(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0099260
(43) 공개일자 2019년08월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/00 (2006.01) *A61K 31/136* (2006.01)
A61K 31/453 (2006.01) *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01) *A61K 31/7068* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01) *C12Q 1/6886* (2018.01)
G01N 33/50 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/00 (2013.01)
A61K 31/136 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7021080
(22) 출원일자(국제) 2017년12월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2019년07월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/067430
(87) 국제공개번호 WO 2018/119000
국제공개일자 2018년06월28일
(30) 우선권주장
62/436,221 2016년12월19일 미국(US)
62/562,990 2017년09월25일 미국(US)

(71) 출원인
톨레로 파마수티컬스, 인크.
미국, 유타 84043, 레히, 스위트 320, 더블유. 익스큐티브 파크웨이 2975
(72) 발명자
베알스 데이비드 제이.
미국, 유타 84004, 알파인, 1287 이. 채프먼 코트
시디퀴-제인 아담
미국, 유타 84095, 사우스 조단, 11643 사우스 조단 팜스 로드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

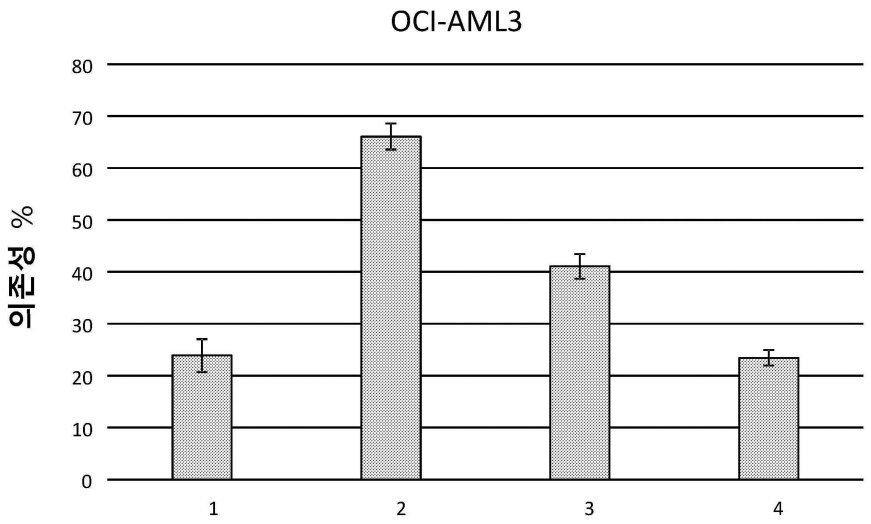
전체 청구항 수 : 총 121 항

(54) 발명의 명칭 **프로파일링 펩티드 및 감도 프로파일링을 위한 방법**

(57) 요 약

본 발명은 일반적으로 프로파일링 펩티드, 조성물 및 키트, 뿐만 아니라 이의 사용 방법에 관한 것이다. 프로파일링 펩티드는 Mcl-1 결합 도메인, 및 임의로 세포 흡수 모이어티를 포함한다. 이러한 프로파일링 펩티드를 사용하는 방법은 암의 감수성을 예측하고 치료를 선택하고 암을 치료하고 감도 프로파일을 생산하는 것 등을 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/453 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)
C07K 14/4747 (2013.01)
C12N 7/00 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
G01N 33/5011 (2013.01)
G01N 33/5079 (2013.01)
G01N 33/5091 (2013.01)
(72) 발명자
왓콧 클리포드 제이.
미국, 유타 84081, 웨스트 조단, 7832 에스. 타이거 코트
피터슨 피터 더블유.
미국, 유타 84103, 솔트 레이크 시티, 141 더블유. 기라드 애비뉴
워너 스티븐 엘.
미국, 유타 84094, 샌디, 1237 홀리리지 로드
무리트센 라스
미국, 유타 84043, 레히, 스위트 320, 2975 더블유. 이그제큐티브 파크웨이

명 세 서

청구범위

청구항 1

세포 흡수 모이어티(cellular uptake moiety) 및 Mcl-1 결합 도메인(binding domain)을 포함하는 프로파일링 펩티드(profiling peptide)로서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 6개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1과 적어도 75% 동일성(identity)을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 3개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 2개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열의 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1의 적어도 10개 인접 아미노산을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1과 적어도 95% 동일성을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 또는 1개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 변형이 독립적으로 보존적 아미노산 치환, 부가 또는 결실인, 프로파일링 펩티드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1의 적어도 15개 인접 아미노산을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1의 적어도 20개 인접 아미노산을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 1 내지 20개 아미노산의 아미노산 서열을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 전사의 트랜스-활성화인자(TAT) 펩티드의 형질도입 도메인으로부터의 적어도 5개 인접 아미노산을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 서열번호 12와 적어도 90% 동일성을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 서열번호 12의 서열을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 18

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 아테나페디아 원형질 막(ANT) 전좌 도메인으로부터의 적어도 5개 인접 아미노산을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 19

제1항 내지 제14항 및 제18항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 서열번호 13과 적어도 90% 동일성을 갖는, 프로파일링 펩티드.

청구항 20

제1항 내지 제14항, 제18항 및 제19항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 서열번호 13의 서열을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 21

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 아르기닌-풍부(arginine-rich) 아미노 서열을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 22

제1항 내지 제14항 및 제21항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 3 내지 10개 연속 아르기닌 잔기를 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 Mcl-1 결합 도메인의 N-말단에 접합되어 있는, 프로파일링 펩티드.

청구항 24

제1항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 Mcl-1 결합 도메인의 C-말단에 접합되어 있는, 프로파일링 펩티드.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 흡수 모이어티가 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합되어 있는, 프로파일링 펩티드.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 링커가 1 내지 5개 아미노산의 아미노산 서열인, 프로파일링 펩티드.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 프로파일링 펩티드가 20개 아미노산 내지 50개 아미노산의 길이인, 프로파일링 펩티드.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 프로파일링 펩티드가 30개 아미노산 내지 40개 아미노산의 길이인, 프로파일링 펩티드.

청구항 29

제1항 내지 제18항 및 제24항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열번호 14 또는 서열번호 15의 서열을 포함하는, 프로파일링 펩티드.

청구항 30

제1항 내지 제18항 및 제24항 내지 제29항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열번호 14 또는 서열번호 15의 서열로 이루어지는, 프로파일링 펩티드.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 검출제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 검출제가 3,3'-디헥실옥사카보시아닌 요오다이드($DiOC_6$)인, 조성물.

청구항 34

제32항에 있어서, 상기 검출제가 전위차 염료인, 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 전위차 염료가 JC-1 또는 로다민 123인, 조성물.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 세포 투과제를 포함하지 않는, 조성물.

청구항 37

제32항 내지 제36항 중의 어느 한 항에 있어서, 세포를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 세포가 암 세포인, 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 암 세포가 혈액 암인, 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 혈액 암이 다발성 골수종, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, 만성 림프성 백혈병(CLL), 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종인, 조성물.

청구항 41

이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서,

상기 방법은 치료제를 포함하는 치료 섭생을 적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은 복수의 암 세포의 제1 부분을 제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제36항 중의 어느 한 항의 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 시험관내 방법이 복수의 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 복수의 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율이 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하는, 방법.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 20%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 방법.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 30%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 방법.

청구항 46

제41항 내지 제45항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 40%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 방법.

청구항 47

제41항 내지 제46항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 치료제가 사이클린-의존성 키나제 9(CDK9) 억제제인, 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, CDK9 억제제가 알보시딥인, 방법.

청구항 49

제41항 내지 제48항 중의 어느 한 항에 있어서, Ara-C 또는 미토크산트론, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 50

제41항 내지 제49항 중의 어느 한 항에 있어서, Bcl-2 억제제를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 Bcl-2 억제제가 베네토클락스인, 방법.

청구항 52

제41항 내지 제51항 중의 어느 한 항에 있어서, Ara-C 또는 다우노루비신, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 53

제41항 내지 제52항 중의 어느 한 항에 있어서, Brd4 억제제 또는 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 54

제41항 내지 제53항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 시험관내 방법이 적어도 복수의 암 세포의 제1 부분을 디테르페노이드와 접촉시키는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 55

제41항 내지 제54항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 시험관내 방법이

복수의 암 세포의 제2 부분을 음성 대조군으로 치료(treating)하는 단계 및

복수의 암 세포의 제3 부분을 양성 대조군으로 치료하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 시험관내 방법이 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 57

대상체로부터 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은

복수의 암 세포의 제1 부분을 제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제36항 중의 어느 한 항의 조성물과 접촉시키는 단계 및

복수의 암 세포의 제1 부분의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 복수의 암 세포의 제1 부분에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서,

복수의 암 세포의 제2 부분을 음성 대조군으로 치료하는 단계 및

복수의 암 세포의 제3 부분을 양성 대조군으로 치료하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 60

제42항 내지 제59항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 미토콘드리아 완전성의 변화가 미토콘드리아 막 전위의 변화에 의해 측정되는, 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 미토콘드리아 막 전위의 변화가 검출제를 사용하여 측정되는, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 검출제가 염료인, 방법.

청구항 63

제42항 내지 제59항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 미토콘드리아 완전성의 변화가 사이토크롬 C 누출에 의해 측정되는, 방법.

청구항 64

대상체로부터 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일(sensitivity profiling)을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은

복수의 암 세포를 샘플로부터 단리하는 단계;

복수의 암 세포를 표지(label)와 접촉시키는 단계;

복수의 암 세포의 제1 부분을 음성 대조군으로 치료하는 단계;

복수의 암 세포의 제2 부분을 양성 대조군으로 치료하는 단계;

복수의 암 세포의 제3 부분을 제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제36항 중의 어느 한 항의 조성물로 치료하는 단계;

복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 염료와 접촉시키는 단계; 및

복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 65

제62항 또는 제64항에 있어서, 상기 염료가 3,3'-디헥실옥사카보시아닌 요오다이드($DiOC_6$)인, 방법.

청구항 66

제62항 또는 제64항에 있어서, 상기 염료가 전위차 염료인, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 전위차 염료가 JC-1 또는 로다민 123인, 방법.

청구항 68

제41항 내지 제67항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 혈액 암으로부터 유래된 것인, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 혈액 암이 다발성 골수종, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, 만성 림프성 백혈병(CLL), 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종인, 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 혈액 암이 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

청구항 71

제41항 내지 제70항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 대상체의 말초 혈액으로부터 수득되는, 방법.

청구항 72

제41항 내지 제71항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 대상체의 골수로부터 수득되는, 방법.

청구항 73

제41항 내지 제72항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 동결되어 있는, 방법.

청구항 74

제41항 내지 제73항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포의 제1 부분이 세포 투과제로 투과처리되지 않는, 방법.

청구항 75

제57항 내지 제74항 중의 어느 한 항에 있어서, 복수의 암 세포의 제1 부분을 디테르페노이드와 접촉시키는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 76

제54항 또는 제75항에 있어서, 상기 디테르페노이드가 리아노딘(Ryanodine)인, 방법.

청구항 77

제54항, 제55항 및 제58항 내지 제76항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 음성 대조군이 물인, 방법.

청구항 78

제55항, 제55항 및 제59항 내지 제77항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 양성 대조군이 카보닐 시아나이드-4-(트리플루오로메톡시)페닐하이드라존(FCCP), 카보닐 시아나이드 m-클로로페닐 하이드라존(CCCP) 또는 N5,N6-비스(2-플루오로페닐)-[1,2,5]옥사디아졸로[3,4-b]피라진-5,6-디아민(BAM-15)인, 방법.

청구항 79

제55항, 제55항 및 제59항 내지 제78항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 양성 대조군이 CCCP인, 방법.

청구항 80

제59항 내지 제79항 중의 어느 한 항에 있어서, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 81

제56항 또는 제80항에 있어서, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것이 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅(gating)하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 82

제56항 또는 제80항에 있어서, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것이 CD45 dim, CD3 및 CD20 고 모집단을 게이팅하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 83

제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제40항 중의 어느 한 항의 조성물; 및 검출제를 포함하는, 키트(kit).

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 키트가 세포 투과제를 포함하지 않는, 키트.

청구항 85

제83항 또는 제84항에 있어서, 제41항 내지 제82항 중의 어느 한 항의 방법의 단계들을 포함하는 서면 설명서를 추가로 포함하는, 키트.

청구항 86

적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에서 암의 치료에 사용하기 위한 치료용 조성물로서, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은

복수의 암 세포의 제1 부분을 제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제36항 중의 어느 한 항의 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 치료용 조성물.

청구항 87

적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 투여되는, 치료제를 포함하는 암 치료용 조성물로서, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은

복수의 암 세포의 제1 위치를 제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항의 프로파일링 펩티드 또는 제31항 내지 제36항 중의 어느 한 항의 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 암 치료용 조성물.

청구항 88

제86항 또는 제87항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 소정 값인 20%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 치료용 조성물.

청구항 89

제86항 내지 제88항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 소정 값인 30%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 치료용 조성물.

청구항 90

제86항 내지 제89항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 적어도 40%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는, 치료용 조성물.

청구항 91

제86항 내지 제90항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 치료제가 사이클린-의존성 키나제 9(CDK9) 억제제인, 치료용 조성물.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 CDK9 억제제가 알보시딥인, 치료용 조성물.

청구항 93

제86항 내지 제92항 중의 어느 한 항에 있어서, Ara-C 또는 미토크산트론, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 94

제86항 내지 제93항 중의 어느 한 항에 있어서, Bcl-2 억제제를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 Bcl-2 억제제가 베네토클락스인, 치료용 조성물.

청구항 96

제86항 내지 제95항 중의 어느 한 항에 있어서, Ara-C 또는 다우노루비신, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 97

제86항 내지 제96항 중의 어느 한 항에 있어서, Brd4 억제제 또는 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 또는 이들 둘 다를 투여하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 98

제86항 내지 제97항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 암 세포가 혈액 암인, 치료용 조성물.

청구항 99

제98항에 있어서, 상기 혈액 암이 다발성 골수종, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, 만성 림프성 백혈병(CLL), 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종인, 치료용 조성물.

청구항 100

제86항 내지 제99항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 대상체의 말초 혈액으로부터 수득되는, 치료용 조성물.

청구항 101

제86항 내지 제99항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 대상체의 골수로부터 수득되는, 치료용 조성물.

청구항 102

제86항 내지 제101항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포가 동결되어 있는, 치료용 조성물.

청구항 103

제86항 내지 제102항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포의 제1 부분이 세포 투과제로 투과처리되지 않는, 치료용 조성물.

청구항 104

제86항 내지 제103항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 시험관내 방법이 복수의 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 105

제104항에 있어서, 복수의 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율이 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하는, 치료용 조성물.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 상기 미토콘드리아 완전성의 변화가 미토콘드리아 막 전위의 변화에 의해 측정되는, 치료용 조성물.

청구항 107

제106항에 있어서, 상기 미토콘드리아 막 전위의 변화가 검출제를 사용하여 측정되는, 치료용 조성물.

청구항 108

제107항에 있어서, 상기 검출제가 염료인, 치료용 조성물.

청구항 109

제108항에 있어서, 상기 염료가 3,3'-디헥실옥사카보시아닌 요오다이드($DiOC_6$)인, 치료용 조성물.

청구항 110

제108항에 있어서, 상기 염료가 전위차 염료인, 치료용 조성물.

청구항 111

제110항에 있어서, 상기 전위차 염료가 JC-1 또는 로다민 123인, 치료용 조성물.

청구항 112

제104항 또는 제105항에 있어서, 상기 미토콘드리아 완전성의 변화가 사이토크롬 C 누출에 의해 측정되는, 치료용 조성물.

청구항 113

제86항 내지 제112항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 시험관내 방법이 적어도 복수의 암 세포의 제1 부분을 디테르페노이드와 접촉시키는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 114

제113항에 있어서, 상기 디테르페노이드가 리아노딘인, 치료용 조성물.

청구항 115

제86항 내지 제114항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 시험관내 방법이

복수의 암 세포의 제2 부분을 음성 대조군으로 치료하는 단계; 및

복수의 암 세포의 제3 부분을 양성 대조군으로 치료하는 단계를 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 116

제115항에 있어서, 상기 음성 대조군이 물인, 치료용 조성물.

청구항 117

제115항 또는 제116항에 있어서, 상기 양성 대조군이 카보닐 시아나이드-4-(트리플루오로메톡시)페닐하이드라존(FCCP), 카보닐 시아나이드 m-클로로페닐 하이드라존(CCCP) 또는 N5,N6-비스(2-플루오로페닐)-[1,2,5]옥사디아졸로[3,4-b]피라진-5,6-디아민(BAM-15)인, 치료용 조성물.

청구항 118

제117항에 있어서, 상기 양성 대조군이 CCCP인, 치료용 조성물.

청구항 119

제115항 내지 제118항 중의 어느 한 항에 있어서, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것을 추가로 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 120

제115항 내지 제119항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것이 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅하는 것을 포함하는, 치료용 조성물.

청구항 121

제111항 내지 제120항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것이 CD45 dim, CD3 및 CD20 고 모집단을 게이팅하는 것을 포함하는, 치료용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 서열 목록에 관한 기재

[0002] 본 출원과 관련된 서열 목록은 페이퍼 카피 대신에 텍스트 형식으로 제공되고, 참조에 의해 본 명세서에 도입된다. 서열 목록을 함유하는 텍스트 화일의 명칭은 910208_428WO_Sequence_Listing.txt이다. 텍스트 화일은 6KB이고, 2017년 12월 17일에 작성되었으며, EFS-Web을 통해 전자적으로 전송되어 있다.

[0003] 분야

[0004] 본 발명은 일반적으로 프로파일링 펩티드(profiling peptide), 조성물 및 키트(kit), 뿐만 아니라 치료에 대한 암의 감수성을 예측하고 암의 치료를 선택하고 암의 감도 프로파일(sensitivity profiling)을 생산하고 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 치료는 사이클린-의존성 키나제 9(CDK9) 억제제인 치료제의 투여를 포함한다.

배 경 기 술

[0005] 암 치료에서의 진보가 있어 왔지만, 화학요법은 주로 비효율적이고 비효과적인 상태이다. 화학요법의 일반적인 성적 불량의 한 가지 이유는, 선택된 치료법이 종종 개인의 질환의 유전적 및 분자적 의존성과 엄밀하게 일치하지 않는다는 것이다.

[0006] 예를 들면, 암 세포는 DNA 손상, 유전적 불안정성, 이상 성장 인자 신호전달 및 이상 또는 손실 매트릭스 상호작용 등의 이상을 나타내고, 이들중 어느 것도 전형적으로 내인성(미토콘드리아) 아폽토시스 경로를 통해 아폽토시스를 유도해야 한다. 이들 이상 표현형의 결과로서, 암 세포는, 아폽토시스 신호에 반응하는 것이 아니라 세포가 생존하는 것을 가능하게 하는 아폽토시스 경로에서 블록을 발증한다. 다수의 암 요법은 효과적이기 위해 아폽토시스에 의존하기 때문에, 특이적 항-아폽토시스성 단백질에 의한 아폽토시스의 조절은 특정 요법에 대한 반응성과 관련할 수 있다.

[0007] "암유전자 의존증"의 개념은, 생존을 위한 특정 단백질에 대한 암 세포의 획득 의존성 또는 의존증의 현상을 설명한다. 이들 의존성은 몇몇 암 세포를 특정 치료에 대하여 내성으로 되게 하고 놀랍게도 다른 요법에 대하여 감수성으로 되게 한다.

[0008] 암 세포에 의한 항-아폽토시스 Bcl-2 패밀리 단백질에 대한 의존은, 그 이외의 점에서는 의도하지 않은 생존과 빈번하게 관련된다. 암 세포는 일반적으로 세포 사멸 신호를 억제하고 아폽토시스에 저항하기 위해 하나의 Bcl-2 패밀리 구성원 또는 또 다른 구성원(예: Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1)에 의존한다. Bcl-2 패밀리 단백질은 프로-생존 멤버(즉, 항-아폽토시스성) 및 프로-아폽토시스성 멤버 사이의 상이한 단백질-단백질 상호작용에 의해 조절된다. 이들 상호작용은 주로 Bcl-2 상동성 도메인-3(BH3) 매개된 결합을 통해 일어나고, 항상성, 세포 사멸, 아폽토시스에 대한 감작 및 아폽토시스의 차단을 포함하는 다양한 결과를 가질 수 있다. 아폽토시스성 신호전달이 차단되어 있는 다수의 암 세포는 미토콘드리아 표면에 BH3 단독 활성화인자 단백질의 축적을 갖고, 이들 단백질의 결과는 항-아폽토시스 단백질에 의해 격리되어 있다. 이들 축적 및 이들의 이펙터 표적 단백질에 대한 접근은 "프라임" 상태에서 Bcl-2 패밀리 단백질의 길항작용에 대한 감수성의 증가를 설명한다. 따라서, 항-아폽토시스 Bcl-2 패밀리 단백질의 기능성의 측정은 의존성 암 세포가 소정 Bcl-2 패밀리 멤버이고 어떻게 암 대상체가 치료에 반응하는지에 대한 건전한 예측을 제공하는 것을 입증했다.

[0009] BH3 프로파일링에 현재 사용되는 2개의 주요 프로파일링 검정이 있다. 2개의 일반적으로 사용되는 검정의 주요 차이는 형광 마이크로플레이트 판독기에 대한 반응을 측정하기 위해 유동 세포계측법의 사용이다. 유동 세포계측법의 사용은 다양한 세포 표면 마커에 대해 지시된 항체를 사용하여 세포를 형광 표지하고 유동 세포계측기상의 게이트 기능을 사용하여 악성 세포 모집단에서 반응만을 측정하는 것을 필요로 한다. 요약하면, 샘플로부터 백혈구를 단리한 후, 세포를 표지하고, 외부 막을 투과처리하고, BH3 펩티드(예: NOXA)와 접촉시키고, JC-1 형광 염료로 염색한다. 이어서, 유동 세포계측법을 사용하여 반응을 정량화한다.

[0010] 대안적으로, 마이크로플레이트 판독기는 세포 표면 마커 항체 및 세포 분리 기술을 사용하여 악성 세포 모집단을 단리한다. 샘플로부터 백혈구를 단리한 후, 관심 세포를 정제하고, 외부 막을 투과처리하고, BH3 펩티드(예: NOXA)와 접촉시키고, JC-1 형광 염료로 염색한다. 이어서, 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 반

응을 정량화한다.

[0011] 두 접근법은 일반적으로 암 세포가 디지토닌에 의해 투과처리되는 것을 필요로 하고, 이는 Bcl-2 패밀리 펩티드(예: NOXA, BIM 등)의 단편이 세포에 유입되고 미토콘드리아 단백질과 상호작용하는 것을 가능하게 한다. 표준 NOXA 펩티드를 사용하는 대부분의 검정에서, 이 단계는 필요불가결하다. 그러나, 세포 투과처리는 복잡성을 증가시키고, 검정에 대한 현저한 변동을 가져오고, 전체 검정 실행 시간을 증가시키고, 이들 모두는 비용 효과적인 정확한 프로파일링 결과를 제공하는 것에 대한 기술적 과제를 가져온다. 디지토닌은 미토콘드리아 막을 포함하는 생물학적 막을 비-선택적으로 투과하기 때문에[참조: Hoppel, C, and Cooper, C. Biochem J. 1968 Apr; 107(3): 367-375], 디지토닌을 사용하는 검정은 일반적으로, 사용된 농도가 미토콘드리아 막에 대한 최소 효과를 갖는 외부 세포 막을 투과하는 윈도우 내에 있도록, 디지토닌의 정확한 적정을 필요로 한다. 디지토닌 농도 및 처리 시간의 이러한 윈도우는 좁고, 상이한 세포 유형 사이에서 상이할 수 있고, 정확한 결과를 생성하는 견고한 검정을 갖는 것과 직접 관련된다. 이러한 과제는 검정이 정확하게 수행되는 것을 확실하게 하기 위해 경험 및 적절한 제어를 갖는 단일 중앙 실험실에서 검정을 수행함으로써 현재 전통적으로 극복되어 있다. 따라서, 세포 투과처리 단계는, 예를 들면, 임상 실험실에서 사용될 수 있는 시험관내 진단 키트를 제조할 때에, 이러한 검정의 사용을 분산화하기 위한 과제이다.

[0012] 따라서, 보다 정확하고 재현가능하고 비용 효과적인, 항-아폽토시스성 Bcl-2 단백질의 기능을 측정하는 개선된 방법이 요구된다.

발명의 내용

[0013] 한 가지 국면에서, 본 발명은, 세포 흡수 모이어티(cellular uptake moiety) 및 Mcl-1 결합 도메인(binding domain)을 포함하는 프로파일링 펩티드로서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 프로파일링 펩티드를 제공한다.

[0014] 또 다른 국면에서, 본 발명은, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물로서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 조성물을 제공한다.

[0015] 추가의 국면에서, 본 발명은, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 검출제를 포함하는 키트로서, 상기 Mcl-1 결합 도메인이 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는, 키트를 제공한다.

[0016] 한 가지 국면에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 치료제를 포함하는 치료 섭생을 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다) 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 방법을 제공한다.

[0017] 다른 구현예에서, 본 발명은, 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법으로서, 상기 방법은 암 세포를, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)와 접촉시키고, 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 것을 포함하고; 여기서 미토콘드리아 완전성의 감소는 암 세포가 치료제에 대해 감수성인 것을 나타내는, 방법을 제공한다.

[0018] 추가의 구현예에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체로부터의 암 세포를, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)와 접촉시키고; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하고; 미토콘드리아 완전성의 감소가 검출되는 경우에, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하여 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0019] 또 다른 국면에서, 본 발명은, 대상체로부터 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수

모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키고; 복수의 암 세포의 제1 부분의 미토콘드리아 완전성을 검출하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0020] 여전히 추가 구현예에서, 본 발명은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받고(여기서, 상기 감도 프로파일은 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉할 때에 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다); 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 감소를 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0021] 추가의 구현예에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받고(여기서, 상기 감도 프로파일은 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉할 때에 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다); 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 감소를 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하여 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0022] 여전히 추가 구현예에서, 본 발명은, 치료제에 대한 대상체로부터의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법으로서, 상기 방법은 암 세포를, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)와 접촉시키고; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하고; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율(여기서, 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 치료제에 감수성인 것을 나타낸다)을 측정하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0023] 다른 구현예에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체로부터의 암 세포를, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)와 접촉시키고; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하고; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하고; Mcl-1 의존성 백분율이 소정 값 이상인 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하여 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0024] 다른 구현예에서, 본 발명은, 대상체로부터의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은 암 세포를, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)와 접촉시키고; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하고; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0025] 여전히 다른 구현예에서, 본 발명은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받고(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 데이터는, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉할 때에 적어도 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정되고, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다); Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0026] 여전히 다른 구현예에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받고(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 데이터는, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉할 때에 적어도 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정되고, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다); Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하여 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0027] 또 다른 국면에서, 본 발명은, 대상체로부터 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 상

기 방법은 복수의 암 세포를 샘플로부터 단리하고, 복수의 암 세포를 염료와 접촉시키고, 복수의 암 세포의 제1 부분을 음성 대조군으로 치료(treating)하고, 복수의 암 세포의 제2 부분을 양성 대조군으로 치료하고, 복수의 암 세포의 제3 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)로 치료하고, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 염료와 접촉시키고, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 것을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0028] 추가의 국면에서, 본 발명은, 적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에서 암의 치료에 사용하기 위한 치료용 조성물로서, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 치료용 조성물을 제공한다.

[0029] 여전히 추가 국면에서, 본 발명은, 적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 투여되는 치료제를 포함하는 암 치료용 조성물로서, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득되는, 암 치료용 조성물을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1a 내지 1d는 NOXA와 비교하여 본원에 기재된 프로파일링 펩티드의 전체 세포 검정의 결과를 나타낸다.

도 2는 NOXA와 비교하여 본원에 기재된 프로파일링 펩티드의 상이한 농도에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 나타낸다.

도 3은, 실시예 5에 기재된 바와 같이, CD45 dim 및 CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 사용하여 급성 골수성 백혈병(AML) 아세포 모집단에 대한 게이팅(gating)을 나타낸다.

도 4는 리아노딘(Ryanodine) 시험의 결과를 나타낸다. 서열번호 14의 펩티드로 처리된 MOLM-13 세포에서 칼슘 방출이 제시되어 있다.

도 5는 MCL-1 의존성 ≥40%을 갖는 AML 대상체에서 완전 관해(CR) 비율을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 발명은, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열을 갖는 임의로 변형된 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드, 뿐만 아니라 조성물, 사용 방법 및 키트에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 임의로 포함하고, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 이러한 프로파일링 펩티드를 사용하는 방법은 암 세포의 감수성을 예측하고 치료제를 선택하고 암을 치료하고 감도 프로파일을 생산하는 것 등을 포함한다.

[0032] 본 발명을 보다 상세히 설명하기 전에, 본원에서 사용되는 특정 용어의 정의를 제공하는 것은 이의 이해에 도움을 줄 수 있다. 본 개시를 통해 추가의 정의가 기재되어 있다.

[0033] "임의의" 또는 "임의로"는 후술하는 요소, 구성요소, 사상 또는 상황이 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있고 당해 정의는 이의 요소, 구성요소, 사상 또는 상황이 발생하는 사례 및 이들이 발생하지 않는 사례를 포함하는 것을 의미한다.

[0034] "펩티드"는 아미노산 잔기의 폴리머를 지칭한다. 펩티드는 천연에 존재하는 아미노산 폴리머 및 비-천연 존재 아미노산 폴리머, 뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 대응하는 천연 존재 아미노산의 인공적 화학 모방

체인 아미노산 폴리머를 포함한다.

[0035] 본원에 사용되는 바와 같이, "아미노산"은 천연에 존재하는 아미노산 및 합성 아미노산, 뿐만 아니라 천연에 존재하는 아미노산과 동일한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 지칭한다. 천연에 존재하는 아미노산은 유전 암호에 의해 코딩된 것들, 뿐만 아니라 이후에 변형되는 아미노산, 예를 들면, 하이드록시프롤린, γ-카복시글루타메이트 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 천연에 존재하는 아미노산, 즉 수소, 카복실 그룹, 아미노 그룹 및 R 그룹에 결합되어 있는 α-탄소와 동일한 기본 화학 구조를 갖는 화합물(예를 들면, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭사이드 및 메티오닌 메틸 설포늄)을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 그룹(예: 노르류신) 또는 변형된 펩티드 골격을 갖지만, 천연 존재 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학 구조와는 상이하지만 천연 존재 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 구조를 갖는 화학적 화합물을 지칭한다.

[0036] "종양"을 포함하는 "암"은 세포의 비조절된 성장 및/또는 신체 기관 및 시스템의 정상 기능을 방해하는 이상 증가된 세포 생존 및/또는 아폽토시스의 저해를 지칭한다. "암"(예: 종양)은 고형 및 비-고형 암을 포함한다. 암 또는 종양을 갖는 대상체는 대상체 신체에 존재하는 객관적으로 측정가능한 수의 암 세포를 갖는다. "암"은 양성 및 악성 암(예: 각각 양성 및 악성 종양), 뿐만 아니라 휴면 중의 종양 또는 미소전이를 포함한다. "암"은 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 부신피질 암종, AIDS-관련 암, 항문암, 맹장암, 성상세포종(예를 들면, 소아기 소뇌 또는 대뇌), 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 골 종양(예를 들면, 골육종, 악성 섬유성 조직구종), 뇌간 신경교종, 뇌암, 뇌종양(예를 들면, 소뇌 성상세포종, 대뇌 성상세포종/악성 신경교종, 상의세포종, 수모세포종, 천막상 원시신경 외배엽 종양, 시각 경로 및 시상 하부 신경 교종), 유방암, 기관지 선종/카르시노이드(carcinoid), 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma), 유암종(carcinoid tumor), 중추 신경계 림프종, 소뇌 성상세포종, 자궁 경부암, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수 증식성 질환, 결장암, 피부 T 세포 림프종, 섬유조직형성 작은 원형 세포 종양(desmoplastic small round cell tumor), 자궁내막암, 상의세포종, 식도암, 유잉 육종(Ewing's sarcoma), 두개외 배세포종(extracranial germ cell tumor), 고환외 배세포종(extrangonadal germ cell tumor), 간외 담관암, 눈암, 담낭암, 위암(gastric (stomach) cancer), 위장 간질 종양(GIST), 배세포종(예를 들면, 두개외, 고환외, 난소), 임신성 융모 종양(gestational trophoblastic tumor), 신경교종(예를 들면, 뇌 줄기, 대뇌 성상세포종, 시각 경로 및 시상하부), 위 카르시노이드(gastric carcinoid), 두경부암, 심장암, 간세포 (간) 암, 하인두암, 시상하부 및 시각 경로 신경교종, 안구내 흑색 종, 도세포 암종(내분비 췌장), 신장암(신장 세포 암), 후두암, 백혈병(예를 들면, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 모발 세포), 입술 및 구강암, 지방 육종, 간암, 폐암(예를 들면, 비소세포, 소세포), 림프종(예를 들면, AIDS-관련, 버킷, 피부 T 세포 호지킨, 비호지킨, 일차 중추 신경계), 수모세포종, 흑색종, 메르켈 세포(Merkel cell) 암종, 중피종, 전이성 편평 경부암(metastatic squamous neck cancer), 구강암(mouth cancer), 다발 내분비 신생물 증후군, 다발성 골수종, 균상 식육종, 골수이형성 증후군, 골수이형성/골수증식성 질환, 골수성 백혈병, 골수성 백혈병, 골수성 백혈병, 골수증식성 장애, 만성, 비강 및 부비강 암, 비인두 암종, 신경모세포종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 구강암(oral cancer), 구강인두암, 골육종, 난소암, 췌장암, 췌장암, 부비강 및 비강 암, 부갑상선암, 음경암, 인두암, 갈색세포종, 송과체 성상세포종 및/또는 배아세포종, 송과체모세포종 및 천막상 원시 신경외배엽 종양, 뇌하수체 선종, 혈장 세포 신생물/다발성 골수종, 흉막폐 모세포종, 원발성 중추 신경계 림프종, 전립선암, 직장암, 신장 세포 암종(신장암), 신장 골반 및 요관, 망막모세포종, 횡문근 육종, 타액선암, 육종(예를 들면, 유잉 패밀리, 카포시(Kaposi), 연조직, 자궁), 세자리 증후군(Sezary syndrome), 피부암(예를 들면, 비흑색종, 흑색종, 메르켈 세포), 소세포 폐암, 소장암, 연조직 육종, 편평 세포 암종, 편평 경부암, 위암, 천막상 원시 신경외배엽 종양, T 세포 림프종, 고환암, 인후암, 흉선종 및 흉선 암종, 갑상선암, 융모 종양, 요관 및 신장 골반 암, 자궁암, 자궁 육종, 질암, 시각 경로 및 시상하부 신경교종, 외음부암, 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia) 또는 빌름스 종양을 포함한다.

[0037] "전이"는 이의 원발 부위로부터 체내의 다른 장소로 암의 확산을 지칭한다. "전이"는 본래 위치로부터 이동하여 중요한 기관에 종양을 옮기는 암이고, 이는 최종적으로 발병된 기관의 기능 저하를 통해 대상체의 사망을 유도할 수 있다. 전이는, 암 세포가 원발 종양으로부터 탈락하고 림프관 및 혈관으로 침윤하고 혈류를 순환하고 신체의 다른 장소의 정상 조직에서 원위 초점에서 성장하는(전이하는), 일련의 프로세스이다. 새로운 장소에서, 세포는 혈액 공급을 확립하고, 생명을 위협하는 집단을 형성하도록 성장할 수 있다. 전이는 국소적 또는 원격적일 수 있다. 종양 세포 내의 자극적 및 억제적 분자 경로 둘 다는 이 거동을 조절하고, 종양 세포와 새로운 부위에서 숙주 세포와의 사이의 상호작용도 또한 중요하다.

[0038] "대상체"는 인간, 실험 동물(예: 개, 원숭이, 랫트, 마우스 등) 등의 가축, 가정용 펫(예: 고양이, 개, 토끼 등) 및 가축(예: 돼지, 소, 양, 염소, 말 등) 및 비-가축 동물(예: 곰, 코끼리, 고슴도치 등)을 포함한다. 구현예에서, 대상체는 인간이다.

[0039] 본원에서 사용되는 "치료하는" 또는 "치료"는 관심 질환 또는 병태, 예를 들면, 암을 갖는 인간 등의 대상체에게 의약 또는 의료 관리의 투여를 지칭하고, 하기를 포함한다:

[0040] (i) 특히, 이러한 대상체가 병태에 노출되었지만 아직 이를 갖는 것으로 진단되지 않는 경우에, 질환 또는 병태가 그 대상체에서 발생하는 것을 방지하는 것; (ii) 질환 또는 병태를 억제시키는 것, 즉 이의 발증을 저지하는 것; (iii) 질환 또는 병태를 경감하는 것, 즉 질환 또는 병태의 후퇴를 유발하는 것; 또는 (iv) 근본적 질환 또는 병태에 대처하지 않고서, 질환 또는 병태로부터 발생하는 증상(예를 들면, 통증, 체중 감소, 기침, 피로, 무력감 등)을 경감하는 것. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "질환" 및 "병태"는 교환가능하게 사용될 수 있거나, 특정 질환 또는 병태가 공지된 유인 물질을 갖지 않는다는 점에서 상이할 수 있고(따라서 병인은 여전히 확인할 수 없음), 따라서 질환으로 여전히 인식되지 않지만 바람직하지 않은 병태 또는 증상으로서만 인식되고, 여기서 많거나 적은 특정 증상 세트가 임상의에 의해 확인된다.

[0041] "유효량"은, 인간 등의 대상체에게 투여하는 경우, 대상체의 암의 치료를 달성하기에 충분한 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. "유효량"을 구성하는 화합물 또는 조성물의 양은 화합물 또는 조성물, 치료되는 병태 및 이의 중증도, 투여 방식, 치료 기간 및/또는 치료되는 대상체의 연령에 따라 상이할 수 있지만, 자신의 지식 및 본 개시에 기초하여 당업자에 의해 일상적으로 결정될 수 있다. 구현예에서, "유효량"은, 하나 이상의 조짐, 증상, 징후, 진단 시험, 바이탈 징후 등에서 통계학적으로 유의한 변화에 의해 측정되는 바와 같이, 치료(예를 들면, 치료, 예방, 억제, 경감, 촉진, 개선, 증가, 감소 등)를 수행한다. 다른 구현예에서, "유효량"은, 하나 이상의 조짐, 증상, 징후, 진단 시험, 바이탈 징후 등에서 통계학적으로 유의한 변화의 결여에 의해 측정되는 바와 같이, 병태를 억제, 관리 또는 예방한다.

[0042] 본원에 사용되는 바와 같이, "통계학적으로 유의한"은, 스튜던트 t-검정을 사용하여 계산할 때, 0.050 이하의 p 값을 지칭하고, 측정되는 특정 사상 또는 결과가 우연히 발생할 가능성이 낮은 것을 나타낸다.

[0043] 본 명세서에서, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는, 달리 나타내지 않는 한, 열거된 범위 내의 임의의 정수의 값, 및 적절한 경우, 이의 분수(예를 들면, 정수의 1/10 및 1/100)를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 임의의 물리적 특징, 예를 들면, 폴리머 아단위, 크기 또는 두께와 관련하여 본원에 열거된 임의의 수는, 달리 나타내지 않는 한, 열거된 범위 내의 임의의 정수를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "약"은, 달리 나타내지 않는 한, 표시된 범위, 값 또는 구조의 ± 20%, ± 10%, ± 5% 또는 ± 1%를 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "a" 및 "an"은 열거된 구성요소 중의 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. 대체물(예: "또는")의 사용은 대체물의 하나, 둘 다 또는 이의 임의의 조합의 어느 하나를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 문맥상 별도의 요구가 없는 한, 본 명세서 및 특허청구범위를 통해, 단어 "포함한다" 및 이의 변형태, 예를 들면, "포함하다" 및 "포함하는", 뿐만 아니라 "포함한다" 및 "갖다" 등의 동의어 및 이들의 변형태는 열린, 포괄적 의미로 해석되어야 하고; 즉, 리스트 중의 항목의 열거는 본 기술의 재료, 조성물, 장치 및 방법에 유용할 수도 있는 다른 유사한 항목의 배제는 아니도록, "포함하지만, 이들로 한정되지 않는다"로서 해석되어야 한다. 포함하는, 함유하는 또는 갖는 등의 용어의 동의어로서 비제한 용어 "포함하는"을 사용하여 본 발명을 기재하고 특허청구하고 있지만, 본 발명의 기술 또는 이의 구현예는 보다 한정된 용어, 예를 들면, 열거된 구성성분으로 "이루어진" 또는 "실질적으로 이루어진" 등의 보다 한정적 용어를 사용하여 대안적으로 기재될 수도 있다.

[0044] 달리 정의하지 않는 한, 본원 중의 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0045] 본 명세서 전체를 통해 "한 가지 구현예" 또는 "일 구현예"에 대한 언급은 해당 구현예와 관련하여 기재된 특정 특징, 구조 또는 특성이 본 개시의 적어도 하나의 구현예에 포함되는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서를 통해 다양한 개소에서 문구 "한 가지 구현예에서" 또는 "일 구현예에서"의 출현은 반드시 모두가 동일한 구현예를 지칭하는 것은 아니다. 유사하게는, 용어 "can" 및 "may" 및 이들의 변형태는 비-한정적인 것을 의도하고, 따라서 어느 구현예가 특정 요소 또는 특징을 포함할 수 있거나 포함할 수도 있다는 기재는 이들 요소 또는 특징을 포함하지 않는 본 기술의 다른 구현예를 배제하지 않는다. 추가로, 특정 특징, 구조 또는 특성은 하나 이상의 구현예에서 임의의 적합한 방식으로 조합할 수도 있다.

[0046] 하기 기재에서, 본 개시의 다양한 구현예의 완전한 이해를 제공하기 위해 특정의 상세한 설명이 기재되어 있다. 그러나, 당업자는 본 개시가 이들 상세 없이 실시될 수 있다는 것을 이해한다.

[0047] **프로파일링 펩티드**

[0048] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명은 프로파일링 펩티드를 제공한다. 일반적으로, 프로파일링 펩티드는 표 1에 제시된 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하고, 이는 임의로 변형될 수 있다.

표 1

예시적 Mcl-1 결합 도메인

[0049]

서열번호	서열
1	RPEIWMTQGLRRLGDEINAYYAR
2	RPEIWLTQSLQRLGDEINAYYAR
3	RPEIWLTQHLQRLGDEINAYYAR
4	RPEIWMGQGLRRLGDEINAYYAR
5	RPEIWLGQSLQRLGDEINAYYAR
6	RPEIWLGQHLQRLGDEINAYYAR
7	RPEIWITQELRRIGDEFNAYYAR
8	RPEIWMTQELRRIGDEFNAYYAR
9	RPEIWITQGLRRIGDEFNAYYAR
10	RPEIWITQELRRLGDEFNAYYAR
11	RPEIWITQELRRIGDEINAYYAR

[0050] 일부 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0051] "변형된" 펩티드는 본원에 개시된 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 펩티드를 포함한다. 치환은 보존적 또는 비-보존적 치환일 수 있다. 변형된 펩티드는 또한 본래 펩티드 서열에 대한 아미노산의 부가 또는 이로부터 아미노산의 결실을 갖는 펩티드를 포함한다. 따라서, 변형된 펩티드는 본래 펩티드 서열의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형은 하나 이상의 보존적 아미노산 치환, 부가, 결실, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0052] 본원에서 사용되는 바와 같이, "변형"은 단일 아미노산의 치환, 부가 또는 결실을 지칭한다. 따라서, 다수의 변형이 참조되는 경우(예를 들면, 2개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인), 그 수는 치환, 부가 또는 결실될 수 있는 서열의 아미노산 수를 지칭한다. 달리 말하면, 각각의 "치환", "부가" 또는 "결실"은 각각 단일 아미노산을 치환, 부가 또는 제거하고, 하나 이상의 아미노산을 치환, 부가 또는 제거하는 단일 예를 지칭하는 것은 아니다.

[0053] 변형은 프로파일링 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 변경함으로써 도입될 수 있고, 부위-특이적 또는 부위-지시된 돌연변이유발을 포함하는 다양한 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, 돌연변이는 비변형된 서열의 단편에 대한 결찰을 가능하게 하는 제한 부위에 인접하는 돌연변이 서열을 함유하는 올리고뉴클레오티드를 합성함으로써 특정 위치에서 도입할 수 있다. 결찰 후, 수득되는 서열은 목적하는 아미노산 부가, 치환 또는 결실을 갖는 변형된 펩티드를 코딩할 것이다.

[0054] "보존적 치환"은 하기 보존적 치환 그룹 중의 하나에서 발견되는 치환을 포함한다: 그룹 1: 알라닌(Ala 또는 A), 글리신(Gly 또는 G), 세린(Ser 또는 S), 트레오닌(Thr 또는 T); 그룹 2: 아스파르트산(Asp 또는 D), 글루

탐산(Glu 또는 Z); 그룹 3: 아스파라긴(Asn 또는 N), 글루타민(Gln 또는 Q); 그룹 4: 아르기닌(Arg 또는 R), 리신(Lys 또는 K), 히스티딘(His 또는 H); 그룹 5: 이소류신(Ile 또는 I), 류신(Leu 또는 L), 메티오닌(Met 또는 M), 발린 (Val 또는 V); 및 그룹 6: 페닐알라닌(Phe 또는 F), 트립신(Tyr 또는 Y), 트립토판(Trp 또는 W). 추가로 또는 대안적으로, 아미노산은 유사한 기능 또는 화학적 구조 또는 조성(예를 들면, 산성, 염기성, 지방족, 방향족 또는 황-함유)에 의해 보존적 치환 그룹으로 그룹화할 수 있다. 예를 들면, 지방족 그룹은, 치환의 목적으로, Gly, Ala, Val, Leu 및 Ile을 포함할 수 있다. 기타 보존적 치환 그룹은 다음을 포함한다: 황-함유: Met 및 시스테인(Cys 또는 C); 산성: Asp, Glu, Asn 및 Gln; 작은 지방족, 비극성 또는 약간 극성 잔기: Ala, Ser, Thr, 프롤린(Pro 또는 P) 및 Gly; 극성, 음으로 하전된 잔기 및 이들의 아미드: Asp, Asn, Glu 및 Gln; 극성, 양으로 하전된 잔기: His, Arg 및 Lys; 거대 지방족, 비극성 잔기: Met, Leu, Ile, Val 및 Cys; 및 거대 방향족 잔기: Phe, Tyr 및 Trp. 추가의 정보는 문헌[참조: Creighton (1984) Proteins, W.H. Freeman and Company]에서 발견할 수 있다.

[0055] 구현예에서, 본원에 기재된 변형은 천연 존재 아미노산의 합성 아미노산, 아미노산 유사체 또는 아미노산 모방체로의 치환, 또는 합성 아미노산, 아미노산 유사체 또는 아미노산 모방체의 부가를 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, 변형은 하나 이상의 L-아미노산의 D-아미노산으로의 치환을 포함할 수 있다. D-아미노산은 천연 서열에서 발견되는 것과 동일한 아미노산 유형일 수 있거나, 상이한 아미노산일 수 있다.

[0056] "변형"은 또한 천연-존재 아미노산의, 작용기와 접합되거나 달리는 이와 회합되어 있는 아미노산으로의 치환을 포함한다. 이러한 아미노산은, 예를 들면, 글리코실화 아미노산, PEG화된 아미노산, 파르네실화 아미노산, 아세틸화 아미노산, 비오티닐화 아미노산, 지질 모이어티에 접합된 아미노산, 또는 유기 유도체화제에 접합된 아미노산일 수 있다. 이러한 아미노산의 존재는, 예를 들면, 폴리펩티드 저장 안정성을 증가시키고/증가시키거나 펩티드 용해도를 증가시키기 위해 바람직할 수 있다. 이러한 변형은 재조합 생산 동안 번역과 동시에 또는 번역 후에, 또는 합성 수단에 의해 실행할 수 있다.

[0057] 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 1개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인(예를 들면, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 2개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 3개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 4개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 5개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 6개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 7개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 8개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 0 내지 9개 변형, 0 내지 10개 변형, 0 내지 12개 변형, 0 내지 15개 변형 또는 0 내지 20개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0058] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 2개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 3개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 4개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 5개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 6개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 7개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 8개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 9개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1 내지 10개 변형, 1 내지 12개 변형, 1 내지 15개 변형 또는 1 내지 20개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 3개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 4개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 5개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 6개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 7개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 8개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 2 내지 9개 변형, 2 내지 10개 변형, 2 내지 12개 변형, 2 내지 15개 변형 또는 2 내지 20개 변형을

갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0059] 일부 구현예에서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 4개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 5개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 6개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 7개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 8개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 3 내지 9개 변형, 3 내지 10개 변형, 3 내지 12개 변형, 3 내지 15개 변형, 3 내지 20개 변형, 4 내지 5개 변형, 4 내지 6개 변형, 4 내지 7개 변형, 4 내지 8개 변형, 4 내지 9개 변형, 4 내지 10개 변형, 4 내지 12개 변형, 4 내지 15개 변형, 4 내지 20개 변형, 5 내지 6개 변형, 5 내지 7개 변형, 5 내지 8개 변형, 5 내지 9개 변형, 5 내지 10개 변형, 5 내지 12개 변형, 5 내지 15개 변형, 5 내지 20개 변형, 6 내지 7개 변형, 6 내지 8개 변형, 6 내지 9개 변형, 6 내지 10개 변형, 7 내지 8개 변형, 7 내지 9개 변형, 7 내지 10개 변형, 8 내지 9개 변형, 8 내지 10개 변형 또는 9 내지 10개 변형을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 변형을 갖는 변형된 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 본 발명의 프로파일링 펩티드에 포함되는 Mcl-1 결합 도메인 서열은 임의의 위치에 변형을 포함할 수 있다.

[0060] Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 구현예에서, 아미노산 서열은 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산, 10개 아미노산, 11개 아미노산, 12개 아미노산, 13개 아미노산 또는 14개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 15개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 16개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 17개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 18개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 19개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 20개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 단편인 경우, 아미노산 서열은 21개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다.

[0061] 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산, 10개 아미노산, 11개 아미노산, 12개 아미노산, 13개 아미노산 또는 14개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 15개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 16개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 17개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 18개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 19개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 20개 아미노산의 최소 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 단편이고, 아미노산 서열은 21개 아미노산의 최소 길이를 갖는다.

[0062] 추가의 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 10개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 11개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 12개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 13개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 14개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 15개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 16개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 17개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 18개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합

도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 19개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 20개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 적어도 21개 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 적어도 10개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 11개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 12개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 13개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 14개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 15개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 16개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 17개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 18개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 19개 인접 아미노산, 서열번호 1의 적어도 20개 인접 아미노산 또는 서열번호 1의 적어도 21개 인접 아미노산을 포함한다.

[0063] 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 10개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 11개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 12개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 13개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 14개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 15개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 16개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 17개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 18개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 19개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 20개 이하의 인접 아미노산, 또는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 21개 이하의 인접 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 10개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 11개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 12개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 13개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 14개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 15개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 16개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 17개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 18개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 19개 이하의 인접 아미노산, 서열번호 1의 20개 이하의 인접 아미노산, 또는 서열번호 1의 21개 이하의 인접 아미노산을 포함한다.

[0064] 본원에 개시된 Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 70% 서열 동일성(identity)을 갖는 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인의 구현예는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다.

[0065] 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1의 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다.

[0066] "퍼센트 서열 동일성"은, 서열을 비교하여 결정된 바와 같이, 2개 이상의 서열 사이의 관계를 지칭한다. 서열 동일성을 결정하는 바람직한 방법은 시험된 서열 사이의 최상의 정합을 제공하도록 설계된다. 예를 들면, 서열은 최적 비교 목적을 위해 서열을 정렬시킨다(예를 들면, 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중의 하나 또는 둘 다에 갭을 도입할 수 있다). 추가로, 비-상동성 서열을 비교 목적으로 무시할 수 있다.

구현예에서, 비교 목적으로 정렬된 서열의 길이는 참조 서열 길이의 적어도 70%, 80%, 90% 또는 100%이다. 구현예에서, 본원에서 언급된 퍼센트 서열 동일성은 참조 서열 길이에 걸쳐 계산된다. 서열 동일성 및 유사성을 결정하는 방법은 공적으로 이용가능한 컴퓨터 프로그램에서 발견할 수 있다. 서열 정렬 및 퍼센트 동일성 계산은 BLAST 프로그램(예를 들면, BLAST 2.0, BLASTP, BLASTN 또는 BLASTX)를 사용하여 실시할 수 있다. BLAST 프로그램에 사용된 수학적 알고리즘은 문헌[참조: Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997]에서 발견된다. 본 개시의 문맥 내에서, 서열 분석 소프트웨어가 분석에 사용되는 경우, 분석 결과는 참조된 프로그램의 "디폴트 값"에 기초하는 것으로 이해된다. "디폴트 값"은 최초의 초기화시에 소프트웨어에 최초로 로딩되는 값 또는 파라미터의 임의의 세트를 의미한다.

[0067] 구현예에서, 변형된 Mcl-1 결합 도메인은 비변형된 서열의 Mcl-1에의 결합에 대한 특이성 및 친화성을 보유한다(즉, Mcl-1 결합 도메인에 대한 변형은, 통계학적으로 유의한, 임상적으로 유의한 또는 생물학적으로 유의한 방식으로 Mcl-1에의 결합에 대한 특이성 또는 친화성을 변경하지 않는다). 일부 구현예에서, 변형된 Mcl-1 결합 도메인은, 변형된 Mcl-1 결합 도메인의 특이성 및 친화성이 비변형된 서열의 특이성 및 친화성의 적어도 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% 또는 99%인 경우, 비변형된 서열의 Mcl-1에의 결합에 대한 특이성 및 친화성을 보유한다. 예를 들면, 변형된 Mcl-1 결합 도메인은, 변형된 Mcl-1 결합 도메인의 특이성 및 친화성이 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나의 특이성 및 친화성의 적어도 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% 또는 99%인 경우, 비변형된 서열의 Mcl-1에의 결합에 대한 특이성 및 친화성을 보유할 수 있다.

[0068] 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 NOXA에 대하여 적어도 20배 증가된 친화성으로 Mcl-1에 결합한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 NOXA에 대하여 적어도 22배 증가된 친화성으로 Mcl-1에 결합한다. 일부 구현예에서, Mcl-1 결합 도메인은 NOXA에 대하여 적어도 24배 증가된 친화성으로 Mcl-1에 결합한다. Mcl-1 결합 도메인은 NOXA에 대하여 적어도 28배 증가된 친화성으로 Mcl-1에 결합한다.

[0069] Mcl-1 결합 도메인에 대한 임의의 아미노산 변형의 효과는 생물학적 검정에서 기능하거나 표적 분자, 예를 들면, 모노클로날 또는 폴리클로날 항체에 결합하는 능력에 대해 수득되는 변형된 Mcl-1 결합 도메인을 시험함으로써 실증적으로 결정될 수 있다. 예를 들면, 비변형된 서열에 필적하는 형태로 중첩하는 변형된 Mcl-1 결합 도메인의 능력은, 천연 또는 비중첩 폴리펩티드에 특이적인 모노클로날 또는 폴리클로날 항체와 반응시키고 결합 기능의 보유를 시험하고 프로테아제에 의한 소화에 대한 변형된 Mcl-1 결합 도메인의 감수성 또는 내성을 시험하는 것을 포함하는, 당해 기술분야에 공지된 검정을 사용하여 시험할 수 있다.

[0070] 펩티드의 3차 구조를 분석하기 위해 Mcl-1 결합 도메인의 일차 및 이차 아미노산 구조의 분석 및/또는 컴퓨터 모델링은, 그 구조를 유의적으로 변경시키지 않고서 치환, 부가 또는 결실시킬 수 있는 특정 아미노산 잔기의 동정에 조력할 수 있고, 그 결과, Mcl-1 결합 도메인의 결합 특이성 및 친화성을 잠재적으로 현저하게 감소시킬 수 있다.

[0071] 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티를 추가로 포함하고, 이는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 임의로 결합되어 있다. "세포 흡수 모이어티"는, 펩티드와 접합되는 경우, 펩티드와 세포 흡수 모이어티가 외부 세포 막과 교차하고 이에 의해 펩티드를 세포 내로 이동시키는 아미노산 서열 또는 화학적 화합물을 지칭한다. 추가로, 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는, 펩티드를 목적하는 세포 위치(예를 들면, 미토콘드리아)로 지향하도록, 표적 모이어티로서 작용할 수 있다.

[0072] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 펩티드 서열이다. 이러한 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 적어도 4개 아미노산 길이, 적어도 5개 아미노산 길이, 적어도 6개 아미노산 길이, 적어도 7개 아미노산 길이, 적어도 8개 아미노산 길이 또는 적어도 9개 아미노산 길이이다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 1 내지 20개 아미노산, 5 내지 20개 아미노산, 6 내지 20개 아미노산, 7 내지 20개 아미노산, 8 내지 20개 아미노산, 9 내지 20개 아미노산, 10 내지 20개 아미노산, 11 내지 20개 아미노산, 12 내지 20개 아미노산, 15 내지 20개 아미노산, 1 내지 15개 아미노산, 5 내지 15개 아미노산, 6 내지 15개 아미노산, 7 내지 15개 아미노산, 8 내지 15개 아미노산, 9 내지 15개 아미노산, 10 내지 15개 아미노산, 11 내지 15개 아미노산, 12 내지 15개 아미노산, 1 내지 12개 아미노산, 5 내지 12개 아미노산, 6 내지 12개 아미노산, 7 내지 12개 아미노산, 8 내지 12개 아미노산, 9 내지 12개 아미노산, 10 내지 12개 아미노산, 1 내지 10개 아미노산, 5 내지 10개 아미노산, 6 내지 10개 아미노산 또는 7 내지 10개 아미노산의 아미노산 서열을 포함한다.

[0073] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 공지된 펩티드 서열로부터 단리된 형질도입 도메인이다. 형질도입 도메인을 갖는 펩티드는 당해 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들면, 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 전사의 트랜스-활성화 인자(TAT; 문헌[참조: Vives et al. *J Biol Chem.* 1997 Jun 20;272(25):16010-7]에 기재되어 있음), 헤르페스

심플렉스 바이러스 외피 단백질 VP22, 안테나피디아 원형질 막(ANT) 전좌 도메인, 폴리-Arg 서열 등을 포함한다. 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 공지된 형질도입 도메인으로부터 연속 아미노산 서열이다. 다른 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는, 인접 아미노산 서열에 천연적으로 존재하지 않는 하나 이상의 공지된 형질도입 도메인으로부터 2개 이상의 아미노산 서열이고, 예를 들면, 2개의 아미노산 서열을 포함하는 세포 흡수 도메인은 천연의 제3 아미노산 서열에 의해 분리될 것이다.

[0074] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 공지된 펩티드로부터의 임의로 변형된 형질도입 도메인이다. 변형은 공지된 기술을 사용하여 이루어질 수 있다.

[0075] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 임의로 변형된 TAT 전좌 도메인이다. 임의로 변형된 TAT 전좌 도메인은 0 내지 1개 변형, 0 내지 2개 변형, 0 내지 3개 변형, 0 내지 4개 변형, 0 내지 5개 변형, 0 내지 6개 변형, 0 내지 7개 변형, 0 내지 8개 변형, 0 내지 9개 변형, 1 내지 2개 변형, 1 내지 3개 변형, 1 내지 4개 변형, 1 내지 5개 변형, 1 내지 6개 변형, 1 내지 7개 변형, 1 내지 8개 변형, 1 내지 9개 변형, 2 내지 3개 변형, 2 내지 4개 변형, 2 내지 5개 변형, 2 내지 6개 변형, 2 내지 7개 변형, 2 내지 8개 변형, 2 내지 9개 변형, 3 내지 4개 변형, 3 내지 5개 변형, 3 내지 6개 변형, 3 내지 7개 변형, 3 내지 8개 변형, 3 내지 9개 변형, 4 내지 5개 변형, 4 내지 6개 변형, 4 내지 7개 변형, 4 내지 8개 변형 또는 4 내지 9개 변형을 가질 수 있다. 세포 흡수 모이어티 펩티드가 TAT 전좌 도메인의 단편인 경우, 세포 흡수 모이어티 펩티드 서열은 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산 또는 10개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드가 TAT 전좌 도메인의 단편인 경우, 세포 흡수 모이어티 펩티드 서열은 TAT 전좌 도메인의 최소 5개 인접 아미노산, 6개 인접 아미노산, 7개 인접 아미노산, 8개 인접 아미노산, 9개 인접 아미노산 또는 10개 인접 아미노산을 가질 수 있다. 본원에 개시된 변형된 TAT 전좌 도메인은 YGRKKRRQRRR(서열번호 12)의 서열과 적어도 70% 서열 동일성, 적어도 75% 서열 동일성, 적어도 80% 서열 동일성, 적어도 85% 서열 동일성, 적어도 90% 서열 동일성, 적어도 95% 서열 동일성, 적어도 96% 서열 동일성, 적어도 97% 서열 동일성, 적어도 98% 서열 동일성 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 변형된 TAT 전좌 도메인이다. 다른 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 서열번호 12의 서열을 갖는 TAT 전좌 도메인이다.

[0076] 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 TAT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 TAT 전좌 도메인, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11의 서열을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 TAT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 TAT 전좌 도메인, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 12를 갖는 TAT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 12의 TAT 전좌 도메인, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 12의 TAT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 12를 갖는 TAT 전좌 도메인, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0077] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 임의로 변형된 ANT 전좌 도메인이다. 임의로 변형된 ANT 전좌 도메인은 0 내지 1개 변형, 0 내지 2개 변형, 0 내지 3개 변형, 0 내지 4개 변형, 0 내지 5개 변형, 0 내지 6개 변형, 0 내지 7개 변형, 0 내지 8개 변형, 0 내지 9개 변형, 1 내지 2개 변형, 1 내지 3개 변형, 1 내지 4개 변형, 1 내지 5개 변형, 1 내지 6개 변형, 1 내지 7개 변형, 1 내지 8개 변형, 1 내지 9개 변형, 2 내지 3개 변형, 2 내지 4개 변형, 2 내지 5개 변형, 2 내지 6개 변형, 2 내지 7개 변형, 2 내지 8개 변형, 2 내지 9개 변형, 3 내지 4개 변형, 3 내지 5개 변형, 3 내지 6개 변형, 3 내지 7개 변형, 3 내지 8개 변형, 3 내지 9개 변형, 4 내지 5개 변형, 4 내지 6개 변형, 4 내지 7개 변형, 4 내지 8개 변형 또는 4 내지 9개 변형을 가질 수 있다. 세포 흡수 모이어티 펩티드가 ANT 전좌 도메인의 단편인 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드 서열은 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산 또는 10개 아미노산의 최소 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드가 ANT 전좌 도메인의 단편인 경우, 세포 흡수 모이어티 펩티드 서열은 ANT 전좌 도메인의 최소 5개 인접 아미노산, 6개 인접 아미노산, 7개 인접 아미노산, 8개 인접 아미노산, 9개 인접 아미노산 또는 10개 인접 아미노산을 가질 수 있다. 본원에 개시된 변형된 ANT 전좌 도메인은 RQIKIWFQNRRMKWKK(서열번호 13)의 서열과 적어도 70% 서열 동일성, 적어도 75% 서열 동일성, 적어도

80% 서열 동일성, 적어도 85% 서열 동일성, 적어도 90% 서열 동일성, 적어도 95% 서열 동일성, 적어도 96% 서열 동일성, 적어도 97% 서열 동일성, 적어도 98% 서열 동일성 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 변형된 ANT 전좌 도메인이다. 다른 구현예에서, 세포 흡수 모이어티 펩티드는 서열번호 13의 서열을 갖는 ANT 전좌 도메인이다.

[0078] 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 ANT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 ANT 전좌 도메인, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 ANT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 ANT 전좌 도메인, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 13을 갖는 ANT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 13을 갖는 ANT 전좌 도메인, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 13을 갖는 ANT 전좌 도메인, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 서열번호 13을 갖는 ANT 전좌 도메인, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0079] 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 아르기닌 풍부(arginine rich) 아미노산 서열, 예를 들면, 폴리-Arg 서열이다. 일부 구현예에서, 아르기닌 풍부 아미노산 서열은 3 내지 9개 Arg 잔기, 3 내지 10개 Arg 잔기, 3 내지 11개 Arg 잔기, 3 내지 12개 Arg 잔기, 4 내지 9개 Arg 잔기, 4 내지 10개 Arg 잔기, 4 내지 11개 Arg 잔기, 4 내지 12개 Arg 잔기, 5 내지 9개 Arg 잔기, 5 내지 10개 Arg 잔기, 5 내지 11개 Arg 잔기, 5 내지 12개 Arg 잔기, 6 내지 9개 Arg 잔기, 6 내지 10개 Arg 잔기, 6 내지 11개 Arg 잔기, 6 내지 12개 Arg 잔기, 7 내지 9개 Arg 잔기, 7 내지 10개 Arg 잔기, 7 내지 11개 Arg 잔기, 7 내지 12개 Arg 잔기, 8 내지 9개 Arg 잔기, 8 내지 10개 Arg 잔기, 8 내지 11개 Arg 잔기, 8 내지 12개 Arg 잔기, 9 내지 10개 Arg 잔기, 9 내지 11개 Arg 잔기 또는 9 내지 12개 Arg 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-Arg 서열은 3개 Arg 잔기, 4개 Arg 잔기, 5개 Arg 잔기, 6개 Arg 잔기, 7개 Arg 잔기, 8개 Arg 잔기, 9개 Arg 잔기, 10개 Arg 잔기, 11개 Arg 잔기 또는 12개 Arg 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-Arg 서열은 3 내지 9개 인접 Arg 잔기, 3 내지 10개 인접 Arg 잔기, 3 내지 11개 인접 Arg 잔기, 3 내지 12개 인접 Arg 잔기, 4 내지 9개 인접 Arg 잔기, 4 내지 10개 인접 Arg 잔기, 4 내지 11개 인접 Arg 잔기, 4 내지 12개 인접 Arg 잔기, 5 내지 9개 인접 Arg 잔기, 5 내지 10개 인접 Arg 잔기, 5 내지 11개 인접 Arg 잔기, 5 내지 12개 인접 Arg 잔기, 6 내지 9개 인접 Arg 잔기, 6 내지 10개 인접 Arg 잔기, 6 내지 11개 인접 Arg 잔기, 6 내지 12개 인접 Arg 잔기, 7 내지 9개 인접 Arg 잔기, 7 내지 10개 인접 Arg 잔기, 7 내지 11개 인접 Arg 잔기, 7 내지 12개 인접 Arg 잔기, 8 내지 9개 인접 Arg 잔기, 8 내지 10개 인접 Arg 잔기, 8 내지 11개 인접 Arg 잔기, 8 내지 12개 인접 Arg 잔기, 9 내지 10개 인접 Arg 잔기, 9 내지 11개 인접 Arg 잔기 또는 9 내지 12개 인접 Arg 잔기를 포함한다.

[0080] 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 아르기닌 풍부 아미노 서열, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 아르기닌 풍부 아미노 서열, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 아르기닌 풍부 아미노산 서열, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 아르기닌 풍부 아미노 서열, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 3 내지 10개 인접 Arg 잔기를 갖는 폴리-Arg 서열, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 3 내지 10개 인접 Arg 잔기를 갖는 폴리-Arg 서열, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 3 내지 10개 Arg 잔기를 갖는 폴리-Arg 서열, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 3 내지 10개 인접 Arg 잔기를 갖는 폴리-Arg 서열, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0081] 구현예에서, 변형된 세포 흡수 모이어티 펩티드는, 펩티드와 접합되는 경우, 비변형된 서열이 세포 막을 교차하는 능력을 보유한다(즉, 세포 흡수 모이어티 펩티드에 대한 변형은, 펩티드와 접합되는 경우, 통계학적으로 유

의한, 임상적으로 유의한 또는 생물학적으로 유의한 방식으로 세포 막을 교차하는 능력을 변경하지 않는다). 일부 구현예에서, 변형된 세포 흡수 모이어티 펩티드는, 변형된 세포 흡수 모이어티 펩티드의 내재화 효율이 비변형된 서열의 내재화 효율의 적어도 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% 또는 99%인 경우, 펩티드에 접합할 때에 세포 막을 교차하는 비변형된 서열의 능력을 보유한다.

[0082] 대안적으로, 세포 흡수 모이어티는 화학적 화합물일 수 있다. 세포 내재화를 촉진하는 화학적 화합물은 당업자에 의해 이해되어 있고, 예를 들면, 콜레스테롤 모이어티, 옥탄산, 리토콜산, 올레일 알콜, 리토콜산 올레일아미드 및 데칸산을 포함한다.

[0083] Mcl-1 결합 도메인 및 세포 흡수 모이어티는 당해 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방식으로 화학적 커플링에 의해 연결될 수 있다. 세포 흡수 모이어티는 임의의 적합한 위치, 예를 들면, Mcl-1 결합 도메인의 N-말단 또는 C-말단에서 직접 또는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 연결될 수 있다. 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 Mcl-1 결합 도메인의 N-말단에 접합된다. 추가의 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인의 N-말단에 접합된다. 다른 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 Mcl-1 결합 도메인의 C-말단에 접합된다. 여전히 추가 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인의 C-말단에 접합된다.

[0084] 적합한 링커는, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 임의 길이의 펩티드 서열 및 기타 화학적 링커를 포함한다. 짧은 펩티드 서열은 특정 구현예에서, 예를 들면, 비하전된 아미노산, 비-극성 아미노산 및/또는 작은 아미노산을 포함하는 펩티드 서열에서 사용된다. 일부 구현예에서, 링커는 1 내지 5개 아미노산의 아미노산 서열이다. 예를 들면, 일부 예시적 링커는 Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Met, Ile 및/또는 Phe 아미노산을 포함한다. 적합한 펩티드 서열의 다른 예는 2개의 Pro 잔기, 3개의 Gly 잔기 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는, 세포 흡수 모이어티가 세포 내로 침입시 또는 침입 후에 절단되도록 하는 방식으로 Mcl-1 결합 도메인에 연결된다. 특정 구현예에서, 링커는 3개의 Gly 잔기, 예를 들면, GGG를 포함한다.

[0085] 본 발명의 프로파일링 펩티드의 구현예는 20 내지 40개 아미노산 길이, 20 내지 45개 아미노산 길이, 20 내지 50개 아미노산 길이, 25 내지 40개 아미노산 길이, 25 내지 45개 아미노산 길이, 25 내지 50개 아미노산 길이, 30 내지 36개 아미노산 길이, 30 내지 37개 아미노산 길이, 30 내지 38개 아미노산 길이, 30 내지 39개 아미노산 길이, 30 내지 40개 아미노산 길이, 30 내지 45개 아미노산 길이, 30 내지 50개 아미노산 길이, 31 내지 36개 아미노산 길이, 31 내지 37개 아미노산 길이, 31 내지 38개 아미노산 길이, 31 내지 39개 아미노산 길이, 31 내지 40개 아미노산 길이, 32 내지 36개 아미노산 길이, 32 내지 37개 아미노산 길이, 32 내지 38개 아미노산 길이, 32 내지 39개 아미노산 길이, 32 내지 40개 아미노산 길이, 33 내지 36개 아미노산 길이, 33 내지 37개 아미노산 길이, 33 내지 38개 아미노산 길이, 33 내지 39개 아미노산 길이, 33 내지 40개 아미노산 길이, 34 내지 36개 아미노산 길이, 34 내지 37개 아미노산 길이, 34 내지 38개 아미노산 길이, 34 내지 39개 아미노산 길이, 34 내지 40개 아미노산 길이, 35 내지 36개 아미노산 길이, 35 내지 37개 아미노산 길이, 35 내지 38개 아미노산 길이, 35 내지 39개 아미노산 길이, 35 내지 40개 아미노산 길이, 35 내지 45개 아미노산 길이, 35 내지 50개 아미노산 길이, 36 내지 37개 아미노산 길이, 36 내지 38개 아미노산 길이, 36 내지 39개 아미노산 길이, 36 내지 40개 아미노산 길이, 37 내지 38개 아미노산 길이, 37 내지 39개 아미노산 길이, 37 내지 40개 아미노산 길이, 38 내지 39개 아미노산 길이, 38 내지 40개 아미노산 길이 또는 39 내지 40개 아미노산 길이일 수 있다.

[0086] 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 세포 흡수 모이어티, 및 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함한다.

[0087] 구현예에서, 프로파일링 펩티드는, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인에 링커를 통해 접합된 서열번호 12를 갖는 세포 흡수 모이어티를 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는, 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인에 링커를 통해 접합된 서열번호 12를 갖는 세포 흡수 모이어티를 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인에 링커를 통해 접합된 서열번호 12를 갖는 세포 흡수 모

이어티를 포함한다. 구현예에서, 프로파일링 펩티드는, 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인에 링커를 통해 접합된 서열번호 12를 갖는 세포 흡수 모이어티를 포함한다.

[0088] 특정 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 YGRKKRRQRRRGGGRPEIWMTQGLRRLGDEINAYYAR(서열번호 14)의 서열을 갖는다. 다른 구현예에서, 프로파일링 펩티드는 RPEIWMTQGLRRLGDEINAYYARGGGYGRKKRRQRRR(서열번호 15)의 서열을 갖는다.

[0089] 변형된 프로파일링 펩티드는 표준 화학적 방법에 의해 합성하고 정제할 수 있다. 펩티드는 수동 기술에 의해 또는 자동화 절차에 의해 화학적으로 합성할 수 있다. 펩티드의 자동화 합성을 위한 장치는 퍼킨-엘머, 인코포레이티드(Perkin-Elmer, Inc. (Waltham, MA)) 등의 공급업자로부터 시판되고 있고, 제조업자의 지시에 따라 조작할 수 있다. 추가로, 합성된 프로파일링 펩티드는 임의 수의 상이한 커스텀 펩티드 합성 제조업자로부터 수득할 수 있다. 필요한 경우, 합성된 펩티드는 예비 역상 크로마토그래피, 분배 크로마토그래피, 겔 여과, 겔 전기영동, 이온-교환 크로마토그래피, 또는 당해 기술분야에서 사용되는 기타 방법을 사용하여 정제할 수 있다.

[0090] 대안적으로, 변형된 프로파일링 펩티드는 유전자 공학 및 재조합 분자 생물학 방법 및 기술에 의해 용이하게 제조할 수 있다. 예를 들면, 변형된 프로파일링 펩티드 또는 이의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 재조합 방법에 의해 작제하거나 화학적으로 합성할 수 있다(이러한 장치를 자동 합성기로서 사용하여). 화학적 합성 또는 재조합 합성 후에 폴리뉴클레오티드를 정제하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 작제된 또는 합성된 폴리뉴클레오티드는, 발현 벡터가 도입되어 있는 숙주 세포에서 프로파일링 펩티드를 생산하기 위해 발현 벡터(예: 플라스미드, 바이러스 입자 또는 파지)에 도입할 수 있다. 본원에 기재된 프로파일링 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 다양한 상이한 숙주 세포에서 재조합 발현시킬 수 있다. 이어서, 숙주 세포는 발현 벡터로 유전자 조작(형질도입, 형질전환 또는 형질감염)할 수 있다. 특정 숙주 세포를 위한 배양 조건, 예를 들면, 온도, pH 등의 선택 및 유지는 당업자에게 용이하게 명백할 것이다. 이어서, 생산된 펩티드는 당해 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수확하고 정제할 수 있다.

[0091] **조성물**

[0092] 또한, 본원에 기재된 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물이 본원에 개시되어 있다. 적합한 담체는 프로파일링 펩티드의 안정성 및 완전성을 유지하는 것들을 포함한다. 담체는 희석제, 부형제, 보존제 또는 용매를 포함한다.

[0093] 구현예에서, 하나 이상의 프로파일링 펩티드가 조성물에 포함될 수 있다. 이러한 구현예에서, 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 프로파일링 펩티드가 포함된다.

[0094] 추가의 구현예에서, 본원에 개시된 조성물은 검출제를 추가로 포함한다. 검출제는 임의의 적합한 약제, 예를 들면, 형광 염료, 비-형광 염료(예를 들면, 형광 염료로 전환될 수 있는 비-형광 염료), 항체 등일 수 있다. 형광 염료는, 예를 들면, 5,5',6,6'-테트라클로로-1,1',3,3'-테트라에틸-이미다카보시아닌 요오다이드(JC-1), 프로피디움 요오다이드(PI), 1,1',3,3,3',3'-헥사메틸인도디카보-시아닌 요오다이드(DiIC1) 및 3,3'-디헥실옥사카보시아닌 요오다이드($DiOC_6$)을 포함한다. 다양한 구현예에서, 형광 염료는 전위차 염료이다. "전위차 염료"는 전압 변화에 응답하여 특성, 예를 들면, 형광을 변화시키는 염료이다. 적합한 전위차 염료는, 예를 들면, DiIC1, JC-1 및 로다민 123을 포함한다. 구현예에서, 포함되는 전위차 염료는 JC-1 또는 로다민 123이다. 다른 구현예에서, 염료는 디하이드로로다민 123, 산화를 통해 로다민 123으로 전환될 수 있는 비-형광 염료, 형광 염료이다.

[0095] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 디지토닌 등의 세포 투과제를 포함하지 않는다. "세포 투과제"는, 소기관을 포함하는 세포내 영역으로의 접근이 제공되도록, 외부 세포 막을 파괴하는 임의의 시약이다. 2종류의 시약이 세포 투과제로서 일반적으로 사용된다: (1) 메탄올 및 아세톤 등의 유기 용매, 및 (2) 사포닌, 트리톤 X-100 및 Tween-20 등의 세정제. 일반적으로, 유기 용매는 세공을 잔류시키는 막 중에 지질을 용해시킴으로써 외부 세포 막을 투과한다. 세정제는 일반적으로, 막 콜레스테롤과 상호작용하여 막 콜레스테롤을 선택적으로 제거하는 것 등에 의해 외부 막에 세공을 생성한다.

[0096] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 전체 세포를 추가로 포함한다. 구현예에서, 전체 세포는 암 세포이다. 특정 구현예에서, 암 세포는 인간 종양-유래 세포주이다. 특정 구현예에서, 암 세포는 암 줄기 세포이다. 일부 구현예에서, 암 세포는 종양으로부터 단리된다. 특정 구현예에서, 암 세포는 비-고형 종양의 생검으로부터 유래한다. 구현예에서, 암 세포는 대상체의 말초 혈액으로부터 수득된다. 다른 구현예에서, 암 세포는 대

상체의 골수로부터 수득된다.

[0097] 특정 구현예에서, 암 세포는 다발성 골수종, AML, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 맨틀 세포 림프종, 확산 거대 B-세포 림프종 및 비-호지킨 림프종을 갖는 대상체의 생검으로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 암 세포는, 예를 들면, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군(MDS), AML, ALL, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, CLL, 맨틀 세포 림프종, 확산 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종을 포함하는 혈액암으로부터 유래한다. 특정 구현예에서, 암은 AML이다.

[0098] 일부 구현예에서, 암 세포는 고형 종양으로부터 유래한다. 구현예에서, 암 세포는 고형 종양의 생검, 예를 들면, 결장직장, 유방, 전립선, 폐, 췌장, 신장 또는 난소 원발성 종양의 생검으로부터 유래한다. 다양한 구현예에서, 암 세포는 전-전이성 암 또는 전이성 암으로부터 단리된다.

[0099] 본 발명의 조성물은, 적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에서 암의 치료에 사용하기 위한 치료용 조성물을 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은, 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득된다. 본 발명의 조성물은 또한 치료제를 포함하는 암 치료용 조성물을 포함하고, 이는 적어도 15%의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 투여되고, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은, 복수의 암 세포의 제1 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득된다.

[0100] **키트**

[0101] 본 발명은 본원에 기재된 프로파일링 펩티드 및 검출제를 포함하는 키트를 추가로 제공한다. 본 발명의 키트에 포함되는 검출제는 임의의 적합한 약제, 예를 들면, 형광 염료, 형광 염료로 전환될 수 있는 비-형광 염료, 항체 등일 수 있다. 형광 염료는, 예를 들면, 5,5',6,6'-테트라클로로-1,1',3,3'-테트라에틸-이미다카보시아닌 요오다이드(JC-1), 프로피디움 요오다이드(PI), 1,1',3,3,3',3'-헥사메틸인도디카보-시아닌 요오다이드(DiIC1) 및 3,3'-디헥실옥사카보시아닌 요오다이드($DiOC_6$)를 포함한다. 다양한 구현예에서, 형광 염료는 전위차 염료이다. 적합한 전위차 염료는, 예를 들면, DiIC1, JC-1 및 로다민 123을 포함한다. 구현예에서, 포함되는 전위차 염료는 JC-1 또는 로다민 123이다. 다른 구현예에서, 염료는 디하이드로로다민 123, 산화를 통해 로다민 123으로 전환될 수 있는 비-형광 염료, 형광 염료이다.

[0102] 구현예에서, 하나 이상의 프로파일링 펩티드가 키트에 포함될 수 있다. 이러한 구현예에서, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 프로파일링 펩티드가 포함된다. 하나 이상의 프로파일링 펩티드가 제공되는 다양한 구현예에서, 프로파일링 펩티드의 조합물의 사용 순서 및/또는 사용 설명서가 키트에 포함될 수 있다.

[0103] 키트는 본원에 개시된 방법에서 키트를 사용하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 설명서는 프로파일링 펩티드 및/또는 검출제의 제조에 관한 설명서; 키트의 사용과 연관된 결과를 해석하기 위한 적절한 참조 레벨; 관련 폐기물의 적절한 처리 등을 포함한다. 설명서는 키트 내에 제공된 인쇄된 설명서의 형태일 수 있거나, 설명서는 키트를 수용하는 용기의 일부에 인쇄될 수 있다. 설명서는 시트, 팜플렛, 브로셔, CD-Rom 또는 컴퓨터-판독가능한 장치의 형태일 수 있거나, 웹사이트 등의 원격지에서 설명서를 탐색하기 위한 지시를 제공할 수 있다. 설명서는 영어 및/또는 국가별 또는 지역별 언어일 수 있다.

[0104] 이러한 키트는 하나 이상의 시약, 검정 대조군, 또는 웰 플레이트, 시린지, 앰플, 바이알, 튜브, 튜빙, 페이스 마스크, 무침 유체 이송 장치, 주입 캡, 스폰지, 멸균 부착 스트립, 클로라프렙, 글로브 등과 같이 샘플의 평가에 필요한 다른 공급물을 추가로 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 키트는 디지토닌 등의 세포 투과제를 포함하지 않는다. 본원에 기재된 임의의 키트의 내용물의 변형이 이루어질 수 있다. 다양한 구현예에서, 프로파일링 펩티드 및 검출제는, 임의로 하나 이상의 시약 또는 공급물과 조합하여, 임의로 사용 설명서를 갖는 소형용기에 조합된다.

[0105] 일부 구현예에서, 본 발명의 키트는 검출제, 및 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서,

본 발명의 키트는 검출제, 및 세포 흡수 모이어티, 및 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 키트는 검출제, 및 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 키트는 검출제, 및 세포 흡수 모이어티, 및 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 상기 구현예의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 키트는 검출제 및 서열번호 14의 서열을 갖는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 키트는 검출제 및 서열번호 15의 서열을 갖는 프로파일링 펩티드를 포함한다. 상기 구현예의 어느 하나에서, 키트는 세포 투과제를 포함하지 않을 수 있다. 상기 구현예의 어느 하나에서, 검출제는 전위차 염료일 수 있다.

[0106] **사용 방법**

[0107] 또한, 본원에는 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법이 기재되어 있다. 일부 구현예는 암 세포를 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 것을 포함한다. 프로파일링 펩티드는 당해 기술분야에 공지된 임의의 것들(예: NOXA) 또는 본원에 개시된 임의의 프로파일링 펩티드일 수 있다. 이러한 방법은 암 세포 또는 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법은 대상체로부터 암 세포 또는 복수의 암 세포를 단리하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 암 세포는 인간 종양-유래 세포주로부터의 것이다. 특정 구현예에서, 암 세포는 암 줄기 세포이다. 일부 구현예에서, 암 세포는 종양으로부터 단리된다. 특정 구현예에서, 암 세포는 비-고형 종양의 생검으로부터 유래한다. 구현예에서, 암 세포는 대상체의 말초 혈액으로부터 수득된다. 다른 구현예에서, 암 세포는 대상체의 골수로부터 수득된다.

[0108] 특정 구현예에서, 암 세포는 다발성 골수종, AML, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종 및 비-호지킨 림프종을 갖는 대상체의 생검으로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 암 세포는, 예를 들면, 다발성 골수종, MDS, AML, ALL, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, CLL, 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종을 포함하는 혈액 암으로부터 유래한다. 특정 구현예에서, 암은 AML이다.

[0109] 일부 구현예에서, 암 세포는 고형 종양으로부터 유래한다. 구현예에서, 암 세포는 고형 종양의 생검, 예를 들면, 결장직장, 유방, 전립선, 폐, 췌장, 신장 또는 난소 원발성 종양의 생검으로부터 유래한다. 다양한 구현예에서, 암 세포는 전-전이성 또는 전이성 암으로부터 단리된다. 일부 구현예에서, 암 세포는 순환 종양 세포이다.

[0110] 특정 구현예에서, 암 세포는, 고형 매트릭스 또는 비드에 결합된 항-CD138 항체를 사용하여 생검 샘플로부터 선택에 의해 농후화되어 있는 다발성 골수종 세포이다. 특정 구현예에서, 암 세포는, CD45-지향성 항체에의 결합에 의해 농후화되어 있는 AML 세포이다. 특정 구현예에서, 암 세포는, 비-B 세포 고갈에 의해 농후화되어 있는 만성 림프절성 백혈병 또는 확산성 거대 B-세포 림프종으로부터 유래한다.

[0111] 다양한 구현예에서, 복수의 암 세포는 동결되어 있는 샘플로부터 유래한다. 다른 구현예에서, 복수의 암 세포는 동결되지 않은, 즉 새롭게 수집된 샘플로부터 유래한다.

[0112] 암 세포 또는 복수의 암 세포를 프로파일링하는 방법은 복수의 암 세포를 하나 이상의 표지(label)와 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 유동 세포계측법을 사용하는 일부 구현예에서, 표지는, 세포 막의 특징 또는 기타 세포 구조에 대한 친화성을 갖는 항체 또는 화학적 실체에 부착된 형광단이다. 유동 세포계측법을 사용하는 다른 구현예에서, 표지는 세포 막의 특징 또는 기타 세포 구조에 대한 친화성을 갖는 항체 또는 화학적 실체에 부착된 양자 도트이다. 이들 임의의 구현예에서, 항체 또는 화학적 실체는 임의의 적합한 세포 표면 마커, 예를 들면, CD3, CD13, CD20, CD33, CD34 또는 CD45를 인식할 수 있다. 다양한 구현예에서, 표지의 조합이 사용된다.

[0113] 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법은 암 세포를 본원에 개시된 하나 이상의 프로파일링 펩티드와 접촉시키고 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개 프로파일링 펩티드가 한번에 사용될 수 있다. 이러한 구현예에서, 프로파일링 펩티드의 패널은 단일 대상체 표본 상에서 스크리닝할 수 있다.

[0114] 미토콘드리아 완전성의 변화는 임의의 적합한 방식, 예를 들면, 미토콘드리아 막 전위의 변화, 크로마틴 응축, 생존능의 상실, 미토콘드리아 막간 공간으로부터 시토졸로의 사이토크롬 C 전위, 미토콘드리아의 팽윤, 미토콘

드리아 분열, 형태학적 변화(예: 세포 수축, 막 블레빙 등), 포스파티딜 세린 외면화(예: 아넥신 V 염색에 의해 측정) 또는 반응성 산소 중간체의 증가로 검출할 수 있다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 미토콘드리아 완전성의 변화의 징후 각각에 대한 다양한 검출 방법을 사용할 수 있다. 예를 들면, 미토콘드리아 막 전위의 변화는 전위차 염료, 예를 들면, DiIC1, JC-1 또는 로다민 123을 사용하여 측정할 수 있다. 한 가지 구현예에서, 전위차 염료는 JC-1 또는 로다민 123이다. 또 다른 예에서, 사이토크롬 C 전좌는 면역형광 염색을 사용하여 측정할 수 있다. 추가의 예에서, 반응성 산소 중간체의 증가는 카복시-디클로로플루오레세인 디아세테이트로 염색한 후에 유동 세포계측 분석으로 측정할 수 있다.

[0115] 구현예에서, 미토콘드리아 완전성의 변화는 미토콘드리아 완전성의 감소일 수 있다. 일부 구현예에서, 미토콘드리아 완전성의 감소는 미토콘드리아 막 전위의 저하에 의해 측정된다. 미토콘드리아 전위의 저하는 당해 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여, 예를 들면, 전위차 염료(예: JC-1 또는 로다민 123)을 사용하여 결정할 수 있다. 일부 구현예에서, 미토콘드리아 완전성의 감소는 사이토크롬 C 누출에 의해 측정된다. 일부 구현예에서, 저하는 통계학적으로 유의한, 임상적으로 유의한 또는 생물학적으로 유의한 저하일 수 있다. 일부 구현예에서, 저하는, 대조군과 비교하여, 본원에 기재된 바와 같이, 미토콘드리아 완전성의 측정에서 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 차이이다.

[0116] 다양한 구현예에서, 복수의 암 세포는 프로파일링의 목적으로 3개 부분으로 분할된다. 이러한 구현예에서, 한 부분은 음성 대조군으로 치료하고, 한 부분은 양성 대조군과 접촉시키고, 한 부분은 본원에 개시된 하나 이상의 프로파일링 펩티드, 또는 하나 이상의 프로파일링 펩티드를 포함하는 조성물과 접촉시킬 수 있다.

[0117] 임의의 적합한 양성 대조군이 사용될 수 있다. 양성 대조군의 예는 카보닐 시아나이드-4-(트리플루오로메톡시)페닐하이드라존(FCCP), 카보닐 시아나이드 m-클로로페닐 하이드라존(CCCP), N5,N6-비스(2-플루오로페닐)-[1,2,5]옥사디아졸로[3,4-b]피라진-5,6-디아민(BAM-15) 등이다. 특정 구현예에서, 사용된 양성 대조군은 CCCP이다. 임의의 적합한 음성 대조군이 사용될 수 있다. 음성 대조군의 예는 물 및 수용성 유기 용매, 예를 들면, DMSO, 에탄올 및 메탄올을 포함한다.

[0118] 일부 구현예에서, 복수의 암 세포는 이어서 상기 기재된 바와 같이 형광 염료와 접촉시킨다. 특정 구현예에서, 염료는 JC-1 또는 $DiOC_6$이다. 이러한 구현예에서, 복수의 암 세포는 이어서 유동 세포계측법을 사용하여 분석할 수 있다. 임의의 적합한 게이팅이 유동 세포계측 분석에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 게이팅은 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단이다. 다른 구현예에서, 이러한 게이팅은 CD34 dim, CD3 및 CD20 고 모집단이다. 따라서, 본 발명의 구현예는, 대상체로부터 복수의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은, 복수의 암 세포를 샘플로부터 단리하는 단계, 복수의 암 세포를 표지와 접촉시키는 단계, 복수의 암 세포의 제1 부분을 음성 대조군으로 치료하는 단계, 복수의 암 세포의 제2 부분을 양성 대조군으로 치료하는 단계, 복수의 암 세포의 제3 부분을, 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)로 치료하는 단계, 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 염료와 접촉시키는 단계, 및 복수의 암 세포의 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 유동 세포계측법에 의해 분석하는 단계를 포함한다.

[0119] 일부 구현예에서, 칼슘 채널에 대해 고친화성을 갖는 첨가제가 복수의 암 세포에 첨가된다. 이러한 일부 구현예에서, 첨가제는 디테르페노이드이다. 특정 구현예에서, 첨가제는 리아노딘이다. 구현예에서, 첨가제는, 비특이적 염료 흡수를 유의적으로 감소 또는 방지하기에 충분한 농도로 첨가된다. 일부 구현예에서, 첨가제는 적어도 20nM의 농도로 첨가된다. 일부 구현예에서, 첨가제는 적어도 30nM의 농도로 첨가된다.

[0120] 본 발명의 방법은 대상체 샘플로부터 복수의 암 세포를 단리하는 단계; 이어서 세포를 표지하는 단계; 음성 대조군, 양성 대조군, 또는 본 발명의 프로파일링 펩티드로 치료하는 단계; 염료와 접촉시키는 단계; 및 유동 세포계측법으로 분석하는 단계를 포함한다.

[0121] 본 발명의 예시적 방법에서, 복수의 암 세포를 대상체 샘플로부터 단리하고, 샘플 품질을 확인한다. 이어서, 세포를 펠렛화하고, BSA에서 차단하고, 표지했다. 염색 후, 세포를 펠렛화하고, 3개 부분으로 분리하고, 물 또는 디메틸 설폭사이드(DMSO)(음성 대조군), CCCP(양성 대조군) 또는 본 발명의 프로파일링 펩티드(대상 의존성)로 치료했다. $DiOC_6$, 양이온성 미토콘드리아 염료를 첨가한다. 이어서, 세포를 유동 세포계측법에 의해 분석한다.

[0122] 일부 구현예에서, 복수의 암 세포를 일차 골수 흡인물로부터 단리하고, 샘플 품질을 확인한다. 이어서, 세포를 펠렛화하고, BSA에서 차단하고, B 및 T 세포에 특이적인 마커, 뿐만 아니라 단구 분화 마커 및 블라스트-특이적 마커에 대해 표지한다. 염색 후, 세포를 펠렛화하고, 3개 부분으로 분리하고, 물(음성 대조군), CCCP(양성 대조군 또는 서열번호 14(대상 의존성)로 치료한다. $DiOC_6$, 양이온성 미토콘드리아 염료를 첨가한다. 세포를 유동 세포계측법에 의해 분석한다. 블라스트 세포는 각 샘플의 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅하여 단리한다.

[0123] 특정 구현예에서, 복수의 암 세포는 밀도-구배 원심분리를 사용하여 원발성 골수 흡인물로부터 단리한다. 샘플 품질은 트리판 블루 배제법을 사용하여 결정한다. 이어서, 세포를 펠렛화하고, BSA에서 차단하고, B 및 T 세포에 특이적인 마커, 또한 단구 분화 마커 및 블라스트-특이적 마커에 대해 표지한다. 염색 후, 세포를 펠렛화하고, 형광-활성화 세포 선별(FACS) 튜브로 분리하고, 물(음성 대조군), CCCP(양성 대조군) 또는 서열번호 14(대상 의존성)으로 치료한다. $DiOC_6$, 양이온성 미토콘드리아 염료를 첨가한다. 이어서, 세포를 유동 세포계측법에 의해 분석한다. 블라스트 세포는 각 샘플의 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅하여 단리한다.

[0124] 본원에 기재된 일부 방법은, 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 복수의 암 세포의 제1 부분에 대해 Mcl-1 의존성 백분율을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0125] 구현예에서, Mcl-1 의존성 백분율(또는 Mcl-1 프라이밍 백분율; PP로서 지칭됨)은 하기 수학식에 의해 정의된다:

[0126] $$PP = \left[1 - \left(\frac{Pep - PC}{NC - PC}\right)\right] * 100$$

[0127] 여기서, PC는 양성 대조군의 AUC이고, NC는 음성 대조군의 AUC이고, Pep은 프로파일링 펩티드의 AUC이다. 달리 기재되지 않는 한, 본원에서 계산된 Mcl-1 의존성 백분율은, 양성 대조군으로서 CCCP 및 음성 대조군으로서 물 또는 DMSO를 사용하는 1μM의 프로파일링 펩티드 농도에 상응한다. AUC는 곡선하 면적 또는 신호 강도이다. 구현예에서, AUC는 중앙 형광 강도(MFI)이다. 일부 구현예에서, 곡선하 면적은 균일 시간-분해 형광(HTRF)에 의해 확립된다. 일부 구현예에서, 시간은 약 0 내지 약 300분으로부터 약 0 내지 약 30분까지의 윈도우에 발생한다. 일부 구현예에서, 곡선하 면적은 당해 기술분야에 공지되거나 본원에 기재된 바와 같이 형광 활성화 세포 선별(FACS) 또는 마이크로플레이트 검정에 의해 확립된다. 일부 구현예에서, 신호 강도는 약 5분 내지 약 300분에서 발생하는 단일 시점의 측정치이다.

[0128] 하나 이상의 프로파일링 펩티드가 사용되는 구현예에서, Mcl-1 의존성 백분율(PP)는 하기 수학식에 의해 정의된다:

[0129] $$PP = \left[100 * \left(\frac{NC\ AUC - Pep_1\ AUC}{NC\ AUC - PC_{avg}\ AUC}\right)\right] Pep_1 + \left[100 * \left(\frac{NC\ AUC - Pep_2\ AUC}{NC\ AUC - PC_{avg}\ AUC}\right)\right] Pep_2 + \cdots \left[100 * \left(\frac{NC\ AUC - Pep_n\ AUC}{NC\ AUC - PC_{avg}\ AUC}\right)\right] Pep_n$$

[0130] 구현예에서, 미토콘드리아 완전성의 감소는 암 세포가 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 본원에 사용되는 바와 같이, "치료제"는, 항암 요법 섭생의 일부로서 투여되는 임의의 항암 화합물을 지칭한다. 구현예에서, 치료제는 사이클린-의존성 키나제 9(CDK9) 억제제이다. 일부 구현예에서, 치료제는 알보시딥이다.

[0131] 구현예에서, 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법은 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법을 포함한다. 따라서, 본 발명의 방법은, 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법으로서, 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 및 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계를 포함하고, 여기서 미토콘드리아 완전성의 감소는 암 세포가 치료제에 대해 감수성인 것을 나타내는, 방법을 포함한다. 추가의 구현예에서, 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법은 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계를 포함하고, 여기서 소정 값 이상의 상

기 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 치료제에 대해 감수성인 것을 나타낸다. 상기 구현예의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는 투과처리되지 않을 수 있다.

[0132] 추가의 구현예는, 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 미토콘드리아 완전성의 감소는 암 세포가 치료제에 대해 감수성인 것을 나타내는, 방법을 제공한다. 여전히 추가 구현예는, 치료제에 대한 대상체의 암 세포의 감수성을 예측하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계를 포함하고, 여기서 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 치료제에 감수성인 것을 나타내는, 방법을 제공한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11을 갖는다.

[0133] 추가 구현예는 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드의 용도를 제공한다. 따라서, 본 발명의 구현예는, 치료제에 대한 환자 반응을 예측하는 방법에서 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드의 용도를 포함하고, 상기 방법은 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 것을 추가로 포함하고, 여기서 미토콘드리아 완전성의 감소는 암 세포가 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는 투과처리되지 않을 수 있다.

[0134] 구현예에서, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75%의 소정 값을 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 알보시딥과 다른 치료제, 예를 들면, Ara-C, 미토크산트론, 베네토클락스, 다우노루비신, Brd4 억제제(예: JQ1) 및/또는 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제(예: 아자시티딘 또는 데시타빈)와의 조합물로서 치료제, 예를 들면, 알보시딥에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 15%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 알보시딥과 다른 치료제와의 조합물로서 치료제, 예를 들면, 알보시딥에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 20%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 25%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 30%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 35%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 40%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 45%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서 치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 50%를 초과하는 Mcl-1 의존성 백분율은 암 세포가 단일 약제로서 또는 다른 치료제와의 조합물로서

치료제에 감수성인 것을 나타낸다. 상기 특정 구현예에서, 치료제는 알보시딥이다.

[0135] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 암을 프로파일링하는 방법은, 예를 들면, 진단, 예후 및 치료에 대한 반응을 평가하기 위해, 대상체의 평가에 유용하다. 진단은, 예를 들면, 암 등의 가능한 질환 또는 장애를 결정하거나 동정하기 위해 시도하는 프로세스를 지칭한다. 예후는 질환 또는 장애의 가능한 결과를 예측하는 것을 지칭한다. 완전한 예후는 종종 예상된 지속기간, 기능 및 진행성 쇠퇴, 간헐적 위험 또는 돌연한 예측불가능한 위험과 같은 질환의 경과 설명을 포함한다. 치료에 대한 반응은, 치료를 제공받을 때의 대상체의 의학적 결과의 예측이다. 치료에 대한 반응은, 예를 들면, 병리학적 완전 반응, 생존 및 진행 유리 생존일 수 있다.

[0136] 구현예에서, 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법은 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법을 포함한다. 따라서, 본 발명의 방법은, 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 및 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 본 발명의 추가 방법은, 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는 투과처리되지 않을 수 있다.

[0137] 본 발명의 추가 방법은, 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 대상체로부터의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다.

[0138] 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 대상체로부터 암을 프로파일링하는 방법은, 대상체가 특정한 치료를 제공받아야 하는지에 관한 임상 결정을 지시한다. 다양한 구현예에서, 본 방법은, 예를 들면, 어떠한 종류의 치료가 실시되거나 중지되어야 하는지를 포함하여 암 대상체의 치료를 지시한다. 다양한 구현예에서, 암 치료는 본원에 기재된 방법에 기초하여 실시되거나 중지된다. 치료의 예는 외과적 수술, 방사선 요법, 화학요법, 약역학적 요법, 표적 요법, 면역요법 및 지지 요법(예를 들면, 진통제, 이뇨제, 항이뇨제, 항바이러스제, 항생제, 영양 보충제, 빈혈 치료제, 혈액 응고 치료제, 골 치료제, 및 정신 및 심리 치료제)를 포함한다. 다양한 구현예에서, 치료는 미국 특허 공보 제US 2012-0225851호 및 국제 공개 공보 제WO 2012/122370호에 기재된 것들을 포함한다.

[0139] 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체가 특정 치료에 대해 받아야 할 가능한 반응에 대한 정보를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 반응의 높은 가능성을 제공하고, 적극적 치료를 포함하는 치료를 지시할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법은 반응의 낮은 가능성을 제공하고, 더 나은 삶의 질을 위한 비효과적 화학요법으로부터 불필요한 독성을 회피하기 위해, 적극적 치료 및 완화 치료의 사용을 포함하는 치료의 중지를 지시할 수 있다.

[0140] 일부 구현예에서, 본 방법은 프로-아폽토시스제 및/또는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제 및/또는 직접 단백질 조절에 의해 유도되는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제에 대한 반응의 높거나 낮은 가능성을 나타낸다. 다양

한 구현예에서, 예시적 프로-아폽토시스제 및/또는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제 및/또는 직접 단백질 조절에 의해 유도되는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제는 ABT-263(나비토클락스) 및 오바토클락스, WEP, 보르테조밉 및 카르필조밉을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제 및/또는 직접 단백질 조절에 의해 유도되는 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제에 대한 반응의 높거나 낮은 가능성을 나타낸다. 다양한 구현예에서, 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 예시적 약제는 키네신 스핀들 단백질 억제제, 사이클린-의존성 키나제 억제제(예: 알보시딥), 삼산화비소(TRISENOX), MEK 억제제, 포말리도미드, 아자시티딘, 데시티빈, 보리노스타트, 엔티노스타트, 디나시클립, 겜투주맵, BTK 억제제, PI3 키나제 델타 억제제, 레놀리도미드, 안트라사이클린, 시타라빈, 멜팔람, Akt 억제제, mTOR 억제제를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 방법은 본원에 기재된 치료(제제 포함) 중의 어느 하나에 대한 대상체의 반응을 예측하는데 유용하다.

[0141] 구현예에서, 본 방법은 프로-아폽토시스제 또는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제에 대한 양성 반응을 예측한다. 구현예에서, 본 방법은 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제에 대한 양성 반응을 예측한다. 추가의 구현예에서, 본 방법은 아폽토시스 이펙터 약제 및/또는 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제에 대한 비-반응성을 예측한다.

[0142] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 하나 이상의 치료제를 포함하는 치료 섭생에 대한 대상체 반응을 예측한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제의 선택을 지시한다. 구현예에서, 치료제는 사이클린-의존성 키나제 9(CDK9) 억제제이다. 일부 구현예에서, CDK9 억제제는 알보시딥이다.

[0143] 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 2종 이상의 치료제의 조합을 포함하는 치료 섭생에 대한 대상체 반응을 예측한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 CDK9 억제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 치료제는 알보시딥을 포함한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥, 시타라빈, 미토크산트론, 다우노루비신, 데시타빈, 아자시티딘, 베네토클락스, 보르테조밉, 다코겐, 이브라티닙, 레날리도미드, 탈리도미드 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥 및 시타라빈, 미토크산트론, 다우노루비신, 데시타빈, 아자시티딘, 베네토클락스, 보르테조밉, 다코겐, 이브루티닙, 레날리도미드, 탈리도미드 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0144] 구현예에서, 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법은 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법을 포함한다. 따라서, 본 발명의 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 미토콘드리아 완전성의 변화가 미토콘드리아 완전성의 저하인 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 추가로 포함한다. 본 발명의 추가 방법은, 대상체로부터 암 세포에 대한 감도 프로파일을 생산하는 방법으로서, 암 세포를 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계; 및 Mcl-1 의존성 백분율이 소정 값 이상인 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는, 예를 들면, 디지토닌 등의 세포 투과제로 투과처리되지 않을 수 있다.

[0145] 본 발명의 추가의 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은, 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함한다); 및 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 저하를 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다. 본 발명의 추가의 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성

데이터는, 세포 흡수 모이어티, 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 적어도 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정된다); 및 Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는, 예를 들면, 디지토닌 등의 세포 투과제로 투과처리되지 않을 수 있다.

[0146] 본 발명의 여전히 추가 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 미토콘드리아 완전성의 변화가 미토콘드리아 완전성의 저하인 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 본 발명의 여전히 추가 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 암 세포를 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계; 및 Mcl-1 의존성 백분율이 소정 값 이상인 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11을 갖는다.

[0147] 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함하고, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 상기 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 저하를 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료제를 선택하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 데이터는, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 적어도 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정되고, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 상기 Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 치료제를 선택하여 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다.

[0148] 구현예에서, 본 발명의 방법은, 대상체의 암 세포를 본원에 개시된 임의의 하나 이상의 프로파일링 펩티드와 접촉시킴으로써 수득되는 미토콘드리아 완전성 및/또는 Mcl-1 의존성 데이터에 기초하여 본원에 기재된 치료제를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 한 가지 구현예에서, 치료제는 BH3 모방체, 후성적 변형제(epigenetic modifying agent), 토포이소머라제 억제제, 사이클린-의존성 키나제 억제제(예: 알보시딥), 및/또는 키네신-스핀들 단백질 안정화제 중의 하나 이상이다. 또 다른 구현예에서, 치료제는 프로테아좀 억제제; 및/또는 세포 주기 조절의 조절제(예로서, 사이클린 의존성 키나제 억제제); 및/또는 세포 후성적 메카니즘의 조절제(예로서, 히스톤 데아세틸라제(HDAC)(예를 들면, 보리노스타트 또는 엔티노스타트 중의 하나 이상), 아자시티딘, 데시타빈 중의 하나 이상); 및/또는 안트라사이클린 또는 안트라센디온(예로서, 에피루비신, 독소루비신, 미토크산트론, 다우노루비신, 이다루비신 중의 하나 이상); 및/또는 백금-기반 치료제(예로서, 카보플라틴, 시스플라틴 및 옥살리플라틴 중의 하나 이상); 시타라빈 또는 시타라빈-기반 화학요법; BH3 모방체(예로서, BCL2, BCLXL 또는

MCL1 중의 하나 이상); 및 MCL1의 억제제이다.

[0149] 다양한 구현예에서, 화학요법제는 하나 이상의 알킬화제, 예를 들면, 티오테파 및 사이톡산(CYTOXAN) 사이클로포스파미드; 알킬 설포네이트, 예를 들면, 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리딘, 예를 들면, 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 예를 들면, 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸롤로멜라민; 아세토게닌(예를 들면, 불라탁신 및 불라탁시논); 캄포테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 콜리스타틴(callystatin); CC-1065(이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신(예를 들면, 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 두오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB 1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕틴; 스폰기스타틴; 질소 머스타드, 예를 들면, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벰시친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로스우레아, 예를 들면, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라니무스틴; 항생제, 예를 들면, 에네딘 항생제(예를 들면, 칼리키아미신, 특히 칼리키아미신 감말(gammall) 및 칼리키아마이신 오메갈(omegall)(예를 들면, 문헌[Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 디네미신 A를 포함하는 디네미신; 비스포스포네이트, 예를 들면, 클로드로네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네딘 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 액티노마이신, 오트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 아드리아마이신(adriamycin) 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시 독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예를 들면, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사산물, 예를 들면, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예를 들면, 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 푸린 유사체, 예를 들면, 플루다라빈, 6-머캅토푸린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예를 들면, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스우리딘; 안드로겐, 예를 들면, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항-아드레날린제, 예를 들면, 미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충제, 예를 들면, 폴린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예를 들면, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토크산트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소크산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로카르바진; PSK 폴리사카라이드 복합체(JHS 내추럴 프로덕츠(Natural Products), 오레곤주 유진); 라족산; 리족신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(예를 들면, T-2 톡신, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들면, 탁솔(TAXOL) 파클리탁셀(브리스톨-마이어스 스퀴브 온콜로지(Bristol-Myers Squibb Oncology), 뉴저지주 프린스턴), 파클리탁셀의 아브락산(ABRAXANE) 무-크레모포르(Cremophor-free), 알부민-조작된 나노입자 제형(아메리칸 파마슈티컬 파트너즈(American Pharmaceutical Partners), 샤움베르크, 111.), 및 탁소테레(TAXOTERE) 독세탁셀(롱-프랑 로라(Rhone-Poulenc Rorer), 프랑스 앙또니); 클로람부실; 겜자르(GEMZAR) 겜시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토푸린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예를 들면, 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파미드; 미토크산트론; 빈크리스틴; 나벨빈(NAVELBINE). 비노르엘빈; 노반트론; 테니폽사이드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 크셀로다; 이반드로네이트; 이리노테칸(캄프토사르(Camptosar), CPT-11) (5-FU 및 류코보린과의 이리노테칸의 치료 섭생 포함); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예를 들면, 레티노산; 카페시타빈; 콤브레타스타틴; 류코보린(LV); 옥살리플라틴 치료 섭생(FOLFOX)을 포함하는 옥살리플라틴; 라파티닙(티케르브(Tykerb)); PKC-I, Raf, H-Ras, EGFR(예를 들어, 에를로티닙(타르세바(Tarceva)) 및 VEGF-A의 억제제(세포 증식을 감소시킴), 다코겐, 벨케이트, 및 상기 수록된 약제의 어느 하나의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체로부터 선택된다. 예시적 치료제는 알보시딥, 사이타라빈, 미토크산트론, 다우노루비신, 데시타빈, 아자시티딘, 베네토클락스, 보르테조밉, 다카겐, 이브루티닙, 레날리도미드, 탈리도미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

[0150] 적합한 방법은 프로-아폽토시스 및/또는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제 및/또는 직접 단백질 조정에 의해 유도되는 아폽토시스를 통해 작동하는 약제의 투여를 포함할 수 있다. 이러한 약제의 예는 ABT-263(나비토클락스), 및 오바토클락스, WEP, 보르테조밉 및 카르필조밉을 포함한다. 다른 적합한 치료제는 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제 및/또는 직접 단백질 조정에 의해 유도되는 아폽토시스를 통해 작동하지 않는 약제를 포함할 수 있다. 이러한 약제의 예는 키네신 스핀들 단백질 억제제, 사이클린-의존성 키나제(CDK) 억제제, 삼산화비소(트리세녹스(TRISENOX)), MEK 억제제, 포몰리도미드, 아자시티딘, 데시티빈, 보리노스타트, 엔티노스타트, 디나시클립, 겜투주맵, BTK 억제제, PI3 키나제 델타 억제제, 레날리도미드, 안트라사이클린, 시타라빈, 멜팔란, Akt 억제제, mTOR 억제제를 포함한다. 구현예에서, CDK 억제제는 CDK9 억제제이다. 일부 구현예에서, CDK9 억제제는 알보시딥이다.

[0151] 구현예에서, 본원에 개시된 치료 방법은 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 이들의 암을 치료하는 것을 포함한다. 다양한 구현예에서, 유효량의 치료는 종양 세포의 수를 저하시키고 전이의 수를 저하시키고 종양 용적을 저하시키고 암 세포의 아폽토시스를 유도하고 암 세포 사멸을 유도하고 암 세포에서 방사선-감수성을 유도하고 암 세포 근처의 혈관신생을 억제하고 암 세포 증식을 억제하고 종양 성장을 억제하고 전이를 예방하고 전이의 수를 감소시키고 기대 수명을 증가시키고 대상체 수명을 연장하고 암-연관 통증을 감소시키고/시키거나 치료후 암의 재발 또는 재-발생을 감소시킬 수 있다.

[0152] 투여를 위해, 유효량(또는 용량으로서 지칭됨)은 시험관내 검정 및/또는 동물 모델 연구로부터의 결과에 기초하여 최초로 추정될 수 있다. 예를 들면, 용량은 동물 모델에서 제형화되어, 특정 표적에 대한 세포 배양물에서 측정된 IC50을 포함하는 순환 농도 범위를 달성할 수 있다. 이러한 정보는 관심 대상체에서 유용한 용량을 보다 정확하게 측정하기 위해 사용될 수 있다.

[0153] 특정 대상체에게 투여되는 실제의 투여량은 표적, 체중, 병태의 중증도, 암의 종류, 이전 또는 동시 치료 개입, 대상체의 특발성 및 투여 경로를 포함하는 신체적 및 생리학적 요인 등의 파라미터를 고려하여 의사, 수의사 또는 연구자에 의해 결정될 수 있다.

[0154] 구현예에서, 대상체로부터 암 세포를 프로파일링하는 방법은 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 포함한다. 따라서, 본 발명의 방법은 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 포함하고, 상기 방법은 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 갖는 대상체에게 치료제를 포함하는 치료 섭생을 투여하는 것을 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 백분율은, 복수의 암 세포의 제1 부분을 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다), 또는 세포 흡수 모이어티 및 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드 및 담체를 포함하는 조성물(여기서, 상기 Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1의 서열을 갖는다)과 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내 방법에 의해 수득된다. 추가로, 본 발명의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체로부터의 암 세포를 세포 흡수 모이어티 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 미토콘드리아 완전성의 저하가 검출되는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 본 발명의 추가의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체로부터의 암 세포를 세포 흡수 모이어티 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계; 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계; 및 Mcl-1 의존성 백분율이 소정 값 이상인 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는 투과처리되지 않을 수 있다.

[0155] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 감도 프로파일은, 세포 흡수 모이어티 및 0 내지 8개 변형을

갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함한다); 및 상기 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 저하를 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 데이터는, 세포 흡수 모이어티 및 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 적어도 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정된다); 및 상기 Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 TAT 전좌 도메인 또는 ANT 전좌 도메인일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 세포 흡수 모이어티는 링커를 통해 Mcl-1 결합 도메인에 접합된다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 14의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 프로파일링 펩티드는 서열번호 15의 서열을 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 암 세포는 투과처리되지 않을 수 있다.

[0156] 본 발명의 추가의 구현예는, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체로부터의 암 세포를, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 및 미토콘드리아 완전성의 저하가 검출되는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 여전히 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체로부터의 암 세포를, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉시키는 단계(여기서, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화를 검출하는 단계; 적어도 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 백분율을 측정하는 단계; 및 상기 Mcl-1 의존성 백분율이 소정 값 이상인 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다.

[0157] 본 발명의 추가 구현예는, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 암 세포의 미토콘드리아 완전성 데이터를 포함하고, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 상기 미토콘드리아 완전성 데이터가 미토콘드리아 완전성의 저하를 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체의 암 세포에 대한 감도 프로파일을 제공받는 단계(여기서, 상기 감도 프로파일은 암 세포에 대한 Mcl-1 의존성 데이터를 포함하고, 상기 Mcl-1 의존성 데이터는, 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1을 갖는 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드와 접촉하는 경우, 암 세포의 미토콘드리아 완전성의 변화에 기초하여 측정되고, 상기 암 세포는 투과처리되지 않는다); 및 상기 Mcl-1 의존성 데이터가 소정 값 이상의 Mcl-1 의존성 백분율을 나타내는 경우, 유효량의 치료제를 대상체에게 투여하고, 이에 의해 대상체에서 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 0 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 1 내지 8개 변형을 갖는 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, Mcl-1 결합 도메인은 서열번호 1 내지 11 중의 어느 하나를 갖는다.

[0158] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 하기 치료제 중의 하나 이상의 유효량이 대상체에게 투여될 수 있다: (i) CDK 억제제(예: CDK4 억제제, CDK6 억제제, CDK7 억제제, CDK8 억제제, CDK9 억제제, CDK10 억제제 및/또는 CDK11 억제제); (ii) 브로모도메인 억제제(예: Brd2 억제제, Brd3 억제제, Brd4 억제제 및/또는 BrdT 억제제); (iii) 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제(예: DOT1-유사 히스톤 메틸트랜스퍼라제(Dot1L) 억제제); (iv) 히스톤 데아세

틸라제(HDAC) 억제제(예: 부류 I HDAC(예: HDAC1, HDAC2, HDAC3 및 HDAC8) 억제제, 부류 IIa HDAC(예: HDAC4, HDAC5, HDAC7 및 HDAC9) 억제제; 부류 IIb HDAC(예: HDAC6 및 HDAC10) 억제제; 및 부류 IV HDAC(예: HDAC11) 억제제); 및 (v) 히스톤 데메틸라제 억제제(예: 리신-특이적 데메틸라제의 억제제, 예를 들면, 리신-특이적 데메틸라제 1A(Lsd1)).

[0159] 일부 구현예에서, CDK 억제제는 CDK7, CDK9 억제제, 또는 이들 둘 다이다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 CDK9-특이적 siRNA, 알보시딥, 또는 디나시클립이다. 일부 구현예에서, 브로모도메인 억제제는 Brd4 억제제이다. 일부 구현예에서, 브로모도메인 억제제는 JQ-1(Nature 2010 Dec 23;468(7327):1067-73), BI2536(ACS Chem. Biol. 2014 May 16;9(5):1160-71; Boehringer Ingelheim), TG101209(ACS Chem. Biol. 2014 May 16;9(5):1160-71), OTX015(Mol. Cancer Ther. November 201312; C244; Oncoethix), IBET762(J Med Chem. 2013 Oct 10;56(19):7498-500; GlaxoSmithKline), IBET151(Bioorg. Med. Chem. Lett. 2012 Apr 15;22(8):2968-72; GlaxoSmithKline), PFI-1(J. Med. Chem. 2012 Nov 26;55(22):9831-7; Cancer Res. 2013 Jun 1;73(11):3336-46; Structural Genomics Consortium) 또는 CPI-0610(Constellation Pharmaceuticals)이다. 일부 구현예에서, 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제는 EPZ004777, EPZ-5676(Blood. 2013 Aug 8;122(6):1017-25) 또는 SGC0946(Nat. Commun. 2012;3:1288)이다. 특정 구현예에서, 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제는 EPZ-5676이다. 일부 구현예에서, HDAC 억제제는 트리코스타틴 A, 보리노스타트(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998 Mar 17;95(6):3003-7), 기비노스타트, 아벡시노스타트(Mol. Cancer Ther. 2006 May;5(5):1309-17), 벨리노스타트(Mol. Cancer Ther. 2003 Aug;2(8):721-8), 파노비노스타트(Clin. Cancer Res. 2006 Aug 1;12(15):4628-35), 레스미노스타트(Clin. Cancer Res. 2013 Oct 1;19(19):5494-504), 퀴시노스타트(Clin. Cancer Res. 2013 Aug 1;19(15):4262-72), 뎁시펩티드(Blood. 2001 Nov 1;98(9):2865-8), 엔티노스타트(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999 Apr 13;96(8):4592-7), 모세티노스타트(Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008 Feb 1;18(3):1067-71) 또는 발프론산(EMBO J. 2001 Dec 17;20(24):6969-78)이다. 예를 들면, 일부 구현예에서, HDAC 억제제는 파노비노스타트이다. 일부 구현예에서, 히스톤 데메틸라제 억제제는 HCI-2509(BMC Cancer. 2014 Oct 9;14:752), 트라닐사이프로민 또는 ORY-1001(J. Clin. Oncol 31, 2013(suppl; abstr e13543)이다.

[0160] 구현예에서, 하기 치료제 중의 2종 이상의 유효량이 대상체에게 투여될 수 있다: (i) 사이클린-의존성 키나제 억제제; (ii) 브로모도메인 억제제; (iii) 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제; (iv) 히스톤 데아세틸라제 억제제; 및 (v) 히스톤 데메틸라제 억제제.

[0161] 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 CDK 억제제 및 브로모도메인 억제제이다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥 또는 CDK9-특이적 siRNA이다. 특정 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥이다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥 또는 디나시클립이고, 브로모도메인 억제제는 JQ1, IBET762 또는 OTX015이다. 특정 구현예에서, 브로모도메인 억제제는 JQ1이다. 특정 구현예에서, 브로모도메인 억제제는 IBET762이다. 특정 구현예에서, 브로모도메인 억제제는 OTX015이다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥 및 JQ1이다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥 및 IBET762이다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥 및 OTX015이다.

[0162] 일부 구현예에서, 치료제는 CDK 억제제이고, 유효량의 히스톤 데아세틸라제 억제제가 또한 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥이다. 일부 구현예에서, 히스톤 데아세틸라제 억제제는 파노비노스타트이다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥 또는 디나시클립이고, 히스톤 데아세틸라제 억제제는 파로비노스타트이다. 특정 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥이고, 히스톤 데아세틸라제 억제제는 파노비노스타트이다.

[0163] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 치료제는 CDK 억제제이고, 유효량의 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제가 추가로 대상체에게 투여된다. 이러한 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥 또는 디나시클립일 수 있고, DNA 메틸트랜스퍼라제는 뉴클레오사이드 유사체일 수 있다. 일부 구현예에서, CDK 억제제는 알보시딥 또는 디나시클립일 수 있고, DNA 메틸트랜스퍼라제는 아자시티딘 또는 데시타빈일 수 있다.

[0164] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 치료제는 CDK9 억제제이다. 이러한 구현예에서, CDK9 억제제는 알보시딥일 수 있다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 Ara-C 및 미토크산트론이 대상체에게 추가로 투여된다. 또 다른 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 Bcl-2 억제제, 예를 들면, 베네토클락스가 대상체에게 추가로 투여된다. 특정한 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, Bcl-2 억제제는 베네토클락스이다. 상기 다른 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 Ara-C 및 다우노루비신이 대상체에게 추가로 투여된다. 상기 다른 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 Brd4 억제제, 예를 들면, JQ1이 대상

체에게 추가로 투여된다. 상기 다른 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 예를 들면, 아자시티딘 또는 데시타빈이 대상체에게 추가로 투여된다. 상기 추가의 구현예에서, 치료제는 알보시딥이고, 유효량의 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 예를 들면, 아자시티딘 또는 데시타빈, 및 Brd4 억제제, 예를 들면, JQ1이 대상체에게 추가로 투여된다.

[0165] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, CDK9 억제제는 디나시클립이다.

[0166] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 치료제는 베네토클락스이다. 상기 구현예중의 어느 하나에서, 치료제는 Ara-C이다. 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 치료제는 Ara-C이고, 유효량의 다우노루비신이 추가로 투여된다.

[0167] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 2종 이상의 치료제의 조합물이 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 CDK9 억제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥을 포함한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥, 사이타라빈, 미토크산톤, 다우노루비신, 데시타빈, 아자시티딘, 베네토클락스, 보르테조밉, 다코겐, 이브루티닙, 레날리도미드, 탈리도미드 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 알보시딥 및 사이타라빈, 미토크산트론, 다우노루비신, 데시타빈, 아자시티딘, 베네토클락스, 보르테조밉, 다코겐, 이브루티닙, 레날리도미드, 탈리도미드 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0168] 상기의 추가 구현예에서, 암 세포 시료는 고형 종양의 생검으로부터 유래한다. 여전히 상기의 추가 구현예에서, 암 세포 시료는 비-고형 종양의 생검으로부터 유래한다. 상기 치료 방법의 어느 하나에서, 암은 혈액 암이다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 혈액 암은 다발성 골수종, MDS, AML, ALL, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프절성 백혈병, CLL, 맨틀 세포 림프종, 확산성 거대 B-세포 림프종, 여포성 림프종 또는 비-호지킨 림프종이다. 일부 특정 구현예에서, 혈액 암은 AML이다. 상기의 일부 다른 구현예에서, 혈액 암은 MDS이다. 상기의 상이한 구현예에서, 혈액 암은 CLL이다.

[0169] 상기 구현예의 어느 하나에서, 프로파일링된 암 세포는, 예를 들면, 디지토닌 등의 세포 투과제로 투과처리되지 않을 수 있다.

[0170] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 추가의 치료제가 선택될 수 있고 임의로 투여될 수 있다. 각 약제의 예는 본원에 기재된 특정 약제 등과 같이 항암 약물, 요법, 수술, 보조 요법 및 선행 보조 요법 중의 하나 이상을 포함한다.

[0171] 한 가지 구현예에서, 본 발명의 방법은, 대상체가, 단일 단독 보조 요법을 포함하여, 일차, 주요 또는 초기 치료 후에 보조 요법을 제공받아야 하는지에 관한 임상적 결정을 지시한다. 보조 요법(또한 보조 관리로서 지칭됨)은 일차, 주요 또는 초기 치료에 부가하여 제공되는 치료이다. 예로서, 보조 요법은, 모든 검출가능한 질환이 제거되었지만 잠재적 질환에 의한 재발의 통계적 위험이 남아 있는 수술 후에 통상적으로 제공되는 추가 치료일 수 있다.

[0172] 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체의 치료가 보조 요법을 포함하도록 지시한다. 예를 들면, 특정한 치료에 반응성인 것으로 채점되는 대상체는 보조 요법으로서 이러한 치료를 제공받을 수 있다. 추가로, 본 방법은, 예를 들면, 프로-아폽토시스 방식으로 유도 및/또는 작동하는 치료 또는 그렇지 않은 치료로서 보조 요법의 동일성을 지시할 수 있다. 한 가지 구현예에서, 본 방법은 대상체가 특정한 치료에 반응성이지 않거나 덜 반응성이고 따라서 이러한 대상체가 보조 요법으로서 이러한 치료를 제공받을 수 없음을 나타낼 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체의 반응 가능성에 따라 보조 요법을 제공하거나 유지하는 것을 제공한다. 이러한 방식에서, 대상체의 삶의 질 및 관리 비용이 개선될 수 있다.

[0173] 상기 구현예 중의 어느 하나에서, 상기 방법은 임상 인자를 평가하는 것을 추가로 포함한다. 다양한 구현예에서, 임상 인자는 연령, 세포유전학적 상태, 성적, 조직학적 아부류, 성별 및 질환 단계 중의 하나 이상이다. 구현예에서, 임상 인자는 연령이다. 이러한 구현예에서, 대상체의 연령 프로파일은 약 10세 초과, 약 20세 초과, 약 30세 초과, 약 40세 초과, 약 50세 초과, 약 60세 초과, 약 70세 초과, 약 80세 초과로서 분류된다.

[0174] 일부 구현예에서, 임상 인자는 세포유전학적 상태이다. 세포유전학적 상태는 당해 기술분야에 공지된 다양한 방식으로 측정할 수 있다. 예를 들면, FISH, 전통적 핵형분석 및 가상 핵형분석(예: 비교 게놈 하이브리드화 어레이, CGH 및 단일 뉴클레오티드 다형태 어레이)이 사용될 수 있다. 예를 들면, FISH는 특정 유전자좌에서 염색체 재배열을 평가하기 위해 사용할 수 있고, 이러한 현상은 질환 위험 상태와 연관된다. 일부 구현예에서, 세포유전학적 상태는 바람직한, 중등도 또는 바람직하지 않은 것이다.

[0175] 일부 구현예에서, 임상 인자는 성적이다. 성적 상태는 임의의 시스템을 사용하여 정량화할 수 있고, 대상체의 성적 상태를 채점하는 방법은 당해 기술분야에 공지되어 있다. 이 척도는 대상체가 요법, 용량 조정의 조정을 제공받을 수 있는지를 측정하기 위해 및 완화 관리의 강도를 결정하기 위해 종종 사용된다. 카르노프스카이 점수 및 주브로드 점수를 포함하는 다양한 점수 시스템이 있다. 평행 점수 시스템은, 정신과의 진단 및 통계 매뉴얼(DSM)의 제5 축으로서 도입되는, 기능적 범용 평가(GAF) 점수를 포함한다. 보다 높은 성적 상태(예를 들면, 카르노프스카이 점수 시스템을 사용하여 적어도 80% 또는 적어도 70%)는 질환 상태의 진행을 예방하기 위한 치료를 나타낼 수 있고, 요법 및/또는 방사선 치료를 제공받는 대상체의 능력을 증강시킬 수 있다. 예를 들면, 이들 구현예에서, 대상체는 보행성이고 자가-관리할 수 있다. 다른 구현예에서, 평가는 종래의 방사선요법 및/또는 허용되는 요법을 가능하게 하도록, 낮은 성능 상태(예를 들면, 카르노프스카이 점수 시스템을 사용하여 50% 미만, 30% 미만 또는 20% 미만)를 갖는 대상체를 나타낸다. 이들 구현예에서, 대상체는 주로 침대 또는 의자에 얽매여있고, 자가-관리도 하지 못한다.

[0176] 카르노프스카이 점수는 100에서 0으로 진행되며, 여기서 100은 "완벽한" 건강이며 0은 사망이다. 점수는 10의 간격으로 사용할 수 있으며, 여기서 100%는 정상이며, 불만이 없고, 질환의 징후가 없으며; 90%는 정상적인 활동이 가능하고, 질환의 증상 또는 징후가 거의 없으며, 80%는 정상적인 활동에 약간의 어려움, 일부 증상 또는 징후가 있으며; 70%는 스스로 관리하며, 정상적인 활동 또는 일을 할 수 없고; 60%는 약간의 도움을 필요로 하고, 대부분의 개인적인 요구 사항을 처리할 수 있으며; 50%는 종종 도움을 필요로 하고, 빈번히 의료 관리를 필요로 하며; 40%는 장애가 있으며 특별한 관리 및 도움을 필요로 하며; 30%는 심하게 장애가 있으며, 병원 입원이 지시되지만 사망 위험은 없으며; 20%는 매우 아프거나, 급히 입원을 필요로 하거나, 보조적인 조치 또는 치료를 필요로 하며; 10%는 죽어가는, 빠르게 진행하는 치명적인 질환 과정이다.

[0177] 활동도에 대한 주브로드 채점 시스템은 다음을 포함한다: 0, 완전 활동성, 제한 없이 모든 사전 질환(pre-disease) 수행을 계속 가능; 1, 육체적으로 격렬한 활동은 제한되나 보행이 가능하고 가벼운 또는 앉아서 하는 일, 예를 들면, 가벼운 집안일, 사무실 일을 수행 가능; 2, 보행이 가능하고 모든 자기 관리가 가능하나 깨어있는 시간의 50% 이상 어떤 작업 활동도 할 수 없다; 3, 깨어있는 시간의 50% 초과 침대 또는 의자에 얽매인, 단지 제한된 자기 관리 가능; 4, 침대 또는 의자에 얽매인, 완전히 장애, 어떤 자기 관리 계속할 수 없다; 5, 사망.

[0178] 추가의 구현예에서, 임상 인자는 조직학적 아부류이다. 일부 구현예에서, 종양의 조직학적 샘플을 문헌[Elston & Ellis, Histopathology, 1991, 19:403-10]에 따라 등급화하고, 이 문헌의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0179] 일부 구현예에서, 임상적 인자는 성별이다. 한 가지 구현예에서, 성별은 남성이다. 또 다른 구현예에서, 성별은 여성이다.

[0180] 한 구현예에서, 임상적 인자는 질환 단계이다. 예로서, 전체 단계 그룹화를 사용하여, I기 암은 신체의 한 부분에 국부화되며; II기 암은 III기 암과 마찬가지로 국부적으로 진행된다. 암이 II기 또는 III기로 지정되는지 여부는 암의 특정 유형에 따라 달라질 수 있다. 한 가지 예, 호지킨병에서, II기는 횡격막의 한쪽에만 영향을 받는 림프절을 나타내고, 한편 III기는 횡격막 위와 아래에 영향을 받는 림프절을 나타낸다. 따라서, II기와 III기에 대한 구체적 기준은 진단에 따라 다르다. IV기 암은 다른 장기 또는 신체 전체에 걸쳐 전이되거나 확산된다.

[0181] 일부 구현예에서, 임상적 인자는 혈액 질환에 대한 프랑스-미국-영국(French-American-British)(FAB) 분류 시스템(예를 들면, 골수조혈이상(dysmyelopoiesis)의 존재 및 골수모세포 및 적혈구모세포의 정량화를 나타내는)이다. 한 가지 구현예에서, 급성 림프모구성 백혈병에 대한 FAB는 L1-L3이거나, 급성 골수성 백혈병에 대한 FAB는 M0-M7이다. 추가로, 일부 구현예에서, 하기 임상 인자 중의 어느 하나가 본원에 기재된 방법에서 유용할 수 있다: 성별, 유전적 위험 인자; 가족력; 개인 병력; 인종 및 민족; 특정 조직의 특징; 다양한 양성 상태(예: 비-증식성 병변); 이전 흉부 방사선; 발암물질 노출 등.

[0182] 또 다른 구현예에서, 상기 방법은 돌연변이 상태, 단일 뉴클레오티드 다형태, 정상 상태 단백질 수준 및 동적 단백질 수준으로부터 선택된 추가 바이오마커의 측정을 추가로 포함하고, 이는 추가로 특이성 및/또는 감수성을 부가할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 바이오마커의 측정은 세포 표면 마커 CD33, 세포 표면 마커 CD34, FLT3 돌연변이 상태, p53 돌연변이 상태, MEK-1 키나제의 포스포릴화 상태, 및 Bcl-2의 위치 70에서 세린의 포스포릴화 중의 하나 이상의 측정일 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는, 예를 들면, 인터류킨-6을 포함하는 사이토킨의 발현 수준이다. 또 다른 구현예에서, 바이오마커는 유전자 MLL, AML/ETO, Flt3-ITD,

NPM1(NPMc+), CEBPI, IDH1, IDH2, RUNX1, ras 및 WT1 중의 하나 이상에서 및/또는 후성적 변형 유전자 TET2 및 ASXL에서 돌연변이이다. 추가의 구현예에서, 바이오마커의 측정은 세포 신호전달 단백질 프로파일의 변화를 나타낸다.

[0183] 일부 암, 예를 들면, 빌름스 종양 및 망막모세포종에서, 예를 들면, 종양 억제인자와 연관된 염색체 영역이 일반적으로 결실되거나 돌연변이되기 때문에, 유전자 결실 또는 불활성화가 암 진행을 개시하는 원인이 된다. 예를 들면, 결실, 역위(inversion) 및 전위는 신경교종, 비소세포 폐암, 백혈병 및 흑색종에서 염색체 영역 9p21에서 일반적으로 검출된다. 이론에 국한되지 않기를 바라면서, 이들 염색체 변화는 종양 억제인자 사이클린-의존적 키나제 억제제 2A를 불활성화할 수 있다. 특정 유전자의 이들 결실과 함께, 염색체의 많은 부분이 또한 손실될 수 있다. 예를 들면, 염색체 1p 및 16q는 고형 종양 세포에서 일반적으로 손실된다. 유전자 중복 및 유전자 카피 수의 증가가 또한 암의 한 원인이 될 수 있으며, 전사 분석 또는 카피 수 변이 어레이로 검출될 수 있다. 예를 들면, 염색체 영역 12q13-q14는 많은 육종에서 증폭된다. 이 염색체 영역은, p53으로 불리우는 종양 억제인자에 결합하는 것으로 알려진, MDM2로 불리우는 결합 단백질을 코딩한다. MDM2가 증폭되는 경우, 이는 p53이 세포 성장을 조절하지 못하게 하여, 종양 형성을 야기할 수 있다. 추가로, 특정 유방암은 과발현 및 인간 상피 성장 인자 수용체 2(*ERBB2*) 유전자의 카피 수의 증가와 연관이 있다. 또한, 염색체 수, 예를 들면, 염색체 1q 및 3q의 증가가 또한 증가된 암 위험과 연관이 있다.

[0184] 다양한 구현예에서, 본 방법은, 바이오마커를 측정하는 경우와 같이, 단백질 및/또는 핵산의 존재, 부재 또는 수준을 평가하는 것을 포함한다. 다양한 구현예에서, 본 방법은 감수성 프로파일링의 특이성 및/또는 감수성을 증강시킬 수 있는 단백질 및/또는 핵산의 존재, 부재 또는 수준을 평가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가는 대상체 반응에 대한 마커이다. 일부 구현예에서, 본 방법은 면역조직화학적 염색, 웨스턴 블롯팅, 인 셀 웨스턴(in cell western), 면역형광 염색, ELISA 및 형광 활성화 세포 분류(FACS) 중 하나 이상, 또는 본원에 기재되거나 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 방법을 사용하여 측정하는 것을 포함한다. 본 방법은 조직 또는 체액에 특이적이고 암의 상태를 나타내는 에피토프를 동정하기 위해 항체를 종양 시료(생검 또는 조직 또는 체액)과 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0185] 다양한 구현예에서, 항체는 전체 항체 및/또는 임의의 항원 결합 단편(예: 항원-결합 부분) 및/또는 이들의 단일 쇄(예를 들면, 디설파이드 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 항체, Fab 단편, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편; F(ab)2 단편, 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편 등)를 포함한다. 다양한 구현예에서, 폴리클로날 및 모노클로날 항체가 유용하고, 단리된 인간 또는 인간화 항체, 또는 이의 기능적 단편도 유용하다.

[0186] 일반적으로 체액 또는 조직의 항원 상의 에피토프의 검출에 사용되는 두 가지 전략, 직접 방법 및 간접 방법이 있다. 직접 방법은 원-스텝 염색을 포함하며, 체액 또는 조직 샘플에서 항원과 직접 반응하는 표지된 항체(예를 들면, FITC 접합 항혈청)를 포함할 수 있다. 간접 방법은 체액 또는 조직 항원과 반응하는 표지되지 않은 일차 항체, 및 일차 항체와 반응하는 표지된 이차 항체를 포함한다. 표지는 방사능 표지, 형광 표지, 합텐 표지, 예를 들면, 바이오틴 또는 효소, 예를 들면, 호스 래디시 퍼옥시다제 또는 알칼리 포스파타제를 포함할 수 있다. 이들 검정을 수행하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌[Harlow *et al.* (Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988)], [Harlow *et al.* (Using Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1999)], [Virella (Medical Immunology, 6th edition, Informa HealthCare, New York, 2007)], 및 [Diamandis *et al.* (Immunoassays, Academic Press, Inc., New York, 1996)]을 참조한다. 이들 검정을 수행하기 위한 키트는, 예를 들면, 클론테크 레보러토리즈, 엘엘씨.(Clontech Laboratories, LLC.)(캘리포니아주 마운틴뷰)로부터 시판되고 있다.

[0187] 다양한 종의 표적에 대한 항체의 결합능을 평가하기 위한 표준 검정은, 예를 들면, ELISA, 웨스턴 블롯 및 RIA를 포함하여 관련 기술분야에 공지되어 있다. 항체의 결합 동역학(예를 들면, 결합 친화성)은, 예를 들면, 비아코어(Biacore) 분석 등의 관련 기술분야에 공지된 표준 검정에 의해 또한 평가될 수 있다.

[0188] 또 다른 구현예에서, 측정은 핵산의 존재, 부재 또는 수준을 평가하는 것을 포함한다. 당업자는 적절한 마커의 DNA/RNA 수준을 검출하거나 정량화하기 위해 다수의 방법을 사용할 수 있음을 인식할 것이다.

[0189] 유전자 발현은 리포터 유전자 검정, 노던 블롯, 형광 제자리 하이브리드화(FISH) 및 역전사 PCR(RT-PCR)을 포함하지만 이에 한정되지 않는 저-내지-중-플렉스(low-to-mid-plex) 기술을 사용하여 측정할 수 있다. 유전자 발현은, 예를 들면, 유전자 발현의 연속 분석(SAGE), DNA 마이크로어레이, 타일링 어레이(Tiling array), RNA-

Seq/전 전사체 숏건 서열분석(whole transcriptome shotgun sequencing)(WTSS), 고처리량 서열분석(high-throughput sequencing), 멀티플렉스 PCR, 다중 결찰-의존성 프로브 증폭(multiplex ligation-dependent probe amplification)(MLPA), 결찰에 의한 DNA 서열분석, 루미넥스(Luminex)/XMAP를 포함하지만 이로 한정되지 않는 보다 높은 플렉스(higher-plex) 기술을 사용하여 또한 측정할 수 있다. 당업자는 샘플 내에 바이오마커의 RNA 생성물의 수준을 검출하거나 정량화하기 위해 어레이, 예를 들면, 마이크로어레이, RT-PCR(정량적 PCR 포함), 뉴클레아제 보호 검정 및 노던 블롯 분석을 포함하는, 다수의 방법을 사용할 수 있음을 인식할 것이다.

[0190] 또 다른 구현예에서, 본 방법은 대상체에서 임상 반응을 예측하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 구현예에서, 임상 반응은 적어도 약 1년, 약 2년, 약 3년 또는 약 5년 진행/사상-비함유 생존이다.

[0191] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 예방적 치료를 포함한다. 예를 들면, 본원에 기재된 방법에 따라 암이 발병할 가능성이 높은 대상체에 대한 치료를 실시한다. 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암에 대한 높은 위험, 암에 대한 유전적 소인(예를 들면, 유전적 위험 인자), 암의 이전 에피소드(예: 새로운 암 및/또는 재발), 암의 가족력, 암-유발제에 대한 노출(예: 환경 인자) 및 약리게놈학적 정보(치료제의 약물동태학, 약력학 또는 유효성 프로파일에 대한 유전자형의 효과) 중의 하나 이상을 특징으로 하는 경우에 암이 발병할 가능성이 높다.

[0192] 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암에 대한 높은 위험을 특징으로 하는 경우, 암이 발병할 가능성이 높다. 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암에 대한 유전적 소인을 특징으로 하는 경우, 암이 발병할 가능성이 높다. 일부 구현예에서, 암에 대한 유전적 소인은 당해 기술분야에 공지된 바와 같은 유전적 임상 인자이다. 이러한 임상 인자는, 예를 들면, 적어도 결장암, 자궁암, 소장암, 위암, 요로암에 대한 HNPCC, MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암의 이전 에피소드를 특징으로 하는 경우, 암이 발병할 가능성이 높다. 일부 구현예에서, 대상체는 암의 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 이전 에피소드로 발병된다. 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암의 가족력을 특징으로 하는 경우, 암이 발병할 가능성이 높다. 일부 구현예에서, 부모 및/또는 조부모 및/또는 형제 및/또는 이모/삼촌 및/또는 이모할머니/삼촌할아버지 및/또는 사촌은 암이 발병되었거나 발병되어 있다. 일부 구현예에서, 대상체는, 대상체가 암-유발제(예를 들면, 환경적 물질)에 대한 노출을 특징으로 하는 경우, 암이 발병할 가능성이 높다. 예를 들면, 피부를 강력한 일광에 노출시키는 것은 피부암의 임상적 인자이다. 예로서, 흡연은 폐, 구강, 후두, 방광, 신장 및 기타 몇몇 기관의 암에 대한 임상적 인자이다.

[0193] 본 발명의 구현예는 하기 비제한적 실시예에 의해 추가로 설명된다.

[0194] 실시예

[0195] 실시예 1

[0196] 투과성 및 비-투과성 세포에서 프로파일링 펩티드를 사용한 전체 세포 검정

[0197] 요약하면, 동결된 MOLM-13 및 OCI-AML3 세포 스톡을 급속히 해동하고, 세포 생존율을 트리판 블루 배제에 의해 측정했다. 세포를 PBS에서 세척하고, DTEB(또는 MEB) 완충액(135mM 트레할로즈[또는 150mM 만니톨], 10mM HEPES, 50mM KCl, 20μM EGTA, 20μM EDTA, 0.1% BSA 및 5mM 석시네이트)에 재현탁시켰다. 프로파일링 펩티드 및 NOXA(AELPPEFAAQLRKIGDKVYC; 서열번호 16)을 물에서 재구성하여, 서열번호 1(100μM), 서열번호 14(100μM), 서열번호 15(100 μM) 및 NOXA(100μM)의 최종 농도를 가능하게 하는 작업 용액을 제조했다. DMSO 및 FCCP(50μM)를 음성 및 양성 펩티드 대조군으로 사용했다. 프로파일링 펩티드, 대조군 또는 NOXA(비교 목적을 위해)를 먼저 마이크로플레이트에 첨가했다. 이어서, DTEB 또는 MEB에 재현탁시킨 세포($4x10^5$)를 염색 용액(20mg/mL 올리고마이신, 50mg/mL 디지토닌, 40μM JC-1, 1M 2-머캅토에탄올, DTEB 또는 MEB 완충액)에 첨가하고, 이어서 상기 중의 마이크로플레이트의 웰에 첨가했다(비-디지토닌-처리된 샘플을 위해, 디지토닌은 상기 염색 용액에 첨가되지 않았다). 이어서, 혼합물을 2시간 동안 30℃에서 인큐베이팅하여, 세포 투과(필요한 경우), 펩티드 또는 화합물의 전달 및 미토콘드리아 탈분극을 발생시켰다. 각 웰의 형광 신호는 Ex475/Em530 및 Ex530/Em595에서 Envision 멀티라벨 플레이트 판독기를 사용하여 평가했다. 펩티드로 처리되지 않았지만 디지토닌으로 처리된 추가의 세포를 프로피디움 요오다이드(PI)로 염색하여, 세포가 디지토닌에 의해 효과적으로 투과처리되었는지를 평가했다. 이어서, 웰의 중앙 JC-1 적색 형광의 정규화 미토콘드리아 전위를 DMSO(음성) 및 FCCP(양성) 대조군과 비교했다. 이 비교의 결과는 도 1a 내지 1d에 제시되어 있다. 도 1a 및 1b는 MOLM-13 세포로부터의 결과를 나타내고, 도 1c 및 1d는 OCI-AML3 세포로부터의 결과를 나타낸다. 추가로, 도 1a 및 1c는 디지토닌으로 처리된 세포의 결과를 나타내고, 도 1b 및 1d는 디지토닌에 노출되지 않은 세포의 결과를 나타낸

다. 그래프에 대한 표지는 다음에 상응한다: (NC) 음성 대조군 - DMSO; (PC) 양성 대조군 - FCCP; (1) NOXA, (2) 서열번호 1, (3) 서열번호 14 및 (4) 서열번호 15.

[0198] 도 1a 내지 1d에서 볼 수 있는 바와 같이, 세포-막 투과처리는, 아폽토시스를 유도하기 위해, 유사한 검정에 통상 사용되는 NOXA 펩티드에 필요하다. 그러나, 본 발명의 프로파일링 펩티드는 디지토닌의 사용을 필요로 하지 않는다. 디지토닌의 부재하에, Mcl-1 결합 도메인의 아미노-말단에 부가된 세포 흡수 모이어티를 갖는 본 발명의 프로파일링 펩티드(서열번호 14)는, 단독으로 Mcl-1 결합 도메인을 포함하는 프로파일링 펩티드, 또는 Mcl-1 결합 도메인의 카복시-말단에 부가된 세포 흡수 모이어티를 갖는 프로파일링 펩티드(서열번호 15)와 비교하여 우수한 활성을 갖는다.

[0199] 추가로, 도 1a 내지 1d에 제시된 결과는 탈커플링제 및 양성 대조군, FCCP가, 효율적으로 세포에 침투하고 미토콘드리아 외부-막 투과처리를 완전히 개시하기 위해, 디지토닌 등의 세포 투과처리제를 필요로 하는 것을 나타낸다. 따라서, 디지토닌을 결여하는 MOLM-13 세포에서의 연구(도 1b)에서, 서열번호 14 및 서열번호 15는 양성 대조군의 활성을 초과했다.

[0200] 이어서, 이들 검정을 위한 Z-인자를 평가했다. Z-인자는 생물학적 검정의 신뢰성을 평가하기 위한 유용한 방법이다. 검정을 위한 목적은 Z-인자가 0.5 이상인 것이다. Z-인자를 계산하여 감수성 프로파일링 검정을 위한 신호-대-노이즈 비율을 평가하는 것은, 본 발명의 프로파일링 펩티드의 사용이 보다 신뢰성의 검정을 야기한다는 것을 나타낸다(표 2). 추가로, 세포 투과처리 단계의 제거는 신호-대-노이즈 비율을 현저히 개선시킨다(표 3).

표 2

[0201] NOXA 및 본 발명의 프로파일링 펩티드에 대한 Z-인자

Z′ (NOXA)	Z′ (서열번호 1)	Z′ (서열번호 14)
-3.4	0.32	0.50

표 3

[0202] 투과처리 세포 및 비-투과처리 세포에 대한 Z-인자

세포주	Z′ (디지토닌)	Z′ (디지토닌 부재)
MOLM13	-1.1	0.6
OCI-AML3	0	0.6

[0203] 실시예 2

[0204] 프로파일링 펩티드의 농도의 적정

[0205] Mcl-1 의존성 백분율 값이 세포 투과제의 존재하에 NOXA를 사용하여 달성된 것에 필적하도록 세포 투과제의 부재하에 사용된 본 발명의 프로파일링 펩티드의 농도를 평가하기 위해, 하기 실험을 수행했다.

[0206] 요약하면, 동결된 OCI-AML3 세포 스톡을 신속하게 해동시키고, 세포 생존율을 트리판 블루 배제에 의해 측정했다. 세포를 PBS에서 세척하고, DTEB(또는 MEB) 완충액(135mM 트레할로즈[또는 150mM 만니톨], 10mM HEPES, 50mM KCl, 20 μM EGTA, 20 μM EDTA, 0.1% BSA, 5mM 석시네이트)에 재현탁시켰다. 프로파일링 펩티드 및 NOXA(서열번호 16)을 물에서 재구성하여, 서열번호 1(100 μM), 서열번호 1(30 μM), 서열번호 1(10 μM) 및 NOXA(100 μM)의 최종 농도를 가능하게 하는 작업 용액을 제조했다. DMSO 및 FCCP(50 μM)를 음성 및 양성 펩티드 대조군으로 사용했다. 먼저, 프로파일링 펩티드, 대조군 또는 NOXA(비교 목적을 위해)를 마이크로플레이트에 첨가했다. 이어서, DTEB 또는 MEB 완충액에 재현탁시킨 세포($4x10^5$)를 염색 용액(20mg/mL 올리고마이신, 50mg/mL 디지토닌, 40 μM JC-1, 1M 2-머캅토에탄올, DTEB 또는 MEB 완충액)에 첨가하고, 이어서 상기 중의 마이크로플레이

트의 웰에 첨가했다(비-디지토닌-처리된 샘플을 위해, 디지토닌은 상기 염색 용액에 첨가되지 않았다). 이어서, 혼합물을 최대 2시간 동안 30℃에서 인큐베이팅하여, 세포 투과처리(필요한 경우), 펩티드 또는 화합물의 전달 및 미토콘드리아 탈분극을 발생시켰다. 각 웰의 형광 신호는 Ex475/Em530 및 Ex530/Em595에서 Envision 멀티라벨 플레이트 판독기를 사용하여 평가했다. 이어서, 게이팅 모집단의 중앙 JC-1 적색 형광을 사용하여, DMSO(음성) 및 FCCP(양성) 대조군과 비교하여 % 의존성을 계산했다.

[0207] 통계학적 분석: 각 펩티드에 대해, Mcl-1 의존성 백분율은 의존성을 측정하는 하기 수학식을 사용하여 계산했다:

[0208] $$PP = \left[1 - \left(\frac{Pep - PC}{NC - PC}\right)\right] * 100$$

[0209] 여기서, PC는 양성 대조군의 형광 강도이고, NC는 음성 대조군의 형광 강도이고, Pep는 제시된 농도에서 펩티드의 형광 농도이다.

[0210] 결과는 도 2에 제시되어 있다. 그래프에 대한 표지는 다음에 상응한다: (1) NOXA, (2) 서열번호 1 - 100μM, (3) 서열번호 1 - 30μM 및 (4) 서열번호 1 - 10μM. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, OCI-AML-3 세포에서, 10μM까지 프로파일링 펩티드의 농도를 감소시키는 것은 Mcl-1 의존성 백분율을 100μM에서 표준 NOXA 펩티드의 필적하는 값으로 되게 한다.

[0211] 실시예 3

[0212] AML 대상체-기반 코호트를 사용한 연구

[0213] AML을 갖는 새롭게 진단된 대상체로부터 말초 혈액 및 골수 샘플을 수득하고, 샘플로부터의 세포를 본원에 개시된 프로파일링 펩티드(예: 서열번호 1, 14 또는 15) 중의 하나 이상과 접촉시켜 분석했다. 대상체는, 이들의 샘플 중의 Mcl-1 의존성이 소정 양(예: 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 이상) 이상인 경우, 알보시딥-함유 섭생(예: FLAM: 알보시딥(Flavopiridol), Ara-C 및 미토크산트론)으로 처리했다. 처리된 대상체의 통계학적으로 유의한 백분율(예를 들면, 75% 초과 또는 심지어 95% 초과)은 완전한 반응을 갖는다. 완전한 반응은 모든 세포주의 정상 성숙으로 5% 미만의 골수모세포, ANC 1000/μL 및 혈소판 수 100,000/μL, 말초 혈액 중의 블라스트의 부재, 골수 중의 백혈구 세포의 부재, 질환과 연관된 세포유전학의 클리어런스, 및 이전 골수이식 질환의 클리어런스를 특징으로 한다.

[0214] 감도 프로파일링

[0215] 요약하면, 동결 추출된 백혈구 샘플을 신속하게 해동시키고, 세포 생존율을 트리판 블루 배제에 의해 측정했다. 세포를 FACS 완충액(2% FBS를 함유하는 1x PBS)로 세척하고, 형광 표지된 CD45, CD3 및 CD20 모노클로날 항체를 사용하여 면역표현했다. 이어서, 세포를 섭동 단계를 위해 뉴마이어(Newmeyer) 완충액(10mM 트레할로즈, 10mM HEPES, 80mM KCl, 20μM EGTA, 20μM EDTA, 5mM 석시네이트, pH 7.4)에 재현탁시켰다. 프로파일링 펩티드를 뉴마이어 완충액으로 희석하여 작업 용액을 서열번호 1(100μM), 서열번호 14(100μM) 및 서열번호 15(100μM)의 최종 농도로 되게 했다. DMSO 및 BAM-15를 음성 및 양성 펩티드 대조군으로 사용한다. 올리고마이신을 개개 FACS 튜브에 첨가하고, 이어서 프로파일링 펩티드를 첨가한다. 이어서, 세포를 FACS 튜브에 첨가하고, 2시간 15분 동안 실온에서 인큐베이팅하여, 펩티드의 전달 및 미토콘드리아 탈분극이 발생하도록 한다. 인큐베이션 후, JC-1 염료를 뉴마이어 완충액에서 제조하고, 처리된 세포에 직접 첨가한다. JC-1과 45분간 인큐베이션 후, 세포를 3개 레이저 BD FACSCanto II 상에서 분석한다. AML 블라스트는 3개 파라미터에 기반하여 게이팅된다: 1) SSC에 기초하여 단일선 식별, 2) CD45 dim 및 CD3/CD20 음성, 및 3) SSC 낮음. 게이팅 블라스트 모집단의 중앙 JC-1 적색 형광을 사용하여, DMSO(음성) 및 BAM-15(양성) 대조군과 비교하여 탈분극 %를 계산한다. 개개 대상체의 세포유전학적 위험 분류(양호, 중정도 및 유해)는 암 및 백혈병 그룹 B(CALGB) 가이드라인으로부터 결정된다.

[0216] 통계학적 분석: 각 펩티드에 대해, Mcl-1 의존성 백분율은, 완전히 비프라이밍된 참조로서 DMSO 음성 대조군 및 100% 프라이밍된 참조로서 BAM-15에 기초하여 의존성을 측정하는 하기 수학식을 사용하여 계산한다:

$$PP = \left[1 - \left(\frac{Pep - PC}{NC - PC}\right)\right] * 100$$

[0217]

[0218] 여기서, PC는 양성 대조군의 AUC이고, NC는 음성 대조군의 AUC이고, Pep는 펩티드의 AUC이다.

[0219] 분석을 위해, CR로 분류되지 않은 모든 대상체를 무-응답자로서 처리한다[최소 잔류 질환(MRD), 부분 관해(PR) 및 TF(치료 실패)]. 프로파일링 펩티드(및 기타 종양 특성, 예를 들면, 세포유전학 등)과 반응 사이의 스튜던트 t-검정, 만-휘트니(Mann-Whitney) 순위-합계 비-파라미터 검정, 다변량 로지스틱 회귀 및 ROC 곡선 분석은 그라프패드 프리즘 버젼(GraphPad Prism Version) 5.04 및 MedCalc 버전(Version) 14.8.1을 사용하여 계산한다.

[0220] FLAM 프로토콜에 등록된 AML 대상체 샘플의 미토콘드리아 프로파일링

[0221] 대상체로부터 수득된 임상 변수를 반응과 비교하여, 필요한 경우, 이들 인자 중의 어느 것이 치료제에 반응하거나 반응하지 않는 대상체에 영향을 미치는지를 측정한다. CR과 유의한 회합을 갖는 것으로 예상되는 변수는 세포유전학적 위험 인자이고, 여기서 유해한 분류를 갖는 것들은 치료제에 반응할 가능성이 낮다. WBC, MDS의 병력, 및 후속 프로토콜은 잠재적으로 중요하다.

[0222] 분석에 대한 감도 프로파일링의 부가는 단독으로 또는 병용 요법으로 알보시딥에 반응하는 대상체를 동정하는 능력을 크게 증가시킬 것으로 예상된다.

[0223] 실시예 4

[0224] 예시적 검정 절차

[0225] 단핵 세포는 밀도-구배 원심분리를 사용하여 일차 골수 흡인물로부터 단리한다. 샘플 품질은 트리판 블루 배제를 사용하여 측정한다. 이어서, 세포를 펠렛화하고, BSA에서 차단시키고, B 및 T 세포에 특이적인 마커, 뿐만 아니라 단구 분화 마커 및 블라스트-특이적 마커에 대해 염색한다. 염색 후, 세포를 펠렛화하고, 형광-활성화된 세포 분류(FACS) 튜브로 분리하고, 물(음성 대조군), CCCP(양성 대조군) 또는 서열번호 14(대상체 의존성)로 처리한다. 1시간 후, $DiOC_6$, 양이온 미토콘드리아 염료를 첨가한다. 1시간 후, 세포를 유동 세포계측법으로 분석한다. 블라스트 세포는 각 샘플의 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅하여 단리한다. 의존성 값은 하기 수학식에 따라 각 샘플에서 $DiOC_6$의 중앙 형광 강도(MFI)를 사용하여 계산한다:

$$PP = \left\langle \left[1 - \frac{\left(\text{펩티드 } MFI - CCCP\ MFI\right)}{(H2O\ MFI - CCCP\ MFI)}\right] \right\rangle * 100$$

[0226]

[0227] 실시예 5

[0228] 예시적 검정 절차

[0229] 백혈구는 피콜 제제를 사용하여 일차 골수 흡인물로부터 단리한다. 백혈구는 신선하거나 동결될 수 있다. 동결된 경우, 샘플은 시험 전에 해동시킨다. 37℃ 인큐베이터에서 60분 동안 DNase 1과 함께 RPMI에서 샘플을 인큐베이팅한다. 이어서, 세포를 펠렛화하고, 15분 동안 아이스 상에서 1% BSA와 함께 PBS에서 차단시킨 다음, 암실에서 아이스 상에서 30분 동안 염색한다. 염색 후, 세포를 펠렛화하고, 리아노딘(30nM) 및 올리고마이신을 갖는 DTEB에 재현탁시킨다. 37℃ 인큐베이터에서 30분 동안 인큐베이팅 후, 샘플을 형광-활성화된 세포 분류(FACS) 튜브로 분리하고, 물(음성 대조군), CCCP(양성 대조군) 또는 서열번호 14(대상체 의존성)으로 처리하고, 37℃ 인큐베이터에서 60분 동안 인큐베이팅한다. 이어서, $DiOC_6$, 양이온 미토콘드리아 염료를 첨가하고, 60분 동안 37℃ 인큐베이터에서 인큐베이팅한다. 이어서, 세포를 유동 세포계측법에 의해 분석한다. 블라스트 세포는 각 샘플의 CD45 dim, CD13, CD33 및 CD34 고 모집단을 게이팅하여 단리한다(도 3 참조). 인큐베이팅하는 경우, 세포는 CD3 및 CD20을 사용하여 추가로 게이팅할 수 있다. 의존성 값은 하기 수학식에 따라 각 샘플에서 $DiOC_6$의 중앙 형광 강도(MFI)를 사용하여 계산한다:

$$PP = \left\langle \left[1 - \frac{\left(펩티드\ MFI - CCCP\ MFI \right)}{(H2O\ MFI - CCCP\ MFI)} \right] \right\rangle * 100$$

[0230]

[0231] 실시예 6

[0232] 검정에 리아노딘의 첨가

[0233] 실시예 5에 기재된 검정에 리아노딘 첨가의 효과를 시험했다. 리아노딘을 검정에 첨가하고, 이의 효과가 ER로부터의 Tat-매개된 칼슘 방출에 기인하고 20nM 리아노딘을 사용한 처리가 비특이적 염료 흡수를 방해했음을 측정했다. 도 4에 제시된 바와 같이, 리아노딘의 첨가는 비-특이성을 감소시켰고, 프로파일링 펩티드 농도의 증가를 가능하게 하고, 이에 의해 검정 결과를 NOXA 검정 결과와 완전히 동등하게 한다.

[0234] 실시예 7

[0235] NOXA 프라이밍 검정의 비교

[0236] NOXA 검정 결과를 실시예 5에 기재된 검정의 결과와 비교했다. 표 4는, NOXA 시험 결과가 공개[참조: Ishizawa et al. (2015) Mitochondrial Profiling of Acute Myeloid Leukemia in the Assessment of Response to Apoptosis Modulating Drugs. PLoS ONE 10(9): e0138377]되어 있는 세포주로부터 NOXA 및 서열번호 14 검정 결과의 비교를 나타낸다.

표 4

NOXA 검정 결과와 서열번호 14 검정 결과의 비교

[0237]

세포주	NOXA 프라이밍 %	서열번호 14 의존성 %	일치*
MOLM-13	19.24	20.78	Y
OCI-AML3	21.96	19.40	Y
THP-1	11.28	11.70	Y
HL-60	7.60	24.5	Y
U-937	24.35	10.1	Y
KG-1	12.39	0.0	Y
MV4-11	12.84	5.0	Y

[0238] * 양 방법에 대한 ≥40% MCL-1 의존성의 컷오프에 기초한 일치

[0239] 표 5는, NOXA 시험 결과가 생성된 대상체 샘플로부터 NOXA 및 서열번호 14 검정 결과의 비교를 나타낸다. 주목할 것은, 표 5 중의 샘플 17 내지 19는, FLAM으로 치료하고 요법에 대해 완전한 반응을 나타낸 대상체로부터 수집했다.

표 5

NOXA 검정 결과 및 서열번호 14 검정 결과의 비교

샘플 #	참조 랩 NOXA 프라이밍 %	참조 랩 NOXA 결과 (Pos/Neg)*	서열번호 14 의존성 %	서열번호 14 결과 (Pos/Neg)	일치* (Y/N)
1	14.0	Neg	18.0	Neg	Y
2	60.0	Pos	44.9	Pos	Y
3	16.0	Neg	53.8	Pos	N
4	0.0	Neg	26.7	Neg	Y
5	94.4	Pos	70.8	Pos	Y
6	48.6	Pos	44.3	Pos	Y
7	0.0	Neg	48.1	Pos	N
8	23.5	Neg	17.0	Neg	Y
9	79.1	Pos	71.8	Pos	Y
10	38.0	Neg	0.0	Neg	Y
11	43.3	Pos	40.6	Pos	Y
12	0.0	Neg	38.3	Neg	Y
13	0.0	Neg	35.2	Neg	Y
14	0.0	Neg	2.6	Neg	Y
15	7.0	Neg	0.0	Neg	Y
16	7.0	Neg	0.1	Neg	Y
17	10.89	Neg	62.4	Pos	N
18	14.43	Neg	55.0	Pos	N
19	0.0	Neg	27.8	Neg	Y

[0240]

[0241] * 양 방법에 대한 ≥40% MCL-1 의존성의 컷오프에 기초한 일치

[0242] 표 4 및 표 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 정성적 일치는 19개 샘플 중의 15개에 대해 관찰되었고, 정성적 일치는 공개된 의존성 값을 갖는 7개 세포주의 7개에 대해 관찰되었고, 일치는 26개 전체 샘플(대상체 샘플 및 세포주) 중의 22개에 대해 관찰되었다. 전체 관찰된 정확도는 81% 특이성(17/21 음성 샘플) 및 100% 감수성(5/5 양성 샘플)이었다.

[0243] 표 5에서 볼 수 있는 바와 같이 최초에 음성으로 시험된 4개 샘플은 서열번호 14 검정을 사용하여 양성으로 시험했다. 이들 4개 샘플은 개선된 검정 방법론 및 유동 세포계측 게이팅 전략에 기인하여 양성으로 간주된 것으로 생각된다.

[0244] 이 연구로부터의 결과는 서열번호 14 검정 및 본래 NOXA 검정이, ≥40% 의존성의 컷오프를 사용하는 경우, 85% 초과로 일치하는 것을 나타낸다. 도 5는 MCL-1 의존성 ≥40%를 갖는 AML 대상체에 대한 완전한 반응의 비율이 100%인 것을 나타낸다.

[0245] 당업자는 하나 이상의 통상의 실험을 사용하여 본원에 구체적으로 기재된 특정 구현예에 대한 다수의 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 특정 구현예의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

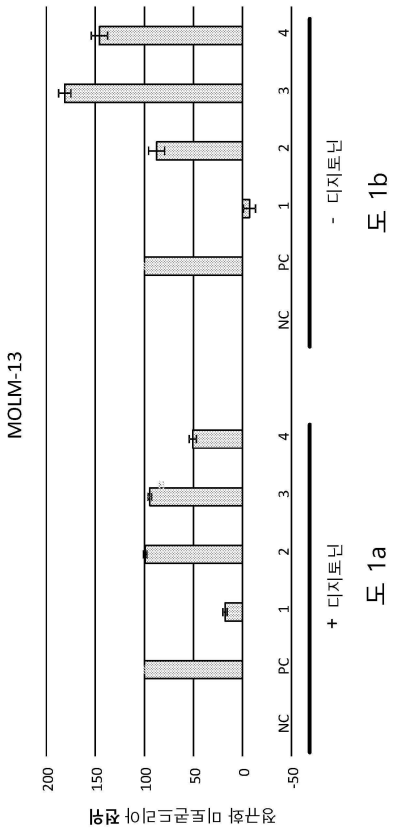
[0246] 본 출원이 우선권으로 주장하는 2016년 12월 19일자로 출원된 미국 가특허원 제62/436,221호 및 2017년 9월 25일자로 출원된 미국 가특허원 제62/562,990호를 포함하여, 본 명세서에서 언급되는 모든 미국 특허, 미국 특허 공보, 미국 특허원, 외국 특허, 외국 특허원 및 비-특허 간행물은 본 명세서와 모순되지 않는 정도까지 이의 전체가 본원에서 참조로서 도입된다. 구현예의 양상은, 필요한 경우, 추가의 구현예를 제공하기 위해 다양한 특허, 특허원 및 간행물의 개념을 사용하도록 변형될 수 있다. 이들 및 기타 변경은 상기 상세한 설명에 비추어 구현예에 대해 이루어질 수 있다.

[0247] 상기 설명으로부터, 본 발명의 특정 구현예를 예시의 목적으로 본원에 기재하였지만, 본 발명의 정신 및 범위로

부터 일탈하지 않고서 다양한 변경을 가할 수 있음이 이해된다. 따라서, 본 발명은 첨부된 특허청구범위에 의한 이외에는 한정되지 않는다.

도면

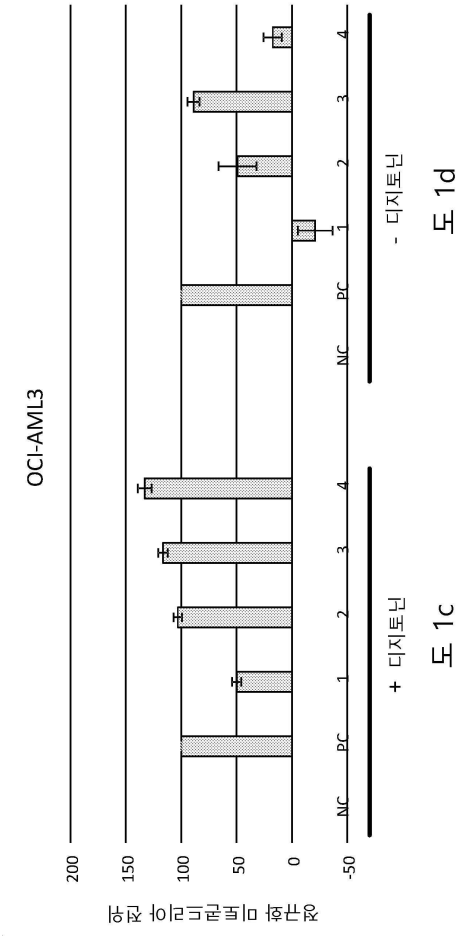
도면1ab



도 1a

도 1b

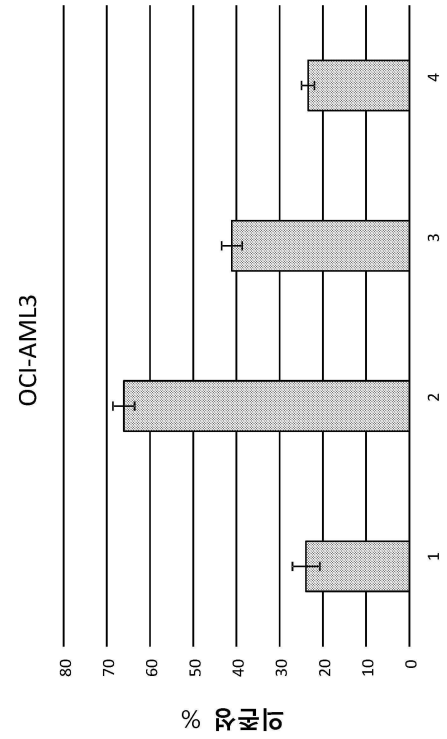
도면1cd



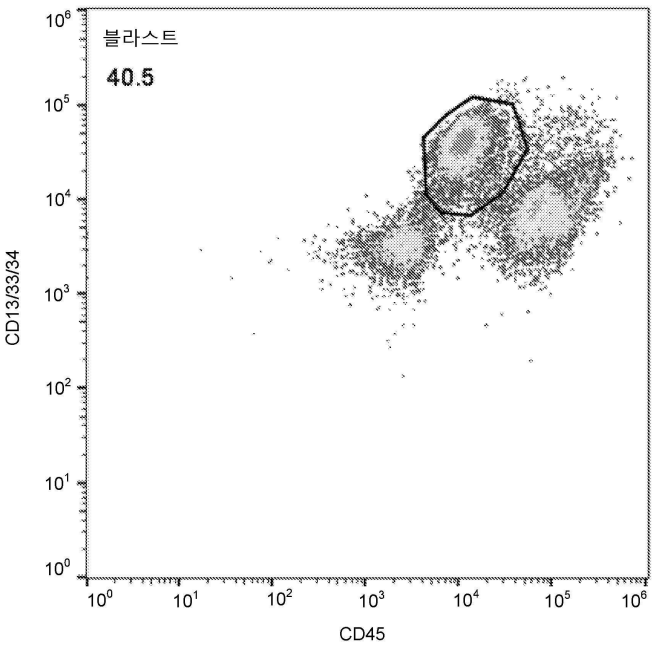
도 1c

도 1d

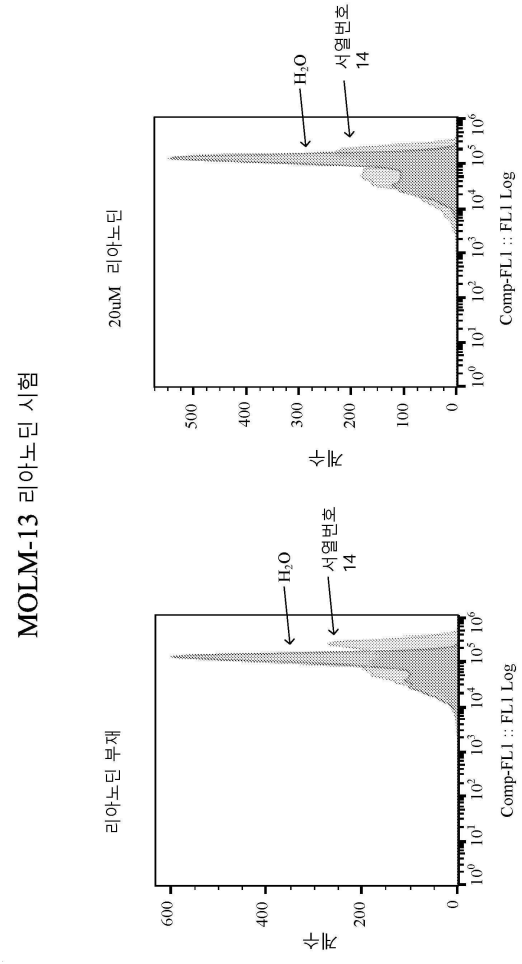
도면2


OCI-AML3
1
2
3
4
80
70
60
50
40
30
20
10
0
억존성 %

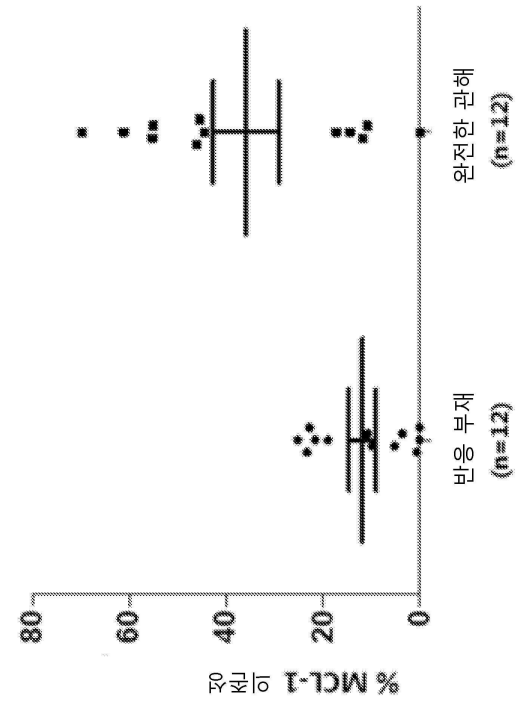
도면3


블라스트
40.5
CD13/33/34
CD45
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6

도면4


MOLM-13 리아노딘 시험
리아노딘 부재
20uM 리아노딘
H_2O
서열번호 14
수
Comp-FL1 :: FL1 Log

도면5


% MCL-1 억제
반응 부재 (n=12)
완전한 관해 (n=12)

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Tolero Pharmaceuticals, Inc.

<120> PROFILING PEPTIDES AND METHODS FOR SENSITIVITY PROFILING

<130> IPA190868-US

<140> PCT

<141> 2017-12-19

<150> US 62/436,221

<151> 2016-12-19

<150> US 62/562,990

<151> 2017-09-25

<160> 16

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 1

Arg Pro Glu Ile Trp Met Thr Gln Gly Leu Arg Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 2

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 2

Arg Pro Glu Ile Trp Leu Thr Gln Ser Leu Gln Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 3

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 3

Arg Pro Glu Ile Trp Leu Thr Gln His Leu Gln Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 4

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 4

Arg Pro Glu Ile Trp Met Gly Gln Gly Leu Arg Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 5

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 5

Arg Pro Glu Ile Trp Leu Gly Gln Ser Leu Gln Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 6

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 6

Arg Pro Glu Ile Trp Leu Gly Gln His Leu Gln Arg Leu Gly Asp Glu

1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 7

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 7

Arg Pro Glu Ile Trp Ile Thr Gln Glu Leu Arg Arg Ile Gly Asp Glu

1 5 10 15

Phe Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 8

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 8

Arg Pro Glu Ile Trp Met Thr Gln Glu Leu Arg Arg Ile Gly Asp Glu

1 5 10 15

Phe Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg

20

<210> 9

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 9

Arg Pro Glu Ile Trp Ile Thr Gln Gly Leu Arg Arg Ile Gly Asp Glu
1 5 10 15

Phe Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg
20

<210> 10

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 10

Arg Pro Glu Ile Trp Ile Thr Gln Glu Leu Arg Arg Leu Gly Asp Glu
1 5 10 15

Phe Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg
20

<210> 11

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary Mcl-1 Binding Domain sequence

<400> 11

Arg Pro Glu Ile Trp Ile Thr Gln Glu Leu Arg Arg Ile Gly Asp Glu
1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg
20

<210> 12

<211> 11

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TAT translocation domain

<400> 12

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ANT translocation domain sequence

<400> 13

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys

1 5 10 15

<210> 14

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> profiling peptide sequence

<400> 14

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Gly Gly Arg Pro

1 5 10 15

Glu Ile Trp Met Thr Gln Gly Leu Arg Arg Leu Gly Asp Glu Ile Asn

20 25 30

Ala Tyr Tyr Ala Arg

35

<210> 15

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> profiling peptide sequence

<400> 15

Arg Pro Glu Ile Trp Met Thr Gln Gly Leu Arg Arg Leu Gly Asp Glu
1 5 10 15

Ile Asn Ala Tyr Tyr Ala Arg Gly Gly Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg
20 25 30

Arg Gln Arg Arg Arg
35

<210> 16

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NOXA sequence

<400> 16

Ala Glu Leu Pro Pro Glu Phe Ala Ala Gln Leu Arg Lys Ile Gly Asp
1 5 10 15

Lys Val Tyr Cys
20