



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0099990
(43) 공개일자 2022년07월14일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 38/18</i> (2006.01) <i>A61K 38/17</i> (2006.01)
 <i>A61K 39/00</i> (2006.01) <i>A61K 39/395</i> (2006.01)
 <i>A61P 35/00</i> (2006.01) <i>C07K 16/22</i> (2006.01)
 <i>C07K 16/40</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 38/1808</i> (2013.01)
 <i>A61K 38/179</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7019073
 (22) 출원일자(국제) 2020년11월06일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년06월07일
 (86) 국제출원번호 PCT/IB2020/000969
 (87) 국제공개번호 WO 2021/090069
 국제공개일자 2021년05월14일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/932,131 2019년11월07일 미국(US)
 63/094,018 2020년10월20일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 인3바이오 리미티드
 버뮤다 에이치엠 11 헤밀턴 처치 스트리트 2 클라
 렌든 하우스</p> <p>(72) 발명자
 돈트 에릭
 벨기에 바젤 비-9150 루펠몬테스트라트 166
 몰리나 빌라 미구엘 엔젤
 스페인 바달로나 08193 50 3에이 깔레 발레스페르
 16</p> <p>(74) 대리인
 하영욱</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 **비티로신 표적화 키나아제 억제제와 병용하여 성장 인자 항체를 사용하기 위한 방법 및 조성물**

(57) 요약

본 개시는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시는 암을 치료하고 NTKI에 대한 내인성 및/또는 후천성 내성을 예방하는데 있어서 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)와 조합된 키메라 비천연 합성 단백질의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/3955 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/22 (2013.01)

C07K 16/40 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

성장 인자 또는 성장 인자 수용체의 전장 또는 그 단편, 면역원성 폴리펩티드, 및 링커를 포함하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP)의 활성 치료를 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법으로서,

상기 폴리펩티드는 링커에 의해 면역원성 폴리펩티드로부터 분리되는 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법.

청구항 2

비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 성장 인자 또는 성장 인자 수용체에 대한 항체의 활성 치료를 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법.

청구항 3

피험체에게 성장 인자 또는 성장 인자 수용체의 전장 또는 그 단편, 면역원성 폴리펩티드, 및 링커를 포함하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP)를 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법으로서, 폴리펩티드가 상기 링커에 의해 상기 면역원성 폴리펩티드로부터 분리되는 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법.

청구항 4

피험체에게 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 성장 인자 또는 성장 인자 수용체에 대한 항체를 투여하는 단계를 포함하는 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 성장 인자는 EGF인 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 성장 인자 수용체는 EGFR인 방법.

청구항 7

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 면역원성 폴리펩티드는 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질의 전장 또는 그 일부를 포함하는 방법.

청구항 8

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 NNSP는 SEQ ID NO: 7 또는 SEQ ID NO: 8을 포함하고, 또는 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 7 또는 SEQ ID NO: 8을 발현하는 세포로부터 유래되는 방법.

청구항 9

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 NNSP는 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 6을 포함하고, 또는 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 6을 발현하는 세포로부터 유래되는 방법.

청구항 10

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 항체는 하이브리도마 세포로부터 유래되는 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 NTKI는 트라메티닙, 타셀리십, 알펠리십, 코판리십, 이텔칼리십, 두벨리십, 부팔리십, 움브랄리십, PX-866, 닥톨리십, CUDC-907, 복스탈리십(SAR245409, XL765) ME-401, IPI-549, SF1126, INK1117 픽틸리십, XL147(SAR245408), GSK1059615, ZSTK474, PWT33597, IC87114, TG100-115, CAL263, RP6503, GNE-477 AEZS-136, 엔코라페닙, 베무라페닙, 다브라페닙, GDC-0879, PLX-4720, 코비메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, PD-325901, PD035901, CI-1040, TAK-733, 페리포신, 팔로미드 529 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염인 방법.

청구항 12

제 5 항에 있어서,

상기 EGF는 인간 EGF 또는 뮤린 EGF인 방법.

청구항 13

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 링커는 SSG, GSSG(SEQ ID NO: 9), SSGG(SEQ ID NO: 10), SGG, GSGG(SEQ ID NO: 11), GGGG(SEQ ID NO: 12), SSGGSGG(SEQ ID NO: 13), SSGGGSGG(SEQ ID NO: 14), TSGGSGG(SEQ ID NO: 15), TSGGGSGG(SEQ ID NO: 16), SSGSGGGSGG(SEQ ID NO: 17), SSGGGSGGSSG(SEQ ID NO: 18), GSGGTSGGSGG(SEQ ID NO: 19), SGGTSGGGSGG(SEQ ID NO: 20), GSGGTSGGGSGG(SEQ ID NO: 21), SSGGGSGGGSGG(SEQ ID NO: 22), SSGGGSGGSSGG(SEQ ID NO: 23), 및 SSGGGSGGGSGG(SEQ ID NO: 24)로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 14

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 링커는 GSSG(SEQ ID NO: 9) 또는 GSGGTSGGGSGG(SEQ ID NO: 21)인 방법.

청구항 15

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 NNSP는 적어도 2개의 상이한 성장 인자 또는 2개의 상이한 성장 인자 수용체의 전장 또는 그 단편을 포함하는 방법.

청구항 16

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI의 투여와 병용하여, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지하는 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 평균 1일 용량은 10mg, 20mg, 30mg, 40mg, 50mg, 60mg, 70mg, 80mg, 90mg, 100mg, 110mg, 120mg, 130mg, 140mg, 150mg, 160mg, 170mg, 180mg, 190mg, 200mg, 210mg, 220mg, 230mg, 240mg, 250mg, 260mg, 270mg, 280mg, 290mg, 300mg, 310mg, 320mg, 330mg, 340mg, 350mg, 360mg, 370mg, 380mg, 390mg 및 400mg으로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 18

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI를 투여하기 전에, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지하는 방법.

청구항 19

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI를 투여한 후에, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지하는 방법.

청구항 20

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 NNSP는 EGF/EGFR 경로의 억제제를 초래하는 경로 면역을 생성하는 방법.

청구항 21

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 항체는 EGF/EGFR 경로의 억제제를 초래하는 경로 면역을 생성하는 방법.

청구항 22

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피험체는 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질의 돌연변이된 형태를 발현하는 방법.

청구항 23

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 NTKI는 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질을 표적으로 하는 방법.

청구항 24

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피험체는 NTKI 치료에 대한 내성이 있었고, 상기 방법은 NTKI 치료에 대한 내성을 극복하는 방법.

청구항 25

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 암은 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질의 돌연변이 형태와 연관되는 방법.

청구항 26

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

피험체로부터 조직 샘플을 얻는 단계;

상기 피험체의 조직 샘플로부터 하나 이상의 돌연변이를 확인하는 단계; 및

상기 하나 이상의 돌연변이가 하나 이상의 성장 인자 수용체 이펙터 단백질에 존재하는 것으로 확인되면, 투여 단계를 수행하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 27

제 26 항에 있어서,

상기 하나 이상의 이펙터 단백질은 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질인 방법.

청구항 28

제 27 항에 있어서,

상기 하나 이상의 돌연변이는 KRAS G12S, KRAS G12C, KRAS G13D, KRAS G12D, EML4-ALK(V3:E6:A20), BRAF V600E, BRAF G596R, PIK3CA E545K 및 NRAS Q61K에서 선택되는 방법.

청구항 29

제 5 항에 있어서,

상기 EGF는 인간 EGF 또는 뮤린 EGF인 피험체를 치료하는 방법.

청구항 30

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 항체는 약 0.01-0.1 μ g/kg~약 95mg/kg 체중; 또는 약 0.1-1.0 μ g/kg~약 90mg/kg 체중; 또는 약 0.5-5.0 μ g/kg~약 80mg/kg 체중; 또는 약 1.0-10.0 μ g/kg~약 60mg/kg 체중; 또는 약 5.0-20.0 μ g/kg~약 50mg/kg 체중; 또는 약 20-50 μ g/kg~약 25mg/kg 체중; 또는 약 50-100 μ g/kg~약 20mg/kg 체중으로 투여되고, 다른 실시형태에 있어서, 이 용량은 약 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 또는 5000 μ g/kg 체중일 수 있는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

(관련 출원에 대한 상호 참조)

[0002]

본 출원은 "MEK 억제제와 함께 항-EGF 항체를 사용하기 위한 조성물 및 방법"이라는 발명의 명칭으로 2019년 11월 7일에 제출된 미국 가출원 일련번호 62/932,131, 및 "비소세포폐암 세포주에서 키나아제 억제제의 항종양 활성을 증가시키는 항-표피 성장 인자 백신 항체"라는 발명의 명칭으로 2020년 10월 20일에 제출된 미국 가출원 일련번호 63/094,018에 대한 우선권을 주장하며, 그 내용은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

본 개시는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시는 암을 치료하고 NTKI에 대한 내인적 및/또는 후천적 내성을 예방하는데 있어서, 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)와 병용하여 키메라 비-천연 합성 단백질을 사용하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0004]

세계 보건 기구에 따르면, 신생물(예를 들면, 암)은 세계적으로 주요 사망 원인 중 하나이며, 2015년에는 880만 명이 사망했다. 전세계 인구에서 암의 빈도는 상당하며: 대략 6명 중 1명이 사망자로 집계된다. 2015년에는 가장 흔한 암의 사망은 다음 유형의 암에서 발생했다: 폐암(약 170만명 사망), 간암(약 80만명 사망), 결장직장암(약 80만명 사망), 위암(약 80만명 사망) 및 유방암(약 600,000명 사망).

[0005]

대부분의 화학요법 제제는 악성 표현형의 발달과 관련이 있다고 생각되는 특정 분자 표적에 작용한다. 그러나, 신호전달 경로의 복잡한 네트워크는 세포 증식을 조절하며, 이러한 경로의 다수의 유전적 이상에 의해 대부분의 악성 암이 촉진된다. 표준 세포독성 화학요법을 이용한 암의 치료는 효능에 최적화되어 있지만, 보다 최근의 접근법은 특유의 종양유전자 드라이버에 기초한 분자 서브세트의 분류에 기반한다. 이러한 암의 분자 드라이버는 치료학적으로 특정 종양유전자에 대해 표적화된 제제에 의해 공격받을 수 있다.

[0006]

암 치료에 있어서 치료적 개입을 위한 유망한 표적 세트에는 HER-키나아제 축의 멤버와 이들의 다운스트림 이펙터가 포함된다. 이들은, 예를 들면 전립선, 폐 및 유방의 고형 상피 종양에서 빈번하게 돌연변이를 나타내고, 교모세포종 종양에서도 상향 조절된다. 야생형 EGFR 이펙터 단백질(예를 들면, RAS, BRAF 및 PIK3CA)을 가진 환

자는 세록시맵 및 엘로티닙과 같은 EGFR를 표적으로 하는 티로신 키나아제 억제제(TKI)를 이용하여 치료될 수 있다. 그러나, EGFR 이펙터 단백질에 돌연변이가 있는 암 환자의 대규모 집단이 존재한다. 돌연변이가 EGFR을 표적으로 하는 TKI에 대한 내성을 제공하고, EGFR 이펙터를 표적으로 하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)에 대한 내성의 발달을 가능하게 하기 때문에, 현존하는 치료법은 이러한 환자에게 효과적이지 않다. 마찬가지로, 야생형 EGFR 이펙터 단백질을 가진 환자에서 EGFR을 표적으로 하는 TKI를 이용한 치료는 발암성 돌연변이의 선택으로 인해 내성의 발달을 초래하는 경우가 있다. 따라서, TKI 및 NTKI를 이용한 기존 치료법이 일부 환자에게는 EGFR 경로를 표적으로 하는 강력한 항종양 특성을 나타내지만, 내성이 발달된 환자에게는 덜 강력하거나 전혀 효과적이지 않게 된다. EGFR 이펙터 키나아제는 TKI 및 NTKI에 대한 내인적 및 후천적 내성의 양쪽 메커니즘으로 확인되었다는 점에서 '바이패스 경로'라고 지칭될 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, EGFR 신호전달 캐스케이드에서 병렬 또는 다른 키나아제가 돌연변이된 키나아제를 보상함으로써 더 강한 EGFR 신호전달 효과를 유도하는 것으로 생각된다. 따라서, EGFR 또는 유사한 성장 인자 매개 질환 및 암을 효과적으로 치료하기 위해 비티로신 표적화 키나아제 억제제에 대한 EGFR 경로 내성을 극복하기 위한 추가적인 치료법이 요구된다.

발명의 내용

- [0007] 본 개시는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)에 대한 내성을 예방하거나 최소화하여 세포 성장을 억제하도록 EGFR 이펙터 비티로신 표적화 키나아제 억제제와 병용하여 키메라 비-천연 합성 단백질을 사용하는 것에 관한 것이다. 이들 치료법은 암, 예를 들면 폐암, 유방암, 방광암, 전립선암, 난소암, 외음부암, 결장암, 결장직장암, 장암, 폐암, 뇌암, 식도암, 및 기타 암을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0008] 예시적인 실시형태에 있어서, 본 개시는 성장 인자 또는 성장 인자 수용체의 전체 길이 또는 그 단편, 면역원성 폴리펩티드, 및 링커를 포함하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP)의 활성 치료를 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법으로서, 상기 폴리펩티드는 링커에 의해 면역원성 폴리펩티드로부터 분리되는 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0009] 일부 실시형태에 있어서, 상기 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법은 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 성장 인자 또는 성장 인자 수용체에 대한 항체의 활성 치료를 피험체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0010] 다른 실시형태에 있어서, 피험체에게 성장 인자 또는 성장 인자 수용체의 전장 또는 그 단편, 면역원성 폴리펩티드, 및 링커를 포함하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP)를 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법으로서, 폴리펩티드가 상기 링커에 의해 상기 면역원성 폴리펩티드로부터 분리되는 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법이 개시된다.
- [0011] 일부 실시형태에 있어서, 피험체에게 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI) 및 성장 인자 또는 성장 인자 수용체에 대한 항체를 투여하는 단계를 포함하는 피험체에 있어서의 비소세포성 폐암(NSCLC) 또는 결장직장암(CRC)을 치료하는 방법이 개시된다.
- [0012] 일부 실시형태에 있어서, 상기 성장 인자는 EGF이다.
- [0013] 일부 실시형태에 있어서, 상기 성장 인자 수용체는 EGFR이다.
- [0014] 다른 실시형태에 있어서, 상기 면역원성 폴리펩티드는 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질의 전장 또는 그 일부를 포함한다.
- [0015] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 7 또는 SEQ ID NO: 8을 포함하고, 또는 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 7 또는 SEQ ID NO: 8을 발현하는 세포로부터 유래된다.
- [0016] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 6을 포함하고, 또는 상기 NNSP는 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 6을 발현하는 세포로부터 유래된다.
- [0017] 일부 실시형태에 있어서, 상기 항체는 하이브리도마 세포로부터 유래된다.
- [0018] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NTKI는 트라메티닙, 타셀리닙, 알펠리닙, 코판리닙, 이델랄리닙, 두벨리닙, 부팔리닙, 움브랄리닙, PX-866, 닥톨리닙, CUDC-907, 복스탈리닙(SAR245409, XL765) ME-401, IPI-549, SF1126, INK1117 픽틸리닙, XL147(SAR245408), GSK1059615, ZSTK474, PWT33597, IC87114, TG100-115, CAL263, RP6503, GNE-477 AEZS-136, 엔코라페닙, 베무라페닙, 다브라페닙, GDC-0879, PLX-4720, 코비메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, PD-325901, PD035901, CI-1040, TAK-733, 페리포신, 팔로미드 529 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염

이다.

[0019] 일부 실시형태에 있어서, 상기 EGF는 인간 EGF 또는 뮤린 EGF이다.

[0020] 일부 실시형태에 있어서, 상기 링커는 SSG, GSSG(SEQ ID NO: 9), SSGGG(SEQ ID NO: 10), SGG, GSGGG(SEQ ID NO: 11), GGGGS(SEQ ID NO: 12), SSGGGSGG(SEQ ID NO: 13), SSGGGSGGG(SEQ ID NO: 14), TSGGGSG(SEQ ID NO: 15), TSGGGSGG(SEQ ID NO: 16), SSGGSGGGSG(SEQ ID NO: 17), SSGGGSGSSG(SEQ ID NO: 18), GSGGTSGGGSG(SEQ ID NO: 19), SGGTSGGGSGG(SEQ ID NO: 20), GSGGTSGGGSGG(SEQ ID NO: 21), SSGGGSGGGSSG(SEQ ID NO: 22), SSGGGSGGSSGG(SEQ ID NO: 23), 및 SSGGGSGGGSSGG(SEQ ID NO: 24)로 이루어진 군에서 선택된다.

[0021] 일부 실시형태에 있어서, 상기 링커는 GSSG(SEQ ID NO: 9) 또는 GGSGTSGGGGSG(SEQ ID NO: 21)이다.

[0022] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NNSP는 적어도 2개의 상이한 성장 인자 또는 2개의 상이한 성장 인자 수용체의 전장 또는 그 단편을 포함한다.

[0023] 일부 실시형태에 있어서, 상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI의 투여와 병용하여, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지한다.

[0024] 일부 실시형태에 있어서, 상기 평균 1일 용량은 10mg, 20mg, 30mg, 40mg, 50mg, 60mg, 70mg, 80mg, 90mg, 100mg, 110mg, 120mg, 130mg, 140mg, 150mg, 160mg, 170mg, 180mg, 190mg, 200mg, 210mg, 220mg, 230mg, 240mg, 250mg, 260mg, 270mg, 280mg, 290mg, 300mg, 310mg, 320mg, 330mg, 340mg, 350mg, 360mg, 370mg, 380mg, 390mg 및 400mg으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0025] 일부 실시형태에 있어서, 상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI를 투여하기 전에, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지한다.

[0026] 일부 실시형태에 있어서, 상기 활성 치료는 10~400mg 범위의 평균 1일 용량에 근거한 연속 치료로 NTKI를 투여한 후에, 1주일에 3회, 2회 또는 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 적어도 한 달에 1회 반복되는 치료 유효량에 따라 피험체에게 투여되고, 상기 방법은 상기 NTKI 치료에 대한 내성이 생기는 것을 방지한다.

[0027] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NNSP는 EGF/EGFR 경로의 억제를 초래하는 경로 면역을 생성한다.

[0028] 일부 실시형태에 있어서, 상기 항체는 EGF/EGFR 경로의 억제를 초래하는 경로 면역을 생성한다.

[0029] 일부 실시형태에 있어서, 상기 피험체는 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질의 돌연변이된 형태를 발현한다.

[0030] 일부 실시형태에 있어서, 상기 NTKI는 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질을 표적으로 한다.

[0031] 일부 실시형태에 있어서, 상기 피험체는 NTKI 치료에 대한 내성이 있었고, 상기 방법은 NTKI 치료에 대한 내성을 극복한다.

[0032] 일부 실시형태에 있어서, 상기 암은 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질의 돌연변이 형태와 연관된다.

[0033] 일부 실시형태에 있어서, 상기 피험체에 있어서의 암을 치료하는 방법은 피험체로부터 조직 샘플을 얻는 단계; 상기 피험체의 조직 샘플로부터 하나 이상의 돌연변이를 확인하는 단계; 및 상기 하나 이상의 돌연변이가 하나 이상의 성장 인자 수용체 이펙터 단백질에 존재하는 것으로 확인되면, 투여 단계를 수행하는 단계를 추가로 포함한다.

[0034] 일부 실시형태에 있어서, 상기 하나 이상의 이펙터 단백질은 HRAS, NRAS, KRAS, PIK3CA, BRAF 및/또는 MEK 단백질이다.

[0035] 일부 실시형태에 있어서, 상기 하나 이상의 돌연변이는 KRAS G12S, KRAS G12C, KRAS G13D, KRAS G12D, EML4-ALK(V3:E6:A20), BRAF V600E, BRAF G596R, PIK3CA E545K 및 NRAS Q61K에서 선택된다.

[0036] 일부 실시형태에 있어서, 상기 EGF는 인간 EGF 또는 뮤린 EGF이다.

[0037] 일부 실시형태에 있어서, 상기 항체는 약 0.01-0.1 μ g/kg~약 95mg/kg 체중; 또는 약 0.1-1.0 μ g/kg~약 90mg/kg 체중; 또는 약 0.5-5.0 μ g/kg~약 80mg/kg 체중; 또는 약 1.0-10.0 μ g/kg~약 60mg/kg 체중; 또는 약 5.0-20.0 μ g

/kg~약 50mg/kg 체중; 또는 약 20-50 μ g/kg~약 25mg/kg 체중; 또는 약 50-100 μ g/kg~약 20mg/kg 체중으로 투여된다. 다른 실시형태에 있어서, 이 용량은 약 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 또는 5000 μ g/kg 체중일 수 있다.

[0038] 정의

[0039] "개선하다"는 질병의 발현 또는 진행을 감소, 억제, 약화, 경감, 저지 또는 안정화하는 것을 의미한다.

[0040] "질병"은 세포, 조직, 또는 기관의 정상적인 기능을 손상시키거나 방해하는 모든 상태 또는 장애를 의미한다.

[0041] "IN01"로도 알려진 "BVN22E 핵산 분자"는 BVN22E 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 BVN22E 핵산 분자는 이하에 재현된다(SEQ ID NO: 1):

```
>BVN22E
aataaccgaaaacgattgccctctgtctcatgaagcgtattgtctgcacgacggcgtgtgtat
gtacattgaagccctggacaaatatgcatgtaactgtgtcgtgggctacgtgggggagcgat
gtcagtttcgagacctgctgttggtgggatgctgctggctcgagcggtaataccgaaaacgat
tgccctctgtctcatgaagcgtattgtctgcacgacggcgtgtgtatgtacattgaagccct
ggacaaatatgcatgtaactgtgtcgtgggctacgtgggggagcgatgtcagtttcgagacc
tgcgttggtgggatgctgctggcgggctgtgtggaggtactagtggcggcgtggagggctcgggt
accccgacagaacatcacccgacctgtgctgctgagtagccacacacccagatccacacccctgaa
cgacaagatcttctcgtacacccgagagcctggcggataagcgtgaaatggccatcatcacct
tcaagaacggtgctgaccttccaggtggaggtcccggttagccagacatcgattcacagaag
aaggccatcgagcgtatgaaggacacccctgctgtatcgctacctgaccgaagccaaggtgga
aaagctgtgctgtctggaacaacaagacgcgcacgcatcgccgcatcgcatggccaat
```

[0042]

[0043] "IN01"로도 알려진 "BVN22E 폴리펩티드"는 이하의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 동일성(다음 아미노산 변경은 제외함: T2S, E3D, N4S, D5E, E11D, A12G, V38I, F44Y, R48K, D51E, 및 A52L)을 갖는 폴리펩티드 또는 그것의 단편을 의미한다(SEQ ID NO: 2):

```
>BVN22E
NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGVYVGERCQFRDLRWWWDARGSSGNTEND
CPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGVYVGERCQFRDLRWWWDARGSGGTSGGGGSG
TPQNITDLCAEYHNTQIHTLNDKIFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPFSQHIDSQK
KAIERMKDTRLRIAYLTEAKVEKLCVWNNKTPHAIAAISMAN
```

[0044]

[0045] "표피 성장 인자 수용체(EGFR) 핵산 분자"는 EGFR 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 EGFR 핵산 분자는 NCBI 수탁 번호 NM_005228.4로 제공되며, 이하에 재현된다(SEQ ID NO: 3):

```
>NM_005228.4
gtccgggcagccccgggcagcgcggccgcagcagcctccgccccccgcacgggtgtgag
cgcccgacgcggccgaggcgccggagtcgcgagctagccccggcgccgcgcgcgcga
gacccgacgcagggccacctcgtcggcgctccgcccagctccccgcctcgccgccaacgcc
acaaccacgcgcgcagggcccccctgactccgtccagctattgatcgggagagccggagcgag
ctcttcggggagcagcgatgcgaccctccgggacggccggggcagcgctcctggcgctgc
tggctgcgctctgcccggcgagtcgggctctggaggaaaagaaagtttgccaaggcacga
gtaacaagctcacgcagttgggcacttttgaagatcattttctcagcctccagaggatgt
tcaataactgtgagggtgctccttgggaatttggaaattacctatgtgcagagggaattatg
atctttccttcttaagaccatccaggaggtggctggttatgtcctcattgccctcaaca
cagtgaggcgaattcctttggaaaacctgcagatcatcagaggaaatatgtactacgaaa
attcctatgccttagcagctcttatctaactatgatgcaataaaaccggactgaaggagc
tgcccatgagaaaatttacaggaaatcctgcatggcgccgtgcggttcagcaacaaccctg
ccctgtgcaaagtgaggagcatccagtgggcgggacatagtcagcagtgactttctcagca
acatgtcgatggacttcacagaaccacctgggcagctgcaaaaagtgtgatccaagctgtc
ccaatgggagctgctgggggtgcaggagaggagaactgccagaaactgacaaaaatcatct
gtgcccagcagtgctccggggcgctgcggtggcaagtccccagtgactgctgccacaacc
agtgtgctgcaggctgcacaggcccccgggagagcgactgactggtctgcgcgcaattcc
gagacgaagccacgtgcaaggacacctgccccccactcatgctctacaacccaccacgt
accagatggatgtgaaccccaggggcaaatcacagctttgggtgccacctgctgaagaagt
gtccccgtaattatgtggtgacagatcacggctcgtgcgtccgagcctgtggggccgaca
gctatgagatggaggaagacggcgctccgcaagtgtaagaagtgcggaaggcccttgccgca
aagtgtgtaacggaataggatattgggtgaatttaagactcactctccataaatgtctacga
atattaacacttcaaaaaactgcacctccatcagtgggcgatctccacatcctgcccgtgg
catttaggggtgactccttcacacatactcctcctctggatccacaggaactggatattc
tgaaaaccgtaaaggaaatcacagggtttttgtgattcaggcttggcctgaaaaacagga
cggacctccatgccttttgagaacctagaaatcatacggcgaggaaccaagcaacatggtc
agttttctcttgagtcgtcagcctgaacataacatccttgggattacgctccctcaagg
agataagtgatggagatgtgataatttcagggaacaaaaatttgtgctatgcaaatacaa
taaactggaaaaaactgtttgggacctccggtcagaaaaacaaaaattataagcaacagag
```

[0046]

gtgaaaacagctgcaaggccacagggccaggtctgccatgccttgtgtctccccgagggct
gctggggcccgagcccagggactgctctcttgcgggaatgtcagccgagggcagggaat
gcgtggacaagtgcacacctcttgagggtgagccaaaggagtttgtggagaactctgagt
gcatacagtgcccccagagtgccctgcctcagggccatgaacatcacctgcacaggacggg
gaccagacaactgtatccagtggtgcccactacattgacggcccccactgctcaagacct
gcccggcaggagtcagtgaggagaaaacaacacctggtcttggaagtacgcagaogccggcc
atgtgtgccacctgtgccatccaaactgcacctacggatgcactggggccaggctcttgaa
gctgtccaacgaatgggacctaaagatcccgccatgcgacctgggatgggtggggccctcc
tcttgcctgctggtggtggccctggggatcgccctcttcacgaaggcgccacatcgctc
ggaagcgacgctgcggaggctgctgcaggagagggagcttgtggagcctcttacacca
gtggagaagctcccaaccaagctctcttgaggatcttgaaagaaactgaattcaaaaaga
tcaaatgctgggctccggtgcgttcggcacggtgtataagggaactctggatccagaag
gtgagaaaagttaaaattcccgctcgctatcaaggaaattaagagaagcaacatctccgaa
ccaacaggaaatctcgatgaagcctacgtgatggccagcgtggacaacccccacgtgt
gcccctgctgggcatctgcctcacctccacgctgcagctcatcacgcagctcatgcct
tcggctgcctcctggactatgtccgggaacacaaagacaataattggctcccagtaacct
tcaactggtgtgtgcagatcgcaaggcatgaactacttgaggagacgctgcttgggtgc
accgcgacctggcagccaggaaactgactggtgaaaacacgcgacatgtcaagatcacag
atthttgggctggccaaactgctgggtgcggaagagaaagaataccatgcagaaggaggca
aagtgcctatcaagtggatggcattggaatcaattttacacagaatctatacccaccaga
gtgatgtctggagctacggggtgactggttgggagttgatgaccttggatccaagccat
atgacggaatccctgccagcgagatctcctccatcctggagaaaggagaacgcctccctc
agccacccatgtatccatcgatgtctacatgatcatgggtcaagtgtggatgatagacg
cagatagtcgcccaggttccgtgagttgatcatcgaattctccaaaatggcccgagacc
cccagcgctaccttgtcattcagggggatgaaagaatgcatttgcgaagctctacagact
ccaactctacccgtgcctgatggatgaagaagacatggacgacgtgggtggatgcgacg
agtacctcatcccaagcagggcttcttcagcagccctccacgtccaggaactccctcc
tgagctctctgagtgcaaccagcaacaattccaccgtggcttgattgatagaaatgggc
tgcaaaagctgtcccatcaagggaagacagcttcttgcagcgatacagctcagaccccacag
ggccttgactgaggacagcatagacgacaccttccctccagtgccctgaatacataaac
agtcgcttcccaaaaggcccgctggctctgtgcagaatcctgtctatcacatcagcctc
tgaaccccgccgcccagcagagaccccaactaccaggacccccacagcactgcagtgggca
accocgagtatctcaacactgtccagcccacctgtgtcaacagcacattcgacagccctg
ccactgggcccagaaaggcagccaccaaatagcctggacaacctgactaccagcagg
acttctttcccaagggaagccaaagccaaatggcatctttaagggtccacagctgaaaatg
cagaatacctaagggtcgcgccacaaagcagtgaaatttattggagcatgacacggagga
tagtatgagccctaaaaatccagactctttcgatacccaggaccaagccacagcaggtcc
tccatcccaacagccatgcccgcattagctcttagaaccacagactgggttttgcaacgtt
tacaccgactagccaggaagtaacttccacctcgggcacattttgggaagttgcattcctt
tgtcttcaaaactgtgaagcatttacagaaacgcacatccagcaagaatattgtccctttgag
cagaaattttatctttcaaaagaggtatatttgaaaaaaggtatattgtgaggattt
ttattgattggggatcttggagttttcattgtcgtattgatttttacttcaatgggct
cttccaacaagggaagacttgcgtgtagcacttgcctacccctgagttcatccaggcccaa
ctgtgagcaaggagcacaaagccacaagctctccagaggatgcttgattccagtggtctg
cttcaaggcttccactgcaaaaactaaagatccaagaaggccttcatggccccagcagg
ccggatcggtactgtatcaagtcatggcagggtacagtaggataagccactctgtcccttc
ctgggcaaagaagaaacggaggggatggaattcttctcttagacttactttgtaaaaatg
tccccacgggtacttactcccaactgatggaccagtggtttccagtcattgagcgttagact
gacttgtttgtcttccattccattgttttgaaactcagtatgctgcccctgtcttgcgtg
catgaaatcagcaagagaggatgacacatcaataataaactcggattccagcccacattg
gattcatcagcatttggaccaatagcccacagctgagaatgtggaatacctaaggatagc

[0047]

accgcttttgttctcgcaaaaacgtatctcctaatttgaggctcagatgaaatgcatcag
gtccttttggggcatagatcagaagactacaaaaatgaagctgctctgaaatctccttag
ccatcaccccaacccccaaaattagtttgtgttacttatggaagatagttttctccttt
tacttcacttcaaaagctttttactcaaaagagtatatgttccctccaggtcagctgcccc
caaaacccctccttacgctttgtcacacaaaaagtgctctgctccttgagtcactctattca
agcacttacagctctggccacaacagggcattttacaggtgcgaatgacagtagcattat
gagtagtggtggaattcaggttagtaaatatgaaactaggggttgaaattgataatgctttc
acaacatttgcagatgttttagaaggaaaaaagttccttcctaaaaataatttctctacaa
ttggaagattggaagattcagctagttaggagccacccttttttcttaactctgtgtgtgc
cctgtaacctgactgggttaacagcagctccttttgtaaacagtgtttttaaactctcctagtc
aatatccaccccatccaatttatcaaggagaagaatgggttcagaaaaatatttccagcctac
agttatgttcagtcacacacacatacaaaaatgttcccttttgcttttaaagtaatttttga
ctccagatcagtcagagccctacagcattgttaagaaagtatttgatttttgtctcaa
tgaaaaataaaactatattcatttccactctattatgctctcaaatacccttaagcatcta
tactagcctgggtatgggtatgaaagatacaaaagataaaataaaacatagtccttgattcta
agaaattcaccaatttagcaagggaatggactcatagatgctaacccttaaaacaacgtga
caaatgccagacagggaccatcagccaggcactgtgagagcacagagcagggagggtggg
tctgctgagggagacctggaaggaggcctcacaggaggatgaccaggtctcagtcagc
ggggagggtggaagtgacaggtgcacaggggcacccctgaccagggaacagctgccagag
gcctccactgctaaagtcacataaggctgaggtcagtcaccctaaacaacctgctccct
ctaagccagggtgagctgtggagcatccacaagttccctaaaagttgcagccccagg
gggattttgagctatcatctctgcacatgcttagtgagaagactacacaacatttctaag
aatctgagattttatattgtcagtttaaccactttcattattcattcacctcaggacatgc
agaaatatttcagtcagaactggggaacagaaaggaactacattctgctgtcacttatgtg
tcaagaagcagatgatcgatgagggcaggtcagttgtaagtgaagtcacattgtagcattaa
attctagttattttgtagtttgaaacagtaacttaataaaaagagcaaaagctaaaaaaa
aaaaaaaa

[0048]

[0049]

"표피 성장 인자 수용체(EGFR) 폴리펩티드"는 NCBI 수탁 번호 NP_005219.2에 대해 적어도 약 85%의 아미노산 동 일성을 갖고, 표피 성장 인자(EGF) 결합 활성을 갖는 폴리펩티드 또는 그것의 단편을 의미하며, 이하에 재현된 다(SEQ ID NO: 4):

>NP_005219.2
MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKVKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNCEV
VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLIQIRGNMYEENSALA
VLSNYDANKTGLKELPMRNLQEIHLGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF
QNHLSGCQKCDPSCPNWSCWAGEENCQKLTKIICAQCCSGRCRGKSPSDCCHNQCAAGC
TGPRESCLVCRKFRDEATCKDTCPPMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYV
VTDHSGCVRACGADS YEMEDGVKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK
NCTSTSGDLHLILPVAFRGDSFTHTPPLDFQELDLKTVKEITGFLLIQAPENRTDLHAF
ENLEIRGRTKQHQGFSLAVVSLNITSGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKL
FGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN
LLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVM
GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGMVGAALLLVV
ALGIGLFMRRRHIVRKRTLRLQLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGS
GAFGTVYKGLWIPPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLG
CLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCQVIAKGMNYLEDRLVHRLDAA
RNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEKEYHAEGGKVPKWMALLESILHRIYTHQSDVWSY

[0050]

GVTVWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPK
FRELIIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDSNFYRALMDEEDMDVDVDADEYLIPQ
QGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTED
SIDDTFLFVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPFHSTAVGNPEYLN
TVQPTCVNSTFDSPAHWAQKSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRV
APQSSEFIGA

[0051]

[0052]

"표피 성장 인자(EGF) 핵산 분자"는 EGF 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 EGF 핵산 분자는 NCBI 수탁 번호 NM_001963.5로 제공되며, 이하에 재현된다(SEQ ID NO: 5):

>NM_001963.5

aaaaagagaaaactgttgggagaggaatcgtatctccatattttcttctttcagccccaatc
caaggggtgttagctggaaactttccatcagttcttccctttcttttctctctaaagccttt
gccttgctctgtcacagtgaaagtcagccagagcagggctgttaaactctgtgaaatttgt
cataaggggtgtcaggtattttcttactggcttccaaagaaacatagataaagaaatctttc
ctgtggcttcccttggcaggtctgcatcagaaggctctctcagttgaagaaagagcttgga
ggacaacagcacaaacaggagagtaaagatgcccagggctgaggcctccgctcaggcag
ccgcatctgggggtcaatcactaccttgcctggggccatgctccagcaaaatcaagctg
ttttcttttgaaagttcaaaactcatcaagattatgctgctcactcttatacattctgttgc
cagtagtttcaaaatttagttttgttagtctctcagcaccgcagcactggagctgtcctg
aaggtactctcgcaggaatgggaattctacttgtgtgggtcctgcacccttcttaattt
tctcccatggaaatagtatcttttaggattgacacagaaggaaaccaattatgagcaattgg
tggtggatgctgggtgtctcagtgatcatggattttcattataatgagaaaagaatctatt
gggtggatttagaaagacaacttttgcagaggtttttctgaaatgggtcaaggcaagaga
gagtatgtaatatagagaaaaatgtttctggaatggcaataaattggataaattgaagaag
ttatttgggtcaaatcaacaggaaggaaatcattacagtaacagatatgaaaggaaataatt
cccacattcttttaagtgttttaaaatatcctgcaaatgtagcagttgatccagtagaaa
ggtttatatttttggctcttcagaggtggctggaagcctttatagagcagatctcgatgggtg
tgaggagtgaaggctctgttgggagacatcagagaaaataacagctgtgtcattggatgtgc
ttgataagcggctgttttggattcagtacaacagagaaggaaagcaattctcttatttgc
cctgtgattatgatggaggttctgtccacattagtaaacatccaacacagcataatttgt
ttgcaatgtcccttttttggtagccgtatcttctattcaacatggaaaatgaagacaattt
ggatagcccaacaaacacactggaaaggacatggttagaattaaacctccattcatcatttg
taccacttgggtgaaactgaaagtagtgcatccacttgcacaaaccaaggcagaagatgaca
cttgggagcctgagcagaaaactttgcaaatgaggaaaggaaactgcagcagcactgtgt
gtgggcaagacctccagtcacacttgtgcatgtgtgcagagggatacgccttaagtcgag
accggaagtactgtgaagatgttaatgaatgtgtcttttggaaatcatggctgtactcttg
gggtgtaaaaaacacccctggatcctattactgcacgtgcctgttaggatttgttctgtctc
ctgatgggaaacgatgtcatcaacttgtttcctgtccacgcaatgtgtctgaatgcagcc
atgactgtgttctgacatcagaaggctcccttatgtttctgtcctgaaggctcagtgcttg
agagagatgggaaaaacatgtagcgggtgttccctcaccgataatgggtggatgtagccagc
tctgcgttccctctagcccagtatcctgggaatgtgattgtttcctgggtatgacctac
aactggatgaaaaaagctgtgcagcttcaggaccacaaccatttttgcgttttggcaatt
ctcaagatattcgacacatgcattttgatggaacagactatggaactctgtcagccagc
agatgggaatggtttatgccttagatcatgacctgtggaaaaataagataactttgcc
atacagccctgaagtggatagagagagctaataatggatggttccagcgagaaaggetta
ttgaggaaggagtagatgtgccagaaggctcttgcgtgtggaactggattggcgttagattct
attggacagacagagggaaatctctgattggaaggagtgtttaaatgggaaacgttcca
aaataatcactaaggagaacatctctcaaccacgaggaattgtgttcatccaatggcca

[0053]

agagattattctggactgatacagggattaatccacgaattgaaagttcttccctccaag
gccttggcgtctgggttatagccagctctgatctaactctggccagtggaataacgattg
acttcttaactgacaagttgtactgggtgcatgccaagcagtcgtgattgaaatggcca
atctggatgggttcaaaacgcggaagacttacccagaatgatgtaggtcaccatttctg
tagcagtggttgaggattatgtgtggttctcagattgggctatgccaatcagtaatgagag
taacaagaggactggcaaaagatagagtaactctccaagggcagcatgctgaagccctcat
cactgggttggttcatccattggcaaaacccaggagcagatccctgcttatatcaaaacg
gaggctgtgaacatatttggcaaaagaggcttggaaactgcttgggtgttctgtgctgaag
gttttatgaaagccctcagatgggaaaaacgtgtctggtctggtggtcatcagctgttgg
cagggtgtgaagttgatctaagaacccaagtaacaccatttggacatcttgtccaagacta
gagtgctcagaagataacattacagaatctcaacacatgctagtgggtgaaatcatgggtg
cagatcaagatgactgtgtctctgtggatgcagcatgtatgctgggtgtatttcagagg
gagaggatgccacatgtcagtggttgaaggatttgcgtgggtgggaaactatgttctg
atatagatgaatgtgagatgggtgtccagtggtgccccctgctcctccaagtgcata
acaccgaaggtgttatgtctgcgggtgtcagaaggctaccaggagatgggattcact
gtcttgatattgatgagtgccaactgggggagcagctgtggagagaatgccagctgca
caatacagagggaggctatacctgcatgtgtgctggacgctgtctgaaccaggactga
tttgcctgactctactccaccctcactcagggaagatgaccaccactattccgtaa
gaaatagtgaactgtgaatgtccctgtccacagatgggtactgctccatgatgggtgtg
gcatgtatattgaagcattggcaagatgcatgcaactgtgttgttggctacatcgggg
agcgtgtcagtaaccgagacgtgaagtggtgggaactgcgccacgctggccaaggcagc
agcagaaggtcatcgtggtggtgtctgctggtggtggtgctgtcgtgctcctcctga
gcctgtggggggccactactacaggactcagaagctgctatcgaaaaacccaaagaatc
cttatgaggagtcgagcagagatgtgaggagtcgaggcctgtgacactgaggatggga
tgtcctcttgcctcaaccttgggttgggttataaaagaacaccaagacctcaagaatg
ggggtcaaccagtggtgtgaggatggccaggcagcagatgggtcaatgcaaccactt
catggaggcaggagccccagttatgtggaatgggacagagcaaggctgtggtattccag
tatccagtgataagggctcctgtccccaggtaatggagcgaagctttcatatgcctcct
atgggacacagaccccttgaagggggtgtcgagaagcccatctctcctatcagctaaac
cattatggcaacaaaggccctggaccacacacaccaaattggagctgactcagtgaaaac
tggaattaaaaggaaagtcaagaagaatgaactatgtcgatgcacagtatctttcttct
aaaagtagagcaaaactataggttttgggtccacaactctctacgactaatcacctactca
atgctggagacagatacgtagtgtgttcttctgttctttaaagcagtcctcactgca
gtcttatttccaaagtaagtagtactgggagaatcactaggtaacttattagaaaaccaa
tgggacaacagtgcttggtaaatgtgtgtcttcagcagtcatacaaatagatttttg
ttttgttgttctcgcagcccccagaagaattaggggttaaagcagacagtcacactggt
ttggtcagttacaagtaatttctttgatctggacagaacatttatatcagtttcatgaa
atgatttgaatattacaataccgttaagatacagtgtaggcatttaactcctcattggcg
tggtccatgctgatgatttggcaaatgagttgtgatgaatcaatgaaaaatgtaattta
gaaactgatttcttcagaatttagatggcttatttttttaaaatatttgaatgaaaacatt
tatttttaaaatattacacaggaggcttcggaggttcttagtcattactgtccttttccc
ctacagaattttcctccttgggtgtgattgcacagaatttgtatgtattttcagttacaag
attgtaagtaaatgctcagtttgttttcattatagacaacgatgaatttcttctaatta
tttaataaaaatcaccaaaaacataaacattttattgtatgctgattaaagttagttaatt
atagtttaaggcagtagtaggttgaaccaaataatgatttgtcagcaggtgtgatttct
gttttctggttttttttttttccggagagaggataggatctcactctgttatccaggct
ggagtggtgcaatggcacaatcatagctcagtgccagcctcaaactcctgggctcaagcaat
cctcctgctcagcctcccgagtaactaggaccacaggcagcagccacatgctggcta
agggtttttattttttattttttagacatggggtacacacaatgttggccaggctggtct
tgaactcctggcctcaagcaaggctcgtgctggttaattttgcaaatgaattgtgattgac
tttcagcctcccaacgctattagattataggcattagccatgggtgccagccttgtaactt

ttaaaaaaatttttttaactctacaactctgttagattaaaaatttcacatgggtgttctaatta
aatatttttcttgcagccaagataattgttactacagataaacacaacctgatatggtaact
ttaaattttgggggcttgaatcattcagtttatgcattaaactagtcctttgtttatct
ttcattttctcaacccctgtactttggtgataccagacatcagaataaaaaagaaattgaa
gtacctgttttcaaatggatactttataggaattttggtaaagatttgggtgatgggagga
tgacttgagggttgtggatattagtttaattatttcagtatgatacctcaccagcctaattt

"표피 성장 인자(EGF) 폴리펩티드"는 NCBI 수탁 번호 NP_001954.2에 대해 적어도 약 85%의 아미노산 동일성을 갖고, 53개의 아미노산 EGF 분자(굵게 나타냄)를 생성하도록 처리되는 EGF의 프리-프로-단백질에 대응하며, EGFR 결합 활성(hEGF 표적화된 신호전달 경로(TSP) 도메인)을 갖는 폴리펩티드 또는 그것의 단편을 의미하고, 이하에 재현된다(SEQ ID NO: 6).

>NP_001954.2
 MLLTLIILLPVVSKFSFVSLAPQHWSCPEGTLAGNGNSTCVGPAPFLIFSHGNSIFRID
 TEGTNYEQLVVDAGVSVIMDFHYNEKRIYWVDLERQLLQRVFLNGSRQERVNCIEKNVSG
 MAINWINEEVIWSNQQEGIIITVTDKMGNNSHILLSALKYPANVAVDPVERFIWSSSEVAG
 SLYRADLDGVGKALLETSEKITAVSLDVLDRLEFWIQYNREGSNSLICSCDYDGGSVHI
 SKHPTQHNLFAMSLFGDRIFYSTWKMKTIIWIANKHTGKDMVRINLHSSFVPLGELKVVHP
 LAQPKAEDDTWEPEQKLCRLKGNCSSTVCGQDLQSHLCMAEGYALSRRKYCEDVNEC
 AFWNHGCTLGCKNTPGSYICTCPVGFVLLPDGKRCHQLVSCPRNVSECSHDCVLTSEGPL
 CFCPEGSVLERDGTCSGSSPDNGGCSQLCVPLSPVSWECDCFPGYDLQLDEKSCAASG
 PQFFLLFANSQDIRHMHFDGTDYGTLLSQQMGMVYALDHDHPVENKIYFAHTALKWIERAN
 MDGSQRERLIEEGVDVPEGLAVDWIGRFRFYWTDGKSLIGRSDLNGKRSKIITKENISQP
 RGIADVHPMAKRLFWTDTGINPRIESSSLQGLRLVIASSDLIWPSTGITIDFLTDKLYWCD
 AKQSVIEMANLDGSKRRRLTQNDVGHPPFAVAVFEDYVWFSDWAMPVSMRVNKRGTGKDRVR
 LQGSMLKPSSLVHVHPLAKPGADPCLYQNGGCEHICKKRLGTAWCSCREGFMKASDGKTC
 LALDGHQLLAGGEVDLKNQVTPLDILSKTRVSEDNITESQHMLVAEIMVSDQDDCAPVGC
 SMYARCISEGEDATCQCLKGFGAGDGKLCSDIDECEMGVPVPCFPASSKCINTEGGYVCRCS
 EGYQGDIHCLDIDECQLGEHSCGENASCTNTEGGYTCCMAGRLSEPLICPDSTPPPHL
 REDDHHYSVRNSDSECLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDLKWW
 ELRHAGHGQQQKVIIVVAVCVVVLVMLLLSLWGAHYRTQKLLSKNPKNPYEESRDVRS
 RRPADTEDGMSSCPQVFWVVIKEHQDLKNGGQPVAGEDGQAADGSMQFTSWRQEPQLCGM
 GTEQGCGWIPVSSDKGSCPQVMERSFHMPSYGTQTLEGGVEKPHSLLSANPLWQQRALDPP
 HQMELTQ

[0057]

[0058]

"단편"은 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 일부를 의미한다. 이 부분은, 바람직하게는 참조 핵산 분자 또는 폴리펩티드의 전체 길이의 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%를 함유한다. 단편은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000개의 뉴클레오티드 또는 아미노산을 함유할 수 있다.

[0059]

"마커"는 질병 또는 장애와 관련된 발현 수준 또는 활성의 변경을 갖는 임의의 단백질 또는 폴리뉴클레오티드를 의미한다.

[0060]

"신생물"은 과도한 증식 또는 감소된 아포토시스를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 의미한다. 본 발명이 사용될 수 있는 예시적인 신생물은 췌장암, 백혈병(예를 들면, 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단핵구 백혈병, 급성 단핵구 백혈병), 급성 적혈구 백혈병, 만성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병), 진성 적혈구증가증, 림프종(호지킨병, 비호지킨병), 발텐스트롬 마크로글로불린혈증, 중쇄 질환, 육종 및 암종과 같은 고형 종양(예를 들면, 심유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골형성 육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프혈관내피육종, 윤활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포암, 기저 세포암, 선암, 땀샘암, 피지선암, 유두암, 유두선암, 낭선암, 수질암, 기관지암, 신세포암, 간암, 나일관암, 용모막암, 정액종, 배아암, 율름 종양, 자궁경부암, 자궁암, 고환암, 폐암, 소세포폐암, 방광암, 상피암종, 신경교종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막종, 송과체종, 혈관모세포종, 청각 신경종, 핍지신경교종, 신경초종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 및 망막모세포종)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0061]

"단백질" 또는 "폴리펩티드" 또는 "펩티드"는, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 번역 후 변형(예를 들면, 글리코실화 또는 인산화)에 상관없이, 자연적으로 발생하거나 또는 자연적으로 발생하지 않는 폴리펩티드 또는 펩티드의 전부 또는 일부를 구성하는, 천연 또는 비천연의 2개 이상의 아미노산의 임의의 쇄를 의미한다.

[0062]

"피험체"는 소, 말, 개, 양 또는 고양이와 같은 인간 또는 인간이 아닌 포유동물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 포유동물을 의미한다.

[0063]

"EGFR 억제제"는 본 명세서에 개시되고 당업계에 통상적으로 공지된 바와 같이, EGFR의 다운스트림에 있는 키나아제를 포함하는 임의의 단백질을 의미한다.

[0064]

"NTKI" 또는 "비티로신 표적화 키나아제 억제제"는 티로신 인산화에 영향을 미치지 않으면서 키나아제를 특이적으로 표적화하는 임의의 화합물을 의미한다. 티로신 키나아제 억제제(TKI)와 대조적으로, "NTKI"는 수용체 티로신 키나아제(예를 들면, EGFR)가 아닌 키나아제의 키나아제 억제제를 의미한다. 오히려, NTKI는 수용체의 다운스트림에 있는 키나아제를 표적으로 한다. 일부 실시형태에 있어서, 이러한 키나아제는 EGFR의 다운스트림에 존재한다.

[0065]

본 명세서에서, 범위는 "약" 하나의 특정 값부터 및/또는 "약" 다른 특정 값까지 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현될 때, 또 다른 양태는 하나의 특정 값부터 및/또는 다른 특정 값까지를 포함한다. 마찬가지로, 값이 근

사값으로 표현될 때, 선행사 "약"을 사용하여 특정 값이 또 다른 양태를 형성하는 것으로 이해된다. 각각의 범위의 중점은 다른 중점과 관련하여, 그리고 다른 중점과는 독립적으로 모두 중요하다는 것이 더욱 이해된다. 또한, 본 명세서에 다수의 값이 개시되어 있으며, 각각의 값은 또한 값 자체에 추가하여 그 특정 값 "약"으로서 본 명세서에 개시되는 것으로 이해된다. 또한, 명세서 전반에 걸쳐, 데이터가 다수의 상이한 형식으로 제공되며, 이 데이터는 데이터 포인트의 모든 조합에 대한 중점과 시작점 및 범위를 나타내는 것으로 이해된다. 예를 들면, 특정 데이터 포인트 "10"과 특정 데이터 포인트 "15"가 개시되어 있으면, 10과 15 사이 뿐만 아니라, 10 및 15 초과, 이상, 미만, 이하, 및 동등이 개시된 것으로 간주되는 것이 이해된다. 또한, 2개의 특정 유닛 사이의 각각의 유닛이 더 개시되어 있는 것으로 이해된다. 예를 들면, 10 및 15가 개시되어 있으면, 11, 12, 13, 14도 개시되어 있다.

[0066] 본 명세서에 제공된 범위는 범위 내의 모든 값에 대한 약칭으로 이해된다. 예를 들면, 1 내지 50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50뿐만 아니라, 예를 들면 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 및 1.9와 같은 상술의 정수 사이의 모든 중간 소수점 값을 구성하는 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합, 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다. 하위 범위와 관련하여, 범위의 어느 한 중점에서 확장되는 "중첩된 하위 범위"가 구체적으로 고려된다. 예를 들면, 1 내지 50의 예시적인 범위의 중첩된 하위 범위는 일 방향의 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30, 및 1 내지 40, 또는 다른 방향의 50 내지 40, 50 내지 30, 50 내지 20, 50 내지 10을 포함할 수 있다. "참조"는 표준 또는 제어 조건을 의미한다. 일 실시형태에 있어서, 세포에 대한 제제의 효과는 대조군 세포에 대한 제제의 효과와 비교된다.

[0067] "참조 서열"은 서열 비교를 위한 기초로 사용되는 규정된 서열이다. 참조 서열은 지정된 시퀀스의 서브세트 또는 전체일 수 있으며; 예를 들면, 전장 cDNA 또는 유전자 서열의 세그먼트, 또는 완전한 cDNA 또는 유전자 서열이다. 폴리펩티드의 경우, 참조 폴리펩티드 서열의 길이는 일반적으로 적어도 약 16개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 약 20개의 아미노산, 보다 바람직하게는 적어도 약 25개의 아미노산, 더욱 바람직하게는 약 35개의 아미노산, 약 50개의 아미노산, 또는 약 100개의 아미노산일 수 있다. 핵산의 경우, 참조 핵산 서열의 길이는 일반적으로 적어도 약 50개의 뉴클레오타이드, 바람직하게는 적어도 약 60개의 뉴클레오타이드, 보다 바람직하게는 적어도 약 75개의 뉴클레오타이드, 보다 더 바람직하게는 약 100개의 뉴클레오타이드 또는 약 300개의 뉴클레오타이드 또는 그에 근접하거나 그 사이의 임의의 정수일 것이다.

[0068] "특이적으로 결합하는"은 본 발명의 폴리펩티드를 인식하고 결합하지만 샘플에서 다른 분자를 실질적으로 인식하고 결합하지 않는 화합물 또는 항체를 의미한다.

[0069] "실질적으로 동일한"은 참조 아미노산 서열(예를 들면, 본 명세서에 기재된 아미노산 서열 중 임의의 하나) 또는 핵산 서열(예를 들면, 본원에 기재된 핵산 서열 중 임의의 하나)과 적어도 50% 동일성을 나타내는 폴리펩티드 또는 핵산 분자를 의미한다. 바람직하게는, 이러한 서열은 비교에 사용된 서열에 대하여 아미노산 레벨 또는 핵산으로 적어도 60%, 보다 바람직하게는 80% 또는 85%, 가장 바람직하게는 90%, 95% 또는 심지어 99% 동일하다.

[0070] "합성 TSP 도메인"은 하기 아미노산 서열(SEQ ID NO: 7)에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 아미노산 동일성을 갖는 또는 그것의 단편을 의미한다:

[0071] > 합성 TSP 도메인
NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYGGERCQFRDLRWWDAR

[0072] "hEGF TSP 도메인"은 상기 SEQ ID NO: 6에서 굵게 나타낸 바와 같이, 이하의 아미노산 서열(SEQ ID NO: 8)에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 동일성을 갖는 또는 그것의 단편을 의미한다.

[0073] >hEGF TSP 도메인
NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDLKWWELR

[0074] "CTB 폴리펩티드"는 하기 아미노산 서열(SEQ ID NO: 25[[9]])에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 동일성을 갖는 또는 그것의 단편을 의미한다.

>CTB 폴리펩티드
 TPQNITDLCAEYHNTQIHTLNDKIEFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPGSQHIDSQK
 KAIERMKDTRLRIAYLTEAKVEKLCVWNNKTPHAAIAISMAN

[0075]

[0076]

적용 가능하거나 특별히 부인되지 않는 경우, 실시형태가 본 개시의 상이한 양태 하에서 기재되는 경우라도, 본 명세서에 기재된 실시형태 중 임의의 하나는 임의의 다른 하나 이상의 실시형태와 조합될 수 있는 것으로 고려된다. 이들 및 다른 실시형태는 다음의 상세한 설명에 의해 개시 및/또는 포함된다.

[0077]

예시로서 제공된 이하의 상세한 설명은 본 개시를 설명된 특정 실시형태로만 제한하도록 의도하지 않고, 첨부도면과 함께 가장 잘 이해될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0078]

도 1은 세포주를 갖는 수 개의 KRAS 돌연변이의 세포주 명칭 및 유래를 나타낸다. 또한, DLD1 및 LS174T 세포주는 PIK3CA 돌연변이를 갖는다.

도 2는 DLD1 세포에서, 상이한 농도의 항-INO1 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt, 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 3은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 4는 DLD1 세포에서, EGF 또는 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 5a~5b는 트라메티닙과 병용된 항-INO1의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 5a는 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab와 3일 배양했을 때의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 5b는 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab의 DLD1 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 6은 DLD1 세포에서, 단독으로 또는 조합하여 EGF, 10nM 트라메티닙 및 "Ab"로 지칭되는 항-INO1 항체, 또는 "C"로 지칭되는 대조군 항체와 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 7은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 LS174T 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 8은 LS174T 세포에서, EGF 또는 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 9는 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab와 3일 배양했을 때의 LS174T 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 10은 LS174T 세포에서, EGF, 5nM 트라메티닙 및/또는 "Ab"로 지칭되는 항-INO1 항체, 또는 "C"로 지칭되는 대조군 항체와 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 이러한 실험을 위해 항-INO1 Ab를 1:10으로 희석하였다.

도 11은 0.5 μM 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab를 이용한 LS174T 세포에 의한 트라메티닙에 대한 내성의 발달을 나타낸다.

도 12는 EGF의 존재 하에서, BRAF V66E 돌연변이를 갖는 HT29의 세포 성장의 증가를 나타낸다.

도 13a~13c는 트라메티닙과 병용된 항-INO1 Ab의 HT29 세포 신호전달 및 장기간 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 13a는 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체, 또는 대조군 항체, C-Ab와 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 13b는 LS174T 세포에서, 단독으로 또는 조합하여 EGF, 0.01mM 트라메티닙 및 "Ab8"로 지칭되는 항-INO1 항체와의 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 이러한 실험을 위해 항-INO1 Ab를 1:10으로 희석하였다. 도 13c는 EGF 및 트라메티닙과 병용된 항-INO1 치료 항체의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 세포 배양 매지에 EGF를 10ng/mL의 농도로 첨가하였다.

도 14는 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한

효과를 나타낸다.

도 15는 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 16은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 타셀리닙과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 17은 상이한 농도의 타셀리닙과 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 18은 EGF 및 0.1mM 타셀리닙과 병용된 1/50 희석의 항-IN01 치료 항체의 H508 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 19는 EGF 및 0.5mM 타셀리닙과 병용된 1/50 희석의 항-IN01 치료 항체의 H508 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 20은 H508 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서 알펠리닙 및 코판리닙의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF의 존재 및 부재 하에서 상이한 농도의 알펠리닙과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF 및 상이한 농도의 알펠리닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서 상이한 농도의 코판리닙과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 EGF 및 상이한 농도의 코판리닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 21은 EGF의 존재 하에서, 항-IN01 항체와 병용된 알펠리닙 및 코판리닙의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 21의 좌측은 EGF의 존재 하에서, 상이한 농도의 알펠리닙과 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C Ab"와 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 21의 우측은 EGF의 존재 하에서, 상이한 농도의 코판리닙과 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C Ab"와 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 22는 EGF 및 알펠리닙(좌) 및 코판리닙(우)과 병용된 항-IN01 치료 항체의 H508 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 23은 EGF와 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 24는 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-IN01 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab와 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 25는 HT29 세포에서, EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 26은 HT29 세포에서, 단독으로 또는 조합하여 EGF, 0.01mM 트라메티닙, 및 "Ab8"로 지칭되는 항-IN01 항체와 2시간 배양했을 때의 pEGFR 및 pErk1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 27은 PC9 및 PC9GR4 세포에서, 키나아제 억제제에 대한 경시에 따른 내성의 출현을 나타낸다. 좌측 상단은 오시머티닙과 병용된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 오시머티닙과 병용된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9GR4 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 오시머티닙과 병용된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 오시머티닙과 병용된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9GR4 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 효과.

도 28은 키나아제 억제제에 대한 PC9 세포의 경시에 따른 내성의 출현을 나타낸다. 좌측 상단은 0.5mM 다코미티닙과 병용된 10% FBS, "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 28은 하단은 0.5mM 다코미티닙과 조합된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 도 28의 하단은 0.5mM 다코미티닙과 병용된 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 "C-Ab"로 지칭되는 대조군 항체의 PC9 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 29는 2.5mM 트라메티닙과 병용된 항-IN01 항체 및 대조군 항체의 처리에 대한 DLD1 세포의 경시에 따른 내성의 출현을 나타낸다.

도 30은 유세포 분석을 통한 세포 주기 및 아포토시스 결정의 다이어그램을 나타내며, 여기서 샘플 세포는 현탁액에서 염색되고, 염색된 세포는 형광 여기를 통해 검출된다.

도 31은 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 1nM 트라메티닙에 대한 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 A549 세포의 상대수를 나타낸다.

도 32는 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 1nM 트라메티닙에 대한 아포토시스에서의 A549 세포의 상대수를 나타낸다.

도 33은 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 10nM 트라메티닙에 대한 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 DLD1 세포의 상대수를 나타낸다.

도 34는 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 10nM 트라메티닙에 대한 아포토시스에서의 DLD1 세포의 상대수를 나타낸다.

도 35는 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 1mM 브리가티닙에 대한 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 ALK 전위된 세포주인 H2228 세포의 상대수를 나타낸다.

도 36은 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 1mM 브리가티닙의 조합 또는 단독에 대한 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 ALK 전위된 세포주인 H3122 세포의 상대수를 나타낸다.

도 37은 H2228, A549 및 SW900 모델 세포주의 주요 변경을 요약한 것이다.

도 38은 EGF의 존재 하에서, 환자 유래 항-EGF 항체 역가, 및 "Ab8"로 지칭되는 항-IN01 항체에 대한 SW900 세포주에서의 pEGFR 신호전달 반응을 나타낸다.

도 39는 EGF의 존재 하에서, 2개의 상이한 환자 유래 항-EGF 항체 역가, 및 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체에 대한 SW900 세포주에서의 pEGFR, pAkt 및 pErk1/2 신호전달 반응을 나타낸다.

도 40은 EGF의 존재 하에서, 3개의 상이한 환자 유래 항-EGF 항체 역가 및 항-IN01 항체에 대한 SW900 세포주에서의 pEGFR, pAkt 및 pErk1/2 신호전달 반응을 나타낸다.

도 41은 환자 유래 항-EGF 항체 역가 및 "Ab8"로 지칭되는 항-IN01 항체에 대한 SW900 세포에서의 pEGFR 및 pErk1/2 신호전달 반응의 웨스턴 블롯 정량화를 나타낸다.

도 42는 환자 유래 항-EGF 항체 역가, 및 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체에 대한 H288 세포에서의 pEGFR 및 pErk1/2 신호전달 반응의 웨스턴 블롯 정량화를 나타낸다.

도 43은 결장직장암 세포주에 존재하는 예시적인 변경을 나타낸다.

도 44는 본 명세서에서 사용된 예시적인 키나아제 억제제를 나타낸다.

도 45는 DLD1 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서의 트라메티닙 및 타셀리십의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙의 3일 배양했을 때의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 DLD1 세포에서 EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 타셀리십과 3일 배양했을 때의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 DLD1 세포에서 EGF 및 다양한 농도의 타셀리십과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 46은 DLD1 세포에서 항체 및 키나아제 억제제 병용 치료의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 상이한 농도의 트라메티닙과 병용된 항-IN01 치료 항체 또는 대조군 항체 C-Ab와 3일 배양했을 때의 DLD1 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 DLD1 세포에서, 단독 또는 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 EGF와 트라메티닙의 웨스턴 블롯에 의해 평가한 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 상이한 농도의 타셀리십과 병용된 항-IN01 치료 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다. 우측 하단은 DLD1 세포에서, 단독 또는 조합의 EGF, "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 및 타셀리십과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및

pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 47은 DLD1 세포에서, 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서 단독 및 조합의 10nM 트라메티닙, EGF, 및 항-IN01 항체의 효과를 나타낸다.

도 48은 DLD1 세포에서, 단독 및 조합의 10nM 트라메티닙, EGF, 및 항-IN01 항체의 아포토시스에 대한 효과를 나타낸다.

도 49는 DLD1 세포에서, 단독 또는 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 또는 "C"로 지칭되는 대조군 항체와 트라메티닙의 경시에 따른 트라메티닙에 대한 내성의 출현을 나타낸다.

도 50은 LS174T 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서, 트라메티닙의 효과를 나타낸다. 좌측은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 LS174T 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 LS174T 세포에서, EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk1/2에 대한 효과를 나타낸다.

도 51은 LS174T 세포에서, 항-IN01 항체와 병용된 트라메티닙의 효과를 나타낸다. 좌측은 단독으로 및 조합하여 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체 또는 "C"로 지칭되는 대조군 항체와 상이한 농도의 트라메티닙의 3일 배양했을 때의 세포 생존율에 대한, 효과를 나타낸다. 우측은 LS174T 세포에서, EGF, 1nM 트라메티닙 및/또는 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체와, 또는 "C"로 지칭되는 대조군 항체와 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 이러한 실험을 위해, 항-IN01 Ab를 1:25로 희석하였다.

도 52는 0.05mM 트라메티닙과 병용된 항-IN01 치료 항체, 또는 대조군 항체 C-Ab의 LS174T 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 53은 LS174T 세포에서, 트라메티닙에 대한 경시에 따른 내성의 출현을 나타낸다. 0.5mM 트라메티닙은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"과 단독으로 또는 조합하여 처리되었다.

도 54는 HT29 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서, 키나아제 억제제의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF 또는 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 도 51의 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서의 상이한 농도의 엔코라페닙과 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 55는 HT29 세포에서 EGF의 존재 하에서 항체 및 키나아제 억제제 병용 치료의 효과를 나타낸다. 우측 상단은 단독으로 또는 조합하여 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 상이한 농도의 트라메티닙을 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 단독으로 또는 조합하여 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 또는 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 도 52의 하단은 단독으로 또는 조합하여 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 상이한 농도의 엔코라페닙을 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 56은 HT29 세포 생존력에 대해, 단독으로 또는 조합하여 엔코라페닙, EGF 및 항-IN01 항체 "Ab"와 장기간 배양 효과를 나타낸다.

도 57은 H508 세포에서, EGF의 존재 및 부재 하에서의 트라메티닙 및 타셀리십의 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙의 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 타셀리십과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 EGF 및 상이한 농도의 타셀리십과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 58은 EGF의 존재 하에 H508 세포에서 항체 및 키나아제 억제제 병용 치료의 효과를 나타낸다. 우측 상단은 단독으로 또는 조합하여 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 상이한 농도의 트라메티닙을 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 단독으로 또는 조합하여 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 및 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk $\frac{1}{2}$ 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 단독으로 또는 조합하여 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 상이한 농도의 타셀리십을 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 단독으로 또

는 조합하여 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 및 타셀리십과 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 59는 H508 세포에서 EGF의 존재 하에서, 항체 및 알펠리십 및 코판리십 키나아제 억제제 병용 치료의 효과를 나타낸다. 좌측은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 단독 및 조합 중 어느 하나의 상이한 농도의 알펠리십과의 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 단독으로 또는 조합하여 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"의 상이한 농도의 코판리십과 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 60은 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF, 및 키나아제 억제제의 조합 및 단독에 대한 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 H508 세포의 상대수를 나타낸다. 좌측은 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 알펠리십의 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 H508 세포의 상대수를 나타낸다. 우측은 단독 및 조합의 "Ab"로 지칭되는 항-IN01 항체, EGF 및 코판리십의 세포 주기의 S 및 G2/M 단계에서의 H508 세포의 상대수를 나타낸다.

도 61은 H508 세포 생존율에 대한 단독 및 조합의 항-IN01 항체 "Ab"의 키나아제 억제제 및 EGF의 장기적 효과를 나타낸다. 좌측은 단독 및 조합의 항-IN01 항체 "Ab"와 0.5mM Taselisib 및 EGF의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 단독 및 조합의 항-IN01 항체 "Ab"의 0.1mM 코판리십 및 EGF의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 62는 H508 세포에서 타셀리십에 대한 내성의 출현을 나타낸다. 타셀리십은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab" 중 어느 하나와 조합 또는 단독으로 처리되었으며, H508 세포 성장은 경시에 따라 모니터링되었다.

도 63은 본 출원에 사용되는 예시적인 세포주, 관련 변경, 및 키나아제 억제제를 나타낸다.

도 64는 HT29 및 HCC15 세포에 대한 EGF의 유무에 따른 항-IN01 항체의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF의 존재 하에서, 항-IN01 항체 "Ab" 및 대조군 항체 "C-Ab"의 상이한 희석액과의 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF의 존재 하에서, 항-IN01 항체 "Ab" 및 대조군 항체 "C-Ab"의 상이한 희석액과 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 HT29 세포에서 EGF, 상이한 농도의 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C"의 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 HCC15 세포에서 EGF, 상이한 농도의 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 2시간 배양했을 때의 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달의 효과를 나타낸다.

도 65는 HT29 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서, 트라메티닙 및 엔코라페닙의 효과를 나타낸다. 좌측 상단 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과의 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 HT29 세포에서 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙의 2시간 배양했을 때의 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 엔코라페닙의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 HT29 세포에서 웨스턴 블롯에 의해 평가된 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 EGF 및 상이한 농도의 엔코라페닙의 2시간 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 66은 HCC15 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서 트라메티닙의 효과를 나타낸다. 우측은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 트라메티닙과 3일 배양했을 때의 HCC15 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 EGF 및 상이한 농도의 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pStat3, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 67은 EGF의 존재 하에서, HT29 세포에 대한 항-IN01 항체와 병용된 키나아제 억제제의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 단독 또는 조합의 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 상이한 농도의 트라메티닙을 3일 배양했을 때의 HT29 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 HT29 세포에서 단독 또는 조합의 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 및 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 HT29 세포에서 상이한 농도의 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"의 조합 또는 단독의 상이한 농도의 엔코라페닙의 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다. 우측 하단은 HT29 세포에서 단독 또는 조합의 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 및 엔코라페닙과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pAkt 및 pErk 1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 68은 EGF의 존재 하에서의 HCC15 세포에 대한 항-IN01 항체와 병용된 트라메티닙의 효과를 나타낸다. 좌측은

단독 또는 조합의 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 다양한 농도의 트라메티닙을 3일 배양했을 때의 HCC15 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 HCC15 세포에서 단독 또는 조합의 EGF, 항-IN01 항체 "Ab" 및 트라메티닙과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pAkt 및 pErk1/2 신호전달에 대한 효과를 나타낸다.

도 69는 10ng/mL EGF의 존재 하에서, 키나아제 억제제 및 항-IN01 항체의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 왼쪽 상단은 HT29 세포 생존율에 대한 단독 또는 조합의 EGF, 항-IN01 항체 "Ab", 0.01mM 트라메티닙의 장기적 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF, 항-IN01 항체 "Ab", 0.1 mM 트라메티닙의 조합 또는 단독의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 좌측 하단은 HT29 세포 생존율에 대한 EGF, 항-IN01 항체 "Ab", 0.01mM 엔코라페닙의 조합 또는 단독의 장기적 효과를 나타낸다. 우측 하단은 EGF, 항-IN01 항체 "Ab", 0.1mM 엔코라페닙의 조합 또는 단독의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 70은 0.5mM 엔코라페닙과 병용된 상이한 농도의 EGF의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 71은 0.5mM 엔코라페닙 및 항-IN01 항체와 병용된 상이한 농도의 EGF의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 0.5mM 엔코라페닙 및 항-IN01 항체와 병용된 0.05ng/mL EGF의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 우측 상단은 0.5mM Encorafenib 및 항-IN01 항체와 병용된 0.5ng/mL EGF의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다. 하단은 0.5mM 엔코라페닙 및 항-IN01 항체와 병용된 10ng/mL EGF의 HT29 세포 생존율에 대한 장기적 효과를 나타낸다.

도 72는 트라메티닙 및 항-IN01 항체의 HCC15 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 좌측은 EGF의 존재 하에서, 0.1mM 트라메티닙 단독, 및 항-IN01 항체와의 조합의 HCC15 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 우측은 EGF의 존재 하에서, 1.0mM 트라메티닙 단독, 및 항-IN01 항체와의 조합의 HCC15 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

도 73은 HCC15 세포에서 트라메티닙에 대한 내성의 출현을 나타낸다. 좌측은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"의 1/10 또는 1/25 희석액 중 어느 하나와 병용된 트라메티닙의 HCC15 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 우측은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab" 중 어느 하나와 병용된 트라메티닙의 HCC15 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

도 74는 본 출원에 사용되는 H508 세포주 변경 및 PIK3CA 키나아제 억제제를 나타낸다.

도 75는 H508 세포에서 EGF의 존재 및 부재 하에서, 키나아제 억제제 알렐리십 및 코판리십의 효과를 나타낸다. 좌측 상단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 알렐리십과의 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 상단은 EGF 및 다양한 농도의 알렐리십의 2시간 배양 시의 pEGFR, pAkt 및 pErk1/2에 대한 영향을 나타낸다. 좌측 하단은 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 코판리십과의 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측 하단은 EGF 및 상이한 농도의 코판리십과 2시간 배양했을 때의 pEGFR, pAkt 및 pErk1/2에 대한 영향을 나타낸다.

도 76은 EGF의 존재 하에서, 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 키나아제 억제제의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 좌측은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상이한 농도의 알렐리십의 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다. 우측은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상이한 농도의 코판리십을 3일 배양했을 때의 H508 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 77은 EGF의 존재 하에서, 항-IN01 항체와 병용된 키나아제 억제제의 H508 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 좌측은 EGF, 알렐리십 및 항-IN01 항체의 1/50 희석액의 H508 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 우측은 EGF, 코판리십 및 항-IN01 항체의 1/50 희석액의 H508 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

도 78은 본 명세서에 사용된 세포주, 조직학, 키나아제 억제제, 및 RET 전위된 세포주의 관련 변경을 나타낸다.

도 79는 EGF의 존재 및 부재 하에서, 상이한 농도의 BLU667 키나아제 억제제의 3일 배양했을 때의 LC-2/ad 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 80은 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상이한 농도의 EGF 및 BLU667 키나아제 억제제와 3일 배양했을 때의 LC-2/ad 세포 생존율에 대한 효과를 나타낸다.

도 81은 EGF의 존재 하에서 항-IN01 항체와 병용된 BLU667 키나아제 억제제의 LC/2ad 세포 생존율에 대한 장기

간 효과를 나타낸다. 좌측은 EGF 및 항-IN01 항체 단독 또는 0.1mM BLU667과의 조합의 1/50 희석액의 LC/2ad 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다. 좌측은 EGF 및 항-IN01 항체 단독 또는 1.0mM BLU667과 조합의 1/50 희석액의 LC/2ad 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

도 82는 사용된 세포주, 이들이 유래된 조직 및 관련 MET 변경을 나타낸다.

도 83은 좌측의 EBC1 및 우측의 Hs746T 세포 생존율에 대한 EGF와 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 84는 상이한 EGF 희석액을 이용하여, 좌측의 EBC1 및 우측의 Hs746T 세포 생존율에 대한 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"의 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 85는 EGF의 존재 및 부재 하에서, EBC1 세포 생존율에 대한 상단의 캡마티닙 및 좌측 하단의 테포티닙의 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다. 우측 하단은 EBC1 세포에서 pMET, pEGFR, pAkt 및 pErk1/2 활성화에 대한 다양한 농도의 테포티닙의 2시간 배양 효과를 나타낸다.

도 86은 Hs746T 세포 생존율에 대한, EGF의 존재 및 부재 하에서의 상이한 농도의 좌측의 캡마티닙 및 우측의 테포티닙과의 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 87은 EBC1 세포 생존율에 대한 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상단의 캡마티닙 및 좌측 하단의 테포티닙의 상이한 농도의 3일 배양했을 때의 효과를 나타내며, 우측 하단에는 EBC1 세포에서 pMET 신호전달에 대한 테포티닙과의 2시간 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 88은 Hs746T 세포 생존율에 대한 항-IN01 항체 "Ab" 또는 대조군 항체 "C-Ab"와 병용된 상이한 농도의 좌측의 캡마티닙 및 우측의 테포티닙의 3일 배양했을 때의 효과를 나타낸다.

도 89는 항-IN01 항체와 조합 및 단독의 좌측의 0.25nM 테포티닙 및 EGF, 및 항-IN01 항체와 조합 및 단독의 우측의 0.75nM 테포티닙 및 EGF와의 배양의 EBC1 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

도 90은 항-IN01 항체와 조합 및 단독의 좌측의 0.5 nM 테포티닙 및 EGF, 및 우측의 2.0nM 테포티닙 및 EGF와의 배양의 Hs746T 세포 생존율에 대한 장기간 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079]

본 개시는 종양을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 특히, 본 개시는 종양(예를 들면, 결장선암 및 비소세포성 폐암)을 치료하기 위한 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)의 효능을 향상시키기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 특히, 본 개시는 NTKI에 대한 내성을 예방하거나 최소화하여 종양(예를 들면, 비소세포성 폐암 및 선암)을 억제하기 위해서, EGFR 이펙터를 표적으로 하는 NTKI와 병용하여 EGF, EGFR 또는 다른 성장 인자에 대한 면역화를 유도하기 위한 비천연 합성 폴리펩티드(예를 들면, 재조합 단백질) 및/또는 항체를 포함하는 병용 치료를 제공한다. 특히, NTKI에 대한 내성을 지연시키거나 예방하기 위해 KRAS/NRAS, PIK3CA 또는 BRAF 유전자에 돌연변이가 있는 환자의 암 치료에 사용되기 위해서, 하나 이상의 NTKI, 예를 들면 트라메티닙, 타셀리십, 알렐리십, 코판리십 및/또는 엔코라페닙과 병용하여 항-IN01 항체를 투여하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0080]

본 개시는 적어도 부분적으로 생리학적 농도의 항-IN01 항체가 NTKI와 병용하여 NTKI에 대한 내성의 발병을 상당히 지연시키고, NTKI 단독에 대해서만 암세포 생존력을 감소시키며, NTKI 단독보다 pEGFR 및 pErk1/2의 활성화를 보다 큰 정도로 억제한다는 발견에 기초하고 있다. 이들 데이터는 EGF 비천연 합성 폴리펩티드(NSP) 및/또는 그 항체가 EGFR 이펙터 키나아제 및 EGFR 경로 신호전달을 억제하는데 있어서 EGFR 이펙터 NTKI의 효과를 상당히 향상시켰음을 입증한다. KRAS/NRAS, PIK3CA 또는 BRAF 돌연변이를 나타내는 환자를 하나 이상의 NTKI와 병용된 EGF 비천연 합성 폴리펩티드 및/또는 항체로 치료하는 것은, 이러한 화합물에 대한 내성을 지연 또는 억제하는 중요한 메커니즘을 제공하여 내성암의 치료를 용이하게 한다.

[0081]

야생형 EGFR 이펙터 단백질, 예를 들면 RAS, BRAF, MEK 및 PIK3CA를 가진 환자는 세툽시맙 및 엘로티닙과 같은 EGFR을 표적으로 하는 티로신 키나아제 억제제(TKI)로 치료할 수 있다. 그러나, EGFR 이펙터 단백질에 돌연변이를 품고 있는 큰 집단의 암 환자가 있다. 돌연변이가 종종 EGFR을 표적으로 하는 TKI 및 다운스트림 단백질을 표적으로 하는 다른 비티로신 표적화 키나아제 억제제에 대한 내성을 제공하기 때문에, 현존하는 치료는 이러한 환자에게 효과적이지 않다. 마찬가지로, 야생형 EGFR 이펙터 단백질을 가진 환자에게 EGFR을 표적으로 하는 TKI를 사용한 치료는 종종 발암성 돌연변이에 대한 선택으로 인해 내성의 발생을 야기한다. 따라서, TKI 및 다른 비티로신 표적화 키나아제 억제제를 사용한 현존하는 치료가 일부 환자에게 EGFR 경로를 표적으로 하는 강력한

항종양 특성을 나타내지만, 내성을 나타내는 환자에서는 덜 강력하거나 완전히 효과가 없다. EGFR 이펙터 키나아제는 TKI 및 비티로신 표적화 키나아제 억제제에 대한 내인성 및 후천성 내성 모두의 메커니즘으로 확인되었다는 점에서 '바이패스 경로'로 지칭될 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, EGFR 신호전달 캐스케이드에서 병렬 또는 다른 키나아제가 돌연변이된 키나아제를 보상함으로써 더 강한 EGFR 신호전달 효과를 유도하는 것으로 생각된다. 따라서, EGFR 또는 유사한 성장 인자 매개 질환 및 암을 효과적으로 치료하기 위해, EGFR 경로 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKI)에 대한 내성을 극복하기 위한 추가 치료가 필요하다.

[0082] 이러한 치료 중 하나는 면역 반응의 개시이다. 예를 들면, EGF에 대한 항체는 EGFR 신호전달을 차단함으로써 악성 세포의 분열과 증식을 제어한다. 본 개시는 NTKI에 대한 내성을 예방하거나 최소화하여 종양 세포 성장을 억제하기 위해, EGF, EGFR 또는 다른 성장 인자에 대한 면역화, 및 EGFR 이펙터를 표적으로 하는 NTKI와의 병용으로 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP) 및/또는 그 항체의 병용 치료를 설명한다.

[0083] 일부 실시형태에 있어서, 이러한 항체 또는 그 항원-결합 프래그먼트는 암 또는 성장 인자 조절의 다른 장애를 치료하는 방법에 사용될 수 있다. 항-EGF 항체가 EGF에 대한 면역 반응을 생성하는 백신(즉, INO1 펩티드)의 투여에 의해 생체내에서 능동적으로 생성될 수 있다는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 또한, 수동적 모노클로날 항-EGF 항체(예를 들면, 항-INO1)가 투여될 수 있다는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 일부 실시형태에 있어서, 다른 성장 인자 신호전달 경로에서 돌연변이가 NTKI에 대한 내성을 제공하는데 유사한 보상적 역할을 할 수 있다고 고려된다.

[0084] **개요**

[0085] 암 면역학은 예를 들면 종양이나 악성 종양과 같은 암 세포와 면역 체계 사이의 상호작용에 대한 연구이다. 인간 종양에 의해 발현되고 정상 조직에서는 발현되지 않는 암 특이적 항원의 인식과 같은 면역 반응의 개시는 특히 흥미롭다. 일반적으로, 악성 세포의 분열 및 증식을 조절하는 방법은 이들 항원을 분리하고 면역 체계에서 외부 항원으로 인식하여 특정 면역 반응을 유도하도록 제시하는데 초점이 맞춰져 있다.

[0086] 현재 상당한 수의 성장 인자가 확인되었으며, 전부는 아니더라도 대부분은 다른 질병 상태에 연루되는 것 이외에도 다양한 암에서 세포 증식의 중요한 매개자로 나타났다. 일반적으로, 성장 인자는 세포 표면에 위치한 성장 인자 수용체 그룹을 인식하고 결합하는 가용성 혈청 단백질이다. 특정 성장 인자는 단일 수용체에 특이적일 수 있거나, 다양한 친화성을 가진 밀접하게 관련된 하나 이상의 수용체에 결합할 수 있다. 유사하게, 일부 수용체는 단일 성장 인자 리간드에만 결합하는 반면에, 다른 수용체는 다수의 관련 성장 인자에 결합할 수 있고, 보통 서로 다른 친화성으로 다시 결합할 수 있다. 천연 수용체에 결합하면, 수용체의 세포질 도메인은 인산화되고, 이는 하나 이상의 유전자의 전사를 조절하고 궁극적으로 세포 주기 및 세포 증식을 통한 진행으로 야기되는 세포내 신호전달 캐스케이드를 개시한다.

[0087] 성장 인자와 그 수용체는 성장, 발달 및 복구의 정상적인 과정의 필수적인 구성요소이며, 이들의 조직 분포 프로파일과 발현 수준은 세포 성장을 밀접하게 규제한다. 다수의 연구에서 성장 인자가 시험관내 및 생체내 모두에서 다양한 세포 유형의 증식을 자극할 수 있음을 나타냈다(Cohen S., Carpenter G., PNAS USA 72, 1317, 1975, Witsch E et al: Physiology: 25(2):85-101, (2010)). 게다가, 특정 성장 인자는 일부 암 세포주에서 증식을 자극하는 것으로 나타났다. 예를 들면, 표피 성장 인자(EGF)는 일부 비소세포성 폐암 세포를 자극할 수 있다(Osborne C. K. et al. Can Res. 40, 2. 361(1980)). 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 섬유 아세포 성장 인자(FGF) 및 혈소판 유래 성장 인자(PDGF)와 같은 다른 성장 인자는 비소세포성 폐암(NSCLC)(Ballas MS, Chachoua A., Onco Targets and Therapy: 4, 43-58(2011)), 전립선암(Cox ME et al; Prostate 69(1): 33-40 (2009)) 및 유방암(Law J et al. al, Cancer Res; 68, 24: 10238-10346 (2008))과 같은 여러 종양 질환에서 중요하다.

[0088] 본 출원의 일부 실시형태에 사용될 것으로 예상되는 성장 인자 핵산 또는 펩티드 서열은 전장, 또는 인간 또는 무린 EGF, IGF-1, IGF-2, FGF1, FGF2, TGF- α , TGF- β , VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF, D, PDGF, NGF, EGF, HGF, BMP's, KGF, MSF, PDL1, IL's 1-6, 뉴레쿨린 1-4 및 뉴로트로핀의 그 일부의 핵산 또는 펩티드 서열을 포함한다. 유사하게, 성장 인자 수용체의 연관된 전장, 또는 그 일부의 핵산 또는 펩티드 서열이 사용될 수 있을 것으로 예상된다.

[0089] EGFR

[0090] 표피 성장 인자 수용체(EGFR)는 4가지 밀접하게 관련된 수용체 티로신 키나아제의 서브패밀리인 ErbB 패밀리의 수용체의 구성원이다: EGFR(ErbB-1), HER2/neu(ErbB-2), Her3(ErbB-3) 및 Her 4(ErbB-4). EGFR은 표피 성장 인자 및 변형 성장 인자 α (TGF α)를 포함하는 그것의 특정 리간드의 결합에 의해 활성화되는 막관통 단백질이다.

[0091] EGFR 이량체화는 그것의 고유한 세포내 단백질 티로신 키나아제 활성을 자극한다. 그 결과, EGFR의 C-말단 도메인에 있는 여러 티로신(Y) 잔기의 자가인산화가 일어난다. 이들은 Y992, Y1045, Y1068, Y1148 및 Y1173이 포함된다. EGFR의 자가인산화는 여러 다른 이펙터 단백질의 다운스트림 활성화 및 신호전달을 끌어내어 여러 신호 전달 캐스케이드, 예를 들면 MAPK, Akt 및 JNK 경로를 개시하고, DNA 합성 및 세포 증식을 유도한다. EGFR 이펙터는 세포 이동, 부착 및 증식과 같은 필수적인 표현형을 조절한다.

[0092] EGFR 이펙터

[0093] 총 219개의 반응 및 322개의 종은 EGFR 신호전달, 즉 EGFR 이펙터의 다운스트림으로 확인되었다: Abi, abl-인터랙터; ADAM, 디스인테그린 및 메탈로프로테이나제; ADPR, ADP-리보오스; Akt, v-akt 뮤린 홍선종 바이러스성 종양유전자 동족체; AP-1, 활성화제 단백질-1; Bad, 세포 사멸의 BCL2 길항제; cADPR, 사이클릭 ADP-리보오스; CAK, 사이클린 의존성 키나아제-활성화 키나아제; CaM, 칼모둘린; CaMK, 칼슘/칼모둘린 의존성 단백질 키나아제; c-Cbl, 카시타스 B-계통 림프종 원종양유전자; CD, 분화 클러스터; Cdc, 세포 분열 주기; Cdk, 사이클린 의존성 키나아제; c-Fos, v-fos FBJ 뮤린 골육종 바이러스성 종양유전자; Chk, c-src 티로신 키나아제 (Csk) 상동 키나아제; c-Jun, v-jun 육종 바이러스 17 종양유전자 동족체; c-Myc, v-myc 골수세포종 바이러스성 종양유전자 동족체; CREB, cAMP 반응 요소 결합 단백질; c-Src, v-src 육종 바이러스성 종양유전자 동족체; cyt., 사이토졸; DAG, 디아실글리세롤; EGF, 표피 성장 인자; EGFR, 표피 성장 인자 수용체; Elk, Ets 유사 단백질; end., 엔도솜; EP, 프로스타글란딘 E 수용체; Eps, EGF 수용체 경로 기질; ER, 소포체; ErbB, 적혈구 백혈병 바이러스(v-erb-b) 종양유전자 동족체; ERK, 세포의 신호 조절된 키나아제; Gab, GRB2 연관 결합 단백질; GPCR, G 단백질 결합 수용체; Grb, 성장 인자 수용체 결합 단백질; HB-EGF, 해파린 결합 EGF 유사 성장인자; IP3R, 이노시톨 1,4,5-트리포스페이트 수용체; IP3, 이노시톨 1,4,5-트리포스페이트; JNK, c-Jun N-말단 키나아제; KDI, 키나아제 도메인 I; LARG, 백혈병 관련 로 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자; LIMK, LIM(Lin-11 Isl-1 Mec-3) 키나아제; LPA, 리소포스파티드산; LPA1/2, 리소포스파티드산 G 단백질 결합 수용체 1/2; lyso., 리소솜; m., 메신저; MAPK, 미토젠 활성화 단백질 키나아제; MEKK, MAPK/ERK 키나아제 키나아제; MKK, MAP 키나아제 키나아제; MKP, MAP 키나아제 포스파타아제; MLK, 혼합 계통 키나아제; NAD, 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드; nuc., 핵; PAK1, p21/Cdc42/Rac1 활성화 키나아제; PDK, 3-포스포이노시티드 의존성 단백질 키나아제; PGE2, 프로스타글란딘 E2; Pi, 인산 이온; PI3,4,5-P3, 포스파티딜이노시톨-3,4,5-트리포스페이트; PI3,4-P2, 포스파티딜이노시톨-3,4-비스포스페이트; PI3K, 포스파티딜이노시톨-3-키나아제; PI4,5-P2, 포스파티딜이노시톨-4,5-비스포스페이트; PI4-P, 포스파티딜이노시톨-4-포스페이트; PI5K, 포스파티딜이노시톨-5-키나아제; PIP, 포스파티딜이노시톨 폴리포스페이트; PKB, 단백질 키나아제 B; PKC, 단백질 키나아제 C; pl.m., 원형질막; PLC, 포스포리파아제 C; PLD, 포스포리파아제 D; PP, 단백질 포스파타아제; PTB, 포스포티로신 결합 도메인; PTEN, 포스파타아제 및 텐신 동족체; Pyk, 프롤린이 풍부한 티로신 키나아제; Rab5a, RAS-연관 단백질 RAB5a; Raf, v-raf-1 뮤린 백혈병 바이러스 종양유전자 동족체; Ras, 쥐 육종 바이러스 종양유전자 동족체; RasGAP, Ras GTPase-활성화 단백질; Rb, 망막모세포종; RGS, G-단백질 신호조절제; Rin, Ras 상호작용; RN-tre, tre의 N-말단과 관련; RSK, 리보솜 단백질 S6 키나아제; RYR, 리아노딘 수용체; S, 세린; S1P, 스펅고신-1-포스페이트; S1P1/2/3, 스펅고리피드 G 단백질 결합 수용체 1/2/3; SERCA, 근형질/소포체 칼슘 ATPase; Shc, 형질전환 단백질을 함유하는 Src 상동성 2 도메인; SHP, Shp-2 티로신 포스파타아제; SOS, son of sevenless 동족체; SPRY, Sprouty; STAT, 신호 변환기 및 전사 활성화제; T, 트레오닌; TGF α , 변형 성장 인자 알파; Ubc, 유비퀴틴-공액 효소; Y, 티로신(Oda, K et al. Molecular Systems Biology 2005). 따라서, EGFR 및 그것의 다운스트림 이펙터를 표적으로 하는 항체 및 NTKI 병용 치료가 광범위한 질병 및 장애에 대한 치료로 작용할 수 있을 것으로 예상된다.

[0094] Ras 단백질

[0095] Ras 단백질은 인간 암에서 빈번하게 돌연변이되는 원종양 형성 유전자이다. 이들은 HRAS, KRAS 및 NRAS의 3가지 편재하여 발현된 유전자에 의해 암호화된다. 이들 단백질은 증식과 세포 생존을 담당하는 조절 경로에서 분자 스위치로서 기능하는 GTPase이다. KRAS(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) 돌연변이는 모든 인간 종양의 25% 이상에 존재하며, KRAS는 가장 빈번하게 활성화되는 종양 유전자 중 하나이다. 지난 25년 동안의 연구에서는 Ras 단백질을 세포 증식, 분화 또는 생존을 제어하는 신호전달 네트워크의 필수적인 구성요소로 특징지었다. 인간 종양에서 빈번하게 발견되는 H-ras, N-ras 또는 K-ras 유전자의 발암성 돌연변이는 이러한 신호전달 경로의 정상적인 결과의 균형을 깨뜨림으로써, 종양 발달로 이어지는 것으로 알려져 있다. Ras 신호전달 경로(막 RTK 또는 세포질 키나아제 포함)의 다수의 다른 상류 또는 다운스트림 구성요소에서 발암성 돌연변이가 다양한 암과 관련하여 보다 최근에 발견되었다. 흥미롭게도, 발암성 Ras 돌연변이와 Ras/MAPK 신호전달 경로의

다른 구성요소에서의 돌연변이는 대부분의 종양에서 상호 배타적인 이벤트로 나타내며, 이는 Ras 의존적 신호전달의 규제 완화가 종양 형성의 필수적인 요건임을 나타낸다. 최종적으로, 원인이 되는 힘이 아니더라도, 결합이 있는 Ras 신호전달은 당뇨병, 면역학적 및 염증성 장애를 포함하는 많은 다른 인간 질병에 기여하는 요인으로 인용되어 왔다. KRAS G12S, KRAS G12C, KRAS G13D, KRAS G12D 및 NRAS Q61K는 대표적인 돌연변이이며, 그 중에서도, 암종의 억제되지 않은 성장과 세포 분열을 일으키는 것으로 알려져 있다.

[0096] PIK3CA

[0097] 포스포이노시티드 키나아제(PIK)는 포스포이노시티드의 이노시톨환을 인산화하여 신호 변환기로 작용하는 지질 키나아제이며, 다양한 인간 암에서 돌연변이된다. 탄수화물에서의 인산화 부위에 따라, PIK는 포스포이노시티드 3-키나아제(PI3K), 포스포이노시티드 4-키나아제(PIP4K) 및 포스포이노시티드 5-키나아제(PIP5K)의 3가지 계열로 분류된다. PIK3CA는 결장직장암의 32%, 인간 유방암의 40%, 난소암의 12%, 및 자궁내막암의 36%에서 체세포적으로 돌연변이가 있는 것으로 추정된다. 뇌에서, PIK3CA 돌연변이는 악성 희소돌기아교세포종의 14%, GBM의 5%, 수모세포종의 5%, 악성 성상세포종의 3%에서 발견된다. PIK3CA E545K는 암종 성장에 기여하는 것으로 알려진 예시적인 돌연변이이다.

[0098] BRAF

[0099] B-Raf 원종양유전자인, 세린/트레오닌 키나아제는 세포 증식, 분화 및 전사 조절을 포함하는 많은 세포 과정에 관여한다. BRAF는 모든 결장선암, 피부흑색종, 폐선암, 흑색종 및 갑상선 유두암의 5%에서 변화되는 것으로 추정된다. BRAF V600E 및 BRAF G596R은 그 중에서도, 암종을 유발하는 것으로 알려진 추가의 예시적인 돌연변이이다.

[0100] BRAF의 다운스트림에 있는 KRAS, NRAS, PIK3CA 및 EGFR 단백질은 예시적인 단백질이며, 여기에서 돌연변이는 EGFR을 표적으로 하는 TKI, 및 EGFR 이펙터를 표적으로 하는 NTKI에 대한 내성을 제공한다. 일부 실시형태에 있어서, 다른 성장 인자 신호전달 경로의 돌연변이는 NTKI에 대한 내성을 제공하는데 있어서 유사한 보상적인 역할을 할 수 있는 것으로 고려된다.

[0101] 합성 단백질/분자

[0102] 본 개시는 면역원성 합성 단백질/분자의 요소로서 최대 수의 성장 인자 에피토프, 종양 항원 에피토프, 및/또는 수용체 결합 부위의 체서를 개선하기 위한 균질한 합성 단백질/분자를 제공한다. 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 면역원성 캐리어 도메인(예를 들면, 콜레라 독소 B(CT-B)), 및 합성 표피 성장 인자(sEGF), 및/또는 수용체의 전부 또는 일부를 발현하는 합성 단백질/분자가 설명된다. 대안적인 예시적인 실시형태에 있어서, 단백질은 공지된 면역원성 단백질에 기초하여 모델링된 다른 면역원성 합성 또는 재조합 단백질/분자를 발현할 수 있다. 이러한 합성 단백질/분자가 인간 면역 체계에 대해 높은 면역원성인 폴리펩티드를 발현할 수 있다는 것이, 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 바람직하게는, 합성 단백질/분자는 예를 들면 높은 발현 수율 및 제조 용이성, 경구 안정성 및 내장으로부터 혈류로 교차하는 능력, 및/또는 인간에게서 이전의 안전한 사용과 같은 키메라 단백질에 추가 특성을 부여한다.

[0103] 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 합성 단백질/분자는 단일 성장 인자의 전체 또는 일부의 다중 복제, 또는 하나 이상의 상이한 성장 인자의 전체 또는 일부의 복제로서 성장 인자 에피토프를 포함하거나 발현할 수 있다. 이들 성장 인자 에피토프는 자연 발생 또는 합성(예를 들면, 인공)일 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 예시적인 비천연 합성 단백질(NNSP)인 BVN22E(이하에, IN01)는 약 120kD의 분자량을 가질 수 있다. IN01(SEQ ID NO: 2)은 2개의 반복 합성 EGF(표적 신호 경로(Targeted Signaling Pathway)(SEQ ID NO: 7)) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(SEQ ID NO: 9)로 구성된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 성장 인자 에피토프는 성장 인자 내의 하나 이상의 도메인(예를 들면, EGF 표적화된 신호전달 경로(TSP) 도메인)에 상응할 수 있다.

[0104] 본 개시에 따르면, 발현된 성장 인자 에피토프는 그들의 자연적 형태가 실질적으로 유지되고, 에피토프에 대한 강력한 숙주 면역 반응을 유도하는 방식으로 숙주 면역 체계의 성분에 제시되도록 하는 방식으로 폴딩되어야 한다. 이러한 에피토프 폴딩은 도메인, 또는 합성 단백질/분자 내에서 도메인을 적절하게 폴딩하고 면역 반응을 유도하는 능력을 지원하는 적합한 자연 발생 단백질에 의해 촉진될 수 있으며, 콜레라 독소 B 서브유닛, E. coli 열에 불안정한 LT 및 LT-II 장독소 B 서브유닛, 베라톡신, 백일해 독소, C. 제주니 장독소, 시가 독소, 리스테리아 독소, 과상풍 독소이드, 디프테리아 독소이드, N. 메닌지티딜 외막 단백질, 박테리오파지 코트 단백질, 아데노바이러스 및 다른 바이러스 코트 단백질을 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 본원에 기

재된 바와 같이, 전체 단백질에 면역원성을 부여하고, 숙주 면역 체계에서 성장 인자, 수용체, 종양 항원 또는 그 에피토프를 적절하게 폴딩하고 제시하는 요건을 충족하는 비천연 합성 폴리펩티드(예를 들면, BVN22E, INO 1)를 사용할 수 있다.

[0105] 본 개시에 따르면, 본원에 제공된 합성 단백질/분자(성장 인자 또는 그 부분, 세포 수용체 또는 그 부분, 또는 종양 항원 또는 그 부분)는 만성 질환, 성장 인자 기반 또는 수용체 기반 암, 및/또는 상기 합성 단백질 내에서 종양 항원으로서 사용하기 위한 고형 종양과 관련된 광범위한 세포 경로와 관련된다. 단백질은 합성 단백질/분자의 형태이며, 예를 들면 유방, 폐, 방광, 난소, 외음부, 결장, 폐, 뇌, 결장직장, 장, 두경부, 및 식도암과 같은 만성 질환을 치료하는데 유용할 수 있다.

[0106] EGFR-이펙터 NTKI 화합물

[0107] 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 EGFR-이펙터 NTKI 화합물은 EGFR의 키나아제 다운스트림을 억제하고, 특히 시스플라틴과 같은 알킬화제와 병용하여 비소세포성 폐암 및 결장선암과 같은 종양의 치료에 유용하다. 이론에 얽매이지 않고, 이들 병용 치료는 종양 세포가 NTKI에 내성을 갖게 되는 능력을 감소 또는 제거하기 때문에, 종양 세포에 대해 특히 효과적일 수 있다.

[0108] 특정 실시형태에 있어서, 본 발명의 화합물은 EGFR 이펙터 키나아제의 활성을 적어도 10%, 25%, 50%, 75%, 또는 100%까지 예방, 억제 또는 교란시키거나 감소시킬 수 있다.

[0109] 특정 실시형태에 있어서, 본 발명의 화합물은 분자량이 약 1,300달톤 미만, 1000달톤 미만, 800달톤 미만, 600달톤 미만, 500달톤 미만, 400달톤 미만 또는 300달톤 미만인 소분자이다. 본 발명의 화합물의 예는 EGFR-EFFECTOR NTKI를 포함하며, 본 개시의 화합물은 트라메티닙, 타셀리십, 알펠리십, 코판리십, 이텔랄리십, 두벨리십, 부팔리십, 움브랄리십, PX-866 닥톨리십, CUDC-907, 복스탈리십(SAR245409, XL765) ME-401, IPI-549, SF1126, INK1117 픽틸리십, XL147(SAR245408), GSK1059615, ZSTK474, PWT33597, IC87114, TG100-115, CAL 263, RP6503, GNE-477 AEZS-136, 베무라페닙, 다브라페닙, GDC-0879, PLX-4720, 코비메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, PD-325901, PD035901, CI-1040, TAK-733, 페리포신, 팔로미드 529가 다른 예시적인 비티로신 표적화 키나아제 억제제(NTKIs) 표적화 EGFR을 포함할 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0110] 트라메티닙(MW 615.4g/mol)은 미토겐 활성화 단백질 키나아제 키나아제(MEK MAPK/ERK 키나아제)의 경구 생체이용 억제제이다. 트라메티닙은 MEK 1 및 2에 특이적으로 결합하고 이를 억제하여, 다양한 암에서 성장 인자 매개 세포 신호전달 및 세포 증식을 억제하는 것을 야기한다. MEK 1 및 2, 이중 특이성 트레오닌/티로신 키나아제는 다양한 암세포 유형에서 종종 상향조절되며, 세포 성장을 조절하는 RAS/RAF/MEK/ERK 신호전달 경로의 활성화에서 핵심적인 역할을 한다. 트라메티닙은 FDA 승인 테스트에서 검출된 바와 같이 BRAF V600E 또는 V600K 돌연변이가 있는 절제 불가능하거나 전이성 흑색종의 치료를 위해 표시된다. 트라메티닙은 DMSO에서 BRAF V600E 또는 V600K 돌연변이가 있는 절제 불가능하거나 전이성 흑색종 환자를 치료하기 위해 현존하는 방법으로 사용되며, 이전에 BRAF 억제제 치료를 받지 않은 피리도피리미딘이다. 트라메티닙은 쉽게 흡수된다. BRAF V600 돌연변이 포지티브 흑색종 환자에게 트라메티닙을 경구 투여했을 때, 최고 혈장 농도는 투여 후 1.5시간(Tmax) 후에 발생했다. 단일 2mg 경구 투여량은 72%의 생체이용률을 갖는다. 2mg/day의 용량이 주어지면, 최고 혈장 농도(Cmax)는 22.2ng/mL이다. 트라메티닙은 주로 탈아세틸화 단독 또는 단일산화 또는 시험관내 글루쿠론산화 생체변환 경로와 병용하여 대사된다. 탈아세틸화는 카르복실-에스테라제 또는 아미다제와 같은 가수분해 효소에 의해 매개될 가능성이 있다. 혈장에서 주요 순환 성분은 모약이다. 제거 반감기=3.9-4.8일. IUPAC 명칭 N-[3-[3-시클로프로필-5-(2-플루오로-4-요오도아닐리노)-6,8-디메틸-2,4,7-트리옥소피리도[4,3-d]피리미딘-1-일]페닐]아세트아미드.

[0111] 타셀리십(MW 460.5g/mol)은 I형 포스파티딜이노시톨 3-키나아제(PI3K) 알파 동형(PIK3CA)의 경구 생체이용 억제제이다. 타셀리십은 PIK3CA 및 그 돌연변이 형태를 선택적으로 억제하여, PIK3CA 발현 종양 세포에서 종양 세포 사멸 및 성장 억제를 야기할 수 있다. 클래스 I PI3K 알파를 구체적으로 표적화함으로써, 이 제제는 펜 PI3K 억제제보다 더 효과적이고 덜 독성일 수 있다. PI3K/Akt/mTOR 경로의 조절장애는 고형 종양에서 빈번히 발견되며, 종양 세포 성장, 생존, 및 화학요법과 방사선요법에 대한 내성을 증가시킨다. 클래스 I PI3K의 p110-알파 촉매 서브유닛을 인코딩하는 PIK3CA는 다양한 암세포 유형에서 돌연변이되며, 암세포 성장 및 침습에 핵심적인 역할을 한다. IUPAC 명칭은 2-메틸-2-[4-[2-(5-메틸-2-프로판-2-일-1,2,4-트리아졸-3-일)]-5,6-디히드로이미다조[1,2-d][1,4]벤즈사제핀-9-일]피라졸-1-일]프로펜아미드.

[0112] 알펠리십(MW 441.5 g/mol)은 강력한 항종양 활성을 갖는 포스파티딜이노시톨 3-키나아제(PI3K) 억제제이다. 증

식, 생존, 분화 및 대사를 포함하는 다양한 생물학적 과정에서 역할을 하는 지질 키나아제인, PI3K의 촉매 서브 유닛인 클래스 I PI3K p110 α 를 선택적으로 억제함으로써 작동한다. 알펠리십은 인간 암에서 거의 30%의 비율로 돌연변이되어 과잉 활성화로 이어지는 것으로 나타나는 이 효소를 표적으로 하도록 설계되었다. 2019년 5월 FDA 승인을 받은 알펠리십은, 폐경 후 여성과 남성 환자를 대상으로 호르몬 수용체(HR) 포지티브, 인간 표피 성장 인자 수용체 2(HER2) 네거티브, PIK3CA 돌연변이, 진행성 또는 전이성 유방암의 치료제로 제시된 최초로 승인된 PI3K 억제제이다. 현존하는 방법에서, 알펠리십 치료를 개시하기 위해서, 조직 및/또는 액체 생검 샘플 수집에 PIK3CA 돌연변이의 존재는 FDA 승인 진단 테스트를 통해 요구된다. 알펠리십은 상표명 Piqray로 판매되며, 경구 정제로 제공된다. 알펠리십을 복용하는 환자는 100mg 용량보다 1일 200mg 용량의 51% 이점, 및 1일 2회 150mg보다 1일 1회 300mg의 22% 이점이 있는 용량 의존적 이점을 경험한다. 더 낮은 용량이 필요한 환자는 1일 2회 투여로 이점을 얻을 수 있다. 알펠리십의 평균 반감기는 8~9시간이다. IUPAC 명칭은 (2S)-1-N-[4-메틸-5-[2-(1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-일)피리딘-4-일]-1,3-티아졸-2-일]피롤리딘-1,2-디카복사미드.

[0113] 코판리십(MW 480.5g/mol)은 Bayer Healthcare Pharmaceuticals, Inc.에서 처음 개발된, 선택적 팬-클래스 I 포스포이노시티드 3-키나아제(PI3K/포타딜이노시톨-4,5-비스포스페이트 3-키나아제/포스파티딜이노시티드 3-키나아제) 억제제이다. 이 약물은 세포 성장과 생존을 조절하는 역할을 하는 효소를 표적으로 한다. 2017년 9월 14일, 코판리십은 재발된 여포성 림프종 및 적어도 2가지 이전의 전신 치료의 치료 이력이 있는 성인 환자의 치료에 대해 상품명 Aliqopa로 신속하게 승인을 받았다. 여포성 림프종은 비조절된 증식과 림프구의 성장에 의해 야기되는 느리게 성장하는 유형의 비호지킨 림프종이다. Aliqopa 정맥주사 치료의 활성 성분은 코판리십 이염산염이다. 코판리십은 다양한 종양 세포주와 이중이식 모델에서 강력한 항종양 및 전구세포사멸 활성을 입증했다. 임상 시험에서, 코판리십을 투여받은 환자의 59%는 12.2개월의 중앙값 후에 그들의 종양의 완전 또는 부분적인 수축을 달성했다. 코판리십의 더 높은 전신 수치는 혈장 포도당 수치가 높아지는 것과 관련이 있다. 0.8mg/kg의 정상 상태 노출 후, 코판리십의 평균 최고 혈장 농도(C_{max})는 463ng/mL이고, 범위는 105~1670ng/mL이다. 코판리십의 기하학적 평균 최종 제거 반감기는 39.1시간(범위: 14.6~82.4, SD: 15.0)이다. 코판리십의 시험관내 인간 혈장 단백질 결합은 84.2%이며, 알부민이 주요 결합 단백질이다. IUPAC 명칭은 2-아미노-N-[7-메톡시-8-(3-모르폴린-4-일프로폭시)-2,3-디히드로-1H-이미다조[1,2-c]퀴나졸린-5-일리덴]피리미딘-5-카복사미드.

[0114] BRAFTOVI로도 알려진 엔코라페닙(MW 540g/mol)은 키나아제 억제제이다. 엔코라페닙은 세포 분열, 분화 및 분비에 영향을 미치는 MAP 키나아제/ERK 신호전달 경로를 조절하는 역할을 하는 BRAF를 억제한다. 이 유전자의 돌연변이, 가장 빈번하게 V600E 돌연변이는 흑색종에서 가장 흔하게 확인되는 암 유발 돌연변이이며, 비호지킨 림프종, 결장직장암, 갑상선암, 비소세포성 폐암, 털세포백혈병 및 폐의 선암을 포함하는 다양한 다른 암에서도 분리되었다. 2018년 6월 27일, FDA 승인 테스트에서 검출된 BRAF V600E 또는 V600K 돌연변이를 가진 절제 불가능한 또는 전이성 흑색종 환자에 대해, FDA는 엔코라페닙과 비니메티닙(BRAFTOVI 및 MEKTOVI, Array BioPharma Inc.)의 병용을 승인했다. 경구 투여 후에, 엔코라페닙의 중앙값 T_{max}는 2시간이다. 최소 86%의 복용량이 흡수된다. 외관상 클리어런스는 1일차에 14L/h(54%)이고, 정상 상태에서 32L/h(59%)로 증가한다. IUPAC 명칭은 메틸 N-[(2S)-1-[[4-[3-[5-클로로-2-플루오로-3-(메탄술폰아미도)페닐]-1-프로판-2-일피라졸-4-일]피리미딘-2-일]아미노]프로판-2-일]카바메이트이다.

[0115] "약학적으로 허용되는 염"이라는 용어는 또한 카르복실산 관능기와 같은 산성 작용기를 갖는 본 발명의 화합물, 및 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기로부터 제조된 염을 지칭한다. 적합한 염기에는 나트륨, 칼륨 및 리튬과 같은 알칼리 금속의 수산화물; 칼슘 및 마그네슘 등의 알칼리 토금속의 수산화물; 알루미늄 및 아연과 같은 다른 금속의 수산화물; 암모니아, 및 비치환 또는 히드록시 치환된 모노, 디 또는 트리알킬아민과 같은 유기 아민; 디시클로헥실아민; 트리부틸아민; 피리딘; N메틸, N에틸아민; 디에틸아민; 트리에틸아민; 모노, 비스 또는 트리스(2히드록시 저급 알킬아민), 예를 들면 모노, 비스 또는 트리스(2히드록시에틸)-아민, 2히드록시 tert부틸아민, 또는 트리스(히드록시메틸)메틸아민, N,N,디 저급 알킬 N(N,디메틸 N(2-히드록시에틸)-아민, 예를 들면 N,N,디메틸 N(2히드록시에틸)-아민 또는 트리스(2-히드록시에틸)아민; N메틸 D글루카민; 및 아르기닌, 리신과 같은 아미노산 등을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 또한 아미노 관능기와 같은 염기성 관능기, 및 약학적으로 허용되는 무기 또는 유기산을 갖는 본원에 개시된 화합물, 예를 들면 NSC-30049로부터 제조된 염을 지칭한다. 적합한 산은 황산수소, 시트르산, 아세트산, 옥살산, 염산, 브롬화수소, 요오드화수소, 질산, 인산, 이소니코틴산, 젖산, 살리실산, 타르타르산, 아스코르브산, 숙신산, 말레산, 베실산, 푸마르산, 글루콘산, 글루카론산, 사카린산, 포름산, 벤조산, 글루탐산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산 및 p-톨루엔술폰산을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0116] 아췌반트

- [0117] 본원에 제공되는 바와 같은 특정 예시적인 실시형태는 약학적 조성물을 포함하는, 백신 조성물 및 면역학적 아
 주반트 조성물 내에서 본 개시에 따른 합성 단백질/분자의 조성 및 사용 방법을 포함하며, 합성 단백질/분자에
 추가하여 아주반트 활성을 갖는 이러한 조성물의 성분을 지칭하는 적어도 하나의 아주반트를 함유한다. 이러한
 아주반트 활성을 갖는 아주반트는, 인간(예를 들면, 인간 환자), 비인간 영장류, 포유류 또는 인식된 면역 체계
 를 갖는 다른 고등 진핵 유기체와 같은 대상에게 투여될 때, 면역 반응의 효력 및/또는 수명을 변경(즉, 통계적
 으로 유의한 방식으로 증가 또는 감소시키고, 특정 바람직한 실시형태에 있어서 항상 또는 증가)할 수 있는 조
 성물을 포함한다. 본원에 개시된 특정 예시적인 실시형태에 있어서, 소망의 항원 및/또는 단백질 담체 내에 함
 유되는 항원, 및 선택적으로 하나 이상의 아주반트는, 예를 들면 소망의 항원 및/또는 동시에 투여되거나 투여
 시에 시간 및/또는 공간(예를 들면, 상이한 해부학적 부위)에서 분리될 수 있는 항원을 항하게 하는 면역 반응
 을 변형, 유도하거나 향상시킬 수 있지만, 특정 예시적인 실시형태는 그렇게 한정되지 않으므로 특정 항원을 포
 함하지 않지만 하나 이상의 코아주반트, 이미다조퀸린 면역 반응 조절제를 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않
 는 조성물에 합성 단백질/분자의 투여도 고려된다.
- [0118] 약학적 조성물
- [0119] 특정 예시적 실시형태에 있어서, 약학적 조성물은 본 개시에 따른 합성 단백질/분자 모두를 포함하는 백신 조성
 물이며, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 병용하여 TLR 작용제, 코아주반트(예를 들면, 사이토
 카인, 이미다조퀸린 면역 반응 조절제 및/또는 dSLIM) 등 및/또는 재조합 발현 구성물로부터 선택되는 하나
 이상의 성분을 더 포함할 수 있다.
- [0120] 예시적인 담체는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 무독성일 것이다. 합성 단백질/분자를 포함하는 백신의
 경우, 약 0.01 μ g/kg~약 100mg/kg 투여될 것이며, 전형적으로 피내, 피하, 근육내 또는 정맥내 경로, 또는 다른
 경로에 의해 투여될 것이다. 실시형태에 있어서, 합성 단백질/분자를 포함하는 백신은 약 0.01-0.1 μ g/kg~약 95
 mg/kg 체중; 또는 약 0.1-1.0 μ g/kg~약 90mg/kg 체중; 또는 약 0.5-5.0 μ g/kg~약 80mg/kg 체중; 또는 약 1.0-
 10.0 μ g/kg~약 60mg/kg 체중; 또는 약 5.0-20.0 μ g/kg~약 50mg/kg 체중; 또는 약 20-50 μ g/kg~약 25mg/kg 체중;
 또는 약 50-100 μ g/kg~약 20mg/kg 체중으로 투여될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 이 용량은 약 1, 5, 10,
 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950,
 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500,
 3000, 3500, 4000, 4500 또는 5000 μ g/kg 체중일 수 있다.
- [0121] 투여 횟수 및 빈도는 숙주의 반응에 의존될 것이라는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 치료 용도를 위한 "약학
 적으로 허용가능한 담체"는 제약 분야에서 잘 알려져 있으며, 예를 들면 Remington's Pharmaceutical
 Sciences, Mack Publishing Co.(A. R. Gennaro edit. 1985)에 기재되어 있다. 예를 들면, 생리학적 pH에서 멸
 균 식염수 및 인산염 완충 식염수가 사용될 수 있다. 방부제, 안정제, 염료 및 심지어 향미제가 약학적 조성물
 에 제공될 수 있다. 예를 들면, 벤조산나트륨, 아스코르브산 및 p-히드록시벤조산의 에스테르가 보존제로서 첨
 가될 수 있다. 또한, 산화방지제 및 현탁제가 사용될 수 있다.
- [0122] 약학적 조성물은 조성물이 환자에게 투여될 수 있는 임의의 형태일 수 있다. 예를 들면, 조성물은 고체, 액체
 또는 기체(에어로졸)의 형태일 수 있다. 전형적인 투여 경로는 경구, 국소, 비경구(예를 들면, 설하 또는 구
 강), 설하, 직장, 질 및 비강(예를 들면, 스프레이)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본원에서 사용되는
 용어 비경구는 이온영동성 초음파영동, 수동적 경피, 미세바늘 투여를 포함하고, 피하 주사, 정맥내, 근육내,
 흉골내, 해면체내, 척추강내, 육류내, 요도내 주사 또는 주입 기술을 더 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 본
 원에 기재된 바와 같은 조성물(백신 및 약학적 조성물 포함)은 이온영동성, 미세공동현상, 초음파영동 또는 미
 세바늘로부터 선택된 기술에 의해 피내 투여된다.
- [0123] 약학적 조성물은 환자에게 조성물을 투여할 때 그 안에 함유된 활성 성분이 생체이용가능하도록 제형화된다. 환
 자에게 투여될 조성물은 하나 이상의 투여 단위의 형태를 취하며, 여기서 예를 들면 정제는 단일 투여 단위일
 수 있고, 에어로졸 형태의 하나 이상의 본 발명의 화합물의 용기는 복수의 복용량 단위를 수용할 수 있다.
- [0124] 경구 투여의 경우, 부형제 및/또는 결합제가 존재할 수 있다. 예로는 수크로오스, 카올린, 글리세린, 전분 텍스
 트린, 알긴산나트륨, 카르복시메틸셀룰로오스 및 에틸셀룰로오스가 있다. 착색제 및/또는 향미제가 존재할 수
 있다. 코팅 셸이 사용될 수 있다.
- [0125] 조성물은 액체, 예를 들면 엘릭서, 시럽, 용액, 에멀전 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 액체는 두 가지 예로서
 경구 투여 또는 주사에 의한 전달용일 수 있다. 경구 투여를 위해 의도되는 경우, 바람직한 조성물은 감미제,

방부제, 염료/착색제 및 향미 증강제 중 하나 이상을 함유한다. 주사에 의해 투여되는 조성물에 있어서, 계면활성제, 방부제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 완충제, 안정제 및 등장제 중 하나 이상이 포함될 수 있다.

[0126] 용액, 현탁액 또는 다른 유사한 형태에 관계없이, 본원에서 사용된 액상 약학적 조성물은 이하의 담체 또는 부형제 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 주사용수, 식염수, 바람직하게는 생리식염수, 링거액, 등장성 염화나트륨과 같은 멸균 희석액, 스쿠알렌, 스쿠알란, 미네랄 오일, 만니드 모노올레에이트, 콜레스테롤, 및/또는 용매 또는 현탁 매질의 역할을 할 수 있는 합성 모노 또는 디질세라이드, 폴리에틸렌글리콜, 글리세린, 프로필렌글리콜 또는 기타 용매와 같은 고정유; 벤질알코올 또는 메틸파라벤 등의 향균제; 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨과 같은 항산화제; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 킬레이트제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충제, 및 염화나트륨 또는 텍스트로스와 같은 긴장성 조절제. 비경구적 제제는 앰플, 일회용 주사기, 또는 유리 또는 플라스틱으로 만든 주사액병에 동봉될 수 있다. 주사가능한 약학적 조성물은 바람직하게는 멸균 상태이다.

[0127] 특정 실시형태에 있어서, 본 발명의 약학적 또는 백신 조성물은 0.2 μ m 미만의 안정한 수성 현탁액을 포함하며, 인지질, 지방산, 계면활성제, 세제, 사포닌, 불소화 지질 등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 성분을 더 포함한다.

[0128] 또한, 알루미늄염, 유중수 에멀전, 생분해성 오일 비히클, 수중유 에멀전, 생분해성 마이크로캡슐, 및 리포솜을 포함하지만 이에 한정되지 않는 전달 비히클과 같은 다른 성분을 백신 또는 의약품 조성물에 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 비히클에 사용하기 위한 추가 면역자극 물질(공보조제)의 예는 상기에 설명되어 있으며, N-아세틸무라밀-L-알라닌-D-이소글루타민(MDP), 글루칸, IL-12, GM-CSF, 감마 인터페론 및 IL-12를 포함할 수 있다.

[0129] 당업자에게 공지되어 있는 임의의 적절한 담체가 본 발명의 약학적 조성물에 사용될 수 있지만, 담체의 종류는 투여 방식 및 지속적인 방출이 바람직한지의 여부에 따라 달라질 수 있다. 피하주사와 같은 비경구 투여의 경우, 담체는 물, 식염수, 알코올, 지방, 왁스 또는 완충제를 포함하는 것이 바람직하다. 경구 투여를 위해서, 상기 담체, 또는 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아린산마그네슘, 사카린 나트륨, 활석, 셀룰로오스, 글루코오스, 수크로오스 및 탄산마그네슘과 같은 고체 담체 중 임의의 것을 사용할 수 있다. 또한, 생분해성 미소구체(예를 들면, 폴리락트산 갈락티드)가 본 발명의 약학적 조성물을 위한 담체로서 사용될 수 있다.

[0130] 또한, 약학적 조성물은 완충제와 같은 희석제, 아스코르브산과 같은 항산화제, 저분자량(약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드, 단백질, 아미노산, 글루코오스, 수크로오스 또는 텍스트린을 포함한 탄수화물, EDTA, 글루타티온 및 기타 안정제와 같은 킬레이트제, 및 희석제를 함유할 수 있다. 중성 완충 식염수 또는 비특이적 혈청 알부민과 혼합된 식염수가 예시적인 적절한 희석제이다. 바람직하게는, 생성물은 희석제로서 적절한 부형제 용액(예를 들면, 수크로오스)을 사용하여 동결건조물로 제형화될 수 있다.

[0131] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질/분자의 에피토프 또는 수용체 지지 도메인은 천연 또는 합성 폴리펩티드 서열로부터 유래되었는지의 여부에 관계없이, 적절한 화학적/환경적 조건 하에서 올리고머 다량체로 자가 조립하거나, 대체 조건 하에서 단량체로 환원될 수 있는 능력을 가져야 한다. 이상적으로, 다량체화 도메인은 균질한 크기의 생성물이 생성되도록, 이량체, 삼량체, 사량체, 오량체 등과 같은 신중한 수의 서브유닛을 갖는 안정한 다량체로 조립될 것이다. 천연 폴리펩티드의 예로는 류신 지퍼, lac 리프레서 단백질, 스트렙타비딘/아비딘, 콜레라 독소 B 서브유닛, 슈도모나스 삼량체화 도메인, 및 바이러스 캡시드 단백질을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0132] 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 전임상 연구에 사용되는 항-EGF 항체는 몬타니드 보조제로 제형화된 *Manufacturing Process Development for Epidermal Growth Factor-Based Cancer Vaccine*, Rodriguez et al., (Biopharm International 2008년 10월 부록, 그 내용 전체가 참고로 포함)에 기재되어 있는 바와 같이 rEGF-rP64k 공액, CIMAvax-EGF 백신으로 면역에 의해 활발하게 생성된다. EGF 또는 EGFR에 면역 반응을 생성하는 다른 백신 제형이 사용될 수 있는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 또한, 다른 성장 인자 또는 그들의 수용체에 대한 면역 반응을 생성하는 백신이 사용될 수 있는 것도 본 개시의 범위 내에 있다. 특히, W02013/076580 및 W02014/140894에 제시되어 있는 바와 같이 면역원성 단백질(참조에 의해 그 전체가 통합된 각각의 내용)을 사용하여 본 개시에 따른 항-EGF 항체를 생성할 수 있다.

[0133] 치료적 NTKI 조성물의 제형화

[0134] 종양의 치료를 위한 비천연 합성 폴리펩티드(예를 들면, IN01)와 병용된 화합물(예를 들면, NTKI)의 투여는 다

른 성분과 결합되어 종양을 개선, 감소 또는 안정화하는데 효과적인 치료제의 농도를 야기하는 임의의 적합한 수단일 수 있다. 상기 화합물은 임의의 적절한 담체 물질에 임의의 적절한 양으로 함유될 수 있고, 일반적으로 조성물의 총 중량의 1~95중량%의 양으로 존재한다. 상기 조성물은 비경구(예를 들면, 피하, 정맥내, 근육내 또는 복강내) 투여 경로에 적합한 투여 형태로 제공될 수 있다. 약학적 조성물은 통상적인 약학적 관행에 따라 제형화될 수 있다(예를 들면, Remington: The Science and Practice of Pharmacy(20th ed.), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 및 Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J.C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York).

[0135] 숙련된 기술자가 동물 모델과 비교하여 인간에 대한 투여량을 수정하는 것이 당업계에서 일상적이라는 것을 인식하기 때문에, 인간의 투여량은 마우스에서 사용된 화합물의 양으로부터 추정함으로써 초기에 결정될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 투여량은 약 1 μ g 화합물/kg 체중~약 5000mg 화합물/kg 체중; 또는 약 5mg/kg 체중~약 4000mg/kg 체중 또는 약 10mg/kg 체중~약 3000mg/kg 체중; 또는 약 50mg/kg 체중~약 2000mg/kg 체중; 또는 약 100mg/kg 체중~약 1000mg/kg 체중; 또는 약 150mg/kg 체중~약 500mg/kg 체중 사이에서 변경될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 이 용량은 약 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 또는 5000mg/kg 체중일 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 용량은 약 5mg 화합물/kg 보다~약 20mg 화합물/kg 보디의 범위일 수 있는 것으로 예상된다. 다른 실시형태에 있어서, 용량은 약 8, 10, 12, 14, 16 또는 18mg/kg 체중일 수 있다. 물론, 이 투여량은 초기 임상 시험의 결과 및 특정 환자의 필요에 따라 이러한 치료 프로토콜에서 일상적으로 수행되는 것처럼 상향 또는 하향 조정될 수 있다.

[0136] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 투여 즉시 또는 투여 후 임의의 정해진 시간 또는 기간에 실질적으로 활성 화합물을 방출하도록 제형화될 수 있다. 조성물의 후자의 유형은 일반적으로 이하를 포함하는 제어 방출 제형으로 알려져 있다: (i) 장기간에 걸쳐 체내에서 실질적으로 일정한 농도의 약물을 생성하는 제형; (ii) 미리 결정된 지연시간 후에 장기간에 걸쳐 체내에서 실질적으로 일정한 농도의 약물을 생성하는 제형; (iii) 활성 물질의 혈장 수준(특히 운동 패턴)의 변동과 관련된 바람직하지 않은 부작용의 수반되는 최소화와 함께 체내에서 비교적, 일정하고, 효과적인 수준을 유지함으로써 미리 정해진 기간 동안 작용을 지속시키는 제형; (iv) 예를 들면 흉선에 인접하거나 흉선과 접촉하는 제어 방출 조성물의 공간적 배치에 의해 작용을 국소화하는 제제; (v) 용량이 예를 들면 1주 또는 2주마다 1회 투여되도록 편리한 투여를 허용하는 제형; 및 (vi) 특정 세포 유형(예를 들면, 종양 세포)에 치료제를 전달하기 위해 담체 또는 화학적 유도체를 사용하여 종양을 표적으로 하는 제형. 일부 적용의 경우, 제어 방출 제형은 치료 수준에서 혈장 수준을 유지하기 위해 낮 동안 빈번히 투여할 필요성을 배제한다.

[0137] 방출 속도가 해당 화합물의 대사 속도를 능가하는 제어 방출을 얻기 위해 다수의 전략을 추구할 수 있다. 일실 시예에 있어서, 제어 방출은 예를 들면 다양한 유형의 제어 방출 조성물 및 코팅을 포함하는 다양한 제형 파라미터 및 성분의 적절한 선택에 의해 얻어진다. 따라서, 치료제는 투여시 조절된 방식으로 치료제를 방출하는 약학적 조성물로 적절한 부형제와 함께 제형화된다. 예로는 단일 또는 다중 단위 정제 또는 캡슐 조성물, 오일 용액, 현탁액, 에멀전, 마이크로캡슐, 미소구체, 분자 복합체, 나노입자, 패치 및 리포솜이 포함된다.

[0138] 본 개시는 투여의 범위를 제안하지만, 당업자는 제품 라벨에 명시된 바와 같은 임의의 치료상 유효한 용량이 본 개시의 범위 내에 있음을 이해할 것이다. 마찬가지로, 종양학 분야의 의료 실무자의 이해 및 지식을 기반으로 하는 임의의 투여는 본 개시의 범위 내에서 고려된다.

[0139] 치료 방법의 선택

[0140] 피험체가 종양(예를 들면, NSLC 또는 CRC)을 갖는 것으로 진단된 후, 치료 방법이 선택된다. 예를 들면, 결장직장암(CRC)에 있어서는, 다수의 표준 치료 요법을 사용할 수 있다. 일반적으로, CRC는 가장 공격적인 형태의 암 중 하나이고, 진행된 CRC는 종래의 치료 방법에 거의 영향을 받지 않는다. 공격적인 CRC의 경우, 사용할 수 있는 치료 옵션이 거의 없고, 또한 이러한 종양은 종종 전이 또는 사망과 같은 좋지 않은 임상 결과와 관련이 있다. 공격적인 CRC를 갖는 피험체는 IN01의 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP) 또는 그 항체를 포함하는 본 발명의 조성물을 트라메티닙, 타셀리닙, 알펠리닙, 코판리닙 및/또는 엔코라페닙과 조합하여 사용한 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 있는 것으로 확인된다. 따라서, 본 발명은 피험체에 대한 치료법을 선택하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 피험체가 CRC와 같은 공격적 종양 또는 공격적 형태의 NSLC 또는 교모세포종을 갖는 것을 확인하는 단계, 및 피험체에게 본 발명의 치료적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0141] 종양(예를 들면, 결장암, 폐암, 및 뇌암, 예를 들면 교모세포종)이 있는 피험체가 우수한 임상 결과를 갖는 것으로 확인된 경우에서도, 피험체는 또한 본 발명의 방법(예를 들면, 낮은 부작용)을 사용한 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 있다. 본 발명의 방법은 종양이 매우 공격적임을 나타내는 경우, 공격적인 치료 방법이 선택되어야 한다. 공격적인 치료 요법에는 일반적으로 근치 유방절제술, 방사선 요법, 호르몬 요법 및 항암 화학 요법 중 하나 이상의 치료법을 포함한다. 이러한 방법은 특히 재발하기 쉬운 췌장암의 치료를 위해 본원에 기재된 치료 방법과 조합하여 사용될 수 있다.
- [0142] 하나 이상의 종양 항원, 합성 성장 인자 및/또는 수용체를 발현하거나 또는 포함하는 균질한 합성 단백질/분자가 소정 실시형태와 관련하여 기재되고 예시되었지만, 많은 변형 및 수정이 당업자에게 자명할 것이며, 본 개시의 정신과 범위를 벗어나지 않고 이루어질 수 있다. 따라서, 본 개시는 이러한 변형 및 수정이 본 개시의 범위 내에 포함되도록 의도되기 때문에, 상기 기재된 방법론 또는 구성의 정확한 세부사항에 제한되지 않는다.
- [0143] NTKI 트라메티닙, 타셀리십, 알펠리십, 코판리십 및/또는 엔코라페닙에 관해서, IN01의 비천연 합성 폴리펩티드 (NNSP) 또는 그 항체의 임의의 투여 순서가 환자 치료에 있어서 바람직할 수 있다는 것이 고려된다. 예를 들면, NTKI, 예를 들면 트라메티닙, 타셀리십, 알펠리십, 코판리십 및/또는 엔코라페닙을 투여하기 전에, IN01의 비천연 합성 폴리펩티드 또는 그 항체를 투여하는 것이 유리할 수 있다. 또한, IN01의 비천연 합성 폴리펩티드 또는 그 항체를 투여하기 전에, 트라메티닙, 타셀리십, 알펠리십, 코판리십 및/또는 엔코라페닙을 투여하는 것도 유리할 수 있다.
- [0144] 용어 "감소하다", "저감하다", "저감된", "저감", "저하하다" 및 "억제하다"는 모두 참조에 대해 통계적으로 유의한 양만큼의 감소를 의미하기 위해 일반적으로 본원에서 사용된다. 그러나, 의심을 피하기 위해, "저감하다", "저감" 또는 "감소하다" 또는 "억제하다"는 일반적으로 참조 수준과 비교하여 적어도 10% 감소를 의미하고, 또한 예를 들면 주어진 치료의 부재와 비교하여 적어도 약 10% 감소, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 예를 들면 주어진 엔티티 또는 파라미터의 완전한 부재까지의 감소, 또는 주어진 치료의 부재와 비교하여 10-99% 사이에서의 임의의 감소를 포함할 수 있다.
- [0145] 용어 "증가된", "증가하다" 또는 "증대하다" 또는 "활성화하다"는 모두 일반적으로 정적으로 유의한 양만큼 증가를 의미하기 위해 본원에 사용되며; 의심의 여지를 없애기 위해, 용어 "증가된", "증가하다" 또는 "증대하다" 또는 "활성화하다"는 참조 수준과 비교하여 적어도 10%의 증가, 예를 들면 참조 수준과 비교하여 적어도 약 20%의 증가, 또는 적어도 약 30%, 또는 적어도 약 40%, 또는 적어도 약 50%, 또는 적어도 약 60%, 또는 적어도 약 70%, 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%의 증가 또는 100% 이하의 증가, 또는 10-100% 사이의 임의의 증가, 또는 참조 수준과 비교하여 적어도 약 2배, 또는 적어도 약 3배, 또는 적어도 약 4배, 또는 적어도 약 5배 또는 적어도 약 10배 증가, 또는 2배~10배 이상의 임의의 증가를 의미한다.
- [0146] 본원에 사용된 용어 "단리된" 또는 "부분적으로 정제된"은 핵산 또는 폴리펩티드의 경우, 천연 공급원에서 발견되는 핵산 또는 폴리펩티드와 함께 존재하는, 및/또는 세포에 의해 발현될 때 핵산 또는 폴리펩티드와 함께 존재할 수 있는 적어도 하나의 다른 성분(핵산 또는 폴리펩티드)으로부터 분리된 또는 분비된 폴리펩티드의 경우에 분비되는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 화학적으로 합성된 핵산 또는 폴리펩티드 또는 시험관 내 전자/변역을 사용하여 합성된 것은 "분리된" 것으로 간주된다. 용어 "정제된" 또는 "실질적으로 정제된"은, 예를 들면 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 이상을 포함한, 적어도 95중량%의 피험체의 핵산 또는 폴리펩티드인 단리된 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0147] 본원에 사용된 용어 "단백질" 및 "폴리펩티드"는 인접한 잔기의 알파-아미노기와 카르복시기 사이의 펩티드 결합에 의해 다른 것에 연결된 일련의 아미노산 잔기를 지정하기 위해 본원에서 호환적으로 사용된다. 본원에서 호환적으로 사용되는 용어 "단백질" 및 "폴리펩티드"는 크기 또는 기능에 관계없이 변형된 아미노산(예를 들면, 인산화, 당화, 글리코실화 등) 및 아미노산 유사체를 포함하는 단백질 아미노산의 폴리머를 지칭한다. "단백질" 및 "폴리펩티드"는 종종 비교적 큰 폴리펩티드와 관련하여 사용되는 한편, 용어 "펩티드"는 종종 작은 폴리펩티드와 관련하여 사용되지만, 당업계에서 이들 용어의 사용은 겹친다. 용어 "단백질" 및 "폴리펩티드"는 인코딩된 유전자 생성물 및 그 단편을 지칭할 때 본원에서 호환적으로 사용된다. 따라서, 예시적인 폴리펩티드 또는 단백질은 유전자 생성물, 자연 발생 단백질, 호몰로그, 오솔로그, 파랄로그, 단편 및 기타 등가물, 변이체, 단편, 및 상술한 것의 유사체를 포함한다.
- [0148] 본원에 사용된 용어 "항체"는 면역 글로불린 분자의 가변영역 내의 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 단백

질, 폴리펩티드, 펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질 등과 같은 표적을 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 임의의 면역글로불린 분자를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어는 가장 넓은 의미로 사용되며, 온전한 폴리클로날 항체, 온전한 모노클로날 항체, 항체 단편(예를 들면 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편), 단쇄 Fv(scFv) 돌연변이체, 다중특이적 항체, 예를 들면 적어도 2개의 온전한 항체로부터 생성된 이중특이적 항체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항체가 소망하는 생물학적 활성을 나타내는 한 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭되는 중쇄 정상 도메인의 동일성에 근거하여, 면역글로불린의 5개의 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 또는 이들의 하위부류(이소형)(예를 들면 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 중 어느 것일 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린은 상이한 잘 알려진 서브유닛 구조 및 3차원 배열을 갖는다. 항체는 네이키드(naked)이거나 또는 세포독성, 독소, 방사성 동위원소 등과 같은 다른 분자에 콘주게이트될 수 있다. 항체는 생체 내에서 능동적으로 생성하거나 또는 단일클론 항체를 수동적으로 투여함으로써 투여될 수 있다.

[0149] 본원에서 호환적으로 사용되는 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 폴리머를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 또는 합성 반응에 의해 폴리머에 혼입될 수 있는 임의의 물질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 메틸화된 뉴클레오티드 및 이들의 유사체와 같은 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0150] "항체"(Abs) 및 "면역글로불린"(Ig)은 동일한 구조적 특성을 갖는 당단백질이다. 항체는 특정 항원에 대해 결합 특이성을 나타내지만, 면역글로불린은 일반적으로 항원 특이성이 없는 항체 및 기타 항체 유사 분자 모두를 포함한다. 후자 종류의 폴리펩티드는, 예를 들면 림프계에 의해 낮은 수준으로 생성되고 골수종에 의해 증가된 수준으로 생성된다.

[0151] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 가장 넓은 의미에서 호환적으로 사용되며, 모노클로날 항체(예를 들면 전장 또는 온전한 모노클로날 항체), 폴리클로날 항체, 1가, 다가 항체, 다중특이성 항체(예를 들면 소망하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이중특이성 항체)를 포함하고, 또한 소정의 항체 단편(본원에서 더욱 상세히 설명됨)을 포함할 수도 있다. 항체는 키메라, 인간, 인간화 및/또는 친화력 숙성될 수 있다.

[0152] 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체(면역글로불린)는 상이한 부류에 할당될 수 있다. 면역글로불린에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5개의 주요 부류가 있고, 이들 중 몇 개는 하위부류(이소타입), 예를 들면 IgG-1, IgG-2, IgA-1, IgA-2 등으로 더 분류될 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 a, 6, ε, y 및 11이라고 불린다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 구성은 잘 알려져 있고, 일반적으로 예를 들면 Abbas et al. Cellular and Mol. Immunology, 제 4 판 (2000)에 기재되어 있다. 항체는 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩티드와 항체의 공유 또는 비공유 결합에 의해 형성된 더 큰 융합 분자의 일부일 수 있다.

[0153] 용어 "전장 항체", "온전한(intact) 항체" 및 "전체 항체"는 이하에 정의된 바와 같은 항체 단편이 아니라, 실질적으로 온전한 형태의 항체를 지칭하기 위해 본원에서 호환적으로 사용된다. 이 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.

[0154] "항체 단편"은 온전한 항체의 일부만을 포함하며, 여기서 일부는 바람직하게는 온전한 항체에 존재하는 경우, 보통 그 일부와 관련된 기능 중 적어도 하나, 바람직하게는 대부분 또는 전부를 유지한다. 한 실시형태에 있어서, 항체 단편은 온전한 항체의 항원 결합 부위를 포함하므로, 항원에 결합하는 능력을 유지한다. 또 다른 실시형태에 있어서, 항체 단편, 예를 들면 Fc 영역을 포함하는 항체 단편은 온전한 항체에 존재하는 경우, FcRn 결합, 항체 반감기 변조, ADCC 기능 및 보체 결합과 같은 보통 Fc 영역과 관련된 생물학적 기능 중 적어도 하나를 유지한다. 한 실시형태에 있어서, 항체 단편은 온전한 항체와 실질적으로 유사한 생체내 반감기를 갖는 1가 항체이다. 예를 들면, 이러한 항체 단편은 단편에 생체내 안정성을 부여할 수 있는 Fc 서열에 연결된 항원 결합 팔(bonding arm)을 포함할 수 있다.

[0155] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻은 항체를 지칭하며, 즉 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이체를 제외한 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 본질적으로 포함한다. 단일클론 항체는 단일 항원에 대해 매우 특이적이다. 게다가, 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 대항한다.

- [0156] 본원의 모노클로날 항체는 구체적으로, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래된 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하여 있는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 상동인 반면,쇄의 나머지는 다른 종으로부터 유래된 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하여 있는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 "키메라" 항체뿐만 아니라 이러한 항체의 단편을 소망하는 생물학적 활성을 나타내는 한 포함한다(미국특허 No.4,816,567; 및 Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).
- [0157] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체의 아미노산 서열에 상응하고 및/또는 본원에 개시된 인간 항체 제조 기술 중 임의의 것을 사용하여 제조된 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 특별히 배제한다.
- [0158] 본원에 사용된 "종양"은 악성이든 양성이든 모든 종양성 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식성 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에서 설명되는 바와 같이 상호 배타적이지 않다.
- [0159] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 지칭하거나 기술한다. 암의 예에는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평 세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐선암종, 폐편평세포암종, 복막암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암 또는 자궁암, 침샘암, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간암종 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.
- [0160] 본원에 사용된 바와 같이, "치료"는 치료되는 개체 또는 세포의 자연적 경과를 변경하려는 시도에서의 임상적 개입을 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리학적 과정 동안 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질병의 발생 또는 재발 방지, 증상 완화, 질병의 임의의 직간접적 병리학적 결과의 감소, 염증 및/또는 조직/장기 손상의 예방 또는 감소, 질병 진행 속도의 감소, 질병 상태의 개선 또는 일시적 완화, 및 진정 또는 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 질병 또는 장애의 발달을 지연시키는 데 사용된다.
- [0161] "약제학적 부형제"는 제약 분야에서 일반적으로 사용되는 것으로, 특히 "Handbook of excipients"(Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Paul J. Weller-4th Edition, 2003)에서 찾을 수 있는 것들을 의미하며, 그 내용은 전체에 포함되어 있다.
- [0162] 본 발명의 물질/분자의 "치료적 유효량"은 개체의 질병 상태, 연령, 성별 및 체중과 같은 요인, 및 개체에 있어서 소망하는 반응을 이끌어내는 물질/분자의 능력에 따라 달라질 수 있다. 또한, 치료적 유효량은 물질/분자의 임의의 독성 또는 유해한 효과가 치료적으로 유익한 효과보다 더 큰 양이다. "예방적 유효량"은 소망하는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 기간 동안에 유효한 양을 의미한다. 반드시 그런 것은 아니지만 일반적으로 예방 용량은 질병 전 또는 초기 단계에 있는 피험체에 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다.
- [0163] "화학요법제"는 암 치료에 유용한 화합물이다. 화학요법제의 예에는 티오테파 및 CYTOXAN® 시클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부술판, 임프로술판 및 피포술판과 같은 알킬술포네이트; 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리에틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌아민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라히드로칸나비놀(드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜키신; 베클린산; 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸(HYCANTIN®), CPT-11(이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토피신(특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 둘라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘루테로빈; 판크라티스타틴; 사르코덕티인; 스폰지스타틴; 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴과 같은 니트로소우레아; 엔다이인 항생제(예를 들면 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 오메가II(예를 들면 Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994) 참조))와 같은 항생제; 다이네미신 A를 포함한 다이네미신; 에스메라미신; 뿐만 아니라 네오키노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 엔다이인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데투루비신, 6-디아조-5-옥소-

L-노르류신, 독소루비신(ADRIAMYCIN®, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 독소루비신 HC1 리포솜 인젝션(DOXIL®) 및 데옥시독소루비신을 포함함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠알라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신과 같은 미토마이신; 메토틱세이트, 겐시타빈(GEMZAR®), 테가푸르(UFTORAL®), 카페시타빈(XELODA®), 에포틸론 및 5-플루오로우라실(5-FU)과 같은 항대사물질; 데놉테린, 메토틱세이트, 프테로테린, 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라빈, 6-메르캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디테옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘과 같은 피리미딘 유사체; 칼루스테론, 드로스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토라톤과 같은 안드로겐; 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄과 같은 항부신; 프롤린산과 같은 엽산 보충제; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레블린산; 에닐루라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄신 및 안사미토신과 같은 메이탄시노이드; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나멧; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합체(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신(ELDISINE®, FILDESIN®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토라톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들면 파클리탁셀(TAXOL®), 파클리탁셀의 알부민 조작 나노입자 포몰레이션(ABRAXANETM) 및 독세탁셀(TAXOTERE®); 클로란부실; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 메토틱세이트; 시스플라틴 및 카르보플라틴과 같은 백금 유사체; 빈블라스틴(VELBAN®); 백금; 에토포시드(VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴(ONCOVIN®), 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈(NAVELBINE®); 노반트론산; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이만드로네이트; 토포이소머라아제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMF0), 레티노산과 같은 레티노이드; 상술한 것 중 어느 하나의 약학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 병용 요법에 대한 약어인 CHOP와 같은 상술한 것 중 2개 이상의 조합, 및 5-FU 및 류코보빈과 조합된 옥살리플라틴(ELOXATINTM)을 이용한 치료 양생법에 대한 약어인 FOLFOX을 포함한다.

[0164] "환자 반응"은, 이에 제한되지 않지만, (1) 둔화 및 완전한 중지를 포함한 질병 진행의 어느 정도의 억제; (2) 질병 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소; (3) 병변 크기의 감소; (4) 인접한 말초 기관 및/또는 조직으로의 질병 세포 침윤의 억제(즉, 감소, 둔화 또는 완전한 중지); (5) 질병 확산의 억제(즉, 감소, 둔화 또는 완전한 중지); (6) 질병 병변의 퇴행 또는 절제를 초래할 수 있지만 반드시 그래야 하는 것은 아닌 세포 증식, 침습 또는 전이의 감소; (7) 장애와 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도의 경감; (8) 치료 후 무질환 발현 기간의 증가; 및/또는 (9) 치료 후 주어진 시점에서의 사망률 감소를 포함한 환자에게 이익을 표시하는 임의의 종료점을 사용하여 평가될 수 있다.

[0165] "조직 또는 세포 샘플"은 피험체 또는 환자의 조직으로부터 얻은 유사한 세포의 집합을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 소스는 신선한, 냉동된 및/또는 보존된 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물; 혈액 또는 임의의 혈액 구성성분; 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 간질액과 같은 체액; 피험체의 임신 또는 발달 중 어느 시점의 세포로부터의 고체 조직일 수 있다. 또한, 조직 샘플은 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다. 선택적으로, 조직 또는 세포 샘플은 질병 조직/기관으로부터 얻어진다. 조직 샘플은 보존제, 항응고제, 완충제, 고정제, 영양소, 항생제 등과 같이 사실상 자연적으로 조직과 혼합되지 않는 화합물을 함유할 수 있다.

[0166] 암에 대한 주어진 치료의 효능은 숙련된 임상가에 의해 결정될 수 있다. 그러나, 예를 들면 종양의 징후 또는 증상 중 하나 또는 모두가 유의한 방식으로 변경되거나 다른 임상적으로 허용되는 증상이 호전되거나, 또는 심지어 예를 들면 본원에 기재된 제제로 치료 후 적어도 10%까지 개선되는 경우에도, 치료는 이 용어가 본원에 사용되었을 때 "유효한 치료"라고 간주된다. 또한, 효능은 입원 또는 의학적 개입의 필요성에 의해 평가했을 때 개체가 악화되지 않은 것(즉, 질병의 진행이 중단됨)에 의해 측정될 수 있다. 이들 지표를 측정하는 방법은 당업자에게 알려져 있고 및/또는 본원에 기재되어 있다. 질병의 치료를 위한 유효량은 이를 필요로 하는 포유동물에게 투여했을 때 그 질병에 대해 그 용어가 본원에 정의된 바와 같은 효과적인 치료를 초래하기에 충분한 양을 의미한다. 약제의 효능은, 예를 들면 암의 물리적 지표, 예를 들면 종양 크기, 종양 질량, 종양 밀도, 혈관신생, 종양 성장 속도 등을 평가함으로써 결정될 수 있다. 또한, 약제의 효능은 본원에 기재된 항체 또는 항체 결합 부분, 또는 본원에 기재된 항체를 인코딩하는 핵산 또는 그 항원 결합 부분을 포함하는 약제로 치료

중인 피험체에서의 순환하는 MIC 펩티드 또는 그 단편의 감소로 측정될 수 있다.

[0167]

키트 또는 약제학적 시스템

[0168]

본 조성물은 종양(예를 들면, CRC 또는 NSLC)을 개선하는데 사용하기 위한 키트 또는 약제학적 시스템에 조립될 수 있다. 본 발명의 이러한 양태에 따른 키트 또는 약제학적 시스템은 바이알, 튜브, 앰플, 병 등과 같은 하나 이상의 컨테이너를 기밀하게 그 안에 봉입하는 박스, 카톤, 튜브 등과 같은 캐리어 수단을 포함한다. 또한, 본 발명의 키트 또는 약제학적 시스템은 본 발명의 제제를 사용하기 위한 관련 설명서를 포함할 수도 있다. 본 발명의 키트는 하나 이상의 알킬화제(예를 들면, 시스플라틴), 및 EGFR 이펙터 키나아제, 예를 들면 트라메티닙에 결합함으로써 EGFR 및 MEK 단백질 모두의 활성을 감소시키는 적어도 하나 이상의 제제를 IN01 비천연 합성 폴리펩티드 및/또는 항IN01 항체와 조합하여 포함한다. 소망하는 경우, 키트에는 리보뉴클레오타이드 환원효소(RR)에 결합하여 뉴클레오타이드 합성을 감소시키는 제제(예를 들면 켄시타빈)도 포함된다. 키트는 IN01 비천연 합성 폴리펩티드(NSP) 및/또는 항IN01 항체와 조합하여 EGFR 이펙터 키나아제, 예를 들면 트라메티닙에 결합하여 EGFR 및 MEK 단백질 모두의 활성을 감소시킴으로써, 단독으로 투여된 알킬화제의 효능에 비해 알킬화제의 효능을 증가시키는 하나 이상의 제제와 조합하여 알킬화제를 투여하기 위한 설명서도 포함할 수 있다. 알킬화제의 효능을 측정하는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 본원에 기재되어 있다(예를 들면 IC50의 측정).

[0169]

본 발명의 실행은, 달리 지시되지 않는 한, 당업자의 이해의 범위 내에 있는 분자 생물학(재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 채용한다. 이러한 기술은 "Oligonucleotide Synthesis" (Gait, 1984); "Animal Cell Culture" (Freshney, 1987); "Methods in Enzymology" "Handbook of Experimental Immunology" (Weir, 1996); "Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells" (Miller and Calos, 1987); "Current Protocols in Molecular Biology" (Ausubel, 1987); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis, 1994); "Current Protocols in Immunology" (Coligan, 1991)와 같은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 이들 기술은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩티드의 생산에 적용 가능하며, 그와 같이 본 발명을 작성하고 실행하는데 고려될 수 있다. 특정 실시형태에 대한 특히 유용한 기술은 다음 섹션에서 논의될 것이다.

[0170]

본 개시의 실시형태에 대한 기재는 완전한 형태로 개시되거나 또는 개시된 정확한 형태로 본 개시를 제한하고자 의도한 것은 아니다. 본 개시의 특정 실시형태 및 실시예는 예시의 목적으로 본원에 기재되지만, 관련 기술분야의 숙련가가 인식하는 바와 같이, 본 발명의 범위 내에서 다양한 등가 변형이 가능하다. 본원에 제공된 개시의 교시는 적절히 다른 절차 또는 방법에 적용될 수 있다. 본원에 개시된 다양한 실시형태는 추가 실시형태를 제공하기 위해 결합될 수 있다. 본 개시의 양태는 필요하다면 본 개시의 또 다른 실시형태를 제공하기 위해 상기 참조 및 적용의 조성, 기능 및 개념을 채용하도록 수정될 수 있다. 이들 및 그외 변경은 상세한 개시를 고려하여 본 개시에 대해 이루어질 수 있다.

[0171]

임의의 상술한 실시형태의 특정 요소는 다른 실시형태의 요소에 대해 조합되거나 대체될 수 있다. 또한, 본 발명의 특정 실시형태와 관련된 이점이 이들 실시형태의 맥락에서 설명되었지만, 다른 실시형태도 이러한 장점을 나타낼 수 있으며, 또한 모든 실시형태가 본 개시의 범위 내에 포함되도록 반드시 이러한 장점을 나타낼 필요는 없다.

[0172]

실시예

[0173]

본 개시는 하기 실시예에 의해 추가로 예시되며, 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 모든 참조 내용, GenBank 수탁 유전자 번호, 출원 전반에 걸쳐 인용된 공개 특허 및 특허 출원은 참고로 여기에 포함된다. 당업자는 본 개시가 개시된 구조, 재료, 조성 및 방법에 대한 변형으로 실시될 수 있고, 또한 이러한 변형이 개시 범위 내에 있는 것으로 간주된다는 것을 인식할 것이다.

[0174]

실시예 1: 항IN01 항체 NTKI 병용 치료에 대한 DLD1(G13D KRAS) 및 LS174T(G13D KRAS) KRAS 돌연변이 세포주 반응

[0175]

항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 항IN01 항체는 암세포 성장을 억제하기 위해 EGFR 하류 이펙터를 표적으로 하는 비티로신 표적화 키나아제 억제제와 조합하여 사용하도록 개발되었다. 이 실시예에 있어서, KRAS에서의 G13D 돌연변이 및 PIK3CA에서의 E545K 돌연변이를 보유하는 세포주 DLD1을 보유하는 KRAS 돌연변이, 및 KRAS에서의 G12D 돌연변이 및 PIK3CA에서의 돌연변이를 보유하는 LS174T가 사용되었다(도 1 및 43).

- [0176] 도 2-6은 DLD1 세포에서 트라메티닙과 조합된 항IN01 항체의 효과를 보여준다. EGFR의 인산화는 항IN01 항체에 의해 강력하게 억제된다. 항IN01 항체와 트라메티닙의 조합은 pEGFR 및 pERK1/2 활성화에 상당한 효과가 있다는 점에서 트라메티닙 단독의 효과를 증대시킨다(도 6). 또한, 병용 치료는 pSTAT3 및 pAKT에 대해 현저한 효과를 갖는다(도 6). 도 29 및 49는 경시에 따라 트라메티닙에 대한 내성이 발달하지만, 항IN01 항체에 의해 감소되는 것을 보여준다. 도 45는 DFD1 세포가 타셀리닙 및 트라메티닙에 대해 유사한 세포 신호전달 반응을 나타낸다는 것을 보여준다. 도 46은 항IN01 항체가 트라메티닙 또는 타셀리닙과 조합하여 DFD1 세포의 세포 생존력을 크게 감소시킨다는 것을 보여준다.
- [0177] 도 33, 34, 47 및 48은, 유세포 분석에 의해 평가된 바와 같이, S 및 G2/M 상(phase)의 DFD1 세포의 수가 항IN01과 트라메티닙 병용 치료로 더 낮아졌고, 세포자멸사하는 DFD1 세포의 수가 더 높아졌다는 것을 보여준다(도 30).
- [0178] 도 7-11은 트라메티닙 I n LS174T 세포와 조합된 항IN01 항체의 효과를 보여준다. DLD1 세포의 세포 생존력에 대한 효과와 비교하여, LS174T 세포에서는 병용 치료가 덜 현저하다. 그러나, pAkt, pEGFR 및 pErk1/2의 활성화는 LS174T 세포에서 거의 완전히 억제된다(도 10). 특히, 도 53에 도시된 바와 같이, 트라메티닙 내성은 항IN01 항체가 LS174T 세포주에서 공동 투여되는 경우에 유의하게 지연된다.
- [0179] 특히, 항IN01 항체는 이들 KRAS 돌연변이 세포주에 대한 EGF의 자극 효과를 일관되게 역전시킨다. 도시된 바와 같이, EGF는 KRAS 세포주 성장을 자극하는 반면, 항IN01 항체는 트라메티닙 또는 타셀리닙과 조합하여 EGF 유도 세포 성장을 억제하고, 비티로신 표적화 키나아제 억제제에 대한 내성을 지연시킨다.
- [0180] **실시예 2: 항IN01 항체 NTKI 병용 치료에 대한 A549(G12S KRAS) 및 HCC15(Q61K NRAS) Ras 돌연변이 세포주 반응**
- [0181] 항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 항IN01 항체는 암세포 성장을 억제하기 위해 EGFR 하류 이펙터를 표적으로 하는 비티로신 표적 키나아제 억제제와 조합하여 사용하도록 개발되었다. 이 실시예에 있어서, KRAS G12S 돌연변이를 보유하는 A549 세포주, 및 NRAS에서의 Q61K 돌연변이를 보유하는 HCC15 세포주가 사용되었다.
- [0182] 도 31 및 32는 유세포 분석에 의해 평가된 바와 같이 S 및 G2/M 상의 A549 세포의 수가 항IN01과 트라메티닙 병용 치료로 더 낮아졌고, 세포자멸사하는 A549 세포의 수가 더 높아졌다는 것을 보여준다. 도 66, 68, 72 및 73은 HCC15 세포에서의 트라메티닙 단독 및 항IN01 항체와 조합된 효과를 보여주며, 여기서 항IN01 항체는 세포 생존력을 낮추는 데 있어서의 트라메티닙의 효과를 증대시킨다.
- [0183] **실시예 3: 항IN01 항체 NTKI 병용 치료에 대한 HT29(V600E BRAF) 및 H508(G596R BRAF 및 E545K PIK3CA) 돌연변이 세포주 반응**
- [0184] 항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 항IN01 항체는 암세포 성장을 억제하기 위해 EGFR 하류 이펙터를 표적으로 하는 비티로신 표적 키나아제 억제제와 조합하여 사용하도록 개발되었다. 이 실시예에서, BRAF 및 PIK3CA 돌연변이를 보유하는 HT29 및 H508 세포가 사용되었다(도 43, 63 및 74).
- [0185] 도 12, 13, 및 54-56은 엔코라페닙의 트라메티닙을 항IN01 항체와 조합하여 사용되었을 때의 HT29 세포의 감소된 세포 생존력을 보여준다. 도 14-22, 57-62, 72, 73, 및 75-77은 트라메티닙, 타셀리닙, 알펠리닙 및 코판리닙과 함께 항IN01 항체를 이용한 H508 및 HT29 세포의 감소된 세포 생존력을 보여준다. 도 18 및 19는 항IN01 항체와 조합한 타셀리닙에 의한 세포 생존력의 효과적인 억제가 현재 환자 치료의 농도보다 낮은 농도에서 달성되었다는 것을 명백히 입증한다. 또한, 도 14는 트라메티닙과 조합된 항IN01 항체가 HT29 세포에 있어서 트라메티닙 단독에 비해 pEGFR 및 pErk1/2 활성화의 억제를 강력하게 증대시켰다는 것을 보여준다.
- [0186] 도 20은 PIK3CA 억제제인 알펠리닙 및 코판리닙이 pAkt를 억제하지만, pEGFR 또는 pErk1/2 신호전달에는 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다. 그러나, 도 21은 이들 억제제가 항IN01 항체와 조합시 세포 생존력에 대해 타셀리닙과 유사한 효과를 나타낸다는 것을 보여준다. 마찬가지로, 항IN01 항체는 낮은 농도에서 알펠리닙 또는 코판리닙 단독보다 H508 세포 생존력에 더 큰 영향을 미쳤다(도 22). 이들 결과는 타셀리닙이 더욱 표적화되고 더욱 효과적인 종양 성장 억제를 제공하는 것을 나타낸다.
- [0187] 타셀리닙은 PIK3CA를 표적으로 하고, 엔코라페닙은 BRAF를 표적으로 하는 반면, 트라메티닙은 MEK 억제제이다.

특히 항IN01 항체와의 조합시, 감소된 세포 증식 및 EGFR 억제제 신호전달을 달성함에 있어서 PIK3CA, BRAF 및 KRAS 억제제의 유사한 효과는, EGFR의 다중 경로 하류를 표적화하는 것이 암 치료에서 더욱 많은 치료 옵션 및 더욱 큰 효능을 나타낸다는 것을 나타낸다.

[0188] **실시예 4: 항IN01 항체 TKI 병용 치료에 대한 PC9/PC9GR4(EGFR에서 엑손 19 결실) 돌연변이 세포주 반응**

[0189] 항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 항IN01 항체는 암세포 성장을 억제하기 위해 EGFR을 표적으로 하는 티로신 표적 키나아제 억제제와 조합하여 사용되도록 개발되었다. 이 실시예에서는 PC9/PC9GR 세포를 사용했다.

[0190] 도 27 및 28은 항IN01 항체를 세포에 동시 투여했을 때 오시머티닙 및 다코미트닙에 대한 내성의 출현이 감소되었음을 보여준다.

[0191] **실시예 5: 항IN01 항체 TKI 병용 치료에 대한 H228 및 H3122 EML4-ALK 전위 돌연변이 세포주 반응**

[0192] 항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 항IN01 항체는 암세포 성장을 억제하기 위해 EGFR을 표적으로 하는 티로신 표적 키나아제 억제제 브리가티닙과 조합하여 사용되도록 개발됐다. 이 실시예에서는 H228 및 H3122 세포가 사용되었다.

[0193] 도 35 및 36은 유세포 분석법에 의해 평가된 바와 같이 항IN01 항체와 조합된 브리가티닙에 대한 반응으로 각각 G2/M 상 H2228 및 H3122 세포의 감소를 보여준다.

[0194] 도 42는 H228 세포에서의 항IN01 항체의 환자 역가에 대한 신호전달 반응을 보여준다.

[0195] **실시예 6: 항IN01 항체/TKI 병용 치료에 대한 LC-2/ad(RET 전위) 돌연변이 세포주 반응**

[0196] RET 원발암 유전자 기능 획득은 수질성 갑상선 암종, 다발성 내분비 종양 2A형 및 2B형, 갈색세포종 및 부갑상선 증식증을 포함한 다양한 유형의 인간 암의 발병과 관련이 있다. RET는 EGF 유도로 EGFR의 하류에서 인산화된다. EGF가 RET 세포주 성장을 자극하지만, 항IN01 항체는 LC-2/ad(RET 전위) 세포에서 이러한 효과의 BLU667 억제제를 유의하게 증대시켰다(도 78-81).

[0197] **실시예 7: 항IN01 항체 환자 역가에 대한 SW900 wt KRAS/wt ALK 세포주 반응**

[0198] 도 38-41은 항IN01 항체의 상이한 환자 역가에 대한 SW900 세포의 신호전달 반응을 보여주며, 이는 항IN01 펩티드(서열번호 2)를 사용한 활성 면역화가 세포 분열 및 생존력으로 이어진다고 알려진 EGFR 및 하류 신호전달에 유의한 영향을 미친다.

[0199] **실시예 8: 비소세포성 폐암 세포주에서 키나아제 억제제(TKI)의 항종양 활성을 증가시키는 항표피 성장 인자 백신 항체**

[0200] MET 증폭 및 MET 엑손 14 결실(MET Δ ex14)이 잠복하여 있는 진행성 NSCLC 환자는 MET 티로신 키나아제 억제제(TKI)를 사용한 치료로부터 이점을 얻었다. RAS 계열 유전자에 변형이 있는 환자에 있어서, 아직 승인된 표적 치료제가 없었고, NSCLC에서 트라메티닙과 같은 MEK 억제제의 시험은 임상적 이점을 나타내지 못했다. 여기서, 백신 접종에 의해 생성된 항체(항EGF 항체)는 시험관 내에서 증식하는 표피 성장 인자 수용체 돌연변이체(EGFR-mut), ALK 및 RET 전위된 세포에서의 EGFR TKI의 효과를 강화하고, EGFR TKI에 대한 내성의 출현을 방지한다. 목표는 MET 및 NRAS 변형이 잠복하여 있는 세포주에서 항EGF VacAbs, MET TKI, MEK 억제제 및 그 조합의 효과를 결정하는 것이었다.

[0201] 항EGF VacAbs는 토끼에서 생성되고, 정제 및 적정되었다. 세포주를 MET 증폭된 MET Δ ex14 및 NRAS 돌연변이체 NSCLC 세포주(EBC-1, Hs746T 및 HCC15)에서 항EGF VacAb 단독 및 MET 및 MEK 억제제와의 조합으로 처리했다. 세포 생존력 및 장기 성장 곡선은 MTT, 웨스턴 블롯에 의한 전체 및 인산화 단백질의 변화, 유세포 분석법에 의한 세포 주기 및 세포사멸 효과, 및 저밀도 배양에서의 직접 현미경 검사에 의한 내성의 출현에 의해 결정되었다.

[0202] 항EGF 항체는 시험된 모든 세포주에서 EGF 및 TGF α 유도 세포 증식을 억제하고, EGFR 인산화 및 하류 ERK 신호전달을 억제했다. 조합시, 항EGF 항체는 EBC에서 캅마티닙과 테포티닙의 항종양 활성을, HCC15 세포에서 Hs746T 및 트라메티닙의 항종양 활성을 유의하게 증대시켰다. 이들 세포주에 있어서, 웨스턴 블롯팅은 항EGF 항체와 시

협된 억제제의 조합이 EGFR 하류 경로를 효과적으로 억제한다는 것을 입증했다. 이들 효과를 추가로 조사하기 위해 세포 주기 실험을 수행했다. EGF의 첨가는 예상대로 S+G2/M에서의 세포의 수를 유의하게 증가시키고, 항 EGF 항체 및 억제제는 이 자극을 역전시켰다.

[0203] **실시예 9: 증폭된 MET 및 METex14 세포주에서 TKI 억제제 테포티닙 및 캡마티닙과 조합된 항IN01 항체**

[0204] 항IN01(BVN22E) 항체는 2개의 반복 합성 EGF 표적 신호전달 경로(서열번호 7) 도메인, 글리신-세린 반복 링커, 및 CTB 서열(서열번호 25[[9]])로 이루어진 서열번호 2로부터 발달되었다. 이 실시예에 있어서, MET 증폭 및 MET 엑손 14 결실을 보유하는 EBC1 및 Hs746T 세포주가 사용되었다(도 82).

[0205] EBC1 및 Hs746T 단기 세포 생존력을 EGF, 항IN01 항체, "Ab", 및 상이한 농도의 캡마티닙 및 테포티닙의 존재하에(도 83-88) 시험했다. 또한, EBC1 세포에서의 pMET, pEGFR, pAkt, pErk1/2 활성화에 미치는 상이한 농도의 테포티닙의 영향과, EBC1 세포에서의 pMET 신호전달에 미치는 상이한 농도의 테포티닙 영향도 관찰되었다(도 85 및 87).

[0206] 또한, 0.75nM 및 0.25nM 테포티닙, EGF 및 항IN01 항체를 이용한 인큐베이션의 EBC1 세포 생존력에 대한 장기적인 효과가 EBC1 세포에서도 관찰되었다.

[0207] 2.0nM 및 0.5nM 테포티닙, EGF 및 항IN01 항체를 이용한 인큐베이션의 EBC1 세포 생존력에 대한 장기적인 효과가 Hs746T 세포에서 관찰되었다.

[0208] 요약하면, 표피 성장 인자 수용체(EGFR)의 활성화를 억제하는 항IN01 항체는 종양성 세포 성장 및 생존력을 조절하는 EGFR의 하류의 세포 신호전달을 감소시키고, 특히 NTKI 단독에 비해 NTKI에 대한 내성의 개시를 지연시킴으로써, 이에 제한되지 않지만, 트라메티닙, 타셀리닙, 알펠리닙, 코판리닙 및 에를로티닙을 포함한, EGFR 억제제 단백질들을 표적으로 하는 NTKI의 효과를 유의하게 증대시키는 것으로 나타났다. 따라서, 환자 치료는 IN01 비천연 합성 폴리펩티드(NNSP) 및/또는 그 항체를 NTKI와 조합하는 것으로부터 유래되었고, 따라서 이전에 치료할 수 없었던 암을 절감시키거나 근절시킬 가능성을 갖는다. 비티로신 표적화 키나아제 억제제와 조합하여 사용되는 다른 성장 인자 및 그 수용체에 대한 항체는 마찬가지로 NTKI의 효과를 증대시키고 또한 내성의 개시를 지연시킨다고 추가로 고려된다.

[0209] **참조에 의한 포함**

[0210] 본원에 인용 또는 참조된 모든 문헌 및 본원에 인용된 문헌에서 인용 또는 참조된 모든 문헌, 본원에 언급된 임의의 제품에 대한 또는 본원에 참조로 포함된 문헌에서의 임의의 제조업체의 설명서, 설명, 제품 사양 및 제품 시트와 함께 참조로 여기에 포함되며, 본 개시의 실시예 채용될 수 있다.

[0211] **등가물**

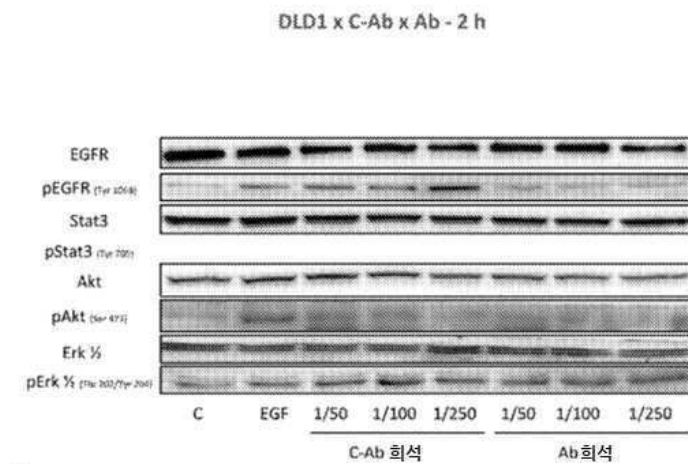
[0212] 본원에 기재된 상세한 실시예 및 실시형태는 단지 예시의 목적으로 예시로서 제공되며, 본 개시를 제한하는 것으로 간주되지 않는 것으로 이해된다. 이를 고려하여, 다양한 수정 또는 변경이 당업자에게 제안될 것이고, 본 출원의 사상 및 범위 내에 포함되고, 첨부된 청구범위의 범위 내에서 고려된다. 본 개시의 시스템, 방법 및 프로세스와 관련된 추가적인 유리한 특징 및 기능은 첨부된 청구범위로부터 명백해질 것이다. 더욱이, 당업자는 단지 보통의 실험을 이용하여 본원에 기재된 개시의 특정 실시형태에 대한 많은 등가물을 인정하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 이하의 청구범위에 포함되도록 의도된다.

도면

도면1

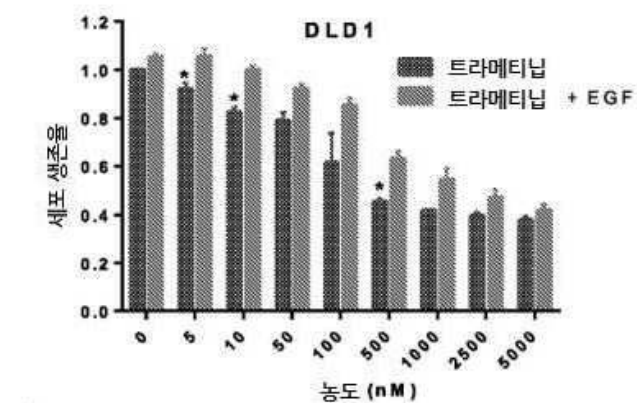
세포주	유래	KRAS 돌연변이
A549	폐, 선암, NSCLC	G12S
H23	폐, 선암, NSCLC	G12C
DLD1	결장, 선암	G13D, 또한 PIK3CA mut 및 P53
LS174T	결장, 선암	G12D, 또한 PIK3CA mut

도면2

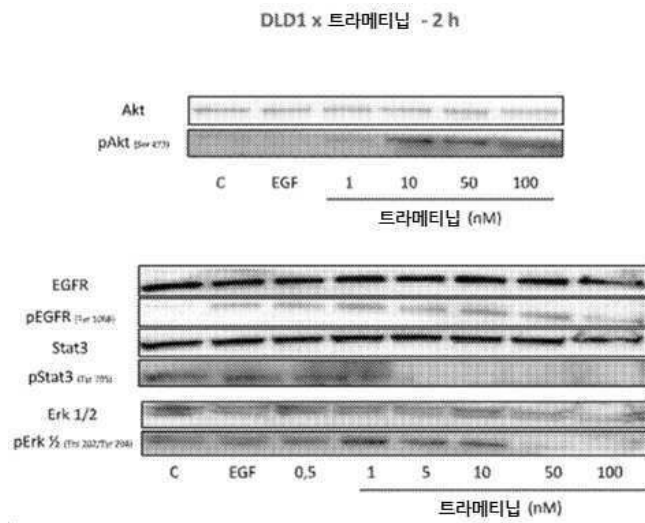


도면3

DLD1세포주에서 트라메티닙 활성에 대한 EGF의 효과

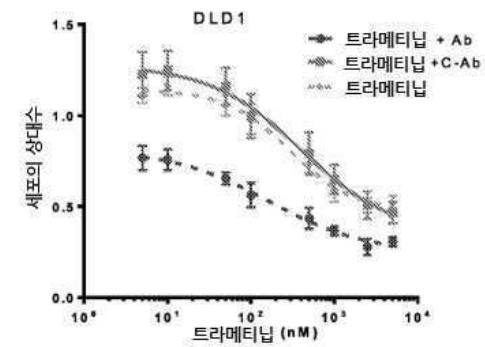


도면4

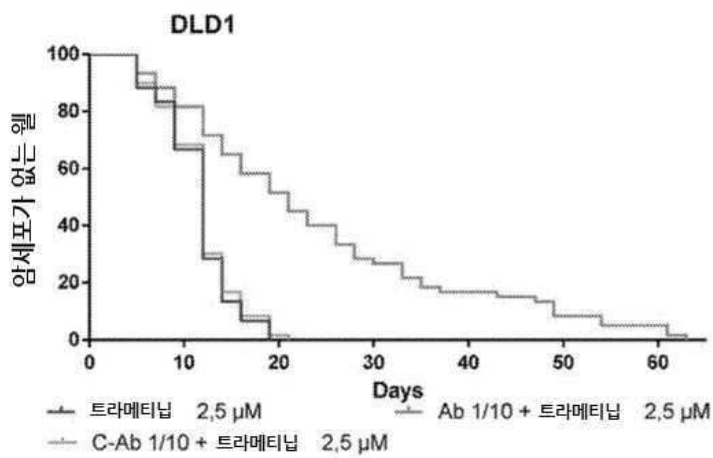


도면5a

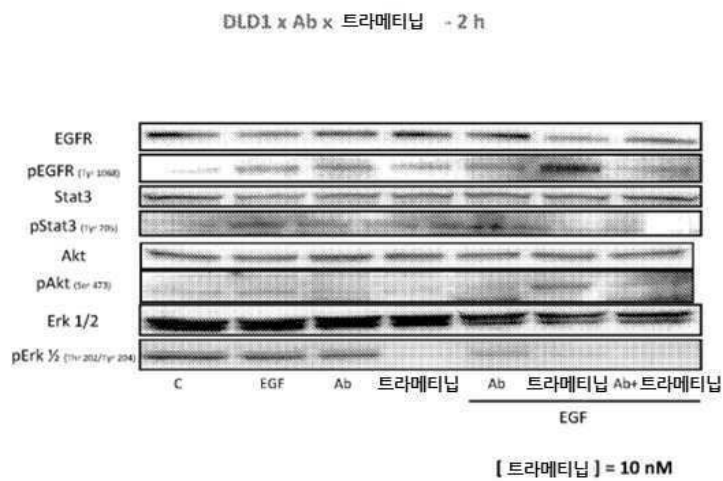
DLD1 세포주에서 Ab와 트라메티닙의 병용



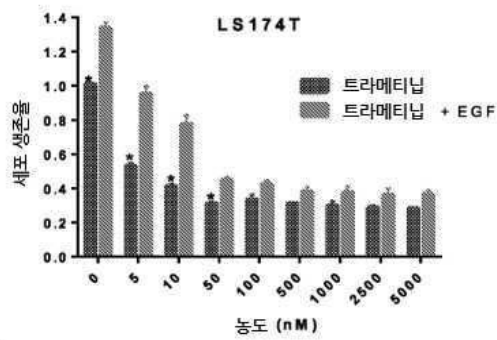
도면5b



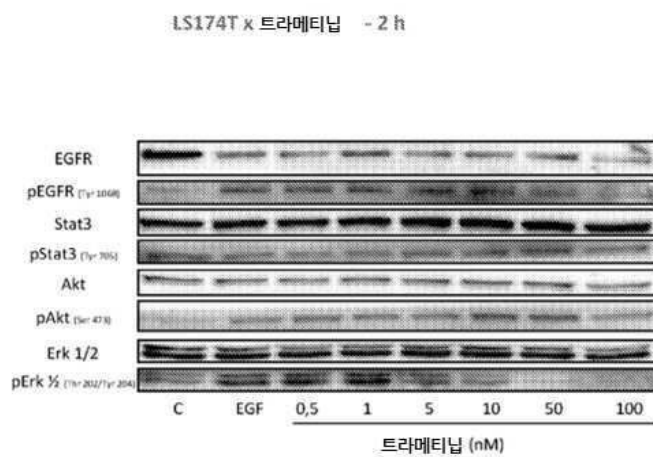
도면6



도면7

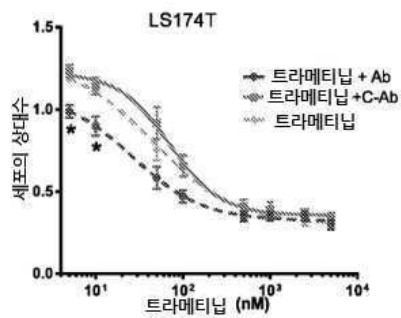


도면8



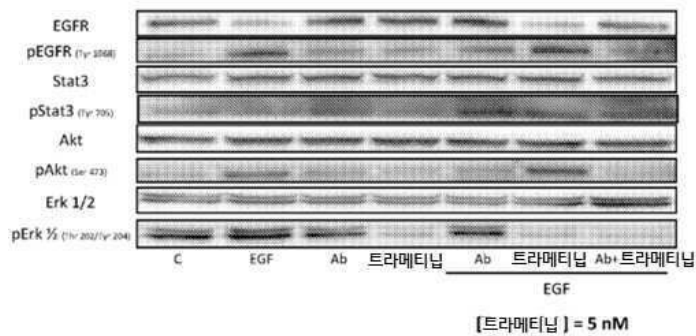
도면9

LS174T 세포주에서 Ab와 트라메티닙의 병용

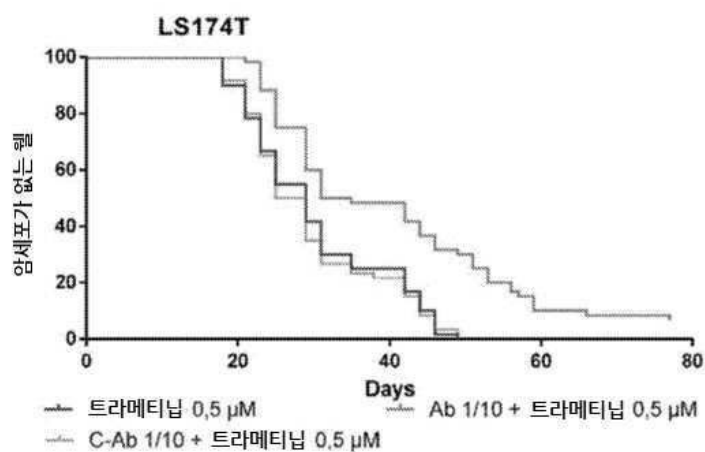


도면10

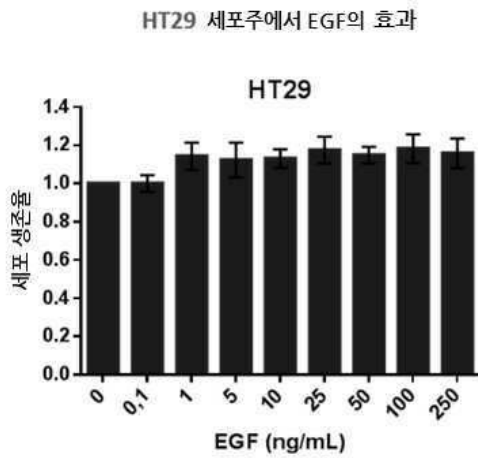
LS174T x Ab x 트라메티닙 - 2 h



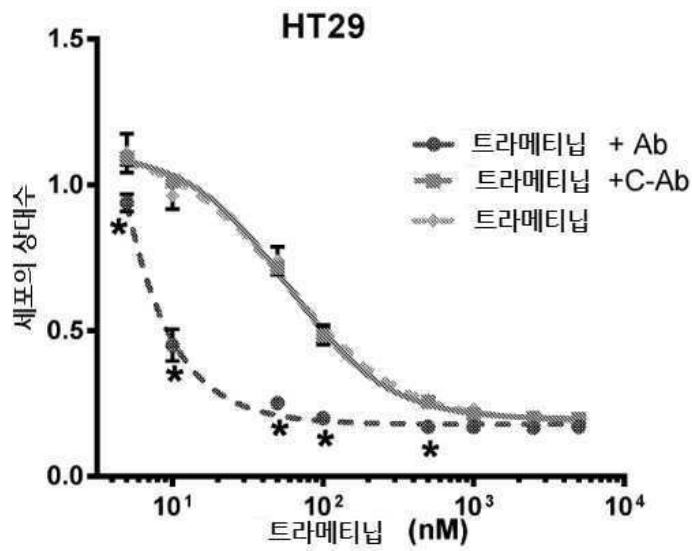
도면11



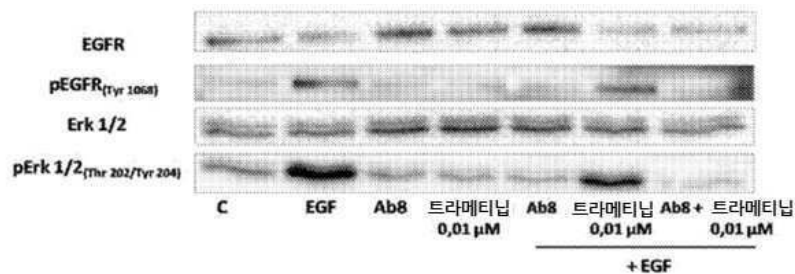
도면12



도면13a

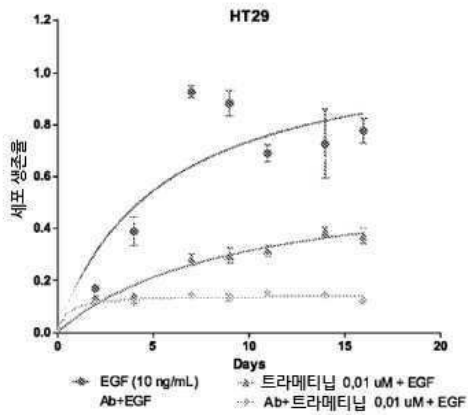


도면13b



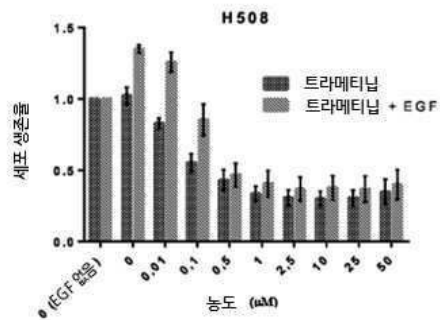
도면13c

HT29에서 항-EGF VacAb와 트라메티닙을 병용했을 때의
14일의 성장 곡선



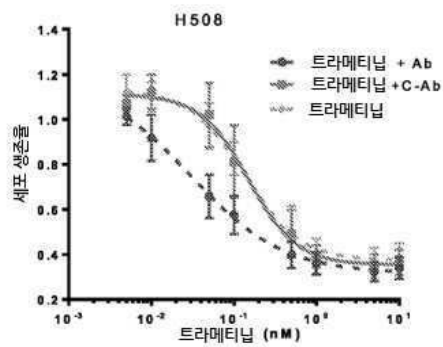
도면14

H508 세포주에서 트라메티닙의 활성화에 대한 EGF의 효과



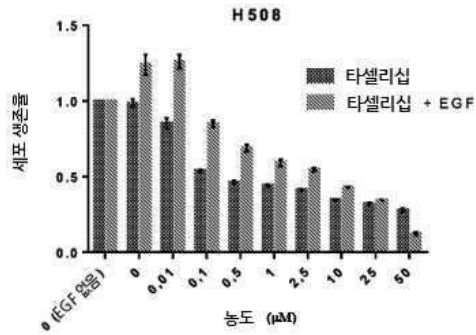
도면15

H508 세포주에서 항-EGF VacAb와 트라메티닙의 병용



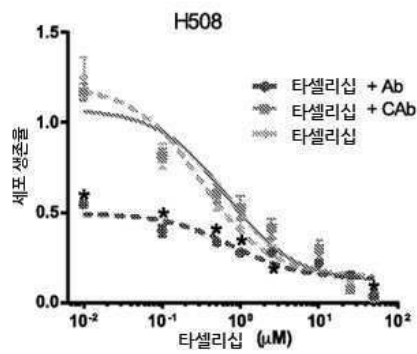
도면16

H508 세포주에서 타셀리십의 활성화에 대한 EGF의 효과



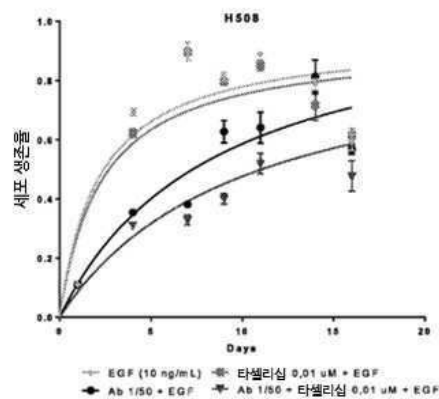
도면17

H508 세포주에서 항-EGF VacAb와 타셀리십의 병용



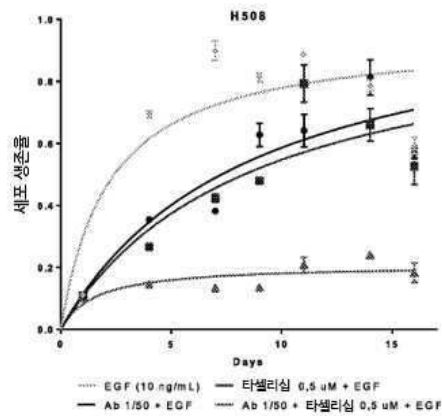
도면18

H508에서 항-EGF VacAb와 타셀리십 0.01 μM 을 병용했을 때의 14일의 성장 곡선



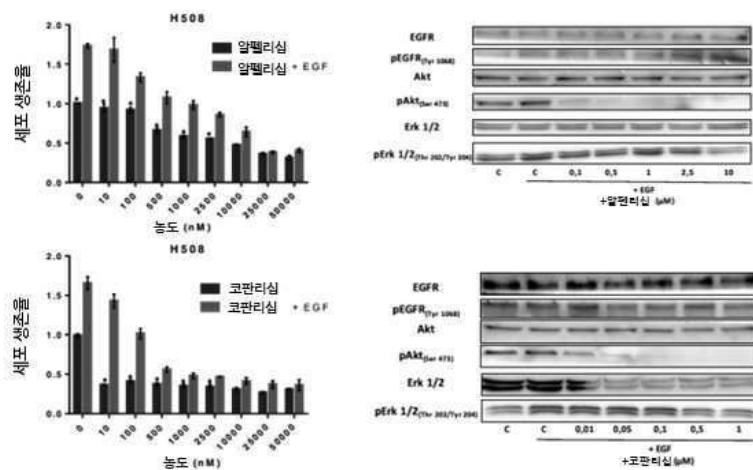
도면19

H508에서 항-EGF VacAb와 타셀리십 0,5 μ M 을 병용했을 때의
14일의 성장 곡선



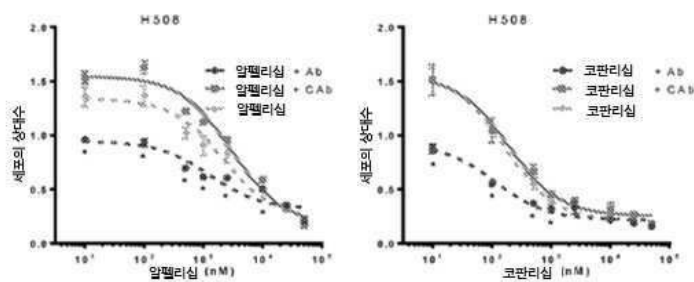
도면20

H508에서 EGF의 존재/부재 하에서의 알펠리십 및 코판리십

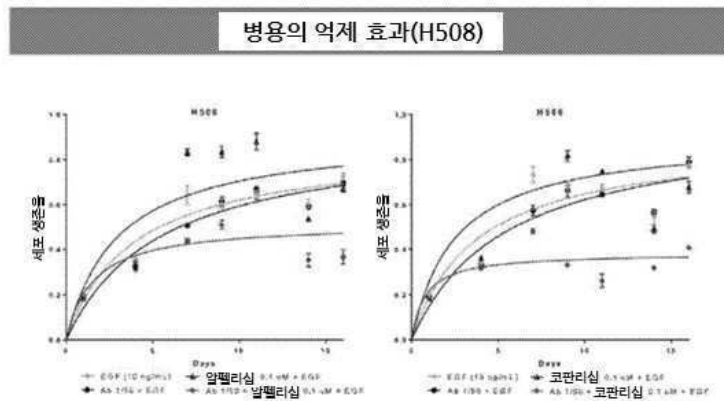


도면21

H508에서의 병용 치료(EGF의 존재 하)

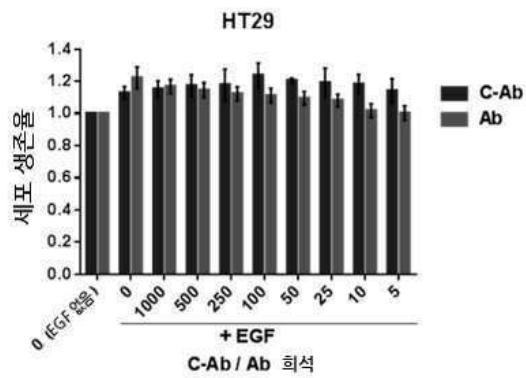


도면22



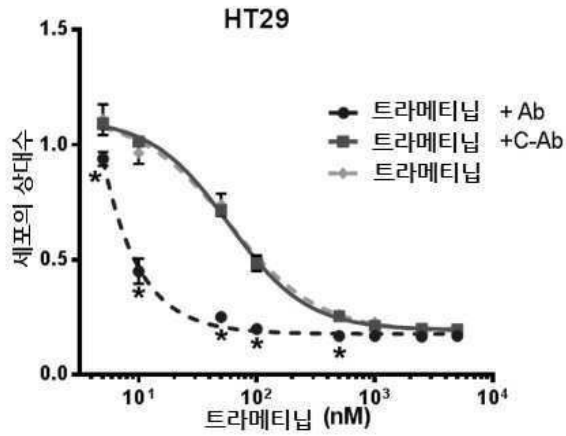
도면23

HT29 세포주에서 항-EGF VacAb 활성



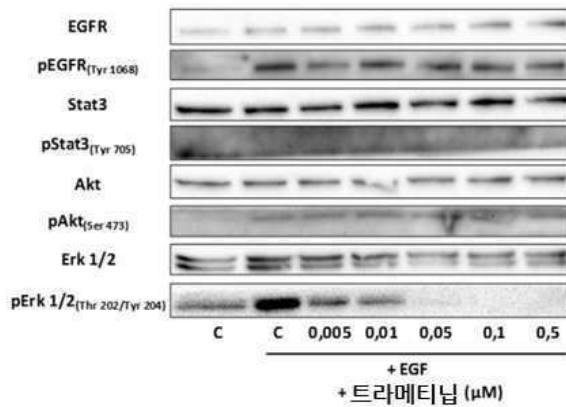
도면24

HT29 세포주에서의 항-EGF VacAb와 트라메티닙의 병용



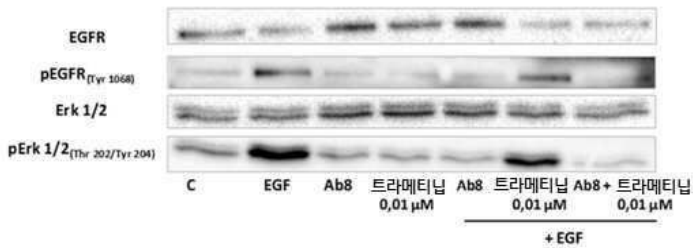
도면25

H29 세포주에서 2시간 배양했을 때의 트라메티닙의 용량-반응

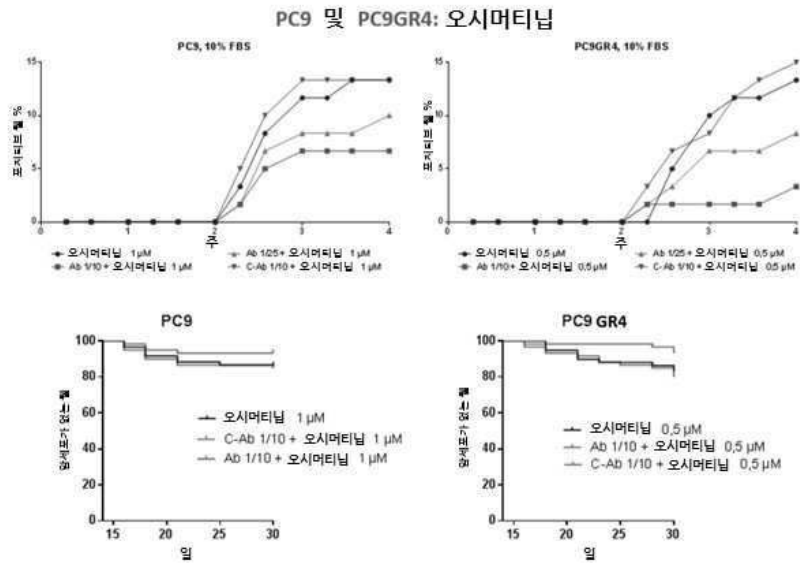


도면26

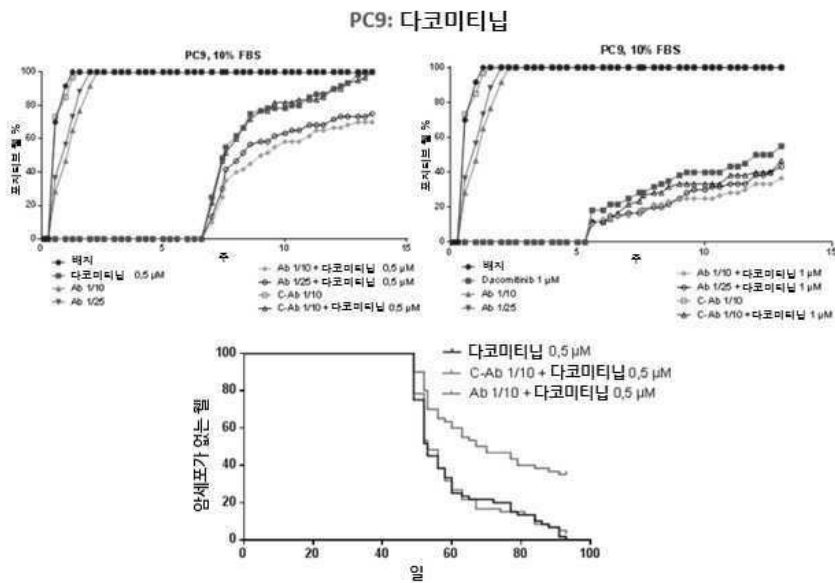
HT29 세포주에서 2시간 배양했을 때의 트라메티닙과 항-EGF VacAb



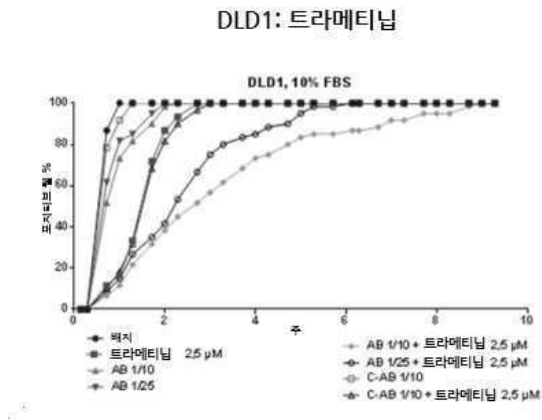
도면27



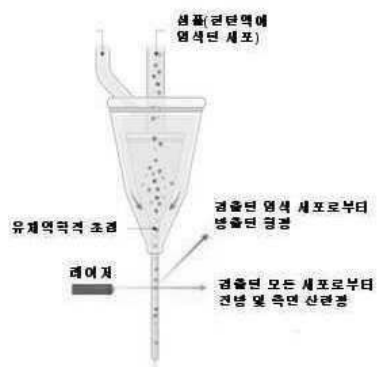
도면28



도면29

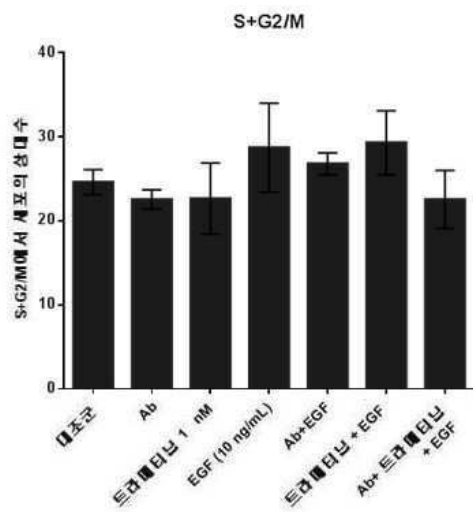


도면30



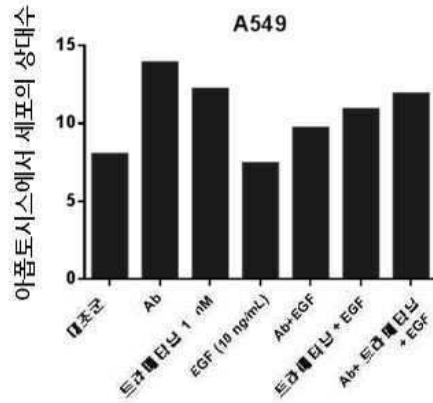
도면31

A549에서 트라메티닙과 병용된 항-EGF VacAb:
세포 주기



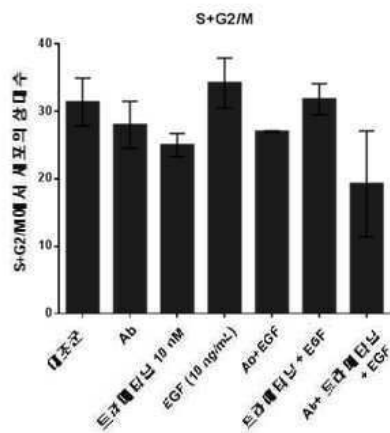
도면32

A549에서 트라메티닙과 병용된 항-EGF VacAb:
아폽토시스



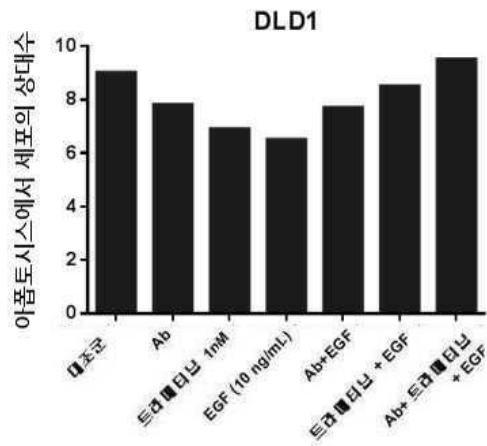
도면33

DLD1에서 트라메티닙과 병용된 항-EGF VacAb
세포 주기



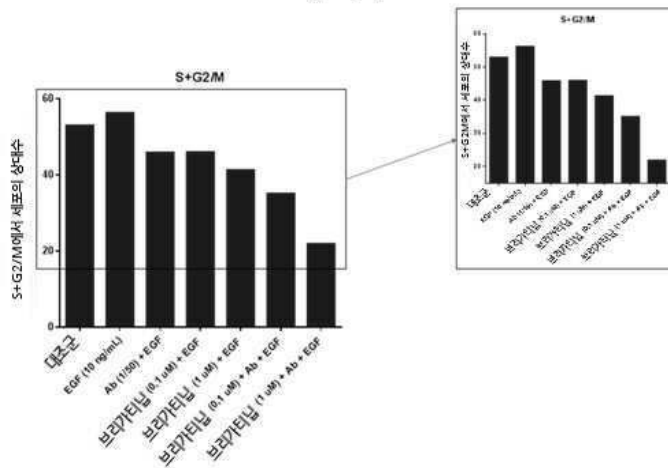
도면34

DLD1 에서 트라메티닙과 병용된 항-EGF VacAb:
아폽토시스



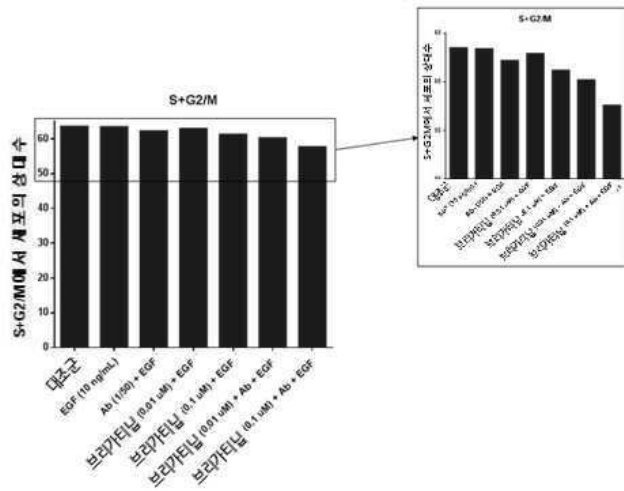
도면35

H2228에서 브리가티닙과 병용된 항-EGF VacAb:
세포 주기



도면36

H3122에서 브리가티닙과 병용된 항-EGF VacAb:
세포 주기



도면37

BV-NSCLC-002 웨스턴 블롯

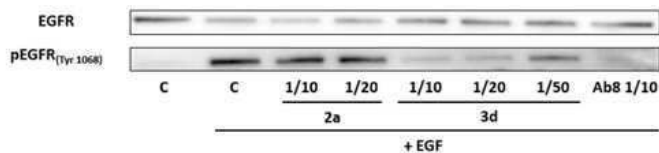
환자 변경	사용된 세포주	세포주 주요 변경
ALK 전위	H2228	EML4-ALK (v3; E6:A20)
KRAS 돌연변이	A549	KRAS 돌연변이 (G12S)
ALK 및 KRAS 야생형	SW900	ALK 및 KRAS 야생형

도면38

SW900 세포주

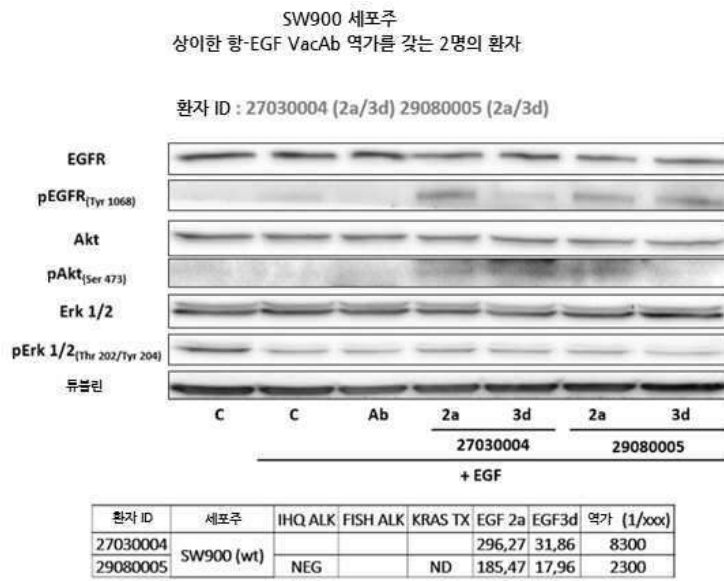
높은 항-EGF VacAb 역가를 갖는 환자의 용량-반응 실험

환자 ID: 22180004-2a / 22180004-3d

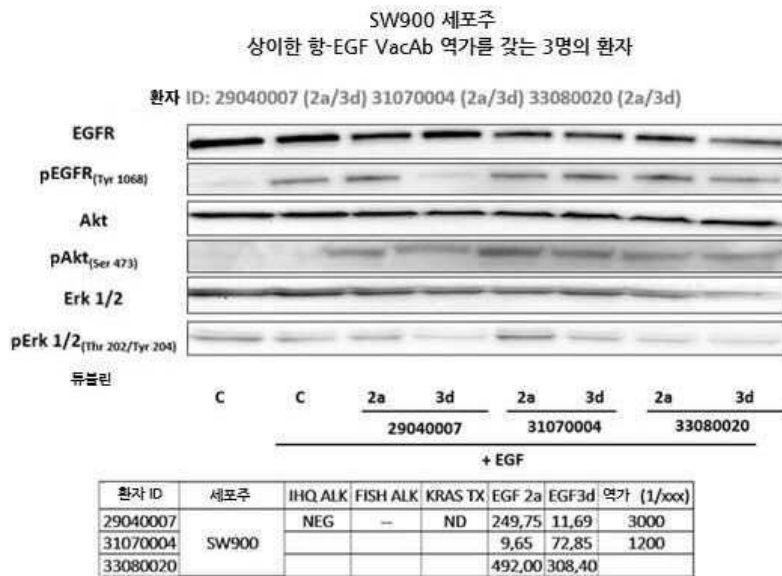


환자 ID	세포주	IHQ ALK	FISH ALK	KRAS TX	EGF 2a	EGF3d	역가 (1/xxx)
22180004	SW900 (wt)	NEG		ND	262,44	9,30	21000

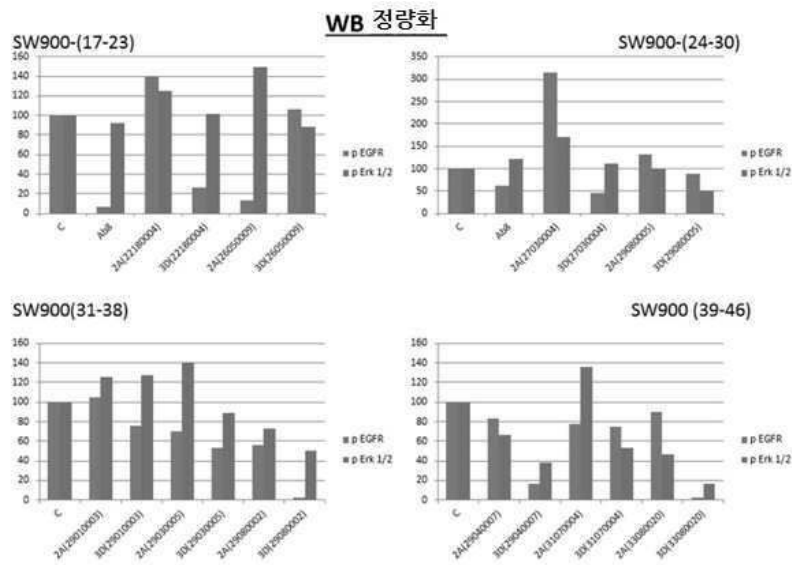
도면39



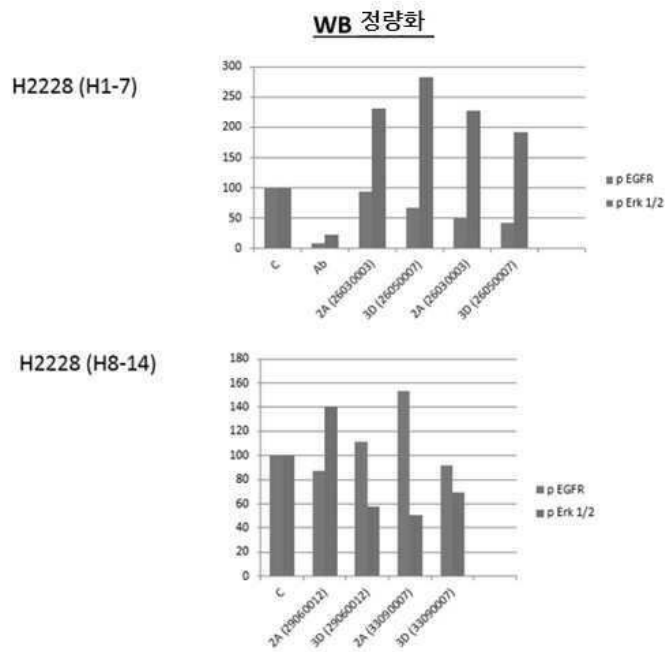
도면40



도면41



도면42



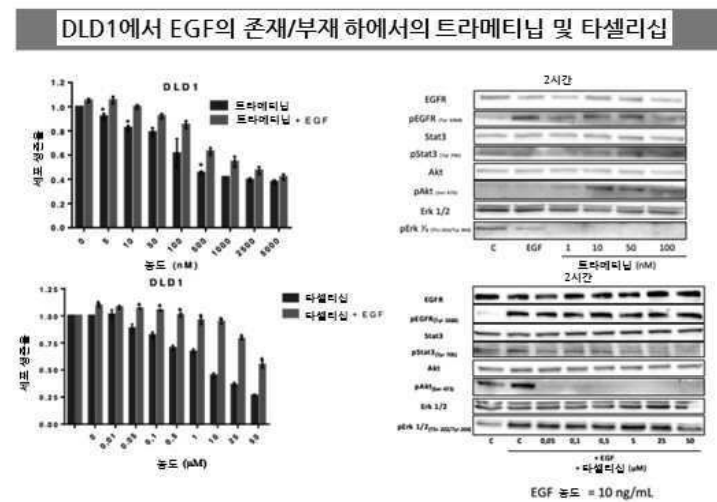
도면43

세포주	조직학	관련 변형	기타 변형
DLD1	결장직장암 ADC	KRAS 돌연변이 (p.G13D)	PIK3CA 돌연변이 (p.E545K)
LS174T	결장직장암 ADC	KRAS 돌연변이 (p.G12C)	----
HT29	결장직장암 ADC	BRAF 돌연변이 (p.V600E)	----
H508	결장직장암 ADC	PIK3CA 돌연변이 (p.E545K)	BRAF 돌연변이 (p.G596R)

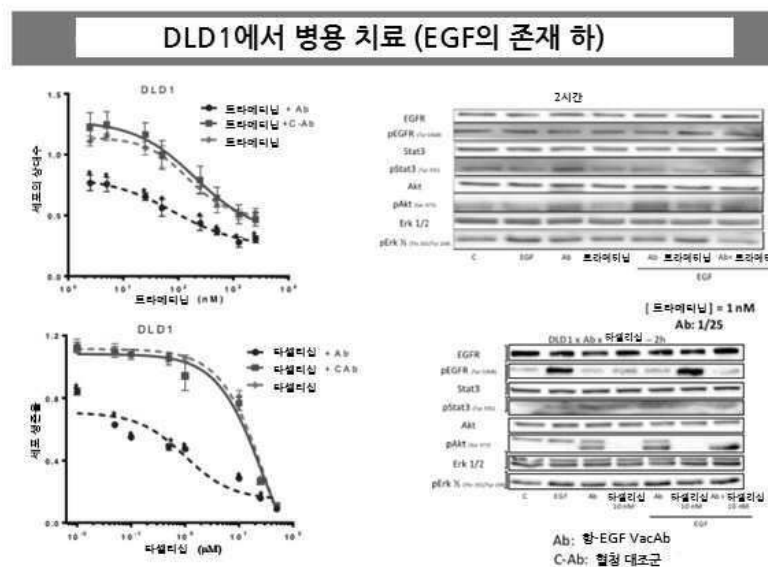
도면44

약물	활성
트라메티닙	MEK1/2 억제제
타셀리십	PI3K 억제제
알펠리십	PI3K 억제제
코판리십	PI3K 억제제
엔코라페닙	BRAF 억제제

도면45

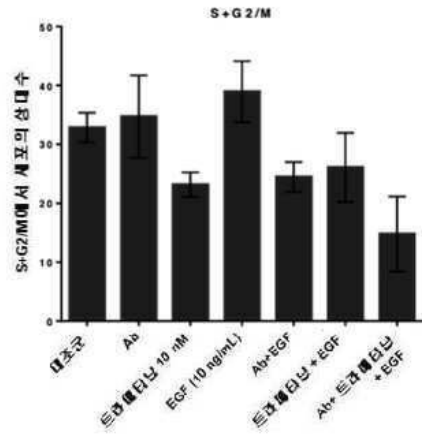


도면46



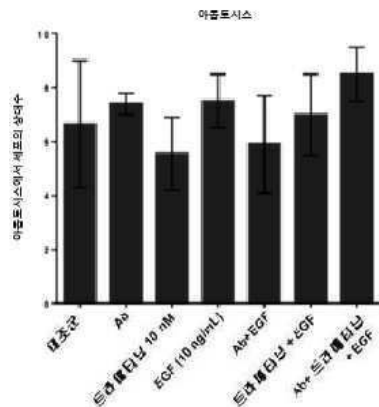
도면47

병용의 세포 주기 효과(DLD1)



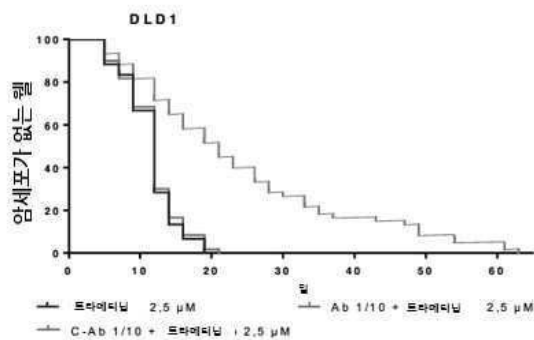
도면48

병용의 아폽토시스 효과(DLD1)

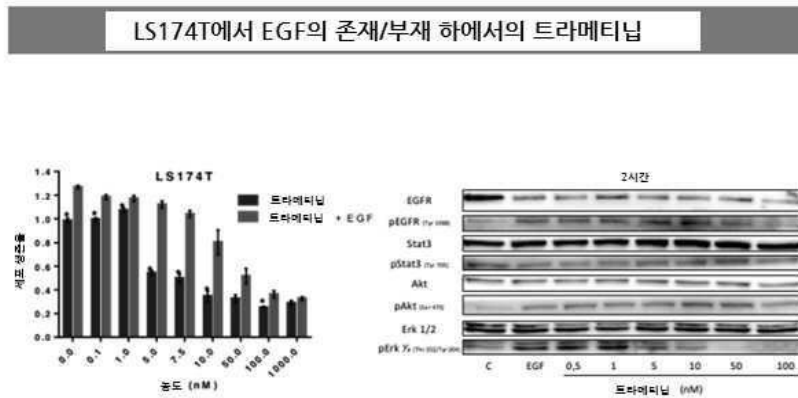


도면49

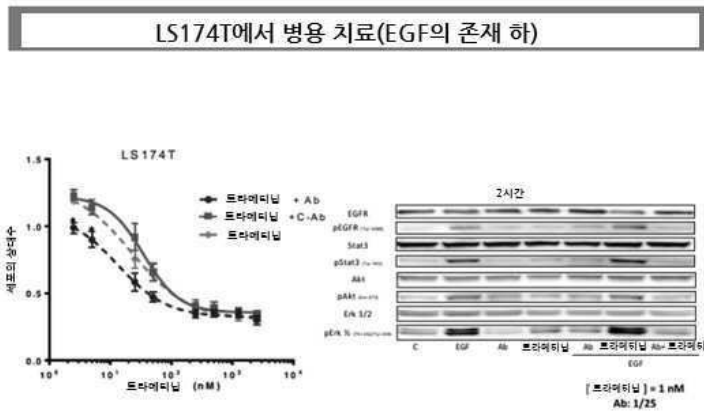
트라메티닙에 대한 내성의 출현(DLD1)



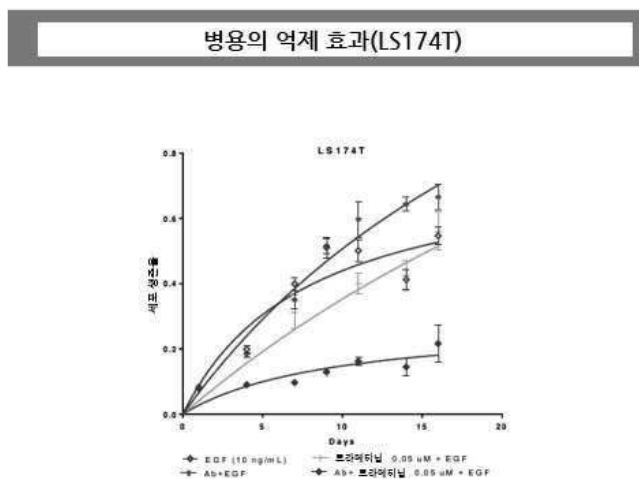
도면50



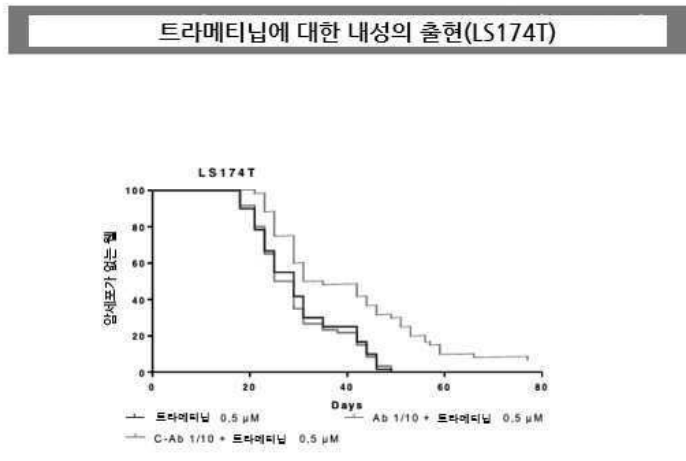
도면51



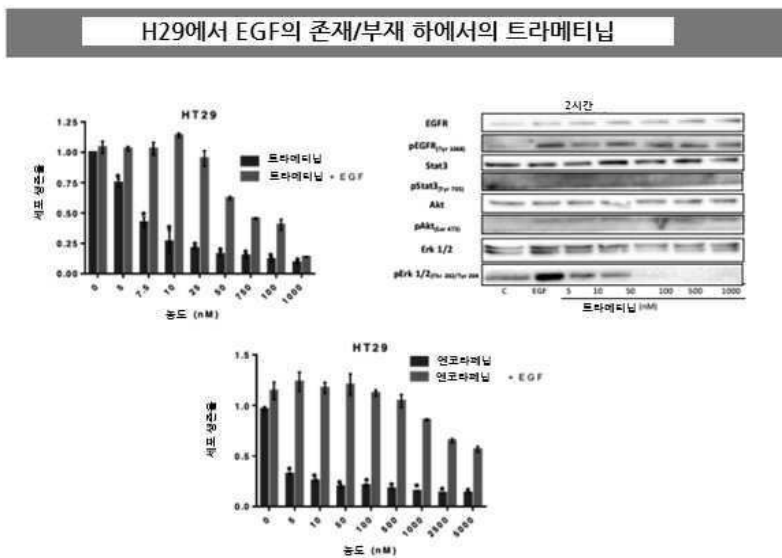
도면52



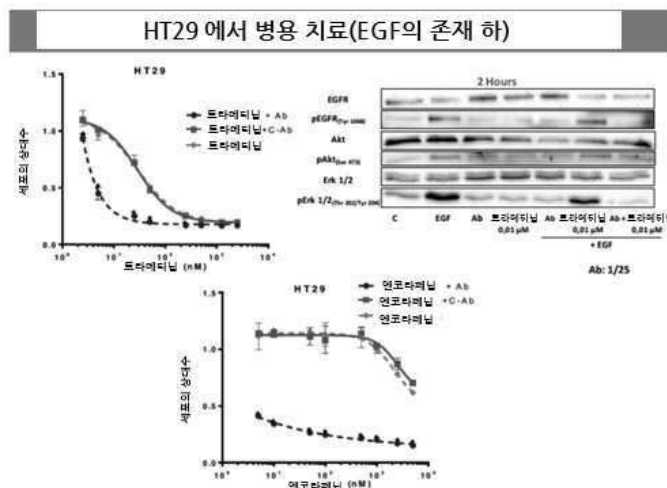
도면53



도면54

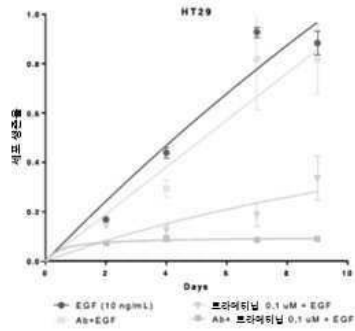


도면55



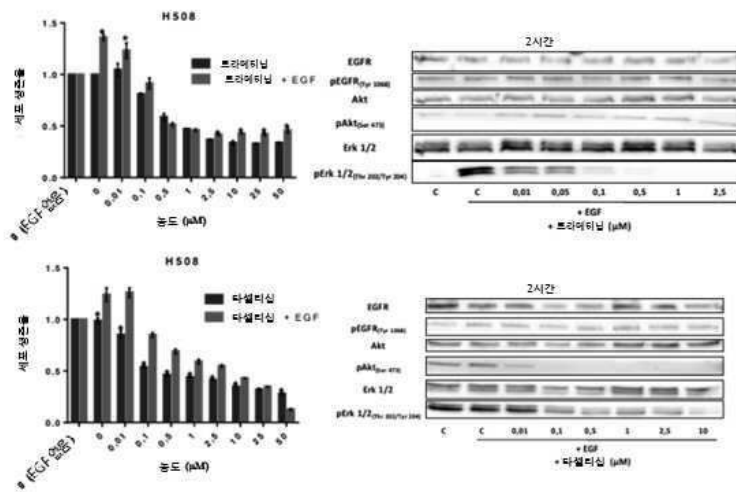
도면56

병용의 억제 효과(HT29)

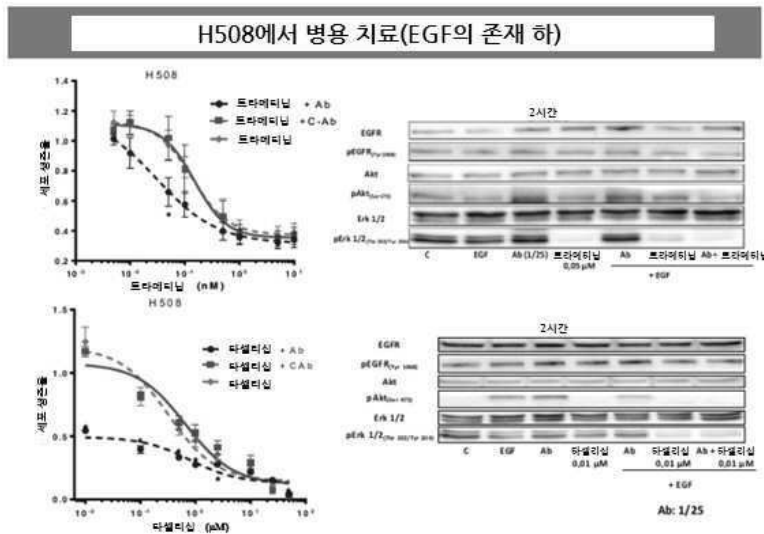


도면57

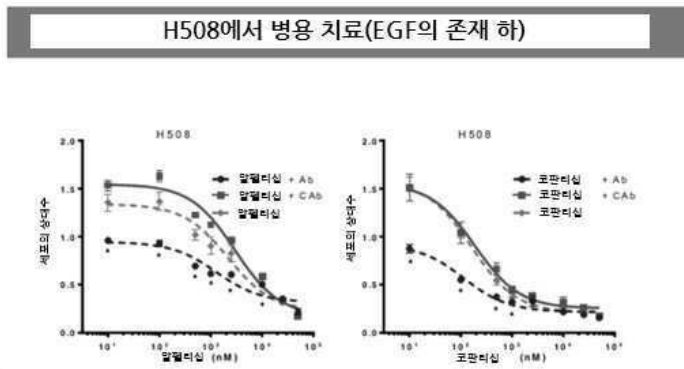
H508에서 EGF의 존재/부재 하에서의 트라메티닙 및 타셀리십



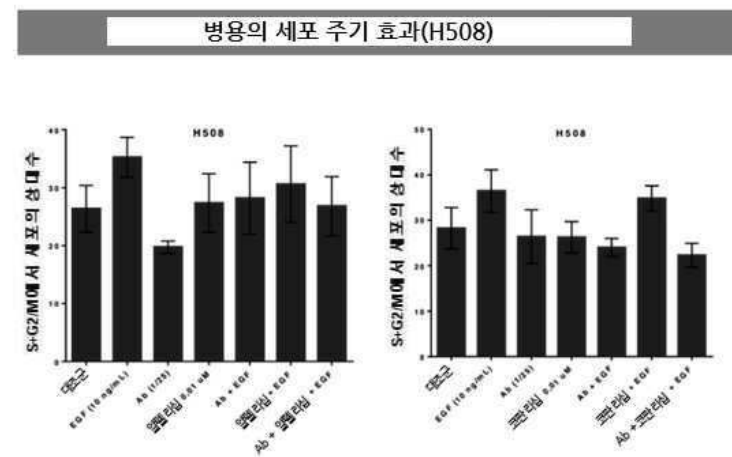
도면58



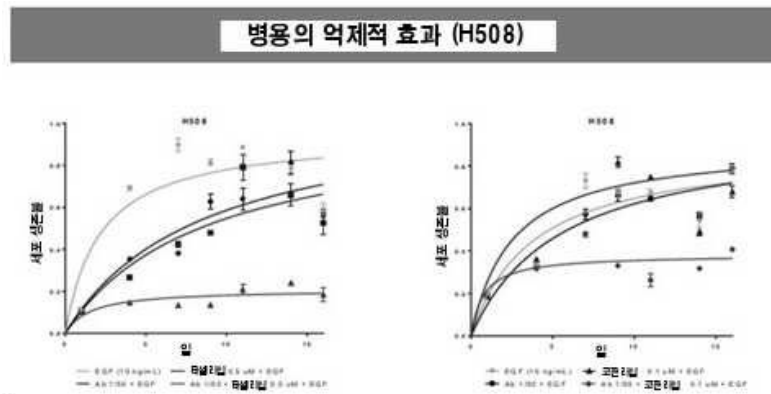
도면59



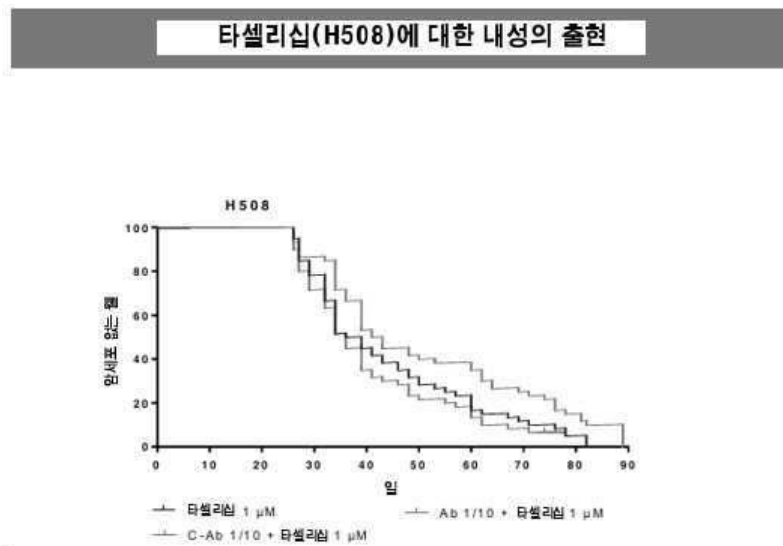
도면60



도면61



도면62

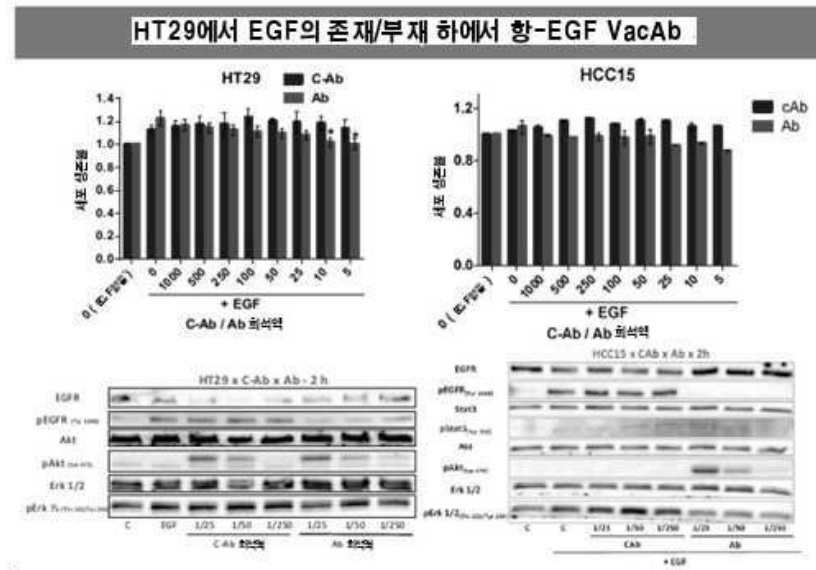


도면63

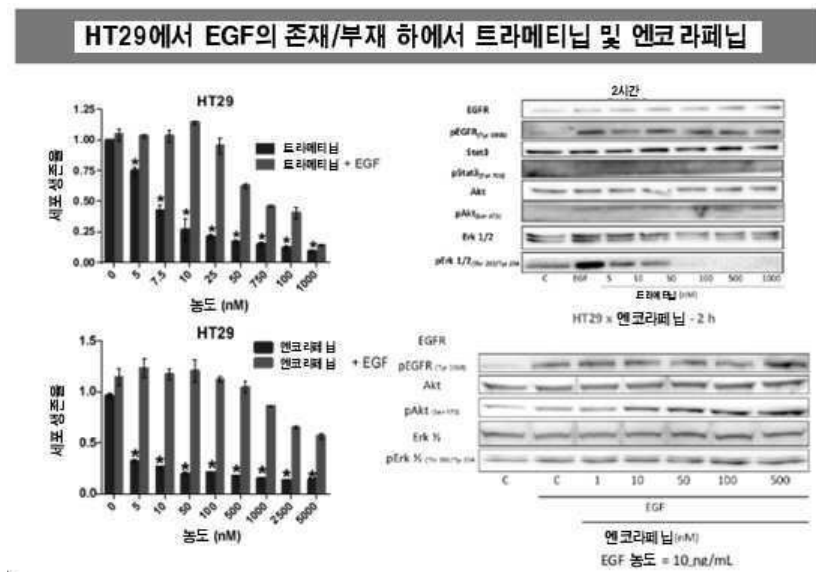
세포주	조직 학	관련 변형
HCC15	NSCLC(편광상피암)	<i>NRAS</i> 돌연변이(p.Q61K)
HT29	결장직장 ADC	<i>BRAF</i> 돌연변이(p.V600E)

약물	활성
트라메티닙	MEK 억제제
엔코라페닙	BRAF 억제제

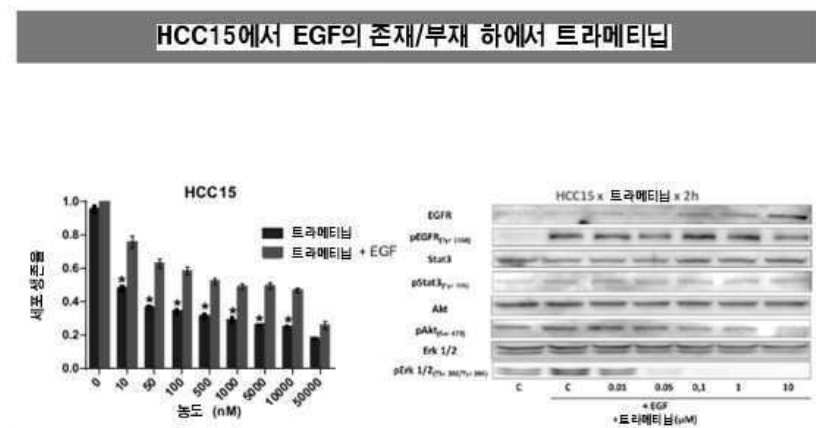
도면64



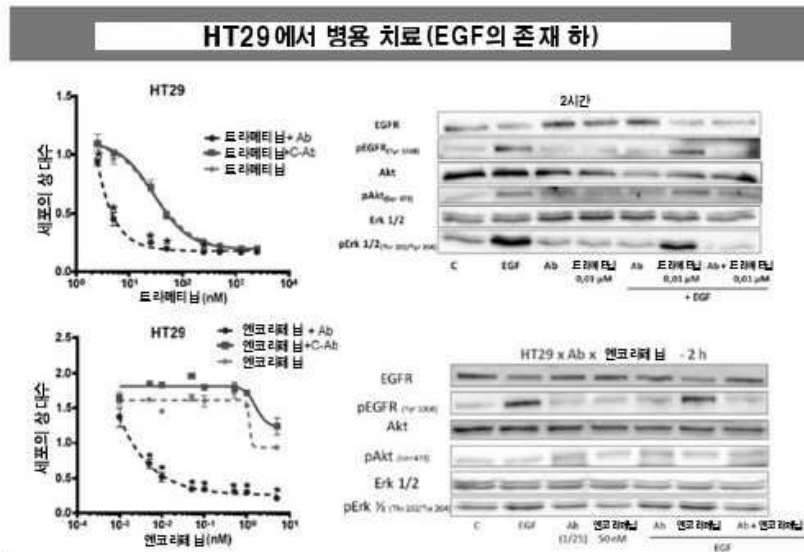
도면65



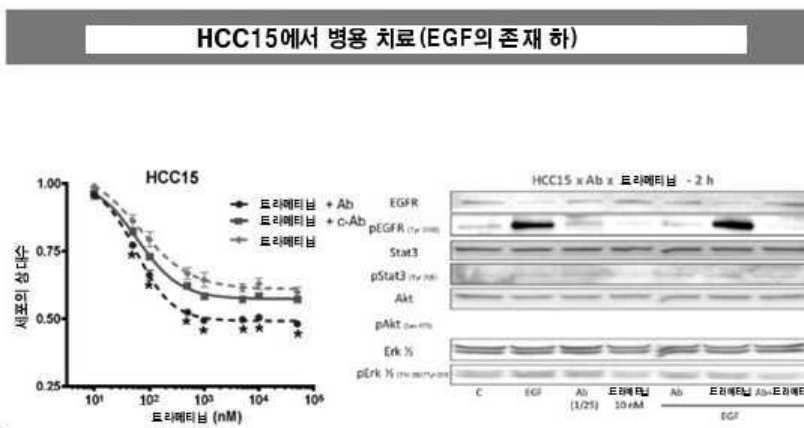
도면66



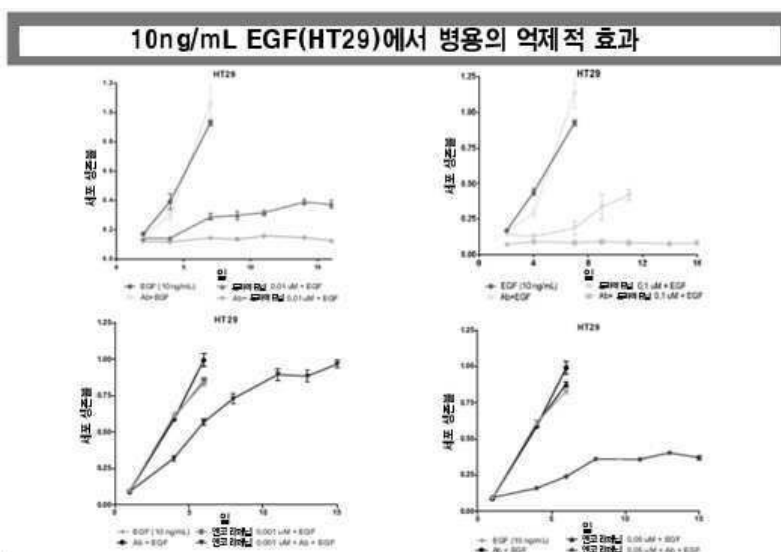
도면67



도면68

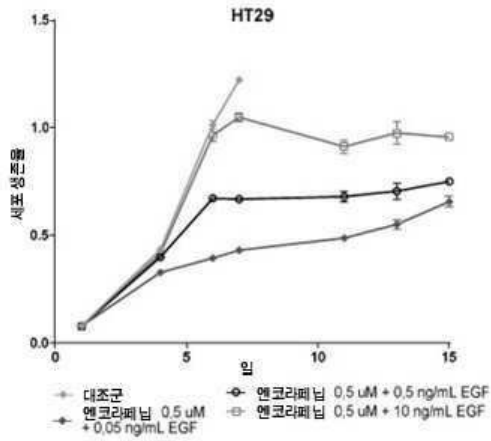


도면69



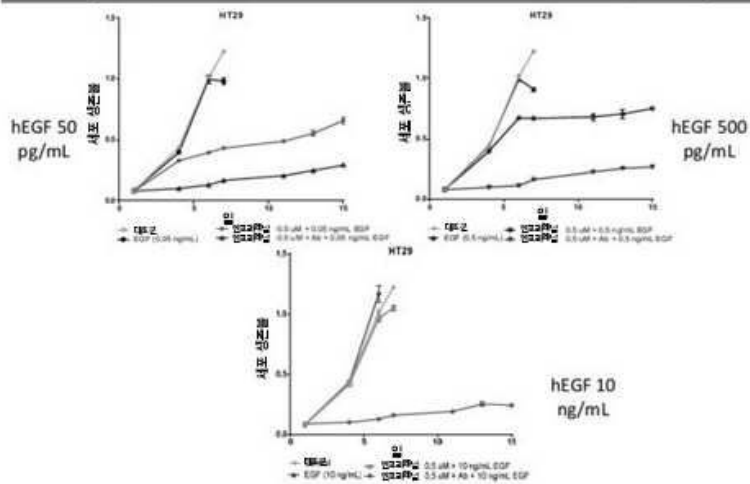
도면70

hEGF(HT29세포에서)의 생리학적 농도의 존재 하에서 병용의 억제적 효과



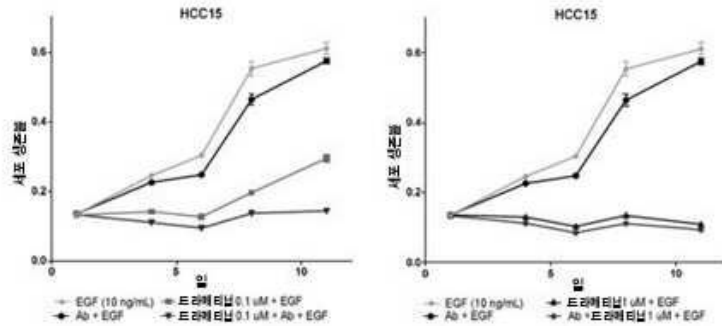
도면71

엔코라페닐+항-EGF VacAb (HT 29) 병용의 장기적 확산 분석



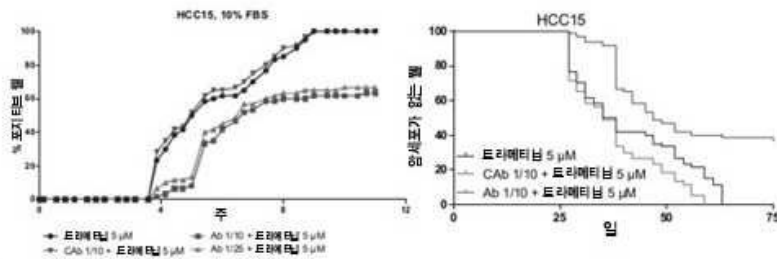
도면72

HCC15 세포에서 트라메티닙+항-EGF VacAb 병용의 억제적 효과



도면73

트라메티닙에 대한 생체외 내성의 출현

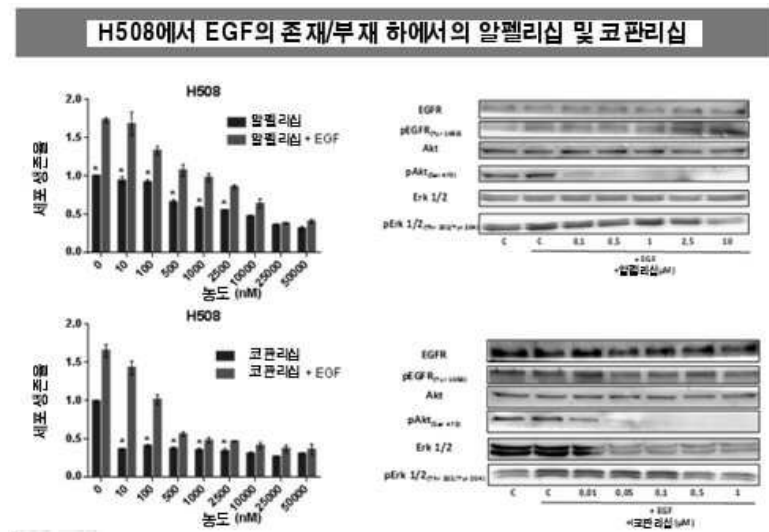


도면74

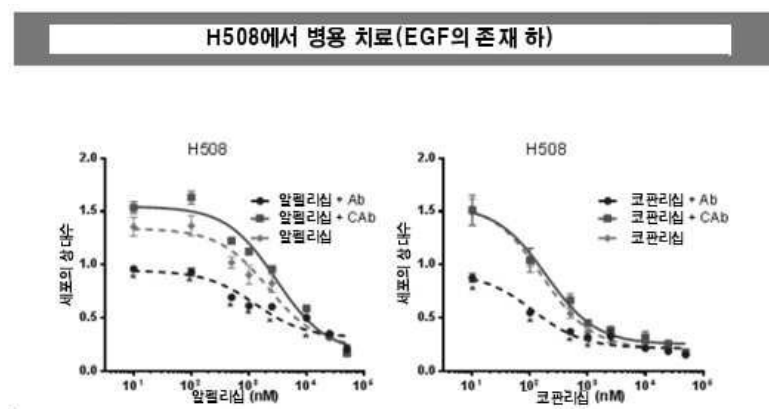
세포주	조직학	관련 변경	기타 변경
H508	결장직장 ADC	PIK3CA 돌연변이(p.E545K)	BRAF 돌연변이(p.G596R)

약물	활성
알렐리십	PI3KCA 억제제
코판리십	PI3KCA 억제제

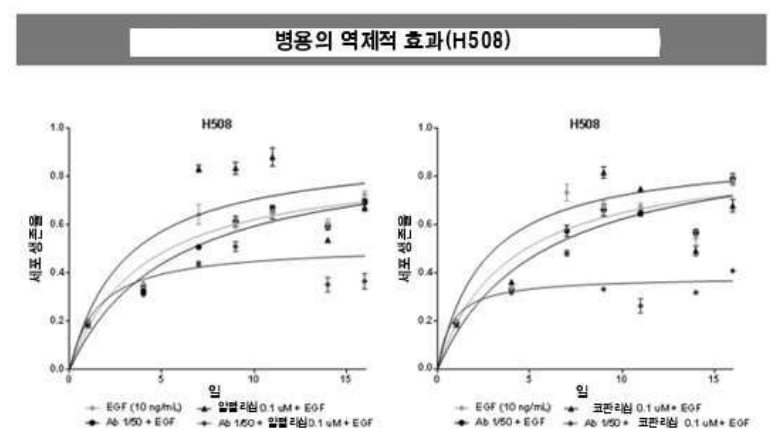
도면75



도면76



도면77



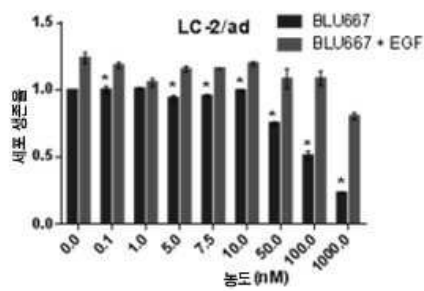
도면78

세포주	조직학	관련 변형
LC-2/ad	폐 ADC	RET 전위(CCDC6-RET)

약물	활성
BLU667	RET 억제제

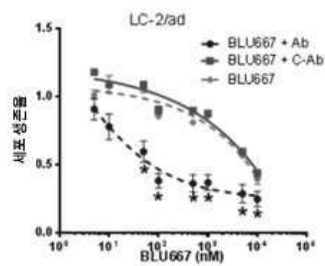
도면79

LC-2/ad에서 EGF의 존재/부재 하에서의 BLU667

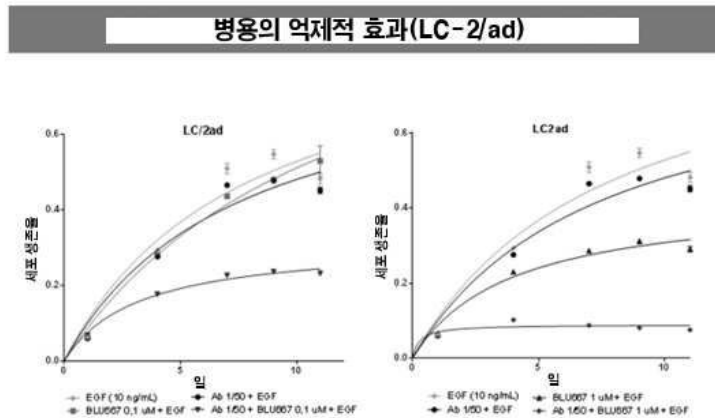


도면80

LC-2/ad에서 병용 치료 (EGF의 존재 하)



도면81

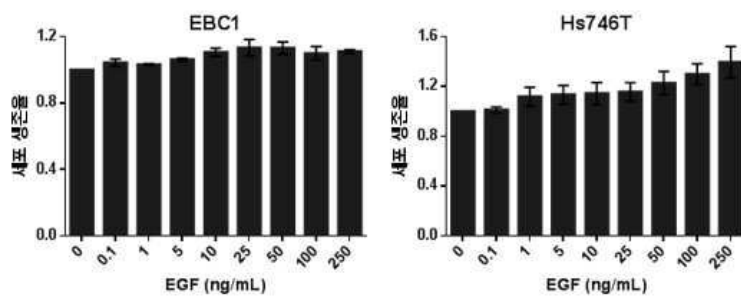


도면82

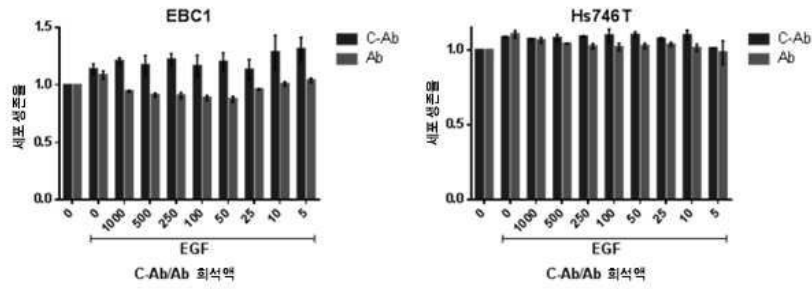
세포주	조직화	관련 변경
EBC-1	편평 세포 폐암	<i>MET</i> 증폭
Hs746T	위선암	<i>MET</i> 증폭 <i>MET</i> 엑손 14 결실

약물	활성
케마티닙	<i>MET</i> 억제제
테포티닙	<i>MET</i> 억제제

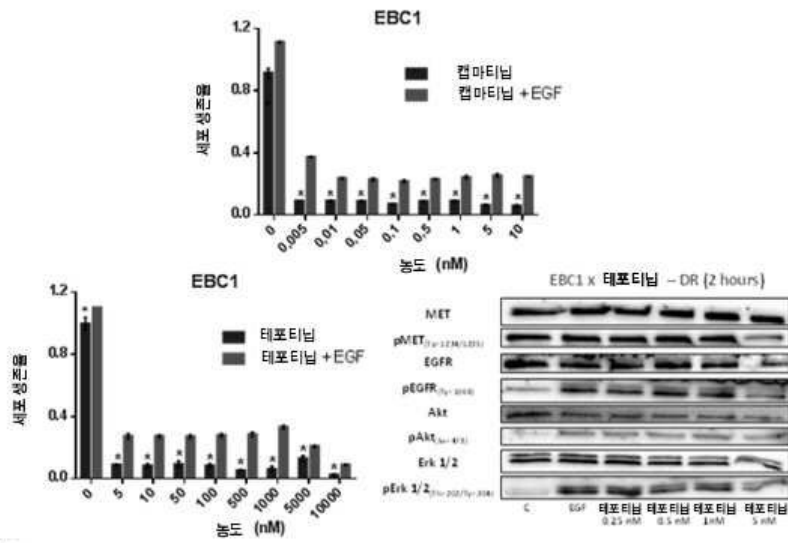
도면83



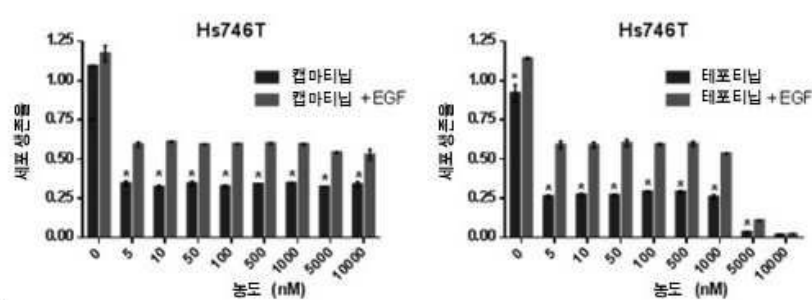
도면84



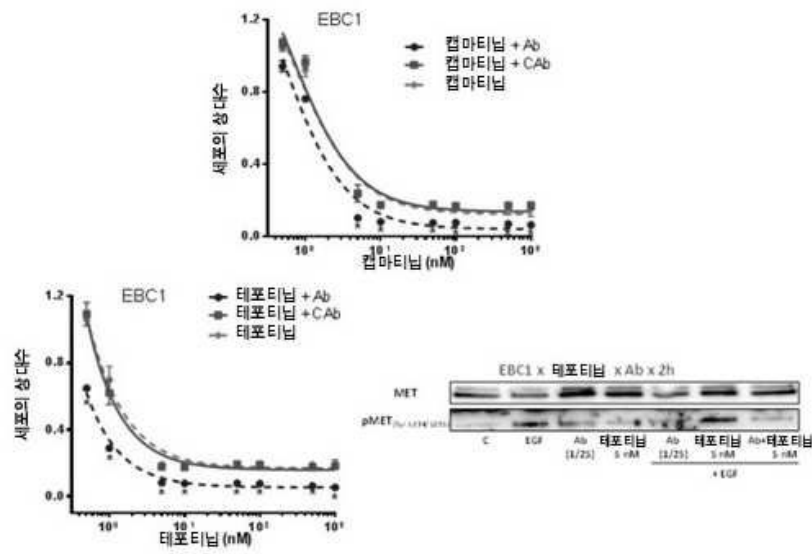
도면85



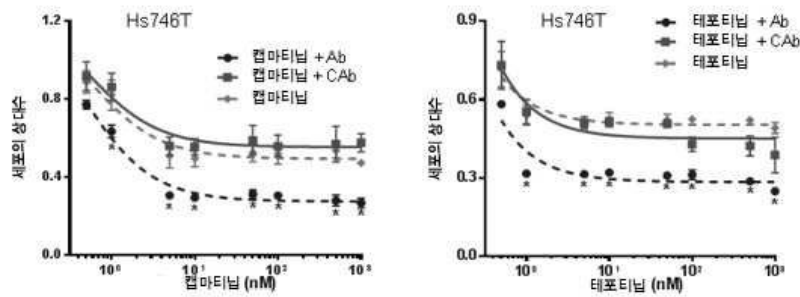
도면86



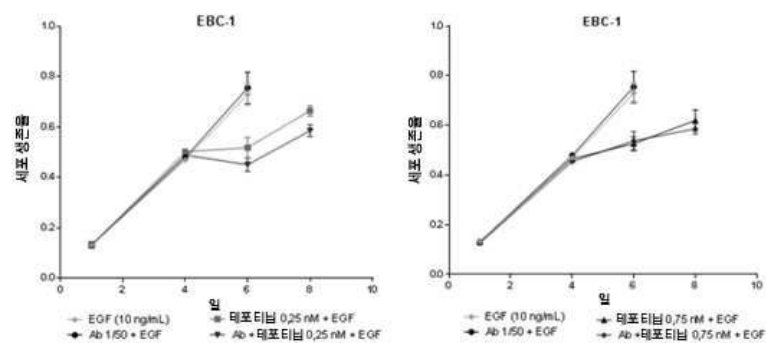
도면87



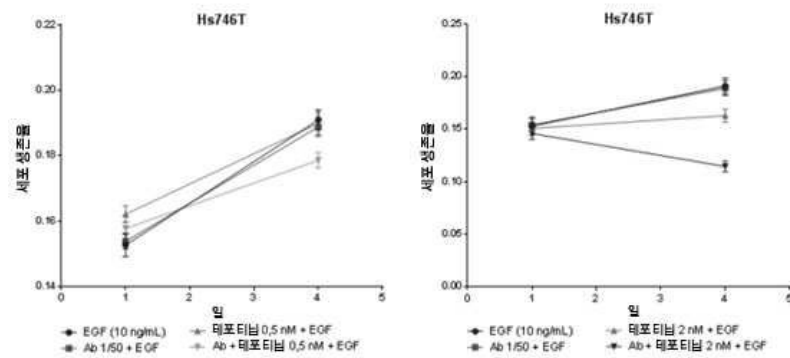
도면88



도면89



도면90



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> IN3BIO LTD.
- <120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR USE OF GROWTH FACTOR ANTIBODIES IN
- <130> 48199-107PCT
- <140> PCT/IB2020/000969
- <141> 2020-11-06
- <150> 63/094,018
- <151> 2020-10-20
- <150> 62/932,131
- <151> 2019-11-07
- <160> 25
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 681
- <212> DNA
- <213> Artificial
- <220><223> Synthetic
- <400> 1

```

aataccgaaa acgattgcc tctgtctcat gaagcgatt gctgcacga cggcgtgtgt      60
atgtacattg aagccctgga caaatatgca tgtaactgtg tcgtgggcta cgtgggggag      120

cgatgtcagt ttcgagacct gcgttggtgg gatgcgcgcg gctcgagcgg taataccgaa      180
aacgattgcc ctctgtctca tgaagcgat tgctgtcacg acggcgtgtg tatgtacatt      240
gaagccctgg acaaatatgc atgtaactgt gtcgtgggct acgtggggga gcgatgtcag      300
    
```

tttcgagacc tgcgttggtg ggatgcgcgc gccgggtctg gaggtactag tggcggcggg 360
 ggagggtcgg gtaccccgca gaacatcacc gacctgtgcg ccgagtacca caacaccag 420
 atccacaccc tgaacgacaa gatcttctcg tacaccgaga gcctggccga taagcgtgaa 480
 atggccatca tcaccttcaa gaacggtgcg accttccagg tggaggtccc gggtagccag 540

cacatcgatt cacagaagaa ggccatcgag cgtatgaagg acaccctgcg tatcgctac 600
 ctgaccgaag ccaaggtgga aaagctgtgc gtctggaaca acaagacgcc gcacgccatc 660
 gccgcatca gcatggccaa t 681

<210> 2

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 2

Asn Thr Glu Asn Asp Cys Pro Leu Ser His Glu Ala Tyr Cys Leu His

1 5 10 15

Asp Gly Val Cys Met Tyr Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn

20 25 30

Cys Val Val Gly Tyr Val Gly Glu Arg Cys Gln Phe Arg Asp Leu Arg

35 40 45

Trp Trp Asp Ala Arg Gly Ser Ser Gly Asn Thr Glu Asn Asp Cys Pro

50 55 60

Leu Ser His Glu Ala Tyr Cys Leu His Asp Gly Val Cys Met Tyr Ile

65 70 75 80

Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn Cys Val Val Gly Tyr Val Gly

85 90 95

Glu Arg Cys Gln Phe Arg Asp Leu Arg Trp Trp Asp Ala Arg Gly Gly

100 105 110

Ser Gly Gly Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Thr Pro Gln Asn

115 120 125

Ile Thr Asp Leu Cys Ala Glu Tyr His Asn Thr Gln Ile His Thr Leu

130 135 140

Asn Asp Lys Ile Phe Ser Tyr Thr Glu Ser Leu Ala Asp Lys Arg Glu

145 150 155 160

Met Ala Ile Ile Thr Phe Lys Asn Gly Ala Thr Phe Gln Val Glu Val

165 170 175

Pro Gly Ser Gln His Ile Asp Ser Gln Lys Lys Ala Ile Glu Arg Met

180 185 190

Lys Asp Thr Leu Arg Ile Ala Tyr Leu Thr Glu Ala Lys Val Glu Lys

195 200 205

Leu Cys Val Trp Asn Asn Lys Thr Pro His Ala Ile Ala Ala Ile Ser

210 215 220

Met Ala Asn

225

<210> 3

<211> 6369

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 3

gtccgggcag cccccggcgc agcgcggccg cagcagcctc cgccccccgc acggtgtgag 60

cgccccgacgc ggccgaggcg gccggagtcc cgagctagcc ccggcggccg ccgccgccca 120

gaccggacga caggccacct cgtcggcgctc cgccccagtc cccgcctcgc cgccaacgcc 180

acaaccaccg cgcacggccc cctgactccg tccagtattg atcgggagag ccggagcgag 240

ctcttcgggg agcagcgatg cgaccctccg ggacggccgg ggcagcgctc ctggcgctgc 300

tggctgcgct ctgcccggcg agtcgggctc tggaggaaaa gaaagtttgc caaggcacga 360

gtaacaagct cagcagttg ggcacttttg aagatcattt tctcagcctc cagaggatgt 420

tcaataactg tgagggtggtc cttgggaatt tggaaattac ctatgtgcag aggaattatg 480

atctttcctt cttaaagacc atccaggagg tggttggtta tgtcctcatt gccctcaaca 540

cagtggagcg aattcctttg gaaaacctgc agatcatcag aggaaatatg tactacgaaa 600

attcctatgc cttagcagtc ttatctaact atgatgcaaa taaaaccgga ctgaaggagc 660

tgcccatgag aaattttacg gaaatcctgc atggcgccgt gcggttcagc aacaaccctg 720

ccctgtgcaa cgtggagagc atccagtggc gggacatagt cagcagtgac tttctcagca 780

acatgtcgat ggacttccag aaccacctgg gcagctgcc aagtgatg ccaagctgtc 840
 ccaatgggag ctgctggggg gcaggagagg agaactgcc gaaactgacc aaaatcatct 900
 gtgccagca gtgctccggg cgctgccgtg gcaagtcccc cagtactgc tgccacaacc 960
 agtgtgtgc aggtgcaca gggccccggg agagcgactg cctggctgc cgcaaattcc 1020
 gagacgaagc cactgcaag gacacctgcc cccactcat gctctaac cccaccagt 1080
 accagatgga tgtgaacccc gagggcaaat acagctttgg tgccacctgc gtgaagaagt 1140

 gtccccgtaa ttatgtggtg acagatcacg gctcgtcgt cagagcctgt ggggccgaca 1200
 gctatgagat ggaggaagac ggctccgca agtgtaagaa gtgcgaagg cttgccgca 1260
 aagtgtgtaa cggaataggt attggtgaat ttaaagactc actctccata aatgctacga 1320
 atattaaaca ctcaaaaac tgcacctcca tcagtggcga tctccacatc ctgccgtgg 1380
 catttagggg tgactcttc acacatactc ctctctgga tccacaggaa ctggatattc 1440
 tgaaaaccgt aaaggaaatc acagggtttt tgctgattca ggcttggcct gaaaacagga 1500
 cggacctcca tgcctttgag aacctagaaa tcatacgcg caggaccaag caacatggtc 1560

 agttttctct tgcagctgc agcctgaaca taacatcctt gggattacgc tccctcaagg 1620
 agataagtga tggagatgtg ataatttcag gaaacaaaaa tttgtgctat gcaaatacaa 1680
 taaactggaa aaaactgttt gggacctccg gtcagaaaaa caaaattata agcaacagag 1740
 gtgaaaacag ctgcaaggcc acaggccagg tctgcatgc cttgtgctcc cccgagggt 1800
 gctggggccc ggagcccagg gactgcgtct cttgccgga tgtcagccga ggcagggaat 1860
 gcgtggacaa gtgcaacctt ctggagggtg agccaaggga gtttgggag aactctgagt 1920
 gcatacagtg cccccagag tgcctgcctc aggccatgaa catcacctgc acaggacggg 1980

 gaccagacaa ctgtatccag tgtgccact acattgacgg cccactgc gtcaagacct 2040
 gcccgccagg agtcatggga gaaaacaaca cctgggtctg gaagtacga gacgccggcc 2100
 atgtgtgcca cctgtgcat ccaactgca cctacgatg cactgggcca ggtcttgaag 2160
 gctgtccaac gaatgggctt aagatcccgt ccacgccac tgggatgtg ggggccctcc 2220
 tcttctgct ggtggtggcc ctggggatcg gcctcttcat gcgaaggcgc cacatcgttc 2280
 ggaagcgac gctgcggagg ctgctgcagg agaggagct tgtggagcct ctacacca 2340
 gtggagaagc tccaaccaa gctctcttga ggatcttgaa ggaaactgaa ttcaaaaaga 2400

 tcaaagtgtt gggctccggt gcgttcggca cgggtgataa gggactctgg atcccagaag 2460
 gtgagaaagt taaaattccc gtcgtatca aggaattaag agaagcaaca tctccgaaag 2520
 ccaacaagga aatcctgat gaagcctacg tgatggccag cgtggacaac cccacgtgt 2580
 gccgcctgct gggcatctgc ctcacctcca ccgtgcagct catcacgcag ctcatgccct 2640

tcggctgcct cctggactat gtccgggaac acaaagacaa tattggctcc cagtacctgc	2700
tcaactgggtg tgtgcagatc gcaaagggca tgaactactt ggaggaccgt cgcttggtgc	2760
accgcgacct ggcagccagg aacgtactgg tgaacacacc gcagcatgtc aagatcacag	2820
atTTTgggct ggccaaactg ctgggtgcgg aagagaaaga ataccatgca gaaggaggca	2880
aagtgcctat caagtggatg gcattggaat caattttaca cagaatctat acccaccaga	2940
gtgatgtctg gagctacggg gtgactgttt gggagttagt gacctttgga tccaagccat	3000
atgacggaat ccctgccagc gagatctcct ccctcctgga gaaaggagaa cgcctccctc	3060
agccacccat atgtaccatc gatgtctaca tgatcatggt caagtgtctg atgatatagc	3120
cagatagtgc cccaaagtgc cgtgagttga tcatcgaatt ctccaaaatg gcccagagacc	3180
cccagcgcta ccttgtcatt caggggggatg aaagaatgca tttgccaagt cctacagact	3240
ccaacttcta ccgtgccctg atggatgaag aagacatgga cgacgtgggt gatgccgacg	3300
agtacctcat cccacagcag ggcttcttca gcagccctc cagtcacgg actccctcc	3360
tgagctctct gagtgaacc agcaacaatt ccaccgtggc ttgcattgat agaaatgggc	3420
tgcaaagctg tcccatcaag gaagacagct tcttgacggt atacagctca gacccacag	3480
gcgccttgac tgaggacagc atagacgaca ccttctctcc agtgcctgaa tacataaacc	3540
agtcggttcc caaaaggccc gctggctctg tgcagaatcc tgtctatcac aatcagcctc	3600
tgaacccgcg gccacagcag gacccacact accaggaccc ccacagcact gcagtgggca	3660
accccgagta tctcaacact gtccagccca cctgtgtcaa cagcacattc gacagccctg	3720
cccactgggc ccagaaaggc agccacaaa ttagcctgga caaccctgac taccagcagg	3780
acttctttcc caaggaagcc aagccaaatg gcatctttaa gggctccaca gctgaaaatg	3840
cagaatacct aagggtcgcg ccacaaagca gtgaatttat tggagcatga ccacggagga	3900
tagtatgagc cctaaaaatc cagactcttt cgataccag gaccaagcca cagcaggtec	3960
tccatcccaa cagccatgcc cgcattagct cttagacca cagactgggt ttgcaacgtt	4020
tacaccgact agccaggaag tacttccacc tcgggcacat tttgggaagt tgcattcctt	4080
tgtcttcaaa ctgtgaagca ttacagaaa cgcattccagc aagaatattg tccctttgag	4140
cagaaattta tctttcaaag aggtatattt gaaaaaaaa aaaagtatat gtgaggattt	4200
ttattgattg gggatcttgg agtttttcat tgcgtctatt gatttttact tcaatgggct	4260
cttccaacaa ggaagaagct tgctggtagc acttgctacc ctgagttcat ccaggcccaa	4320
ctgtgagcaa ggagcacaag ccacaagtct tccagaggat gcttgattcc agtggttctg	4380
cttcaaggct tccactgcaa aacactaaag atccaagaag gccttcatgg ccccagcagg	4440

ccgcatcggg actgtatcaa gtcattggcag gtacagtagg ataagccact ctgtcccttc	4500
ctgggcaaag aagaaacgga ggggatggaa ttcttcctta gacttacttt tgtaaaaatg	4560
tccccacggg acttactccc cactgatgga ccagtgggtt ccagtcatga gcgttagact	4620
gacttgtttg tcttccattc cattgttttg aaactcagta tgctgccctt gtcttgctgt	4680
catgaaatca gcaagagagg atgacacatc aaataataac tcggattcca gcccacattg	4740
gattcatcag catttggacc aatagccccc agctgagaat gtggaatacc taaggatagc	4800
accgcttttg ttctcgaaa aacgtatctc ctaatttgag gctcagatga aatgcatcag	4860
gtcctttggg gcatagatca gaagactaca aaaatgaagc tgctctgaaa tctcctttag	4920
ccatcacccc aaccccccaa aattagtttg tgttacttat ggaagatagt ttctcctttt	4980
tacttcactt caaaagcttt ttactcaaag agtatatgtt ccctccaggt cagctgcccc	5040
caaacccctt ccttacgctt tgtcacacaa aaagtgtctc tgccctgagt catctattca	5100
agcacttaca gctctggcca caacagggca ttttacaggt gcgaatgaca gtagcattat	5160
gagtagtgtg gaattcaggt agtaaatatg aaactagggt ttgaaattga taatgctttc	5220
acaacatttg cagatgtttt agaaggaaaa aagtcccttc ctaaaataat ttctctacaa	5280
ttggaagatt ggaagattca gctagttagg agcccacctt ttttcctaat ctgtgtgtgc	5340
cctgtaacct gactggttaa cagcagtcct ttgtaaacag tgttttaaac tctcctagtc	5400
aatatccacc ccatccaatt tatcaaggaa gaaatggttc agaaaatatt ttcagcctac	5460
agttatgttc agtcacacac acatacaaaa tgttcctttt gcttttaag taatttttga	5520
ctcccagatc agtcagagcc cctacagcat tgttaagaaa gtatttgatt ttgtctcaa	5580
tgaaaataaa actatattca ttccactct attatgctct caaatacccc taagcatcta	5640
tactagcctg gtatgggtat gaaagataca aagataaata aaacatagtc cctgattcta	5700
agaaattcac aatttagcaa aggaaatgga ctcatagatg ctaaccttaa aacaacgtga	5760
caaatgccag acaggaccca tcagccaggc actgtgagag cacagagcag ggaggttggg	5820
tcctgcctga ggagacctgg aaggagggcc tcacaggagg atgaccaggt ctcagtcagc	5880
ggggaggtgg aaagtgcagg tgcatcaggg gcaccctgac cgaggaaaca gctgccagag	5940
gcctccactg ctaaagtcca cataaggctg aggtcagtc cctaatacaa cctgctccct	6000
ctaagccagg ggaatgagctt ggagcatccc acaagtcccc taaaagttgc agccccagg	6060
gggattttga gctatcatct ctgcacatgc ttagtgagaa gactacacaa cttttctaag	6120
aatctgagat ttatatattg cagttaacca ctttcattat tcattcacct caggacatgc	6180

agaaatattt cagtcagaac tgggaacag aaggacctac attctgctgt cacttatgtg 6240
tcaagaagca gatgatcgat gaggcaggtc agttgtaagt gattcacatt gtagcattaa 6300
attctagtat tttttagtgg tgaacagta acttaataaa agagcaaaaag ctaaaaaaaaa 6360
aaaaaaaaa 6369

<210> 4

<211> 1210

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 4

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln

420 425 430
 His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445
 Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460

 Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 500 505 510
 Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
 515 520 525

 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590

 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
 625 630 635 640
 Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
 645 650 655

 Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
 660 665 670

Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
675 680 685

Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
705 710 715 720

Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
725 730 735

Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
755 760 765

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
805 810 815

Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
820 825 830

Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
850 855 860

Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
865 870 875 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
885 890 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser
900 905 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu

915	920	925	
Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr			
930	935	940	
Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys			
945	950	955	960
Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln			
965	970	975	
Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro			
980	985	990	
Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp			
995	1000	1005	
Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe			
1010	1015	1020	
Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu			
1025	1030	1035	
Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn			
1040	1045	1050	
Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg			
1055	1060	1065	
Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp			
1070	1075	1080	
Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro			
1085	1090	1095	
Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln			
1100	1105	1110	
Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro			
1115	1120	1125	
His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln			
1130	1135	1140	
Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala			
1145	1150	1155	

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln

1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys

1175 1180 1185

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

1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala

1205 1210

<210> 5

<211> 5700

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 5

aaaaagagaa acgtttggga gaggaatcgt atctccatat ttcttctttc agccccaatc	60
caagggttgt agctggaact ttccatcagt tcttctttc ttttctctct ctaagccttt	120
gccttgctct gtcacagtga agtcagccag agcagggtcg ttaaactctg tgaaatttgt	180
cataagggtg tcaggtatct cttactggct tccaaagaaa catagataaa gaaatctttc	240
ctgtggcttc cttggcagg ctgcattcag aaggtctctc agttgaagaa agagcttgga	300
ggacaacagc acaacaggag agtaaaagat gccccagggc tgaggcctcc gctcaggcag	360
ccgcactctgg ggtcaatcat actcaccttg cccgggccat gctccagcaa aatcaagctg	420
tttcttttg aaagttcaaa ctcatcaaga ttatgctgct cactcttate attctgttgc	480
cagtagtttc aaaatttagt ttgttagtc tctcagcacc gcagcactgg agctgtcctg	540
aaggtactct cgcaggaat gggaattcta ctgtgtggg tctgcaccc ttcttaattt	600
tctccatgg aaatagtatc tttaggattg acacagaagg aaccaattat gagcaattgg	660
tgggtgatgc tgggtgtctca gtgatcatgg attttcatta taatgagaaa agaacttatt	720
gggtggattt agaaagacaa cttttgcaa gagtttttct gaatgggtca aggcaagaga	780
gagtatgtaa tatagagaaa aatgtttctg gaatggcaat aaattggata aatgaagaag	840
ttatttggtc aaatcaacag gaaggaatca ttacagtaac agatatgaaa ggaaataatt	900
cccacattct ttaagtgtc ttaaaatc ctgcaaatgt agcagttgat ccagtagaaa	960
ggtttatatt ttgtcttca gaggtggctg gaagccttta tagagcagat ctcgatggtg	1020
tgggagttaa ggctctgtg gagacatcag agaaaataac agctgtgtca ttggatgtgc	1080

ttgataagcg gctgttttgg attcagtaca acagagaagg aagcaattct cttatttgc	1140
cctgtgatta tgatggaggt tctgtccaca ttagtaacac tccaacacag cataatttgt	1200
ttgcaatgtc ctttttgggt gaccgtatct tctattcaac atggaaaatg aagacaattt	1260
ggatagccaa caaacacact ggaaaggaca tggttagaat taacctccat tcatcatttg	1320
taccacttgg tgaactgaaa gtagtgcac cacttgcaca acccaaggca gaagatgaca	1380
cttgggagcc tgagcagaaa ctttgcaaat tgaggaaagg aaactgcagc agcactgtgt	1440
gtgggcaaga cctccagtca cacttgtgca tgtgtgcaga gggatacgcc ctaagtcgag	1500
accggaagta ctgtgaagat gttaatgaat gtgctttttg gaatcatggc tgtactcttg	1560
gggtgtaaaaa cacccttga tcctattact gcacgtgccc tgtaggattt gttctgcttc	1620
ctgatgggaa acgatgtcat caactgtttt cctgtccacg caatgtgtct gaatgcagcc	1680
atgactgtgt tctgacatca gaagtcctt tatgtttctg tctgaaggc tcagtcttgg	1740
agagagatgg gaaaacatgt agcggttgtt cctcacccga taatggtgga ttagccagc	1800
tctgcgttcc tcttagccca gtatcctggg aatgtgattg ctttcctggg tatgacctac	1860
aactggatga aaaaagctgt gcagcttcag gaccacaacc atttttgctg ttgccaatt	1920
ctcaagatat tcgacacatg cattttgatg gaacagacta tggaactctg ctcagccagc	1980
agatgggaat ggtttatgcc ctagatcatg accctgtgga aaataagata tactttgccc	2040
atacagccct gaagtggata gagagagcta atatggatgg ttccagcga gaaaggctta	2100
ttgaggaagg agtagatgtg ccagaaggtc ttgctgtgga ctggattggc ctagattct	2160
attggacaga cagagggaaa tctctgattg gaaggagtga tttaaatggg aaacgttcca	2220
aaataatcac taaggagaac atctctcaac cagcaggaat tgctgttcat ccaatggcca	2280
agagattatt ctggactgat acagggatta atccacgaat tgaaagtctt tccctccaag	2340
gccttggccg tctggttata gccagctctg atctaactctg gccagtgga ataacgattg	2400
acttcttaac tgacaagttg tactggtgcg atgccaagca gtctgtgatt gaaatggcca	2460
atctggatgg ttcaaaacgc cgaagactta ccagaatga tgtaggtcac ccatttgctg	2520
tagcagtgtt tgaggattat gtgtggttct cagattgggc tatgccatca gtaatgagag	2580
taaacaagag gactggcaaa gatagagtac gtctccaagg cagcatgctg aagccctcat	2640
cactggttgt ggttcatcca ttggcaaaac caggagcaga tccctgctta tatcaaaacg	2700
gaggctgtga acatatattgc aaaaagaggc ttggaactgc ttggtgttcg tgtcgtgaag	2760
gttttatgaa agcctcagat gggaaaacgt gtctggctct ggatggcat cagctgttgg	2820
caggtggtga agttgatcta aagaaccaag taacaccatt ggacatcttg tccaagacta	2880

gagtgtcaga agataacatt acagaatctc aacacatgct agtggctgaa atcatgggtg	2940
cagatcaaga tgactgtgct cctgtgggat gcagcatgta tgctcggtgt atttcagagg	3000
gagaggatgc cacatgtcag tgtttgaaag gatttgctgg ggatggaaaa ctatgttctg	3060
atatagatga atgtgagatg ggtgtcccag tgtgcccccc tgcctcctcc aagtgcac	3120
acaccgaagg tggttatgtc tgccggtgct cagaaggcta ccaaggagat gggattcact	3180
gtcttgatat tgatgagtgc caactggggg agcacagctg tggagagaat gccagctgca	3240
caaatacaga gggaggctat acctgcatgt gtgctggacg cctgtctgaa ccaggactga	3300
tttgcctga ctctactcca cccctcacc tcagggaaga tgaccaccac tattccgtaa	3360
gaaatagtga ctctgaatgt cccctgtccc acgatgggta ctgcctccat gatgggtgtg	3420
gcatgtatat tgaagcattg gacaagtatg catgcaactg tgttgttggc tacatcgggg	3480
agcgatgtca gtaccgagac ctgaagtgtt gggaactgcg ccacgctggc cacgggcagc	3540
agcagaaggt catcgtggtg gctgtctgcg tgggtgtgct tgtcatgctg ctctcctga	3600
gcctgtgggg ggcccactac tacaggactc agaagctgct atcgaaaaac ccaaagaatc	3660
cttatgagga gtcgagcaga gatgtgagga gtcgcaggcc tgtgacact gaggatggga	3720
tgtcctcttg ccctcaacct tggtttgtgg ttataaaaga acaccaagac ctcaagaatg	3780
ggggtcaacc agtggctggt gaggatggcc aggcagcaga tgggtcaatg caaccaactt	3840
catggaggca ggagccccag ttatgtggaa tgggcacaga gcaaggctgc tggattccag	3900
tatccagtga taagggtccc tgtccccagg taatggagcg aagctttcat atgccctct	3960
atgggacaca gacccttgaa ggggtgtcg agaagcccca ttctctcta tcagctaacc	4020
cattatggca acaaagggcc ctggaccac cacacaaat ggagctgact cagtgaatac	4080
tggaattaaa aggaagtga agaagaatga actatgtcga tgcacagtat cttttcttc	4140
aaaagtagag caaaactata ggttttggtt ccacaatctc tacgactaat cacctactca	4200
atgcctggag acagatacgt agttgtgctt ttgtttgctc ttttaagcag tctcactgca	4260
gtcttatttc caagtaagag tactgggaga atcactaggt aacttattag aaacccaat	4320
tgggacaaca gtgctttgta aattgtgttg tcttcagcag tcaatacaaa tagatttttg	4380
tttttgtgt tctgcagcc ccagaagaaa ttaggggtta aagcagacag tcacactggt	4440
ttggtcagtt acaaagtaat ttctttgatc tggacagaac atttatatca gtttcatgaa	4500
atgattggaa tattacaata ccgttaagat acagtgtagg catttaactc ctcatggcg	4560
tgggtccatgc tgatgatttt gcaaaatgag ttgtgatgaa tcaatgaaaa atgtaattta	4620

gaaactgatt tcttcagaat tagatggcctt attttttaaa atatttgaat gaaaacattt 4680
tatttttaaa atattacaca ggaggtcttcg gagtttctta gtcattactg tccttttccc 4740
ctacagaatt ttccctcttg gtgtgattgc acagaatttg tatgtatttt cagttacaag 4800
attgtaagta aattgcctga tttgttttca ttatagacaa cgatgaattt ctcttaatta 4860
tttaataaaa atcaccaaaa acataaacat tttattgtat gcctgattaa gtagttaatt 4920
atagtctaag gcagtactag agttgaacca aaatgatttg tcaagcttgc tgatgtttct 4980
gtttttcggtt tttttttttt ttccggagag aggataggat ctactctgt tatccaggct 5040

ggagtgtgca atggcacaat catagctcag tgcagcctca aactcctggg ctcaagcaat 5100
cctcctgcct cagcctcccg agtaactagg accacaggca caggccacca tgcctggcta 5160
aggtttttat tttattttt ttagacatg gggatcacac aatgttgccc aggtgtgtct 5220
tgaactcctg gcctcaagca aggtcgtgct ggtaattttg caaaatgaat tgtgattgac 5280
tttcagcctc ccaacgtatt agattatagg cattagccat ggtgcccagc ctgttaactt 5340
ttaaaaaaat tttttaatct acaactctgt agattaaaat ttcacatggt gttctaatta 5400
aatatttttc ttgcagccaa gatattgtta ctacagataa cacaacctga tatggtaact 5460

ttaaattttg ggggctttga atcattcagt ttatgcatta actagtcctt ttgtttatct 5520
ttcatttctc aacccttgt actttggtga taccagacat cagaataaaa agaaattgaa 5580
gtacctgttt tcaaatggat actttatagg aattttggta aagatttggg gatgggagga 5640
tgacttgagg ttgtggata ttagttaatt attcagtatg atacctcacc cagctaattt 5700

<210> 6

<211> 1207

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 6

Met Leu Leu Thr Leu Ile Ile Leu Leu Pro Val Val Ser Lys Phe Ser

1 5 10 15

Phe Val Ser Leu Ser Ala Pro Gln His Trp Ser Cys Pro Glu Gly Thr

20 25 30

Leu Ala Gly Asn Gly Asn Ser Thr Cys Val Gly Pro Ala Pro Phe Leu

35 40 45

Ile Phe Ser His Gly Asn Ser Ile Phe Arg Ile Asp Thr Glu Gly Thr

50 55 60

Asn Tyr Glu Gln Leu Val Val Asp Ala Gly Val Ser Val Ile Met Asp
65 70 75 80

Phe His Tyr Asn Glu Lys Arg Ile Tyr Trp Val Asp Leu Glu Arg Gln
85 90 95

Leu Leu Gln Arg Val Phe Leu Asn Gly Ser Arg Gln Glu Arg Val Cys
100 105 110

Asn Ile Glu Lys Asn Val Ser Gly Met Ala Ile Asn Trp Ile Asn Glu
115 120 125

Glu Val Ile Trp Ser Asn Gln Gln Glu Gly Ile Ile Thr Val Thr Asp
130 135 140

Met Lys Gly Asn Asn Ser His Ile Leu Leu Ser Ala Leu Lys Tyr Pro
145 150 155 160

Ala Asn Val Ala Val Asp Pro Val Glu Arg Phe Ile Phe Trp Ser Ser
165 170 175

Glu Val Ala Gly Ser Leu Tyr Arg Ala Asp Leu Asp Gly Val Gly Val
180 185 190

Lys Ala Leu Leu Glu Thr Ser Glu Lys Ile Thr Ala Val Ser Leu Asp
195 200 205

Val Leu Asp Lys Arg Leu Phe Trp Ile Gln Tyr Asn Arg Glu Gly Ser
210 215 220

Asn Ser Leu Ile Cys Ser Cys Asp Tyr Asp Gly Gly Ser Val His Ile
225 230 235 240

Ser Lys His Pro Thr Gln His Asn Leu Phe Ala Met Ser Leu Phe Gly
245 250 255

Asp Arg Ile Phe Tyr Ser Thr Trp Lys Met Lys Thr Ile Trp Ile Ala
260 265 270

Asn Lys His Thr Gly Lys Asp Met Val Arg Ile Asn Leu His Ser Ser
275 280 285

Phe Val Pro Leu Gly Glu Leu Lys Val Val His Pro Leu Ala Gln Pro
290 295 300

Lys Ala Glu Asp Asp Thr Trp Glu Pro Glu Gln Lys Leu Cys Lys Leu

305 310 315 320
 Arg Lys Gly Asn Cys Ser Ser Thr Val Cys Gly Gln Asp Leu Gln Ser
 325 330 335

 His Leu Cys Met Cys Ala Glu Gly Tyr Ala Leu Ser Arg Asp Arg Lys
 340 345 350
 Tyr Cys Glu Asp Val Asn Glu Cys Ala Phe Trp Asn His Gly Cys Thr
 355 360 365
 Leu Gly Cys Lys Asn Thr Pro Gly Ser Tyr Tyr Cys Thr Cys Pro Val
 370 375 380
 Gly Phe Val Leu Leu Pro Asp Gly Lys Arg Cys His Gln Leu Val Ser
 385 390 395 400

 Cys Pro Arg Asn Val Ser Glu Cys Ser His Asp Cys Val Leu Thr Ser
 405 410 415
 Glu Gly Pro Leu Cys Phe Cys Pro Glu Gly Ser Val Leu Glu Arg Asp
 420 425 430
 Gly Lys Thr Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Asp Asn Gly Gly Cys Ser
 435 440 445
 Gln Leu Cys Val Pro Leu Ser Pro Val Ser Trp Glu Cys Asp Cys Phe
 450 455 460

 Pro Gly Tyr Asp Leu Gln Leu Asp Glu Lys Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 465 470 475 480
 Pro Gln Pro Phe Leu Leu Phe Ala Asn Ser Gln Asp Ile Arg His Met
 485 490 495
 His Phe Asp Gly Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Leu Ser Gln Gln Met Gly
 500 505 510
 Met Val Tyr Ala Leu Asp His Asp Pro Val Glu Asn Lys Ile Tyr Phe
 515 520 525

 Ala His Thr Ala Leu Lys Trp Ile Glu Arg Ala Asn Met Asp Gly Ser
 530 535 540
 Gln Arg Glu Arg Leu Ile Glu Glu Gly Val Asp Val Pro Glu Gly Leu
 545 550 555 560

Ala Val Asp Trp Ile Gly Arg Arg Phe Tyr Trp Thr Asp Arg Gly Lys
565 570 575

Ser Leu Ile Gly Arg Ser Asp Leu Asn Gly Lys Arg Ser Lys Ile Ile
580 585 590

Thr Lys Glu Asn Ile Ser Gln Pro Arg Gly Ile Ala Val His Pro Met
595 600 605

Ala Lys Arg Leu Phe Trp Thr Asp Thr Gly Ile Asn Pro Arg Ile Glu
610 615 620

Ser Ser Ser Leu Gln Gly Leu Gly Arg Leu Val Ile Ala Ser Ser Asp
625 630 635 640

Leu Ile Trp Pro Ser Gly Ile Thr Ile Asp Phe Leu Thr Asp Lys Leu
645 650 655

Tyr Trp Cys Asp Ala Lys Gln Ser Val Ile Glu Met Ala Asn Leu Asp
660 665 670

Gly Ser Lys Arg Arg Arg Leu Thr Gln Asn Asp Val Gly His Pro Phe
675 680 685

Ala Val Ala Val Phe Glu Asp Tyr Val Trp Phe Ser Asp Trp Ala Met
690 695 700

Pro Ser Val Met Arg Val Asn Lys Arg Thr Gly Lys Asp Arg Val Arg
705 710 715 720

Leu Gln Gly Ser Met Leu Lys Pro Ser Ser Leu Val Val Val His Pro
725 730 735

Leu Ala Lys Pro Gly Ala Asp Pro Cys Leu Tyr Gln Asn Gly Gly Cys
740 745 750

Glu His Ile Cys Lys Lys Arg Leu Gly Thr Ala Trp Cys Ser Cys Arg
755 760 765

Glu Gly Phe Met Lys Ala Ser Asp Gly Lys Thr Cys Leu Ala Leu Asp
770 775 780

Gly His Gln Leu Leu Ala Gly Gly Glu Val Asp Leu Lys Asn Gln Val
785 790 795 800

Thr Pro Leu Asp Ile Leu Ser Lys Thr Arg Val Ser Glu Asp Asn Ile

805	810	815	
Thr Glu Ser Gln His Met Leu Val Ala Glu Ile Met Val Ser Asp Gln			
820	825	830	
Asp Asp Cys Ala Pro Val Gly Cys Ser Met Tyr Ala Arg Cys Ile Ser			
835	840	845	
Glu Gly Glu Asp Ala Thr Cys Gln Cys Leu Lys Gly Phe Ala Gly Asp			
850	855	860	
Gly Lys Leu Cys Ser Asp Ile Asp Glu Cys Glu Met Gly Val Pro Val			
865	870	875	880
Cys Pro Pro Ala Ser Ser Lys Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Val			
885	890	895	
Cys Arg Cys Ser Glu Gly Tyr Gln Gly Asp Gly Ile His Cys Leu Asp			
900	905	910	
Ile Asp Glu Cys Gln Leu Gly Glu His Ser Cys Gly Glu Asn Ala Ser			
915	920	925	
Cys Thr Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Met Cys Ala Gly Arg Leu			
930	935	940	
Ser Glu Pro Gly Leu Ile Cys Pro Asp Ser Thr Pro Pro Pro His Leu			
945	950	955	960
Arg Glu Asp Asp His His Tyr Ser Val Arg Asn Ser Asp Ser Glu Cys			
965	970	975	
Pro Leu Ser His Asp Gly Tyr Cys Leu His Asp Gly Val Cys Met Tyr			
980	985	990	
Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn Cys Val Val Gly Tyr Ile			
995	1000	1005	
Gly Glu Arg Cys Gln Tyr Arg Asp Leu Lys Trp Trp Glu Leu Arg			
1010	1015	1020	
His Ala Gly His Gly Gln Gln Gln Lys Val Ile Val Val Ala Val			
1025	1030	1035	
Cys Val Val Val Leu Val Met Leu Leu Leu Leu Ser Leu Trp Gly			
1040	1045	1050	

Ala His Tyr Tyr Arg Thr Gln Lys Leu Leu Ser Lys Asn Pro Lys
 1055 1060 1065
 Asn Pro Tyr Glu Glu Ser Ser Arg Asp Val Arg Ser Arg Arg Pro
 1070 1075 1080
 Ala Asp Thr Glu Asp Gly Met Ser Ser Cys Pro Gln Pro Trp Phe
 1085 1090 1095

Val Val Ile Lys Glu His Gln Asp Leu Lys Asn Gly Gly Gln Pro
 1100 1105 1110
 Val Ala Gly Glu Asp Gly Gln Ala Ala Asp Gly Ser Met Gln Pro
 1115 1120 1125
 Thr Ser Trp Arg Gln Glu Pro Gln Leu Cys Gly Met Gly Thr Glu
 1130 1135 1140
 Gln Gly Cys Trp Ile Pro Val Ser Ser Asp Lys Gly Ser Cys Pro
 1145 1150 1155

Gln Val Met Glu Arg Ser Phe His Met Pro Ser Tyr Gly Thr Gln
 1160 1165 1170
 Thr Leu Glu Gly Gly Val Glu Lys Pro His Ser Leu Leu Ser Ala
 1175 1180 1185
 Asn Pro Leu Trp Gln Gln Arg Ala Leu Asp Pro Pro His Gln Met
 1190 1195 1200

Glu Leu Thr Gln
 1205

<210> 7

<211> 53

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<

400> 7

Asn Thr Glu Asn Asp Cys Pro Leu Ser His Glu Ala Tyr Cys Leu His
 1 5 10 15
 Asp Gly Val Cys Met Tyr Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn
 20 25 30

Cys Val Val Gly Tyr Val Gly Glu Arg Cys Gln Phe Arg Asp Leu Arg

35

40

45

Trp Trp Asp Ala Arg

50

<210> 8

<211> 53

<212> PRT

<213> Artificial

<220

><223> Synthetic

<400> 8

Asn Ser Asp Ser Glu Cys Pro Leu Ser His Asp Gly Tyr Cys Leu His

1

5

10

15

Asp Gly Val Cys Met Tyr Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn

20

25

30

Cys Val Val Gly Tyr Ile Gly Glu Arg Cys Gln Tyr Arg Asp Leu Lys

35

40

45

Trp Trp Glu Leu Arg

50

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213

> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 9

Gly Ser Ser Gly

1

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 10

Ser Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 11

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 12

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 13

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 13

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 14

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 15

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<

213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 16

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 17

Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 18

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Gly

1 5 10

<210> 19

<211>

12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 19

Gly Gly Ser Gly Gly Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 20

Ser Gly Gly Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 21

Gly Gly Ser Gly Gly Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 22

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly

1 5 10

<210> 23

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 23

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 24

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly

1 5 10 15

<210> 25

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic

<400> 25

Thr Pro Gln Asn Ile Thr Asp Leu Cys Ala Glu Tyr His Asn Thr Gln

1 5 10 15

Ile His Thr Leu Asn Asp Lys Ile Phe Ser Tyr Thr Glu Ser Leu Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gln Val Glu Val Pro Gly Ser Gln His Ile Asp Ser Gln Lys Lys Ala

50 55 60

Ile Glu Arg Met Lys Asp Thr Leu Arg Ile Ala Tyr Leu Thr Glu Ala

65 70 75 80

Lys Val Glu Lys Leu Cys Val Trp Asn Asn Lys Thr Pro His Ala Ile

85 90 95

Ala Ala Ile Ser Met Ala Asn

100