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence :

XM_054354867.1)의 5′ 말단으로부터 6,608번째 내지 7,108번째 염기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는 서열번호 1의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는 서열번호 2의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는 서열번호 3의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙과의 병용투여용 조성물을 제공한다.

[0029] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0030] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 소라페닙 (sorafenib)을 추가적으로 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 소라페닙 항암 효과 증진용 키트를 제공한다.

[0033] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 키트는 소라페닙을 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0037] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 소라페닙 항암 효과 증진 방법, 소라페닙과의 병용투여 방법, 또는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0038] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 포함하는 조성물의 소라페닙 항암 효과 증진 용도, 소라페닙과의 병용투여 용도, 또는 암 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

[0039] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 포함하는 조성물의 소라페닙 항암 효과 증진용 제제, 소라페닙과의 병용투여용 제제, 또는 암 예방 또는 치료용 제제를 제공하기 위한 용도를 제공한다.

[0041] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙을 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 암 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0042] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙을 포함하는 조성물의 암 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

[0043] 또한, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙을 포함하는 조성물의 암 예방 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0044] SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물은 SASH1 유전자의 동형체(isoform)가 공통으로 발현하는 서열을 포함하는 SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본 발명의 벡터는 소라페닙의 항암 효과를 증가시키면서도 그 자체로 항암 효과가 우수하다는 점에서, SASH1 과발현 벡터 및/또는 소라페닙을 유효성분으로 포함하는 조성물은 암 예방 또는 치료용 물질로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 본 발명에서 사용한 SASH1 과발현용 벡터의 모식도이다.

도 2는 SASH1을 과발현시키면서 소라페닙을 처리하였을 때의 IC_{50} 감소 효과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 SASH1 과발현 처리 및/또는 소라페닙 조건 하에서의 세포 생장 저해 활성을 나타낸 그래프이다.

도 4는 SASH1 과발현 처리 및/또는 소라페닙 조건 하에서의 세포 증식 활성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] SASH1 (SAM 및 SH3 도메인 함유 단백질 1)은 세포사멸 및 세포 증식을 비롯한 주요 세포 과정에서 역할을 하는 종양 억제 단백질로, 이러한 세포 과정은 인간 종양에서 자주 중단됨에도 불구하고 질병 발병에서의 SASH1의 역할에 대해 공지된 바가 거의 없다.

[0047] 그러나, 본 발명의 발명자들은 SASH1의 유전자 동형에서 공통적으로 발현하는 유전자 서열을 과발현하는 벡터를 처리하였을 때 소라페닙의 세포 사멸 (세포 생장 저해)효과, 세포 증식 억제 효과가 현저히 우수하게 증가하는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0048] 본 발명은 SASH1 (SAM and SH3 domain-containing protein 1) 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물을 제공한다.

[0049] 본 발명에서, “과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열”이란 특정한 숙주 생물에서 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열이 과발현되기 위해 필수적인 dna 서열을 의미할 수 있다. 본 발명에서, SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열이란 상기 서열을 포함하는 벡터 등을 통해 숙주 세포에서 SASH1이 과발현되기 위한 필수적인 서열을 의미할 수 있다.

[0050] 본 발명에서, 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 과발현 전사를 실시하기 위한 프로모터, 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보좀 결합 부위를 코딩하는 서열 및 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 포함할 수 있다. 예를 들면, 원핵생물에 적합한 조절 서열은 프로모터, 임의로 오퍼레이터 서열 및 리보좀 결합 부위를 포함한다. 진핵세포는 프로모터, 폴리아데닐화 시그날 및 인핸서가 이에 포함될 수 있다. 플라스미드에서 유전자의 발현 양에 가장 영향을 미치는 인자는 프로모터이다. 고 발현용의 프로모터로서 SRα 프로모터와 사이토메가로바이러스 (cytomegalovirus)유래 프로모터 등이 바람직하게 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 본 발명에서, “과발현”이란 일반적인 상태에서 세포내 해당유전자가 발현되는 수준보다 높은 수준의 발현을 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 당업계에서 일반적으로 약학적 또는 항암 증진 용도로 적용되는 유전자의 발현 수준이 높아진 상태를 의미하는 가장 광의의 의미를 포함할 수 있다.

[0052] 본 발명에서, “소라페닙 (sorafenib)”은 Nexavar라는 브랜드로 판매되는 항암제로, 원발성 신장암 (진행성 신세포암종), 진행성 원발성 간암 (간세포암종), FLT3-ITD 양성 AML 및 방사성 요오드 내성 진행성 갑상선암 치료용으로 승인된 약물일 수 있다.

[0053] 소라페닙은 VEGFR, PDGFR, 및 RAF 키나제를 포함한 많은 단백질 키나제에 대해 활성을 갖는 단백질 키나제 억제제이다. RAF 키나제 중에서 소라페닙은 B-RAF보다 c-Raf에 대해 더 선택적일 수 있다. 소라페닙 치료는 자가포식을 유도하여 종양 성장을 억제할 수 있다. 또한 강력한 가용성 에폭시드 가수분해효소 억제제이며 이 활성은

부작용의 심각성을 감소시킬 가능성이 높은 것으로 공지되어 있다.

[0054] 특히 간암에 있어서 가장 효과적인 단일 약물요법으로 알려져 있으나 높은 재발률 및 내성으로 치명적인 한계가 존재하여 약물 반응을 개선하기 위한 치료 전략이 필요한 실정으로 알려져 있다.

[0055] 본 발명에서, "벡터 (vector)"는 적합한 숙주 내에서 DNA를 발현시킬 수 있는 적합한 조절 서열에 작동가능하게 연결된 DNA 서열을 함유하는 DNA 제조물을 의미한다. 벡터는 플라스미드, 파지 입자, 또는 간단하게 잠재적 게놈 삽입물일 수 있다. 적당한 숙주로 형질전환 되면, 벡터는 숙주 게놈과 무관하게 복제하고 기능할 수 있거나, 또는 일부 경우에 게놈 그 자체에 통합될 수 있다. 플라스미드가 현재 벡터의 가장 통상적으로 사용되는 형태이므로, 본 발명의 명세서에서 "플라스미드 (plasmid)" 및 "벡터 (vector)"는 때로 상호 교환적으로 사용된다. 그러나, 본 발명은 당업계에 알려진 또는 알려지게 되는 바와 동등한 기능을 갖는 벡터의 다른 형태를 포함한다. 포유동물 세포 배양물 발현을 위한 전형적인 발현 벡터는 예를 들면 pRK5 (EP 307,247호), pSV16B (WO 91/08291호) 및 pVL1392 (Pharmingen)을 기초로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0056] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 SASH1 유전자 동형 (gene isoform)에서 공통으로 발현하는 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0057] 본 발명에서, "유전자 동형 (isoform)"은 동일한 유전자좌에서 생성되지만 전사 시작 부위 (TSS), 단백질 코딩 DNA 서열 (CDS) 및/또는 번역되지 않은 영역 (UTR)이 다르기 때문에 잠재적으로 유전자 기능을 변경하는 mRNA, 즉, 단일 유전자로부터 합성될 수 있는 서로 다른 RNA를 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이와 같은 유전자 동형은 스플라이스 변형 (splice variant) 시스템을 통해 동일한 서열에서 다양한 조합의 인트론과 엑손으로 이루어진 mRNA가 제조될 수 있다.

[0058] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 동형의 엑손 20 (exon 20)에서 공통으로 발현할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 500bp 내지 3,750bp 길이의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 공통으로 발현하는 서열은 SASH1 유전자의 엑손 20 (exon 20)의 일부 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0061] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20은 서열번호 4의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0062] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 5' 말단으로부터 4,199번째 내지 7,949번째 염기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0063] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 엑손 20의 일부 서열은 SASH1 유전자 (NCBI Reference Sequence : XM_054354867.1)의 5' 말단으로부터 6,608번째 내지 7,108번째 염기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0064] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는, 또는 본 발명의 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 서열번호 1의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0065] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는, 또는 본 발명의 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 서열번호 2의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0066] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는, 또는 본 발명의 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열은 서열번호 3의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0067] 본 발명에서, 상기 암은 소라페닙이 항암제로 적용될 수 있는 암이라면 제한되지 않는다. 예를 들어, 소라페닙이 항암제로 적용될 수 있는 암이란 주요 치료제가 아니더라도 보조 치료제로 사용되는 암을 포함한다. 또한, 단일 치료제로 사용되지 않고 다른 치료제와 함께 치료를 위해 사용되는, 즉, 보조 치료제로 사용되는 암을 포함할 수 있다. 이와 같은 소라페닙이 적용되는 암은 공인된 기관에 의해 특정 암의 주요 치료제로 사용된 것이 승인된 것 뿐만 아니라, 당업계에서 일반적으로 사용되는 암의 종류를 포함하는 것이다. 또한, 상기 암에서의 소라페닙의 처리 시기, 처리 용량, 처리 주기의 미미함에 제한되지 않으며 광의의 범위의 암의 종류를 의미할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상

선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0068] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 소라페닙과 병용하여 투여될 수 있다.

[0069] 본 발명에서, "병용투여"는, 치료 요법의 개별 성분들을 동시, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여하는 방식으로 이룰 수 있다. 2 이상의 약물을 동시에 또는 순차적으로 투여하거나, 또는 일정한 또는 정해지지 않은 간격으로 교대로 투여하는 등의 방법으로 병용 치료 효과를 얻는 것으로, 병용 치료법은 이에 한정되지 아니하지만, 예를 들어 반응 정도, 반응 속도, 질병 진행까지의 기간 또는 생존 기간을 통해 측정된 효능이 병용 치료법의 성분 중 하나 또는 나머지를 통상적인 용량으로 투약하여 얻을 수 있는 효능보다 치료학적으로 우수하면서 상승 효과를 제공할 수 있는 것으로 정의될 수 있다.

[0070] 또한, 병용투여를 위하여 단일 또는 다중 투여 방법이 사용될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 당업자에 의해 회수, 농도, 투여 방법 등의 최적의 조건으로 투여될 수 있다.

[0071] 본 발명에서, "항암 효과 증진"은, 결과적으로 항암제의 기능을 강화할 수 있는 모든 효과를 이르는 것으로서, 종양의 성장 억제, 종양의 전이 억제, 종양의 재발 억제 등과 같은 항암제의 항암 효과를 증진시키는 것은 물론, 항암제에 대한 암세포의 저항 내지 내성 형성을 억제함으로써 항암제에 대한 개체의 반응성 및/또는 민감성을 발생시키거나 증가시켜 결과적으로 항암 효과를 증진시키는 것까지 모두 포함하는 개념이다. 이에 더하여, 암 개체의 잔여 수명 연장, 고통 경감 등 투병 생활의 안녕 증대 등을 포함할 수 있다. 또한, 다른 약물과의 치료 상승 효과 증가, 약물의 복용 용량/주기의 감소 등 일반적으로 사용될 수 있는 치료 효과가 증가하는 것을 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 본 발명에서는 당업계에서 사용되는 농도 또는 양의 항암제 대비 저농도 또는 적은 양을 사용하더라도 동일 또는 그 이상의 항암 효과가 발생하거나, 기존에는 약물 치료 효과가 나타나지 않았던 농도 및/또는 용량에서 치료 효과가 나타나거나, 다른 약물과의 치료 상승 효과가 나타나지 않았거나, 나타났더라도 농도 및/또는 용량이 감소 또는 주기가 증가하는 등의 효과를 모두 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 즉, 본 발명에 따른 조성물은 항암 효과를 증진시키기 위한 목적으로, 공지된 항암제의 병용투여용 화합물로서 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물은 항암제와의 병용투여 용도로 사용되어, 상기 항암제의 항암 효과를 증진시킬 수 있다.

[0073] 본 발명의 벡터는 당업계에서 일반적인 방법에 따라 전달체에 포함되어 전달될 수 있고, 예를 들어, 리포솜을 사용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0074] 본 발명의 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열, 및 상기 서열을 포함하는 벡터 서열은 각각 서열번호 1, 내지 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오티드 서열(염기 서열)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않고, 상기 폴리뉴클레오티드 서열의 변이체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 본 발명의 서열번호 1, 내지 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오티드 서열의 핵산 분자는 이를 구성하는 핵산 분자의 작용성 등가물, 예를 들어, 핵산 분자의 일부 폴리뉴클레오티드 서열이 결실 (deletion), 치환 (substitution) 또는 삽입 (insertion)에 의해 변형되었지만, 핵산 분자와 기능적으로 동일한 작용을 할 수 있는 변이체 (variants)를 포함하는 개념이다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1, 내지 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오티드 서열의 폴리뉴클레오티드 서열과 각각 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 예를 들면, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 상동성을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0075] 폴리뉴클레오티드에 대한 "서열 상동성의 %"는 두 개의 최적으로 배열된 서열과 비교 영역을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열 (추가 또는 삭제를 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제 (즉, 갭)를 포함할 수 있다.

[0076] 본 발명에서, 서열번호 4는 SASH1 유전자의 엑손 20의 폴리뉴클레오티드 서열을 나타낸 것으로, 표 1에서 서열번호 4의 굵은 글씨 (bold체)는 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열로, 서열번호 1일 수 있다.

[0077] 또한, 본 발명에서, 서열번호 5는 SASH1 유전자이고, 표 1에서 엑손 20의 폴리뉴클레오티드 서열이 밑줄 표시되었으며 (underlined), 서열번호 4와 같다. 또한, 굵은 글씨 (bold체)는 서열번호 1일 수 있다.

[0079] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0080] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 소라페닙을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0081] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 소라페닙 (sorafenib)을 추가적으로 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0082] 본 발명에서, 벡터와 소라페닙을 포함하는 조성물은 상기 벡터와 소라페닙을 반드시 동시에 포함하는 조성물만을 의미하는 것은 아니며, 각각의 효과를 가장 잘 나타나게 하기 위한 용매, 제제 등에 포함된 각각의 조성물을 포함하는 조성물을 포함하는 가장 넓은 의미일 수 있다.

[0083] 본 발명에 따른 올리고펩티드 또는 이의 아날로그는 암의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 “암”이란, 제어되지 않은 세포성장으로 특징지어지며, 이러한 비정상적인 세포성장에 의해 종양이라고 불리는 세포 덩어리가 형성되어 주위의 조직으로 침투하고 심한 경우에는 신체의 다른 기관으로 전이되기도 하는 것을 말한다. 학문적으로는 신생물이라고 명명되기도 한다. 암은 수술, 방사선 및 화학요법으로 치료를 하더라도 많은 경우에 근본적인 치유가 되지 못하고 환자에게 고통을 주며 궁극적으로는 죽음에 이르게 하는 난치성 만성질환으로, 암의 발생요인으로는 여러 가지가 있으나, 내적 요인과 외적 요인으로 구분한다. 정상세포가 어떠한 기전을 거쳐 암세포로 형질전환이 되는지에 대해서는 정확하게 규명되지 않았으나, 상당수의 암이 환경요인 등 외적인자에 의해 영향을 받아 발생하는 것으로 알려져 있다. 내적 요인으로는 유전 인자, 면역학적 요인 등이 있으며, 외적 요인으로는 화학물질, 방사선, 바이러스 등이 있다. 암의 발생에 관련되는 유전자에는 종양형성유전자(oncogenes)와 종양억제유전자(tumor suppressor genes)가 있는데, 이들 사이의 균형이 위에서 설명한 내적 혹은 외적 요인들에 의해 무너질 때 암이 발생하게 된다.

[0084] 상기 암은 고형암 또는 혈액암일 수 있으며, 이의 비제한적인 예로서, 편평상피세포암, 폐암, 폐의 선암, 복막암, 피부암, 피부 또는 안구내 흑색종, 직장암, 항문부근암, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 혈액암, 간암, 위장암, 췌장암, 교아종, 경부암, 난소암, 방광암, 간종양, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 두경부암, 뇌암 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 보다 구체적으로는 폐암, 유방암, 혈액암, 대장암, 췌장암, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 암일 수 있다.

[0085] 본 발명에 있어서, 상기 폐암은 비소세포성 폐암(non-small cell lung carcinoma) 또는 폐유두선암(lung papillary adenocarcinoma)일 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명에 따른 화합물은 T790M 돌연변이 양성 환자, EGFR m⁻ 환자, 및/또는 오시머티닙에 대한 내성이 발생한 환자의 폐암 치료를 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명에 있어서, 상기 폐암은 EGFR 돌연변이 (예컨대, L858R 돌연변이, 및/또는 T790M 돌연변이) 및/또는 MET amplification 돌연변이 등을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명자들은 구체적인 실시예를 통해 본 발명에 따른 화합물을 항암제와 병용하였을 때 상기 돌연변이를 포함하는 암세포 혹은 동물모델에 대해 우수한 항암 효과가 발휘되는 것을 확인하였다.

[0086] 또한, 상기 유방암은 Hormone receptor(HR) 양성 유방암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 유방암은 삼중음성유방암 (Triple negative breast cancer)일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 유방암은 BRCA1 돌연변이 (예컨대, 5382C 돌연변이)를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명자들은 구체적인 실시예를 통해 본 발명에 따른 화합물을 항암제와 병용하였을 때 상기 돌연변이를 포함하는 암세포 혹은 동물모델에 대해 우수한 항암 효과가 발휘되는 것을 확인하였다.

[0087] 또한, 상기 혈액암은 백혈병, 림프종, 다발성 골수종 등일 수 있다.

[0088] 본 발명에서, 암의 예방 및/또는 치료 효과는 암세포의 성장을 억제하는 효과뿐 아니라, 이동(migration), 침습(invasion), 전이(metastasis) 등으로 인한 암의 악화를 억제하는 효과를 포함한다.

[0089] 본 발명에 따른 암 예방 또는 치료용 조성물은 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물과 동일한 의미이며, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군

으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0090] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제, 점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 서방캅셀제, 장용캅셀제, 환제, 틴크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0091] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 및 광물유를 들 수 있다.

[0092] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0093] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스 (HPMC), HPMC 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젖산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제쉘락, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 덱스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무 (Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유 (Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에칠렌글리콜 (PEG) 4000, PEG 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유 (Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골 (Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에칠렌글리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.

[0094] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에칠렌소르비톨지방산에스텔류 (트윈에스텔), 폴리옥시에칠렌모노알킬에텔류, 라놀린에텔류, 라놀린에스텔류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0095] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0096] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.

[0097] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스 (HPMC), HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0098] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9% 염화나트륨주사액, 링겔주사액, 덱스트로스주사액, 덱스트로스

+염화나트륨주사액, 피이지 (PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염 (초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염 (암모니아 및 초산암모니움), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩 톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 중아황산나트륨 ($NaHSO_3$) 이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨 ($Na_2S_2O_5$), 아황산나트륨 (Na_2SO_3), 질소가스 (N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드 설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0099] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텝솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날 (Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스판, 임하우젠 (Imhausen), 모놀렌 (모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아뎁스솔리두스 (Adeps solidus), 부티룸 태고-G (Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마 (Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75 (S-70-XX95), 히드록코테 (Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움 (Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로 (OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M ,Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제 (TG-95, MA, 57)와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0100] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0101] 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0102] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 바람직한 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 선택될 수 있다. 구체적인 예로, 상기 약학적 조성물은 0.001 내지 1000 mg/kg, 0.01 내지 100 mg/kg, 0.01 내지 10 mg/kg, 0.1 내지 10 mg/kg 또는 0.1 내지 1 mg/kg의 양을 1일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[0103] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0104] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간 (경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0105] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[0106] 본 발명에서 “개체”란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인

영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0107] 본 발명에서 “투여”란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0108] 본 발명에서 “예방”이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0110] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 소라페닙과의 병용투여용 조성물을 제공한다.

[0111] 또한, 본 발명의 조성물은 소라페닙과 각각 제제화되어 동시에 (simultaneously), 별도로 (separately), 또는 순차적으로 (sequentially) 투여되는 형태일 수 있다. 이 경우, 상기 조성물은 유효성분으로 본 발명의 벡터를 약학적 유효량을 포함하는 제1 약학적 조성물; 및 유효성분으로 상기 항암제; 소라페닙의 약학적 유효량을 포함하는 제2 약학적 조성물을 포함하는, 동시 또는 순차적 투여를 위한 병용투여용 약학적 조성물일 수 있다. 이때, 순차적 투여의 경우 투여 순서에 제한되는 것은 아니며, 환자의 상태 등에 따라 투여 요법은 적절하게 조절될 수 있다.

[0112] 즉, 상기 약학적 조성물이 순차적 투여를 위한 병용투여용 약학적 조성물인 경우, 상기 조성물은 본 발명의 벡터를 유효성분으로 포함하는 조성물 (“제1 성분”)이 먼저 투여된 후 상기 항암제; 소라페닙 (“제2 성분”)이 투여되는 것일 수 있으며, 그 반대 순서도 가능하다.

[0113] 또는, 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터를 유효성분으로 포함하는, 항암 보조용 조성물을 제공한다.

[0114] 본 발명의 항암 보조용 약학적 조성물이란 항암제와 병용 투여시 항암 효과를 발생시키거나, 증진시키는 것을 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0115] 또한, 본 발명에서 “항암 효과”는 항암제 그 자체 효과, 항암제에 대한 반응성을 발생시키거나 증진시키는 것을 의미할 수 있고, 기타 항암제 또는 항암 치료 방법과의 병용 치료 효과를 발생시키거나 증진시키는 것을 모두 의미할 수 있다.

[0116] 또한, 본 발명에서 “항암 보조”란 항암제의 상술한 “항암 효과”를 증대시키기 위해 도움이 되는 것을 의미하는 것으로서, 본 발명의 “항암 효과 증진”과 동일하거나 이의 효과를 보조하기 위한 것을 모두 포함할 수 있다.

[0117] 본 발명의 항암 보조용 약학적 조성물은 항암제와 병용 투여될 수 있고, 병용 시기, 주기, 용량, 농도, 방법 등은 상기 조성물이 투여되는 환자의 임상 상태, 암의 종류, 병용 투여되는 항암제의 종류, 기타 조성물의 종류 등의 상황을 고려하여 가장 바람직한 방법으로 병용 투여될 수 있다.

[0118] 또한, 항암 보조용 약학적 조성물은 항암제에 대한 보조 효과를 증진시키기 위하여 일반적으로 첨가될 수 있는 기타 물질과 함께 제조될 수 있고, 기타 조성물과 병용 투여될 수 있다.

[0119] 또한, 보조 효과 증진을 위해 일반적으로 수행되는 전처리 또는 후처리 방법, 보관 방법, 사용 방법은 제한되지 않고 적용될 수 있다.

[0121] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 소라페닙 항암 효과 증진용 키트를 제공한다.

[0122] 본 발명은 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 SASH1 과발현 벡터, 및 설명서를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.

[0123] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 키트는 소라페닙을 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0124] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 암은 간세포암 (hepatocellular carcinoma, HCC), 진행성 갑상선암 (advanced thyroid cancer), 및 신장암 (RCC)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이

에 제한되는 것은 아니다.

[0125] 본 발명에 있어서, “키트”는 본 발명의 SASH1 과발현 유도를 위한 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 이용하여 소라페닙의 항암 효과를 증진시키거나, 본 발명의 벡터 및 소라페닙을 포함하여 암을 예방 또는 치료할 수 있도록 하는 도구를 의미한다. 본 발명의 키트에는 상기 물질 외에도 이들의 보관, 처리 방법에 통상적으로 필요한 다른 구성성분, 조성물, 용액, 장치 등이 포함될 수 있다. 구체적인 예로는 이때, 각 구성은 1회 이상 횟수에 제한 없이 적용될 수 있으며, 각 물질을 적용하는 선후에는 제한이 없고, 각 물질의 적용은 동시에 진행될 수도 있고 미시에 진행될 수도 있다.

[0126] 본 발명에 있어서, 상기 키트는 컨테이너; 지시서; 등을 포함할 수 있다. 상기 컨테이너는 상기 물질을 포장하는 역할을 할 수 있고, 보관 및 고정하는 역할을 할 수도 있다. 상기 컨테이너의 재질은 예컨대, 병, 통 (tub), 작은 봉지 (sachet), 봉투 (envelope), 튜브, 앰플 (ampoule) 등과 같은 형태를 취할 수 있고, 이들은 부분적 또는 전체적으로 플라스틱, 유리, 종이, 호일, 왁스 등으로부터 형성될 수 있다. 상기 용기는 처음에는 용기의 일부이거나 또는 기계적, 접착성, 또는 기타 수단에 의해 용기에 부착될 수 있는, 완전히 또는 부분적으로 분리가 가능한 마개를 장착할 수 있으며, 또한 주사바늘에 의해 내용물에 접근할 수 있는 스토퍼가 장착될 수 있다. 상기 키트는 외부 패키지를 포함할 수 있으며, 외부 패키지는 구성 요소들의 사용에 관한 지시서를 포함할 수 있다.

[0128] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0129]

[0130] **[실시예]**

[0132] [재료 및 방법]

[0134] 세포주 준비

[0135] HepG2.2.15 세포는 한국과학기술원(KAIST, 대전, 한국)으로부터 기증받았다. 세포를 5% CO_2를 함유하는 가습 인큐베이터에서 37℃에서 10% 소태아혈청 (FBS; Invitrogen Life Technologies, USA)이 보충된 Dulbecco’s Modified Eagle’s 배지 (DMEM; Hyclone, USA)에서 배양하였다.

[0137] Cell transfection: 과발현 유도

[0138] 세포의 형질감염은 제조사의 지시에 따라 Opti-MEM 내 Lipofectamine® 3000(Invitrogen, L3000015)을 사용하여 수행하였다. 구체적으로, 희석된 Lipofectamine® 3000을 벡터와 혼합한 후 실온에서 10분 동안 배양하였다. 그 후 혼합물을 HepG2.2.15 세포 배양 플레이트에 첨가하고 5% CO_2가 포함된 대기에서 37℃로 배양하였다.

[0140] **실시예 1. SASH1 과발현 벡터의 제작**

[0141] 본 발명의 SASH1 과발현 벡터를 제작하였다. 구체적으로, 본 발명의 SASH1의 과발현 벡터를 제작하기 위하여 SASH1의 transcriptional isoform이 공유하는 엑손 서열 (exon sequence)을 조사하였다. 이 때, 상기 서열은 인간 SASH1 도메인, 전사체 변형 X1의 mRNA (Homo sapiens SAM and SH3 domain containing 1 (SASH1), transcript variant X1, mRNA, NCBI XM_054354867.1)로부터 사용하여 확인하였다.

[0142] SASH1이 포함하는 총 20개의 엑손 중 모든 유전자 이소형이 공통으로 발현하는 엑손으로는 exon 10 (347bp), exon 11 (75bp), exon 12 (144bp), exon 13 (136bp), exon 14 (170bp), exon 15 (210bp), exon 16 (151bp), exon 17 (114bp), exon 18 (1,139bp), exon 19 (132bp), exon 20 (3,750bp)이 있는 것으로 확인되었다. 그 중 엑손 20 (SASH1 유전자 서열번호 3의 4,199bp에서 7,949bp까지, 총 3,750bp)에서 일부 (서열번호 1, SASH1 유

전자 서열번호 3의 6,608bp에서 7,108bp까지, 총 500bp)를 포함하는 서열 (서열번호 2, 516bp)을 사용하여 벡터를 제작하였다 (도 1). 본 발명의 벡터는 표 1의 서열번호 3으로 표시되고, 이 때, 5' 말단은 HindIII로, 3' 말단은 XbaI으로 절단하여 제작되었다.

표 1

[0144]

서열번호	명칭	서열
서열번호 1	SASH1 overexpression vector insert gene	AGCGTTCAATGCATTTCACGTGCTGTGGTGGATGTGGGTGCTGTAGACAGGCTTC TTCTCTTCCTGCTCTCAAAATACCTCGGCTTGACATTTGGACAGATCCTGTCATT GTTTAAGCTGAGCAAAAAACCACACAAAAGTTGTGTAAGAGATGAGATAACAAAG GAGCGAGAGAAATCTCATGTGAATTTCCAAGTTTTAATTCGTTCTCCATGAAGGA TTTTCATTTCAGTGAAAGTCGCAGCAGAAGAGGGAACTTTCTGGAGTTTTTGAGA ATGCCAAACCACATTTTTATCACACTTCTTTGGAAATCAATGCCTTTGCATAGAA AATCAAATTCAGGGACCACAAAGAATTTTCAGTGGGAATGTCTAGTCTGAGGGGT CTGAGGTTGTTTTTACTTTATTGTGTTGTTTAAATATTTTAAAAATATCTTTAGC GTTTGGTCTTTTTTTTTTCTGTAAACATTTAATTTGGTCTGAGAAAAGCTGAATG TTTGG
서열번호 2	gene comprising SASH1 overexpression vector insert gene	AGCGTTCAATGCATTTCACGTGCTGTGGTGGATGTGGGTGCTGTAGACAGGCTTC TTCTCTTCCTGCTCTCAAAATACCTCGGCTTGACATTTGGACAGATCCTGTCATT GTTTAAGCTGAGCAAAAAACCACACAAAAGTTGTGTAAGAGATGAGATAACAAAG GAGCGAGAGAAATCTCATGTGAATTTCCAAGTTTTAATTCGTTCTCCATGAAGGA TTTTCATTTCAGTGAAAGTCGCAGCAGAAGAGGGAACTTTCTGGAGTTTTTGAGA ATGCCAAACCACATTTTTATCACACTTCTTTGGAAATCAATGCCTTTGCATAGAA AATCAAATTCAGGGACCACAAAGAATTTTCAGTGGGAATGTCTAGTCTGAGGGGT CTGAGGTTGTTTTTACTTTATTGTGTTGTTTAAATATTTTAAAAATATCTTTAGC GTTTGGTCTTTTTTTTTTCTGTAAACATTTAATTTGGTCTGAGAAAAGCTGAATG TTTGGGTGTGACGTTTGACTG
서열번호 3	SASH1 overexpression **vector**	GACGGATCGGGAGATCTCCCGATCCCCTATGGTCGACTCTCAGTACAATCTGCTC TGATGCCGCATAGTTAAGCCAGTATCTGCTCCCTGCTTGTGTGTTGGAGGTCGCT GAGTAGTGCGCGAGCAAAATTTAAGCTACAACAAGGCAAGGCTTGACCGACAATT GCATGAAGAATCTGCTTAGGGTTAGGCGTTTTGCGCTGCTTCGCGATGTACGGGC CAGATATACGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACG GGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAA ATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGAC GTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTA CGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTA CATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCT ATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTG ACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTG GCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACG CAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCTGGC TAACTAGAGAACCCACTGCTTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTATAG GGAGACCCA**AGCGTTCAATGCATTTCACGTGCTGTGGTGGATGTGGGTGCTGTAG**
		ACAGGCTTCTTCTCTTCCTGCTCTCAAAATACCTCGGCTTGACATTTGGACAGAT CCTGTCATTGTTTAAGCTGAGCAAAAAACCACACAAAAGTTGTGTAAGAGATGAG ATAACAAAGGAGCGAGAGAAATCTCATGTGAATTTCCAAGTTTTAATTCGTTCTC CATGAAGGATTTTCATTTCAGTGAAAGTCGCAGCAGAAGAGGGAACTTTCTGGAG TTTTTGAGAATGCCAAACCACATTTTTATCACACTTCTTTGGAAATCAATGCCTT TGCATAGAAAATCAAATTCAGGGACCACAAAGAATTTTCAGTGGGAATGTCTAGT CTGAGGGGTCTGAGGTTGTTTTTACTTTATTGTGTTGTTTAAATATTTTAAAAAT ATCTTTAGCGTTTGGTCTTTTTTTTTTCTGTAAACATTTAATTTGGTCTGAGAAA AGCTGAATGTTTGGGTGTGACGTTTGACTGCTAGAGGGCCCTATTCTATAGTGTC ACCTAAATGCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCC ATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCC ACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTC ATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGA CAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGA ACCAGCTGGGGCTCTAGGGGGTATCCCCACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCG CGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGC GCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTTTCCC

		CGTCAAGCTCTAAATCGGGGCATCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGC ACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCC CTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGA CTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATT TATAAGGGATTTTGGGGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACA AAAATTTAACGCGAATTAATTCTGTGGAATGTGTGTCAGTTAGGGTGTGGAAAGT CCCCAGGCTCCCCAGGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAG CAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCAT GCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCC CTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCTGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGG AGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTCCCGGGAGCTTGTATATCC ATTTTCGGATCTGATCAAGAGACAGGATGAGGATCGTTTCGCATGATTGAACAAG ATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGA CTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCG CAGGGGCGCCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAAC TGCAGGACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCGC

		AGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAA GTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCA TCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATT CGACCACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGT CTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAAC TGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCGACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCA TGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTC ATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTA CCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCT TTACGGTATCGCCGCTCCCGATTCGCAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGAC GAGTTCTTCTGAGCGGGACTCTGGGGTTCGAAATGACCGACCAAGCGACGCCCAA CCTGCCATCACGAGATTTCGATTCCACCGCCGCCTTCTATGAAAGGTTGGGCTTC GGAATCGTTTTCCGGGACGCCGGCTGGATGATCCTCCAGCGCGGGGATCTCATGC TGGAGTTCTTCGCCCACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATA AAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGT TGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACCGTCGACCT CTAGCTAGAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTA TCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGG GGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTT TCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGG GAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTG CGCTCGGTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATAC GGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCA GCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTC CGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACC CGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTC TCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGA AGCGTGGCGCTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCG TTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGC CTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCA CTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTA CAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGG TATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGA TCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGA TTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTC TGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCA AAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCT AAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGC ACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTC GTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGA TACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGC CGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCT ATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCA ACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGC TTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTG TGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGG CCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCAT GCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGA GAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATA CCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGG GCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACT CGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAG CAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATG TTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTAT TGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGG TTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTC

서열번호 4	SASH1 exon 20	ATTCCAAGTGGTGGACTCACGGAAATCTGCCGAAAGCCCGTCTCTCCTGGGTGCA TTTCGTCTGTGTCAGATTGGCTCATTTCCATCGGTCTGCCCATGTACGCCGGCAC CCTCTCCACCGCGGGCTTCAGCACACTGAGCCAAGTGCCTTCTCTGTCTCACACT TGCCTTCAGGAGGCCGGCATCACAGAGGAGAGACACATAAGAAAGCTCCTATCTG CAGCCAGACTCTTCAAACTGCCGCCAGGCCCTGAGGCCATGTAGCCAGGCCCGGA ATGGGCCTCTCTGGACAAGAGCCACCCTTTCACTGTGCATATGATGCTGATGCAA TTCCTCCATCATCTCTGGACGTGCAGACCAGATCCAGAAGAAAGGCCTGGCGTGT GGCCAAACAGCGTGAAACCTTGGCACAGGACTGAGGATCCTCTCCTCCAGAAAAG CCCCCTCGAGGAAATAAATTAGTGCGGTTCTCTTTGACCTCCAAAGACAAGACAA GCACTTATTTTTATTTTCAGAAGACAAAAGAACCAAGATGCCAACTGGCTGCGAA TGCTCTATCTCCAGTCTGTCTCTGTGTACTGGTAGAGGCTGGGAGGAGTAGGGGG CAGCCTGTTCCATTTCTGATAGTGCCCTTGCTCTTCTGTCTGTCATCTTGCAGGA TGCCCGAGGGCCAGATGGGCTTAGCTAGGCCAAAGTAACAGACTCAAGAGTTATT GTACATTACTGACCACGCTCATTTGTTCAAAAGTTAGAACATCTGGCTGCACCAG GAAAAAAAAAAAAAAAAAGTCCTGTTCTTCTTTAGATAAACAAGAGACATTTTCA TAATTGCTTTCTAGCAATCAGCTTTTATTTGCCTTAATATAAGCTTTTAAGCAGT TATCTAACTAGTGTCCACAACCCTGTAACCATACTTCCACATCTTCAGCTTAGGC AGACATCGAACCTCTCTGGGATGTTTCCAGCAAAAGTGAGCTTTTCTAATCGTCT CATTGTAACATGGCTTATTTTGTAGAGGTATTCATCAGCCACACACTTCATGTTG GTTTTTGGTTTTTAAGCTAACTACAAATCTAGTAAAAAGCTATCTGAAATTCACA AATATCATGTGTGTGCGTGCGTGCGTGCGCGTGTGTGTCTGTATTCATAGTGACT GCTTTTGGTTTTAACCAGTTTAGTATCGTTACTGTGTGGATCGTCGCGCTGCAGT ATTGACTTGGAATCCTGACCATGTCCATCCCAAAATTCAGTCCTCAGTTAACGGA TCATGTTTGCAAAAGGTCACTGTGAGGCTGCATATTTCAGAAAGATGTCCTTAAT AAGGGAAGTCATGTATAAGATGTTTTCTAAAAGACTTTTCAGTATTACAACTAAT ACTATTATTATCCTTCTTTTTTTATTTAGATAATTCTTTTAATTTAAACAAAGGT TCACTATGGAACCAGACAAATCTCATTAGCCATGTGTTAAGTATTTGCTACTTTA AATTGTTTTACAACTGATTTCAGCACATTCTATCCTTTTTTTTTTTTGAAATGGA GTTTCGCTCTTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAATGGCACGATCTTGGCTCACTGCA ACCTCAGTCTCCCAGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTTAGCCTCCCGAGTAGCTGG GATTATAGGCACCCACCACCACGCCCAGCTAATTTTTGTATTATTAGTAGAGACA GGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAACTCAACTCCTGACCTCAGGTGG TCCACCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCGCACC TGGCCTCTGTCCTCTTTTAGTCTAGTGTCTGGTTTTCTAGCAAACAGTAAATTTA AACAAGTAAACTATTATGGTTTCCATTGCTTACAAAATGATTTTCCTTTACATTC TTATCATGAACACTATTTTAAGCATCAAATGCAATCATCTAAAATATAAAGGTCA ATCATTTATAATAGAAACACCTTGACCACAAGCCCTTGATTGAACATTTTATAAT ATTTCATCTACTTATTAAAACAAATAATTTCCCTTGGGTTGGAGGGGAAGTGATT TCATAAATTAATTAGAAAGCCATCTTTAGCATATTGCTTATGTCTGGATCCATGT TTCTGAGGAAAAAGACATTCTCAGGTGATGTATTTTTTTCATGCATTAGTATGCA TTTTTAAAAAATAATGCATGTTTCTTTAATAATTAATTTTCATCTTCTATAAGAT GCCATGTGAAGAAGTTGTGGAAATGTAGAATAAAAAGCTAAAGCTGCCAAATTTC TGTTGAACTCTTAAAAACAGCTCATGTTTGTTTGTCCTCTCGGGTTGTGGCCTAG CCTATTTGCAATGTAATGAAGCTGCAGGGTTCTTGTATAGCTAA**AGCGTTCAATG** **CATTTCACGTGCTGTGGTGGATGTGGGTGCTGTAGACAGGCTTCTTCTCTTCCTG** **CTCTCAAAATACCTCGGCTTGACATTTGGACAGATCCTGTCATTGTTTAAGCTGA** **GCAAAAAACCACACAAAAGTTGTGTAAGAGATGAGATAACAAAGGAGCGAGAGAA** **ATCTCATGTGAATTTCCAAGTTTTAATTCGTTCTCCATGAAGGATTTTCATTTCA** **GTGAAAGTCGCAGCAGAAGAGGGAACTTTCTGGAGTTTTTGAGAATGCCAAACCA** **CATTTTTATCACACTTCTTTGGAAATCAATGCCTTTGCATAGAAAATCAAATTCA** **GGGACCACAAAGAATTTTCAGTGGGAATGTCTAGTCTGAGGGGTCTGAGGTTGTT** **TTTACTTTATTGTGTTGTTTAAATATTTTAAAAATATCTTTAGCGTTTGGTCTTT** **TTTTTTTCTGTAAACATTTAATTTGGTCTGAGAAAAGCTGAATGTTTGG**GTGTGA CGTTTGACTGAGGTGGATTGGGGCTGCCTGTGGACATTAGTGAACAGGTGGTAGG CTTCAGGAATATCCAGTTTTAATCAGTTGCATTTGGTACAGAATTTTGAGTAATG GTGAAAATTGTTGTCTTTGGAAAGCACAAAAGAAACCTGGAAAGGCAGTTCGGCT CAGGTAGCTACACATAACATTGTGTATGATTTTCACTTCAAAGCTGTCTGGAAGG AAATGCAGTCAGCTCCAGCTAGTACTATTTATGTACCCAGATAACTAAGATATTG TTTCATGGCCTTGCCTTAGTCAGAGGCCCTTTTCTCTGTCCTGAACCCCCAGGTA TGGGTGAAATTGGAAATTACTAATCTATTGGAAATCAGTTCCTGACATAGTAAAG TTTGCTTTCATAACTGCAGCAAAAAAGGTCAACTTGCCAAGTCACTGCTGCCATG TGTGTACTGTATTATTTTCAGAAAAAAATATAATAGTCTGAGTCCAAGTTATCTT GATTTAAAATTGATAGAGAAAAGAAACTGTCGAGCAAGTTATATAACAACTAACA ACATTGCACTTTCTGTATATGAAATCAATATTTAAATAACTTATTTTTCTCCATT GCTGTTCTTAAAAACATTGTAAGTAGCTGTAATATACCAGTACCAATATGTTCTT GCAATTGCTTCAGCCCAAGAAAGCTGTGTATTGTTTTAAAAATTGTAAAAATTAT TGTGATGATTCATTTAGCATAAAGAGAGGTGGACGGAAGGGTTTTCCTATGTATC AAAACTTGTCTATAATTATGTCATCTATGTACCTAGAAAAAAGTAAATAAATTTC TTCAGTTGAA

서열번호 5	SASH1	GGGAAAGTTTCTGGAGTTGTCAGTCGCGCAGCCCGTGGCCACCTAGACCCGAGGT GCGGGCGCCTGCGAAGGGCCCCCGCGGGGTGGCCGGGGCCGCCGGGGCATGCAGC GCGGGGGCGCGGCTCGGTGACGCCGCGGGCGGGGACCCGGCATCCGGGCAGGCTG CGCGCGGGTGCGGGGCGAGGGCGCCGCGGGGACTGGGACGCACGGCCCGCGCGCG GGACACGGCCATGGAGGACGCGGGAGCAGCTGGCCCGGGGCCGGAGCCTGAGCCC GAGCCCGAGCCGGAGCCCGAGCCCGCGCCGGAGCCGGAACCGGAGCCCAAGCCGG GTGCTGGCACATCCGAGGCGTTCTCCCGACTCTGGACCGACGTGATGGGTATCCT GGACGGTTCACTGGGAAACATCGATGACCTGGCGCAGCAGTATGCAGATTATTAC AACACCTGTTTCTCCGACGTGTGCGAGAGGATGGAGGAGCTGCGGAAACGGCGGG TTTCCCAGGACCTGGAAGTGGAGAAACCCGATGCTAGCCCCACGTCACTTCAGCT GCGGTCCCAGATCGAAGAGTCGCTTGGCTTCTGTAGCGCCGTGTCAACCCCAGAA GTGGAAAGAAAGAACCCTCTTCATAAATCAAACTCAGAAGACAGCTCTGTAGGAA AAGGAGACTGGAAGAAGAAAAATAAGTATTTCTGGCAGAACTTCCGAAAGAACCA GAAAGGAATAATGAGACAGACTTCAAAAGGAGAAGACGTTGGTTATGTTGCCAGT GAAATAACGATGAGCGATGAGGAGCGGATTCAGCTAATGATGATGGTCAAAGAAA AGATGATCACAATTGAGGAAGCACTTGCTAGGCTCAAGGAATACGAGGCCCAGCA CCGGCAGTCGGCTGCCCTGGACCCTGCTGACTGGCCAGATGGTTCTTACCCAACG
		TTTGATGGCTCATCAAACTGCAATTCAAGAGAACAATCGGATGATGAGACTGAGG AGTCGGTGAAGTTTAAGAGGTTACACAAGCTGGTAAACTCCACTCGCAGAGTCAG AAAGAAACTAATTAGGGTGGAAGAAATGAAAAAACCCAGCACTGAAGGTGGGGAG GAGCACGTGTTTGAGAATTCGCCGGTCCTGGATGAACGGTCCGCCCTCTACTCTG GCGTGCACAAGAAGCCCCTTTTCTTTGATGGCTCTCCTGAGAAACCTCCCGAAGA TGACTCAGACTCTCTCACCACGTCTCCATCCTCCAGCAGCCTGGACACCTGGGGG GCTGGCCGGAAGTTGGTCAAAACCTTCAGCAAAGGAGAGAGCCGGGGCCTGATTA AGCCCCCCAAGAAGATGGGGACATTCTTCTCCTACCCAGAAGAAGAAAAGGCCCA GAAAGTGTCCCGCTCCCTCACCGAGGGGGAGATGAAGAAGGGTCTCGGGTCCCTA AGCCACGGGGTAAGTACGGATGGTGTTTGCTTCTATGACAACCACCGTCGCAGGC ACCACCTTCTGGTGTCCCTGGAGGAGTTTCAGAGTGTCCGGAAGCAAATCCGCTT GAAGAAAACGGATACTAATTATTCCTGTTCCAGAGCTTTTCTCTGCCAGCGTCCC TCCAGAAAAGGCGTCACCAGCACCACCTGTGACCTGCAGCTGCTCCGGCAGAAAG GCAAAGGGGGCGGGAGCTGCGGCTTCCCCGGCAGGAGGGTGCGCGGGCGCACCTC GGTCAGCGAGTTCAATATCACCTACGTGGTGGAGCGGAGCCTGTACAGCCACCTG AACCTGACCCAGCTAGTGCGGCCTGCCTCAGACAGGACCCTGAGCAAGGCTGAGA GACAGGACCTGAGGCGGTGCCTGCTGGAGGAGGATGAGGAGGCAAAGAGGAAGTG
		GGCCGCCACGGTCGACCGCTGTACTAAAAGGGTTCTCTTGAGAATCCACCAGAAG TCTAGAACCTGCAGTTTTGGAGGATTTGACTTGACGAATCGCTCTCTGCACGTTG GCAGTAATAATTCTGACCCAATGGGTAAAGAAGGAGACTTTGTGTACAAAGAAGT CATCAAATCACCTACTGCCTCTCGCATCTCTCTTGGGAAAAAGGTGAAATCAGTG AAAGAGACGATGAGAAAGAGAATGTCTAAAAAATACAGCAGCTCTGTCTCTGAGC AGGACTCGGGCCTTGATGGAATGCCTGGCTCCCCTCCGCCTTCACAGCCCGACCC CGAACACTTGGACAAGCCCAAGCTCAAGGCCGGGGGTTCTGTAGAAAGTCTTCGC AGTTCTCTCAGTGGGCAGAGCTCCATGAGCGGTCAAACAGTGAGCACCACTGATT CCTCAACCAGCAACCGGGAAAGCGTCAAGTCGGAAGATGGGGATGACGAAGAGCC GCCTTACCGAGGCCCGTTCTGCGGGCGTGCCAGGGTGCACACCGACTTCACCCCC AGTCCCTATGACACAGACTCACTCAAGCTCAAGAAAGGAGATATCATCGATATAA TCAGCAAGCCACCCATGGGGACCTGGATGGGCCTGCTGAACAACAAAGTCGGCAC GTTCAAGTTCATCTACGTGGACGTGCTCAGTGAAGACGAGGAGAAACCCAAACGC CCCACCAGGAGGCGTCGGAAAGGACGACCACCCCAGCCCAAGTCTGTGGAGGATC TCCTGGATCGGATTAACCTAAAAGAGCACATGCCCACTTTCCTGTTCAATGGATA TGAAGATTTGGACACCTTTAAGCTGCTGGAGGAGGAAGACTTGGATGAGTTAAAT ATCAGGGACCCGGAACACAGAGCTGTTCTCTTGACAGCAGTGGAGCTGTTACAAG

		AGTATGACAGTAACAGCGACCAGTCAGGATCCCAGGAGAAGCTGCTCGTTGACAG CCAGGGCCTGAGTGGATGCTCACCCCGAGACTCAGGATGCTACGAAAGCAGTGAG AACCTGGAAAACGGCAAGACTCGGAAAGCTAGCCTCCTATCTGCCAAGTCATCCA CCGAGCCCAGCTTGAAGTCTTTTAGCAGAAACCAGTTGGGCAATTACCCAACATT GCCTTTAATGAAATCAGGGGATGCACTGAAGCAGGGACAGGAGGAGGGCAGGCTG GGTGGTGGCCTTGCCCCAGACACGTCCAAGAGCTGTGACCCACCTGGTGTGACTG GTTTGAATAAAAACCGAAGAAGCCTCCCAGTTTCCATCTGCCGGAGCTGTGAGAC CCTGGAGGGCCCCCAGACTGTGGACACTTGGCCCCGATCCCATTCCCTGGATGAC CTTCAAGTGGAGCCTGGTGCTGAGCAAGACGTGCCTACCGAGGTGACAGAACCGC CCCCTCAGATTGTACCTGAAGTGCCACAGAAGACGACCGCCTCTTCCACGAAGGC CCAGCCCCTGGAGCGAGACTCTGCTGTCGACAATGCATTGCTACTGACCCAAAGC AAGAGATTTTCTGAACCTCAGAAATTGACAACTAAGAAACTGGAGGGCTCAATCG CAGCCTCTGGTCGCGGCCTGTCACCCCCTCAGTGTTTGCCCAGAAACTATGATGC TCAGCCTCCTGGAGCTAAACACGGTTTAGCAAGGACGCCTCTGGAGGGCCACAGA AAAGGACACGAGTTTGAAGGAACACACCATCCCCTGGGCACCAAAGAAGGGGTAG ATGCTGAGCAGAGAATGCAGCCCAAAATTCCATCACAGCCTCCACCTGTTCCTGC CAAAAAGAGCAGAGAACGCCTTGCTAACGGACTCCACCCTGTTCCCATGGGCCCC
		AGTGGGGCCCTCCCCAGTCCCGATGCGCCATGCCTGCCAGTGAAAAGGGGCAGCC CCGCCAGCCCCACCAGCCCTAGCGACTGTCCCCCAGCACTGGCTCCCAGGCCTCT CTCAGGGCAGGCGCCTGGCAGCCCACCAAGCACAAGGCCGCCCCCCTGGCTCTCA GAGCTCCCCGAGAACACAAGCCTCCAGGAGCACGGTGTGAAGCTGGGCCCGGCTT TGACCAGGAAGGTCTCCTGTGCCCGGGGAGTGGATCTAGAAACGCTCACTGAAAA CAAGCTGCACGCTGAAGGCATCGATCTCACGGAGGAGCCGTATTCTGATAAGCAT GGCCGCTGTGGGATTCCTGAAGCCCTGGTGCAGAGATACGCAGAGGACTTGGATC AGCCCGAGCGGGACGTCGCCGCCAACATGGACCAGATCCGGGTGAAGCAGCTTCG GAAGCAGCACCGCATGGCGATTCCAAGTGGTGGACTCACGGAAATCTGCCGAAAG CCCGTCTCTCCTGGGTGCATTTCGTCTGTGTCAGATTGGCTCATTTCCATCGGTC TGCCCATGTACGCCGGCACCCTCTCCACCGCGGGCTTCAGCACACTGAGCCAAGT GCCTTCTCTGTCTCACACTTGCCTTCAGGAGGCCGGCATCACAGAGGAGAGACAC ATAAGAAAGCTCCTATCTGCAGCCAGACTCTTCAAACTGCCGCCAGGCCCTGAGG CCATGTAGCCAGGCCCGGAATGGGCCTCTCTGGACAAGAGCCACCCTTTCACTGT GCATATGATGCTGATGCAATTCCTCCATCATCTCTGGACGTGCAGACCAGATCCA GAAGAAAGGCCTGGCGTGTGGCCAAACAGCGTGAAACCTTGGCACAGGACTGAGG ATCCTCTCCTCCAGAAAAGCCCCCTCGAGGAAATAAATTAGTGCGGTTCTCTTTG

		ACCTCCAAAGACAAGACAAGCACTTATTTTTATTTTCAGAAGACAAAAGAACCAA GATGCCAACTGGCTGCGAATGCTCTATCTCCAGTCTGTCTCTGTGTACTGGTAGA GGCTGGGAGGAGTAGGGGGCAGCCTGTTCCATTTCTGATAGTGCCCTTGCTCTTC TGTCTGTCATCTTGCAGGATGCCCGAGGGCCAGATGGGCTTAGCTAGGCCAAAGT AACAGACTCAAGAGTTATTGTACATTACTGACCACGCTCATTTGTTCAAAAGTTA GAACATCTGGCTGCACCAGGAAAAAAAAAAAAAAAAAGTCCTGTTCTTCTTTAGA TAAACAAGAGACATTTTCATAATTGCTTTCTAGCAATCAGCTTTTATTTGCCTTA ATATAAGCTTTTAAGCAGTTATCTAACTAGTGTCCACAACCCTGTAACCATACTT CCACATCTTCAGCTTAGGCAGACATCGAACCTCTCTGGGATGTTTCCAGCAAAAG TGAGCTTTTCTAATCGTCTCATTGTAACATGGCTTATTTTGTAGAGGTATTCATC AGCCACACACTTCATGTTGGTTTTTGGTTTTTAAGCTAACTACAAATCTAGTAAA AAGCTATCTGAAATTCACAAATATCATGTGTGTGCGTGCGTGCGTGCGCGTGTGT GTCTGTATTCATAGTGACTGCTTTTGGTTTTAACCAGTTTAGTATCGTTACTGTG TGGATCGTCGCGCTGCAGTATTGACTTGGAATCCTGACCATGTCCATCCCAAAAT TCAGTCCTCAGTTAACGGATCATGTTTGCAAAAGGTCACTGTGAGGCTGCATATT TCAGAAAGATGTCCTTAATAAGGGAAGTCATGTATAAGATGTTTTCTAAAAGACT TTTCAGTATTACAACTAATACTATTATTATCCTTCTTTTTTTATTTAGATAATTC TTTTAATTTAAACAAAGGTTCACTATGGAACCAGACAAATCTCATTAGCCATGTG TTAAGTATTTGCTACTTTAAATTGTTTTACAACTGATTTCAGCACATTCTATCCT TTTTTTTTTTTGAAATGGAGTTTCGCTCTTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAATGGC ACGATCTTGGCTCACTGCAACCTCAGTCTCCCAGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCT TAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTATAGGCACCCACCACCACGCCCAGCTAATTTT TGTATTATTAGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAACTC AACTCCTGACCTCAGGTGGTCCACCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTAC AGGTGTGAGCCACCGCACCTGGCCTCTGTCCTCTTTTAGTCTAGTGTCTGGTTTT CTAGCAAACAGTAAATTTAAACAAGTAAACTATTATGGTTTCCATTGCTTACAAA ATGATTTTCCTTTACATTCTTATCATGAACACTATTTTAAGCATCAAATGCAATC ATCTAAAATATAAAGGTCAATCATTTATAATAGAAACACCTTGACCACAAGCCCT TGATTGAACATTTTATAATATTTCATCTACTTATTAAAACAAATAATTTCCCTTG GGTTGGAGGGGAAGTGATTTCATAAATTAATTAGAAAGCCATCTTTAGCATATTG CTTATGTCTGGATCCATGTTTCTGAGGAAAAAGACATTCTCAGGTGATGTATTTT TTTCATGCATTAGTATGCATTTTTAAAAAATAATGCATGTTTCTTTAATAATTAA TTTTCATCTTCTATAAGATGCCATGTGAAGAAGTTGTGGAAATGTAGAATAAAAA GCTAAAGCTGCCAAATTTCTGTTGAACTCTTAAAAACAGCTCATGTTTGTTTGTC CTCTCGGGTTGTGGCCTAGCCTATTTGCAATGTAATGAAGCTGCAGGGTTCTTGT ATAGCTAA**AGCGTTCAATGCATTTCACGTGCTGTGGTGGATGTGGGTGCTGTAGA** **CAGGCTTCTTCTCTTCCTGCTCTCAAAATACCTCGGCTTGACATTTGGACAGATC** **CTGTCATTGTTTAAGCTGAGCAAAAAACCACACAAAAGTTGTGTAAGAGATGAGA** **TAACAAAGGAGCGAGAGAAATCTCATGTGAATTTCCAAGTTTTAATTCGTTCTCC** **ATGAAGGATTTTCATTTCAGTGAAAGTCGCAGCAGAAGAGGGAACTTTCTGGAGT** **TTTTGAGAATGCCAAACCACATTTTTATCACACTTCTTTGGAAATCAATGCCTTT** **GCATAGAAAATCAAATTCAGGGACCACAAAGAATTTTCAGTGGGAATGTCTAGTC** **TGAGGGGTCTGAGGTTGTTTTTACTTTATTGTGTTGTTTAAATATTTTAAAAATA** **TCTTTAGCGTTTGGTCTTTTTTTTTTCTGTAAACATTTAATTTGGTCTGAGAAAA** **GCTGAATGTTTGG**GTGTGACGTTTGACTGAGGTGGATTGGGGCTGCCTGTGGACA TTAGTGAACAGGTGGTAGGCTTCAGGAATATCCAGTTTTAATCAGTTGCATTTGG TACAGAATTTTGAGTAATGGTGAAAATTGTTGTCTTTGGAAAGCACAAAAGAAAC CTGGAAAGGCAGTTCGGCTCAGGTAGCTACACATAACATTGTGTATGATTTTCAC TTCAAAGCTGTCTGGAAGGAAATGCAGTCAGCTCCAGCTAGTACTATTTATGTAC CCAGATAACTAAGATATTGTTTCATGGCCTTGCCTTAGTCAGAGGCCCTTTTCTC TGTCCTGAACCCCCAGGTATGGGTGAAATTGGAAATTACTAATCTATTGGAAATC AGTTCCTGACATAGTAAAGTTTGCTTTCATAACTGCAGCAAAAAAGGTCAACTTG CCAAGTCACTGCTGCCATGTGTGTACTGTATTATTTTCAGAAAAAAATATAATAG TCTGAGTCCAAGTTATCTTGATTTAAAATTGATAGAGAAAAGAAACTGTCGAGCA AGTTATATAACAACTAACAACATTGCACTTTCTGTATATGAAATCAATATTTAAA TAACTTATTTTTCTCCATTGCTGTTCTTAAAAACATTGTAAGTAGCTGTAATATA CCAGTACCAATATGTTCTTGCAATTGCTTCAGCCCAAGAAAGCTGTGTATTGTTT TAAAAATTGTAAAAATTATTGTGATGATTCATTTAGCATAAAGAGAGGTGGACGG AAGGGTTTTCCTATGTATCAAAACTTGTCTATAATTATGTCATCTATGTACCTAG AAAAAAGTAAATAAATTTCTTCAGTTGAA

[0146] **실시예 2. SASH1 과발현으로 인한 소라페닙의 세포 사멸 활성 증진 효과의 확인**

[0147] 실시예 1에 따라 제작된 SASH1 과발현 벡터와 소라페닙을 각각 또는 함께 처리하였을 때의 세포 사멸 효과를 분석하였다. 구체적으로, HepG2.2.15 세포를 well 당 1×10^4개씩 96-well plate에 배양하여 한 well 당 총 100㎕

가 되도록 약물을 처리하고 남은 양은 배지로 채웠다. 그 후, DMSO에 희석한 소라페닙을 0.01μM, 0.1μM, 0.5μM, 1μM, 2μM, 4μM, 8μM, 10μM, 및 20μM 농도가 되도록 well 당 2.3㎕ 또는 4.5㎕씩 처리하였다. 또한, 1μg의 SASH1 과발현 벡터를 lipofectamine 3000 (Invitrogen, L3000015)을 사용하여 리포좀 형태로 well 당 100㎕씩 transfection하였다. 음성 대조군으로는 동량의 DMSO 또는 공벡터 (empty vector, pcDNA)를 처리하여 사용하였다. 24시간 후 CCK-8 시약을 well 당 10μl씩 첨가하였으며, 2시간 후 배지를 옮겨 흡광도를 측정하였다.

[0149] 그 결과 (도 2), 소라페닙을 단독으로 처리한 실험군에서 소라페닙의 IC_{50}은 4.3μM로 측정되었다. 또한, SASH1을 과발현시키면서 소라페닙을 처리한 실험군에서 소라페닙의 IC_{50}은 2.9μM로 감소하는 것으로 나타나, 약 30%의 감소 효과가 확인되었다.

[0151] 이와 같은 결과에 따르면 SASH1을 과발현시킴에 따라 소량의 소라페닙의 처리만으로도 동일한 세포 사멸 효과를 얻을 수 있다는 점에서 SASH1의 과발현이 소라페닙의 세포 사멸 활성을 증진하는 것으로 확인되었다.

[0153] **실시예 3. SASH1 과발현에 따른 세포 생장 저해 효과 및 소라페닙의 세포 생장 저해 활성 증진 효과 확인**

[0154] 실시예 1에 따라 제작된 SASH1 과발현 벡터와 소라페닙을 각각 또는 함께 처리하였을 때의 세포 생장 저해 효과를 분석하였다. 구체적으로, HepG2.2.15 세포를 well 당 1×10^4개씩 96-well plate에 배양하여 한 well 당 총 100㎕가 되도록 약물을 처리하고 남은 양은 배지로 채웠다. DMSO에 희석한 소라페닙을 3.5μM 농도가 되도록 well 당 5.6㎕씩 처리하였다. 또한, 1μg의 SASH1 과발현 벡터를 lipofectamine 3000 (Invitrogen, L3000015)을 사용하여 리포좀 형태로 well 당 100㎕씩 transfection하였다. 음성 대조군으로는 동량의 DMSO 또는 공벡터 (empty vector, pcDNA)를 처리하여 사용하였다. 24시간 후 CCK-8 시약을 well 당 10μl씩 첨가하였으며 2시간 후 배지를 옮겨 흡광도를 측정하였다.

[0156] 그 결과 (도 3), SASH1을 과발현시킨 실험군은 음성 대조군 대비 세포 생장이 35% 감소하여 SASH1의 과발현만으로도 세포 생장을 저해할 수 있고, 이는 통계적으로 유의한 수준으로 확인되었다.

[0157] 또한, 소라페닙을 단독으로 처리한 실험군은 음성 대조군에 비해 세포 생장이 40% 감소하였고, SASH1을 과발현시키면서 소라페닙을 처리한 실험군은 음성 대조군에 비해 세포 생장이 80% 감소한 것으로 나타나, SASH1을 과발현시키면서 소라페닙을 처리한 경우의 세포 생장 저해 활성은 소라페닙을 단독으로 처리하거나 SASH1을 과발현시키는 경우의 세포 생장 저해 활성 대비 2배로 증가하며, 현저히 우수한 상승 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

[0159] **실시예 4. SASH1 과발현에 따른 세포 증식 저해 효과 및 소라페닙의 세포 증식 저해 활성 증진 효과 확인**

[0160] 실시예 1에 따라 제작된 SASH1 과발현 벡터와 소라페닙을 각각 또는 함께 처리하였을 때의 세포 증식 저해 효과를 분석하였다. 구체적으로, HepG2.2.15 세포를 well 당 1×10^4개씩 96-well plate에 배양하여 한 well 당 총 100㎕가 되도록 약물을 처리하고 남은 양은 배지로 채웠다. DMSO에 희석한 소라페닙을 3.5μM 농도가 되도록 well 당 5.6㎕씩 처리하였다. 또한, 1μg의 SASH1 과발현 벡터를 lipofectamine 3000 (Invitrogen, L3000015)을 사용하여 리포좀 형태로 well 당 100㎕씩 transfection하였다. 음성 대조군으로는 동량의 DMSO 또는 공벡터 (empty vector, pcDNA)를 처리하여 사용하였다. 24시간 후 3차 증류수로 wash하고 4% 포르말린 (formalin)을 15분 동안 처리하여 고정하였다. 그 다음 0.1% crystal violet을 처리하여 세포를 염색한 후 Tap water로 wash하고 well을 촬영한 뒤, imageJ software로 면적을 계산하여 음성 대조군을 기준으로 각 실험군의 생장률을 비교하였다.

[0162] 그 결과 (도 4), SASH1을 과발현시킨 실험군 및 소라페닙을 단독으로 처리한 실험군은 음성 대조군에 비해 세포

증식이 40% 감소하는 것으로 나타났다. 이 때, SASH1을 단독으로 과발현시켰을 때의 세포 증식 효과가 소라페닙을 단독으로 처리한 실험군과 동일하며 이는 통계적으로 유의한 효과에 해당한다는 점에서, 이와 같은 결과는 SASH1을 단독으로 과발현시키는 것만으로도 세포 증식 활성이 우수한 것을 시사하는 것이다.

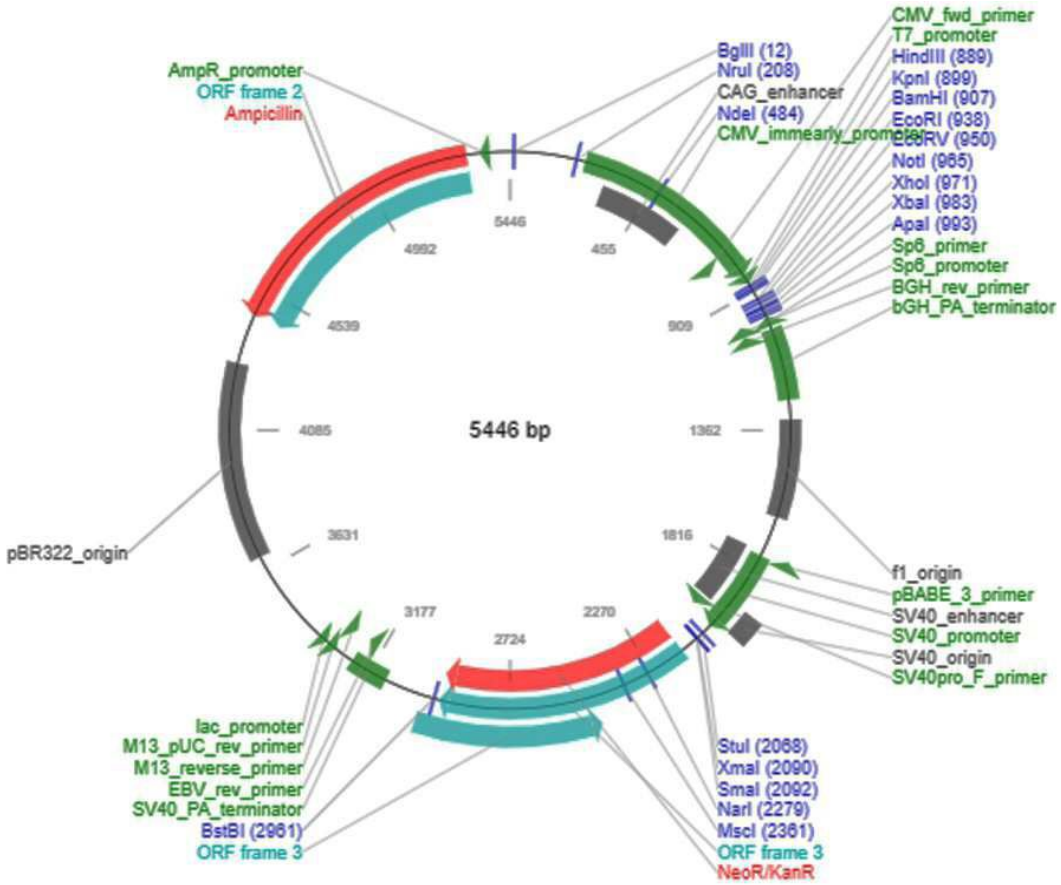
[0163] 또한, SASH1을 과발현시키면서 소라페닙을 처리한 실험군은 음성대조군에 비해 세포 생장이 75% 감소하는 것으로 나타나, 소라페닙을 단독으로 처리하거나 SASH1을 단독으로 과발현시킨 경우 대비 약 1.9배의 세포 증식 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0165] 결론적으로, SASH1을 과발현시킬 경우 단독 처리에도 세포 생장 저해 활성 및 세포 증식 저해 활성이 우수할 뿐만 아니라, 소라페닙의 항암 관련 활성에 대하여 현저히 우수한 상승 효과 (synergy effect)를 나타내어, SASH1 과발현용 제제는 항암용 조성물 또는 소라페닙의 항암 효과 증진용 조성물로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

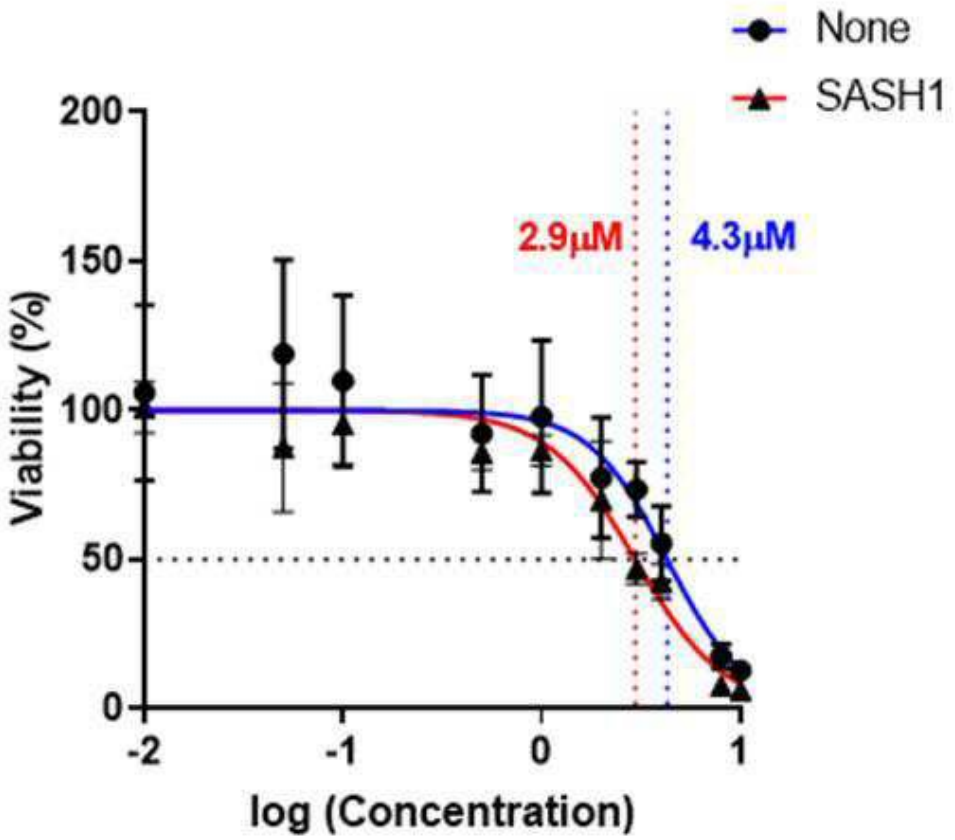
[0167] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

도면

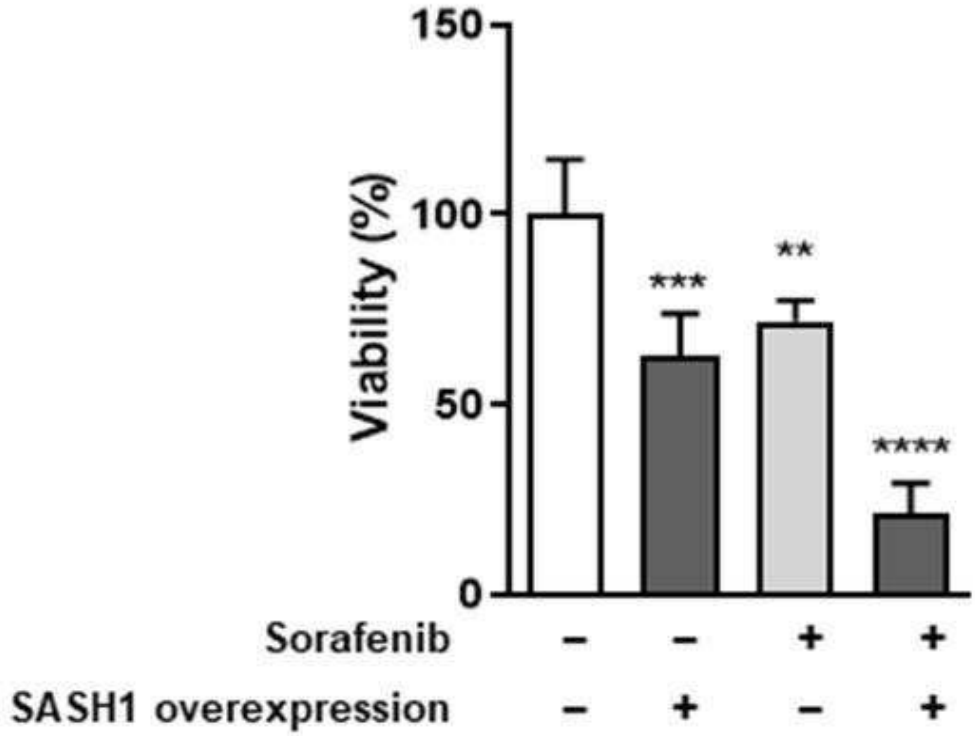
도면1



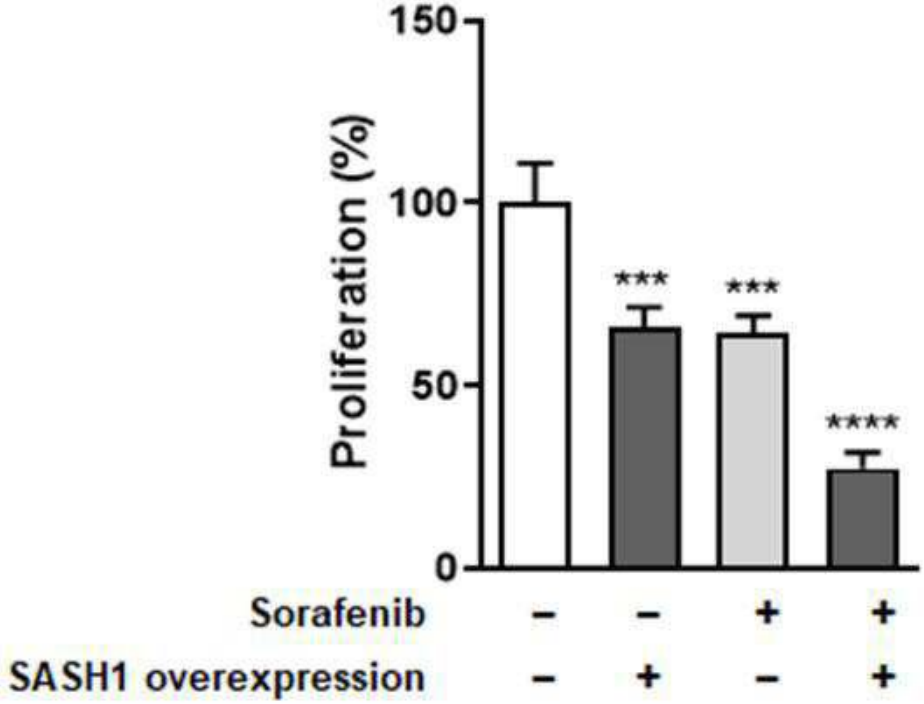
도면2


None
SASH1
2.9μM
4.3μM
Viability (%)
200
150
100
50
0
-2
-1
0
1
log (Concentration)

도면3


150
100
50
0
Viability (%)
***
**
****
Sorafenib
SASH1 overexpression
– – + +
– + – +

도면4


150
100
50
0
Proliferation (%)
***
***
****
Sorafenib
SASH1 overexpression
– – + +
– + – +

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.