



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0121131
(43) 공개일자 2015년10월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A01K 67/027 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01) C12N 9/12 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A01K 67/0271 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7026033
(22) 출원일자(국제) 2014년02월20일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2015년09월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/017515
(87) 국제공개번호 WO 2014/130741
국제공개일자 2014년08월28일
(30) 우선권주장
61/767,206 2013년02월20일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
미네르바 바이오테크놀로지 코포레이션
미국 메사추세츠주 02451, 월섬, 40 베어 힐가
(72) 발명자
밤다드, 신시아
미국 메사추세츠주 02451, 월섬, 40 베어 힐가
스마그, 벤와
미국 메사추세츠주 02451, 월섬, 40 베어 힐가
(74) 대리인
위병갑

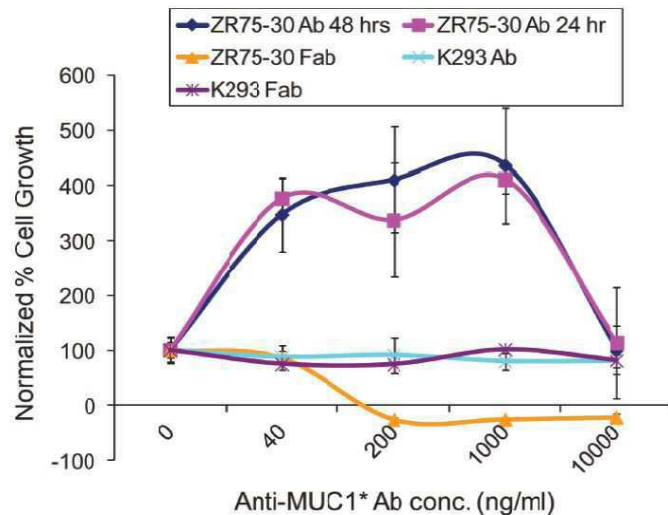
전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 발명의 명칭 NME 저해제 및 NME 저해제의 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 NME 패밀리 단백질의 저해제에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 49/0008 (2013.01)
C07K 14/4727 (2013.01)
C07K 16/18 (2013.01)
C12N 9/1229 (2013.01)
G01N 33/5073 (2013.01)
G01N 33/574 (2013.01)
G01N 2333/71 (2013.01)
G01N 2500/10 (2013.01)
G01N 2800/56 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/768,992 2013년02월25일 미국(US)
61/774,558 2013년03월07일 미국(US)
61/837,560 2013년06월20일 미국(US)
PCT/US2013/050563 2013년07월15일 미국(US)
PCT/US2013/051899 2013년07월24일 미국(US)
61/865,092 2013년08월12일 미국(US)
PCT/US2013/055015 2013년08월14일 미국(US)
61/894,365 2013년10월22일 미국(US)
61/901,343 2013년11월07일 미국(US)
61/925,190 2014년01월08일 미국(US)
61/925,601 2014년01월09일 미국(US)
61/938,051 2014년02월10일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

NME 패밀리 멤버 단백질의 기능을 저해하는 제제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제제가 항체인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 항체가 1가(monovalent) 또는 2가(bivalent)의 Fab, 또는 이중-특이적인 인간 또는 인간화된 IgM인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제제가 소분자인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 5

제1항에 있어서,

저해되는 NME 패밀리 멤버 단백질의 기능이,

줄기세포의 증식을 촉진하거나 및/또는 분화를 저해하는 능력; 암세포의 증식을 촉진하거나 및/또는 분화를 저해하는 능력; MUC1*에 결합하는 능력; DNA에 결합하는 능력; 전사인자로서 작용하는 능력; 세포에 의해 분비되는 능력; 또는 다이머를 형성하는 능력인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 NME 패밀리 멤버가 NME7 또는 NME7-AB인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 항체는 NME7 또는 NME7AB의 종양원성 활성(tumorigenic activity)을 저해하는 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 NME 패밀리 멤버가, 분자량이 25 kDa 내지 33 kDa인 NME7의 변이체인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 NME 패밀리 멤버는 NME6인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 NME 패밀리 멤버가 NME1인 것을 특징으로 하는 제제.

청구항 11

암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서,

NME 패밀리 멤버 단백질의 종양원성 활성을 저해하는 제제를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

NME 패밀리 멤버 단백질이 NME7, NME6 또는 NME1인, 방법.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서,

제제가 NME1이 아닌 NME7을 저해하는, 방법.

청구항 14

제11항 또는 제12항에 있어서,

제제가 NME7과 MUC1^{*} 간의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 15

제11항 또는 제12항에 있어서,

제제가 NME7과 동족(cognate) 핵산 결합 부위 간의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 16

제11항 또는 제12항에 있어서,

제제가 항체인, 방법.

청구항 17

암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서,

핵사머 상태의 NME1을 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

NME1은 핵사머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체인, 방법.

청구항 19

암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서,

모노머 상태의 NME6를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

NME6가 모노머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체인, 방법.

청구항 21

암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서,
모노머 상태의 NME1을 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서,
NME1이 모노머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체인, 방법.

청구항 23

암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서,
NME 패밀리 멤버와 이의 동족 수용체 간의 상호작용을 저해하는 펩타이드 또는 펩타이드 모방체(mimic)를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서,
동족 수용체(cognate receptor)가 MUC1인, 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서,
펩타이드가 MUC1의 MUC1^{*} 부분(portion), PSMGFR, N-10 PSMGFR, N-15 PSMGFR 또는 N-20 PSMGFR로부터 유래되는, 방법.

청구항 26

암을 분류하거나, 또는 암을 앓고 있거나 또는 암을 앓는 것으로 의심되는 환자를 계층화하는 방법으로서,
(i) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 존재 여부에 대해 환자 검체를 분석하는 단계; 및
(ii) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 유사한 발현 또는 발현 수준을 공유하는 환자를 그룹으로 나누는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서,
상기 (iii) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물을 저해하는 제제로 환자를 치료하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 28

제26항에 있어서,
상기 (iii) 암의 중증도를 평가하기 위해 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물을 분석하는 단계로서, 초기의 줄기세포 또는 전구세포 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 높은 암을 의미하며, 후기 전구세포 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 낮은 암을 의미하는, 단계;
(iv) 단계(iii)에서 결정된 다소 공격적인 암을 가진 암 환자에 적합한 치료법을 설계하는 단계; 및
(v) 단계(iv)의 설계에 따른 치료법으로 환자를 치료하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서,

환자의 검체가 혈액, 체액 또는 생검인, 방법.

청구항 30

제27항 또는 제28항에 있어서,

유전자 또는 유전자 생성물이 NME 패밀리 단백질인, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서,

초기(earlier) 줄기세포의 상태를 지표(indicative)하는 유전자 또는 유전자 생성물이 NME7인, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서,

초기의 줄기세포의 상태를 지표(indicative)하는 유전자 또는 유전자 생성물이 NME6인, 방법.

청구항 33

NME 패밀리 멤버 단백질과, 세포외 영역이 탠덤 반복 영역(tandem repeat region)을 포함하지 않는 MUC1 막관통 단백질 간의 상호작용을 저해하는 제제로서,

제제는, 성인에서 건강한 세포 상에 존재하는 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 세포외 영역을 가진 MUC1 막관통 단백질에의 결합보다 높은 친화성으로 암세포 상의 MUC1^{*}에 결합하는, 제제.

청구항 34

제33항에 있어서,

제제가 항체인, 제제.

청구항 35

제33항에 있어서,

제제가 천연 생성물인, 제제.

청구항 36

제33항에 있어서,

제제가 합성 화합물인, 제제.

청구항 37

제33항에 있어서,

제제가 핵산인, 제제.

청구항 38

세포에서, NME 패밀리 멤버 단백질과, 세포외 영역이 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 MUC1 막관통 단백질 간의 상호작용을 저해하는 방법으로서,

세포를, 성인에서 건강한 세포 상에 존재하는 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 세포외 영역을 가진 MUC1 막관통 단백질에의 결합보다 높은 친화성으로 암세포 상의 MUC1^{*}에 결합하는 제제와 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서,

제제가 항체인, 방법.

청구항 40

제38항에 있어서,

제제가 천연 생성물인, 방법.

청구항 41

제38항에 있어서,

제제가 합성 화학물질인, 방법.

청구항 42

제38항에 있어서,

제제가 핵산인, 방법.

청구항 43

제33항에 따른 제제를 확인하는 방법으로서,

암세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 대한 제제의 친화성을 측정하는 단계;

줄기세포 또는 전구세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 대한 제제의 친화성을 측정하는 단계; 및

줄기세포 또는 전구세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 결합하는 능력보다 암세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 결합하는 능력이 더 양호한 제제를 선별하여, 제제를 확인하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서,

제제가 항체인, 방법.

청구항 45

제43항에 있어서,

제제가 천연 생성물인, 방법.

청구항 46

제43항에 있어서,

제제가 합성 화학물질인, 방법.

청구항 47

제43항에 있어서,

제제가 핵산인, 방법.

청구항 48

제43항에 있어서,

줄기세포 또는 전구세포가 배아 줄기세포, iPS 세포, 체대혈 세포, 골수 세포 또는 조혈모 전구세포인, 방법.

청구항 49

제33항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

NME 패밀리 멤버 단백질이 NME7, NME6 또는 박테리아 NME인, 제제.

청구항 50

제38항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서,

NME 패밀리 멤버 단백질이 NME7, NME6 또는 박테리아 NME인, 방법.

청구항 51

생식 세포 및 체세포에서 인간 NME 단백질을 발현하는 형질전환된 포유류로서, 상기 생식 세포 및 체세포는 상기 포유류에 도입되는 인간 NME를 코딩하는 핵산을 포함하는, 형질전환된 포유류.

청구항 52

제51항에 있어서,

NME 단백질이 유도 발현되는, 형질전환된 포유류.

청구항 53

제51항에 있어서,

NME 단백질이 NME7 또는 NME7-AB인, 형질전환된 포유류.

청구항 54

인간의 반응과 유사하게 암에 반응하는 포유류를 생산하는 방법으로서,

상기 포유류는 인간 NME 단백질이 발현되어 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 55

제54항에 있어서,

암이 자발적으로 발생되거나, 또는 배양된 세포 또는 인간으로부터 이식되는, 방법.

청구항 56

제54항에 있어서,

NME 단백질이 NME1 다이머 또는 NME7 모노머인, 방법.

청구항 57

제54항에 있어서,

상기 포유류는 형질전환된 포유류이며,

상기 포유류는 생식 세포 및 체세포에서 인간 MUC1, MUC1* 또는 NME 단백질을 발현하고,

상기 생식 세포 및 체세포는 상기 포유류에 도입되는 재조합 인간 MUC1, MUC1* 또는 NME 단백질 유전자 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 58

제54항에 있어서,

NME 단백질이 유도 발현되는, 방법.

청구항 59

제54항에 있어서,

NME 단백질이 NME7 또는 NME7-AB인, 방법.

청구항 60

포유류에서 인간 종양의 이식(engraftment)을 증가시키는 방법으로서,

인간 종양 세포를 NME1 다이머 또는 NME7 모노머와 혼합한 후, 이 세포를 테스트 포유류에게 주사하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 61

항체 생성 방법으로서,

NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편이나 단편들을 포유류에게 주사하고, 항체 또는 항체-생성 세포를 수집하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서,

NME 패밀리 단백질이 NME7 또는 NME7-AB인, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서,

펩타이드 단편이 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택되는, 방법.

청구항 64

NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체-유사 분자를 생성하거나 또는 선별하는 방법으로서,

(i) NME 패밀리 단백질 또는 펩타이드 단편을 이용해 항체 라이브러리, 또는 항체 단편 또는 에피토프의 라이브러리를 스크리닝하는 단계;

(ii) NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편에의 결합을 분석하는 단계; 및

(iii) 특이적으로 결합된 항체 또는 항체-유사 분자를 확인하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서,

암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여하기 위한 확인된 항체 또는 항체-유사 분자를 제형화하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 66

제64항에 있어서,

NME 패밀리 단백질이 NME7 또는 NME7-AB인, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서,

펩타이드 단편이 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택되는, 방법.

청구항 68

NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편이나 단편들을 사람에게 백신 접종함으로써, 암을 예방하는 방법.

청구항 69

제68항에 있어서,

펩타이드 단편 또는 단편들은, 서열이 NME 패밀리 단백질에 존재하는 하나 이상의 펩타이드를 포함하며, 선택적으로 담체나 보조제와 혼합되거나 또는 면역원성제에 부착되는, 방법.

청구항 70

제68항에 있어서,

NME 패밀리 단백질이 NME1, NME6, NME7 또는 NME7-AB인, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서,

펩타이드가 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로 표시되는 아미노산 사열을 가진 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 72

제68항에 있어서,

펩타이드의 서열이 인간 NME-H1에 존재하지 않는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 NME 패밀리 단백질의 저해제에 관한 것이다. 또한 본 발명은 NME 저해제의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

최근, 세포독성제인 항암 약물이, 암세포 성장을 직간접적으로 촉진하는 특정 분자를 표적으로 하는 '스마트'한 약물로 대체되거나 또는 보강되고 있다. 이상적으로, 표적화된 분자는 건강한 세포보다는 암세포에서 더 많이 발현된다. 거의 암세포 또는 암성 조직에서만 발현되며 건강한 성인의 조직에서는 발현되지 않는 분자를 표적으로 하는 약물이 보다 더 바람직할 것이다. 이 경우, 표적 분자는 환자의 건강한 조직에 상당한 피해를 주지 않으면서도 효과적으로 불능화될 수 있다.

[0003]

본 발명자들은 사전에, NME 단백질이 MUC1^{*} 성장 인자 수용체의 리간드이며, 이들 리간드-수용체 쌍은 줄기세포 및 암세포 둘 다의 성장을 매개한다는 그들의 발견을 보고하였다(Mahanta et al, 2008, Hikita et al, 2008, Smagghe et al, 2013). 그전에는, NM23-H1 및 NM23-H2(NME1 및 NME2)가 분화에 역할을 하는 것으로 시사된 적이 있지만, 문헌은 모순되는 보고들로 가득차 있었다(Lombardi et al, 1995). 주로, NM23는, 백혈병 세포가 백혈병의 특징인 말기 분화에 도달하지 못하도록 방지하는 저해 인자로서 확인된 바 있다(Okabe-Kado, J., et al. 1985, Okabe-Kado, J., et al. 1992, Okabe-Kado, J., et al. 1995). 그러나, NM23-H1 및 H-2가, MUC1^{*}의 세포외 영역의 리간드-유도성 다이머화를 통해 줄기세포 및 암세포 성장을 촉진한 MUC1^{*} 성장 인자 수용체의 리간드였다는 본 발명자들의 개시내용 전에는, 어떻게 NM23이 분화에 관여했는지, 또는 보다 중요하게는 활성이 되기 위해 다이머이어야 했는지 또는 이의 표적 수용체를 다이머화해야 했는지에 대해서는 알려지지 않았다. 본 발명자들은, 다이머 NM23이 암세포 및 줄기세포 상의 MUC1^{*}에 결합하여 이를 다이머화하고, 암 성장 및 생존을 또는 성장 및 전분화능을 각각 촉진한다는 것을 보여주었다. NM23 테트라머 또는 헥사머는 MUC1^{*} 수용체의 PSMGFR 영역에 결합하지 않으며, 다이머와는 반대되는 작용을 가진다. 헥사머 NM23은 줄기세포의 분화를 유도한다.

[0004]

마찬가지로, 많은 연구원들은 MUC1을 표적으로 하는 약물을 개발하기 위한 시도를 하였다. 그러나, 본 발명자들이, 그것이, 성장 인자 수용체로서 작용하며 리간드-유도성 다이머화에 의해 활성화되는, PSMGFR 서열로 주로 구성되는 세포외 영역을 포함하는 MUC1^{*}이라고 하는 절단된 형태인 것을 발견하기 전에는, MUC1이 암과 관련이 있다고 하더라도 어떻게 해서 관련이 있는지는 알려지지 않았다. 사실상, MUC1을 목적으로 하는 항암 치료제의

개발에 있어서 본질적으로 모든 다른 시도들은 세포의 영역의 탠덤 반복부(tandem repeat)를 표적으로 하였으며, 본 발명자들이 보여준 것은 세포 표면으로부터 해리(shed)되어 방출된다. 그때까지는 사회적 통념상, MUC1은 절단되긴 하였지만, 탠덤 반복부를 포함하는 절단된 부분이 아래로 내려와서, 세포 표면에 부착된 채로 존재하는 막관통 단편에 결합하여 헤테로다имер를 형성하였다(Ligtenberg et al, 1990, Baruch A et al.(1999). 본 발명자들은, 절단된 형태인 MUC1^{*}만 인지하는 항체 또는 해리된(shed) 영역(탠덤 반복부 또는 '코어')에만 결합하는 항체를 사용하여 암성 조직의 이중 염색 실험으로서 사실이 아님을 확인한 결과, 절단된 형태를 염색시킨 항체는 탠덤 반복부에 결합된 항체와 공동-위치화되지 않았음이 드러났다고 보여주었다. 사실상, 암성 조직의 대부분의 막 염색은 온전한 탠덤 반복 영역을 가진 MUC1에 대해 음성이거나 또는 최소한으로 양성이었으나, 클립형의(clipped) MUC1^{*} 형태에 대해서는 매우 양성이었다. 이들 실험은, MUC1이 절단되는 경우, 벌키(bulky) 세포의 영역이 세포 표면으로부터 방출된다는 것을 보여주었다(Mahanta, et al, 2008).

[0005]

항암 약물 외에도, 항암 백신을 개발하려는 시도들을 실패한 적이 많았다. 문제점은, 신체의 면역계가, 건강한 조직 상의 표적뿐만 아니라 임의의 미래의 암성 조직 상의 표적도 파괴할 '자가'에 대한 항체를 생성할 것이라는 점이다. MUC1을 표적으로 하는 항암 백신을 개발하려는 시도들이 몇몇 있었다. 그러나, 각각의 실패한 시도에서, 표적화된 MUC1 분자의 부분은, 본 발명자들이 이전에 보여주었으며 암세포의 표면으로부터 해리되는 탠덤 반복 영역이라고도 알려진 '코어'였다(Kroemer G et al, 2013).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006]

본 발명의 목적은 NME 패밀리 단백질의 저해제 및 이의 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007]

본 발명은 일 측면에서, 본 발명은 건강한 세포가 아니라 암세포를 우선적으로 인지하는 항체에 관한 것이며, 여기서, MUC1은 성장 인자 수용체 형태로 클립화된다.

[0008]

또 다른 측면에서, 본 발명은 NME 단백질을 표적으로 하는 항체에 관한 것이다.

[0009]

본 발명의 또 다른 측면에서, 항체는, 초기(early life)에 우선적으로 발현되며 성인기에는 훨씬 낮은 정도로 발현되는 NME 단백질을 표적으로 한다. 바람직하게는, 이들 NME 단백질은 성체 세포에서가 아니라 줄기세포에서 높은 수준으로 존재한다.

[0010]

본 발명의 또 다른 측면에서, 항체는, 배아발생의 매우 이른 단계에서 또는 미경험(미경험) 상태의 줄기세포에서 우선적으로 발현되지만, 성체 조직에서는 발현되지 않거나 또는 낮은 수준으로 발현되는 NME 단백질을 표적으로 한다.

[0011]

본 발명의 또 다른 측면에서, NME1을 표적으로 하는 항체가 생성된다.

[0012]

본 발명의 또 다른 측면에서, NME6를 표적으로 하는 항체가 생성된다.

[0013]

본 발명의 또 다른 측면에서, NME1 또는 NME6를 표적으로 하는 항체가 생성되며, 여기서, 이들은 다이머화를 저해한다.

[0014]

본 발명의 또 다른 측면에서, NME7을 표적으로 하는 항체가 생성된다.

[0015]

본 발명의 일 측면에서, NME 단백질을 인지할 뿐만 아니라 이의 다이머화를 저해하는 항체가 생성된다. 본 발명의 또 다른 측면에서, NME 단백질을 인지하며, 이것과 MUC1 간의 상호작용을 저해하는 항체가 생성된다. 본 발명의 보다 다른 측면에서, NME 단백질을 인지하며, 이것과 MUC1^{*} 간의 상호작용을 저해하거나 또는 이것과 PSMGFR 펩타이드 간의 상호작용을 저해하는 항체가 생성된다.

[0016]

본 발명의 보다 다른 측면에서, MUC1^{*}에 결합하며 이것과 NME 단백질 간의 상호작용을 저해하는 항체가 생성된다. 일 측면에서, 이들은 MUC1^{*}과 NME1 간의 상호작용이 아니라, MUC1^{*}과 NME7 간의 상호작용을 저해한다.

[0017]

본 발명의 일 측면에서, 항체는 환자의 외부, 예를 들어, 동물, 세포에서 생성되거나, 또는 파지 디스플레이 및 결합 분석법의 사용을 비롯하여 인공적으로 생성된다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 항체는 환자에서

생성되며, 여기서, 표적화된 단백질의 부분은 단독으로 또는 조합해서 제공되며, 여기서, 백신으로서의 용도를 위해 보조제가 첨가될 수 있다.

[0018] 일 측면에서, 본 발명은 NME 패밀리 멤버 단백질의 기능을 저해하는 제제에 관한 것이다. 제제는 1가 또는 2가의 Fab, 또는 이중-특이적, 인간 또는 인간화된 IgM과 같은 항체일 수 있다. 또는, 제제는 소분자일 수 있다. 일 측면에서, 저해되어야 하는 것으로 모색될 수 있는 NME 패밀리 멤버 단백질의 기능은, 줄기세포의 증식을 촉진하거나 및/또는 분화를 저해하는 능력; 암세포의 증식을 촉진하거나 및/또는 분화를 저해하는 능력; MUC1^{*}에 결합하는 능력; DNA에 결합하는 능력; 전사인자로서 작용하는 능력; 세포에 의해 분비되는 능력; 또는 다이머를 형성하는, NME 패밀리 멤버 단백질의 능력일 수 있다. 특히, NME 패밀리 멤버는 바람직하게는 NME7 또는 NME7-AB일 수 있다.

[0019] 제제는 NME7 또는 NME7AB의 종양원성 활성을 저해하는 항체일 수 있다. 바람직하게는, NME 패밀리 멤버는 분자량이 25 kDa 내지 33 kDa인 NME7의 변이체일 수 있다. 다른 예로, NME 패밀리 멤버는 NME6 또는 NME1일 수 있다.

[0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, NME 패밀리 멤버 단백질의 종양원성 활성을 저해하는 제제를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. NME 패밀리 멤버 단백질은 바람직하게는, NME7, NME6 또는 NME1일 수 있다. 일 구현예에서, 제제는 NME1 활성이 아니라 NME7 활성을 저해할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 제제는 NME7과 MUC1^{*} 간의 결합을 저해할 수 있다. 또는, 제제는 NME7과 이의 동족 핵산 결합 부위 간의 결합을 저해할 수 있다. 보다 다른 구현예에서, 제제는 항체일 수 있다.

[0021] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 핵사머 상태의 NME1을 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. NME1 폴리펩타이드는 핵사머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체일 수 있다.

[0022] 보다 다른 측면에서, 본 발명은 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 모노머 상태의 NME6를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, NME6는 모노머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체일 수 있다.

[0023] 더욱 더 다른 측면에서, 본 발명은 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법으로서, 모노머 상태의 NME1을 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. NME1은 모노머 상태를 선호하는 돌연변이체 또는 변이체일 수 있다.

[0024] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, NME 패밀리 멤버와 이의 동족 수용체 간의 상호작용을 저해하는 펩타이드 또는 펩타이드 모방체(mimic)를 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 동족 수용체는 MUC1일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 펩타이드는 MUC1의 MUC1^{*} 부분, PSMGFR, N-10 PSMGFR, N-15 PSMGFR 또는 N-20 PSMGFR로부터 유래될 수 있다.

[0025] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암을 분류하거나, 또는 암을 앓고 있거나 또는 암을 앓는 것으로 의심되는 환자를 계층화하는 방법으로서,

[0026] (i) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 존재 여부에 대해 환자 검체를 분석하는 단계; 및

[0027] (ii) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 유사한 발현 또는 발현 수준을 공유하는 환자를 그룹으로 나누는 단계를 포함한다.

[0028] 이 방법은, (iii) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물을 저해하는 제제로 환자를 치료하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 다른 예로, 이 방법은, (iii) 암의 중증도를 평가하기 위해 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물을 분석하는 단계로서, 초기의 줄기세포 또는 전구세포 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 높은 암을 의미하며, 후기 전구세포 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 낮은 암을 의미하는, 단계;

[0029] (iv) 단계(iii)에서 결정된 다소 공격적인 암을 가진 암 환자에 적합한 치료법을 설계하는 단계; 및

[0030] (v) 단계(iv)의 설계에 따른 치료법으로 환자를 치료하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 방법에서, 환자 검체는 혈액, 체액 또는 생검일 수 있다. 또한, 유전자 또는 유전자 생성물은 NME 패밀리 단백질일 수

있다. 일 구현예에서, 초기의 줄기세포의 상태를 지시하는 유전자 또는 유전자 생성물은 NME7 또는 NME6일 수 있다.

[0031] 또 다른 측면에서, 본 발명은 NME 패밀리 멤버 단백질과, 세포의 영역이 탠덤 반복 영역(tandem repeat region)을 포함하지 않는 MUC1 막관통 단백질 간의 상호작용을 저해하는 제제에 관한 것으로서, 여기서, 제제는, 성인에서 건강한 세포 상에 존재하는 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 세포의 영역을 가진 MUC1 막관통 단백질에의 결합보다 높은 친화성으로 암세포 상의 MUC1^{*}에 결합한다. 일 구현예에서, 제제는 제한 없이, 항체, 천연 생성물, 합성 화학물질 또는 핵산을 포함할 수 있다. 일 구현예에서, NME 패밀리 멤버 단백질은 NME7, NME6 또는 박테리아 NME일 수 있다.

[0032] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포에서, NME 패밀리 멤버 단백질과, 세포의 영역이 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 MUC1 막관통 단백질 간의 상호작용을 저해하는 방법에 관한 것으로서, 세포를, 성인에서 건강한 세포 상에 존재하는 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 세포의 영역을 가진 MUC1 막관통 단백질에의 결합보다 높은 친화성으로 암세포 상의 MUC1^{*}에 결합하는 제제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 제제는 제한 없이, 항체, 천연 생성물, 합성 화학물질 또는 핵산을 포함할 수 있다. 일 구현예에서, ME 패밀리 멤버 단백질은 NME7, NME6 또는 박테리아 NME일 수 있다.

[0033] 또 다른 측면에서, 본 발명은, NME 패밀리 멤버 단백질과, 세포의 영역이 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 MUC1 막관통 단백질 간의 상호작용을 저해하는 제제를 확인하는 방법에 관한 것으로서, 단계들은, 암세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 대한 제제의 친화성을 측정하는 단계; 줄기세포 또는 전구세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 대한 제제의 친화성을 측정하는 단계; 및 줄기세포 또는 전구세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 결합하는 능력보다 암세포 상에 존재하는 MUC1^{*}에 결합하는 능력이 더 양호한 제제를 선별하여, 제제를 확인하는 단계를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 제제는 제한 없이, 항체, 천연 생성물, 합성 화학물질 또는 핵산을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 줄기세포 또는 전구세포는 배아 줄기세포, iPS 세포, 제대혈 세포, 골수 세포 또는 조혈모 전구세포일 수 있다. 일 구현예에서, NME 패밀리 멤버 단백질은 NME7, NME6 또는 박테리아 NME일 수 있다.

[0034] 또 다른 측면에서, 본 발명은 생식 세포 및 체세포에서 인간 NME 단백질을 발현하는 유전자 도입 포유류에 관한 것으로서, 여기서, 생식 세포 및 체세포는 상기 포유류에 도입되는 인간 NME를 코딩하는 핵산을 포함한다. 따라서, 인간 NME는 유전자 도입 포유류에서 재조합에 의해 발현될 수 있다. 물론, 유전자 도입 포유류는 인간이 아닐 수 있다. 유전자 도입 포유류에서, NME 단백질은 바람직하게는 유도 발현될 수 있다. NME 단백질은 바람직하게는 NME7 또는 NME7-AB일 수 있다.

[0035] 보다 다른 측면에서, 본 발명은 인간의 반응을 보다 방불하는 방식으로, 암에 반응하는 포유류를 생성하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 포유류는 인간 NME 단백질이 발현되는 포유류이다. 암은 자발적으로 발생되거나, 또는 배양된 세포 또는 인간으로부터 이식될 수 있다. 일 구현예에서, NME 단백질은 NME1 다이머 또는 NME7 모노머일 수 있다. 또 다른 측면에서, 포유류는 유전자 도입 포유류일 수 있으며, 여기서, 포유류는 생식 세포 및 체세포에서 인간 MUC1 또는 MUC1^{*} 또는 NME 단백질을 발현할 수 있으며, 여기서, 생식 세포 및 체세포는 상기 포유류에 도입되는 재조합 인간 MUC1 또는 MUC1^{*} 또는 NME 단백질 유전자 서열을 포함한다. 바람직하게는, NME 단백질은 유도 발현된다. 보다 바람직하게는, NME 단백질은 NME7 또는 NME7-AB일 수 있다.

[0036] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유류에서 인간 종양의 이식(engraftment)을 증가시키는 방법에 관한 것으로서, 인간 종양 세포를 NME1 다이머 또는 NME7 모노머와 혼합한 후, 이 세포를 테스트 포유류에게 주사하는 단계를 포함한다.

[0037] 보다 다른 측면에서, 본 발명은 항체 생성 방법에 관한 것으로서, NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편이나 단편들을 포유류에게 주사하고, 항체 또는 항체-생성 세포를 수집하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, NME 패밀리 단백질은 NME7, NME7-AB 또는 NME1일 수 있다. 바람직하게는, 펩타이드 단편은 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택될 수 있다.

[0038] 또 다른 측면에서, 본 발명은 NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체-유사 분자를 생성하거나 또는 선별하는 방법에 관한 것으로서, (i) NME 패밀리 단백질 또는 펩타이드 단편을 이용해 항체 라이브러리, 또는 항체 단편 또는 에피토프의 라이브러리를 스크리닝하는 단계; (ii) NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편에의 결합을 분석하는 단계; 및 (iii) 특이적으로 결합된 항체 또는 항체-유사 분

자를 확인하는 단계를 포함한다. 이 방법은, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여하기 위한 확인된 항체 또는 항체-유사 분자를 당해 기술분야에 잘 알려져 있는 방법을 이용해 제형화하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. NME 패밀리 단백질은 NME7, NME7-AB 또는 NME1일 수 있다. 바람직하게는, 펩타이드 단편은 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택될 수 있다.

[0039]

보다 다른 측면에서, 본 발명은 NME 패밀리 단백질 또는 이의 펩타이드 단편이나 단편들을 사람에게 백신 접종함으로써, 암을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 펩타이드 단편 또는 단편들은, 서열이 NME 패밀리 단백질에 존재하는 하나 이상의 펩타이드를 포함할 수 있으며, 선택적으로 담체나 보조제와 혼합되거나 또는 면역원성제에 부착된다. NME 패밀리 단백질은 NME1, NME6, NME7 또는 NME7-AB일 수 있다. 바람직하게는, 펩타이드 단편은 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 펩타이드 서열은 인간 NME-H1 단백질의 단편이 아니다.

도면의 간단한 설명

[0040]

도 1은, 성장을 자극하는 것은 MUC1* 수용체의 다이머화인 것을 보여주는, 2가 또는 1가 항체 농도의 함수로서 측정된 암세포 성장의 그래프이다. MUC1-양성 유방암 세포인 ZR-75-30의 성장은 2가(Ab) 항-MUC1*의 첨가에 의해 자극되었으며, 1가 Fab의 첨가에 의해 저해되었다. 2가 항체의 첨가로 인해, 성장 인자 수용체 다이머화를 가리키는 특징적인 중-모양의 성장 곡선이 형성된다. MUC1-음성 HEK 293 세포의 성장은 2가 또는 1가 Fab 항-MUC1*에 의해 영향을 받지 않았다. 2가 항체가 과량으로 첨가된 경우, 하나의 2가 항체가 수용체 2개씩을 다이머화하기 보다는 하나의 2가 항체가 각각의 수용체에 결합함으로써 성장이 저해된다.

도 2는, nu/nu 암컷 마우스에 이식된 다음, 비히클 또는 MN-E6 항-MUC1* 항체의 Fab로 치료된 후, T47D 유방암 세포의 종양 부피를 측정한 그래프이다. 항-MUC1* E6 항체의 효능은, p 값이 0.0001로, 종양 부피를 감소시키는 데 있어서 통계학적으로 유의미한 것으로 확인되었다.

도 3a 내지 3d. 세포 파쇄물에서 NME1 또는 NME7의 발현을 보여주는 웨스턴 블롯 겔의 사진: 1) MUC1* 항체 표면(MN-C3 mab)으로 코팅된 표면 상의, NM23-H1 다이머에서 배양된 BG01V 인간 배아 줄기세포; 2) 마우스 피더 세포(mouse feeder 세포)(MEF) 층 상의, bFGF에서 표준 프로토콜에 따라 배양된 BG01V 인간 배아 줄기세포; 3) RPMI 배지에서 표준 방법에 따라 배양된 T47D 유방암 세포; 및 4) 재조합 인간 NM23-H1 야생형, "wt"(A, B). 하부 열(C, D)은 "풀-다운(pull-down)", 또는 세포 파쇄물을 MUC1 세포질 꼬리에 대한 항체인 "Ab-5"를 첨가한 비드와 함께 개별적으로 인큐베이션한 면역-침전 분석법의 결과를 보여준다. MUC1* 펩타이드에의 결합에 의해 포착된(captured) 화학종을 SDS-PAGE에 의해 분리하고, 각각 제각기의 NM23 단백질에 대한 항체를 사용하여 블로팅하였다. 동일한 실험을 NME6를 사용하여서 수행하였으나, 데이터는 도시되지 않는다.

도 4a 내지 4e는, NME1, NME6 또는 NME7의 존재 여부를 알아보기 위해, T47D 유방암 세포, BG01V 및 HES-3 인간 ES 세포 및 인간 SC101-A1 iPS 세포로부터의 세포 파쇄물을 탐침한, 웨스턴 블롯의 사진을 도시한 것이다. 모든 세포주에서 NME1은 약 17 kDa의 겔보기 분자량(apparent molecular weight)에서 진행되었다(a). 모든 세포주에서, NME7 약 33 kDa 화학종 및 42 kDa 화학종(C, E)은 HES-3 세포주(FGF에서 배양됨)를 제외한 모든 세포주에서 검출될 수 있었다. NME6-특이적인 항체와 반응한 화학종은, 시각화를 Super 신호를 이용해 증강시킨 경우, HES-3 세포주를 제외한 모든 세포주에서 검출되었다.

도 5a 내지 5c는, NME7의 존재 여부를 알아보기 위해, 탐침한 인간 배아 줄기(ES) 세포(a) 및 유도 만능 줄기(iPS) 세포(B,C)의 웨스턴 블롯 사진의 패넌을 도시한 것이다. 웨스턴 블롯은 세포 파쇄물에 3가지 형태의 NME7이 존재함을 보여준다. 하나는 겔보기 분자량이 약 42kDa(전장), 약 33kDa(N-말단 DH 영역을 포함하지 않는 NME7-AB 영역)이며, 작은 약 25 kDa의 화학종이 존재한다. 그러나, 저분자량 화학종만이 조건화된 배지(b)에 존재한다.

도 6a 내지 6c.(a)는 NME7-AB의 크기 배제 크로마토그래피 정제의 용출 프로파일이며;(b)는 NME7-AB 피크 분획으로부터의 비-환원성 SDS-PAGE 겔이며;(c)는 정제된 NME7-AB의 크기 배제 크로마토그래피의 용출 프로파일이다.

도 7a 내지 7c는 나노입자 결합 분석법의 사진을 도시한 것으로서, 여기서, MUC1* 세포의 영역 펩타이드는 SAM-코팅된 나노입자 상으로 고정되며, NME 단백질은 용액에 유리된 상태로(free) 첨가된다. 핑크색에서 청색으로의 색상 변화는, 용액 중의 유리 단백질이 2개의 상이한 나노입자 상의 2개의 펩타이드에 동시에 결합할 수 있

음을 의미한다.

도 8은, NME7-AB가 MUC1* 세포의 영역 펩타이드를 다이머화하는 것을 보여주는, ELISA 샌드위치 분석법으로부터의 HRP 신호에 대한 그래프를 도시한 것이다.

도 9a 내지 9d는 평판배양 후 1일째에 재조합 NME7-AB, 또는 재조합 NM23(NME1) 정제된 다이머에서 배양한 인간 iPS 줄기세포의 확대된 사진이다.

도 10a 내지 10d는 평판배양 후 3일째에 재조합 NME7-AB, 또는 재조합 NM23(NME1) 정제된 다이머에서 배양한 인간 iPS 줄기세포의 확대된 사진이다.

도 11a 내지 11d는, NME7-AB에서 10회 이상 계대배양한 인간 HES-3 줄기세포가 전분화능 마커 NANOG(a), OCT3/4(b), Tra 1-81(c) 및 SSEA4(d)에 대해 양성임을 보여주는, 면역세포화학 실험의 사진을 도시한 것이다.

도 12a 내지 12c는, 세포가 미경험 상태에서부터 프라임드(primed) 상태로 진행된 경우, 응축된 도트를 형성하는 히스톤 3 상의 트리-메틸화된 라이신 27을 인지하는 항체를 이용해 염색한 HES-3 배아 줄기세포의 사진으로서, 여기서, X 2개 모두가 활성인 경우(XaXa)와 대조적으로 하나의 X 염색체는 불활성화된(XaXi). A) 세포는 우선 FGF 배지에서 MEF 피더 세포 상에서 배양한 다음(XaXi), B) NME7에서 10회 계대배양하고(XaXa), C) 다시 FGF-MEF에서 4회 계대배양한다(XaXi).

도 13a 내지 13g는, 무처리(A열), 택솔(B열) 또는 항-NME7 항체(C열 내지 E열)로 처리한 MUC1*-양성 암세포의 사진을 도시한 것으로서; 그래프는 48시간째에 치료에 반응한 세포의 계수를 보여주며(F), 암세포 저해 실험에 사용된 항체의 농도를 추정하기 위해 도트-블롯을 이용하였다(G).

도 14a 내지 14k는, 암세포 성장을 저해하기 위해 항-NME7 항체를 사용한 실험을 수행한 지 48시간째의 결과를 도시한 것이다. 배지 단독(a), 택솔(b), 또는 지시된 농도에서 항-NME7에서 배양한 세포의 사진(C-J); 칼세인 암(calcein am) 분석법을 이용해 수득한 세포 수의 그래프가 도시되어 있다(K).

도 15a 내지 15k는, 암세포 성장을 저해하기 위해 항-NME7 항체를 사용한 실험을 수행한 지 96시간째의 결과를 도시한 것이다. 배지 단독(a), 택솔(b), 또는 지시된 농도에서 항-NME7에서 배양한 세포의 사진(C-J); 칼세인 암 분석법을 이용해 수득한 세포 수의 그래프가 도시되어 있다(K). 그래프 및 사진은, 항-NME7 항체가 나노몰 범위로 낮은 농도에서 암세포 성장을 저해한다는 것을 보여준다.

도 16은, 재조합 NM23-S120G의 3개의 상이한 조제물에 대한 NM23-WT의 멀티머화 상태를 보여주는 본래의, 비-변성 겔을 도시한 것이다.

도 17a 내지 17g.(a)는 NM23-WT, NM23-S120G-혼합형, NM23-S120G-헥사머 및 NM23-S120G-다이머의 비-환원성 겔의 사진을 도시한 것으로서, 야생형 단백질, 및 S120G 돌연변이체의 3개의 상이한 조제물의 멀티머화 상태를 보여준다. 도 17b는, SPR 칩 표면에 부착된 MUC1* 세포의 영역 펩타이드(PSMGFR)에 결합하는 상이한 NM23 멀티머들의 표면 플라스몬 공명(SPR) 측정을 도시한 것이다. 도 17c는, 오로지 NM23 다이머만이 동족 수용체 MUC1*에 결합하는 것을 보여주는 나노입자 실험의 사진을 도시한 것이다. MUC1* 세포의 영역 펩타이드를 골드 나노입자 상에 고정하였다. 도 17d 내지 17g는 만능 줄기세포 성장을 지지하는 능력에 대해 테스트한 상이한 NM23-H1 멀티머를 도시한 것이다.

도 18은, 본원에 기술된 실험 분석 결과, NME7, NME1 다이머 및 NME1 헥사머의 발현 시점, 및 이들의 관련 암/줄기 인자의 발현 수준에 대한 카툰이다.

도 19a 내지 19i는, 인간 NME6가 MUC1* 세포의 영역의 PSMPGR 펩타이드에 결합하는 것으로 보여지는, ELISA 분석법의 결과에 대한 그래프를 도시한 것이다. 재조합 NME6-wt는 FPLC에 의해 모노머 또는 멀티머로 분리되며, PSMPGR 펩타이드의 표면에 결합하는 능력에 대해 ELISA에 의해 분석된다(a). NME6 멀티머는 CMC(임계 미셀 농도) 분획에 따라 SDS에서 회석됨으로써 해리되었으며, 그런 다음, PSMPGR 펩타이드의 표면에 결합하는 능력에 대해 ELISA에 의해 분석되었다(b). 다이머화를 선호하는 것으로 설계된 NME6 돌연변이체는, 다이머 형성을 선호하며 정렬에 의해 NME6에서 S139G인, NME1 S120G 돌연변이를 모방함으로써 생성되었다. 제2 돌연변이체는, 인간 NME6가 다이머로서 존재하는 것으로 보고된 바 있는 바다 수세미 NME6처럼 보이게 하기 위해 해당 중요 영역에서 전환되는 방식으로, 잔기를 돌연변이시킴으로써 제조되었다. 이들 재조합 돌연변이체는 발현 및 정제된 다음, PSMPGR 펩타이드의 표면에 결합하는 능력에 대해 분석되었다(c). d 내지 i는 다양한 재조합 인간 NME6

단백질들의 발현을 입증하는 폴리아크릴아미드 겔의 사진이다. d) NME6 wt가 발현된다. e) NME1에서 S120G 돌연변이에 상응하는 S139G 돌연변이를 가진 NME6가 발현된다. f) 다이머인 것으로 보고된 바다 수세미 NME6를 모방하기 위해 돌연변이 S139A, V142D 및 V143A를 가진 인간 NME6. g,h) 2개의 영역이(GSSS)₃ 링커에 의해 결합된, 단일 사슬 인간 NME6. i) 폴-다운 분석법을 MUC1의 C-말단에 대한 항체를 사용하여 수행하였다. MUC1에 결합된 단백질을 겔 상에서 분리한 다음, NME6에 대한 항체를 사용하여 탐침하였다. 겔은, T47D 유방암 세포, BGo1v 및 HES-3 인간 배아 줄기세포, 인간 iPS 세포 모두가 MUC1에 결합된 NME6를 발현하였음을 보여준다.

도 20a 내지 20d는, 웨스턴 블롯의 사진을 도시한 것으로서, 여기서, NME7(a, b) 또는 NME1(c, d)의 존재 여부를 알아보기 위해, T47D 유방암 세포, BGo1V 및 HES-3 인간 ES 세포 및 인간 SC101-A1 iPS 세포로부터의 세포 파쇄물(a, c) 또는 핵 분획(b, d)을 탐침하였다.

도 21은 MUC1-양성 T47D 유방암 세포, MUC1-양성 DU145 전립선암 세포 및 MUC1-음성 PC3 전립선암 세포에서 NME1, NME6, NME7 및 MUC1의 실시간 PCR 측정 그래프이다. 측정은 18S 리보솜 RNA에 대한 것이며, T47D 세포의 측정에 대해 정상화된다. 2개의 MUC1-양성 암 세포주 모두 NME7가 높다. MUC1-음성 세포주는 검출가능한 NME1, NME7 또는 MUC1을 가지지 않지만, NME6의 발현율은 매우 높다.

도 22는 웨스턴 블롯 사진으로서, 여기서, NME7의 존재 여부를 알아보기 위해, 줄기세포 파쇄물(홀수 라인) 또는 세포 조건화된 배지(짝수 라인)를 탐침하였다. iPS(유도 만능 줄기) 세포를, FGF에서 MEF 상에서 배양하였으며(라인 1, 2), NM23-H1 다이머에서 항-MUC1* 항체(C3) 표면 상에서 배양하거나(라인 3, 4) 또는 NME7에서 항-MUC1* 항체(C3) 표면 상에서 배양하였다(라인 5 내지 8). HES-3(인간 배아 줄기) 세포를, FGF에서 MEF 상에서 배양하였으며(라인 9, 10), NM23-H1 다이머에서 항-MUC1* 항체(C3) 표면 상에서 배양하거나(라인 11, 12) 또는 NME7에서 항-MUC1* 항체(C3) 표면 상에서 배양하였다(라인 13, 14). 마우스 배아 섬유아세포(MEF) 세포를 또한 탐침하였다(라인 15, 16). 웨스턴 블롯은, 세포 파쇄물이, 전장 단백질에 상응하는 분자량 약 42 kDa의 NME7 화학종을 포함하는 것을 보여준다. 그러나, 분비된 화학종은 겔보기 MW 약 33 kDa에서 진행되며, 이는 N-말단 리더 서열을 포함하지 않는 NME7 화학종에 상응한다.

도 23a 내지 23b는, 이후, 재조합 NM23-H1, 약 17 kDa 및 NME7-AB 33 kDa를 확인할, 히스티딘-태깅된 화학종의 존재 여부에 대해 스트리핑되고 탐침된 도 22에 도시된 것과 동일한 웨스턴 블롯의 사진이며, 여기서, 라인 3 내지 8 및 라인 11 내지 14의 줄기세포가 배양되었다. 최소한의 염색이 이루어졌으며, 이는, 도 22에서 검출된 주요 NME7 화학종이 줄기세포에 의해 생성되고 가공된 본래의 NME7였음을 의미한다.

도 24a 내지 24b는, NME7의 존재 여부를 알아보기 위해, 마우스 모노클로날 항체(a) 또는 N-말단 DM10 서열만 인지하는 또 다른 모노클로날 항체(b)를 사용하여 탐침된 다양한 세포 파쇄물 및 상응하는 조건화된 배지의 웨스턴 블롯 사진을 도시한 것이다. 세포의 조건화된 배지 유래의 검체에서 약 33 kDa의 NME7 화학종에 DM10 특이적인 항체가 결합하지 않는 것은, 분비된 형태의 NME7은 N-말단 DM10 리더 서열 모두는 아니라도 대부분을 포함하지 않는다는 것을 의미한다.

도 25a 내지 25b.(a)는 E. coli에서 발현되고 용해성 단백질 및 천연 다이머로서 발현된 박테리아 할로모나스 Sp.(할로모나스 Sp.) 593 박테리아 유래의 NME의 폴리아크릴아미드 겔을 도시한 것이다. (b)는 ELISA 분석법에서, MUC1* 세포의 영역의 PSMGFR 펩타이드에 결합된 할로모나스 Sp. 593 유래의 NME를 도시한 것이다.

도 26은 포르파이로모나스 긴기발리스(Porphyromonas gingivalis) W83 박테리아 유래의 NME에 대한 폴리아크릴아미드 겔을 도시한 것이다.

도 27a 내지 27c.(a)는 인간 NME-H1에 대한 할로모나스 Sp 593 박테리아 NME의 서열 정렬을 도시한 것이다. (b)는 인간 NME7-A 영역에 대한 할로모나스 Sp 593 박테리아 NME의 서열 정렬을 도시한 것이다. (c)는 인간 NME7-B 영역에 대한 할로모나스 Sp 953 박테리아 NME의 서열 정렬을 도시한 것이다.

도 28a 내지 28d는 10X 배율(a, c) 또는 20X 배율(b, d)에서, 할로모나스 Sp 593 유래의 박테리아 NME에서 배양된 인간 배아 줄기세포의 사진이다.

도 29는, 인간 섬유아세포 세포를 인간 NME7-AB, 인간 NME1 다이머, 또는 할로모나스 Sp 593 유래의 박테리아 NME를 포함하는 무-혈청 배지에서 배양한 후, 줄기/암세포 마커 OCT4의 발현을 측정하는 RT-PCR 데이터의 그래프이다.

도 30은, 인간 NME7-AB, 인간 NME1, 또는 할로모나스 Sp 593인 'HSP 593' 유래의 박테리아 NME의 존재하에 배양한 섬유아세포에서, 줄기/암 유전자 OCT4 및 NANOG의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프이다. 일부 경우,

rho 키나제 저해제 'ROCi'를 첨가하여, 비-부착성 세포(줄기/암-유사성으로 되는 세포)가 표면에 부착되게 만들었다.

도 31은, 다이머 형태의 인간 NME1을 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 4X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 32는, 다이머 형태의 인간 NME1을 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 20X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 33은, 할로모나스 Sp 593 유래의 박테리아 NME를 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 4X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 34는, 할로모나스 Sp 593 유래의 박테리아 NME를 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 20X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 35는, 인간 NME7-AB를 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 4X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 36은, 인간 NME7-AB를 포함하는 무-혈청 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 20X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 37은, NME 단백질을 포함하지 않는 표준 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 4X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 38은, NME 단백질을 포함하지 않는 표준 배지에서 18일 동안 배양한 후, 인간 섬유아세포 세포를 20X 배율로 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 39는, 후기 프라임드 줄기세포와 비교해 초기 미경험 인간 줄기세포에서 전사인자 BRD4 및 공동-인자 JMJD6의 발현 수준을 RT-PCR로 측정된 그래프이다.

도 40은 섬유아세포가 유도 만능 상태로 복귀되는 경우 억제되는 염색질 재배열 인자의 발현 수준을 RT-PCR로 측정된 그래프로서, 다른 염색질 재배열 인자는 미경험 줄기세포 및 일부 암세포에서 억제된다. 염색질 재배열 유전자 Brd4, JMJD6, Mbd3 및 CHD4의 발현 수준은 인간 NME7-AB, 인간 NME1, 또는 할로모나스 Sp 593, 'HSP 593' 유래의 박테리아 NME의 존재하에 배양된 섬유아세포에서 측정되었다. 일부 경우, rho 키나제 저해제 'ROCi'를 첨가하여, 비-부착성 세포(줄기/암-유사성으로 되는 세포)가 표면에 부착되게 만들었다.

도 41은 인간 NME7-AB, 인간 NME1, 또는 할로모나스 Sp 593, 'HSP 593' 유래의 박테리아 NME의 존재하에 배양된 섬유아세포에서 줄기/암 유전자의 발현 수준을 RT-PCR로 측정된 복합 그래프이다. 일부 경우, rho 키나제 저해제 'ROCi'를 첨가하여, 비-부착성 세포(줄기/암-유사성으로 되는 세포)가 표면에 부착되게 만들었다.

도 42는 인간 NME7-AB, 인간 NME1, 또는 할로모나스 Sp 593, 'HSP 593' 유래의 박테리아 NME의 존재하에 배양된 섬유아세포에서 줄기/암 유전자의 발현 수준을 RT-PCR로 측정된 복합 그래프로서, 압축된 Y-축은 변화가 작은 유전자에서의 차이를 보다 잘 보여준다. 일부 경우, rho 키나제 저해제 'ROCi'를 첨가하여, 비-부착성 세포(줄기/암-유사성으로 되는 세포)가 표면에 부착되게 만들었다.

도 43은 과도기(traditional) 배지 또는 NME7을 포함하는 배지에서 배양한 후, T47D 암세포에 대한 줄기세포 마커 및 암 줄기세포 마커에 대한 유전자 발현을 RT-PCR로 측정된 그래프로서, 여기서, 비-부착성으로 되었던 세포(부유 세포(floater))는 부착된 상태로 존재하는 세포와 별도로 분석되었다.

도 44는 T47D 암세포에 대한 줄기세포 마커 SOX2 및 암 줄기세포 마커 CXCR4에 대한 유전자 발현을 RT-PCR로 측정된 그래프이다. 세포는 과도기 배지, 또는 NME1 다이머 또는 NME7(NME7-AB)을 포함하는 배지에서 배양하였다. 개별적으로 분석된 세포 유형은 부유 세포, 세포 + Rho 키나제 저해제(+Ri)(모든 세포를 부착성으로 만들었음), 또는 rho 키나제 저해제의 부재하에(-Ri) 존재했던 부유 세포를 제거한 후 부착된 채로 존재하는 세포였다.

도 45는 T47D 암세포에 대한 다양한 줄기세포 및 추정상(putative) 암 줄기세포 마커에 대한 유전자 발현을 RT-PCR로 측정된 그래프이다. 세포는 과도기 배지, 또는 NME1 다이머("NM23") 또는 NME7(NME7-AB)을 포함하는 배지에서 배양하였다. 개별적으로 분석된 세포 유형은 부유 세포, 세포 + Rho 키나제 저해제(+Ri)(모든 세포를 부착성으로 만들었음), 또는 rho 키나제 저해제의 부재하에(-Ri) 존재했던 부유 세포를 제거한 후 부착된 채로

존재하는 세포였다.

도 46은 DU145 전립선암 세포에 대한 다양한 줄기세포 및 추정상 암 줄기세포 마커에 대한 유전자 발현을 RT-PCR로 측정한 그래프이다. 세포는 과도기 배지, 또는 NME1 다이머("NM23") 또는 NME7(NME7-AB)을 포함하는 배지에서 배양하였다. 계대배양 2회째에, 세포는 부착된 채로 존재하였기 때문에, Rho 키나제 저해제는 사용되지 않았다.

도 47은 DU145 전립선암 세포에 대한 다양한 줄기세포 및 추정상 암 줄기세포 마커에 대한 유전자 발현을 RT-PCR로 측정한 그래프이다. 세포는 과도기 배지, 또는 NME1 다이머("NM23") 또는 NME7(NME7-AB)을 포함하는 배지에서 배양하였다. 계대배양 2회째에, 세포는 부착된 채로 존재하였기 때문에, Rho 키나제 저해제는 사용되지 않았다.

도 48은, 최소 무-혈청 베이스 배지에서 배양한 후, T47D 유방암 세포에서 MUC1의 발현 수준과 함께, 보고된 '암 줄기세포' 마커 또는 '종양 개시 세포' 마커 CDH1(E-카드헤린), CXCR4, NANOG, OCT4 및 SOX2의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프로서, 여기서, 첨가된 유일한 인자는 '2i' 저해제(GSK3-베타 및 MEK 저해제) 또는 인간 재조합 NME7-AB였다. 분석된 세포는 부착-비의존적으로 성장하기 시작하는 세포인 '부유 세포'였다.

도 49는, 최소 무-혈청 배지에서 배양한 후, T47D 유방암 세포에서, 각각 NME7을 억제하고 NME1을 유도하는 것으로 보고된 전사인자 BRD4 및 공동-인자 JMJD6의 발현 수준, 및 줄기세포 전분화능의 유도를 차단하는 것으로 보고된 염색질 재배열 인자 MBD3 및 CHD4의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프로서, 여기서, 첨가된 유일한 인자는 '2i' 저해제(GSK3-베타 및 MEK 저해제) 또는 인간 재조합 NME7-AB였다.

도 50은 본원에 기술된 실험 분석 결과, NME7 및 관련 인자의 상호작용 지도를 나타낸 카툰이다.

도 51은 시간 경과에 따라 측정된 종양 부피의 그래프이다. T47D 유방암 세포는 표준 방법(파선)을 이용해 이식하거나, 또는 세포를 50/50 vol/vol로 NME7-AB와 혼합하고 10일 후, 이들 마우스에 NME7-AB를 매일 주사하였다.

도 52는 배양된 암세포(T47D), FGF, NM23-H1 다이머 또는 NME7에서 배양된 인간 배아 줄기세포(HES)에서, MUC1-전장을 MUC1*으로 절단할 수 있는 MMP14, MMP16 및 ADAM17에 대한 RNA의 발현을 정량적 PCR 분석법에서 측정한 그래프를 도시한 것이다.

도 53은 FGF에서 성장시킨 HES-3 인간 배아 줄기세포, 인간 NME7-AB에서 성장시킨 HES-3 세포, NME1 다이머에서 성장시킨 HES-3 세포, 시험관 내 T47D 유방암 세포, 동물에게 이식된 T47D 유방암 세포, 시험관 내 DU145 전립선암 세포, 동물에게 이식된 DU145 세포, 및 동물에게 이식된 1500 유방암 세포에서, 절단 효소 MMP14, MMP16 및 ADAM17의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프로서, 모두 MEF 상에서 FGF에서 성장시킨 HES-3 세포에 대해 정상화되었다.

도 54는 시험관 내 T47D 유방암 세포, FGF에서 성장시킨 HES-3 인간 배아 줄기세포, 인간 NME7-AB에서 성장시킨 HES-3 세포, NME1 다이머에서 성장시킨 HES-3 세포에서, 절단 효소 MMP14, MMP16 및 ADAM17의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프로서, 모두 시험관 내 T47D 유방암 세포에 대해 정상화되었다.

도 55는 NOD/SCID 수컷 마우스에게 이식된 다음, 비히클 또는 MN-E6 항-MUC1* 항체의 Fab로 치료된 지 60일 후, DU145 호르몬 불응성 전립선암 세포의 종양 부피를 측정한 그래프이다. 60일째부터 70일째까지 치료군은 변환되었다. 항-MUC1* E6 항체의 효능은, p 값이 0.0001로, 종양 부피를 감소시키는 데 있어서 통계학적으로 유의미한 것으로 확인되었다.

도 56은 NOD/SCID 수컷 마우스에게 이식된 다음, 비히클 또는 MN-E6 항-MUC1* 항체의 Fab로 치료된 지 60일 후, DU145 호르몬 불응성 전립선암 세포로부터 절개된 종양에서 절단 효소 MMP14 및 MMP16의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프이다. 60일째부터 70일째까지 치료군은 변환되었다. MUC1* 성장 인자 수용체를 차단하는 치료는 2개의 절단 효소 모두의 발현을 감소시키긴 하였지만, MMP14만이 통계학적으로 유의미하였다.

도 57a 내지 57b. (a)는 NOD/SCID 수컷 마우스에게 이식된 다음, 비히클 또는 MN-E6 항-MUC1* 항체의 Fab로 치료된 지 60일 후, DU145 호르몬 불응성 전립선암 세포로부터 절개된 종양에서 MUC1*에 대해 탐침한 웨스턴 블롯의 사진이다. 사진은, 항-MUC1* Fab로 치료된 마우스에서 MUC1*의 수준이 낮음을, 즉, 치료군에서 MUC1의 절단

이 덜 이루어짐을 보여준다. (b)는 NOD/SCID 수컷 마우스에게 이식된 다음, 비히클 또는 MN-E6 항-MUC1^{*} 항체의 Fab로 치료된 지 60일 후, DU145 호르몬 불응성 전립선암 세포로부터 절개된 종양에서 마이크로RNA-145의 발현 수준을 RT-PCR로 측정한 그래프이다. 그래프는, 줄기세포가 분화되도록 신호를 보내는 miR-145가 평균적으로 대조군과 비교해 치료군에서 증가된다는 것을 보여준다.

도 58a 내지 58d는 FACS 실험 결과를 도시한 것으로서, 여기서, 살아 있는 암세포는 줄기세포 특이적인 항-MUC1^{*} 모노클로날 항체 또는 암세포 특이적인 모노클로날 항체로 탐침하였다. (a) N-10 펩타이드에의 결합 신호도를 토대로 선별된 MN-C2 모노클로날 항체는 살아 있는 T47D 유방암 세포에 대해 강한 결합을 보여주며, 암세포 특이적이다. (b) C-10 펩타이드에의 결합 신호도를 토대로 선별된 MN-C3 모노클로날 항체는 살아 있는 T47D 유방암 세포에 대한 결합을 보여주지 않으며, 줄기세포 특이적이다. (c) 암세포 특이적인 MN-C2는 DU145 전립선암 세포에 결합한다. (d) 줄기세포 특이적인 MN-C3는 DU145 전립선암 세포에 결합하지 않는다. (e) 또 다른 FACS 실험의 그래프는, 암세포 특이적인 모노클로날 항체 MN-C2 및 MN-E6가 DU145 전립선암 세포에 결합하며, 한편 줄기세포 특이적인 MN-C3는 결합하지 않는다는 것을 보여준다.

도 59a 내지 59d는 FACS 실험 결과를 도시한 것으로서, 여기서, 줄기세포 또는 암세포는 줄기세포 특이적인 항-MUC1^{*} 모노클로날 항체 또는 암세포 특이적인 모노클로날 항체로 탐침하였다. 줄기세포 특이적인 MN-C3 모노클로날은 BG01v 인간 배아 줄기세포에 대해 강한 결합을 보여주지만(a), T47D 유방암 세포에 대해서는 결합을 나타내지 않거나(b), 또는 DU145 전립선암 세포에 대해서는 결합을 나타내지 않는다(c). 또 다른 FACS 실험의 그래프는, 줄기세포 특이적인 MN-C3 모노클로날 항체가 줄기세포에는 강한 결합을 나타내지만, T47D 유방암 세포, 1500 유방암 세포주, DU145 전립선암 세포 또는 MUC1-음성 PC3 전립선암 세포에는 결합하지 않는다는 것을 보여준다(d).

도 60a 내지 60e는 아무것도 첨가하지 않은 일반적인 배지(a), 줄기세포 특이적인 MN-C3의 Fab를 첨가한 배지(b), 줄기세포 특이적인 MN-C8의 Fab를 첨가한 배지(c), 암세포 특이적인 MN-C2의 Fab를 첨가한 배지(d), 또는 암세포 특이적인 MN-E6의 Fab를 첨가한 배지(e)에서 배양한 DU145 전립선암 세포의 사진을 도시한 것이다. MUC1^{*}이 암세포 상에 나타남에 따라 항체가 이를 인지하는 경우, 항체의 Fab는 MUC1^{*}의 다이머화를 차단하여 세포 사멸을 유도할 것이다. 사진에서 확인할 수 있듯이, 줄기세포 특이적인 항체의 Fab는 암세포 성장에 아무런 영향을 미치지 않았지만, 암세포 특이적인 항체의 Fab는 암세포를 효과적으로 살해하였다.

도 61은 인간 NME1과 인간 NME7-A 또는 인간 NME7-B 영역 간의 서열 정렬이다.

도 62는 NME1과 서열 동일성이 낮은 인간 NME7의 면역원성 펩타이드의 목록이다. 열거된 펩타이드 서열은 인간 NME1이 아니라 인간 NME7을 표적으로 하는 항체를 생성하는 면역원성 펩타이드인 것으로 확인된다. 인간 NME1에 대한 서열 상동성이 존재하지 않는 서열이 선택되었으며, 이는 암의 치료 또는 예방을 위해 NME7을 저해하는 항체를 생성하는 데 있어서 NME7 특이적인 펩타이드로서 유용하다.

도 63은 구조적 온전성(structural integrity) 또는 MUC1^{*}에의 결합에 중요할 수 있는 인간 NME7의 면역원성 펩타이드의 목록이다. 각각의 가변 영역이 NME7의 상이한 펩타이드 부분에 결합하는 2가 및 이중-특이적 항체가 바람직하다. 이러한 펩타이드는 둘 모두에 특이적인 항체를 생성하기 위해 하나 초과 펩타이드를 사용하여 생성될 수 있다. 펩타이드는 암의 치료 또는 예방을 위해 NME7을 저해하는 항체를 생성하는 데 있어서 NME7 특이적인 펩타이드로서 유용하다.

도 64는 구조적 온전성 또는 MUC1^{*}에의 결합에 중요할 수 있는 인간 NME1의 면역원성 펩타이드의 목록이다. 열거된 펩타이드 서열은 인간 NME1으로부터 유래된 것이며, 인간 NME7에 대한 상동성이 높을 뿐만 아니라 이의 기능을 모방할 수 있는 다른 박테리아 NME 단백질에 대한 상동성 역시 높아서 선택되었다. 특히, 펩타이드 50 내지 53은 인간 NME7-A 또는 인간 NME7-B에 대한 상동성이 높으며, HSP 593에 대해서도 상동성이 높다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0041]

본원에서, "MUC1^{*}" 세포의 영역은 주로 PSMGFR 서열 (GTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDVPFPFSAQSGA (서열 번호:6))에 의해 정의된다. MUC1 절단의 정확한 부위는 이를 집는(clip) 효소에 따라 다르고, 절단 효소는 세포 유형, 조직 유형 또는 세포의 진화 시간에 따라 다양하기 때문에, MUC1^{*} 세포의 영역의 정확한 서열은 N-말

단에서 다양할 수 있다.

[0042] 본원에서, 용어 "PSMGFR"은 GTINVHDTVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQSGA (서열 번호:6)로 표시되는 MUC1 성장 인자 수용체의 일차 서열에 대한 두문자어이다. 이러한 면에서, "N-10 PSMGFR", "N-15 PSMGFR" 또는 "N-20 PSMGFR"에서와 같이 "N-수"는 PSMGFR의 N-말단에서 결실된 아미노산 잔기의 수를 지칭한다. 마찬가지로 "C-10 PSMGFR", "C-15 PSMGFR" 또는 "C-20 PSMGFR"에서와 같이 "C-수"는 PSMGFR의 C-말단에서 결실된 아미노산 잔기의 수를 지칭한다.

[0043] 본원에서, "MUC1*의 세포외 영역"은 탠덤 반복 영역을 포함하지 않는 MUC1 단백질의 세포외 부분을 지칭한다. 대부분의 경우, MUC1*은 절단 생성물로서, 여기서, MUC1* 부분은 탠덤 반복부를 포함하지 않는 짧은 세포외 영역, 막관통 영역 및 세포질 꼬리로 구성된다. MUC1이 절단되는 정확한 위치는, MUC1이 하나 초과와 효소에 의해 절단될 수 있는 것으로 보이기 때문에, 아마도 알려져 있지 않다. MUC1*의 세포외 영역은 PSMGFR 서열 대부분을 포함할 것이지만, 부가적인 N-말단 아미노산을 10개 내지 20개로 가질 수 있다.

[0044] 본원에서, 수가 1 내지 10인 "NME 패밀리 단백질" 또는 "NME 패밀리 멤버 단백질"은, 이들 모두가 적어도 하나의 NDPK (뉴클레오타이드 다이포스페이트 키나제) 영역을 가지기 때문에, 함께 단백질로 분류된다(grouped). 일부 경우, NDPK 영역은, ATP가 ADP로 전환되는 것을 촉매할 수 있다는 점에서, 기능적이지 않다. NME 단백질은 형식상 H1, H2 등으로 넘버링되는 NM23 단백질로서 알려져 있었다. 본원에서, 용어 NM23 및 NME는 상호호환 가능하다. 본원에서, 용어 NME1, NME2, NME6 및 NME7은 본래의 단백질뿐만 아니라 NME 변이체를 지칭하는 데 사용된다. 일부 경우, 이들 변이체는 본래의 서열 단백질보다 용해성이며, E. coli에서 더 잘 발현되거나 또는 더 용해성이다. 예를 들어, 명세서에서 사용되는 바와 같은 NME7은, 본래의 단백질 또는 변이체, 예컨대 변이는 E. coli에서 용해성의 적절하게 접혀진 단백질이 고 수율로 발현되게 할 수 있기 때문에 우수한 상업적인 이용가능성을 가진 NME7-AB를 의미할 수 있다. 본원에서 지칭되는 바와 같은 "NME1"은 "NM23-H1"과 상호호환 가능하다. 본 발명은 또한, NME 단백질의 정확한 서열에 의해 제한되지 않는 것으로 의도된다. NM23-S120G로도 일컬어지는 돌연변이체 NME1-S120G는 출원 전체에서 상호호환적으로 사용된다. S120G 돌연변이체 및 P96S 돌연변이체는 이들의 다이머 형성 선호도 때문에 바람직하지만, 본원에서 NM23 다이머 또는 NME1 다이머로 지칭될 수 있다.

[0045] 본원에서 지칭되는 바와 같은 NME7은 분자량이 약 42 kDa인 본래의 NME7, 분자량이 25 kDa 내지 33 kDa인 절단된 형태, DM10 리더 서열, NME7-AB 또는 재조합 NME7 단백질을 포함하지 않는 변이체, 또는 효율적인 발현을 허용하도록 변경될 수 있거나 또는 NME7을 보다 효과적이거나 또는 상업적으로 보다 활력이 있도록 만드는 다른 특징, 용해성 또는 수율을 증가시키도록 변경될 수 있는 이의 변이체를 의미하는 것으로 의도된다.

[0046] 본 발명은 MUC1*이 관여하는 경로를 조절하는 항체 및 항체 변이체를 개시하고 있으며, 여기서, 1세트의 항체는 MUC1*이 줄기세포 상에 존재하기 때문에 이것에 우선적으로 결합하지만, 암세포 상의 MUC1*은 역시 인지하지 않으며, 또 다른 세트의 항체는 MUC1*이 암세포 상에 존재하기 때문에 이것에 우선적으로 결합하지만, 줄기세포 상의 MUC1*은 역시 인지하지 않는다. 본 발명은 이들 범주에 속하는 다른 항체를 확인하는 방법을 추가로 개시한다. 본 발명은, 시험관 내 및 생체 내에서 줄기세포 성장을 자극하는 제1세트의 항체 (이하, "줄기세포 항체"로 지칭됨)를 사용하는 방법을 추가로 개시한다. 본 발명은 또한, 시험관 내 및 생체 내에서 암세포 성장을 자극하는 제2세트의 항체 (이하, "암세포 항체"로 지칭됨)를 사용하는 방법을 추가로 개시한다.

[0047] 본 출원에서, 암 특이적인 항체 MIN-C2 (본 출원뿐만 아니라 본 출원이 우선권으로 주장하는 출원에서 "C2"로도 지칭됨) 또는 MIN-E6 (본 출원뿐만 아니라 본 출원이 우선권으로 주장하는 출원에서 "E6"로도 지칭됨)는 출원인의 다른 출원들에서와 같이 본 출원에서 지칭되듯 구조적으로 그리고 서열적으로(sequence-wise) 동일한 항체이다. 이들 항체 및 이들의 CDR 서열에 관한 설명은 2009년 10월 6일에 출원된 W02010/042562 (PCT/US2009/059754)에서 확인할 수 있다. 특히, 상기 출원의 도 11 내지 도 16을 참조한다.

[0048] 마찬가지로, 줄기세포 특이적인 항체 2D6C3 (본 출원뿐만 아니라 본 출원이 우선권으로 주장하는 출원에서 "C3"로도 지칭됨) 또는 MN-C3 또는 2D6C8 (본 출원뿐만 아니라 본 출원이 우선권으로 주장하는 출원에서 "C8"으로도 지칭됨) 또는 MN-C8은 출원인의 다른 출원들에서와 같이 본 출원에서 지칭되듯 구조적으로 그리고 서열적으로 동일한 항체이다. 이들 항체 및 이들의 CDR 서열에 관한 설명은 2012년 3월 19일에 출원된 W02012/126013 (PCT/US2012/059754)에서 확인할 수 있다. 특히, 상기 출원의 도 13 내지 도 18을 참조한다.

[0049] 본원에서, "NME 패밀리 멤버 단백질을 저해하는 제제의 유효량"은, NME 패밀리 멤버 단백질과 이의 동족 수용체, 예컨대 MUC1 또는 MUC1* 간의 활성화 상호작용을 방해하는 제제의 유효량을 지칭한다.

- [0050] 본원에서, "높은 상동성"은, 임의의 2개의 폴리펩타이드 간의 지정된 중복 영역에서 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 97% 이상의 동일성인 것으로 간주된다.
- [0051] 본원에서, "낮은 상동성"은, 임의의 2개의 폴리펩타이드 간의 지정된 중복 영역에서 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만 또는 5% 미만의 동일성인 것으로 간주된다.
- [0052] 본원에서, "소분자"로 지칭되는 제제에 관하여, 이는 분자량이 50 Da 내지 2000 Da, 보다 바람직하게는 150 Da 내지 1000 Da, 보다 더 바람직하게는 200 Da 내지 750 Da인 합성 화학적 또는 화학적으로 기재된(based) 분자일 수 있다.
- [0053] 본원에서, "천연 생물"로 지칭되는 제제에 관하여, 이는 분자가 자연상에 존재하는 한, 화학적 분자 또는 생물학적 분자일 수 있다.
- [0054] 본원에서, "2i 저해제"는 MAP 키나제 신호 경로의 GSK3-베타 및 MEK의 소분자 저해제를 지칭한다. 명칭 2i는 연구 논문에서 만들어졌지만 (Silva J et al 2008), 본원에서 "2i"는 GSK3-베타 또는 MEK의 임의의 저해제를 지칭하는데, 이들 표적을 저해한다면 전분화능 또는 종양발생에 대해 동일한 효과를 가지는 많은 소분자 또는 생물학적 제제가 존재하기 때문이다.
- [0055] 본원에서, FGF, FGF-2 또는 bFGF는 섬유아세포 성장 인자를 지칭한다.
- [0056] 본원에서, "Rho 연관 키나제 저해제"는 소분자, 펩타이드 또는 단백질일 수 있다 (Rath N, et al, 2012). Rho 키나제 저해제는 본원 및 다른 어디에서도 ROCi 또는 ROCKi 또는 Ri로 약칭된다. 특이적인 rho 키나제 저해제의 사용은 예시적인 것으로 의미되며, 임의의 다른 rho 키나제 저해제를 대체할 수 있다.
- [0057] 본원에서, 용어 "암 줄기세포" 또는 "종양 개시 세포"는, 보다 전이적인 상태 또는 보다 공격적인 암과 관련된 유전자의 수준을 발현하는 암세포를 지칭한다. 용어 "암 줄기세포" 또는 "종양 개시 세포"는 또한, 동물에게 이식되는 경우 종양을 발생시키는 데 있어서 훨씬 더 적은 수의 세포가 필요한 암세포를 지칭할 수 있다. 암 줄기세포 및 종양 개시 세포는 종종 화학치료 약물에 내성이다.
- [0058] 본원에서, 용어 "줄기/암", "암-유사", "줄기-유사"는, 세포가 줄기세포 또는 암세포의 특징을 획득하며, 줄기세포, 암세포 또는 암 줄기세포의 유전자 발현 프로파일의 중요한 요소들을 공유하는 상태를 지칭한다. 줄기-유사 세포는, 덜 성숙한 상태로의 유도를 수행하고 있는, 예컨대 전분화능 유전자의 발현을 증가시키는 체세포일 수 있다. 줄기-유사 세포는 또한, 일부 탈분화를 수행하였거나, 또는 이들이 이들의 말기 분화를 변경할 수 있는 준-안정 상태에 있는 세포를 지칭한다. 암-유사 세포는 아직까지는 완전히 특징화되지 않았지만 암세포의 형태 및 특징을 나타내는, 예컨대 부착-비의존적으로 성장할 수 있거나 또는 동물에서 종양을 발생시킬 수 있는 암세포일 수 있다.
- [0059] 본원에서, 용어 "항체-유사"는, 항체의 일부를 포함하지만 자연상에서 자연적으로 존재하는 항체는 아닌 방식으로 조작될 수 있는 분자를 의미한다. 예로는, CAR (키메라 항원 수용체) T 세포 기술 및 Ylanthia[®] 기술을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다. CAR 기술은 T 세포의 일부에 융합된 항체 에피토프를 사용하여, 신체의 면역계가 특이적인 표적 단백질 또는 세포를 공격하도록 한다. Ylanthia[®] 기술은, 이후에, 표적 단백질 유래의 펩타이드 에피토프에 결합하는지 스크리닝되는 합성 인간 fab의 컬렉션인 "항체-유사" 라이브러리로 구성된다. 그런 다음, 선별된 Fab 영역은 스캐폴드 또는 골격 내로 조작되어, 항체를 닮게 될 수 있다.
- [0060] 서열 목록 텍스트
- [0061] a, g, c, t 이외의 뉴클레오타이드 부호의 사용과 관련하여, 이들은 WIPO 표준 ST.25, 부록 2, 표 1에 기재되어 있는 관례를 따르며, 여기서, k는 t 또는 g를 나타내며; n은 a, c, t 또는 g를 나타내며; m은 a 또는 c; r은 a 또는 g를 나타내며; s는 c 또는 g를 나타내며; w는 a 또는 t를 나타내고, y는 c 또는 t를 나타낸다.

[0063]

[0064]

[0065]

[0066]

[0067]

[0068]

[0069]

[0070]

[0071]

– 22 –

가진, MUC1 성장 인자 수용체의 본래의 일차 서열(nat-PSMGFR - "PSMGFR"의 일례)을 기술하고 있다.

[0072] GTINVHDTVETQFNQYKTEAASPYNLITSDVSVSDVPFPFSAQSGA(서열 번호:8)는 안정성이 증강된 MUC1 성장 인자 수용체의 본래의 일차 서열의 "SPY" 기능적 변이체(var-PSMGFR - "PSMGFR"의 일례)를 기술하고 있다.

[0073] TINVHDTVETQFNQYKTEAASPYNLITSDVSVSDVPFPFSAQSGA(서열 번호:9)는, 서열 번호:8의 C-말단에 단일 아미노산 결실을 가진, 안정성이 증강된 MUC1 성장 인자 수용체의 본래의 일차 서열의 "SPY" 기능적 변이체(var-PSMGFR - "PSMGFR"의 일례)를 기술하고 있다.

[0074] tgtcagtgccgccaagaactacgggcagctggacatctttccagcccgggatacctaccatcctatgagcgagtagcccaacctaccacacccatgggcgcgtatgtgccccctagcagtagcagctcgttagccccctatgagaaggtttctgcaggtaacggtggcagcagcctctcttacacaaacccagcagtggcagccgcttctgccaacttg(서열 번호:10)는 MUC1 세포질 영역 뉴클레오타이드 서열을 기술하고 있다.

[0075] CQCRKNYQGLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSSTRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAASANL(서열 번호:11)은 MUC1 세포질 영역 아미노산 서열을 기술하고 있다.

[0076] gagatcctgagacaatgaatcatagtgaaagattcggttttcttgcagagtggtatgatccaaatgcttcacttcttcgacgttatgagcttttatttaccaggggatggatctgttgaatgcatgatgtaagaatcatcgccactttttaaaggcgacaaatgatataacctgcacttggaagatttatttataggcaacaaagtgaatgtctttctcgacaactggatataattgactatggggatcaatatagcgtcgccagctgggcagtaggaaagaaaaacgctagccctaatataaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaatgatgatgctttcaaggaaagagcattggattttcatgtagatcaccagtcaagacccttttcaatgagctgatccagtttatfacaactggctcctattatgcatggagattttaagagatgatgctatgatgaatggaaaagactgctgggacctgcaaacctggagtgccagcgcacagatgcttctgaaagcattagagccctcttggaacagatggcataaagaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcccagagaaatggagttgtttttccttcaagtgagggttggtggccggcaaacctgctaaatttactaatgtacctgttgcatgttaaaccccatgctgtcagtgaggtatgtgtaatacactatattcagtagctttgttaataggagagcaatgtttatcttcttgatgtactttatgtatagaaataa(서열 번호:12)는 NME7 뉴클레오타이드 서열(NME7: 진뱅크 수탁 번호 AB209049)을 기술하고 있다.

[0077] DPETMNHSERFVFAEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVMHVDKHNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYARQLGSRKEKTLALIKPDATSKAGEIIEIKNGAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPDPSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGMLNTLYSVHFVNRRAMFIFLMYFMYRK(서열 번호:13)는 NME7 아미노산 서열(NME7: 진뱅크 수탁 번호 AB209049)을 기술하고 있다.

[0078] atggtgctactgtctacttttagggatcgctctttcaaggcgaggggcctcctatctcaagctgtgatacaggaacctggccaactgtgagcgtaccttcattgcatcaaacagatggggctccagcggggctctgtgggagagattatcaagcgttttgagcagaaaggattccgccttggttggtctgaaattcatgcaagcttccgaagatcttctcaaggaacactacgttgacctgaaggaccgtccatcttccggcctggtgaaatacatgcactcagggccggtagttgccatggcttgggaggggctgaatgtggtgaagacgggccgagtcagctcggggagaccaaccctgcagactccaagcctgggaccatccgtggagacttctgcatacaagttggcaggaacattatcatggcagtgattctgtggagagtgagagagagagatcgcttggtttcacctgaggaactggtagattacacgagctgtgctcagaactggatctatgaatga(서열 번호:14)는 NM23-H1 뉴클레오타이드 서열(NM23-H1: 진뱅크 수탁 번호 AF487339)을 기술하고 있다.

[0079] MVLLSTLGIIVFQGEPPISSCDTGTMANCERTFIAIKPDGVQRGLVGEI IKRFEQKGFRLVGLKFMQASEDLLKEHYVDLKDRPFFAGLVKYMHS GPVVMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPGTIRGDFCIQVGRNI IHGSDSVESAEKEIGLWFHPEELVDYTSCAQNWIIYE(서열 번호:15) NM23-H1은 아미노산 서열(NM23-H1: 진뱅크 수탁 번호 AF487339)을 기술하고 있다.

[0080] atggtgctactgtctacttttagggatcgctctttcaaggcgaggggcctcctatctcaagctgtgatacaggaacctggccaactgtgagcgtaccttcattgcatcaaacagatggggctccagcggggctctgtgggagagattatcaagcgttttgagcagaaaggattccgccttggttggtctgaaattcatgcaagcttccgaagatcttctcaaggaacactacgttgacctgaaggaccgtccatcttccggcctggtgaaatacatgcactcagggccggtagttgccatggcttgggaggggctgaatgtggtgaagacgggccgagtcagctcggggagaccaaccctgcagactccaagcctgggaccatccgtggagacttctgcatacaagttggcaggaacattatcatggcggatgattctgtggagagtgagagagagatcgcttggtttcacctgaggaactggtagattacacgagctgtgctcagaactggatctatgaatga(서열 번호:16)는 NM23-H1 S120G 돌연변이체 뉴클레오타이드 서열(NM23-H1: 진뱅크 수탁 번호 AF487339)을 기술하고 있다.

[0081] MVLLSTLGIIVFQGEPPISSCDTGTMANCERTFIAIKPDGVQRGLVGEI IKRFEQKGFRLVGLKFMQASEDLLKEHYVDLKDRPFFAGLVKYMHS GPVVMVWEGLNVVKTGRVMLGETNPADSKPGTIRGDFCIQVGRNI IHGSDSVESAEKEIGLWFHPEELVDYTSCAQNWIIYE(서열 번호:17)는 NM23-H1 S120G 돌연변이체 아미노산 서열(NM23-H1: 진뱅크 수탁 번호 AF487339)을 기술하고 있다.

[0082] atggccaacctggagcgcaccttcacgcatcaagccggacggcgtgcagcggcgccctggggcgagatcatcaagcgttcgagcagaaggagttccgc

ctcgtggccatgaagttcctccggcctctgaagaacacctgaagcagcactacattgacctgaaagaccgaccattcttcctgggctggtgaagtacatgaactcaggccgggttggtggccatggtctgggaggggctgaacgtggtgaagcagggcagtgatgcttggggagaccaatccagcagattcaaagccaggcaccattcgtggggacttctgcattcaggttggcaggaacatcatcattggcagtgattcagtaaaaagtctgaaaaagaaatcagcctatggtttaagcctgaagaactggttgactacaagtccttgctcatgactgggtctatgaataa(서열 번호:18)는 NM23-H2 뉴클레오타이드 서열(NM23-H2: 진뱅크 수탁 번호 AK313448)을 기술하고 있다.

MANLERTFIAIKPDGVQRGLVGEI IKRFEQKGFRVLAMKFLRASEEHLKQHYIDLKDRPFFPLVKYMNSGPVVAMVWEGLVVKTGRVMLGETNPADSKPGTIRGDFCIQVGRNI IHGSDSVKSAEKEISLWFKPEELVDYKSCAHDWVYE(서열 번호:19)는 NM23-H2 아미노산 서열(NM23-H2: 진뱅크 수탁 번호 AK313448)을 기술하고 있다.

E. coli 발현에 최적화된 인간 NM23-H7-2 서열:

(DNA)

??번호:20)

(아미노산)

MHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLI DYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRRPFNFELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEG L LKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLELVQYFFKILDN-(서열 번호:21)

인간 NME7-A:

(DNA)

atggaaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaatgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagagacctttttcaatgagctgatccagttttattacaactggtcctattatgccatggagattttaagagatgatgctatatgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcagcacagatgcttctgaaagcattagagccctctttggaacagatggcataaagaaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcggccagagaaatggagttgtttttttga(서열 번호:22)

(아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRRPFNFELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAREMELFF-(서열 번호 :23)

인간 NME7-A1:

(DNA)

atggaaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaatgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagagacctttttcaatgagctgatccagttttattacaactggtcctattatgccatggagattttaagagatgatgctatatgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcagcacagatgcttctgaaagcattagagccctctttggaacagatggcataaagaaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcggccagagaaatggagttgttttttcttcaagtggaggttggggccggcaaacactgctaatttacttga(서열 번호:24)

(아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRRPFNFELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:25)

인간 NME7-A2:

(DNA)

atgaatcatagtgaagattcgttttcattgcagagtggtatgatccaaatgcttcacttcttcgacgttatgagcttttattttaccaggggatggatctgttgaatgcatgatgtaagaatcatcgacacctttttaagcggaccaaatgatataacctgcacttggagattttatttaggcaacaaagtgaatgtcttttctcgacaactggtattaatgactatggggatcaatatacagctcgccagctgggcagtaggaaagaaaaaacgctagccctaattaaaccagatgca

at at caaaggctggagaaataat tgaataataaacaagctggattt actataaccaaaactcaaaatgatgatgcttt caaggaaagaagcattggatttt
catgt agatcaccagtcaagaccctttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctattattgccatggagattttaagagatgatgctatatgt
gaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcattagagccctctttggaacagatggcataaagaaatgca
gcgcatggccctgattcttttcttctgcccagagaaatggagttgttttttga(서열 번호:26)

(아미노산)

MNHSERFVFI AEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFI GNKYNVFSRQLVL IDYGDQYTARQLGSRKEKTLAL IKPDA
ISKAGEI IEI INKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNEL IQFITGPI IAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAREMELFF-(서열 번호:27)

인간 NME7-A3:

(DNA)

at gaatcatagtgaaagattcgtttt catttgcagagtggtatgatccaaatgcttcacttcttcgacgttatgagcttttatttt acccaggggatggatct
gttgaaatgcatgatgtaagaatcatcgaccttttt aaagcggaccaaataatgataacctgcacttggaagatttatttataggcaacaaagtgatgtc
ttttctcgacaactggtat taattgactatggggatcaataacagctcgccagctgggcagtaggaaagaaaaaacgtagccctaat taaccagatgca
at at caaaggctggagaaataat tgaataataaacaagctggattt actataaccaaaactcaaaatgatgatgcttt caaggaaagaagcattggatttt
catgt agatcaccagtcaagaccctttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctattattgccatggagattttaagagatgatgctatatgt
gaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcattagagccctctttggaacagatggcataaagaaatgca
gcgcatggccctgattcttttcttctgcccagagaaatggagttgttttttcttcaagtggaggttgtgggccggcaaacactgctaaatttacttga
(서열 번호:28)

(아미노산)

MNHSERFVFI AEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFI GNKYNVFSRQLVL IDYGDQYTARQLGSRKEKTLAL IKPDA
ISKAGEI IEI INKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNEL IQFITGPI IAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:29)

인간 NME7-B:

(DNA)

at gaattgtacctgttgcattgttaaaccccatgctgtcagtgaaggactgttgggaaagatcctgatggctatccgagatgcaggttttgaaatctcagct
atgcagatgttcaatatggatcgggttaatgttgaggaattctatgaagtttataaaggagtagtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattct
ggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgctgatcctgaaattgccccgcatttacgccct
ggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggatggcctat tagaggttcaatacttcttctga
(서열 번호:30)

(아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:31)

인간 NME7-B1:

(DNA)

at gaattgtacctgttgcattgttaaaccccatgctgtcagtgaaggactgttgggaaagatcctgatggctatccgagatgcaggttttgaaatctcagct
atgcagatgttcaatatggatcgggttaatgttgaggaattctatgaagtttataaaggagtagtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattct
ggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgctgatcctgaaattgccccgcatttacgccct
ggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggatggcctat tagaggttcaatacttcttcaag
atcttggataatttagtga(서열 번호:32)

- [0117] (아미노산)
- MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
[0118] KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN— (서열 번호 :33)
- [0119] 인간 NME7-B2:
- [0120] (DNA)
- [0121] atgccttcaagtgagggttgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgtgcatgttaaaccatgctgtcagtgaggactgttggga
aagatcctgatggctatccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcgggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaaa
ggagtagtgaccgaatatcatgacatgggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaa
ttttgtggacctgctgatcctgaaattgcccgccatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtact
gatctgccagaggatggcctattagagggttcaatacttcttctga(서열 번호:34)
- [0122] (아미노산)
- [0123] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:35)
- [0124] 인간 NME7-B3:
- [0125] (DNA)
- [0126] atgccttcaagtgagggttgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgtgcatgttaaaccatgctgtcagtgaggactgttggga
aagatcctgatggctatccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcgggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaaa
ggagtagtgaccgaatatcatgacatgggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaa
ttttgtggacctgctgatcctgaaattgcccgccatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtact
gatctgccagaggatggcctattagagggttcaatacttcttcaagatcttgataaattagtga(서열 번호:36)
- [0127] (아미노산)
- [0128] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN--(서열 번호:37)
- [0129] 인간 NME7-AB:
- [0130] (DNA)
- [0131] atggaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa
atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagacccttttcaatgagctgatccagtttatataactggctcctatt
attgccatggagattttaagagatgatgctatattggaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtgccacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcataaagaatgcagcgcatggccctgattcttttgcctctcgcgccagagaaatggagttgtttttccttcaagtggga
ggttgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgttgcatgttaaaccatgctgtcagtgaggactgttgggaaagatcctgatggct
atccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcgggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaaggagtagtgaccgaa
tatcatgacatgggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgct
gatcctgaaattgcccgccatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggat
ggcctattagagggttcaatacttcttcaagatcttgataaattagtga(서열 번호:38)
- [0132] (아미노산)
- [0133] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESI
RALFGTDGIRNAAHGPDSEFASAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTE
YHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN--(서열 번호:39)
- [0134] 인간 NME7-AB1:
- [0135] (DNA)
- [0136] atggaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa

atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcgaagaccctttttcaatgagctgatccagttttattacaactggtcctatt
atggccatggagattttaagagatgatgctatatgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtgccacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcataaagaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcgccagagaaatggagtgttttttcttcaagtgga
ggttgtggccggcaaacactgctaaatttactaatgtacctgttgcatgttaaaccccatgctgtcagtgaggactgttgggaaagatcctgatggct
atccgagatgcagggttttgaatctcagctatgcagatgttcaatatggatcggttaatgttgaggaattctatgaagtttataaaggagtgtgaccgaa
tatcatgacatggtgacagaaatgtattctggcccttgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgct
gatcctgaaattgcccggcatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggat
ggcctatttagaggttcaatacttcttctga(서열 번호:40)

(아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSPPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESI
RALFGTDGIRNAHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTE
YHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEGLLEVQYFF-(서열 번호:41)

E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-A 서열:

(DNA)

atggaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaattctgctgatgacgctatctgcaatggaaacgctgctggcccgcaaaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgcagcacatggccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgtttttctga(서열
번호:42)

(아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSPP
FFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAH
GPDSFASAAAREMELFF-(서열 번호:43)

E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-A1 서열:

(DNA)

atggaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaattctgctgatgacgctatctgcaatggaaacgctgctggcccgcaaaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgcagcacatggccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgtttttcccgagctctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaaatttacctga(서열 번호:44)

(아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSPPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESI
RALFGTDGIRNAHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:45)

E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-A2 서열:

(DNA)

atgaatcactccgaacgctttgtttttatcgccgaatggatgacccgaatgcttccctgctgcgcgctacgaactgctgtttatccggcgcatggtagc
gtggaaatgcatgacgttaaaaaaccctacatttctgaaacgcacgaaatgatataatctgcatctggaagacctgttattggcaacaaagtcaatgtg
ttctctcgtcagctgggtgctgatcgattatggcgaccagtacaccgcgctcaactgggtagtcgcaaaagaaaaacgctggccctgattaaaccggatgca
atctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaaatgatgatgctgagccgtaaagaagccctggatttt
catgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgattatcgcaatggaattctgctgatgacgctatctgc
gaatggaaacgctgctggcccgcaaaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccattcgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgca
gcacatggccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgtttttctga(서열 번호:46)

(아미노산)

[0153] MNHSERFVFIAEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDKVNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVSRLVLDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAAREMELFF-(서열 번호:47)

[0154] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-A3 서열:

[0155] (DNA)

[0156] atgaatcactccgaacgctttgtttttatcgccgaatggtatgacccgaatgcttccctgctgcgccgctacgaactgctgtttatccggcgcatggttagc
gtggaaatgcatgacgttaaaaatcacctacctttctgaaacgcacgaaatataataatctgcatctggaagacctgtttattggcaacaaagtcaatgtg
ttctctcgtcagctggtgctgacgttatggcgaccagtacacgcgcgtcaactgggtagtcgcaaagaaaaaacctggccctgatataaccggatgca
atctccaaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaatgatgatgctgagccgtaaagaagccctggat
catgtcgaccaccagtctcgccggttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgattatcgcaatggaaattctgcgtgatgacgctatctgc
gaatggaaacgctgctgggccggcaaacctcaggtgttgccgctaccgatgccagtgatccattcgcgctctgtttggcaccgatggtatccgtaatgca
gcacatggtccggactcatcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccgagctctggcggttgcggtccggcaaacaccgccaatttacctga
(서열 번호:48)

[0157] (아미노산)

[0158] MNHSERFVFIAEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDKVNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVSRLVLDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:49)

[0159] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-B 서열:

[0160] (DNA)

[0161] atgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcggcc
atgcagatgttaacatggaccgcttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactcc
ggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggcagatccggaatcgacgctcatctgcgtccg
ggtaccctgcgcgcaatttttggtaaaacgaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagacggctctgctggaagtccaatactttttctga
(서열 번호:50)

[0162] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:51)

[0164] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-B1 서열:

[0165] (DNA)

[0166] atgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcggcc
atgcagatgttaacatggaccgcttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactcc
ggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggcagatccggaatcgacgctcatctgcgtccg
ggtaccctgcgcgcaatttttggtaaaacgaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagacggctctgctggaagtccaatactttttcaaa
attctggataattga(서열 번호:52)

[0167] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:53)

[0169] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-B2 서열:

[0170] (DNA)

- [0171] atgccgagctctggcggttgcgggtccggcaaacaccgccaattttaccaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggt
aaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttaca
ggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgctgcgatggaaattcagcaaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaa
ttctgtggtccggcagatccggaatcgacgtcatctgctccgggtaccctgcgcgcaattttggtaaacaacgaaatccagaacgctgtgcactgtacc
gatctgccggaagacggtctgctggaagttcaatactttttctga(서열 번호:54)
- [0172] (아미노산)
- [0173] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:55)
- [0174] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-B3 서열:
- [0175] (DNA)
- [0176] atgccgagctctggcggttgcgggtccggcaaacaccgccaattttaccaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggt
aaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttaca
ggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgctgcgatggaaattcagcaaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaa
ttctgtggtccggcagatccggaatcgacgtcatctgctccgggtaccctgcgcgcaattttggtaaacaacgaaatccagaacgctgtgcactgtacc
gatctgccggaagacggtctgctggaagttcaatactttttcaaaattctggataattga(서열 번호:56)
- [0177] (아미노산)
- [0178] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:57)
- [0179] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-AB 서열:
- [0180] (DNA)
- [0181] atggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgctttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgat
atcgcaatggaaattctgctgatgacgtatctgcgaatggaaacgcctgctgggcccggaactcagggtgttgcgcgtaccgatgccagtgatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggtatccgtaatgcagcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccgagctctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaattttaccaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggca
atccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaa
tatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgctgcgatggaaattcagcaaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggca
gatccggaatcgacgtcatctgctccgggtaccctgcgcgcaattttggtaaacaacgaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagac
ggtctgctggaagttcaatactttttcaaaattctggataattga(서열 번호:58)
- [0182] (아미노산)
- [0183] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLMMMLSRKEALDFVHDHQSPPFFNELIQFIITGPPIAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESI
RALFGTDGIRNAAHGPDFSASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTE
YHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:59)
- [0184] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME7-AB1 서열:
- [0185] (DNA)
- [0186] Atggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgctttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgat
atcgcaatggaaattctgctgatgacgtatctgcgaatggaaacgcctgctgggcccggaactcagggtgttgcgcgtaccgatgccagtgatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggtatccgtaatgcagcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccgagctctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaattttaccaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggca
atccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaa
tatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgctgcgatggaaattcagcaaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggca
gatccggaatcgacgtcatctgctccgggtaccctgcgcgcaattttggtaaacaacgaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagac
ggtctgctggaagttcaatactttttctga(서열 번호:60)

- [0187] (아미노산)
- [0188] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGP I IAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:61)
- [0189] 마우스 NME6
- [0190] (DNA)
- [0191] Atgacctccatcttgcgaagtcaccaagctcttcagctcacactagccctgatcaagcctgatgcagttgccaccactgatcctggaggctgttcatcagcagatcttgagcaacaagttcctcatgtgacgaacgaggggaactgcagtggaagctggaggactgccggagggttttaccgagagcatgaaggcggtttttcttatcagcggctggagggttcatgacaagtgaggccaatccgagcctatatccttgcccacaaagatgccatccaactttggaggacactgatgggaccaccagagtatctcgagcacgctatatagccccagattcaattcgtggaagtttgggcctcactgacaccgaaatactacccatggctcagactccgtgggtttccgccagcagagagattgcagccttcttcctgacttcagtgaaacagcgctggatgaggaggaggaacccagctgcggtgtggtcctgtgactacagtcagggaaggtatccactgtgcagctgaaacaggaggccacaaacacctaacaaaacctag(서열 번호:62)
- [0192] (아미노산)
- [0193] MTSILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRTRELQWKLEDCRRFYREHEGRFFYQRLVEFMTSGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARYIAPDSIRGSLGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVHYSPEEGIHCAAETGGHKQPNKT-(서열 번호:63)
- [0194] 인간 NME6:
- [0195] (DNA)
- [0196] Atgaccagaatctggggagtgagatggcctcaatcttgcgaagccctcaggctctccagctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccccaatctgatcttgaggctgttcatcagcagattctaaagcaacaagttcctgattgtacgaatgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagagggttttaccgagagcatgaaggcggtttttctatcagaggctggagggttcatggccagcgggccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggaccaccagagtggtccgagcacgccatgtggccccagattctatccgtgggagtttcggcctcactgacaccgcaacaccaccatgggtcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgacttcagtgaaacagcgctggatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggccctgtgtgctatagcccagaggagggtgtccactatgtagctggaacaggaggcctaggaccagcctga(서열 번호:64)
- [0197] (아미노산)
- [0198] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGP I RAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:65)
- [0199] 인간 NME6 1:
- [0200] (DNA)
- [0201] Atgaccagaatctggggagtgagatggcctcaatcttgcgaagccctcaggctctccagctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccccaatctgatcttgaggctgttcatcagcagattctaaagcaacaagttcctgattgtacgaatgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagagggttttaccgagagcatgaaggcggtttttctatcagaggctggagggttcatggccagcgggccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggaccaccagagtggtccgagcacgccatgtggccccagattctatccgtgggagtttcggcctcactgacaccgcaacaccaccatgggtcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgacttcagtgaaacagcgctggatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggccctgtgtga(서열 번호:66)
- [0202] (아미노산)
- [0203] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGP I RAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:67)
- [0204] 인간 NME6 2:
- [0205] (DNA)
- [0206] Atgctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccccaatcactgatcttgaggctgttcatcagcagattctaaagcaacaagttcctgattgtacgaatgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagagggttttaccgagagcatgaaggcggtttttctatcagaggctggagggttcatggccagcgggccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggaccaccagagtggtccgagcacgccatgtggccccagat

tctatccgtgggagtttcggcctcactgacaccgcgaacaccacccatgggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttccctgac
ttcagtgaaacagcgctggatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggcctgtgtga(서열 번호:68)

[0207] (아미노산)

[0208] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPD
SIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:69)

[0209] 인간 NME6 3:

[0210] (DNA)

[0211] Atgctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgcccattccactgattctggaggctgttcacagcagattctaaagcaacaagttcctgattgtacga
atgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagaggtttaccgagagcatgaaggcgctttttctatcagaggctggaggattcatggccagcggg
ccaatccgagcctacatccttgcacacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggaccaccagagtggtccgagcacgcatgtggccccagat
tctatccgtgggagtttcggcctcactgacaccgcgaacaccacccatgggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttccctgac
ttcagtgaaacagcgctggatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggcctgtgtgctatagcccagaggaggtgtccactatgtagctggaacagga
ggcctaggaccagcctga(서열 번호:70)

[0212] (아미노산)

[0213] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPD
SIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:71)

[0214] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME6 서열:

[0215] (DNA)

[0216] Atgacgcaaaatctgggctcggaaatggcaagtatcctgcgctccccgcaagcactgcaactgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgctcatccg
ctgatcttggaaagcggtccaccagcaaatctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttat
cgcaacatgaaggcggttcttttatcaacgcctggttgaattcatggcctctggctcgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctg
tggcgtagcctgatgggtccgacgcgctcttctgtagcgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggtctgaccgatacgcgcaataccacg
cacggttagcactctgttgttagtgctccgtgaaatcgcgcccttttcccgacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgc
tgtggcccggtctgttattctcggaaggtggtgtccattatgtggcgggcacgggtggtctgggtccggcatga(서열 번호:72)

[0217] (아미노산)

[0218] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQL
WRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번
호:73)

[0219] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME6 1 서열:

[0220] (DNA)

[0221] Atgacgcaaaatctgggctcggaaatggcaagtatcctgcgctccccgcaagcactgcaactgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgctcatccg
ctgatcttggaaagcggtccaccagcaaatctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttat
cgcaacatgaaggcggttcttttatcaacgcctggttgaattcatggcctctggctcgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctg
tggcgtagcctgatgggtccgacgcgctcttctgtagcgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggtctgaccgatacgcgcaataccacg
cacggttagcactctgttgttagtgctccgtgaaatcgcgcccttttcccgacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgc
tgtggcccggtctga(서열 번호:74)

[0222] (아미노산)

[0223] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQL
WRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:75)

[0224] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME6 2 서열:

[0225] (DNA)

[0226] Atgctgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgctcatccgctgatcttggaaagcggtccaccagcaaatctgagcaacaaatttctgatcgtgcgt

atgcggaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggtttttatcggaacatgaaggccgtttcttttatacaacgcctggttgaattcatggcctctggtccgattcgcgcataatcctggctcacaagaatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtgcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggctcgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcggtcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcggttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctga(서열 번호:76)

[0227] (아미노산)

[0228] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDTRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEPQLRCGPV-(서열 번호:77)

[0229] E. coli 발현에 최적화된 인간 NME6 3 서열:

[0230] (DNA)

[0231] Atgctgacctggctctgatcaaacggagcgctgttgctcatccgctgattctggaagcggtccaccagcaaatctgagcaacaaattctgatcgtgcgtatgcggaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggtttttatcggaacatgaaggccgtttcttttatacaacgcctggttgaattcatggcctctggtccgattcgcgcataatcctggctcacaagaatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtgcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggctcgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcggtcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcggttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctgttatctccgaaggtggtgtccattatgtggcgggcacgggtggtctgggtccggcatga(서열 번호:78)

[0232] (아미노산)

[0233] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDTRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEPQLRCGPVCYSPGEGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:79)

[0234] OriGene-NME7-1 전장

[0235] (DNA)

[0236] ataagtctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgctgatcctgaaattgcccggcatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggatggcctattagaggttcaatacttctcaagatcttggaataacgctacgcggccgctcgagcagaaactcatctcagaagaggatctggcagcaaatgatcctggattacaaggatgacgacgataaggtttaa(서열 번호:80)

[0237] (아미노산)

[0238] MNHSERFVFI AEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASESIRALFGTDGIRNA AHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGGLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGALLEVQYFFKILDNTRTRRLEQKLI SEEDLAANDILDYKDDDDKV(서열 번호:81)

[0239] Abnova NME7-1 전장

[0240] (아미노산)

[0241] MNHSERFVFI AEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASESIRALFGTDGIRNA AHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGGLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGALLEVQYFFKILDN(서열 번호:82)

[0242] Abnova 부분 NME7-B

[0243] (아미노산)

[0244] DRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGALLEVQYFFKIL(서열 번호:83)

[0245] 히스티딘 태그

[0246] (ctcgag)caccaccaccaccactga(서열 번호:84)

[0247] 스트랩t II 태그

[0248]	(accggt)tgagccatcctcagttcgaaaagtaatga(서열 번호:85)
[0249]	N-10 펩타이드:
[0250]	QFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDVPFPFSAQSGA(서열 번호:86)
[0251]	C-10 펩타이드
[0252]	GTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDV(서열 번호:87)
[0253]	인간 NME7로부터 유래된 면역화 펩타이드:
[0254]	LALIKPDA(서열 번호:88)
[0255]	MMMLSRKEALDFHVDHQS(서열 번호:89)
[0256]	ALDFHVDHQS(서열 번호:90)
[0257]	EILRDDAICEWKRL(서열 번호:91)
[0258]	FNELIQFITTGP(서열 번호:92)
[0259]	RDDAICEW(서열 번호:93)
[0260]	SGVARTDASESIRALFGTDGIRNAA(서열 번호:94)
[0261]	ELFFPSSGG(서열 번호:95)
[0262]	KFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMA(서열 번호:96)
[0263]	LMAlRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVT(서열 번호:97)
[0264]	EFYEVYKGVVTEYHD(서열 번호:98)
[0265]	EIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNA(서열 번호:99)
[0266]	YSGPCVAM(서열 번호:100)
[0267]	FREFCGP(서열 번호:101)
[0268]	VHCTDLPEDGLEVQYFFKILDN(서열 번호:102)
[0269]	IQNAVHCTD(서열 번호:103)
[0270]	TDLPEDGLEVQYFFKILDN(서열 번호:104)
[0271]	PEDGLEVQYFFK(서열 번호:105)
[0272]	EIINKAGFTITK(서열 번호:106)
[0273]	MLSRKEALDFHVDHQS(서열 번호:107)
[0274]	NELIQFITT(서열 번호:108)
[0275]	EILRDDAICEWKRL(서열 번호:109)
[0276]	SGVARTDASESIRALFGTDGI(서열 번호:110)
[0277]	SGVARTDASES(서열 번호:111)
[0278]	ALFGTDGI(서열 번호:112)
[0279]	NCTCCIVKPHAVSE(서열 번호:113)
[0280]	LGKILMAIRDA(서열 번호:114)
[0281]	EISAMQMFNMDRVNVE(서열 번호:115)
[0282]	EVYKGVVT(서열 번호:116)
[0283]	EYHDMVTE(서열 번호:117)

- [0284] EFCGPADPEIARHLR(서열 번호:118)
- [0285] AIFGKTKIQNAV(서열 번호:119)
- [0286] LPEDGLLEVQYFFKILDN(서열 번호:120)
- [0287] GPDSFASAAREMELFFP(서열 번호:121)
- [0288] 인간 NME7으로부터 유래된 번역화 펩타이드:
- [0289] ICEWKRL(서열 번호:122)
- [0290] LGKILMAIRDA(서열 번호:123)
- [0291] HAVSEGLLGK(서열 번호:124)
- [0292] VTEMYSGP(서열 번호:125)
- [0293] NATKTFREF(서열 번호:126)
- [0294] AIRDAGFEI(서열 번호:127)
- [0295] AICEWKRLGPAN(서열 번호:128)
- [0296] DHQSRPF(서열 번호:129)
- [0297] AICEWKRLGPAN(서열 번호:130)
- [0298] VDHQSRPF(서열 번호:131)
- [0299] PDSFAS(서열 번호:132)
- [0300] KAGEIIEIINKAGFTITK(서열 번호:133)
- [0301] 인간 NME1로부터 유래된 번역화 펩타이드:
- [0302] MANCERTFIAIKPDGVQRGLVGEIIKRFE(서열 번호:134)
- [0303] VDLKDRPF(서열 번호:135)
- [0304] HGSDSVESAEKEIGLWF(서열 번호:136)
- [0305] ERTFIAIKPDGVQRGLVGEIIKRFE(서열 번호:137)
- [0306] VDLKDRPFFAGLVKYMHSPPVAMVWEGLN(서열 번호:138)
- [0307] NI IHGSDSVESAEKEIGLWFHPEELV(서열 번호:139)
- [0308] KPDGVQRGLVGEII(서열 번호:140)
- [0309] **NME 저해**
- [0310] 출원인은, 주요 성장 인자 수용체인 MUC1*, 및 이의 활성화 리간드인 다이머 형태의 NM23-H1 (NME1으로도 일컬어짐)이 대부분의 고형 종양 암의 성장을 매개한다는 것을 이전에 발견하였다. 본 발명자들은 후속해서, 이 동일한 성장 인자/성장 인자 수용체 쌍이 만능 줄기세포의 성장도 매개한다는 것을 발견하였다. 막관통 단백질 MUC1의 대안적인 스플라이스 변이체 또는 효소적으로 절단된 형태 MUC1*은 모든 만능 인간 줄기세포 (Hikita et al, 2008) 및 대부분의 고형 종양 암 (Mahanta et al, 2008) 상에서 발현된다. 줄기세포가 분화하는 경우, MUC1의 절단은 중단되고, MUC1은 이의 전장 무활동(quiescent) 형태로 복귀한다. 줄기세포 및 암세포 상에서, MUC1*은 성장 인자 수용체로서 작용한다. MUC1*의 리간드-유도성 다이머화는 암세포 성장 및 생존을 촉진하고, 암세포가 화학치료 약물에 내성이 되도록 할 수 있다 (Fessler et al, 2009). MUC1*의 세포외 영역의 리간드-유도성 다이머화의 저해는 시험관 내 (도 1) 및 생체 내에서 (도 2) 암세포 성장을 크게 저해한다. 줄기세포에서, MUC1*의 리간드-유도성 다이머화는 성장 및 생존을 자극하며, 분화를 저해한다. 줄기세포 및 암세포 둘 모두는 NM23-H1을 분비한다. 다이머 형태에서, NM23-H1은 MUC1*의 세포외 영역을 다이머화해서, 줄기세포를 증식시키고 이의 분화를 저해한다.
- [0311] 다이머 형태의 NME1은 줄기세포의 성장 및 전분화능을 촉진할 뿐만 아니라, 인간 줄기세포가 "미경험" 상태로도

일컬어지는 초기의 가장 만능적인 상태로 복귀되도록 유도한다 (Nichols J, Smith A (2009); Hanna et al, 2010; Amit M, et al, 2000; Ludwig TE, et al 2006; Xu C, et al, 2005; Xu RH, et al, 2005; Smaggehe et al 2013). 지금까지, 이는, 미경험 상태의 인간 줄기세포가 매우 초기의 배아의 내부 물질에 존재함에 따라, 이 줄기세포를 유지하는 것으로 보여진 유일한 천연 인자이다.

[0312]

본원에서, 본 발명자들은, 이전에 줄기세포에 특이적인 것으로 생각된 다른 분자들이 암세포에서도 발현된다는 발견을 보고한다. 배아발생기 동안에 발현되지만 암세포에서 다시 비정상적으로 발현되는 성장 인자 및 성장 인자 수용체는, 이들을 불능화하는 것이 환자에게 상당한 음성 효과를 가지지 않아야 하기 때문에, 우수한 치료 표적을 형성한다. 따라서, 당해 기술분야에서, 배아발생기, 배아 줄기(ES) 세포 또는 유도 만능 줄기(iPS) 세포에서 활동적이나 암세포에서 비정상적으로 재활성화되는 줄기세포 성장 인자 및 수용체를 확인하는 것과, 이들을 불능화시키거나 또는 이들의 발현을 억제시키는 치료제를 개발하는 것은 큰 향상이 될 것이다.

[0313]

출원인은 또한 최근에, 인간 줄기세포에서 발현되는 많은 유전자 및 유전자 생성물들이 인간 암에서도 발현된다는 것을 발견하였다. 예를 들어 MUC1*, 막관통 단백질의 대안적인 스플라이스 변이체 또는 효소적으로 절단된 형태인 MUC1*은 모든 만능 인간 줄기세포 및 대부분의 고형 종양 암 상에서 발현된다. 줄기세포가 분화하는 경우, MUC1의 절단은 중단되고, MUC1은 이의 전장 무활동 형태로 복귀한다. 줄기세포 및 암세포 상에서, MUC1*은 성장 인자 수용체로서 작용한다. MUC1*의 다이머화는 줄기세포 및 암세포 성장을 촉진하고; 줄기세포의 분화를 저해하며, 암세포가 덜 분화된 상태로 복귀되도록 한다. 줄기세포 및 암세포 둘 모두는 다이머 형태의 NM23-H1을 분비하며, MUC1*의 세포외 영역을 다이머화해서, 줄기세포를 증식시키고 이의 분화를 저해한다.

[0314]

본 발명자들은, 줄기세포에서 활동적으로 발현되는 NME 패밀리 멤버가 암세포에서 비정상적으로 상향조절된다는 것을 발견하였다. NM23-H1 외에도, 다른 NME 패밀리 단백질은 줄기세포 및 암세포의 성장을 촉진하고 이들의 분화를 저해하는 성장 인자 및 전사 인자로서 작용한다. NME1은 다이머 상태일 때, 줄기세포 성장 및 전분화능을 촉진한다. NME1 다이머는 또한, MUC1-양성 암세포의 성장 및 탈분화를 매개한다. 줄기세포의 밀도가 증가하고 보다 많은 NME1이 줄기세포로부터 분비됨에 따라, NME1은 핵사머를 형성하고, 이는 사실상 분화를 유도하여, 만능 줄기세포의 성장을 중단시킨다. 암세포는 정상적인 성체 세포보다 덜 분화되는 것으로 보일 수 있는 것으로 알려져 있다. 사실상, 암세포가 형태학적으로 탈분화된 것으로 보이는 정도는 암의 공격성 정도와 상관관계가 있다. 따라서, 이는, 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자를 핵사머 형태의 NME1으로 치료하여, 암세포의 분화를 유도하고 이들의 자가-복제능을 제한할, 효과적인 치료 방법이다.

[0315]

NME1 외에도, NME6 및 NME7은 초기 단계의 줄기세포 및 암세포에서 발현된다. 웨스턴 블롯 분석은 매우 다양한 인간 줄기세포 및 암 세포주에서 수행되었으며, 줄기세포 및 암세포 둘 모두가 NME1, NME6 및 NME7을 발현하고 분비한다는 것으로 보여주었다. 하나의 이런 실험에서, 인간 배아 줄기세포(BG01v) 및 인간 MUC1*-양성 유방암 세포(T47D)의 세포 파쇄물은 NME1 (NM23-H1), NME6 (테이터는 도시되지 않음) 또는 NME7의 존재 여부를 알아보기 위해 탐침되었다. 도 3a 및 도 3b는, NME1 및 NME7이 줄기세포 및 암세포의 파쇄물에서 쉽게 검출되었음을 보여준다. 약 22 kDa의 NME6는 도 4d에서 도시된 보다 민감성인 분석법에서 검출되었다. 폴-다운 분석법은, MUC1의 세포외 영역에 결합하는 항체를 사용하여 줄기세포 및 암세포 상에서 수행되었다. 도 3c 및 도 3d의 웨스턴 블롯은, MUC1이 줄기세포 및 암세포에 존재하기 때문에, NME1 및 NME7 둘 모두가 이것에 결합한다는 것을 보여준다. NME7은 줄기세포 및 암세포 모두에서 생성되기는 하지만, 본 발명자들은 세포내에서, 이것은 약 42 kDa의 전장 단백질로서 존재한다는 것을 발견하였다. 그러나, NME7은 분비되기 전에 절단되어야만 한다. 분비된 형태는 이의 리더 서열 DM10을 포함하지 않는 것으로 보이며, 약 33 kDa의 겔보기 분자량에서 진행된다. 도 5는, NME7의 존재 여부를 알아보기 위해 탐침한 인간 배아 줄기(ES) 세포 (a) 및 유도 만능 줄기(iPS) 세포 (b, c)의 웨스턴 블롯 사진의 패넬이다. 웨스턴 블롯은 세포 파쇄물에 3가지 형태의 NME7이 존재한다는 것을 보여준다. 하나는 겔보기 분자량이 약 42 kDa인 것이며 (전장), 다른 하나는 약 33 kDa인 것 (N-말단 DH 영역을 포함하지 않는 NME7-AB 영역), 그리고 약 25 kDa의 작은 화학종이다. 그러나, 저분자량의 화학종만이 조건화된 배지에서 분비된다 (c).

[0316]

본 발명자들은 인간 NME7의 발현을 위한 구축물을 몇 가지 제조하였다. E. coli에서 잘 발현되는 이들 구축물 중 하나는 모노머로서 용해성 상태로 분비되었으며, NME1 다이머가 줄기세포의 성장 및 전분화능을 촉진하고 분화를 저해한 것처럼 유사하게 작용하였다. 이 구축물에서, 리더 서열 "DM10"은 서열로부터 생략되었다. 이로써, 분자량이 33 kDa으로 거의 동일한 화학종이 분비 형태의 단백질로서 생성되었다. 단백질은 히스티딘-태깅된 단백질로서 제조되었으며, 처음에는 NTA-Ni 컬럼 상에서 정제된 다음, FPLC에 의해 98% 초과 순도로 정제되었다. 본 발명자들은 이 형태를 NME7, NME7-AB라고 부른다. 본 발명은 NME7 단백질의 정확한 성질에 의해 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 본 발명자들이 생성한 NME7-AB 단백질은 간단하게는 줄기/암 촉진 기능에

필요한 천연 단백질의 최소 부분일 수 있다. 본 발명자들은, NME7-AB이, 본원에 포함된 실험 및 실시예에서 언급되는 바와 같이, 자연적으로 가공되는 NME7과 본질적으로 동일한 방식으로 작용한다고 언급하고 있다. 그러나, NME7의 자연적으로 발생하는 절단 부위는, 본 발명자들이 NME7-AB N-말단을 시작한 부위와 상이할 수 있다. NME7의 저해제는, N-말단에 DM10을 포함하는 본래의 단백질에 작용할 수 있거나, 또는 NME7이 분비된 형태로 절단되는 것을 저해하도록 작용할 수 있다. 도 6a 내지 도 6c는, 니켈 컬럼에 의한 정제 후 NME7-AB의 FPLC 미량(a), 비정제된 단백질의 SDS-PAGE 겔(b) 및 최종 생성물의 FPLC 미량(c)을 보여준다. 나노입자 분석법이 수행되었으며, 이는, 모노머 상태의 NME7은 MUC1* 세포의 영역의 2개의 PSMGFR 펩타이드(서열 번호:6)에 동시에 결합할 수 있다는 것을 보여주었다. 히스티딘-태깅된 PSMGFR 펩타이드는 NTA-SAM-코팅된 나노입자 상에 고정되었다. FPLC 및 본래의 겔에 의해 모노머인 것으로 입증된 바 있는 재조합 NME7-AB(DM10 N-말단 리더 서열을 포함하지 않는 것으로 발현됨)는 나노입자에 첨가되었다. NME7의 첨가에 의해 골드 나노입자 용액은 핑크색에서 청색으로 변화하였으며, 이는, NME7이 2개의 개별 나노입자 상의 2개의 펩타이드에 동시에 결합하였으며, 그로 인해, 입자들이 함께 근접하게 되었으며, 따라서, 특징적인 색 변화가 유도되었음을 의미한다(도 7). 또 다른 ELISA 실험이 수행되었으며, 이는, NME7 모노머가 MUC1* 세포의 영역 펩타이드 2개를 다이머화한다는 것을 나타내었다. 제1 PSMGFR 펩타이드를 BSA에 결합(coupling)시켰으며, 다중-웰 플레이트 상에 고정하였다. 재조합 NME7-AB를 첨가하였다. 적절한 세정 단계 후, 비오틴으로 개질된 제2 PSMGFR 펩타이드를 첨가하였다. 그런 다음, 표지화된 스트렙타비딘을 첨가하였으며, 이는, NME7 모노머가 MUC1* 세포의 영역 펩타이드 2개에 동시에 결합할 수 있다는 것을 분명하게 보여주었다(도 8). 이들 결과는, NME7이 이의 2개의 NDPK 영역을 통해 줄기세포 및 암세포 상의 MUC1*에 결합하고 이를 다이머화한다는 것을 의미한다.

[0317]

NME7은 NME1 다이머와 거의 동일하게 작용한다. NME1 다이머와 마찬가지로, NME7은 인간 줄기세포 성장을 전적으로 지지한다. 인간 줄기세포(배아 'ES' 및 유도 만능 'iPS') 패널을, NME1 다이머 또는 NME7-AB가 유일한 성장 인자 또는 사이토카인으로서 첨가된 최소 무-혈청 기본 배지에서 배양하였다. 줄기세포는 과도기 FGF-함유 배지에서 성장하는 것보다 더 빠르게 성장하였고, 자발적으로 분화하지 않았으며, 2개의 활성 X 염색체를 가진 것으로 입증되는 바와 같이 미경험 상태로 복귀하였다. 도 9 및 도 10은, 제1일 및 제3일에 각각 NME1 다이머 또는 NME7-AB에서 배양한 인간 HES-3 배아 줄기세포의 사진을 보여준다. 명백하게 확인할 수 있듯이, 줄기세포는 분화의 증후 없이 동일하게 성장하고 있는 것으로 보인다. 미경험 줄기세포는 콜로니에서 성장하지 않으며, 그보다는 포화도(confluency)가 도달됨에 따라 시트형으로 되는 단층 형태로 성장하는 것에 주목해야 한다. 도 11은, NME7-AB에서 10회 초과로 계대배양한 줄기세포가 표준 전분화능 마커에 대해 양성으로 염색된다는 것을 확인하는, 면역조직화학(ICC) 실험의 사진을 보여준다. 도 12는, NME7-AB에서 배양한 줄기세포가 미경험 상태로 존재한다는 것을 확인하는, ICC 실험의 사진을 보여준다. 패널(a)의 세포를, 표준 시행대로, 마우스 피더 세포 상에서 FGF에서 배양하였다. 염색시키는 항체는, 이 항체가 히스톤 3 상의 응축된 트리-메틸화된 라이신 27(H3K27me)에 결합한 곳에서 적색의 도트를 형성하였으며, 이는, 하나의 X 염색체가 불활성화되어 있으며(XaXi), 줄기세포가 "프라임드" 상태로 진행되었음을 의미한다. 패널(b)의 세포는, 이들이 NME7-AB에서 10회 계대배양된 점을 제외하고는, (a)에서 촬영된 것과 동일한 세포이다. 인서트(insert)에서 확인할 수 있듯이, H3K27me 항체는 "구름형" 염색 패턴을 형성하였으며, 이는, X 염색체 둘 모두가 활성화되었음을 의미하며(XaXa), 이는, 세포가 미경험 상태로 복귀되었음을 입증한다. 따라서, 본 발명자들은, NME7이 줄기세포 성장 및 전분화능을 전적으로 지지하며, 또한, 이들을 후기의 프라임드 상태보다 덜 성숙한 상태인 미경험 상태 또는 바닥 상태로 복귀시킨다고 언급하였다.

[0318]

이후, 본 발명자들은, NME7이 암세포의 성장을 구동하는 활성 성장 인자인지도 알아보기 위해 연구하였다. 그렇다면, 암 성장은, NME7과 MUC1* 세포의 영역 간의 상호작용을 차단하는 치료제에 의해 한자에서 저해되거나 또는 예방될 수 있었다. NME7 A 및 B 영역에 대해 생성된 토끼 폴리클로날 항체를 MUC1*-양성 유방암 세포 T47D에 첨가하고, 세포의 성장을 측정하였다. 매우 낮은 나노몰 농도에서도, 항-NME7은 암세포의 성장을 저해하였다(도 13 내지 도 15). 바람직한 구현예에서, 암 치료용 치료제는 NME7의 NDPK A 영역에 결합하는 항체이다. 보다 바람직한 구현예에서, 치료제는 NME7의 NDPK B 영역에 결합하는 항체이다. 보다 더 바람직한 구현예에서, 치료제는, NME1에 존재하지 않는 NME7의 A 영역 또는 B 영역의 서열에 결합하는 항체이다. 보다 더 바람직한 구현예에서, 치료제는 NME7과 MUC1* 간의 상호작용을 저해하는 항체이다. 가장 바람직한 구현예에서, 치료제는 NME7의 기능을 저해하는 항체로서, 상기 기능은 암성 성장의 촉진 또는 암-유사 상태로의 복귀이다.

[0319]

NME 리간드가 성장 인자로서 작용하는 한가지 방식은 MUC1*의 세포의 영역에 결합하여 다이머화하는 것에 의한 것임을 상기한다. NME 패밀리 단백질은 하나 이상의 NDPK 영역을 가진다. 이들 NDPK 영역은, 이들의 성장 인자 및 전사인자로서의 기능과 독립적이며 이러한 기능에 필요하지 않은 촉매적 기능을 가진다. NME 패밀리 단

백질은 이들의 NDPK 영역을 통해 MUC1*의 세포외 영역에 결합한다.

[0320]

상이한 NME 패밀리 단백질은 정상적인 배아 발생 시기 동안 상이한 시점에 발현된다. NME7은 줄기세포 성장을 조절하는 NME 패밀리 단백질의 가장 원시적인 단계의 것이며, 생체 내에서 매우 초기의 배아발생기에서만 발현된다. NME7은 2개의 NDPK 영역, A 및 B + DM10 영역이라고 명명되는 N-말단 리더 서열을 가지는 약 42kDa의 단일 단백질이다. ELISA 분석법은, NME7이 MUC1* 막관통 수용체에 결합하여 다imer화한다는 것을 보여준다. NME7은 2개의 NDPK 영역을 가지기 때문에, 이는 MUC1* 수용체를 항상 다imer화할 수 있는 슈도(pseudo) 다imer이다.

[0321]

이와는 대조적으로, NME1은 NME7의 분자량의 거의 절반이며(약 17kDa), NDPK 영역을 오로지 하나만 가진다. NME1은 다imer로 존재할 때만 성장을 촉진하고 분화를 저해하는 성장 인자로서 작용한다. 보다 높은 농도에서, NME1은 헥사머를 형성할 수 있다. 다imer와는 대조적으로, NME1 헥사머는 분화를 유도한다. 따라서, 배아발생기 후기에서 발현되는 NME1은 그 자체를 중단시키는 능력을 가지며, 따라서 자가-복제를 제한하며, 한편, NME7은 그렇게 할 수 없다. 야생형(wt) NME1은 측정가능한 농도에서 주로 헥사머로서 존재한다. 안정한 다imer 집단을 형성하는 S120G와 같은 돌연변이체 NME1 단백질은 암으로부터 단리되었으며, 따라서, MUC1* 수용체를 계속해서 활성화시킨다. 본 발명자들은 재조합 NME1-wt 및 S120G 돌연변이체를 제조하였다. 재접힘(refolding) 프로토콜을 다양하게 함으로써, 본 발명자들은, 본질적으로 100% 헥사머 또는 100% 다imer인 집단을 안정화시킬 수 있었다. 또한, 본 발명자들은 다imer, 테트라머 및 헥사머의 혼합물인 NME1-S120G의 집단을 단리하였다. 도 16은 본래의 겔 상에서의 이들 다양한 멀티머를 보여준다. 도 17(a)는 SPR 실험(b)에 사용된 NME1 단백질의 겔을 보여주며, 여기서, MUC1* 세포외 영역의 PSMGFR 펩타이드는 칩 상에 고정되며, 상이한 NME1 단백질들은 표면 상에서 유동한다. 결과에서, 다imer 형태의 NME1이 MUC1* 세포외 영역에 결합하는 형태인 것으로 나타난다. 패널(c)은 나노입자 실험을 보여주며, 여기서, PSMGFR 펩타이드는 NTA-Ni-SAM 코팅된 나노입자에 부착되었으며, 재조합 NME1 다imer 또는 헥사머는 나노입자에 첨가된다. 상호작용이 발생하는 경우 골드 나노입자는 청색으로 변색되며, 상호작용이 발생하지 않는 경우 색상은 여전히 핑크색으로 존재한다. 확인할 수 있듯이, 다imer만이 나노입자 상의 MUC1* 펩타이드에 결합하며, 2개의 상이한 나노입자들에서 2개의 펩타이드들을 다imer화하며, 본질적으로 입자들을 가교한다. MN-C2 항-MUC1* 항체의 Fab는 용액에 첨가되는 경우, NME1 다imer와 MUC1* PSMGFR 펩타이드 간의 상호작용을 방해한다. 패널(d)는, NME1 다imer(NM23), 헥사머, 또는 다imer + 유리(free) PSMGFR 펩타이드에서 배양된 인간 줄기세포가 상호작용을 경쟁적으로 저해하는 것을 보여주는 사진이다. 사진에서 확인할 수 있듯이, NME1 다imer만이 만능 줄기세포 성장을 촉진한다. 자연상에서, 줄기세포의 농도가 임계 질량에 도달하고, NME1의 분비가 헥사머를 형성하는 농도에 도달하는 경우, 분화가 유도된다. 도 18은, 본원에 기술된 실험에 의해 지지되는, NME7 및 NME1이 전분화능을 촉진하도록 작용하는 기전을 도시하고 있는 카툰으로서, 여기서, NME1은 그 자체를 조절한다.

[0322]

NME6는 또한, 매우 초기의 배아발생기에서도 발현된다. NME6는 바다 수세미와 같은 일부 종들에서 보고되듯 다imer이다. NME6는, 이것이 성장을 활성화하고 분화를 저해할 수 있기 전에, 다imer를 형성할 수 있기에 충분히 높은 수준으로 발현되어야만 한다. 따라서, 이는 NME7보다 후기에 발현된다. NME6는 또한, MUC1* 세포외 영역의 PSMGFR 펩타이드에 결합한다. 풀-다운 분석법에서, NME6는 암세포 및 줄기세포에서 MUC1*에 결합하는 것으로 나타났다. 본 발명자들은, 재조합 NME6를 야생형 단백질로서, 또는 단일 점 돌연변이 S139G를 포함하는 것으로서 제조하였으며, 이 돌연변이는, NME1이 다imer 형성을 선호하게 유도하는 S120G 돌연변이를 모방한다. 또한, 또 다른 NME6 변이체가 제조되었으며, 이 민감한 영역에서, 인간 NME6는 바다 수세미 NME6와 유사하게 보일 것이며, 보고된 바와 같이 헥사머로서 존재한다. 이들 돌연변이는 S139A + V142D 및 V143A이다. 도 19a, 도 19b 및 도 19c에 도시된 ELISA 분석법은, NME6가 MUC1* 세포외 영역의 PSMGFR 펩타이드에 결합하는 것으로 보여준다. 파트 A에서, NME6-wt는 모노머 또는 고분자량 멀티머로서 정제된다. 표면이 PSMGFR MUC1* 펩타이드로 코팅되는 ELISA 분석법은 NME6 모노머의 MUC1* 펩타이드에의 선호적인 결합을 보여준다. 파트 B에서, NME6 멀티머는 SDS에서의 희석에 의해 해리된다. ELISA는, 멀티머가 해리됨에 따라, MUC1* 펩타이드에의 결합이 증가하는 것을 보여준다. 도면은, NME6-wt, 및 다imer 형성을 선호하는 2개의 돌연변이체들이 MUC1* 펩타이드에 결합하는 것을 보여준다. 도 19d 내지 도 19h의 겔은, D-H show 발현 of NME6-wt(d), 인간 NME1에서 다imer 형성을 증가시키는 돌연변이 S120G에 상응하는 S139G 돌연변이를 가지는 NME6(e), 인간 형태로 하여금 다imer인 것으로 보고되는 바다 수세미 형태를 모방하도록 유도하는 돌연변이를 3개 가지는 NME6(f), 및 2개의 NME6 단백질을 연결하는 단일 사슬 단백질의 발현을 보여준다(g, h). 패널 I는, MUC1의 세포질 꼬리에 대한 항체를 사용하는 풀-다운 분석법에서, NME6는 암세포 및 줄기세포에서 MUC1에 결합하는 것으로 나타났음을 보여준다. 따라서, 유효량의 항암제는, NME6 다imer가 MUC1* 세포외 영역 펩타이드에 결합하는 것을 방해하는 항체, 소분자 또는 다른 제제일 것이다. 바람직한 구현예에서, 암 치료용 치료제는 NME6의 NDPK A 영역에 결합하는

항체이다. 보다 바람직한 구현예에서, 치료용 항체는, NME1에 존재하지 않는 NME6의 서열에 결합한다.

[0323]

매우 초기 단계의 줄기세포인, 배반포의 내부 물질의 배아 줄기세포를 모방하는 인간 줄기세포는 "미경험" 상태 줄기세포로 명명된다. 최근까지, 연구자들은, 유전적으로 변형되지 않은 미경험 상태의 인간 줄기세포를 시험관 내에서 유지하거나 또는 생성할 수 없었다. 본 발명자들은 최근, 다른 성장 인자 또는 사이토카인의 부재 하에, 특히 bFGF의 부재 하에, NME1 다이머 또는 NME7에서 세포를 배양함으로써, 유전적으로 변형되지 않은 인간 줄기세포를 미경험 상태로 생성하는 데 성공하였다. 또한, 본 발명자들은, 이들 미경험 상태 줄기세포가 bFGF에 노출되지마자, 보다 성숙한 "프라임드" 상태로 진행된다는 것을 보여주었다. NME7은 매우 초기 단계의 줄기세포에서 매우 높은 수준으로 발현된다는 것을 언급하기 위해, 본 발명자들은, NME1 또는 NME7(미경험)에서 배양하거나 bFGF(프라임드)에서 배양한 다음, NME7의 존재 여부를 알아보기 위해 탐침한 인간 줄기세포에서 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 미경험 상태의 줄기세포보다 더 분화된 프라임드 상태의 배아 줄기세포는 NME7을 단지 미량으로 발현한다. 엄연하게 대조적으로, 초기 "미경험" 상태("바닥" 상태로도 일컬어짐)의 줄기세포는 NME7을 높은 수준으로 발현한다(도 3b는 레인 1(미경험)을 레인 2(프라임드)와 비교함). NME7은 초기 단계의 줄기세포에서의 발현과 유사한 수준으로 암세포에서 발현된다(도 3b는 레인 3(암세포)을 레인 1(미경험 줄기세포)과 비교함). 이러한 이유로, NME7 및 NME6는, 이들의 일차적인 역할이 성체 시기에서보다 초기의 배아발생기에 존재하기 때문에, 상당한 부작용 없이 치료학적으로 불능화될 수 있다.

[0324]

NME7은 2개의 NDPK 영역을 가지며, 따라서, 일 측면에서 NME1 다이머가 작용하는 것처럼 작용하는 단일 분자이다. NME7의 결합 파트너들 중 하나는 MUC1*이다. 본 발명자들의 연구는, NME7가 MUC1*-양성 세포의 세포의 영역에 결합하여 다이머화함으로써, 인간 줄기세포 및 암세포 둘 모두의 성장을 촉진하고 분화를 저해하는 것으로 보여준다. NME7은 또한, 암세포, 조건화된 배지, 세포질 및 핵에서 검출되며, 이는, NME7이 분비된 성장 인자로서 작용할 뿐만 아니라, DNA에 직간접적으로 결합하는 전사인자로도 작용한다는 것을 의미한다. 도 20의 웨스턴 블롯은, NME1 및 NME7 둘 모두가 인간 암세포(T47D), 배아 줄기세포(BG01v 및 HES-3) 및 유도 만능 줄기(iPS) 세포의 세포질 및 핵에 존재한다는 것을 보여준다. 이들 데이터는, NME1 및 NME7이 유전자의 전사에 직간접적으로 영향을 미치도록 작용할 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 측면에서, NME1 또는 NME7의 기능은 NME1 또는 NME7의 DNA에의 결합을 저해하는 소분자일 수 있는 제제를 첨가함으로써 저해되며, NME1 또는 NME7의 전사 기능을 저해하는 제제는 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자에게 투여될 수 있는 항암제이다.

[0325]

NME 단백질은 상이한 암세포에서 상이한 수준으로 발현되는 경향이 있다. MUC1*-양성인 대부분의 암은 높은 수준의 NME1, NME6 및 NME7 발현을 나타낸다. DU145 전립선암 세포는 NME1 또는 NME6보다 NME7을 더 높은 수준으로 발현하였다. MUC1*-음성인 PC3 전립선암 세포는 NME1 또는 NME7을 검출가능한 수준으로 가지지 않았으나, 높은 수준의 NME6 발현을 가졌다(도 21).

[0326]

NME7는 상이한 형태로 존재한다

[0327]

NME7는 상이한 화학종으로 발현된다. 이들 화학종 중 일부는 암세포에 특이적이다. 전장 NME7은 42 kDa이며, N-말단에서 2개의 동일하지 않은 NDPK 영역 및 DM10 리더 서열로 구성된다. 전장 NME7은 세포질에서 확인될 수 있다. NDPK A 및 B 영역으로 구성되지만 DM10 리더 서열은 포함하지 않는 화학종과 일치하는 약 33 kDa의 NME7 화학종은 줄기세포 및 암세포 둘 모두의 조건화된 배지에서만 독점적으로 확인된다(도 5 및 도 22). 이들 확인은, 줄기세포를 배양하기 위해 첨가된 다이머 형태의 재조합 NME1과는 무관하다는 것에 주목해야 한다. 도 23은, 도 22의 겔을 스트라이핑하고 재조합 단백질 상에 히스틴 태그가 존재하는지 알아보기 위해 채탐침한 경우, 아무것도 검출되지 않았음을 보여준다. 이들 결과는, 보다 작은 분자량의 NME7이 분비된 성장 인자 형태라는 것을 주장한다. 본 발명자들은, NDPK A 및 B 영역으로 구성되지만 DM10 영역을 포함하지 않는, 분자량 약 33 kDa의 NME7 변이체를 제조하였으며, 본 발명자들은 이를 NME7-AB로 명명하였다. 이 재조합 NME7-AB는 다른 성장 인자 또는 사이토카인을 포함하지 않는 무-혈청 배지에서 만능 인간 줄기세포의 성장을 전적으로 지지할 수 있다. NME7-AB는 또한, MUC1*-양성 암세포의 성장을 전적으로 지지하였다. 이들 실험은, 분비된 형태의 NME7이 성장 인자 형태이며, NDPK A 및 B 영역으로 구성되며, DM10 영역을 대부분 또는 모두 포함하지 않으며, 분자량이 약 33 kDa임을 나타낸다. 도 24는 NME7의 존재 여부를 알아보기 위해, 마우스 모노클로날 항체(a) 또는 N-말단 DM10 서열만 인지하는 또 다른 모노클로날 항체(b)를 사용하여 탐침된 다양한 세포 파쇄물 및 상응하는 조건화된 배지의 웨스턴 블롯 사진을 도시한 것이다. 세포의 조건화된 배지 유래의 검체에서 약 33 kDa의 NME7 화학종에 DM10 특이적인 항체가 결합하지 않는 것은, 분비된 형태의 NME7은 N-말단 DM10 리더 서열 모두는 아니라도 대부분을 포함하지 않는다는 것을 의미한다.

[0328]

약 25 kDa의 더 작은 또 다른 NME7 화학종이 또한 종종 존재한다. 웨스턴 블롯은, 약 25 kDa의 더 작은 분자량

의 화학종이 처음부터 존재한다는 것을 보여준다. 이러한 약 25 kDa의 NME7은 NDPK A 영역으로 구성되며, MUC1*을 위한 단일 결합 부위를 가진다. 약 25 kDa의 밴드를 절제하고 질량 분광법으로 분석하였다. 질량 분광법은, 약 25 kDa의 화학종이 본질적으로 NDPK A 영역으로 구성되어 있음을 나타내었다.

[0329]

NME7은 비록 낮은 수준이긴 하지만 다른 인간 조직에서 발견되는 것으로 보고된 바 있다. 그러나, 본 발명자들은, 성장 인자로서 작용하는 것은 분비된 형태의 NME7이며, 일부 성체 조직이 NME7을 발현하기는 하지만, 중요한 측면은 그것의 분비 여부를 발견하였다. NME7을 발현하고 분비하는 줄기세포는, NME7을 분비하지 않는 줄기세포보다 더 초기이며 따라서 더 만능 상태에 있는 줄기세포이며, NME7을 발현 또는 분비하지 않는 줄기세포보다 더 초기의 보다 만능 상태에 있다. NME7을 발현 및 분비하는 암세포는, NME7을 분비하지 않는 암세포보다 덜 분화되고 더 공격적인 암세포이다. 따라서, NME7 및 분비된 NME7의 수준의 측정은, 종양의 공격성을 예측하고, 치료법을 설계하며, 치료법의 효능을 모니터링하고, 임상 시험을 위한 환자 개체군을 계층화하는 데 이용될 수 있다. 따라서, NME1, NME6 또는 NME7을 검출하는 항체는, 암의 발병을 검출하거나 또는 암의 공격성을 평가하기 위한 진단 툴로서 사용될 수 있으며, 여기서, 높은 수준의 NME1, NME6 또는 NME7은 종양의 공격성 및 불량한 결과와 상관관계가 있다. 높은 수준의 NME7 및 NME6는 특히, 종양의 공격성 및 그로 인한 불량한 예후와 상관관계가 있다. NME1, NME6 또는 NME7에 대한 항체로 탐침될 수 있는 환자의 검체는 혈액을 비롯한 체액, 조직 생검, 바늘 생검 등의 검체일 수 있다.

[0330]

NME 패밀리 멤버 단백질은 암을 촉진하도록 작용할 수 있다

[0331]

본 발명자들은, NME 단백질이, 배아 세포 및 iPS 세포의 성장 및 전분화능을 촉진할 뿐만 아니라, 세포가 줄기-유사 상태로 복귀하도록 유도한다는 것을 보고하였다. 줄기-유사 상태 및 암성 상태의 유전적인 특징들 중 많은 것들이 현재 공유되기 때문에, 본 발명자들은, NME 패밀리 멤버 단백질이 암성 상태를 유도할 수도 있다고 결론 내린다. 바람직한 구현예에서, NME 패밀리 멤버 단백질은 NME1, 또는 NME1과 30% 초과, 35% 초과, 40% 초과, 45% 초과, 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과, 90% 초과, 95% 초과 또는 97% 초과와 서열 동일성을 가진 NME 단백질이며, 여기서, 상기 단백질은 다이머이다. 보다 바람직한 구현예에서, NME 패밀리 멤버 단백질은 NME7, 또는 NME7 영역 A 또는 B 중 하나 이상과 30% 초과, 35% 초과, 40% 초과, 45% 초과, 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과, 90% 초과, 95% 초과 또는 97% 초과와 서열 동일성을 가지며, MUC1* 성장 인자 수용체를 다이머화할 수 있는 NME 단백질이다.

[0332]

본원에서, 본 발명자들은, 다이머 형태의 NME1, 다이머 형태의 박테리아 NME1, NME7 또는 NME7-AB이, a) 인간 ES 또는 iPS의 성장 및 전분화능을 전적으로 지지하면서도 한편으로는 분화를 저해할 수 있으며; b) 체세포를 보다 줄기-유사한 상태 또는 암-유사한 상태로 복귀시킬 수 있으며; c) 암세포를, 종양 개시 세포로도 지칭되는 매우 전이성의 암 줄기세포 상태로 형질변환시킬 수 있었다고 보고한다.

[0333]

본 발명자들은, 인간 NME1과 높은 서열 상동성을 가지며 다이머 상태로 존재하는 것으로 보고된 바 있는, 할로모나스 Sp. 593('HSP 593') 및 포르피로모나스 긴기발리스(Porphyromonas gingivalis) W83에서 확인되는 제조합 박테리아 NME 단백질을 제조하였다(도 25 및 도 26). HSP 593는 E. coli에서 양호하게 발현되었으며, 상당한 부분이 다이머로서 존재하였으며, 그런 다음, 이 집단은 FPLC에 의해 정제되어, 다이머 집단이 확인되었다(도 25a). 직접 결합 실험을 수행하여, 할로모나스 Sp. 593 유래의 박테리아 NME가 MUC1* 세포의 영역의 PSMGFR 펩타이드에 결합하였음을 보여주었다(도 25b). HSP 593과 인간 NME1 또는 인간 NME7 영역 A 또는 B 간의 서열 정렬은, MUC1* 세포의 영역에 결합된 박테리아 NME가 인간 NME1 및 인간 NME7-A와 40% 내지 41% 동일하고, NME7-B와 34% 동일하였음을 보여주었다(도 27a 내지 도 27c).

[0334]

인간 NME1 또는 NME7과 30% 초과, 보다 바람직하게는 40% 초과와 동일성을 가지는 박테리아 NME가, 암세포 및 줄기세포의 성장 및 생존을 촉진하는 인간 NME와 유사하게 작용하는 것을 보여주는 부가적인 실험을 수행하였다. 인간 NME와 이러한 높은 서열 동일성을 가지는 박테리아 NME 중 많은 것들이 인간 암에 관여하는 것으로 보고되었다. 따라서, 본 발명자들은, 많은 박테리아들이 인간에서 암을 유도하거나 또는 기존의 암을 악화시켰다는 생각을 테스트하고자 하였다. 박테리아 NME를 인간 NME1 및 NME7에 대한 기능적 분석법에서 테스트하였다. 인간 HES-3 배아 줄기세포를, 유일한 성장 인자 또는 사이토카인으로서 HSP 593, 인간 NME1 다이머 또는 인간 NME7-AB를 포함하는 무-혈청 최소 기본 배지에서 배양하였다. 인간 NME1 및 NME7이 인간 줄기세포 성장을 전적으로 지지한 것처럼, HSP 593 유래의 박테리아 NME도 마찬가지로 거동하였다(도 9 및 도 10과 비교된 도 28a 내지 도 28f).

[0335]

인간 NME1 다이머 또는 인간 NME7은 체세포를 덜 성숙한 상태로 복귀시킬 수 있으며, 줄기세포 및 암세포 마커

를 발현한다. HSP 593 유래의 박테리아 NME를, 이것이 체세포를 암-유사 상태로 복귀시킬 수 있음으로써 인간 호모로그의 기능을 모방할 수 있는지 결정하기 위해, 인간 호모로그와 함께 테스트하였다. 인간 섬유아세포를, 유일한 성장 인자 또는 사이토카인으로서 HSP 593, 인간 NME1 다이머 또는 인간 NME7-AB를 포함하는 무-혈청 최소 기본 배지에서 배양하였다. RT-PCR 측정에서, 인간 NME와 마찬가지로, 박테리아 NME1 HSP 593 역시 19일째에 체세포를 OCT4-양성 단계로 복귀시킨 것으로 나타났다(도 29). 줄기세포 및 전이성 암세포가 부착-비의존적으로 성장할 수 있다는 것을 상기하여, 본 발명자들은 실험을 반복하였으나, 단, 이때에는, rho 키나제 저해제를 1세트의 세포에 첨가하여, 세포가 표면에 부착되게 하였다. 부유 세포가 강제로 표면에 부착되게 되는 경우, RT-PCR에서, 사실상 줄기/암 마커 OCT4가 7-배 증가하였으며, 줄기/암 마커 Nanog가 12-배 증가한 것으로 나타났다(도 30). 실험 사진은, 섬유아세포가 인간 NME 또는 박테리아 NME에서 배양된 경우 복귀함에 따라 형태가 크게 변하는 것을 보여준다(도 31 내지 도 38). 체세포를 덜 성숙한 상태로 복귀시키는 효율에 대한 상대적인 순서는, NME7 > NME1 다이머 > 박테리아 NME1였다. 전사인자 BRD4 및 공동-인자 JMJD6는 보고에 따르면, NME7을 억제하고 NME1을 상향조절한다(Lui With et al, 2013). 본 발명자들은, 이들 인자가 후기 프라임드 줄기세포에 존재한 경우보다 미경험 줄기세포에서 더 낮은 수준으로 발현되었음을 확인하였다(도 39). 이러한 결과는, NME7은, NME1이 하듯이, 스스로 중단시킬 수 없거나 또는 자가-복제를 조절할 수 없기 때문에, NME1보다 초기에 발현되는 줄기세포 성장 인자이며; 다이머 상태에서는 줄기세포의 성장을 활성화시키지만, 세포가 더 많이 분비하여 핵사머를 형성하는 경우, 핵사머는 MUC1*에 결합하지 않으며 분화가 유도된다는 본 발명자들의 가설을 지지한다.

[0336]

염색질 재배열 인자 MBD3 및 CHD4는 최근에, 전분화능의 유도를 차단하는 것으로 보고되었다(Rais Y et al, 2013). 인간 NME1이나 NME7 또는 박테리아 NME1에서 배양한 인간 섬유아세포의 RT-PCR 측정은, NME 단백질이 전분화능의 4가지 차단인자(BRD4, JMJD6, MBD3 및 CHD4) 모두를 억제한다는 것을 나타낸다(도 40). RT-PCR 실험의 복합 그래프에서, 전분화능 유전자를 증가시키고 전분화능 차단인자를 감소시키는 상대적인 능력은 NME7 > NME1 > HSP 593 NME인 것으로 나타난다. 그러나, HSP 593 유래의 박테리아 NME는 인간 NME7 및 NME1의 발현을 명백하게 상향조절한다(도 41 및 도 42). 따라서, NME1 다이머, NME7 및 박테리아 NME1 다이머는 체세포가 덜 성숙된 암/줄기-유사 상태로 복귀하도록 유도한다.

[0337]

NME1 및 NME7가 가지는 또 다른 기능은, 암세포를, 종양 개시 세포로도 명명되는 보다 전이성의 암 줄기세포 상태로 형질전환시키는 능력이다. 암세포 패널을, 유일한 성장 인자 또는 사이토카인으로서 인간 NME7-AB 또는 인간 NME1 다이머(도면에서 'NM23')를 포함하는 무-혈청 최소 기본 배지에서 배양하였다. 이 배지에서 며칠 배양한 후, 세포는 표면으로부터 부유하기 시작하였으며, 용액에서 계속 성장하였다. '부유 세포'를 수집하고, 개별적으로 PCR로 분석하였다. 다른 웰의 세포에는 rho 키나제 저해제('도면에서 Ri')를 처리하였다. 정량적 PCR 측정에서, 암 줄기세포 마커의 증가가 나타나며, 이들 마커 중 일부는 줄기세포 마커로만 생각되어 사용되었다(Miki J et al 2007, Jeter CR et al 2011, Hong X et al 2012, Faber A et al 2013, Mukherjee D et al 2013, Herreros-Villanueva M et al, 2013, Sefah K et al, 2013; Su H-T et al 2013). 도 44 내지 도 47은, NME 단백질과 함께 배양하면, 암세포를 매우 전이성의 종양 개시 세포로 복귀시키며, '전이 수용체' CXCR4는 200-배 초과로 상향조절되며, SOX2는 200-배 초과로 상향조절되며, E-카드헤린(CDH1), NANOG 및 MUC1은 10-배 이하로 상향조절된다는 것을 나타낸다. 결론적으로, 암세포는, MUC1을 활성화하고 다수의 암 및 암 줄기세포 유전자들을 상향조절하는 NME7 및 NME1을 분비한다. 본 발명자들은, MUC1-음성인 세포에서도 암 줄기세포 및 전이의 마커가 보다 온건하게, 그러나 추세대로 증가하는 것을 관찰하였다(도 47). 따라서, 본 발명자들은, NME7이 MUC1* 이외의 경로에 의해 이들 세포에 도입될 수 있으며, 여기서, 이것은 여전히 전사인자로서 작용하며 이들 유전자의 발현 수준에 영향을 미칠 수 있다고 결론 내린다. NME1은, 이러한 방식으로 작용하기 위해서는 다이머이어야 하는데, 왜냐하면 핵사머 상태로는 줄기 또는 암 성장을 활성화하지 못하기 때문이다. 그러나, 많은 암들은 NME1을 돌연변이시켜, 이것은 자가-복제의 형성에 저항하여 핵사머를 제한하게 된다. NME1과는 달리, NME7은 항상 활성이다.

[0338]

MAP 키나제 신호 경로의 GSK3-베타 및 MEK의 소분자 저해제인 2i 저해제는 마우스의 프라임드 줄기세포를 미경험 상태로 복귀시킨다고 보고된 바 있다(Silva J et al, 2008). 본 발명자들은, 이들 저해제가 인간 암세포도 암 줄기세포 상태로 복귀시킬 수 있는지 궁금하였다. T47D 유방암 세포를, 2i 저해제를 첨가한 무-혈청 최소 기본 배지, 또는 인간 재조합 NME7-AB를 첨가한 동일한 기본 배지, 또는 NME7-AB 및 2i 둘 모두를 첨가한 동일한 기본 배지에서 10일간 배양하였다. 도 48에 도시된 결과에서, 암 줄기세포 마커 E-카드헤린(CDH1), 전이 수용체 CXCR4 뿐만 아니라 줄기/암 마커 OCT4, SOX2 및 NANOG가 2i, 2i + NME7-AB, NME7-AB 단독에 의해 크게 상향조절되었던 것으로 나타난다. 암 줄기세포 마커를 유도하는 상대적인 능력은 NME7 > NME7 + 2i > 2i(도 48)였다. 전분화능-차단성 염색질 조절인자, 및 전사인자 BRD4, JMJD6, MBD3 및 CHD4의 발현은, 암세포를 2i 또는

NME7-AB로 처리한 경우, 유사하게 하향조절되었다(도 49).

- [0339] 따라서, 인간 또는 박테리아의 NME1 다이머, 또는 NME7이 가진 이들 기능 중 임의의 기능 - 줄기세포 성장을 촉진하는 능력, MUC1* 펩타이드 PSMGFR에 결합하는 능력, 체세포를 덜 성숙한 상태로 복귀시키는 능력, 암세포를 암 줄기세포 상태로 형질전환시키는 능력 -을 불능화시키는 제제는 강력한 항암제이며, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여될 수 있다.
- [0340] NME 저해제가 강력한 항암제라는 생각을 지지하기 위해, 본 발명자들은 실험을 수행하였으며, NME 저해제는 NME7, NME7-AB 뿐만 아니라 다른 NME 단백질에 결합하는 많은 다른 항체들로 확장될 수 있다고 주장한다. 본 발명자들은 인간 NME7에 대해 생성된 토끼 폴리클로날 항체의 존재 또는 부재 하에, MUC1*-양성 암세포를 성장시켰다. 종양 세포의 성장은 농도 의존적인 방식으로 크게 감소되었으며, 이는 도 13 내지 도 15에 도시되어 있다. 폴리클로날 항-NME7은, 토끼에 의해 생성되는 항체의 컬렉션이라는 점에서 이상적인 항암제가 아닐 수 있다. 치료제를 위해서는, 모노클로날 항체가 생성될 것이며, 암세포 성장을 특이적으로 저해하고 NME7의 MUC1* 세포의 영역에의 결합을 방해하는 모노클로날 항체를 이상적으로 선별하는 이들의 능력에 대해 선별될 것이다. 마지막으로, 인간 또는 인간화된 항체가 선별될 것이다.
- [0341] NME 기능 1: NME 단백질이 암을 촉진하도록 작용하는 한가지 방식은, 본원에서 MUC1*로 지칭되며 주로 PSMGFR 서열로 구성되는 클립형 형태의 MUC1 막관통 단백질에의 결합으로 인한 것이다. MUC1* 세포의 영역의 다이머화는 줄기세포 및 암세포의 성장 및 탈분화를 자극한다.
- [0342] NME 기능 2: NME 단백질이 암, 탈분화, 전분화능, 성장 또는 생존을 촉진하도록 작용하는 또 다른 방식은, 이들이 핵으로 수송될 수 있으며, 핵에서, 다른 유전자를 직간접적으로 자극하거나 또는 억제하도록 작용하는 것이다. OCT4 및 SOX2가 MUC1의 프로모터 부위 및 이의 절단 효소 MMP16에 결합한다는 것은 이미 보고된 바 있다 (Boyer et al, 2005). 동일한 연구는, SOX2 및 NANOG가 NME7의 프로모터 부위에 결합한다고 보고하였다. 본 발명자들은, 본 발명자들의 실험을 토대로, 이들 'Yamanaka' 전분화능 인자(Takahashi and Yamanaka, 2006)가 MUC1, 이의 절단 효소 MMP16 및 이의 활성화 리간드 NME7을 상향조절한다고 결론 내린다. BRD4는 NME7을 억제하며, 한편 이의 공동-인자 JMJD6는, 본 발명자들이 결정하기에, 배아발생기에서 NME7보다 후기에 발현되는 자가-조절형 줄기세포 성장 인자인 NME1을 상향조절한다는 것 역시 이미 보고된 바 있다(Thompson et al). 보다 다른 최근에는, Mbd3 또는 Chd4의 siRNA 억제가 iPS 생성에 대한 저항성을 크게 감소시켰다고 보고되었다(Rais Y et al 2013 et al.). 본 발명자들의 증거는 상호 피드백 고리가 존재한다는 것으로서, 여기서, NME7은 BRD4 및 JMJD6를 억제하며, 한편으로는 전분화능의 저해제 Mbd3 및 CHD4 역시 억제한다. 본 발명자들은, 미경험 인간 줄기세포에서, 이들 4개의 인자 BRD4, JMJD6, Mbd3 및 CHD4가 후기 '프라임드' 줄기세포에서의 이들의 발현과 비교해 억제된다는 것에 주목한다. 본 발명자들은 또한, 마우스의 프라임드 줄기세포를 미경험 상태로 복귀시키는 2i 저해제(Gsk3 β 및 MEK의 저해제) 또한, 동일한 4개의 인자 BRD4, JMJD6, Mbd3 및 CHD4를 하향조절하였음을 주목한다.
- [0343] 본 발명자들은 또한, NME7이 SOX2(150배 초과), NANOG(약 10배), OCT4(약 50배), KLF4(4배) 및 MUC1(10배)를 상향조절한다는 것을 발견하였다. 중요하게는, 본 발명자들은, NME7이 CXCR4(약 200배) 및 E-카드헤린(CDH1)을 비롯한 암 줄기세포 마커를 상향조절하는 것을 보여주었다. 이들 복수 개의 증거들을 추합하여 결론을 내리자면, NME7은 가장 원시적인 단계의 줄기세포 성장 및 전분화능 매개인자이며, 체세포를 암성 상태로 형질전환시키고 암세포를 보다 전이성의 암 줄기세포로 형질전환시키는 데 있어서 강력한 인자라는 것이다. 도 50은, 본원에 기술되는 실험에 의해 입증되는 바와 같이, NME7과 줄기/암 상태의 연관 조절인자들 간의 상호작용 지도를 나타낸 카툰이다. 다이머 형태의 NME1은, 약간 더 낮은 정도이기는 하지만, 체세포를 줄기/암-유사 상태로 전환시킬 수 있고 암세포를 전이성의 암 줄기세포로 형질전환시킬 수 있다는 점에서, NME7과 거의 동일하게 작용하였다. 마찬가지로, 인간 NME1 또는 NME7과 높은 상동성을 가진 박테리아 NME 다이머, 예컨대 할로모나스 Sp 593은 NME1 다이머 및 NME7 모노머와 마찬가지로, 인간 줄기세포의 성장, 전분화능 및 생존, 암세포의 성장 및 생존을 전적으로 지지할 수 있었으며, 체세포를 암/줄기세포 상태로 복귀시켰으며, 암세포를 보다 전이성의 암 줄기세포로 형질전환시켰다.
- [0344] 따라서, 본 발명자들은, 인간 줄기세포의 성장, 전분화능 및 생존, 암세포의 성장 및 생존을 지지하며, 체세포를 암/줄기세포 상태로 복귀시킬 수 있고, 암세포를 보다 전이성의 암 줄기세포로 형질전환시킬 수 있는 NME 단백질의 기능을 불능화시키는 제제가 항암 치료법을 위한 이상적인 표적이며, 여기서, 치료제는 NME 단백질을 불능화시키거나, NME 단백질의 MUC1*에의 결합을 차단하거나, 직간접적인 전사인자로서의 NME 단백질의 기능을 차단하거나, 또는 상기 기술된 바와 같은 NME 단백질의 기능을 차단한다고 결론 내린다. 바람직한 구현예에서,

NME 단백질의 기능을 차단하는 제제는 항체이다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 제제는 NME1 다이머의 기능 또는 다이머화를 차단한다. 보다 더 바람직한 구현예에서, 제제는 NME7의 기능을 차단한다. 이들 NME 단백질 중 하나의 기능을 차단하는 항암제는 다른 예로 핵산일 수 있다. 예를 들어, NME의 발현을 저해하는 핵산은 sh- 또는 siRNA, 안티센스 핵산 등이다. 다른 예로, 제제는 NME의 발현을 간접적으로 억제할 수 있다. 예를 들어, BRD4의 발현 증가는 NME7을 억제할 것이며, 따라서, 항암제로서 작용할 것이다. 또 다른 구현예에서, 표적화된 NME 단백질의 기능을 저해하는 제제는 NME 단백질에 직접 작용하거나 또는 이의 발현을 저해하는 합성 화학물질, 예컨대 소분자이다. 이들 제제는 개별적으로 또는 조합한 상태에서, 암의 치료 또는 예방을 위한 강력한 항암제이다.

[0345]

한가지 경우에서, 표적화된 NME 단백질을 저해하는 제제는 항체이며, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 직접 투여된다. 바람직한 구현예에서, 일차 암 또는 이의 자손 암은 MUC1* 양성 암이다. 항체는 그 자체가 항체일 수 있거나, 또는 조작된 항체-유사 분자일 수 있다. 항체 또는 항체-유사 분자는 세포독성 물질(entity) 또는 면역 반응을 활성화시키는 물질과 연결될 수 있다. 예를 들어, 항-NME 항체의 일부는 CAR(키메라 항원 수용체) T 세포 기술에서 기술된 바와 같이 치료 분자의 일부가 되도록 조작될 수 있다(Porter D et al, 2011). 항체는 2가 항체, 1가 항체, 이중-특이적인 인간화된 항체 또는 부분적으로 인간화된 항체일 수 있다. 항체 또는 항체-유사 분자는, Tiller T et al, 2013에 의해 사용된 것들을 비롯하여 시험관 내에서의 결합 분석법, 파지 디스플레이 기술 등을 이용해 생성될 수 있으며, 예를 들어 Ylanthia[®] 시스템뿐만 아니라 다른 시스템들과 같은 무작위화된 인간 항체 에피토프 라이브러리를 사용하여 생성될 수 있다.

[0346]

본 발명의 또 다른 측면에서, 표적화된 NME 단백질을 저해하는 제제는 환자에 의해 생성되는 항체이며, 여기서, 환자는, 환자가 항-NME 항체를 포함하는 면역 반응을 시작하는 방식으로, 표적화된 NME 단백질(들)의 일부를 사용하여 면역화된다. 이러한 면역화는 암의 치료 또는 예방을 위해, 예를 들어 백신으로서 수행된다.

[0347]

또 다른 측면에서, 본 발명은 항암제인 항체를 생성하게 될, MUC1*, 인간 NME1, 박테리아 NME1, 및 NME7 유래의 펩타이드 서열의 확인을 수반한다. 이들 펩타이드 서열은 치료용 항체를 생성하는 데 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 백신, 안티센스 유형 치료법용 핵산 서열, 암-야기 박테리아의 확인 방법, 진단 방법 및 약물 스크리닝 방법에 사용될 수 있다. 본 발명의 일 측면에서, 본원에 기술되는 서열의 펩타이드는, 환자로 하여금 표적화된 NME 단백질에 대한 항체를 생성하도록 유도함으로써 암에 대해 면역화하기 위해, 면역계를 자극하는 다른 펩타이드에 융합된 다음, 숙주 동물 또는 인간에서 항암 항체를 백신으로서 생성하는 데 사용될 수 있거나, 또는 보조제를 사용하여 증대될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 표적화된 NME 단백질은 인간 NME1 또는 NME7 영역 A 또는 B와 30% 이상의 서열 동일성을 가진 박테리아 NME이다. 보다 바람직한 구현예에서, 표적화된 NME 단백질은 인간 NME1이며, 여기서, 항체는, 다이머 형성을 선호하도록 유도하는 돌연변이, 예컨대 S120G 돌연변이, P69S 돌연변이 또는 C-말단 절단(truncation)을 가지는 NME1을 특이적으로 표적화할 수 있다. 보다 더 바람직한 구현예에서, 표적화된 NME 단백질은, 실질적으로 NME7-AB(서열 번호:39)로서 표시되는 절단된 형태를 비롯하여 NME7(서열 번호:13)이다.

[0348]

인간 NME7, 인간 NME1, 또는 다이머화를 선호하는 돌연변이체, 또는 박테리아 NME를 발현하는 유전자 도입 마우스는 약물 발견 시, 생체 내에서 암세포를 성장시키고, 면역화 NME-유래의 펩타이드의 항암 백신의 요소로서의 효과를 테스트하는 데 있어 매우 유용할 것이다. 예를 들어, 뮤린 NME 단백질은 인간 NME 단백질과 상이하다. 마우스 줄기세포는 단일 성장 인자 LIF를 사용하여 성장하며, 한편, LIF는 인간 줄기세포의 성장을 지지할 수 없다. 이제, 본 발명자들은, 암세포 및 줄기세포가 유사한 기전에 의해 성장한다는 것을 알고 있다. 따라서, 인간 암세포를 마우스에게 이식하는 것은, 마우스에서 인간 암세포에 대한 면역 반응 이외의 문제점을 야기하며; 마우스는, 단독으로 암 성장 및 이의 암 줄기세포로의 형질전환을 촉진하는 성장 인자인 다이머 NME1 또는 인간 NME7을 생성하지 않는다.

[0349]

본 발명자들은, 인간 NME7을 주사한 동물이, 주사하지 않은 마우스보다 더 쉽게 암을 발병시킨다는 것을 확인하였다. 예를 들어, 일부 암세포는 동물에 이식하기 매우 까다롭다. 본 발명자들은, 인간 NME7 또는 NME7-AB를 동물에게 주사함으로써 암세포의 이식률을 몇배 증가시켰다. 면역-저하된(Immune-compromised) 마우스에게 Matrigel 또는 NME7-AB와 50/50 vol/vol로 혼합한 T47D 유방암 세포를 이식하였다. 10일 후, NME7이 혼합된 세포를 수여한 마우스에게 NME7-AB를 매일 부가적으로 주사하였다(도 51). NME7-AB를 부가적으로 주사한 그룹(파선)은 가속화된 속도로 성장하여 크기가 더 큰 종양을 가지고 있었다. 이식할 때 그리고 이식 후 24시간 또는 48시간마다 마우스에게 주사할 때, NME7-AB를 암세포와 혼합한 경우, 이식률, 필요한 세포 수의 감소, 및 보다 빠른 종양 성장 속도가 유도되었다. 암세포 : NME7의 비율 범위 또는 NME7의 주사 스케줄은 마우스 계통에

따라, 그리고 종양 유형에 따라 다양할 것으로 예상된다. 이러한 방법을 향상시키는 데 있어서, 인간 NME7 또는 NME7-AB를 유전자 도입하는 동물은 암세포의 이식률을 크게 증가시키며, 따라서, 동물에서 종양으로 발병되는 데 필요한 세포의 수를 감소시킨다. 이로써, 인간 NME7 또는 NME7-AB를 발현하는 동물에서 일차 환자의 암 세포가 성장할 수 있다.

[0350]

일례로, 암세포는 동물에게 이식되며, 동물에게 NME7 또는 NME7-AB가 투여된다. 바람직한 구현예에서, 동물은 인간 NME7-AB를 발현하는 유전자 도입 동물이다. 바람직한 구현예에서, 암세포는 환자로부터의 일차 세포이다. 이러한 방식으로, 마우스일 수 있는 동물은 환자의 암세포를 덜 성숙한, 보다 전이성인 상태로 복귀시키는 NME 성장 인자를 제공한다. 일 구현예에서, 후보 약물 또는 화합물을 이용하는 치료에 대한 환자의 반응을 예측하기 위해, 숙주 동물에게 후보 약물 또는 화합물을 주사하고, 효능을 평가한다. 또 다른 경우에, 환자에게 투여되거나 또는 환자의 치료를 위해 고려되는 제1 라인 치료 또는 약물을, 덜 성숙한 상태로 복귀되고 있는 환자의 암세포를 가진 동물에게 투여한다. 제1 라인 치료는, 암세포가 제1 라인 치료를 회피하기 위해 채택하는 돌연변이에 영향을 미치는 경향이 있다. 그런 다음, 결과적인 암세포를 숙주 동물로부터 제거한 다음, 소정의 치료에 대한 반응으로서 발생하는 경향이 있는 돌연변이를 확인하기 위해 분석 또는 특징화할 수 있다. 다른 예로, 암세포는 숙주 동물에 잔존할 수 있으며, 이후, 숙주 동물에게 다른 치료제를 처리하여, 어떤 제제가 내성 세포 또는 암 줄기세포를 저해하거나 또는 살해하는지 결정한다.

[0351]

본 발명자들의 실험에서, 뮤린 NME 단백질과 인간 NME 단백질 간의 차이는 인간 암세포의 마우스로의 이식이 불충분한 데 대한 주된 이유인 것으로 나타났다. 암세포 이식 시, 마우스에게 재조합 인간 NME7을 주사하면, 종양 이식률 및 종양 성장 속도를 크게 증가시켰다. 따라서, 인간 NME7, 또는 보다 바람직하게는 인간 NME7-AB를 발현하는 유전자 도입 마우스는 종양 이식률을 크게 증가시킬 것이며, 그로 인해, 약물 발견, 투약량 테스트, 또는 환자의 암세포가 약물 치료에 대한 반응에서 진화하거나 또는 돌연변이되는지 알아보기 위한, 마우스 모델에서 환자 세포를 이식할 수 있다. 예를 들어, 동물의 발생 동안 NME7이 발현하는 잠재적인 문제점을 회피하기 위해, 인간 NME7을 유도성 프로모터 상에 가지는 것이 유리할 것이다. 다른 예로, 환자의 세포를 비롯한 암세포는, 동물에서 종양을 개시하기 위해서는 50개 내지 200개 정도의 적은 수의 세포를 필요로 하는 암 줄기세포로 세포가 형질전환되도록, NME7, NME1 다이머, 또는 인간 NME를 모방하는 박테리아 NME에서 배양될 수 있다. 그런 다음, 이들 세포는 시험관 내에서, 또는 NME7, NME1 다이머, 박테리아 NME, 또는 단일 사슬 NME1 슈도 다이머를 가진 유전자 도입 동물을 비롯한 생체 내에서 테스트될 것이다.

[0352]

인간 NME, 특히 NME7-AB를 발현하는 유전자 도입 동물은 또한, 면역화 펩타이드가, NME1, 박테리아 NME 및 NME7을 비롯한 NME 단백질에 대한 항체의 생성에 안전하게 사용될 수 있는지 평가하는 데 유용할 것이다. 예를 들어, 인간 NME1, NME7 또는 NME7-AB가 유전자 도입되는 마우스는 도 62 내지 도 64에 도시된 바와 같은 펩타이드 번호 1 내지 53의 면역화 펩타이드 중 하나 이상을 사용하여 면역화될 수 있었다. 대조군 마우스는 항-NME 항체가 생성되었는지 확인하기 위해 분석하였다. 그런 다음, 인간 종양 세포를 유전자 도입 마우스에게 이식할 것이며, 여기서, 유도성 프로모터를 사용하는 경우, 숙주 동물에서 인간 NME 단백질의 발현이 유도된다. 그런 다음, 면역화 펩타이드의 효능 및 잠재적인 독성은, 대조군 마우스 또는 유도성 NME 프로모터가 개시되지 않은 마우스와 비교해, 유전자 도입 마우스에게 이식된 세포의 종양 이식률, 종양 성장 속도 및 종양 개시 잠재력을 비교함으로써 평가한다. 독성은, 심장, 간 등과 같은 장기를 검사하고, 전체 골수의 수, 순환하는 혈액 세포의 수와 유형, 및 골수 세포에 독성인 제제를 사용하는 치료에 반응하여 골수 세포의 재생까지의 반응 시간을 측정함으로써 평가된다. 용인가능한 부작용을 가지며 종양 이식률, 종양 성장 속도, 또는 종양 개시 잠재력을 상당히 감소시킨, 도 62 내지 도 64에 열거된 바와 같은 펩타이드 번호 1 내지 53 유래의 면역화 펩타이드는, 항암 치료제, 예방제 또는 백신으로서, 환자 외부 또는 인간에서 항체를 생성하기 위한 면역화 펩타이드로서 선별된다.

[0353]

따라서, 자발적으로 종양을 형성하거나, 또는 테스트 약물에 대해 인간처럼 더 반응하거나, 또는 인간 종양 이식을 더 양호하게 허용할 마우스 또는 다른 포유류는, 인간 유전자를 동물에게 도입하는 많은 방법들 중 임의의 한가지 방법을 이용해 제조된다. 이러한 방법은 종종 너-인, 너-아웃, CRISPR, TALEN 등으로 지칭된다. 본 발명은, 포유류로 하여금 인간 NME7 또는 NME7-AB를 발현하게 하는 임의의 방법을 고려한다. NME7 또는 NME7-AB는, 트랜스유전자의 발현을 조절하는 많은 방법들 중 한가지 방법이 당해 기술분야에 알려져 있으므로 유도성일 수 있다. 다른 예로, NME7의 발현 또는 발현 시점은, 포유류에 의해 자연적으로 발현될 수 있는 또 다른 유전자의 발현에 의해 조절될 수 있다. 예를 들어, NME7 또는 NME7 변이체는 심장과 같은 소정의 조직에서 발현되는 것이 바람직할 수 있다. 이후, NME7에 대한 유전자는 MHC와 같이 심장에서 발현되는 단백질의 발현에 작동적으로 연결된다. 이 경우, NME7의 발현은, MHC 유전자 생성물이 발현되는 경우와 발현되는 곳에서

개시된다. 마찬가지로, 누군가는, 인간 NME6 또는 NME7의 발현이, 이의 발현 위치 및 시점이 예를 들어, 전립선 특이적 단백질의 발현에 의해 조절되도록, 전립선에서 개시되는 것을 원할 수 있다. 마찬가지로, 비-인간 포유류에서 인간 NME6 또는 NME7의 발현은 포유류 조직에서 발현되는 유전자에 의해 조절될 수 있다. 예를 들어, 유전자 도입 마우스에서, 인간 NME6 또는 인간 NME7은 프로락틴 프로모터, 또는 유사한 유전자로부터 발현된다.

[0354] **항암제로서의 NME 단백질의 저해제**

[0355] 어떤 NME 단백질을 항암제로서 작용하게 될 저해제에 대한 표적으로 할 것인지는, 암의 유형에 따라 다를 수 있다. 예를 들어, 인간 NME1 또는 NME7-A 또는 NME7-B 영역과 높은 서열 상동성을 가진 박테리아 NME, 또는 인간 NME1 다이머 또는 NME7-AB의 기능을 모방하는 것으로 보여지는 박테리아 NME를 가지고 있는 것으로 보이는 종양은, 박테리아 NME 단백질을 표적으로 하고 이의 다이머화 능력, MUC1*에의 결합 능력, 또는 암 성장을 촉진하거나 또는 암세포를 암 줄기세포로 형질전환시키는 능력을 저해하는 항체 또는 다른 제제로 처리될 것이다. 다른 예로, 일부 암세포에서, 다이머화를 선호하는 NME 단백질은, 이들이 핵사머 형태의 형성에 저항하도록, 비정상적으로 재활성화될 수 있거나 또는 돌연변이화될 수 있다. 보다 다른 암은 NME7 또는 절단된 형태의 NME7-AB의 발현을 비정상적으로 재활성화시킬 수 있다. 따라서, NME1, NME1 다이머를 모방하는 박테리아 NME 및/또는 NME7-AB를 인지하는 치료용 항체는 암의 예방 또는 치료에 유용할 수 있다. 다른 예로, 진단 분석법을 수행하여, 어떤 NME 저해제가 암 또는 암의 서브셋에 효과적인지 결정한다.

[0356] NME7에 결합하여 이의 종양원성 잠재력을 저해하는 항체는 강력한 항암제이며, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여될 수 있다. NME7 또는 NME7-AB의 종양원성 잠재력을 저해하는 항체는, NME7이 이의 동족 결합 파트너, 일례에서 MUC1* 수용체의 PSMGFR 부분에 결합하는 능력을 저해하는 항체이다. 또 다른 경우에서, NME7은 세포에 도입되어, 핵에 전좌하고, 직간접적인 전사인자로서 작용하여, CXCR4, SOX2, MUC1, E-카드헤린, OCT4와 같은 종양발생을 촉진하는 유전자를 개시함으로써 작용할 수 있다. NME7 또는 NME7-AB는 BRD4, JMJD6, MBD3 및 CHD4를 하향조절하며, 이들 모두는 세포의 종양원성 잠재력을 증가시킨다. 따라서, 암의 치료 또는 예방을 위한 항체는, 시험관 내에서 또는 생체 내에서 테스트되는 경우, NME7의 MUC1*에의 결합을 저해하거나 또는 NME7 또는 이의 공동-인자와 CXCR4, SOX2, MUC1, E-카드헤린, OCT4, BRD4, JMJD6, MBD3 또는 CHD4의 핵산 프로모터 부위와의 결합을 저해하는 것들이다. 이들 항체는 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 환자에게 투여될 수 있다. 당해 기술분야에 잘 알려진 바와 같이, 항체 및 항체-유사 분자는 전체 NME1, NME6 또는 NME7 단백질을 사용하여 생성될 수 있다. 다른 예로, 펩타이드 또는 단백질의 일부가 사용될 수 있다. 보다 다른 방법에서, 펩타이드는 담체 분자 또는 보조제와 함께 숙주 동물에게 주사되어, 면역 반응을 유도한다. 항체-생성 세포로부터 생성되는 모노클로날 항체를 비롯한 항체는 표준 방식으로 동물로부터 수집될 수 있으며, 그런 다음 인간화될 수 있다. 본 발명은 또한, 스크리닝 분석법에 있어서, NME1, NME6 또는 NME7 단백질, 또는 이들의 서열이 이들로부터 유래되는 펩타이드의 사용을 고려한다. 이러한 일례에서, 항체 라이브러리는 NME1, NME6 또는 NME7에 결합하는 능력에 대해 스크리닝될 수 있으며, 여기서, 표적화된 NME 단백질에 결합하는 항체는 이후에 암의 예방 또는 치료에 사용된다. 더욱이, 라이브러리는 항체 그 자체로 구성될 필요는 없다. 암 환자 또는 암 발병의 위험이 있는 사람의 치료를 위한 치료용 항체를 확인하기 위해, 항체 에피토프 또는 단편의 라이브러리는 NME 단백질 일부에의 결합 여부에 대해 스크리닝될 수 있다. 도 62 내지 도 64에 열거된 면역원성 펩타이드 중 하나 이상은 숙주 동물에서 항체를 생성하는 데 있어서 이상적이거나, 또는 추후에 환자への 투여를 위해 항체-유사 분자로 조작될 수 있는 항체 에피토프를 확인하고 선별하는 데 있어서 이상적이다. 또 다른 구현예에서, 서열이 NME1, NME6 또는 바람직하게는 NME7으로부터 유래되는 펩타이드는 인간에게 직접 투여되어, 수여자는 암 백신으로서의 항체 생성을 비롯한 면역 반응을 일으킨다. 도 62 내지 도 64에 열거된 펩타이드(서열 번호:88-140) 중 하나 이상은, 숙주 동물에서의 항체 생성, 백신으로서의 용도, Ylanthia[®] 시스템과 같은 합성 펩타이드 또는 항체 에피토프의 라이브러리를 스크리닝하기 위한 미끼(bait)를 위한 것인 간에, 항체 생성 또는 선별에 바람직하며, 여기서, 상기 항체는 NME7의 기능을 저해하거나 또는 이의 분해를 나타냄으로써 암을 저해할 것이다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 NME 패밀리의 단백질의 펩타이드 단편, 및 서열 번호:88-140, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-133, 보다 바람직하게는 서열 번호:88-121로부터 선택되는, NME7에 결합하여 이를 저해하는 항암 항체 또는 항체 에피토프를 생성하거나 또는 선별하기 위한 이들 펩타이드의 사용에 관한 것이다.

[0357] NME7은, 이의 일차적인 역할이 매우 초기의 배아발생기에 있는 것으로 보이고 성체 조직에서는 상당한 수준으로 발현되지 않기 때문에, 암의 치료 또는 예방을 위한 이상적인 치료 표적일 수 있다. 따라서, NME7을 불능화하는 제제는, 건강한 성체 조직에 임의의 부작용이 있더라도 최소한의 부작용을 가지면서도, 암을 예방하거나 또는 크게 저해하는 것으로 예상된다. 본 발명자들의 연구는, 암세포 및 미경험 줄기세포가 NME7을 분비하며, 이

는 유일하게 필요한 성장 인자로서 작용할 수 있다고 나타낸다. 또한, 본 발명자들은, 암 줄기세포 또는 종양 개시 세포로도 명명되는 전이성 암세포인 암세포의 집단은 NME1 다이머, 박테리아 NME 다이머 또는 NME7과 접촉함으로써 우선적으로 증폭된다고 보여주었으며, 여기서, NME7은 가장 많은 수의 암 줄기세포를 생성하였다. 따라서, NME 단백질을 불능화하는 제제는 우수한 항암 치료제이며, 특히 암 줄기세포 또는 종양 개시 세포의 저해 또는 예방에 유용하다. 바람직한 구현예에서, 치료제에 의해 표적화되는 NME 단백질은 인간 또는 박테리아의 NME1이며, 여기서, 치료제는 다이머화를 저해하거나, MUC1*에의 결합을 저해하거나, 또는 전분화능 유전자 또는 암 줄기세포 유전자, 예컨대 CXCR4를 상향조절하는 능력을 저해한다. 보다 바람직한 구현예에서, 치료제에 의해 표적화되는 NME 단백질은 NME7이며, 여기서, 치료제는 NME7의 발현을 저해하거나, NME7의 MUC1*에의 결합을 저해하거나, DM10 영역의 절단을 저해하거나, 또는 전분화능 유전자 또는 암 줄기세포 유전자, 예컨대 CXCR4를 상향조절하는 능력을 저해한다.

[0358] 따라서, 암세포의 성장 및 탈분화를 저해하도록 표적화된 치료제는 NME7 기능을 불능화하는 제제이다. 치료제가 암 치료를 위해 불능화시킬 수 있는 NME7의 기능으로는, 1) MUC1* 세포의 영역에의 결합 능력; 2) DNA에의 결합 능력; 3) 줄기세포 증식을 촉진하는 능력; 4) 분화를 저해하는 능력; 5) 전사인자로서 작용하는 능력; 및 6) 세포에 의해 분비되는 능력을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0359] 상기 열거된 바와 같은 NME7의 기능을 불능화시키는 제제로는, 항체, 화학 물질, 소분자, 마이크로RNA, 안티센스 핵산, 저해성 RNA, RNAi, siRNA를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일례에서, 치료제는 항체이며, 이는 1가 항체, 2가 항체, 이중특이적인 항체, 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체일 수 있거나, 또는 항체의 가변 영역을 모방하는 영역을 포함한다는 점에서 항체-유사물질일 수 있다. 또 다른 예에서, 치료제는 소분자와 같은 화학 물질이다. NME7의 억제제를 유도하는 제제, 예컨대 RNAi 또는 siRNA 또한, 항암 치료제로서 고려된다. 바람직한 구현예에서, 이들 제제는 NME7과 MUC1*의 세포의 영역 간의 상호작용을 차단한다.

[0360] 다른 접근에서, BRD4가 NME7을 억제하기 때문에, BRD4를 상향조절하는 제제가 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여된다.

[0361] **치료용 항체를 생성하기 위한 번역화 NME 펩타이드**

[0362] 현재까지, NME 단백질 및 이들의 기능, 특히 NME7가 같이 새로 확인된 NME 단백질에 대해서는 알려진 바가 거의 없다. 최근까지, NME1은 핵사머인 것으로 여겨졌다. 핵사머 상태로서의 NME1 및 NME2의 결정 구조는 공개되어 있으나(Webb PA et al, 1995; Min K et al, 2002), NME 다이머 또는 NME7가 접힐 수 있는 방식에 대해서는 정보를 거의 제공하지 않는다. 그러나, 공개된 NME1의 핵사머 구조, 및 인간 NME1, 인간 NME7, 및 인간 NME1과 NME7 기능을 모방할 수 있는 박테리아, 구체적으로는 할로모나스 Sp. 593 NME 간의 서열 정렬을 토대로, 본 발명자들은, 본원에서 이전에 기술된 바와 같이 암의 치료 또는 예방을 위한 치료용 항체를 생성하게 될 것으로 예측되는, 인간 NME1, 인간 NME7 및 할로모나스 Sp. 593 유래의 소정의 펩타이드 서열을 확인한다.

[0363] 도 61은 인간 NME1과 인간 NME7-A 또는 NME7-B 영역 간의 서열 정렬이다. 도 27은 인간 NME1과 할로모나스 Sp 593 유래의 박테리아 NME 간의 서열 정렬, 및 인간 NME7-A 또는 NME7-B 영역과 할로모나스 Sp 593('HSP 593') 유래의 박테리아 NME 간의 서열 정렬이다.

[0364] 서열 번호:88-121을 가진 도 62에 열거된 펩타이드 1 내지 34는, 인간 NME1과의 상동성이 낮기 때문에 선별된, 인간 NME7 유래의 펩타이드이다. NME7 펩타이드 35 내지 46(서열 번호:122-133)(도 63)은, 이들이 단백질의 온전성 또는 이들의 MUC1* 펩타이드에의 결합 능력에 구조적으로 중요한 것으로 보이는, NME7의 영역과 관련하여 다소 독특한 서열이기 때문에 선별되었다. 두 세트의 NME7 서열은 NME7에 결합하는 항체를 생성할 것으로 예상되며, 반면, 제2 세트의 NME7 펩타이드는 NME7 또는 이의 MUC1* 펩타이드에의 결합 능력을 불능화시키도록 작용할 수 있다. 이들 펩타이드는, NME7을 인지하거나 또는 인간 NME1 또는 박테리아 NME 역시 인지할 수 있어서, 암의 치료 또는 예방에 사용될 수 있는 항체를 생성할 것으로 예상된다.

[0365] 도 64에 열거된 펩타이드 47 내지 53(서열 번호:134-140)은 인간 NME7 및 박테리아 HSP 593 NME 둘 모두와 높은 서열 상동성을 가지고 있어서 선택된 인간 NME1 서열이며, 따라서 구조 또는 MUC1*에의 결합에 중요한 것으로 추론된다. 이들 펩타이드는, NME1, NME7 또는 박테리아 NME를 인지할 수 있어서, 암의 치료 또는 예방에 사용될 수 있는 항체를 생성할 것으로 예상된다.

[0366] 인간 NME1과의 상동성은 낮지만 인간 NME7-A 또는 NME7-B와의 상동성은 높은 펩타이드 서열은 도 62에 열거되어 있으며, 펩타이드 1 내지 34(서열 번호:88-121)는 인간 NME7에의 결합을 선호하는 항체를 생성해야 하며, 암성 조직에서 이의 활성을 저해하는 것이 바람직한 경우를 제외하고는, 성체 조직에서 임의의 역할이 있다면, 제한

해야 한다.

[0367]

도 63에 열거된 펩타이드 35 내지 46(서열 번호:122-133)은 NME7 유래의 펩타이드 서열이며, 여기서, 이들은, 서열 상동성, 공개된 NME1 헥사머의 결정 구조, 및 C-말단 절단이 다이머화를 선호하며 줄기 및 암 성장에서 MUC1*에의 결합 또는 단백질의 기능을 저해하지 않는다는 지식을 토대로, 구조적 온전성 또는 MUC1*에의 결합에 중요한 것으로 보인다. 도 64에 열거된 펩타이드 47 내지 53(서열 번호:134-140)은 NME1 유래의 펩타이드 서열이며, 여기서, 이들은, 서열 상동성, 공개된 NME1 헥사머의 결정 구조, 및 C-말단 절단이 다이머화를 선호하며 줄기 및 암 성장에서 MUC1*에의 결합 또는 단백질의 기능을 저해하지 않는다는 지식을 토대로, 구조적 온전성 또는 MUC1*에의 결합에 중요한 것으로 보인다. 이들 서열을 포함하는 펩타이드 또는 펩타이드 모방체로부터 생성되는 항체는, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여될 수 있는 항체를 생성할 것이다. 이들 서열을 포함하는 펩타이드 또는 펩타이드 모방체는 숙주에서 항체를 생성할 것이며, 따라서, 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여될 수 있는 항암 백신을 구축할 것이다.

[0368]

진단 분석법

[0369]

본 발명의 보다 다른 측면에서, 환자의 암, 또는 암 발병의 위험이 있는 환자에서 우세한 NME가 NME1, 박테리아 NME, 또는 전장 NME7, 또는 NME7-AB로 절단된 형태인지를 결정할 수 있는 진단 분석법이 기술되어 있다. 진단 분석법은 HC, ICC, FISH, RNA-Seq 및 다른 검출 또는 서열화 기술과 같은 표준 분석법을 수반하나, 표준 암 진단 테스트와는 달리, 분석법은 NME1, NME7 또는 박테리아 NME가 대조군에서 측정되는 것보다 더 많은 양으로 존재하는지 결정하기 위해 수행될 것이다. 환자의 암 또는 암을 앓고 있는 많은 환자들의 서브셋에 의해 발현되는 NME 단백질의 유형에 대한 이러한 결정을 토대로, 구체적으로는 환자 또는 환자군에 존재하는 NME 단백질(들)을 저해하거나 또는 불능화할 항-NME 항체 또는 다른 NME 불능화 제제가 선별되어 환자(들)에게 투여된다. 마찬가지로, 진단 분석법은, 환자의 NME 단백질이 다이머화를 선호하도록 유도하는 돌연변이를 가지는지, 그렇다면, 특정 돌연변이체 NME를 불능화할 수 있는 제제가 암의 치료 또는 예방을 위해 환자에게 투여되는지 결정하기 위해 적용된다.

[0370]

표적화된 NME 단백질, 또는 이의 동족 수용체 MUC1*의 기능을 불능화할 수 있는 항체는, 암세포를 우선적으로 표적으로 하고, 줄기세포 또는 전구세포는 표적으로 하지 않거나 또는 표적화한다고 해도 훨씬 더 낮은 정도로 표적화하는 항체를 확인하기 위해 추가로 스크리닝될 수 있다. MUC1은 다양한 절단 효소들에 의해 MUC1* 형태로 절단되며, 여기서, 어떤 효소가 MUC1을 절단하는지는 조직 유형, 또는 세포 또는 유기체의 개발 시기로 인한 것일 수 있다. 예를 들어, MMP14는 유방암 세포 상에 존재하는 것보다 줄기세포에서 더 높은 수준으로 발현된다(도 52). 역으로, MMP14 및 ADAM17, 및 MUC1 절단 효소는 인간 줄기세포에 존재하는 경우보다 DU145 전립선암 세포 상에서 3배 내지 5배 더 높게 발현되며; T47D 유방암 세포에서, MMP16 및 ADAM17은 줄기세포에서보다 2배 더 높다(도 53 및 도 54). 사실상, DU145 전립선암 세포를 이식한 마우스를 항-MUC1* 항체 MN-E6의 Fab로 처리하는 경우, 중앙 성장은 크게 저해되었으며(도 55), MMP14 및 ADAM17의 발현이 유도되었고(도 56), MUC1 절단은 감소되었으며, 분화 신호를 보내는 마이크로RNA-145의 발현은 증가되었다(도 57a, 도 57b). 따라서, MUC1*은 이의 원위부의 N-말단에서 10개 이상의 아미노산이 다양할 수 있다. MUC1의 C-말단은 세포내에 있으며, 이의 N-말단은 세포외에 있다. 본 발명자들의 실험은, NME1 다이머가 PSMGFR 펩타이드의 N-10 버전에 결합한다는 것을 보여준다. 즉, MUC1* 세포의 영역의 대부분에 상응하는 PSMGFR 펩타이드의 처음 10개의 아미노산을 생략하는 것은, NME1 다이머가 MUC1* 펩타이드에 결합하는 능력에 영향을 미치지 않았다. N-10 펩타이드(서열 번호:86)에 우선적으로 결합하는 항체는, MUC1*이 암세포 상에 존재하기 때문에 이것에 우선적으로 결합한다. 역으로, C-10 펩타이드(서열 번호:87)에 우선적으로 결합하는 항체는, 암세포보다는 줄기세포 및 골수 세포에 우선적으로 결합한다(도 58-60). 따라서, 암의 치료 또는 예방을 위해 MUC1*을 표적으로 하는 항체는 PSMGFR 펩타이드, N-10 펩타이드 또는 C-10 펩타이드를 이용한 면역화에 의해 생성될 수 있다. 다른 예로, 암의 치료 또는 예방을 위한 치료용 항체 또는 항체-유사 분자는, 줄기세포 및 전구세포 상에 나타나는 방식과는 반대로, MUC1*이 암세포 상에 존재하기 때문에 MUC1*에 결합하는 것들을 선별함으로써 확인될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 항체는 N-10 펩타이드에의 결합을 선호한다. 보다 더 바람직한 구현예에서, 치료용 항체는 줄기세포 또는 전구세포가 아닌 암세포에 결합하는 능력에 대해 선별된다. 일례로, 항체는 먼저, ELISA 또는 유사한 직접 결합 분석법에 의해 PSMGFR 펩타이드, N-10 펩타이드 또는 C-10 펩타이드에의 결합 능력에 대해 선별된 다음, 많은 상이한 유형의 MUC1* 양성 암세포에 결합할 수 있는지 확인되었으며, 여기서, 하나의 항체는 유방암 세포보다는 전립선암 세포에 더 잘 결합할 수 있거나 또는 그 반대일 수 있으며, 상이한 조직 유형 상의 상이한 절단 부위라는 가정을 지지한다. 그런 다음, 하이브리도마 상층액을 다중-웰 플레이트 상에 코팅한 다음, 줄기세포를 그 위에 평판배양하였다. 인간 줄기세포는 비-부착성이기 때문에, 줄기세포(또는 전구세포)에

결합된 항체로 코팅된 웰은 줄기세포가 부착되도록 유도하였으며, 한편 줄기세포가 부착되도록 유도하지 않은 항체는 암의 치료 또는 예방을 위한 바람직한 항-MUC1* 항체로서 선별되었다.

[0371] 따라서, 또 다른 측면에서, 본 발명은 암을 분류하거나, 또는 암을 앓고 있거나 또는 암을 앓는 것으로 의심되는 환자를 계층화하는 방법으로서, (i) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 존재 여부에 대해 환자 검체를 분석하는 단계; 및 (ii) 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 유사한 발현 또는 발현 수준을 공유하는 환자를 그룹으로 나누는 단계를 포함한다. 그런 다음, 이 방식에서, 환자는 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물을 저해하는 제제로 치료될 수 있다.

[0372] 또 다른 경우에, 암의 중증도를 평가하기 위해 줄기세포 또는 전구세포의 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 수준이 측정되며, 여기서, 초기의 줄기세포 또는 전구세포의 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 높은 암을 의미하며, 후기 전구세포 상태의 특징인 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 보다 높은 수준의 발현은 공격성이 낮은 암을 의미한다. 그런 다음, 이러한 측정에 의해, 의사는, 공격성이 높은 암 또는 공격성이 낮은 암을 가진 암 환자의 치료에 적합한 치료법을 설계할 수 있다.

[0373] 암을 분류하거나 또는 암을 계층화하는 이들 방법은 혈액 검체, 체액, 또는 생검을 사용하여 달성될 수 있다. 높은 발현 수준이 매우 공격적인 암을 의미하게 될 유전자 또는 유전자 생성물은 NME1, 보다 바람직하게는 NME6, 보다 더 바람직하게는 NME7을 포함할 것이다.

[0374] 본 발명은 본원에 기술되는 특정 구현예에 의해 그 범위가 제한되지 않는다. 사실상, 본 발명 또는 본원에 기술된 내용의 다양한 변형들은 전술한 상세한 설명 및 첨부되는 도면을 통해 당해 기술분야의 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부되는 청구항의 범위에 속하는 것으로 의도된다. 하기의 실시예는 본 발명의 예시를 위해 제공되며, 제한적인 것이 아니다.

[0375] <실시예>

[0376]

[0377] **실시예 1 - 최소 무-혈청 기본("MM")(500mls)의 구성성분**

[0378] 400 ml DME/F12/GlutaMAX I(Invitrogen# 10565-018)

[0379] 100 ml 낙아웃 혈청 대체물(KO-SR, Invitrogen# 10828-028)

[0380] 5 ml 100x MEM 비-필수 아미노산 용액(Invitrogen# 11140-050)

[0381] 0.9 ml(0.1 mM) "β-머캅토포에탄올(55mM 스타크, Invitrogen# 21985-023)

[0382] **실시예 2 - NME1, NME6 및 NME7의 존재 여부를 알아보기 위한 암세포 및 줄기세포의 탐침**

[0383] 이러한 일련의 실험에서, 본 발명자들은 줄기세포 및 암세포에서 NME6 및 NME7의 발현에 대해 탐침하였다. 또한, 본 발명자들은 MUC1*를 NME7의 표적으로서 확인하였다. 본 발명자들은 먼저, NME1, NME6 및 NME7의 존재 또는 부재를 결정하기 위해 세포 파쇄물 상에서 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 도 3a에서, 항-MUC1* 항체로 코팅된 표면 상에서 NME1 다이머에서 배양했던 BGO1v 인간 배아 줄기세포 유래의 파쇄물(레인 1), 또는 MEF 상에서 bFGF에서 배양했던 BGO1v 인간 배아 줄기세포 유래의 파쇄물(레인 2) 또는 T47D 인간 유방암 세포 파쇄물(레인 3), 또는 양성 대조군인 NME1-wt를 SDS-PAGE에 의해 분리한 다음, 항-NME1 특이적인 항체를 사용하여 탐침하였다. 그 결과, NME1 다이머 또는 bFGF에서 배양되었는지 간에 인간 ES 세포, 및 T47D 암세포에서 강하게 발현되는 것으로 나타난다. 동일한 세포 파쇄물을 SDS-PAGE에 의해 분리한 다음, 항-NME6 특이적인 항체(Abnova사의 항-NME6)를 사용하여 탐침하였으나(데이터는 도시되지 않음), 이것은 이후에 보다 농축된 검체에서 검출되었다(도 4 참조).

[0384] 도 3b에서, 동일한 세포 파쇄물을 SDS-PAGE에 의해 분리한 다음, 항-NME7 특이적인 항체(Santa Cruz Biotechnology, Inc사의 nm23-H7 B9)를 사용하여 탐침하였다. 그 결과, NME7은 항-MUC1* 항체 표면 상에서 NME1 다이머에서 배양된 인간 ES 세포에서는 강하게 발현되며(레인 1), MEF 상에서 bFGF에서 배양된 동일한 ES 세포에서는 약하게 발현되고(레인 2), 유방암 세포에서는 강하게 발현된다(레인 3). NME1이 첨가된 레인 4는 블랭크로서, NME7 항체가 NME1과 교차작용하지 않는다는 것을 의미한다. NME7이 NME1 다이머에서 배양된 줄기세포에서 더 크게 발현된다는 사실은, NME7이 프라임드 세포에서의 발현과 비교해 미경험 세포에서 더 높은 수준으로 발현된다는 것을 의미하며, 본 발명자들이 보여준 줄기세포는 bFGF에서 배양된 세포보다 더 미경험 상태에 있음을 가리키는 마커를 발현한다.

[0385] NME7이 이의 표적 수용체인 MUC1*와 함께 성장 인자로서 작용하는지 알아보기 위해, 본 발명자들은 풀-다운 분석법을 수행하였다. 이들 실험에서, 합성 MUC1* 세포외 영역 펩타이드(His-태깅된 PSMGFR 서열)을 NTA-Ni 자기 비드 상에 고정하였다. 이들 비드를, 항-MUC1* 항체로 코팅된 표면 상에서 NME1 다이머에서 배양한 BG01v 인간 배아 줄기세포의 세포 파쇄물(레인 1), 또는 MEF 상에서 bFGF에서 배양한 BG01v 인간 배아 줄기세포 유래의 파쇄물(레인 2) 또는 T47D 인간 유방암 세포 파쇄물(레인 3)과 함께 인큐베이션하였다. 비드를 세정하고, 포착된 단백질은 이미다졸을 첨가하여 방출시켰다. 단백질을 SDS-PAGE에 의해 분리한 다음, 항-NME1 항체(도 3c), 항-NME6 항체(데이터는 도시되지 않음) 또는 NME7 항체(도 3d)를 사용하여 탐침하였다. 그 결과, NME7가 MUC1* 세포외 영역 펩타이드에 결합하는 것으로 나타난다. 이는, 줄기세포 및 암세포에서, NME7은 이의 2개의 NDPK 영역의 일부를 통해, MUC1* 세포외 영역을 다이머화함으로써 전분화능 경로를 활성화한다는 것을 의미한다.

[0386] **실시예 3 - 단백질 구축물의 생성**

[0387] 재조합 NME7의 생성 - 먼저, 효율적으로 발현될 수 있으며 용해성 형태인 재조합 NME7을 제조하기 위해 구축물을 제조하였다. 첫번째 방법은, 본래의 NME7(-1), 또는 N-말단 결실을 가진 대안적인 스플라이스 변이체 NME7(-2)를 코딩하게 될 구축물을 제조하는 것이었다. 일부 경우, 구축물은 히스티딘 태그 또는 스트렙(strep) 태그를 가지고 있어서, 정제에 일조하였다. NME7-1은 *E. coli*에서 불량하게 발현되었으며, NME7-2는 *E. coli*에서 전혀 발현되지 않았다. 그러나, 표적화 서열이 결실되었으며, NME7이 본질적으로 31 kDa의 계산된 분자량을 가진 NDPK A 및 B 영역으로 구성된 신규 구축물을 제조하였다. 이 신규 NME7-AB는 *E. coli*에서 매우 양호하게 발현되었으며, 용해성 단백질로서 존재하였다. 단일 NDPK 영역이 발현된 구축물은 *E. coli*에서 발현되지 않았다. NME7-AB는 먼저, NTA-Ni 컬럼 상에서 정제하였으며, 그런 다음, Sephadex 200 컬럼 상에서의 크기 배제 크로마토그래피(FPLC)에 의해 추가로 정제하였다. 그런 다음, 정제된 NME7-AB 단백질을 줄기세포의 전분화능을 촉진하고 분화를 저해하는 능력에 대해 테스트하였다.

[0388] **실시예 4 - 인간 재조합 NME7-AB의 기능적 테스트**

[0389] 전분화능을 유지하고 분화를 저해하는 능력에 대해 재조합 NME7을 테스트한다. NME7의 용해성 변이체인 NME7-AB을 생성한 다음, 정제하였다. 인간 줄기세포(iPS cat# SC101a-1, System Biosciences)를 제조업체의 지시사항에 따라 마우스 섬유아세포 피더 세포 층 상에서 4 ng/ml bFGF에서 4회 계대배양하는 동안 성장시켰다. 그런 다음, 이들 소스 줄기세포를, 모노클로날 항-MUC1* 항체인 MN-C3으로 12.5 ug/well로 코팅했던 6-웰 세포 배양 플레이트(Vita™, Thermo Fisher) 상에 평판배양하였다. 세포는 웰 당 300,000개 세포의 밀도로 평판배양하였다. 기본 배지는, 400 ml DME/F12/GlutaMAX I(Invitrogen# 10565-018), 100 ml 녀아웃 혈청 대체물(KO-SR, Invitrogen# 10828-028), 5 ml 100x MEM 비-필수 아미노산 용액(Invitrogen# 11140-050) 및 0.9 ml(0.1mM) β-머캅토에탄올(55 mM 스탁, Invitrogen# 21985-023)로 구성된 최소 줄기세포 배지였다. 기본 배지는 임의의 배지일 수 있다. 바람직한 구현예에서, 기본 배지는 다른 성장 인자 및 사이토카인을 포함하지 않는다. 기본 배지에, 안정한 다이머로서 다시 접혀지고 정제된 8 nM NME7-AB 또는 8 nM NM23-H1을 첨가하였다. 배지는 48시간마다 교환하였으며, 가속화된 성장으로 인해 평판배양 후 3일째에 수집하고 계대배양하여야 했다. 도 9 및 도 10은, NM23-H1 다이머에서의 성장을 NME7 모노머에서의 성장과 매일 비교한 것을 도시한 것이다. NME7 및 NM23-H1(NME1) 다이머 둘 모두 만능적으로 성장하였으며, 포화도가 100%에 도달할 때에도 분화를 나타내지 않았다. 사진에서 확인할 수 있듯이, NME7 세포는 NM23-H1 다이머에서 성장한 세포보다 더 빠르게 성장하였다. 처음에 수집한 세포의 계수는, NME7에서의 배양이 NM23-H1 다이머에서의 배양보다 세포를 1.4배 더 많이 생성하였음을 입증하였다. 전형적인 만능 마커에 대한 ICC 염색에서, NME7-AB가 인간 줄기세포 성장 및 전분화능을 전적으로 지지하였으며, 분화를 저지하였음이 확인되었다(도 11).

[0390] **실시예 5 - NME6 및 NME7의 변이체의 생성**

[0391] 하기의 신규 NME6 및 NME7 변이체를 설계하고 생성하였다:

[0392] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NM23-H7-2 서열:

[0393] (DNA)

[0394] ??번호:20)

[0395] (아미노산)

[0396] MHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDATSKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHV
DHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPDPSAASAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCT

CCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLR
AIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:21)

[0397] 인간 NME7-A:

[0398] (DNA)

[0399] atggaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa
atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagagacccttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctatt
attgccatggagattttaagagatgatgctatattgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcataaagaaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcggccagagaaatggagttgttttttga(서열 번
호:22)

[0400] (아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRP
FFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAH
GPDSFASAAREMELFF-(서열 번호 :23)

[0401]

[0402] 인간 NME7-A1:

[0403] (DNA)

[0404] atggaaaaacgctagccctaattaaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa
atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagagacccttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctatt
attgccatggagattttaagagatgatgctatattgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcataaagaaatgcagcgcatggccctgattcttttgcttctgcggccagagaaatggagttgttttttcttcaagtga
ggttgtggccggcaaacactgctaaatttacttga(서열 번호:24)

[0405] (아미노산)

[0406] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASES
IRALFGTDGIRNAAHGPDSFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:25)

[0407] 인간 NME7-A2:

[0408] (DNA)

[0409] atgaatcatagtgaaagattcggttttcattgcagagtggtatgatccaaatgcttcacttcttcgacgttatgagcttttattttaccaggggatggatct
gttgaaatgcatgatgtaagaatcatcgacacctttttaagcggaccaaataatgataacctgcacttggaagattttattataggcaacaaagtgaatgtc
ttttctcgacaactggatttaattgactatggggatcaatatacagctcgccagctgggcagtaggaaagaaaaaacctagccctaattaaaccagatgca
atatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaatgatgatgctttcaaggaaagaagcattggatttt
catgtagatcaccagtcagagacccttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctattattgccatggagattttaagagatgatgctatattg
gaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcatttagagccctctttggaacagatggcataaagaaatgca
gcgcatggccctgattcttttgcttctgcggccagagaaatggagttgttttttga(서열 번호:26)

[0410] (아미노산)

[0411] MNHSERFVFI AEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAREMELFF-(서열 번호:27)

[0412] 인간 NME7-A3:

[0413] (DNA)

[0414] atgaatcatagtgaaagattcggttttcattgcagagtggtatgatccaaatgcttcacttcttcgacgttatgagcttttattttaccaggggatggatct
gttgaaatgcatgatgtaagaatcatcgacacctttttaagcggaccaaataatgataacctgcacttggaagattttattataggcaacaaagtgaatgtc
ttttctcgacaactggatttaattgactatggggatcaatatacagctcgccagctgggcagtaggaaagaaaaaacctagccctaattaaaccagatgca
atatcaaaggctggagaaataattgaaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaatgatgatgctttcaaggaaagaagcattggatttt
catgtagatcaccagtcagagacccttttcaatgagctgatccagtttattacaactggtcctattattgccatggagattttaagagatgatgctatattg

gaatggaaaagactgctgggacctgcaaactctggagtgccacgcacagatgcttctgaaagcattagagccctcttggaacagatggcataaagaaatgca
gcgcattggccctgattcttttgcctctgcggccagagaaatggagttgttttctctcaagtggaggttgtgggccggcaaacactgctaatttacttga
(서열 번호:28)

[0415] (아미노산)

[0416] MNHSERFVFIAEWYDPNASLLRRYELLFYPGDGSVEMHDKVNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVSRLVLDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNASGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:29)

[0417] 인간 NME7-B:

[0418] (DNA)

[0419] atgaattgtacctgttgcatgtttaaccccatgctgtcagtgaaggactgtgggaaagatcctgatggctatccgagatgcaggttttgaatctcagct
atgcagatgttcaatatggatcggttaattgttgaggaattctatgaagtttataaaggagtgtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattct
ggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgctgatcctgaaattgcccgcatctacgccct
ggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggatggcctattagaggttcaatacttcttctga
(서열 번호:30)

[0420] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:31)

[0421]

[0422] 인간 NME7-B1:

[0423] (DNA)

[0424] atgaattgtacctgttgcatgtttaaccccatgctgtcagtgaaggactgtgggaaagatcctgatggctatccgagatgcaggttttgaatctcagct
atgcagatgttcaatatggatcggttaattgttgaggaattctatgaagtttataaaggagtgtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattct
ggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgctgatcctgaaattgcccgcatctacgccct
ggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggatggcctattagaggttcaatacttcttcaag
atcttggataatttagtga(서열 번호:32)

[0425] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN—(서열 번호:33)

[0426]

[0427] 인간 NME7-B2:

[0428] (DNA)

[0429] atgccttcaagtggaggttgtgggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgttgcatgtttaaccccatgctgtcagtgaaggactgtggga
aagatcctgatggctatccgagatgcaggttttgaatctcagctatgcagatgttcaatatggatcggttaattgttgaggaattctatgaagtttataa
ggagtgtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaa
ttttgtggacctgctgatcctgaaattgcccgcatctacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtact
gatctgccagaggatggcctatttagaggttcaatacttcttctga(서열 번호:34)

[0430] (아미노산)

[0431] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:35)

[0432] 인간 NME7-B3:

[0433] (DNA)

- [0434] atgccttcaagtgagggttgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgtgcattgttaaaccatgctgtcagtgaaggactgttggga
aagatcctgatggctatccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaa
ggagtagtgaccgaatatcatgacatggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaa
ttttgtggacctgctgatcctgaaattgcccggcatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtact
gatctgccagaggatggcctattagagggttcaatacttcttcaagatcttgataattagtga(서열 번호:36)
- [0435] (아미노산)
- [0436] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN--(서열 번호:37)
- [0437] 인간 NME7-AB:
- [0438] (DNA)
- [0439] atgaaaaaacgctagccctaataaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa
atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagacccttttcaatgagctgatccagtttatataactggctcctatt
attgccatggagattttaagagatgatgctatatgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcatagaaatgcagcgcattggccctgattcttttgcctctgcggccagagaaatggagtgtttttccttcaagtgga
gggtgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgttgcattgttaaaccatgctgtcagtgaaggactgttgggaaagatcctgatggct
atccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaaggagtagtgaccgaa
tatcatgacatggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgct
gatcctgaaattgcccggcatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggat
ggcctattagagggttcaatacttcttcaagatcttgataattagtga(서열 번호:38)
- [0440] (아미노산)
- [0441] MEKTLALIKPDAISKAGEIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGP IAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASEI
RALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTE
YHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN--(서열 번호:39)
- [0442] 인간 NME7-AB1:
- [0443] (DNA)
- [0444] atgaaaaaacgctagccctaataaaccagatgcaatatcaaaggctggagaaataattgaataataaacaagctggatttactataaccaaaactcaaa
atgatgatgctttcaaggaaagaagcattggattttcatgtagatcaccagtcagacccttttcaatgagctgatccagtttatataactggctcctatt
attgccatggagattttaagagatgatgctatatgtgaatggaaaagactgctgggacctgcaaaactctggagtggcacgcacagatgcttctgaaagcatt
agagccctctttggaacagatggcatagaaatgcagcgcattggccctgattcttttgcctctgcggccagagaaatggagtgtttttccttcaagtgga
gggtgtggccggcaaacactgctaatttactaatgtacctgttgcattgttaaaccatgctgtcagtgaaggactgttgggaaagatcctgatggct
atccgagatgcagggtttgaaatctcagctatgcagatgttcaataggatcggttaatgttgaggaaattctatgaagttataaaggagtagtgaccgaa
tatcatgacatggtgacagaaatgtattctggcccttgtgtagcaatggagattcaacagaataatgctacaaagacatttcgagaattttgtggacctgct
gatcctgaaattgcccggcatttacgccctggaactctcagagcaatctttggtaaaactaagatccagaatgctgttactgtactgatctgccagaggat
ggcctattagagggttcaatacttcttctga(서열 번호:40)
- [0445] (아미노산)
- [0446] MEKTLALIKPDAISKAGEIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGP IAMEILRDDAICEWKRLGPANSGVARTDASEI
RALFGTDGIRNAAHGPD SFASAAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTE
YHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF--(서열 번호:41)
- [0447] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-A 서열:
- [0448] (DNA)
- [0449] atgaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgatccaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaattctgcgtgatgacgctatctgcgaatggaaacgcctgctgggcccggcaaaactcaggtgttgcgcgtaccgatgccagtgatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgcagcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgtttttctga(서열 번호:42)

호:42)

[0450] (아미노산)

MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRP
FFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAH
GPDSFASAAREMELFF- (서열 번호:43)

[0451]

[0452] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-A1 서열:

[0453] (DNA)

[0454] atggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaaattctgctgatgacgctatctgcgaatggaaacgctgctgggccggcgaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgcagcacatggccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccagactctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaatttacctga(서열 번호:44)

[0455] (아미노산)

[0456] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNAAHGPDSFASAAREMELFFSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:45)

[0457] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-A2 서열:

[0458] (DNA)

[0459] atgaatcactccgaacgctttgttttatcgccgaatggatgaccgaatgcttccctgctgcgcgctacgaactgctgtttatccgggcgatggtagc
gtggaaatgcatgacgttaaaaatcaccgtacctttctgaaacgcacgaaatgatataatctgcatctggaagacctgtttatggcaacaaagtcaatgtg
ttctctcgtcagctggctgatcgattatggcgaccagtacaccgcgcgtcaactgggtagtcgcaagaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgca
atctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaaatgatgatgctgagccgtaaagaagccctggatttt
catgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgattatcgcaatggaaattctgctgatgacgctatctgc
gaatggaaacgctgctgggccggcgaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccattcgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgca
gcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgtttttctga(서열 번호:46)

[0460] (아미노산)

[0461] MNHSERFVFAEWYDPNASLLRRYELLYPGDGSVMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAREMELFF-(서열 번호:47)

[0462] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-A3 서열:

[0463] (DNA)

[0464] atgaatcactccgaacgctttgttttatcgccgaatggatgaccgaatgcttccctgctgcgcgctacgaactgctgtttatccgggcgatggtagc
gtggaaatgcatgacgttaaaaatcaccgtacctttctgaaacgcacgaaatgatataatctgcatctggaagacctgtttatggcaacaaagtcaatgtg
ttctctcgtcagctggctgatcgattatggcgaccagtacaccgcgcgtcaactgggtagtcgcaagaaaaaacgctggccctgattaaaccggatgca
atctccaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaaatgatgatgctgagccgtaaagaagccctggatttt
catgtcgaccaccagctctcgccgtttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgattatcgcaatggaaattctgctgatgacgctatctgc
gaatggaaacgctgctgggccggcgaactcaggtgtgctgctaccgatgccagtgaatccattcgcgctctgtttggcaccgatggatccgtaatgca
gcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccagactctggcgggtgctgggtccggcaaacaccgccaatttacctga
(서열 번호:48)

[0465] (아미노산)

[0466] MNHSERFVFAEWYDPNASLLRRYELLYPGDGSVMHDVKNHRTFLKRTKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEKTLALIKPDA
ISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASESIRALFGTDGIRNA
AHGPDSFASAAREMELFFSSGGCGPANTAKFT-(서열 번호:49)

[0467] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-B 서열:

[0468] (DNA)

[0469] atgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgcc
atgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactcc
ggccgctgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggcagatccggaatcgcacgtcatctgcgtccg
ggtaccctgcgcgaatttttggtaaaacgaaaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagacgggtctgctggaagtcaatacttttctga
(서열 번호:50)

[0470] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF- (서열 번호 :51)

[0471]

[0472] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-B1 서열:

[0473] (DNA)

[0474] atgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgcc
atgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactcc
ggccgctgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggcagatccggaatcgcacgtcatctgcgtccg
ggtaccctgcgcgaatttttggtaaaacgaaaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagacgggtctgctggaagtcaatacttttcaaa
attctggataattga(서열 번호:52)

[0475] (아미노산)

MNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEV
YKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFG
KTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN- (서열 번호 :53)

[0476]

[0477] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-B2 서열:

[0478] (DNA)

[0479] atgccgagctctggcggttgcgggtccggcaaacaccgccaatttaccgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggt
aaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttcaaaa
ggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaa
ttctgtggtccggcagatccggaatcgcacgtcatctgcgtccgggtaccctgcgcgaatttttggtaaaacgaaaaatccagaacgctgtgcactgtacc
gatctgccggaagacgggtctgctggaagttcaatacttttctga(서열 번호:54)

[0480] (아미노산)

[0481] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE
FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:55)

[0482] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-B3 서열:

[0483] (DNA)

[0484] atgccgagctctggcggttgcgggtccggcaaacaccgccaatttaccgaattgtacgtgctgtattgtcaaaccgcacgcagtgtcagaaggcctgctgggt
aaaattctgatggcaatccgtgatgctggctttgaaatctcgccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttcaaaa
ggcgtggttaccgaatatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaa
ttctgtggtccggcagatccggaatcgcacgtcatctgcgtccgggtaccctgcgcgaatttttggtaaaacgaaaaatccagaacgctgtgcactgtacc
gatctgccggaagacgggtctgctggaagttcaatacttttcaaaattctggataattga(서열 번호:56)

[0485] (아미노산)

[0486] MPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFRE

FCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:57)

[0487] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-AB 서열:

[0488] (DNA)

[0489] atggaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgcccggttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaaattctgctgatgacgctatctgcgaatggaacgcctgctgggcccggcaaaactcaggtgttgcgcgtaccgatgccagtgatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggtatccgtaatgcagcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccagctctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaatttaccaatgtacgtgctgtattgtcaaacgcacgcagtggtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggca
atccgtgatgctggctttgaaatctcgcccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaa
tatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggca
gatccggaatcgcacgtcatctgcgtccgggtaccctgcgcgcaatttttggtaaaacgaaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagac
ggtctgctggaagtcaatactttttcaaaattctggataattga(서열 번호:58)

[0490] (아미노산)

[0491] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPPIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASEIRALFGTDGIRNAAHGPDFSASAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN-(서열 번호:59)

[0492] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-AB1 서열:

[0493] (DNA)

[0494] Atggaaaaacgctggccctgattaaaccggatgcaatctccaaagctggcgaaattatcgaaattatcaacaaagcgggtttcaccatcacgaaactgaaa
atgatgatgctgagccgtaaagaagccctggattttcatgtcgaccaccagctctcgcccggttttcaatgaactgattcaattcatcaccacgggtccgatt
atcgcaatggaaattctgctgatgacgctatctgcgaatggaacgcctgctgggcccggcaaaactcaggtgttgcgcgtaccgatgccagtgatccatt
cgcgctctgtttggcaccgatggtatccgtaatgcagcacatggtccggactcattcgcatcggcagctcgtgaaatggaactgttttcccagctctggc
ggttgcggtccggcaaacaccgccaatttaccaatgtacgtgctgtattgtcaaacgcacgcagtggtcagaaggcctgctgggtaaaattctgatggca
atccgtgatgctggctttgaaatctcgcccatgcagatgttcaacatggaccgcgttaacgtcgaagaattctacgaagtttacaaggcgtggttaccgaa
tatcacgatatggttacggaaatgtactccggtccgtgcgtcgcatggaaattcagcaaaacaatgccacaaaacgtttcgtgaattctgtggtccggca
gatccggaatcgcacgtcatctgcgtccgggtaccctgcgcgcaatttttggtaaaacgaaaatccagaacgctgtgcactgtaccgatctgccggaagac
ggtctgctggaagtcaatactttttctga(서열 번호:60)

[0495] (아미노산)

[0496] MEKTLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPPIAMEILRDDAICEWKRLGPNANSGVARTDASEIRALFGTDGIRNAAHGPDFSASAREMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMYSGPCVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFF-(서열 번호:61)

[0497] 마우스 NME6

[0498] (DNA)

[0499] Atgacctccatcttgcgaagtcaccaagctcttcagctcacactagccctgatcaagcctgatgcagttgccccccactgatcctggaggctgttcatcag
cagattctgagcaacaagttcctcattgtacgaacgaggggaactgcagtggaagctggaggactgccggagggttttaccgagagcatgaaggcggtttttc
tatcagcggctggaggagtcatgacaagtgggccaatccgagcctatatccttgcccacaaagatgccatccaactttggaggacactgatgggaccacc
agagtatttcgagcacgctatatagccccagattcaattcgtggaagtttgggcctcactgacacccgaaatactaccttggtcagactccgtggtttcc
gccagcagagagattgcagccttcttccctgacttcagtgaacagcgctggtatgaggaggagggaacccagctgcggtgtggtcctgtgcactacagcca
gagggaaggtatccactgtgcagctgaacacgagggccacaaacctaacaaaacctag(서열 번호:62)

[0500] (아미노산)

[0501] MTSILRSPQALQLTLALIKPDAVHPLILEAVHQQLILSNKFLIVRTRELQWKLEDCCRFFYREHEGRFFYQRLVEFMTSGPIRAYILAHKDAIQLWRTL MGPTRVFRARYIAPDSIRGLSLTDTRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVHYSPEEGIHCAAETGGHKQPNKT-(서열 번호:63)

[0502] 인간 NME6:

- [0503] (DNA)
- [0504] Atgaccagaatctggggagtgagatggcctcaatcttgcgaagccctcaggctctccagctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccatcca
ctgatctctggaggctgttcatcagcagattctaaacaagaattcctgattgtacgaatgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagaggttttac
cgagagcatgaagggcggtttttctatcagaggctggtggagttcatggccagcgggccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctc
tggaggacgctcatgggacccaccagagtgttccgagcacgccatgtggcccagattctatccgtgggagtttcggcctcactgacacccgcaacaccacc
catggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgacttcagtgaacagcgctggtatgaggaggaagagccccagttgcgc
tgtggccctgtgtgctatagcccagagggaggtgtccactatgtagctggaacaggaggcctaggaccagcctga(서열 번호:64)
- [0505] (아미노산)
- [0506] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQL
WRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번
호:65)
- [0507] 인간 NME6 1:
- [0508] (DNA)
- [0509] Atgaccagaatctggggagtgagatggcctcaatcttgcgaagccctcaggctctccagctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccatcca
ctgatctctggaggctgttcatcagcagattctaaacaagaattcctgattgtacgaatgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagaggttttac
cgagagcatgaagggcggtttttctatcagaggctggtggagttcatggccagcgggccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctc
tggaggacgctcatgggacccaccagagtgttccgagcacgccatgtggcccagattctatccgtgggagtttcggcctcactgacacccgcaacaccacc
catggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgacttcagtgaacagcgctggtatgaggaggaagagccccagttgcgc
tgtggccctgtgtga(서열 번호:66)
- [0510] (아미노산)
- [0511] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQL
WRTLMGPTRVFRARHVAPDSIRGSFGLTDRNTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEEPQLRCGPV-(서열 번호:67)
- [0512] 인간 NME6 2:
- [0513] (DNA)
- [0514] Atgctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccatccactgattctggaggctgttcatcagcagattctaaacaagaattcctgattgtacga
atgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagaggtttaccgagagcatgaagggcggtttttctatcagaggctggtggagttcatggccagcggg
ccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggacccaccagagtgttccgagcacgccatgtggccccagat
tctatccgtgggagtttcggcctcactgacacccgcaacaccacccatggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgac
ttcagtgaacagcgctggtatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggccctgtgtga(서열 번호:68)
- [0515] (아미노산)
- [0516] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPD
SIRGSFGLTDRNTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEEPQLRCGPV-(서열 번호:69)
- [0517] 인간 NME6 3:
- [0518] (DNA)
- [0519] Atgctcactctagccctgatcaagcctgacgcagtcgccccatccactgattctggaggctgttcatcagcagattctaaacaagaattcctgattgtacga
atgagagaactactgtggagaaaggaagattgccagaggtttaccgagagcatgaagggcggtttttctatcagaggctggtggagttcatggccagcggg
ccaatccgagcctacatccttgcccacaaggatgccatccagctctggaggacgctcatgggacccaccagagtgttccgagcacgccatgtggccccagat
tctatccgtgggagtttcggcctcactgacacccgcaacaccacccatggttcggactctgtggtttcagccagcagagagattgcagccttcttcctgac
ttcagtgaacagcgctggtatgaggaggaagagccccagttgcgctgtggccctgtgtgctatagcccagaggaggtgtccactatgtagctggaacagga
ggcctaggaccagcctga(서열 번호:70)
- [0520] (아미노산)
- [0521] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVAPD
SIRGSFGLTDRNTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:71)

- [0522] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME6 서열:
- [0523] (DNA)
- [0524] Atgacgcaaaatctgggctcggaaatggcaagtatcctgcgctccccgcaagcactgcaactgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgcctcatccgctgatcttgggaagcgggtccaccagcaaattctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttatcgcgaaacatgaaggccgtttcttttatcaacgcctgggtgaattcatggcctctgggtccgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtagcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggcttgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcgctcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctgttatctccggaaggtgggtgtccattatgtggcgggcacgggtgggtctgggtccggcatga(서열 번호:72)
- [0525] (아미노산)
- [0526] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:73)
- [0527] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME6 1 서열:
- [0528] (DNA)
- [0529] Atgacgcaaaatctgggctcggaaatggcaagtatcctgcgctccccgcaagcactgcaactgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgcctcatccgctgatcttgggaagcgggtccaccagcaaattctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttatcgcgaaacatgaaggccgtttcttttatcaacgcctgggtgaattcatggcctctgggtccgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtagcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggcttgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcgctcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctga(서열 번호:74)
- [0530] (아미노산)
- [0531] MTQNLGSEMASILRSPQALQLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:75)
- [0532] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME6 2 서열:
- [0533] (DNA)
- [0534] Atgctgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgcctcatccgctgattctggaagcgggtccaccagcaaattctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttatcgcgaaacatgaaggccgtttcttttatcaacgcctgggtgaattcatggcctctgggtccgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtagcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggcttgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcgctcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctga(서열 번호:76)
- [0535] (아미노산)
- [0536] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:77)
- [0537] *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME6 3 서열:
- [0538] (DNA)
- [0539] Atgctgaccctggctctgatcaaaccggacgctgttgcctcatccgctgattctggaagcgggtccaccagcaaattctgagcaacaaatttctgatcgtgcgtatgcgcgaactgctgtggcgtaaagaagattgccagcggttttatcgcgaaacatgaaggccgtttcttttatcaacgcctgggtgaattcatggcctctgggtccgattcgcgcatatatcctggctcacaagatgcgattcagctgtggcgtaccctgatgggtccgacgcgcgtcttctgtagcacgtcatgtggcaccggactcaatccgtggctcgttcggcttgaccgatacgcgcaataccacgcacggtagcgactctgttgttagtgcgctcccgtagaatcgcgcccttttcccggacttctccgaacagcgttggtacgaagaagaagaaccgcaactgcgctgtggcccggtctgttatctccggaaggtgggtgtccattatgtggcgggcacgggtgggtctgggtccggcatga(서열 번호:78)
- [0540] (아미노산)
- [0541] MLTLALIKPDAVAHPLILEAVHQQILSNKFLIVRMRELLWRKEDCQRFYREHEGRFFYQRLVEFMASGPIRAYILAHKDAIQLWRTLMGPTRVFRARHVPDSIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPV-(서열 번호:79)

SIRGSFGLTDRNTTHGSDSVVSASREIAAFFPDFSEQRWYEEEPQLRCGPVCYSPEGGVHYVAGTGGLGPA-(서열 번호:79)

[0542] NME6 및 NME7 뿐만 아니라 신규 변이체는 임의의 친화성으로 발현될 수 있으나, 하기의 태그와 함께 발현되지는 않았다:

[0543] 히스티딘 태그

[0544] (ctcgag)caccaccaccaccactga(서열 번호:84)

[0545] 스트랩트 II 태그

[0546] (accggt)tggagccatcctcagttcgaaaagtaatga(서열 번호:85)

[0547] **실시예 6 - *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-1 서열**

[0548] NME7 wt-cDNA, *E. coli*에서의 발현에 최적화된 코돈은, Genscript사(NJ)가 본 발명자들의 요청에 따라 생성하였다. NME7-1은, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0549] 정방향 5'- atcgatcatatgaatcactccgaacgc -3'(서열 번호:141)

[0550] 역방향 5'- agagcctcgagattatccagaattttgaaaaagtattg -3'(서열 번호:142)

[0551] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, XhoI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 XhoI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였다.

[0552] **실시예 7 - *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-2 서열**

[0553] NME7-2는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0554] 정방향 5'- atcgatcatatgcatgacgttaaaaatcac-3'(서열 번호:143)

[0555] 역방향 5'- agagcctcgagattatccagaattttgaaaaagtattg -3'(서열 번호:144)

[0556] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, XhoI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 XhoI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였다.

[0557] **실시예 8 - *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-A 서열**

[0558] NME7-A는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0559] 정방향 5'-atcgacatatggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatg-3'(서열 번호:145)

[0560] 역방향 5'-actgcctcgagaaaaacagttccatttcacgagctgccgatg-3'(서열 번호:146)

[0561] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, XhoI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 XhoI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였다.

[0562] **실시예 9 - *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME7-AB 서열**

[0563] NME7-AB는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0564] 정방향 5'-atcgacatatggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatg-3'(서열 번호:147)

[0565] 역방향 5'-agagcctcgagattatccagaattttgaaaaagtattg-3'(서열 번호:148)

[0566] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, XhoI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 XhoI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였다. 단백질은 C-말단의 His 태그와 함께 발현된다.

[0567] NME7-AB는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0568] 정방향 5'-atcgacatatggaaaaaacgctggccctgattaaaccggatg-3'(서열 번호:149)

[0569] 역방향 5'-agagcaccggtattatccagaattttgaaaaagtattg-3'(서열 번호:150)

[0570] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, AgeI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 AgeI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였으며, 여기서, XhoI이 AgeI으로 대체되었으며 이후에 스트랩 태그 II로 대체되었으며, 2개의 정지 코돈은 His 태그 앞에 위치하였다. 단백질은 C-말단의 스트랩 태그 II와 함께 발현된다.

[0571] **실시예 10 - *E. coli* 발현에 최적화된 인간 NME6 서열:**

[0572] NME6는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0573] 정방향 5'- atcgacatatgacgcaaaatctgggctcggaatg-3'(서열 번호:151)

[0574] 역방향 5'- actgcctcgagtgccggacccagaccaccctgctc-3'(서열 번호:152)

[0575] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, XhoI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 XhoI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였다. 단백질은 C-말단의 His 태그와 함께 발현된다.

[0576] NME6는, 하기의 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다:

[0577] 정방향 5'- atcgacatatgacgcaaaatctgggctcggaatg-3'(서열 번호:153)

[0578] 역방향 5'- actgcaccggttgccggacccagaccaccctgctc-3'(서열 번호:154)

[0579] 그런 다음, 단편을 정제하고, 절단한 후(NdeI, AgeI), 발현 벡터 pET21b의 NdeI과 AgeI 제한효소 부위 사이에서 클로닝하였으며, 여기서, XhoI이 AgeI으로 대체되었으며 이후에 스트랩 태그 II로 대체되었으며, 2개의 정지 코돈은 His 태그 앞에 위치하였다. 단백질은 C-말단의 스트랩 태그 II와 함께 발현된다.

[0580] **실시예 11 - 재조합 NME7-AB의 생성**

[0581] LB 브로쓰(Luria-Bertani 브로쓰)에 하룻밤 배양물 1/10을 접종한 다음, OD600이 약 0.5에 도달할 때까지, 37℃에서 배양한다. 이때, 재조합 단백질 발현을 0.4 mM 이소프로필-β-D-티오-갈락토사이드(IPTG, Gold Biotechnology)를 사용하여 유도한 다음, 5시간 후에 배양을 중단한다. 원심분리(4℃, 6000 rpm에서 10분간)에 의해 세포를 수집한 다음, 세포 펠렛을 PBS pH 7.4, 360 mM NaCl 및 80 mM 이미다졸로 구성된 러닝 완충제로 재현탁시킨다. 그런 다음, 리소자임(1 mg/mL, Sigma), MgCl₂(0.5mM) 및 DNase(0.5 ug/mL, Sigma)를 첨가한다. 세포 현탁액을 회전 플랫폼(275 rpm) 상에서 37℃에서 30분 동안 인큐베이션한 다음, 얼음 상에서 5분 동안 소니케이션한다. 불용성 세포 찌꺼기를 원심분리(4℃, 20000 rpm에서 30분간)에 의해 제거한다. 그런 다음, 세정된 파쇄물을 러닝 완충제로 평형화된 Ni-NTA 컬럼(Qiagen)에 적용한다. 컬럼을 4 CV의 러닝 완충제로 세정한 다음, 30 mM 이미다졸이 보충된 4 CV의 러닝 완충제로 세정한 후, 70 mM 이미다졸이 보충된 러닝 완충제(6 CV)을 이용해 컬럼에서 단백질을 용출해 낸 다음, 490 mM 이미다졸이 보충된 러닝 완충제(4 CV)을 이용해 두번째 용출을 수행한다. NME7-AB는 크기 배제 크로마토그래피(Superdex 200) "FPLC"에 의해 추가로 정제된다.

[0582] **실시예 12 - 재조합 NME6의 생성**

[0583] LB 브로쓰(Luria-Bertani 브로쓰)에 하룻밤 배양물 1/10을 접종한 다음, OD600이 약 0.5에 도달할 때까지, 37℃에서 배양한다. 이때, 재조합 단백질 발현을 0.4 mM 이소프로필-β-D-티오-갈락토사이드(IPTG, Gold Biotechnology)를 사용하여 유도한 다음, 5시간 후에 배양을 중단한다. 원심분리(4℃, 6000 rpm에서 10분간)에 의해 세포를 수집한 다음, 세포 펠렛을 PBS pH 7.4, 360 mM NaCl 및 80 mM 이미다졸로 구성된 러닝 완충제로 재현탁시킨다. 그런 다음, 리소자임(1 mg/mL, Sigma), MgCl₂(0.5mM) 및 DNase(0.5 ug/mL, Sigma)를 첨가한다. 세포 현탁액을 회전 플랫폼(275 rpm) 상에서 37℃에서 30분 동안 인큐베이션한 다음, 얼음 상에서 5분 동안 소니케이션한다. 불용성 세포 찌꺼기를 원심분리(4℃, 20000 rpm에서 30분간)에 의해 제거한다. 그런 다음, 세정된 파쇄물을 러닝 완충제로 평형화된 Ni-NTA 컬럼(Qiagen)에 적용한다. 컬럼을 세정(8 CV)한 후, 420 mM 이미다졸이 보충된 러닝 완충제(6 CV)을 이용해 컬럼에서 단백질을 용출해 낸다. NME6는 크기 배제 크로마토그래피(Superdex 200) "FPLC"에 의해 추가로 정제된다.

[0584] **실시예 13 - 미경험 유전자 및 프라임드 유전자의 정량적 PCR 분석**

[0585] 표준 방법을 이용해 RT-PCR을 수행하였다. 사용된 프라이머는 하기에 열거된다: Trizol[®] Reagent(Invitrogen)을 사용하여 RNA를 단리하였으며, Super Script II(Invitrogen)를 사용하여 Random 핵사머(Invitrogen)를 이용해 cDNA를 역전사시킨 다음, Applied Biosystems 7500 실시간 장비 상에서 Applied Biosystems 유전자 발현 분석법을 이용해(OCT4 P/N Hs00999634_gH, Nanog P/N Hs02387400_g1, KLF2 P/N Hs00360439_g1, KLF4 P/N Hs00358836_m1, FOXA2 P/N Hs00232764_m1, OTX2 P/N Hs00222238_m1, LHX2 P/N Hs00180351_m1, XIST P/N Hs01079824_m1 및 GAPDH P/N 4310884E), 유전자 FOXA2, XIST, KLF2, KLF4, NANOG 및 OCT4에 대해 분석하였다. 각각의 검체를 3회 증복하여 진행시켰다. 유전자 발현을 GAPDH에 대해 정상화하였다. 데이터는 대조군과 비교하여 배수 변화로서 표현된다.

- [0586] 실시예 14 - MUC1 폴 다운 분석법은, NME1, NME6 및 NME7이 MUC1 화학종 단백질에 결합한다는 것을 보여준다
- [0587] MUC1* 세포질 꼬리(Ab-5)에 대한 항체를 사용하는 폴 다운 분석법을 세포 패널 상에서 수행하였다. MUC1 항체에 의해 폴 다운되는 단백질을 SDS-PAGE에 의해 분리한 다음, NME1, NME6 및 NME7에 특이적인 항체를 사용해 웨스턴 블롯 기술에 의해 탐침하였다. MUC1*-양성 유방암 세포주 T47D 세포(ATCC), 인간 배아 줄기세포주 BG01v(LifeTechnologies), 인간 ES 세포(HES-3, BioTime Inc.) 및 인간 iPS 세포(SC101A-1, System Biosciences Inc.) T47D 암세포를 RPMI-1640(ATCC) + 10% FBS(VWR)에서 ATCC 프로토콜에 따라 성장시켰다. 모든 줄기세포들을, 8 nM NM23-RS(재조합 NME1 S120G 다이머)를 포함하는 최소 줄기세포 배지 "MM"에서 배양하였다. 줄기세포를 12.5 ug/mL 항-MUC1* C3 mab로 코팅된 플라스틱 용기 상에서 성장시켰다. 세포를 얼음 상에서 200uL RIPA 완충제를 사용해 10분 동안 파쇄하였다. 원심분리에 의해 세포 찌꺼기를 제거한 후, 상층액을 공동-면역침전 분석법에 사용하였다. MUC1*은 Dynabeads 단백질 G(Life Technologies)에 결합된, MUC1 세포질 꼬리를 인지하는 Ab-5 항체(항-MUC-1 Ab-5, Thermo Scientific)를 사용해 폴 다운되었다. 비드를 RIPA 완충제를 사용해 2회 세정한 다음, 환원성 완충제에서 재현탁시켰다. 상층액 검체를 환원성 SDS-PAGE로 처리한 다음, 단백질을 PVDF 막으로 이송시켰다. 그런 다음, 막을, A) 항-NM23-H1(NME1) 항체(C-20, Santa Cruz Biotechnology); B) 항-NME6(Abnova); 또는 C) 항 NM23-H7 항체(B-9, Santa Cruz Biotechnology); D) Supersignal(Pierce)을 사용해 증강된 NME6의 염색; 및 E) Supersignal을 사용해 증강된 NME7의 염색을 사용하여, 탐침하였다. HRP에 결합된 이들 각각의 이차 항체와 함께 인큐베이션한 다음, 단백질을 화학발광에 의해 검출하였다. 사진은, 본래의 NME1, NME6 및 NME7이 MUC1*-양성 유방암 세포, 인간 ES 세포 및 인간 iPS 세포에 존재하며, 이들은 MUC1*에 결합한다는 것을 보여준다. HES-3 펠렛에 존재하는 세포의 수는 다른 검체들에 존재하는 수보다 적었다는 것에 주목한다.
- [0588] 실시예 15 - 재조합 NM23(S120G 돌연변이체 H1 다이머), NME7-AB, 뿐만 아니라 본래의 NME7 bind to the MUC1* 세포의 영역 펩타이드 and can induce 수용체 다이머화
- [0589] 직경이 30.0 nm인 골드 나노입자를 Thompson et al.(ACS Appl. Mater. Interfaces, 2011, 3 (8), pp 2979-2987) 등에 따라 NTA-SAM 표면으로 코팅시켰다. 그런 다음, NTA-SAM 코팅된 골드 나노입자를 동일한 부피의 180 uM NiSO₄를 사용해 활성화시키고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션한 다음, 세정하고, 10 mM 인산염 완충제(pH 7.4)에서 재현탁시켰다. 그런 다음, 골드 나노입자에 PSMGFR N-10 펩타이드(QFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDPFPFSAQSGAHHHHHH(서열 번호:155))를 0.5 uM의 최종 농도로 로딩한 다음, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. *E. coli*에서 발현 및 정제되는 재조합 NME7-AB 단백질을 지시된 농도에서 용액에 자유롭게 첨가하였다. 입자-고정된 단백질들이 서로 결합하거나, 또는 2개의 상이한 입자들 상의 2개의 상이한 펩타이드에 동시에 결합하는 경우, 입자 용액은 핑크/적색에서 보라색/청색으로 변색된다. 단일 펩타이드에의 결합은 2개 이상의 입자들이 서로 근접해지도록 유도하지 못할 것이기 때문에, 용액에 첨가된 유리 단백질이 입자의 응집을 야기하는 경우, 유리 단백질이 동족 펩타이드를 다이머화한다는 것은 강한 증거가 된다.
- [0590] 도 7(a)는, PSMGFR N-10 펩타이드가 로딩된 NTA-Ni-SAM 코팅된 나노입자를 보여준다. NME7-AB는 지시된 농도에서 용액에 자유롭게 첨가한다. 입자 응집으로부터 용액의 색상이 핑크색에서 보라색/청색으로의 변하는 것은, 입자 상의 MUC1* 펩타이드와 용액 중의 유리 NME7 간의 결합을 의미한다. 이러한 결과는, 용액 중의 NME7이 MUC1* 펩타이드에 대한 결합 부위를 2개 가진다는 것을 보여준다. 항-MUC1* 항체의 Fab는 결합을 전적으로 저해하며, 이는, 입자의 응집이 MUC1* 펩타이드와 NME7 간의 특이적인 상호작용으로 인한 것임을 보여준다. (b)는, 보다 광범위한 농도에서 용액에 자유롭게 첨가되는 NME7-AB를 보여준다. NME7이 2개의 펩타이드에 동시에 결합할 수 있음을 의미하는, 입자의 응집이 관찰된다. (c)는 용액에 첨가된 모든 단백질들을 보여준다. NME7-AB는 거의 즉시 보라색으로 변하였다. NM23-RS(H1 다이머) 또한, 거의 즉시 보라색으로 변하기 시작하였다. 본래의 NME7을 포함하는 T47D 유방암 세포주 파쇄물 역시 현저하게 보라색으로 변한다.
- [0591] 실시예 16 - NME1 다이머 또는 NME7에서 배양된 인간 ES 및 iPS 세포는, 프라임드 상태의 특징인 X-불활성화를 지시하는 핵에서의 응축된 히스톤-3의 결여에 의해 입증되는 바와 같이 미경험 상태에 있다.
- [0592] 인간 ES(HES-3 줄기세포, BioTime Inc) 및 iPS(SC101A-Ipsc, System Biosciences) 세포를 최소 배지("MM") + NME1 다이머(NM23-RS) 또는 NME7(NME7-AB 구축물)에서 8 내지 10회 계대배양 동안 배양하였다. 세포를, MUC1* 수용체의 PSMGFR 서열의 원위부에 결합하는 항-MUC1* 모노클로날 항체(MN-C3) 12.5 ug/mL로 코팅했던 VitaTM 플레이트(ThermoFisher) 상에 평판배양하였다. 10회 전기간 동안 주기적으로, 줄기세포의 검체를 면역조직화학(ICC)으로 분석하였으며, 공초점 현미경(Zeiss LSM 510 공초점 현미경) 상에서 분석하여, 히스톤-3의 세포내 위치화를 측정하였다. 히스톤-3은 핵에서 응축된 다음(단일 도트로서 보임), X 염색체의 복사본이 불활성화되었

으며, 세포는 더 이상 순수한 바닥 상태 또는 미경험 상태에 있지 않는다. 줄기세포는 프라임드 상태(모든 상업적으로 입수가능한 줄기세포들은 FGF에서의 배양에 의해 프라임드 상태로 유도됨)에서 미경험 상태로 복귀한다. 히스톤-3는 도처에서 얼룩덜룩한 "구름형"으로 보이거나 또는 검출불가능할 것이다. 도 12는, 표준 프로토콜에 따라 MEF 상에서 FGF에서 배양된다는 점을 제외하고는, 동일한 소스로부터의 대조군 세포를 도시하고 있으며, 모두 핵에서 응축된 히스톤-3(H3K27me3)를 보여주고 있으며, 이는, 이들이 모두 100% 프라임드 상태에 있으며 미경험 상태에 있지 않음을 확인시켜 준다. 역으로, NME7에서 10회 계대배양 동안 배양된 동일한 소스의 세포는 주로, 응축된 히스톤-3를 가지지 않는 줄기세포를 가졌으며, 이는 이들이 예비-X-불활성화이며 사실상 미경험 상태에 있음을 의미한다. 도 12에 도시된 인서트는 100% 미경험 상태에 있었던 단리된 많은 클론들 중 하나이다.

[0593] **실시예 17 - 배아 줄기세포 및 iPS 세포에서 NME7의 검출**

[0594] 인간 ES 세포(BG01v 및 HES-3) 뿐만 아니라 iPS 세포(SC101-A1)를 NME-기재의 배지에서 배양하였으며, 여기서, 세포들을 항-MUC1* 항체의 층 상에 평판배양하였다. NME7 화학종을 확인하기 위해, 세포를 수집하고, 프로테아제 저해제(Pierce)가 보충된 RIPA 완충제(Pierce)로 파쇄하였다. 세포 파쇄물(20 μ L)을 12% SDS-PAGE 환원성 겔 상에서의 전기영동에 의해 분리하고, PVDF 막(GE Healthcare)으로 옮겼다. 블롯을 3% 밀크를 포함하는 PBS-T로 차단하고, 일차 항체(항 NM23-H7 클론 B-9, Santa Cruz Biotechnology)와 함께 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. PBS-T로 세정한 후, 막을 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-컨쥬게이트된 이차 항체(염소 항 마우스, Pierce)와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. Immun-Star 화학발광 키트(Bio-Rad)를 사용해 신호를 검출하였다. 웨스턴 블롯은, NME7이 약 40 kDa의 화학종 뿐만 아니라 약 25 kDa 내지 33 kDa의 더 낮은 분자량의 NME7 화학종으로서도 존재한다는 것을 보여주며, 더 낮은 분자량의 NME7 화학종은 대안적인 스플라이스 아이소폼이거나 또는 절단과 같은 번역 후 변형일 수 있다.

[0595] **실시예 18 - iPS 조건화된 배지에서 NME7의 검출**

[0596] iPS 조건화된 배지(20 μ L)를 12% SDS-PAGE 환원성 겔 상에서 전기영동에 의해 분리하고, PVDF 막(GE Healthcare)으로 옮겼다. 블롯을 3% 밀크를 포함하는 PBS-T로 차단한 다음, 일차 항체(항 NM23-H7 클론 B-9, Santa Cruz Biotechnology)와 함께 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. PBS-T로 세정한 후, 막을 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-컨쥬게이트된 이차 항체(염소 항 마우스, Pierce)와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. Immun-Star 화학발광 키트(Bio-Rad)를 사용해 신호를 검출하였다. 웨스턴 블롯은, 분자량 약 30 kDa의 분비된 NME7 화학종을 보여준다. 재조합 NME7-AB는 분자량이 33 kDa이며, 2개의 MUC1* 탭타이드에 동시에 결합할 수 있으며, 만능 줄기세포 성장 및 전분화능의 유도를 전적으로 지지하며, 분화를 저해한다는 것에 주목한다. 약 25 kDa 내지 30 kDa의 NME7 화학종은 대안적인 스플라이스 아이소폼이거나 또는 절단과 같은 번역 후 변형일 수 있으며, 세포로부터 분비를 가능하게 할 수 있다.

[0597] **실시예 19 - NME7 면역-침전 및 질량 분광광도법에 의한 분석**

[0598] 풀 다운 분석법을, MUC1*-양성 세포의 패널 상에서 NME7 특이적인 항체(NM23 H7 B9, Santa Cruz)를 사용해 수행하였다. 유방암 세포(T47D) 뿐만 아니라 인간 ES(BG01v 및 HES-3) 및 iPS(SC101-A1) 세포를 표준 프로토콜(T47D)에 따라 배양하거나, 또는 항-MUC1* 항체의 표면 상에서 NME-기재의 배지에서 배양하였다. 세포를, 프로테아제 저해제(Pierce)가 보충된 RIPA 완충제(Pierce)로 파쇄하였다. 세포 파쇄물에 10 μ g의 재조합 NME7-AB를 보충하고, 4°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, NME7을, Dynabeads 단백질 G(Life technologies)에 결합된 항 NM23-H7(B-9, Santa Cruz Biotechnology)를 사용해 4°C에서 밤새 면역침전시켰다. 비드를 PBS로 2회 세정하고, 면역침전된 단백질을 12% SDS-PAGE 환원성 겔 상에서 전기영동에 의해 분리하였다. 단백질을 은 염색(Pierce)에 의해 검출하였다. T47D 검체 및 BG01v 세포 유래의, NME7과 함께 공동-면역침전된 약 23 kDa의 단백질 밴드를 절제하고, 질량 분광광도법(Taplin Mass Spectrometry Facility, Harvard Medical School)에 의해 분석하였다. 질량 분광광도법 분석은, 절제된 단백질 밴드 모두 하기에 나타내는 바와 같이 NME7 NDPK A 영역 유래의 서열을 포함하였음을 보여주었다. NME7의 A 서열에서 밑줄 친 서열을 질량 분광광도법에 의해 확인하였다.

[0599] MNHSERVFVIAEWYDPNASLLRRYELLYFGDGSVMHVDKVNHRFTLKRKYDNLHLEDLFIGNKVNVFSRQLVLIDYGDQYTARQLGSRKEK TLALIKPDAISKAGEIIEIINKAGFTITKLKMMMLSRKEALDFHVDHQSRPFFNELIQFITTGPIIAMEILRDDAICEWKRLGPA~~NS~~GVARTDASESIRALFGTDGIRNA AHGPD~~S~~FASAA~~R~~EMELFFPSSGGCGPANTAKFTNCTCCIVKPHAVSEGLGKILMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEFYEVYKGVVTEYHDMVTEMSGP CVAMEIQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNAVHCTDLPEDGLLEVQYFFKILDN(서열 번호:156)

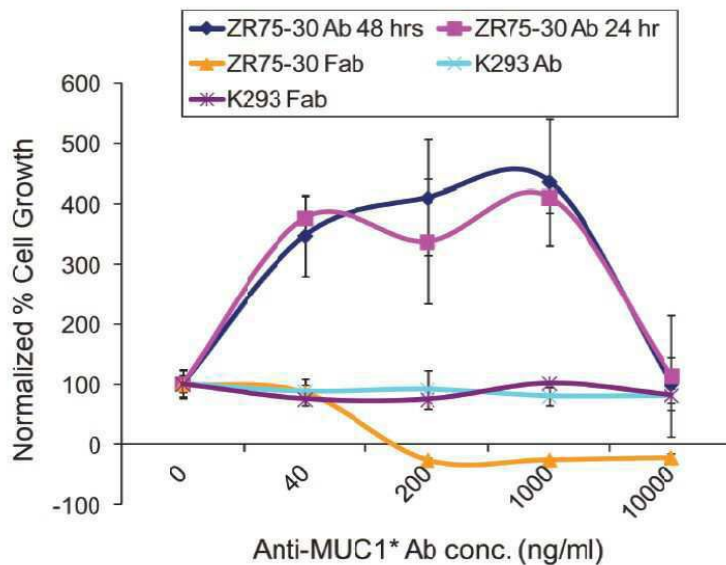
- [0600] NME7을 사용해 면역침전된 약 30 kDa의 보다 고분자량의 단백질 밴드는 질량 분광광도법으로 분석하지 않았으며, 절단 생성물일 수 있는 내인성 NME7 단백질 또는 대안적인 스플라이스 아이소폼에 상응할 수 있거나, 또는 다른 예로 세포 파쇄물에 첨가된 약 33 kDa의 NME7-AB일 수 있었다.
- [0601] **실시예 20 - NME7-AB는 2개의 MUC1* 세포의 영역 펩타이드에 동시에 결합한다는 것을 보여주는 ELISA 분석법**
- [0602] C-말단 시스테인을 가지는 PSMGFR 펩타이드(PSMGFR-Cys)를 Inject Maleimide 활성화된 BSA 키트(Thermo Fisher)를 사용해 BSA에 공유 결합하였다. BSA에 결합된 PSMGFR-Cys를 0.1 M 탄산염/중탄산염 완충제 pH 9.6에서 10 ug/mL로 희석시키고, 50 uL를 96웰 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 4℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 플레이트 PBS-T로 2회 세정하고, 3% BSA 용액을 첨가하여, 웰 상에 잔존하는 결합 부위를 차단하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T 및 NME7으로 2회 세정하고, PBS-T + 1% BSA에서 희석시키고, 상이한 농도로 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T 및 항-NM23-H7(B-9, Santa Cruz Biotechnology)로 3회 세정하고, PBS-T + 1% BSA에서 희석시키고, 1/500의 희석비로 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T 및 염소 항 마우스-HRP로 3회 세정하고, PBS-T + 1% BSA에서 희석시키고, 1/3333의 희석비로 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T로 3회 세정하고, NME7의 결합을 ABTS 용액(Pierce)을 사용해 415 nm에서 측정하였다.
- [0603] ELISA MUC1* 다이머화: NME7 결합에 대한 프로토콜을 이용하였으며, NME7을 11.6ug/mL 농도로 사용하였다.
- [0604] 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T 및 His태깅된 PSMGFR 펩타이드(PSMGFR-His) 또는 비오티닐화된 PSMGFR 펩타이드(PSMGFR-비오티닌)로 3회 세정하고, PBS-T + 1% BSA에서 희석시킨 다음, 상이한 농도로 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T 및 항 Histag-HRP(Abcam) 또는 스트렙타비딘-HRP(Pierce)로 3회 세정하고, PBS-T + 1% BSA에서 희석시킨 다음, 1/5000의 농도로 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 플레이트를 PBS-T로 3회 세정하고, PSMGFR 펩타이드가, BSA에 결합된 또 다른 PSMGFR 펩타이드(항-His 항체 또는 스트렙타비딘에 의해 신호전달할 수 없음)에 이미 결합해 있는 NME7에 결합했는지의 여부를 ABTS 용액(Pierce)을 사용해 415 nm에서 측정하였다.
- [0605] **실시예 21 - NME6 클로닝, 발현 및 정제**
- [0606] E. coli에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 WT NME6 cDNA를, 미국 뉴저지주의 Genscript사가 본 발명자들의 요청에 의해 합성하였다. 그런 다음, WT NME6 cDNA를 하기의 프라이머를 사용해 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 증폭시켰다: 5'-atcgacatatgacgcaaaatctgggctcggaaatg-3'(서열 번호:157) 및 5'-actgcctcgagtgcggaccagaccaccctgc-3'(서열 번호:158). NdeI 및 XhoI 제한효소 효소(New England Biolabs)를 사용해 절단한 후, 정제된 단편을, 동일한 제한효소로 절단한 pET21b 벡터(Novagen) 내로 클로닝하였다.
- [0607] **실시예 22 - NME6 단백질 발현/정제**
- [0608] LB 브로쓰(Luria-Bertani 브로쓰)에 하룻밤 배양물 1/10을 접종한 다음, OD600이 약 0.5에 도달할 때까지, 37℃에서 배양하였다. 이때, 재조합 단백질 발현을 0.4 mM 이소프로필-β-D-티오-갈락토사이드(IPTG, Gold Biotechnology)를 사용하여 유도한 다음, 5시간 후에 배양을 중단하였다. 원심분리(4℃, 6000 rpm에서 10분간)에 의해 세포를 수집한 다음, 세포 펠렛을 PBS pH 7.4, 360 mM NaCl, 10 mM 이미다졸 및 8M 우레아로 구성된 러닝 완충제로 재현탁시켰다. 세포 현탁액을 회전 플랫폼(275 rpm) 상에서 37℃에서 30분 동안 인큐베이션한 다음, 얼음 상에서 5분 동안 소니케이션하였다. 불용성 세포 찌꺼기를 원심분리(4℃, 20000 rpm에서 30분간)에 의해 제거하였다. 그런 다음, 세정된 파쇄물을 러닝 완충제로 평형화된 Ni-NTA 컬럼(Qiagen)에 적용하였다. 컬럼을 4 CV의 러닝 완충제로 세정한 다음, 30 mM 이미다졸이 보충된 4 CV의 러닝 완충제로 세정한 후, 420 mM 이미다졸이 보충된 러닝 완충제(8 CV)을 이용해 컬럼에서 단백질을 용출해 내었다. 그런 다음, 단백질을 투석에 의해 다시 접었다.
- [0609] **실시예 23 - 재접힘 프로토콜**
- [0610] 1. 100 mM Tris pH 8.0, 4 M 우레아, 0.2 mM 이미다졸, 0.4 M L-아르기닌, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 밤새 투석시킨다.
- [0611] 2. 100 mM Tris pH 8.0, 2 M 우레아, 0.2 mM 이미다졸, 0.4 M L-아르기닌, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 24시간 동안 투석시킨다.
- [0612] 3. 100 mM Tris pH 8.0, 1 M 우레아, 0.2 mM 이미다졸, 0.4 M L-아르기닌, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해

24시간 동안 투석시킨다.

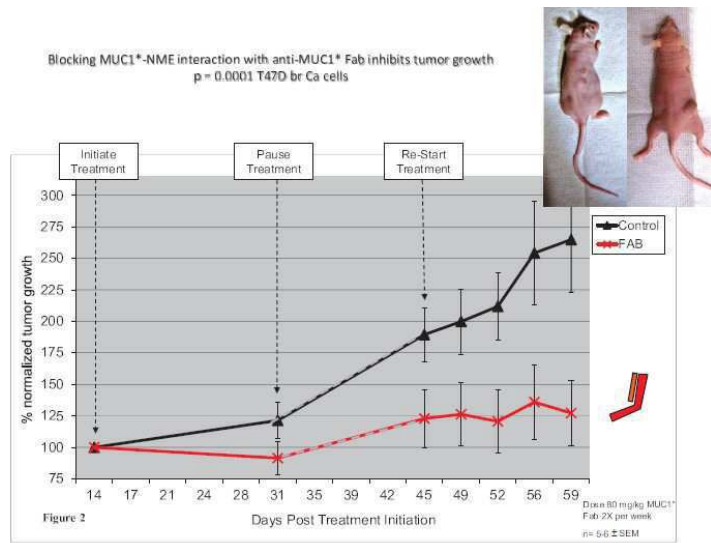
- [0613] 4. 100 mM Tris pH 8.0, 0.2 mM 이미다졸, 0.4 M L-아르기닌, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 8시간 동안 투석시킨다.
- [0614] 5. 25 mM Tris pH 8.0, 0.2 mM 이미다졸, 0.1 M L-아르기닌, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 밤새 투석시킨다.
- [0615] 6. PBS pH 7.4, 0.2 mM 이미다졸, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 3시간 동안 3회 투석시킨다.
- [0616] 7. PBS pH 7.4, 0.2 mM 이미다졸, 1 mM EDTA 및 5% 글리세롤에 대해 밤새 투석시킨다.
- [0617] 8. 다시 접혀진 단백질(18,500 rpm)을 4℃에서 30분 동안 원심분리하고, 추가의 정제를 위해 상층액을 수집한다. 단백질을 크기 배제 크로마토그래피(Superdex 200)에 의해 추가로 정제하였다.
- [0618] 본원에서 인용되는 모든 참조문헌들은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.
- [0619] 당해 기술분야의 당업자는, 단지 일상적인 실험을 이용하여, 본원에 구체적으로 기술되는 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 등가물을 인지하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 청구항의 범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1

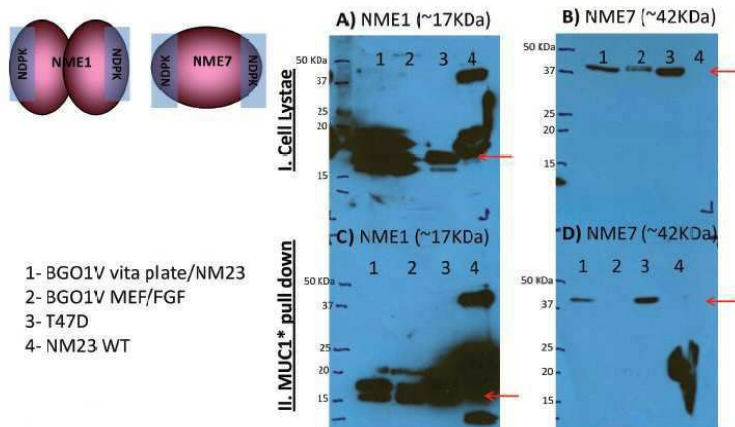


도면2

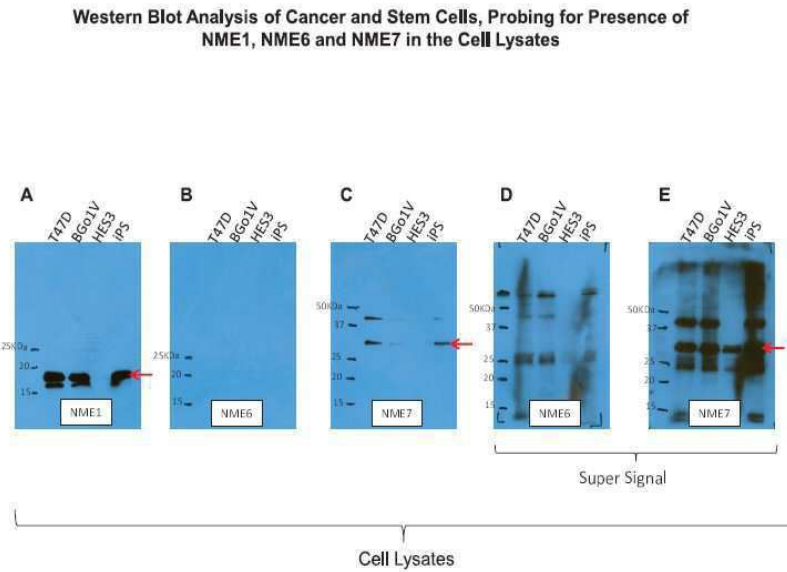


도면3

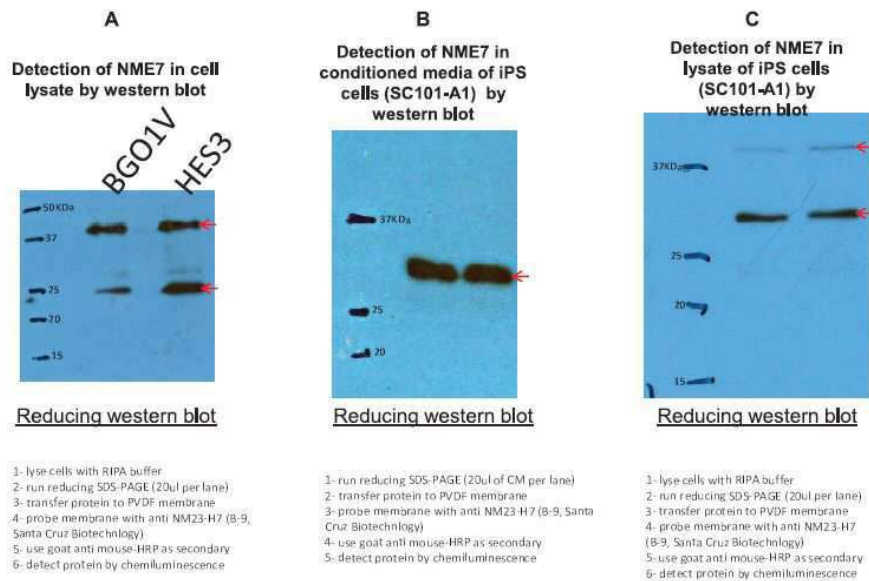
All NMEs have NDPK Domains, but Enzyme Function is Not Required for its Role in Pluripotency; NME7 has 2 NDPK Domains & is a "Natural" Dimer; NME7 is Expressed at Higher Levels in More Naïve Stem Cells; Pull-Down Assay Shows it Binds to MUC1*



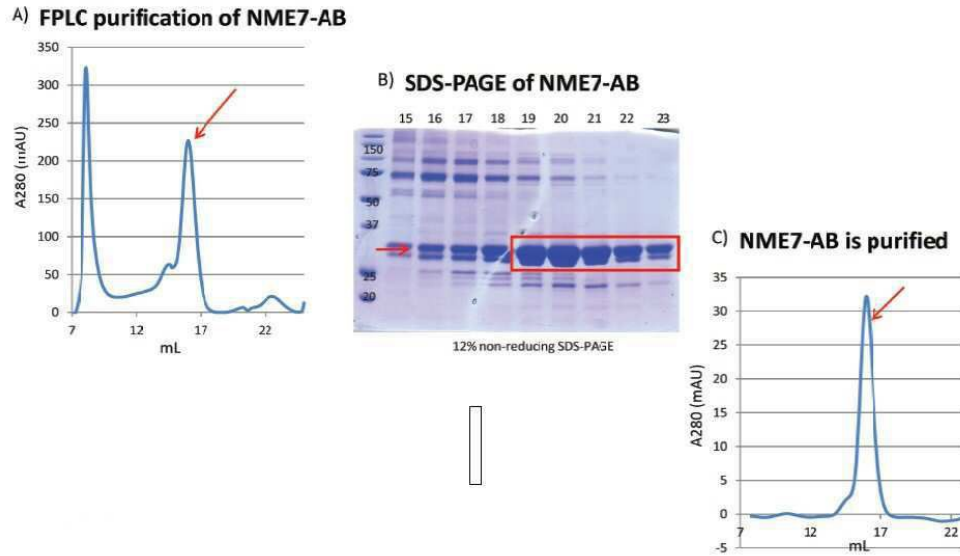
도면4



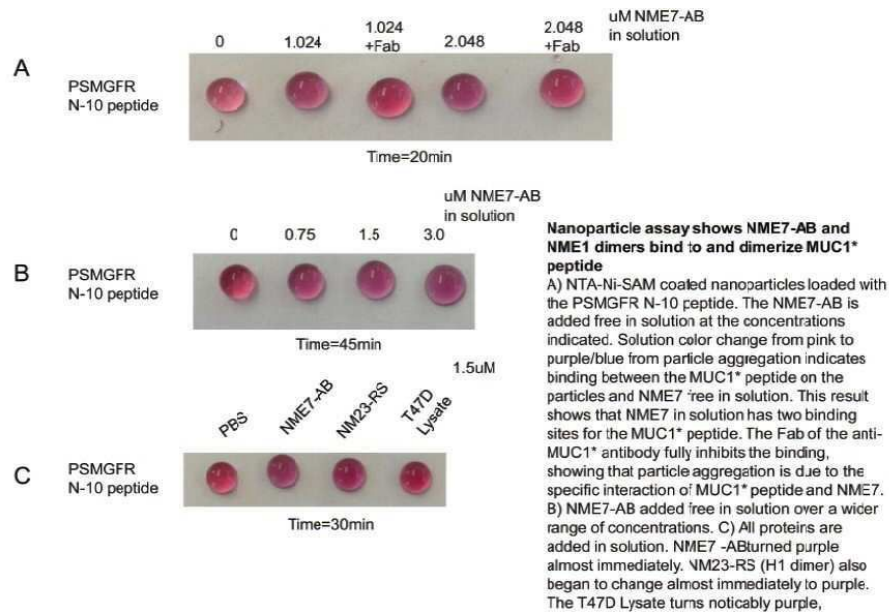
도면5



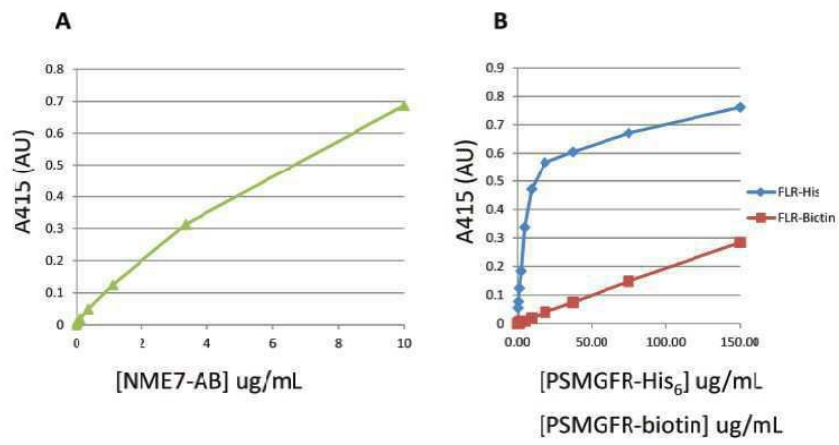
도면6



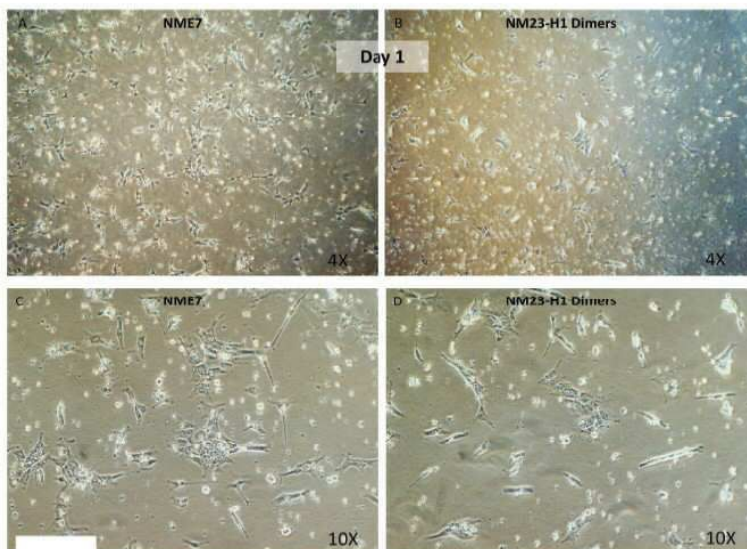
도면7



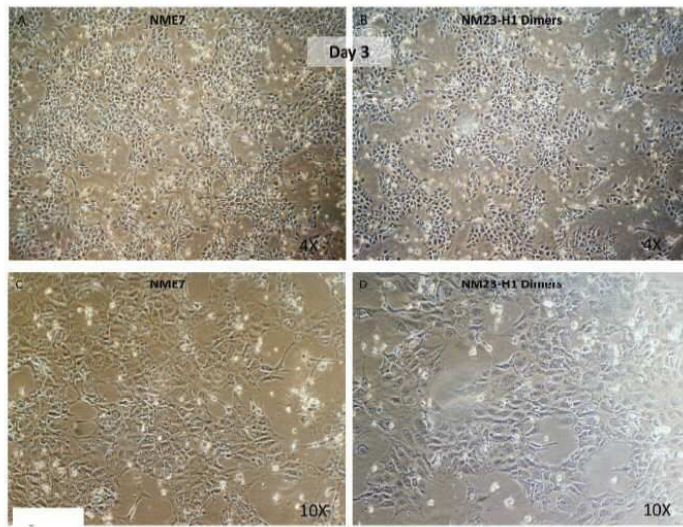
도면8



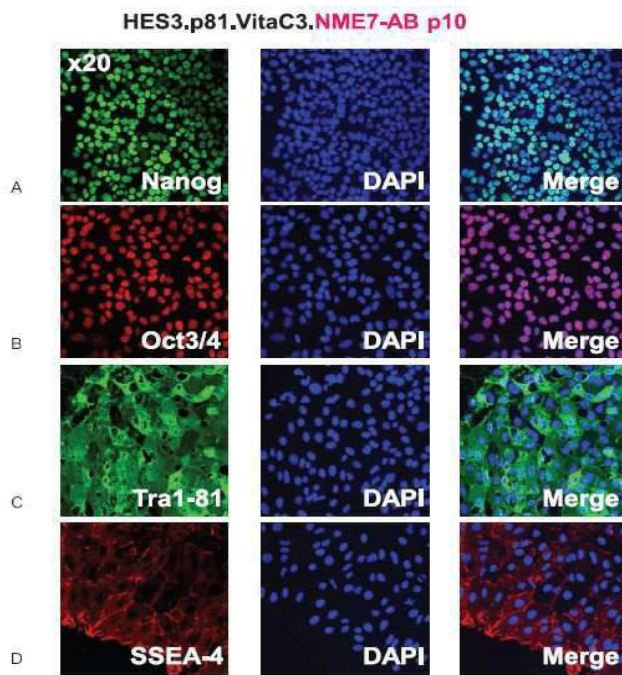
도면9



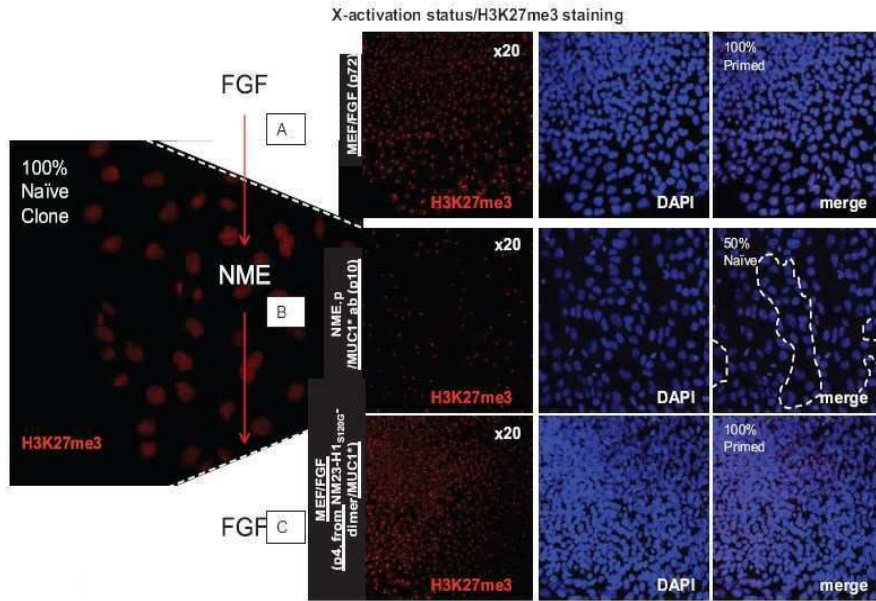
도면10



도면11

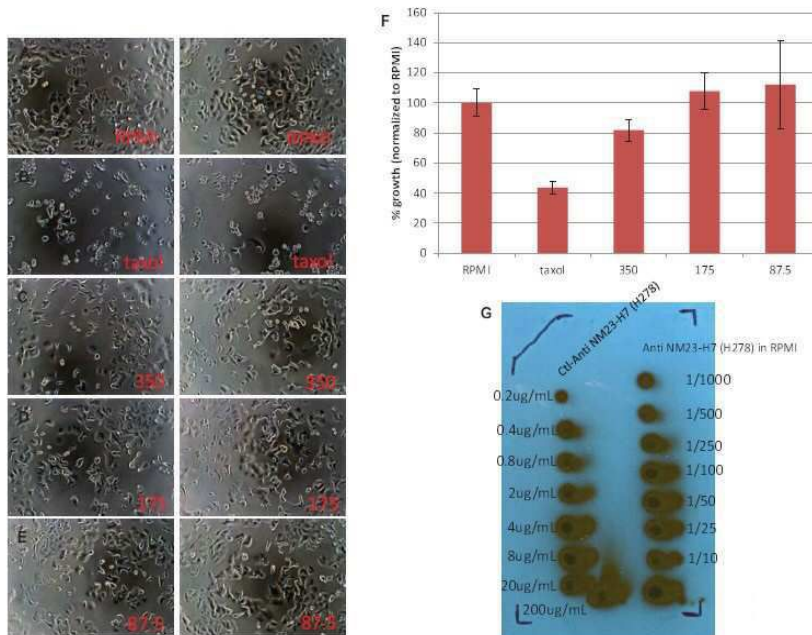


도면12

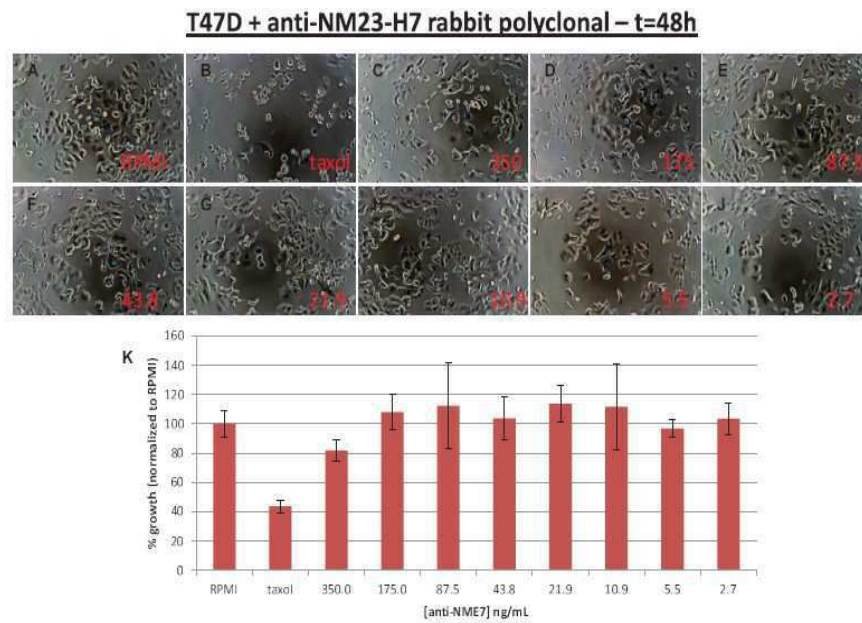


도면13

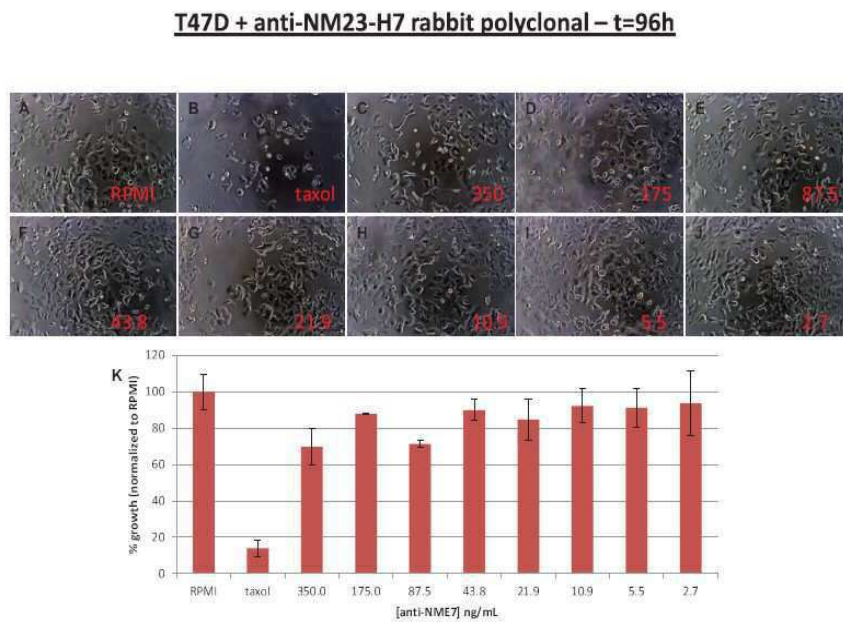
T47D + anti-NM23-H7 rabbit polyclonal – t=48h



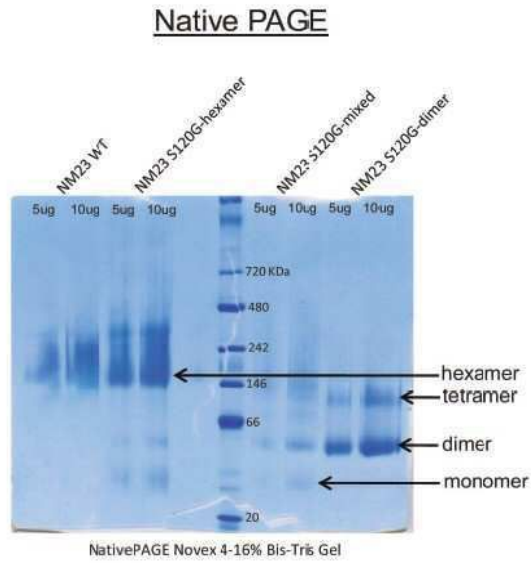
도면14



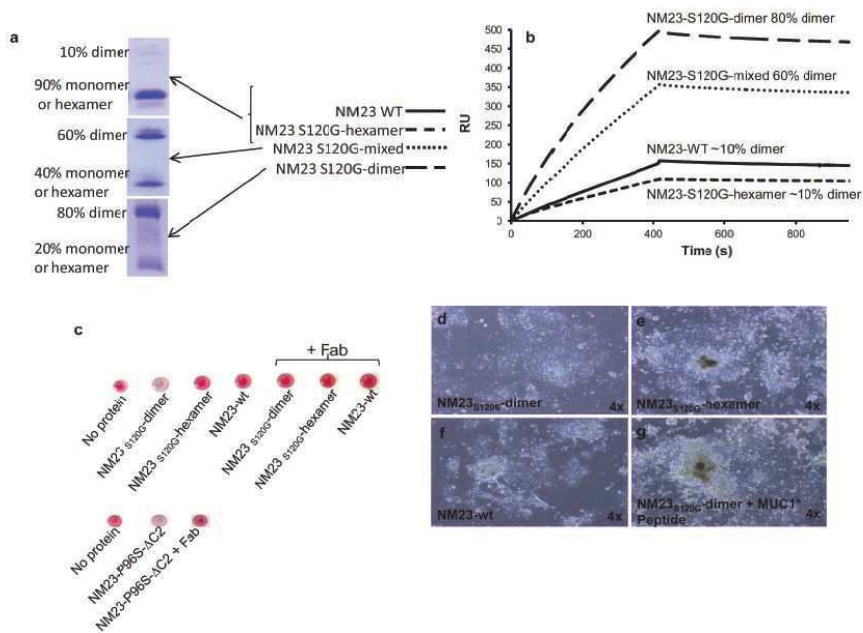
도면15



도면16

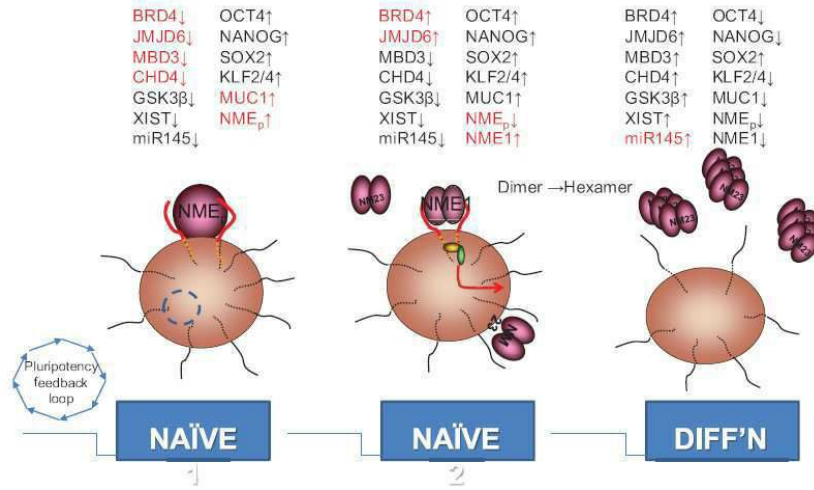


도면17

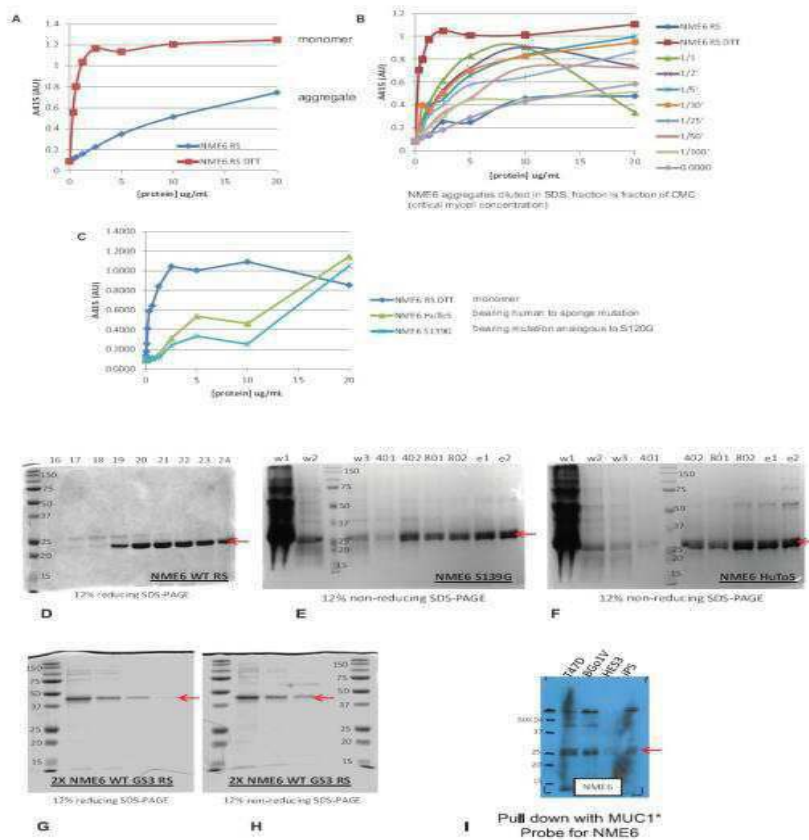


도면18

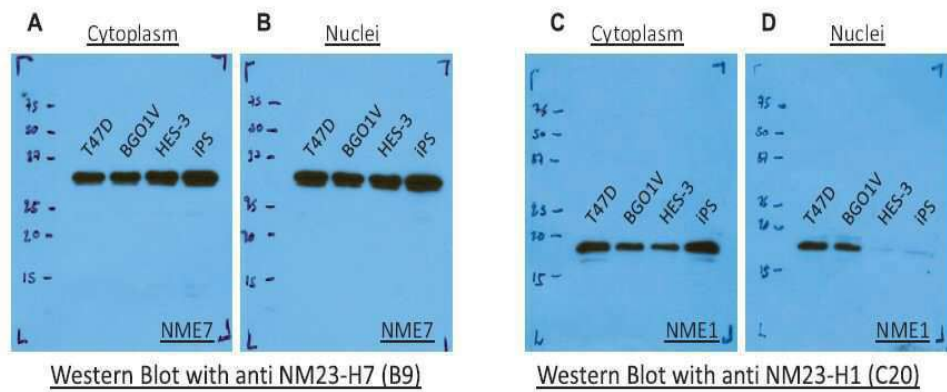
Mechanism



도면19

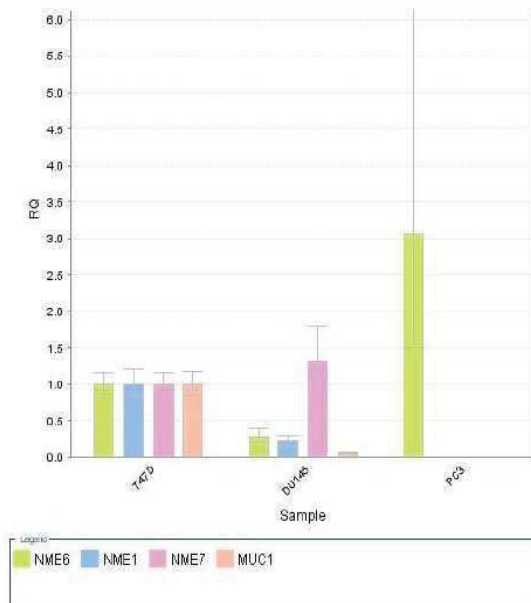


도면20



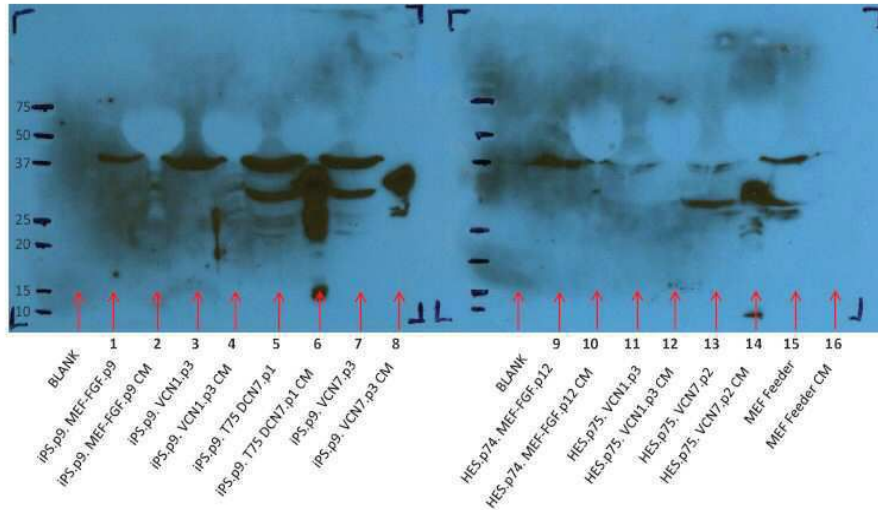
도면21

Quantitative PCR is used to Measure Expression Levels of NME1, NME6 and NME7 in MUC1-Positive Cancer Cell Lines T47D (breast) & DU145 (prostate) vs. MUC1-Negative Cancer Cell Line PC3 (prostate)



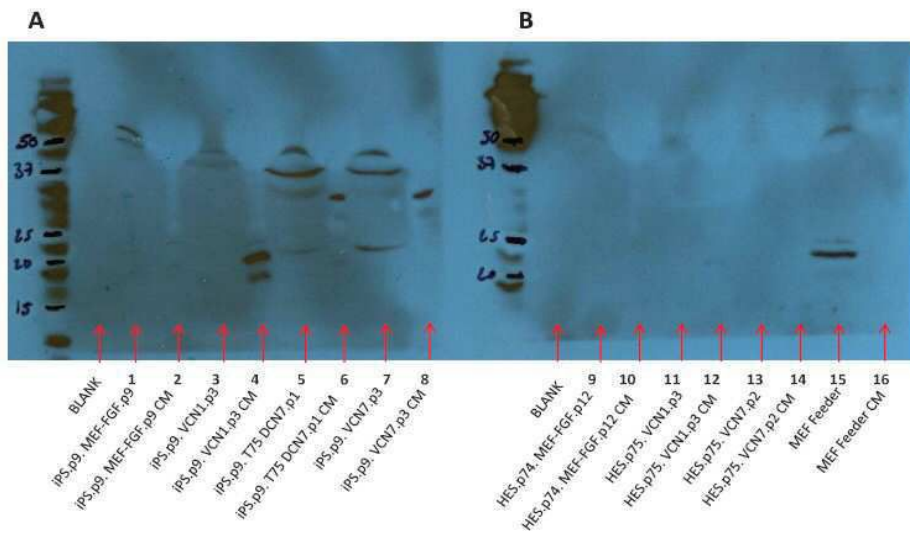
도면22

Stem Cell Lysates + Corresponding Conditioned Media Probed for Presence of NME-7

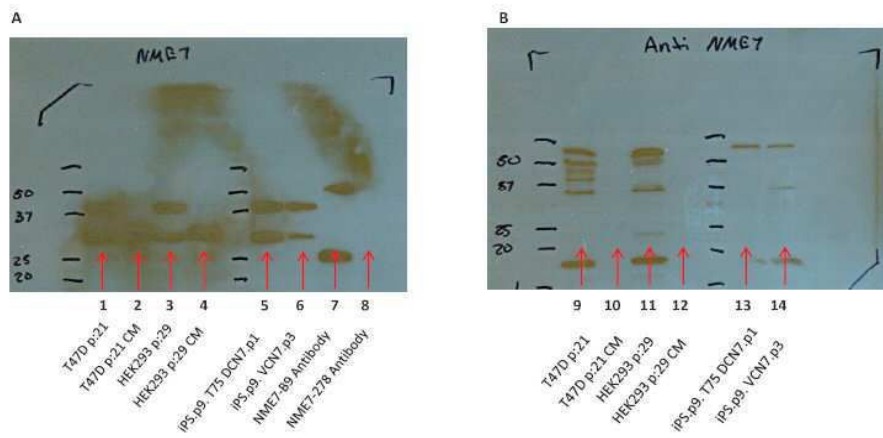


도면23

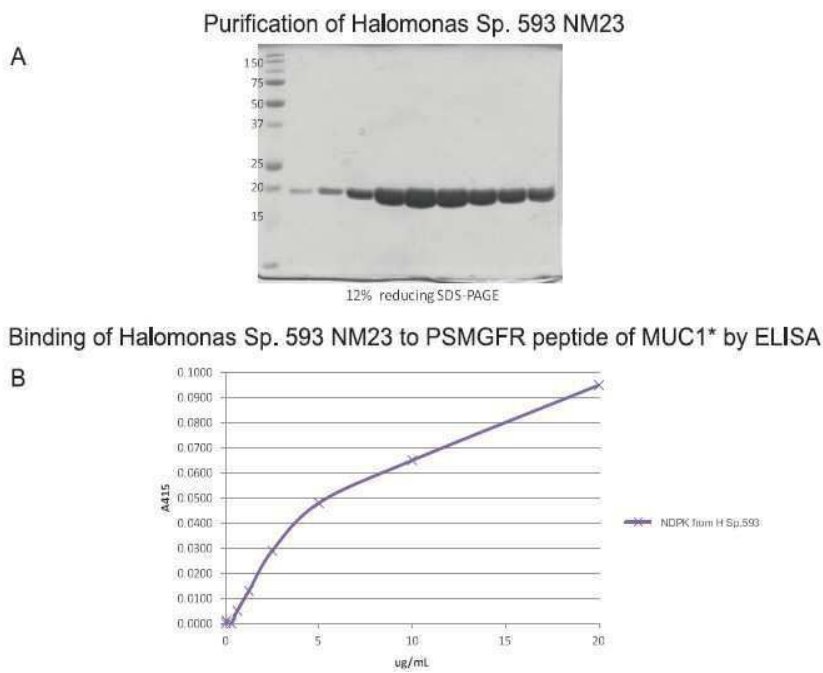
Stem Cell Lysates + Corresponding Conditioned Media Probed for presence of HIS-TAG to Identify Recombinant Protein added into Media



도면24

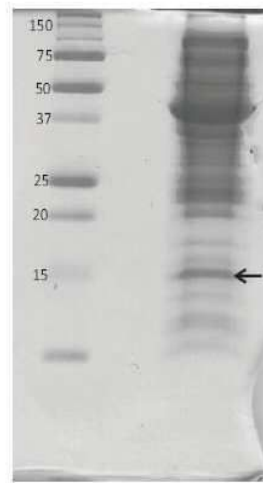


도면25



도면26

Purification of Porphyromonas gingivalis W83 NM23



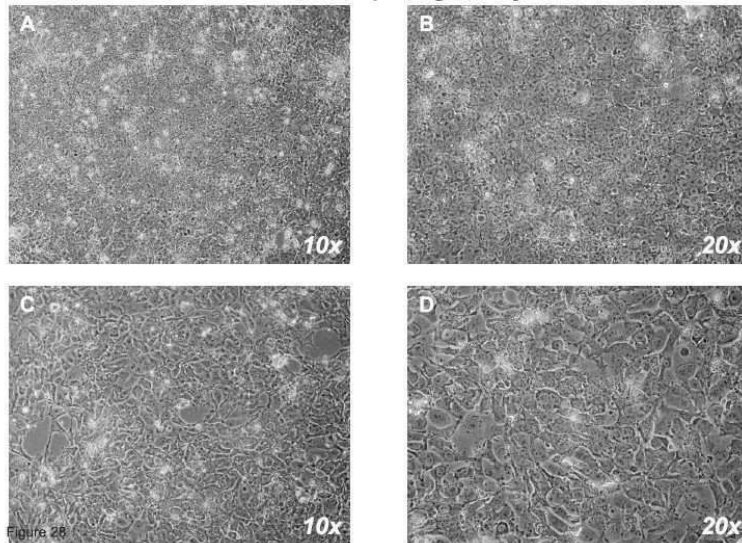
12% reducing SDS-PAGE

도면27

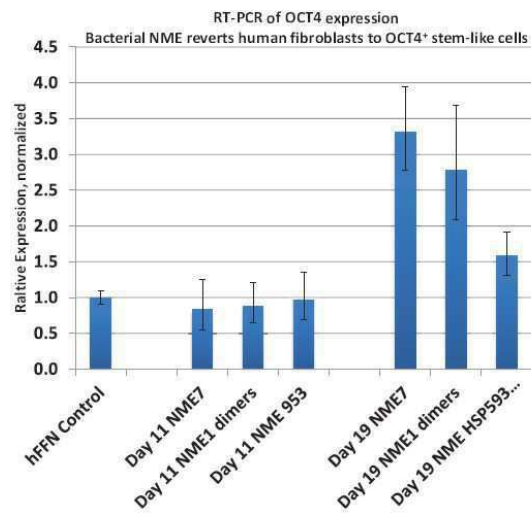


도면28

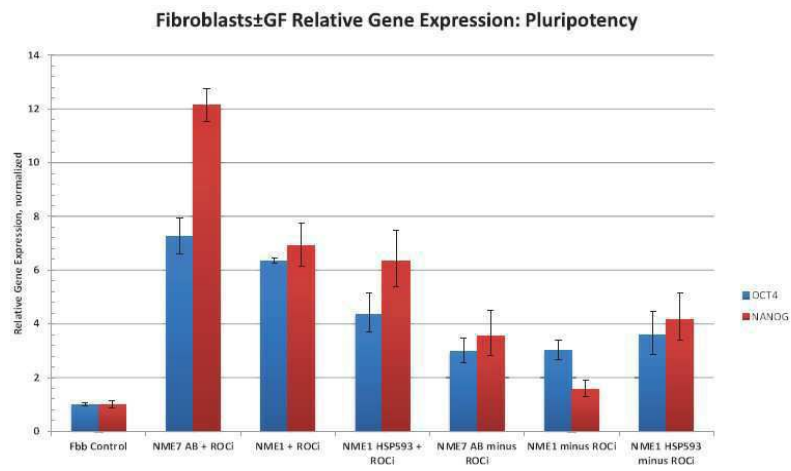
HES-3 VITA/C3 – Human stem cells cultured in bacterial NME from Halomonas HSP593- passage 2, day 5



도면29

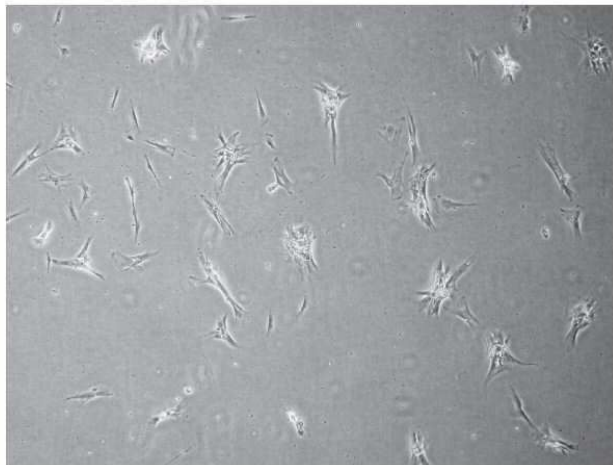


도면30



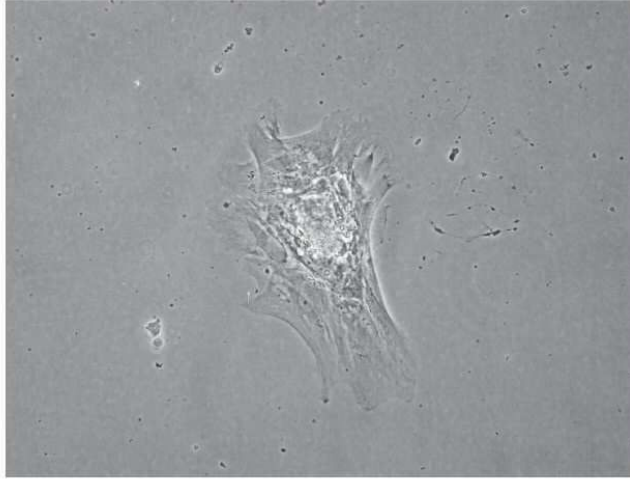
도면31

Human NME1 dimers alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN,p9,NME1 dimers p2 no ROCi Day 18 4x



도면32

Human NME1 dimers alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN,p9,NM23-H1 dimers p2 no ROCi Day 18 20x (these look like stem cell naive stem cell colonies)



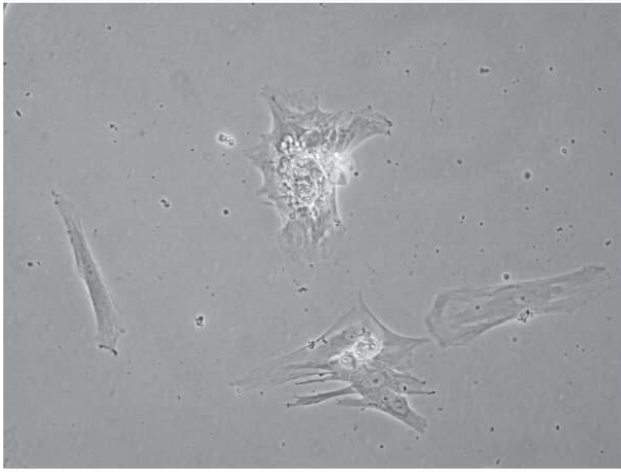
도면33

Bacterial Halomonas Sp 593 NME1 alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN,p9, HSP593 p2 no ROCi Day 18 4x



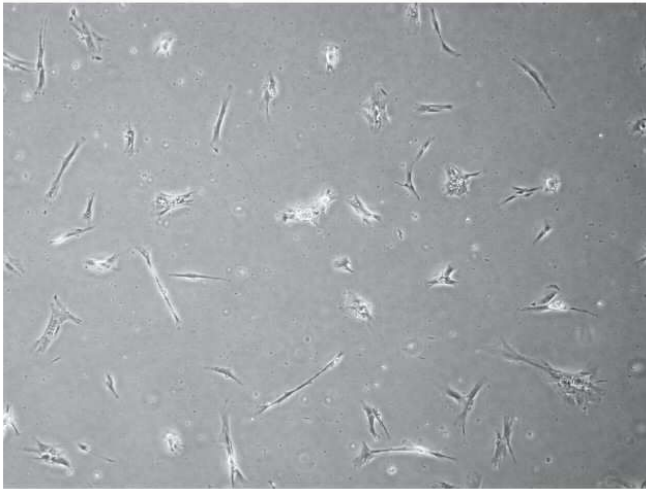
도면34

Bacterial HSP593 NME1 alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN.p9, HSP593 p2 no ROCi Day 18 **20x**



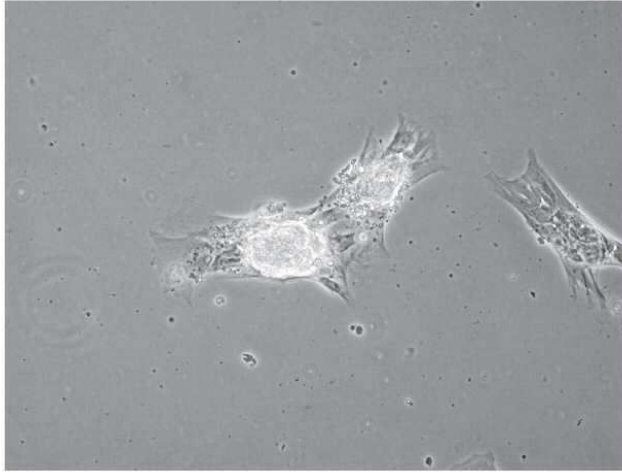
도면35

Human NME7-AB alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN.p9, p2 no ROCi Day 18 **4x**



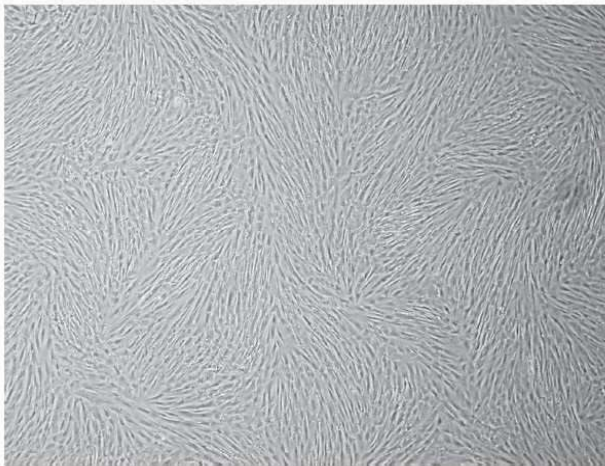
도면36

Human **NME7**-AB alone causes human fibroblasts to revert to a stem-like state
hFFN.p9, p2 no ROCi Day 18 **20x**



도면37

Control Cells: Human fibroblasts cultured in media in the absence of an NME protein
hFFN no ROCi Day 18 **4x**



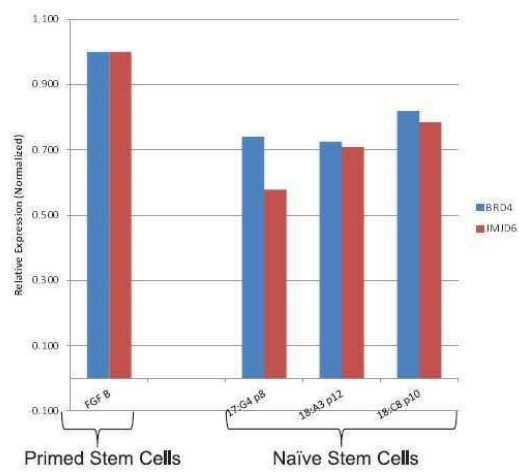
도면38

Control Cells: Human fibroblasts cultured in media in the absence of an NME protein
hFFN no ROCi Day 18 **20x**

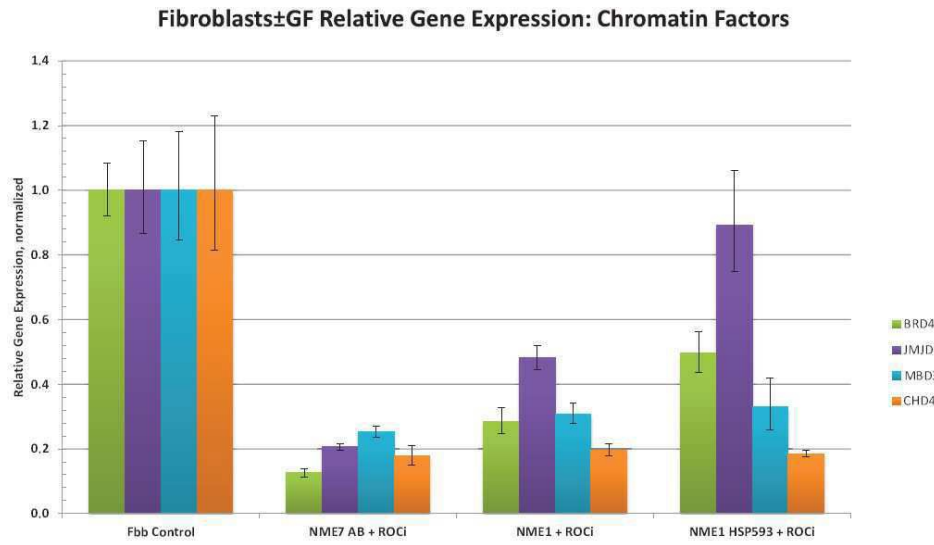


도면39

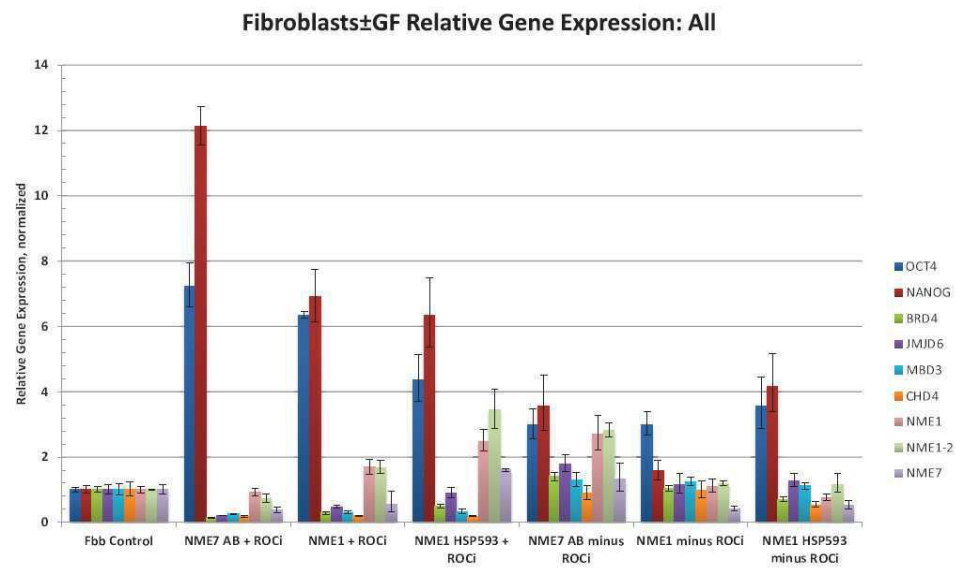
BRD4 Suppresses NME7, JMJD4 turns on NME1 (later stage self-regulating stem/cancer growth factor) In Earliest Naïve Stem Cells BRD4/JMJD4 Suppressed



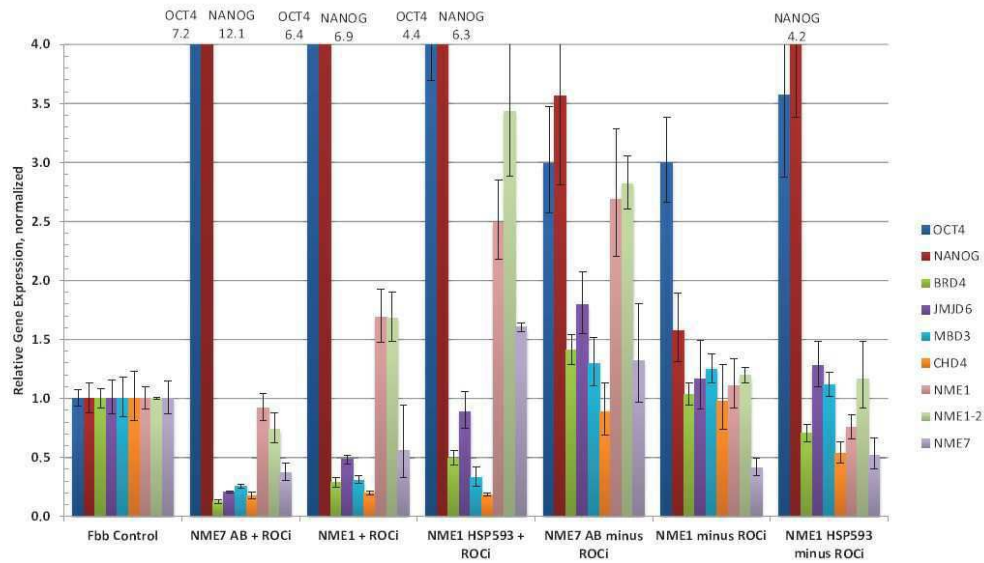
도면40



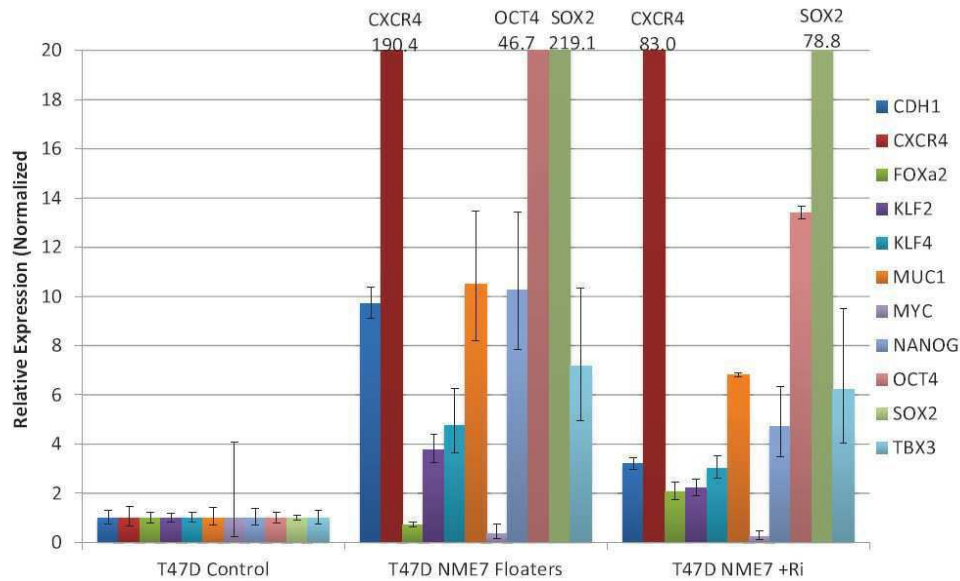
도면41



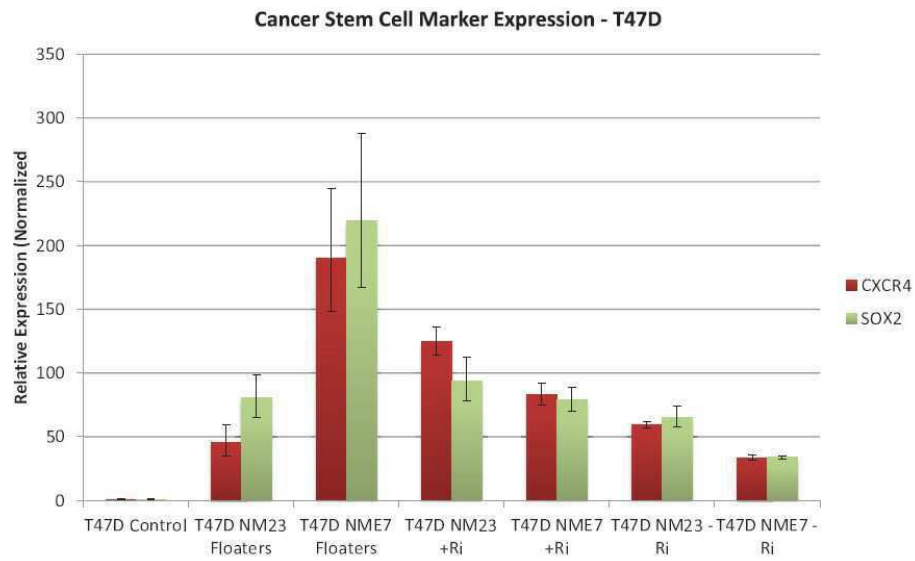
도면42



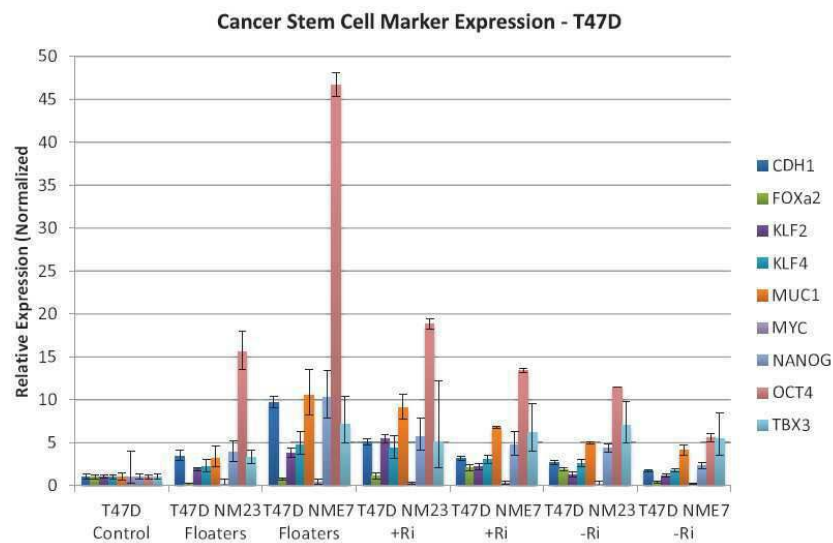
도면43



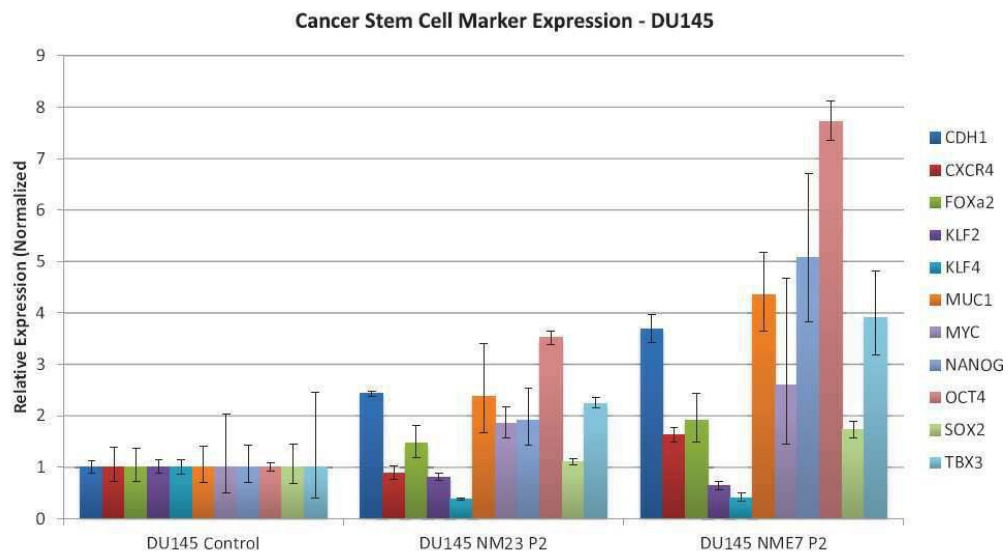
도면44



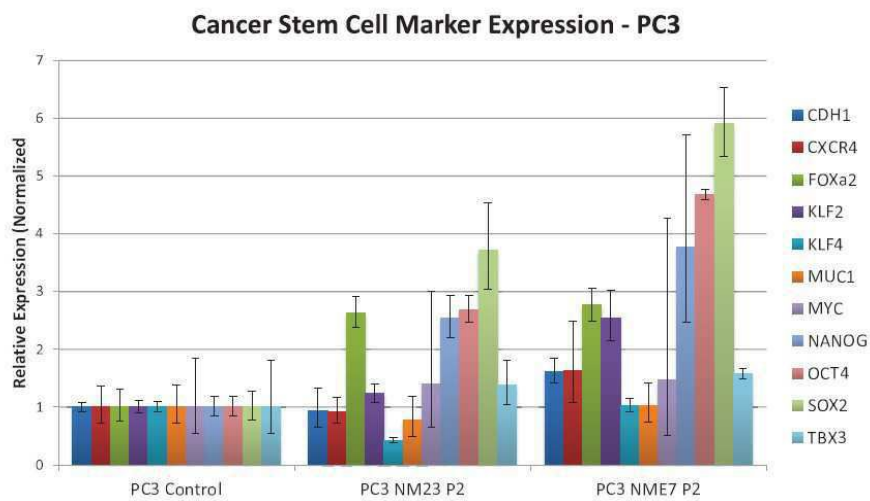
도면45



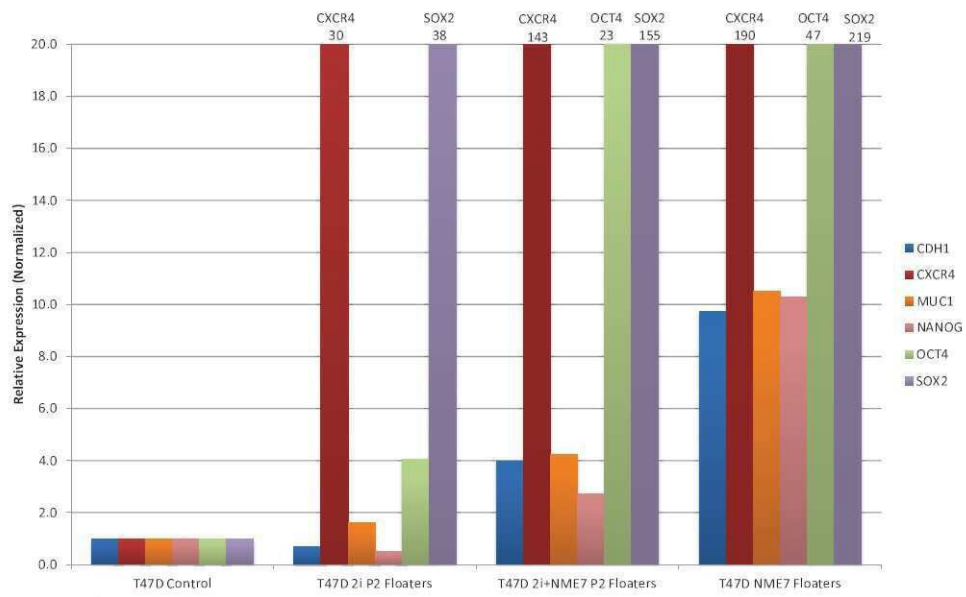
도면46



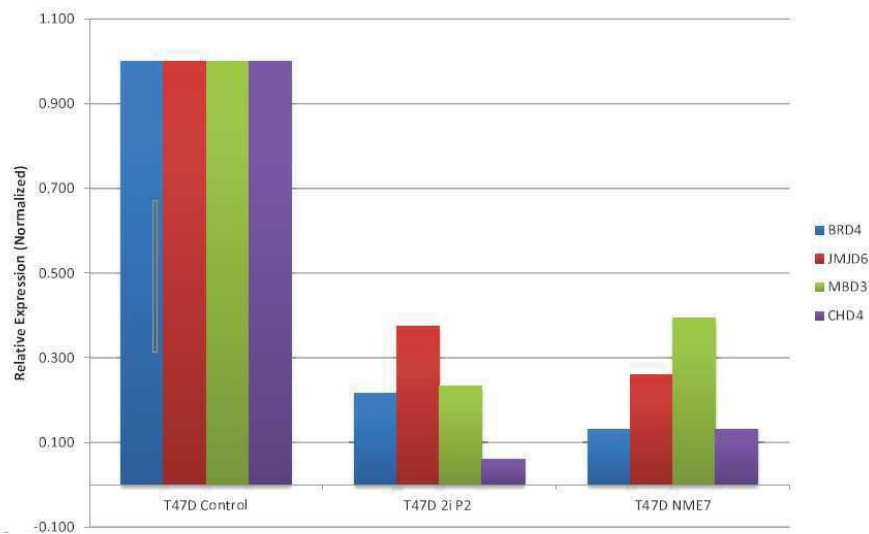
도면47



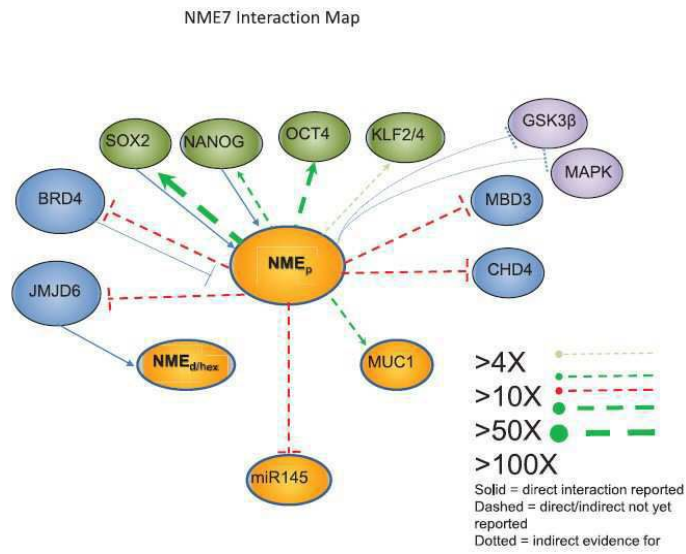
도면48



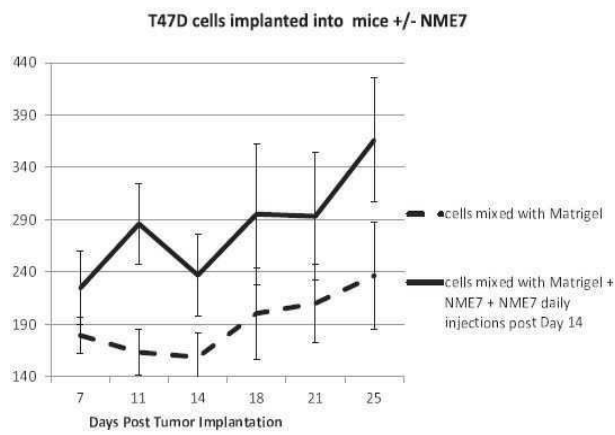
도면49



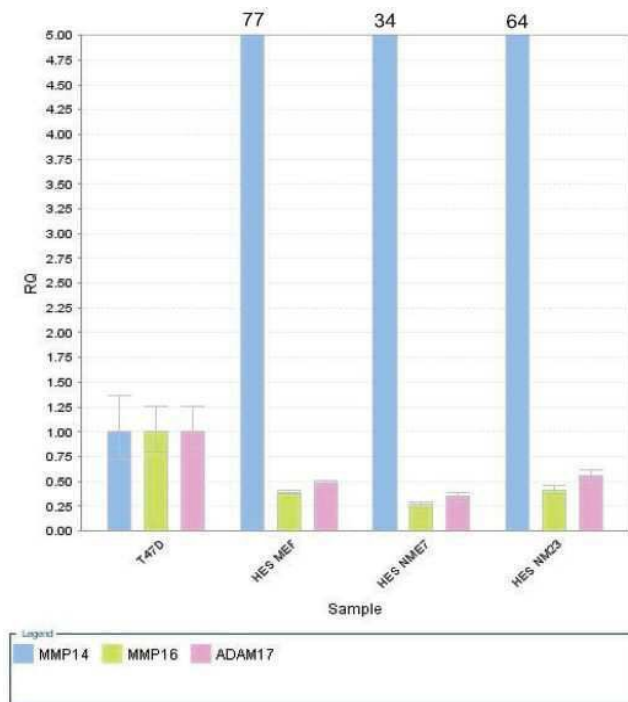
도면50



도면51

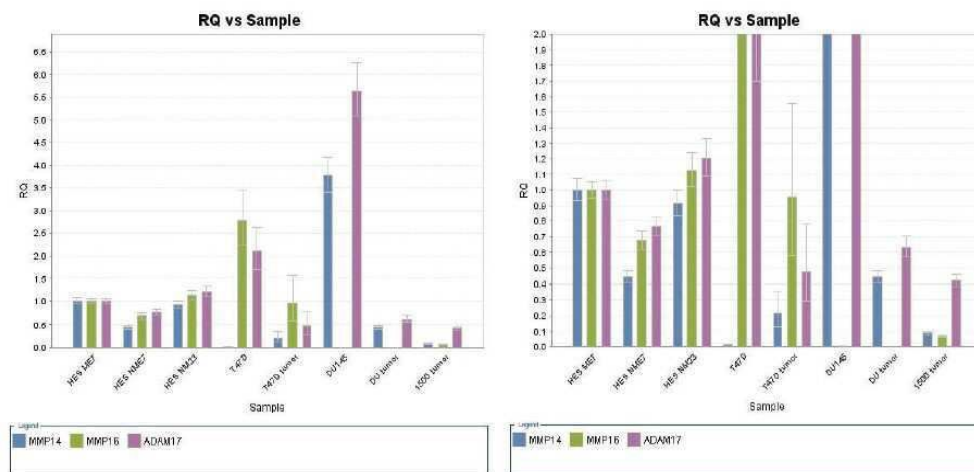


도면52



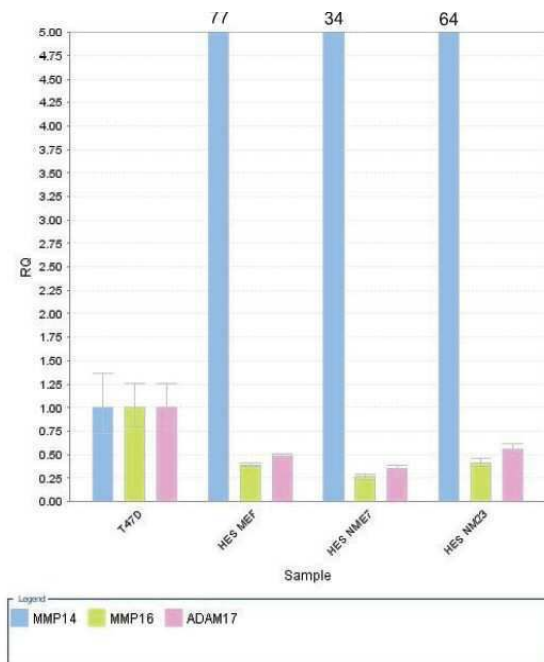
도면53

HES-3 ES CELLS ON MOUSE FEEDER
CELLS as the normalizer

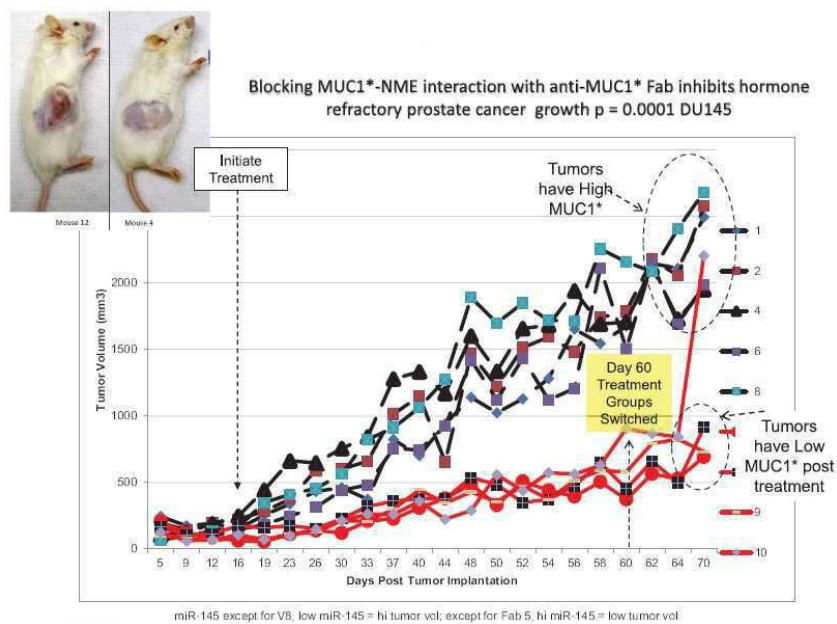


Reduced scale

도면54

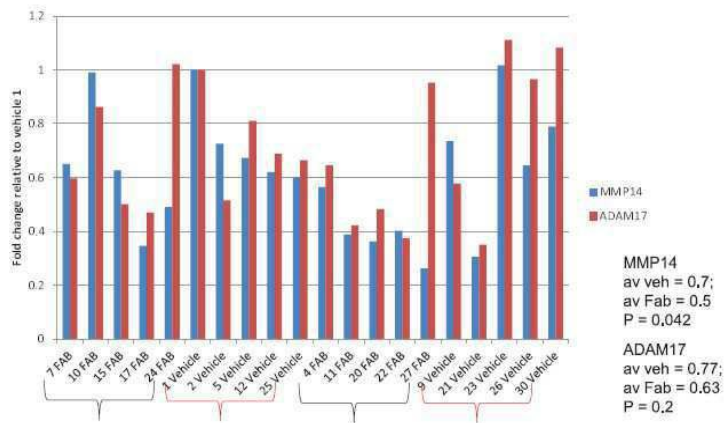


도면55



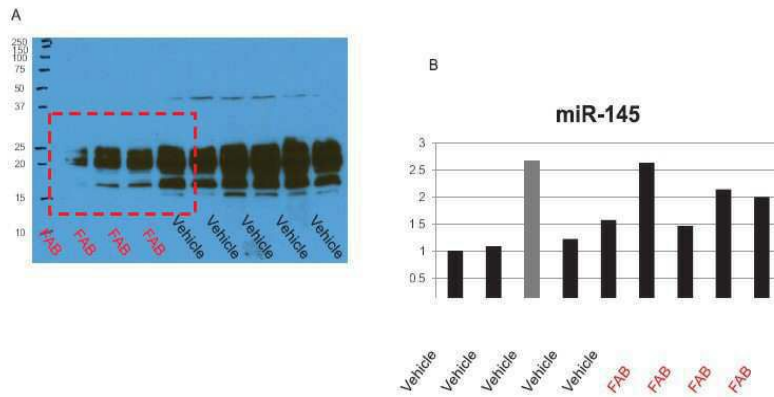
도면56

DU145 MUC1* positive prostate tumors implanted into NOD/SCID mice and treat with Fab of E6 monoclonal anti-MUC1* antibody; post sacrifice, RT-PCR performed to measure expression of MMP14 vs ADAM17 in tumors of treated vs untreated mice; treated mice had statistically significant reduction in MMP14 expression; this result mirrored by decrease in MUC1 cleavage in treated group.

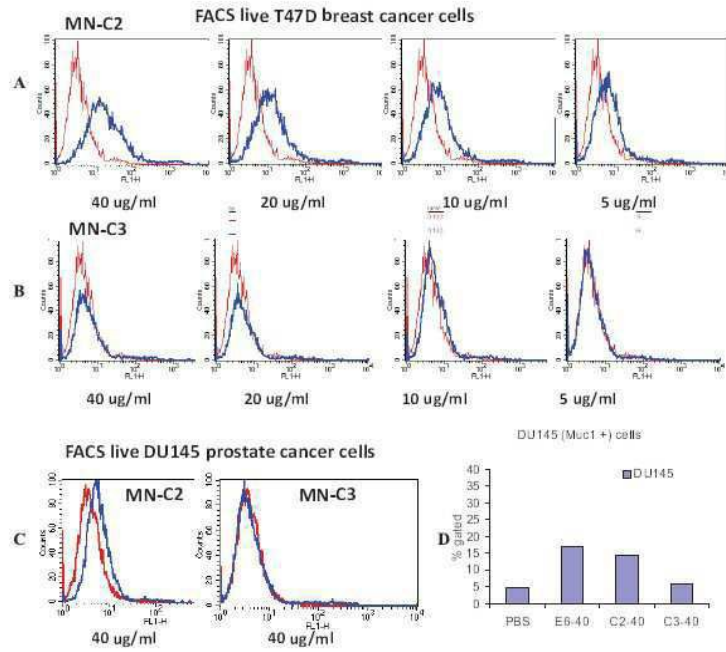


도면57

Anti-MUC1* Fab induces differentiation of tumor cells & inhibits cleavage of MUC1

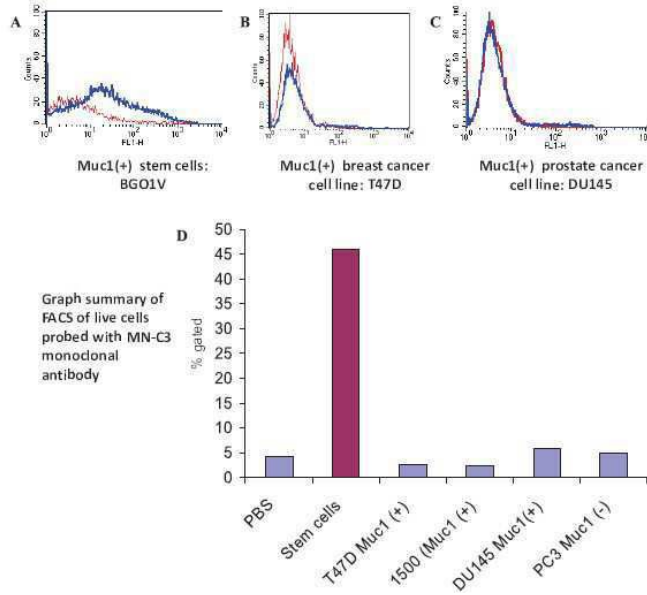


도면58



도면59

FACS of live stem cells vs cancer cells probed with stem cell specific MN-C3 anti-MUC1* monoclonal antibody



도면62

Immunizing peptides derived from human NME7

1. LALIKPDA (SEQ ID NO:88)
2. MMLSRKEALDFHVDHQS (SEQ ID NO:89)
3. ALDFHVDHQS (SEQ ID NO:90)
4. EILRDDAICEWKRL (SEQ ID NO:91)
5. FNELIQFTTGP (SEQ ID NO:92)
6. RDDAICEW (SEQ ID NO:93)
7. SGVARTDASESIRALPGTDGIRNAA (SEQ ID NO:94)
8. ELFFPSSGG (SEQ ID NO:95)
9. KFTNCTCCIVKPHAVSEGLLGKILMA (SEQ ID NO:96)
10. LMAIRDAGFEISAMQMFNMDRVNVEEYEVYKGVVT (SEQ ID NO:97)
11. EYEVYKGVVTEYHD (SEQ ID NO:98)
12. EIQQNNATKTFREFCGPADPEIARHLRPGTLRAIFGKTKIQNA (SEQ ID NO:99)
13. YSGPCVAM (SEQ ID NO:100)
14. PREFCGP (SEQ ID NO:101)
15. VHCTDLFPEDGLLEVQYFFKILDN (SEQ ID NO:102)
16. IQNAVHCTD (SEQ ID NO:103)
17. TDLFPEDGLLEVQYFFKILDN (SEQ ID NO:104)
18. PEDGLLEVQYFFK (SEQ ID NO:105)
19. EIINKAGFTITK (SEQ ID NO:106)
20. MLSRKEALDFHVDHQS (SEQ ID NO:107)
21. NELIQFTT (SEQ ID NO:108)
22. EILRDDAICEWKRL (SEQ ID NO:109)
23. SGVARTDASESIRALPGTDGI (SEQ ID NO:110)
24. SGVARTDASES (SEQ ID NO:111)
25. ALPGTDGI (SEQ ID NO:112)
26. NCTCCIVKPHAVSE (SEQ ID NO:113)
27. LGKILMAIRDA (SEQ ID NO:114)
28. EISAMQMFNMDRVNVE (SEQ ID NO:115)
29. EYKGVVT (SEQ ID NO:116)
30. EYHDMVTE (SEQ ID NO:117)
31. EFCGPADPEIARHLR (SEQ ID NO:118)
32. AIFGKTKIQNAV (SEQ ID NO:119)
33. LPEDGLLEVQYFFKILDN (SEQ ID NO:120)
34. GPDSFASAAREMELFFP (SEQ ID NO:121)

도면63

Immunizing peptides derived from human NME7

35. ICEWKRL (SEQ ID NO:122)
36. LGKILMAIRDA (SEQ ID NO:123)
37. HAVSEGLLGK (SEQ ID NO:124)
38. VTEMYS GP (SEQ ID NO:125)
39. NATKTFREF (SEQ ID NO:126)
40. AIRDAGFEI (SEQ ID NO:127)
41. AICEWKRL LGPAN (SEQ ID NO:128)
42. DHQSRPF (SEQ ID NO:129)
43. AICEWKRL LGPAN (SEQ ID NO:130)
44. VDHQSRPF (SEQ ID NO:131)
45. PDSFAS (SEQ ID NO:132)
46. KAGEIIEIINKAGFTITK (SEQ ID NO:133)

도면64

Human NME1 peptides having high homology to human NME7 and bacterial NME proteins

47. MANCERTFIAIKPDGVQRGLVGEIHKRFE (SEQ ID NO:134)
48. VDLKDRPF (SEQ ID NO:135)
49. HGSDSVESA EKEIGLWF (SEQ ID NO:136)
50. ERTFIAIKPDGVQRGLVGEIHKRFE (SEQ ID NO:137)
51. VDLKDRPFAGLVKYMHS GPVAMVWEGLN (SEQ ID NO:138)
52. NIHGSDSVESA EKEIGLWFHPPELV (SEQ ID NO:139)
53. KPDGVQRGLVGEII (SEQ ID NO:140)

서열목록

<110> MINERVA BIOTECHNOLOGIES CORPORATION
 <120> NME INHIBITORS AND METHODS OF USING NME INHIBITORS
 <130> PI1508-003
 <160> 158
 <170> KopatentIn 2.0
 <210> 1
 <211> 1255
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mucin 1 precursor
 <400> 1

Met	Thr	Pro	Gly	Thr	Gln	Ser	Pro	Phe	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr
1				5					10					15	
Val	Leu	Thr	Val	Val	Thr	Gly	Ser	Gly	His	Ala	Ser	Ser	Thr	Pro	Gly
			20					25					30		
Gly	Glu	Lys	Glu	Thr	Ser	Ala	Thr	Gln	Arg	Ser	Ser	Val	Pro	Ser	Ser
			35					40					45		
Thr	Glu	Lys	Asn	Ala	Val	Ser	Met	Thr	Ser	Ser	Val	Leu	Ser	Ser	His
			50					55					60		
Ser	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Thr	Thr	Gln	Gly	Gln	Asp	Val	Thr	Leu
			65				70				75			80	
Ala	Pro	Ala	Thr	Glu	Pro	Ala	Ser	Gly	Ser	Ala	Ala	Thr	Trp	Gly	Gln
				85						90				95	
Asp	Val	Thr	Ser	Val	Pro	Val	Thr	Arg	Pro	Ala	Leu	Gly	Ser	Thr	Thr
				100					105					110	
Pro	Pro	Ala	His	Asp	Val	Thr	Ser	Ala	Pro	Asp	Asn	Lys	Pro	Ala	Pro
				115					120					125	
Gly	Ser	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	His	Gly	Val	Thr	Ser	Ala	Pro	Asp	Thr
			130				135						140		
Arg	Pro	Ala	Pro	Gly	Ser	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	His	Gly	Val	Thr	Ser
145					150					155				160	
Ala	Pro	Asp	Thr	Arg	Pro	Ala	Pro	Gly	Ser	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	His

165	170	175	
Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala			
180	185	190	
Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro			
195	200	205	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
210	215	220	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
225	230	235	240
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
245	250	255	
Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala			
260	265	270	
Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro			
275	280	285	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
290	295	300	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
305	310	315	320
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
325	330	335	
Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala			
340	345	350	
Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro			
355	360	365	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
370	375	380	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
385	390	395	400
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
405	410	415	

Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
 420 425 430
 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
 435 440 445
 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
 450 455 460

 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
 465 470 475 480
 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
 485 490 495
 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
 500 505 510
 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
 515 520 525
 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr

 530 535 540
 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
 545 550 555 560
 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
 565 570 575
 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
 580 585 590
 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
 595 600 605

 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
 610 615 620
 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
 625 630 635 640
 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
 645 650 655
 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
 660 665 670

Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro

675	680	685	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
690	695	700	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
705	710	715	720
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
725	730	735	
Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala			
740	745	750	

Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro			
755	760	765	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
770	775	780	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
785	790	795	800
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
805	810	815	
Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala			

820	825	830	
Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro			
835	840	845	
Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr			
850	855	860	
Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser			
865	870	875	880
Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His			
885	890	895	

Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala		
900	905	910
Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro		

915 920 925
 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn
 930 935 940
 Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val Thr Ser
 945 950 955 960
 Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu Val His Asn Gly

 965 970 975
 Thr Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys Ser Thr Pro Phe
 980 985 990
 Ser Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr Leu Ala Ser His
 995 1000 1005
 Ser Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser Ser Val Pro Pro
 1010 1015 1020
 Leu Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu Ser Thr Gly Val
 1025 1030 1035 1040

 Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln Phe Asn Ser
 1045 1050 1055
 Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu Leu Gln Arg Asp
 1060 1065 1070
 Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly Gly Phe Leu Gly
 1075 1080 1085
 Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val Val Val Gln Leu Thr
 1090 1095 1100
 Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln

 1105 1110 1115 1120
 Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile
 1125 1130 1135
 Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser
 1140 1145 1150
 Gly Ala Gly Val Pro Gly Trp Gly Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Cys
 1155 1160 1165
 Val Leu Val Ala Leu Ala Ile Val Tyr Leu Ile Ala Leu Ala Val Cys

1170 1175 1180

Gln Cys Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg

1185 1190 1195 1200

Asp Thr Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly

 1205 1210 1215

Arg Tyr Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val

 1220 1225 1230

Ser Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val

 1235 1240 1245

Ala Ala Ala Ser Ala Asn Leu

 1250 1255

<210> 2

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> N-terminal MUC-1 signaling sequence for directing MUC1 receptor

 and truncated isoforms

<400> 2

Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Thr

 1 5 10 15

Val Leu Thr

<210> 3

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> N-terminal MUC-1 signaling sequence for directing MUC1 receptor

 and truncated isoforms

<400> 3

Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Thr

 1 5 10 15

Val Leu Thr Val Val Thr Ala

20

<210> 4

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> N-terminal MUC-1 signaling sequence for directing MUC1 receptor
and truncated isoforms

<400> 4

Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Leu Thr

1 5 10 15

Val Leu Thr Val Val Thr Gly

20

<210> 5

<211> 146

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> truncated MUC1 receptor isoform having nat-PSMGFR

<400> 5

Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys

1 5 10 15

Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val

20 25 30

Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala Gly Val Pro

35 40 45

Gly Trp Gly Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Cys Val Leu Val Ala Leu

50 55 60

Ala Ile Val Tyr Leu Ile Ala Leu Ala Val Cys Gln Cys Arg Arg Lys

65 70 75 80

Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg Asp Thr Tyr His Pro

85 90 95

Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly Arg Tyr Val Pro Pro

100 105 110

Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val Ser Ala Gly Asn Gly
 115 120 125

Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val Ala Ala Ala Ser Ala
 130 135 140

Asn Leu

145

<210> 6

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Native Primary Sequence of the MUC1 Growth Factor Receptor

<400> 6

Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys
 1 5 10 15

Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val
 20 25 30

Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala
 35 40 45

<210> 7

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Native Primary Sequence of the MUC1 Growth Factor Receptor

<400> 7

Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr
 1 5 10 15

Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser
 20 25 30

Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala
 35 40

<210> 8

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> "SPY" functional variant of the native Primary Sequence of the
MUC1 Growth Factor Receptor

<400> 8

Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys

1 5 10 15

Thr Glu Ala Ala Ser Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val

20 25 30

Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala

35 40 45

<210> 9

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> "SPY" functional variant of the native Primary Sequence of the
MUC1 Growth Factor Receptor

<400> 9

Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr

1 5 10 15

Glu Ala Ala Ser Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser

20 25 30

Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala

35 40

<210> 10

<211> 216

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MUC1 cytoplasmic domain nucleotide sequence

<400> 10

tgtcagtgcc gccgaaagaa ctacgggcag ctggacatct ttccagcccg ggatacctac 60

catcctatga gcgagtaccc cacctaccac acccatgggc gctatgtgcc ccctagcagt 120

accgatcgta gccctatga gaaggtttct gcaggtaacg gtggcagcag cctctcttac 180

acaaaccag cagtggcagc cgcttctgcc aacttg 216

<210> 11

<211> 72

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MUC1 cytoplasmic domain amino acid sequence

<400> 11

Cys Gln Cys Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala

1 5 10 15

Arg Asp Thr Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His

20 25 30

Gly Arg Tyr Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys

35 40 45

Val Ser Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala

50 55 60

Val Ala Ala Ala Ser Ala Asn Leu

65 70

<210> 12

<211> 854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7 nucleotide sequence

<400> 12

gagatcctga gacaatgaat catagtgaag gattcgcttt cattgcagag tggatatgac 60

caaatgcttc acttcttcga cgttatgagc ttttatttta ccaggggat ggatctgttg 120

aatgcatga tgtaaagaat catcgacac ttttaaagcg gaccaaata gataacctgc 180

acttgggaaga tttattttata ggcaacaaag tgaatgtctt ttctcgacaa ctggtattaa 240

ttgactatgg ggatcaatat acagctcgcc agctgggcag taggaaagaa aaaacgctag 300

ccctaattaa accagatgca atatcaaagg ctggagaaat aattgaaata ataacaaag 360

ctggatttac tataacaaa ctcaaatga tgatgctttc aaggaaagaa gcattggatt 420

ttcatgtaga tcaccagtca agaccctttt tcaatgagct gatccagttt attacaactg 480

gtcctattat tgccatggag attttaagag atgatgctat atgtgaatgg aaaagactgc 540

tgggacctgc aaactctgga gtggcagcga cagatgcttc tgaaagcatt agagccctct 600
 ttggaacaga tggcataaga aatgcagcgc atggccctga ttcttttgct tctgcggcca 660
 gagaatgga gttgtttttt cttcaagtg gaggttgtgg gccggcaaac actgctaaat 720
 ttactaatg tacctgttgc attgttaaac cccatgctgt cagtgaaggt atgtgaata 780
 cactatattc agtacatttt gttaatagga gagcaatgtt tattttcttg atgtacttta 840
 tgtatagaaa ataa 854

<210> 13

<211> 283

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7 amino acid sequence

<400> 13

Asp Pro Glu Thr Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu

1 5 10 15

Trp Tyr Asp Pro Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe

20 25 30

Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg

35 40 45

Thr Phe Leu Lys Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu

50 55 60

Phe Ile Gly Asn Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile

65 70 75 80

Asp Tyr Gly Asp Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu

85 90 95

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

100 105 110

Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys

115 120 125

Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His

130 135 140

Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly

145 150 155 160

Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp
165 170 175

Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala
180 185 190

Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala

195 200 205

Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu

210 215 220

Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe

225 230 235 240

Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly

245 250 255

Met Leu Asn Thr Leu Tyr Ser Val His Phe Val Asn Arg Arg Ala Met

260 265 270

Phe Ile Phe Leu Met Tyr Phe Met Tyr Arg Lys

275 280

<210> 14

<211> 534

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H1 nucleotide sequence

<400> 14

atggtgctac tgtctacttt agggatcgtc tttcaaggcg aggggcctcc tatctcaagc 60

tgtgatacag gaaccatggc caactgtgag cgtaccttca ttgcgatcaa accagatggg 120

gtccagcggg gtcttgtggg agagattatc aagcgttttg agcagaaagg attccgcctt 180

gttggcttga aattcatgca agcttccgaa gatcttctca aggaacacta cgttgacctg 240

aaggaccgtc cattctttgc cggcctgggtg aaatacatgc actcagggcc ggtagttgcc 300

atggtctggg aggggctgaa tgtggtgaag acgggccgag tcatgctcgg ggagaccaac 360

cctgcagact ccaagcctgg gaccatccgt ggagacttct gcatacaagt tggcaggaac 420

attatacatg gcagtgattc tgtggagagt gcagagaagg agatcggctt gtggtttcac 480

cctgaggaac tggtagatta cacgagctgt gctcagaact ggatctatga atga 534

<210> 15

<211> 177

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H1 amino acid sequence

<400> 15

Met Val Leu Leu Ser Thr Leu Gly Ile Val Phe Gln Gly Glu Gly Pro

1 5 10 15

Pro Ile Ser Ser Cys Asp Thr Gly Thr Met Ala Asn Cys Glu Arg Thr

20 25 30

Phe Ile Ala Ile Lys Pro Asp Gly Val Gln Arg Gly Leu Val Gly Glu

35 40 45

Ile Ile Lys Arg Phe Glu Gln Lys Gly Phe Arg Leu Val Gly Leu Lys

50 55 60

Phe Met Gln Ala Ser Glu Asp Leu Leu Lys Glu His Tyr Val Asp Leu

65 70 75 80

Lys Asp Arg Pro Phe Phe Ala Gly Leu Val Lys Tyr Met His Ser Gly

85 90 95

Pro Val Val Ala Met Val Trp Glu Gly Leu Asn Val Val Lys Thr Gly

100 105 110

Arg Val Met Leu Gly Glu Thr Asn Pro Ala Asp Ser Lys Pro Gly Thr

115 120 125

Ile Arg Gly Asp Phe Cys Ile Gln Val Gly Arg Asn Ile Ile His Gly

130 135 140

Ser Asp Ser Val Glu Ser Ala Glu Lys Glu Ile Gly Leu Trp Phe His

145 150 155 160

Pro Glu Glu Leu Val Asp Tyr Thr Ser Cys Ala Gln Asn Trp Ile Tyr

165 170 175

Glu

<210> 16

<211> 534

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H1 S120G mutant nucleotide sequence

<400> 16

atggtgctac tgtctacttt agggatcgtc tttcaaggcg aggggcctcc tatctcaagc	60
tgtgatacag gaaccatggc caactgtgag cgtaccttca ttgcgatcaa accagatggg	120
gtccagcggg gtcttgtggg agagattatc aagcgttttg agcagaaagg attccgcctt	180
gttggctctga aattcatgca agcttccgaa gatcttctca aggaacacta cgttgacctg	240
aaggaccgtc cattctttgc cggcctgggtg aaatacatgc actcagggcc ggtagttgcc	300
atggtctctgg aggggctgaa tgtggatgaag acgggccgag tcatgctcgg ggagaccaac	360
cctgcagact ccaagcctgg gaccatccgt ggagacttct gcatacaagt tggcaggaac	420
attatacatg gcggtgattc tgtggagagt gcagagaagg agatcggctt gtggtttcac	480
cctgaggaac tggtagatta cacgagctgt gctcagaact ggatctatga atga	534

<210> 17

<211> 177

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H1 S120G mutant amino acid sequence

<400> 17

Met Val Leu Leu Ser Thr Leu Gly Ile Val Phe Gln Gly Glu Gly Pro	
1 5 10 15	
Pro Ile Ser Ser Cys Asp Thr Gly Thr Met Ala Asn Cys Glu Arg Thr	
20 25 30	
Phe Ile Ala Ile Lys Pro Asp Gly Val Gln Arg Gly Leu Val Gly Glu	
35 40 45	
Ile Ile Lys Arg Phe Glu Gln Lys Gly Phe Arg Leu Val Gly Leu Lys	
50 55 60	
Phe Met Gln Ala Ser Glu Asp Leu Leu Lys Glu His Tyr Val Asp Leu	
65 70 75 80	
Lys Asp Arg Pro Phe Phe Ala Gly Leu Val Lys Tyr Met His Ser Gly	
85 90 95	
Pro Val Val Ala Met Val Trp Glu Gly Leu Asn Val Val Lys Thr Gly	
100 105 110	

Arg Val Met Leu Gly Glu Thr Asn Pro Ala Asp Ser Lys Pro Gly Thr

115 120 125
Ile Arg Gly Asp Phe Cys Ile Gln Val Gly Arg Asn Ile Ile His Gly
130 135 140
Gly Asp Ser Val Glu Ser Ala Glu Lys Glu Ile Gly Leu Trp Phe His
145 150 155 160
Pro Glu Glu Leu Val Asp Tyr Thr Ser Cys Ala Gln Asn Trp Ile Tyr
165 170 175
Glu

<210> 18
<211> 459
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H2 nucleotide sequence

<400> 18
atggccaacc tggagcgac cttcatcgcc atcaagccgg acggcgtgca gcgcggcctg 60
gtggcgaga tcatcaagcg cttcgagcag aaggattcc gcctcgtggc catgaagttc 120
ctccgggcct ctgaagaaca cctgaagcag cactacattg acctgaaaga ccgaccattc 180
ttccctgggc tggatgaagta catgaactca gggccggttg tggccatggt ctgggagggg 240
ctgaacgtgg tgaagacagg ccgagtgatg cttggggaga ccaatccagc agattcaaag 300
ccaggcacca ttcgtgggga cttctgcatt caggttggca ggaacatcat tcatggcagt 360

gattcagtaa aaagtgtga aaaagaaatc agcctatggt ttaagcctga agaactggtt 420
gactacaagt cttgtgctca tgactgggtc tatgaataa 459

<210> 19
<211> 152
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> NM23-H2 amino acid sequence

<400> 19
Met Ala Asn Leu Glu Arg Thr Phe Ile Ala Ile Lys Pro Asp Gly Val
1 5 10 15

Gln Arg Gly Leu Val Gly Glu Ile Ile Lys Arg Phe Glu Gln Lys Gly
20 25 30

Phe Arg Leu Val Ala Met Lys Phe Leu Arg Ala Ser Glu Glu His Leu
35 40 45

Lys Gln His Tyr Ile Asp Leu Lys Asp Arg Pro Phe Phe Pro Gly Leu
50 55 60

Val Lys Tyr Met Asn Ser Gly Pro Val Val Ala Met Val Trp Glu Gly
65 70 75 80

Leu Asn Val Val Lys Thr Gly Arg Val Met Leu Gly Glu Thr Asn Pro
85 90 95

Ala Asp Ser Lys Pro Gly Thr Ile Arg Gly Asp Phe Cys Ile Gln Val

100 105 110

Gly Arg Asn Ile Ile His Gly Ser Asp Ser Val Lys Ser Ala Glu Lys

115 120 125

Glu Ile Ser Leu Trp Phe Lys Pro Glu Glu Leu Val Asp Tyr Lys Ser

130 135 140

Cys Ala His Asp Trp Val Tyr Glu

145 150

<210> 20

<211> 1023

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NM23-H7-2 sequence optimized for E. coli expression

<

400> 20

atgcatgacg ttaaaaatca ccgtaccttt ctgaaacgca cgaaatatga taatctgcat 60

ctggaagacc tgtttattgg caacaaagtc aatgtgttct ctcgtcagct ggtgctgac 120

gattatggcg accagtacac cgcgctcaa ctgggtagtc gcaaagaaaa aacgctggcc 180

ctgattaac cggatgcaat ctccaaagct ggcgaaatta tcgaaattat caacaaagcg 240

ggtttcacca tcacgaaact gaaaatgatg atgctgagcc gtaaagaagc cctggatttt 300

catgtcgacc accagtctcg cccgtttttc aatgaactga ttcaattcat caccacgggt 360

ccgattatcg caatggaaat tctgcgtgat gacgctatct gcgaatggaa acgcctgctg 420

ggcccggaac actcagggtg tgcgcgtacc gatgccagtg aatccattcg cgctctgttt 480
 ggacccgatg gtatccgtaa tgcagcacat ggtccggact cattcgcatc ggacagctcgt 540
 gaaatgggaa tgtttttccc gagctctggc ggttgcggtc cggcaaacac cgccaaattt 600
 accaattgta cgtgctgtat tgtcaaaccg cagcagtggt cagaaggcct gctgggtaaa 660
 attctgatgg caatccgtga tgcctggcttt gaaatctcgg ccatgcagat gttcaacatg 720
 gaccgcgtta acgtcgaaga attctacgaa gttacaaaag gcgtgggttac cgaatatcac 780
 gatatgggta cggaaatgta ctccgggtccg tgcgtcgcga tggaaattca gcaaaacaat 840

gccacaaaa cgtttcgtga attctgtggt ccggcagatc cggaaatcgc acgtcatctg 900
 cgtccgggta ccctgcgcgc aatttttggg aaaacgaaaa tccagaacgc tgtgcaactgt 960
 accgatctgc cggaagacgg tctgctggaa gttcaatact tttcaaaat tctggataat 1020
 tga 1023

<210> 21

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NM23-H7-2 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 21

Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys Arg Thr Lys Tyr

1	5	10	15
Asp	Asn	Leu	His
Leu	Glu	Asp	Leu
Phe	Ile	Gly	Asn
Lys	Val	Asn	Val
20	25	30	
Phe	Ser	Arg	Gln
Leu	Val	Leu	Ile
Asp	Tyr	Gly	Asp
Gln	Tyr	Thr	Ala
35	40	45	
Arg	Gln	Leu	Gly
Ser	Arg	Lys	Glu
Lys	Thr	Leu	Ala
Leu	Ile	Lys	Pro
50	55	60	
Asp	Ala	Ile	Ser
Lys	Ala	Gly	Glu
Ile	Ile	Glu	Ile
Ile	Asn	Lys	Ala
65	70	75	80

Gly	Phe	Thr	Ile	Thr	Lys	Leu	Lys	Met	Met	Met	Leu	Ser	Arg	Lys	Glu
85	90	95													
Ala	Leu	Asp	Phe	His	Val	Asp	His	Gln	Ser	Arg	Pro	Phe	Phe	Asn	Glu
100	105	110													
Leu	Ile	Gln	Phe	Ile	Thr	Thr	Gly	Pro	Ile	Ile	Ala	Met	Glu	Ile	Leu

115	120	125	
Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn			
130	135	140	
Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe			
145	150	155	160
Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala			
	165	170	175
Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly Cys			
	180	185	190
Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val			
	195	200	205
Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala			
	210	215	220
Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met			
225	230	235	240
Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val			
	245	250	255
Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val			
	260	265	270
Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe			
	275	280	285
Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr			
290	295	300	
Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys			
305	310	315	320
Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys			
	325	330	335
Ile Leu Asp Asn			
	340		
<210>	22		
<211>	399		
<212>	DNA		

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A sequence

<400> 22

atggaaaaaa cgctagccct aattaaacca gatgcaatat caaaggctgg agaaataatt 60

gaaataataa acaaagctgg atttactata accaaactca aaatgatgat gctttcaagg 120

aaagaagcat tggattttca tgtagatcac cagtcaagac cctttttcaa tgagctgac 180

cagtttatta caactggtcc tattattgcc atggagattt taagagatga tgctatatgt 240

gaatggaaaa gactgctggg acctgcaaac tctggagtgg cacgcacaga tgcttctgaa 300

agcattagag ccctctttgg aacagatggc ataagaaatg cagcgcatgg ccctgattct 360

tttgcttctg cggccagaga aatggagttg tttttttga 399

<210> 23

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A amino sequence

<400> 23

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala

1 5 10 15

Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys

20 25 30

Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val

35 40 45

Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr

50 55 60

Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys

65 70 75 80

Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr

85 90 95

Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg

100 105 110

Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met

65 70 75 80
 Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr
 85 90 95

Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg
 100 105 110
 Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met
 115 120 125
 Glu Leu Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala
 130 135 140
 Lys Phe Thr

145

<210> 26

<211> 669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A2 sequence

<400> 26

atgaatcata gtgaaagatt cgttttcatt gcagagtggg atgatccaaa tgcttcactt 60
 cttcgacgtt atgagctttt attttaccca ggggatggat ctgttgaaat gcatgatgta 120
 aagaatcatc gcaccttttt aaagcggacc aaatatgata acctgcactt ggaagattta 180
 tttataggca acaaagttaa tgtcttttct cgacaactgg tattaattga ctatggggat 240
 caatatacag ctgccagct gggcagtagg aaagaaaaaa cgctagccct aattaaacca 300
 gatgcaatat caaaggctgg agaataatt gaaataataa acaaagctgg atttactata 360
 accaaactca aaatgatgat gctttcaagg aaagaagcat tggattttca ttagatcac 420

cagtcaagac cctttttcaa tgagctgac cagtttatta caactggtcc tattattgcc 480
 atggagattt taagagatga tgctatatgt gaatggaaaa gactgctggg acctgcaaac 540
 tctggagtgg cagcacaga tgcttctgaa agcattagag ccctctttgg aacagatggc 600
 ataagaaatg cagcgcatgg cctgattct tttgcttctg cgccagaga aatggagtgt 660
 tttttttga 669

<210> 27

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A2 amino sequence

<400> 27

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp

65 70 75 80

Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu

115 120 125

Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro

130 135 140

Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala

145 150 155 160

Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu

165 170 175

Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile

180 185 190

Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro

195 200 205

Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe

210 215 220

<210> 28

<211> 714

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A3 sequence

<400> 28

atgaatcata gtgaaagatt cgttttcatt gcagagtggat atgatccaaa tgcttcactt	60
cttcgacgtt atgagctttt attttaccca ggggatggat ctgttgaaat gcatgatgta	120
aagaatcatc gcaccttttt aaagcggacc aaatatgata acctgcactt ggaagattta	180
tttataggca acaaaagttaa tgtcttttct cgacaactgg tattaattga ctatggggat	240
caatatacag ctgcgcagct gggcagtagg aaagaaaaaa cgctagccct aattaaacca	300

gatgcaatat	caaaggctgg	agaaataatt	gaaataataa	acaaagctgg	atttactata	360
accaaactca	aaatgatgat	gctttcaagg	aaagaagcat	tggattttca	tgtagatcac	420
cagtcaagac	cctttttcaa	tgagctgata	cagtttatta	caactgggtcc	tattattgcc	480
atggagattt	taagagatga	tgctatatgt	gaatggaaaa	gactgctggg	acctgcaaac	540
tctggagtgg	cacgcacaga	tgcttctgaa	agcattagag	ccctctttgg	aacagatggc	600
ataagaaatg	cagcgcatgg	ccctgattct	tttgcttctg	cggccagaga	aatggagttg	660
ttttttcctt	caagtggagg	ttgtgggccg	gcaaacactg	ctaaattttac	ttga	714

<210> 29

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A3 amino sequence

<400> 29

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp
65 70 75 80
Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala
85 90 95
Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala Gly Glu Ile Ile Glu Ile
100 105 110
Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu
115 120 125

Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro
130 135 140
Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala
145 150 155 160
Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu
165 170 175
Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile
180 185 190
Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro

195 200 205
Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser
210 215 220
Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr
225 230 235

<210> 30

<211> 408

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B sequence

<400> 30

atgaattgta cctgttgcac tgttaaacc catgctgtca gtgaaggact gttgggaaag 60

atcctgatgg ctatccgaga tgcaggtttt gaaatctcag ctatgcagat gttcaatatg 120

gatcgggtta atgttgagga attctatgaa gtttataaag gagtagtgac cgaatatcat 180

gacatggtga cagaaatgta ttctggccct tgtgtagcaa tggagattca acagaataat 240

gctacaaaga catttcgaga attttgtgga cctgctgata ctgaaattgc ccggcattta 300
cgccctggaa ctctcagagc aatctttggt aaaactaaga tccagaatgc tgttcactgt 360
actgatctgc cagaggatgg cctattagag gttcaatact tcttctga 408

<210> 31

<211> 135

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B amino sequence

<400> 31

Met Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly

1 5 10 15

Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile

20 25 30

Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe

35 40 45

Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr

50 55 60

Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn

65 70 75 80

Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile

85 90 95

Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr

100 105 110

Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu

115 120 125

Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe

130 135

<210> 32

<

211> 426

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B1 sequence

<400> 32

atgaattgta cctgttgcac tgtaaaccac catgctgtca gtgaaggact gttgggaaag 60
atcctgatgg ctatccgaga tgcaggtttt gaaatctcag ctatgcagat gttcaatatg 120
gatcgggtta atgttgagga attctatgaa gttataaag gagtagtgac cgaatatcat 180
gacatgggtga cagaaatgta ttctggccct tgtgtagcaa tggagattca acagaataat 240
gctacaaaga catttcgaga attttgtgga cctgctgac ctgaaattgc ccggcattta 300
cgccctggaa ctctcagagc aatctttggt aaaactaaga tccagaatgc tgttcactgt 360

actgatctgc cagaggatgg cctattagag gttcaatact tcttcaagat cttggataat 420
tagtga 426

<210> 33

<211> 140

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B1 amino sequence

<400> 33

Met Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly

1 5 10 15

Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile

20 25 30

Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe

35 40 45

Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr

50 55 60

Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn

65 70 75 80

Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile

85 90 95

Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr

100 105 110

Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu

115 120 125

Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn

130 135 140

<210> 34

<211> 453

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B2 sequence

<400> 34

atgcccttcaa gtggaggttg tgggccggca aacctgcta aatttactaa ttgtacctgt 60

tgcatgttta aaccccatgc tgtcagtgaa ggactgttgg gaaagatcct gatggctatc 120

cgagatgcag gttttgaaat ctacagctatg cagatgttca atatggatcg ggtaaatgtt 180

gaggaattct atgaagttaa taaaggagta gtgaccgaat atcatgacat ggtgacagaa 240

atgtattctg gcccttgtgt agcaatggag attcaacaga ataatgctac aaagacattt 300

cgagaatttt gtggacctgc tgatcctgaa attgcccggc atttacgcc tggaactctc 360

agagcaatct ttggtaaaac taagatccag aatgctgttc actgtactga tctgccagag 420

gatggcctat tagaggttca atacttcttc tga 453

<210> 35

<211> 150

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B2 amino sequence

<400> 35

Met Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr

1 5 10 15

Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu

20 25 30

Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser

35 40 45

Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr

50 55 60

Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu

65 70 75 80

Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala

85 90 95
 Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala
 100 105 110
 Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys
 115 120 125

Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu
 130 135 140

Glu Val Gln Tyr Phe Phe
 145 150

<210> 36

<211> 471

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B3 sequence

<400> 36

atgccttcaa gtggagggtg tgggccggca aacactgcta aatttactaa ttgtacctgt 60
 tgcattgtta aaccccatgc tgtcagtga ggactgttgg gaaagatcct gatggctatc 120
 cgagatgcag gttttgaaat ctcagctatg cagatgttca atatggatcg ggttaatgtt 180

gaggaattct atgaagttta taaaggagta gtgaccgaat atcatgacat ggtgacagaa 240
 atgtattctg gcccttgtgt agcaatggag attcaacaga ataatgctac aaagacattt 300
 cgagaatttt gtggacctgc tgatcctgaa attgcccggc atttacgccc tggaactctc 360
 agagcaatct ttggtaaaac taagatccag aatgctgttc actgtactga tctgccagag 420
 gatggcctat tagaggttca atacttcttc aagatcttgg ataattagt a 471

<210> 37

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B3 amino sequence

<400> 37

Met Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr
 1 5 10 15
 Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu

20 25 30
 Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser
 35 40 45
 Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr
 50 55 60
 Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu

 65 70 75 80
 Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala
 85 90 95
 Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala
 100 105 110
 Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys
 115 120 125
 Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu
 130 135 140

Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn

145 150 155

<210> 38

<211> 864

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB sequence

<400> 38

atggaaaaa cgctagccct aattaaacca gatgcaatat caaaggctgg agaaataatt 60
 gaaataataa acaaagctgg atttactata accaaactca aatgatgat gctttcaagg 120
 aaagaagcat tggattttca tgtagatcac cagtcaagac cctttttcaa tgagctgac 180
 cagtttatta caactggtcc tattattgcc atggagattt taagagatga tgctatatgt 240

gaatggaaaa gactgctggg acctgcaaac tctggagtgg cagcacaga tgcttctgaa 300
 agcattagag ccctctttgg aacagatggc ataagaaatg cagcgcattg ccctgattct 360
 tttgcttctg cggccagaga aatggagtgt ttttttcctt caagtggagg ttgtgggccg 420
 gcaaacactg ctaaatattac taattgtacc tgttgcatgt ttaaacccca tgctgtcagt 480
 gaaggactgt tgggaaagat cctgatggct atccgagatg caggttttga aatctcagct 540

atgcagatgt tcaatatgga tcgggttaat gttgaggaat tctatgaagt ttataaagga 600
gtagtgaccg aatatcatga catggtgaca gaaatgtatt ctggcccttg ttagcaatg 660

gagattcaac agaataatgc tacaagaca ttctgagaat tttgtggacc tgctgacct 720
gaaattgccc ggcatcttac ccctggaact ctcagagcaa tctttggtaa aactaagatc 780
cagaatgctg ttcactgtac tgatctgcca gaggatggcc tattagaggt tcaatacttc 840
ttcaagatct tggataatta gtga 864

<210> 39

<211> 286

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB amino sequence

<400> 39

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala

1	5	10	15
Gly	Glu	Ile	Ile
Glu	Ile	Ile	Asn
Lys	Ala	Gly	Phe
Thr	Ile	Thr	Lys
20	25	30	
Leu	Lys	Met	Met
Met	Leu	Ser	Arg
Lys	Glu	Ala	Leu
Asp	Phe	His	Val
35	40	45	
Asp	His	Gln	Ser
Arg	Pro	Phe	Phe
Asn	Glu	Leu	Ile
Gln	Phe	Ile	Thr
50	55	60	
Thr	Gly	Pro	Ile
Ile	Ala	Met	Glu
Ile	Leu	Arg	Asp
Asp	Ala	Ile	Cys
65	70	75	80

Glu	Trp	Lys	Arg	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asn	Ser	Gly	Val	Ala	Arg	Thr
85	90	95													
Asp	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Arg	Ala	Leu	Phe	Gly	Thr	Asp	Gly	Ile	Arg
100	105	110													
Asn	Ala	Ala	His	Gly	Pro	Asp	Ser	Phe	Ala	Ser	Ala	Ala	Arg	Glu	Met
115	120	125													
Glu	Leu	Phe	Phe	Pro	Ser	Ser	Gly	Gly	Cys	Gly	Pro	Ala	Asn	Thr	Ala
130	135	140													
Lys	Phe	Thr	Asn	Cys	Thr	Cys	Cys	Ile	Val	Lys	Pro	His	Ala	Val	Ser

145 150 155 160
 Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe
 165 170 175
 Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu
 180 185 190
 Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met
 195 200 205
 Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln
 210 215 220

Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro
 225 230 235 240
 Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly
 245 250 255
 Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp
 260 265 270
 Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn
 275 280 285

<210> 40

<211

> 846

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB1 sequence

<400> 40

atggaaaaaa cgctagccct aattaaacca gatgcaatat caaaggctgg agaaataatt 60
 gaaataataa acaaagctgg atttactata accaaactca aaatgatgat gctttcaagg 120
 aaagaagcat tggattttca tgtagatcac cagtcaagac cctttttcaa tgagctgac 180
 cagtttatta caactgggcc tattattgcc atggagattt taagagatga tgctatatgt 240
 gaatggaaaa gactgctggg acctgcaaac tctggagtgg cagcacaga tgcttctgaa 300
 agcattagag ccctctttgg aacagatggc ataagaaatg cagcgcatgg ccctgattct 360

tttgcttctg cgccagaga aatggagttg ttttttcctt caagtggagg ttgtgggccg 420
 gcaaactg ctaaatttac taattgtacc tgttgcatg ttaaacccca tgctgtcagt 480
 gaaggactgt tgggaaagat cctgatggct atccgagatg caggttttga aatctcagct 540

atgcagatgt tcaatatgga tcgggttaat gttgaggaat tctatgaagt ttataaagga 600
 gtagtgaccg aatatcatga catggtgaca gaaatgtatt ctggcccttg ttagcaatg 660
 gaggattcaac agaataatgc tacaagaca tttcgagaat tttgtggacc tgctgaccc 720
 gaaattgccc ggcatattacg ccctggaact ctgagagcaa tctttggtaa aactaagatc 780

cagaatgctg ttactgtac tgatctgcca gaggatggcc tattagaggt tcaatacttc 840
 ttctga 846

<210> 41

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB1 amino sequence

<400> 41

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala

1 5 10 15

Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys

20 25 30

Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val

35 40 45

Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr

50 55 60

Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys

65 70 75 80

Gly Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr

85 90 95

Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg

100 105 110

Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met

115 120 125

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

130 135 140

Lys Phe Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser

145 150 155 160

Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe
165 170 175

Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu
180 185 190

Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met
195 200 205

Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln
210 215 220

Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro
225 230 235 240

Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly

245 250 255
Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp
260 265 270

Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe
275 280

<210> 42

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A sequence optimized for E. coli expression

<400> 42

atggaaaaaa cgctggccct gattaaaccg gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc 60

gaaattatca acaaagcggg ttccaccatc acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt 120

aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac cagtctcgcc cgtttttcaa tgaactgatt 180

caattcatca ccacgggtcc gattatcgca atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc 240

gaatggaaac gctgctggg cccggcaaac tcaggtgttg cgcgtaccga tgccagtga 300

tccattcgcg ctctgtttgg caccgatggt atccgtaatg cagcacatgg tccggactca 360

ttcgcatcgg cagctcgtga aatggaactg tttttctga 399

<210> 43

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 43

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala

1 5 10 15

Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys

20 25 30

Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val

35 40 45

Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr

50 55 60

Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys

65 70 75 80

Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr

85 90 95

Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg

100 105 110

Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met

115 120 125

Glu Leu Phe Phe

130

<210> 44

<211> 444

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A1 sequence optimized for E. coli expression

<400> 44

atggaaaaaa cgctggccct gattaaaccg gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc 60

gaaattatca acaaagcggg tttcaccatc acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt 120

aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac cagtctcgcc cgtttttcaa tgaactgatt 180

caattcatca ccacgggtcc gattatcgca atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc 240

gaatggaaac gcctgctggg cccggcaaac tcaggtgttg cgcgtaccga tgccagtga 300

tccattcgcg ctctgtttgg caccgatggt atccgtaatg cagcacatgg tccggactca 360

ttcgcatcgg cagctcgtga aatggaactg tttttccga gctctggcgg ttgcggtccg 420

gcaaacaccg ccaaatttac ctga 444

<210> 45

<211> 147

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A1 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 45

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala

1 5 10 15

Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys

20 25 30

Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val

35 40 45

Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr

50 55 60

Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys

65 70 75 80

Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr

85 90 95

Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg

100 105 110

Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met

115 120 125

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

130 135 140

Lys Phe Thr

145

<210> 46

<211> 669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A2 sequence optimized for E. coli expression

<400> 46

```
atgaatcact ccgaacgctt tgtttttatc gccgaatggt atgacccgaa tgcttccttg      60
ctgcgccgct acgaactgct gttttatccg ggcatggta gcgtggaaat gcatgacgtt      120
aaaaatcacc gtacctttct gaaacgcacg aaatatgata atctgcatct ggaagacctg      180
tttattggca acaaagtcaa tgtgttctct cgtcagctgg tgctgatcga ttatggcgac      240
cagtacaccg cgcgtcaact gggtagtcgc aaagaaaaaa cgctggccct gattaaaccg      300
gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc gaaattatca acaaagcggg tttcaccatc      360
acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac      420
```

```
cagctctgcc cgtttttcaa tgaactgatt caattcatca ccacgggtcc gattatcgca      480
atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc gaatggaaac gcctgctggg cccggcaaac      540
tcaggtgttg cgcgtaccga tgccagttaa tccattcgcg ctctgtttgg caccgatggt      600
atccgtaatg cagcacatgg tccggactca ttcgcatcgg cagctcgtga aatggaactg      660
tttttctga                                     669
```

<210> 47

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A2 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 47

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp

65 70 75 80

Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala
85 90 95
Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala Gly Glu Ile Ile Glu Ile
100 105 110
Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu
115 120 125
Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro
130 135 140

Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala
145 150 155 160
Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu
165 170 175
Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile
180 185 190
Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro
195 200 205
Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe

210 215 220
<210> 48
<211> 714
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human NME7-A3 sequence optimized for E. coli expression
<400> 48

atgaatcact ccgaacgctt tgtttttata gccgaatggt atgacccgaa tgcttcctg 60
ctgcgccgct acgaactgct gttttatccg ggcatggtta gcgtggaaat gcatgacgtt 120
aaaaatcacc gtacctttct gaaacgcacg aaatatgata atctgcatct ggaagacctg 180
tttattggca acaaagtcaa tgtgttctct cgtcagctgg tgctgatcga ttatggcgac 240
cagtacaccg cgcgtcaact gggtagtcgc aaagaaaaaa cgctggccct gattaaaccg 300
gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc gaaattatca acaaagcggg tttcaccatc 360
acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac 420
cagtcctgcc cgtttttcaa tgaactgatt caattcatca ccacgggtcc gattatcgca 480

atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc gaatggaaac gcctgctggg cccggcaaac 540
tcaggtgttg cgcgtaccga tgccagtga tccattcgcg ctctgtttgg caccgatggt 600
atccgtaatg cagcacatgg tccggactca ttgcacatcg cagctcgtga aatggaactg 660

tttttccga gctctggcgg ttgcggtccg gcaaacaccg ccaaatttac ctga 714

<210> 49

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-A3 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 49

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp

65 70 75 80

Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu

115 120 125

Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro

130 135 140

Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala

145 150 155 160

Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu

165 170 175

Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile

180 185 190
Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro

195 200 205
Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser

210 215 220
Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr

225 230 235

<210> 50

<211> 408

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B sequence optimized for E. coli expression

<400> 50

atgaattgta cgtgctgtat tgtcaaaccg caccgagtgt cagaaggcct gctgggtaaa 60
attctgatgg caatccgtga tgctggcttt gaaatctcgg ccatgcagat gttcaacatg 120
gaccgcgtta acgtcgaaga attctacgaa gtttacaag gcgtgggttac cgaatatcac 180
gatatgggta cggaatgta ctccgggtccg tgcgtcgcga tggaaattca gaaaacaat 240
gccacaaaa cgtttcgtga attctgtggt ccggcagatc cggaatcgc acgtcatctg 300
cgtccgggta ccttcgcgcg aatttttggg aaaacgaaaa tccagaacgc tgtgcactgt 360
accgatctgc cggaagacgg tctgctggaa gttcaatact ttttctga 408

<210> 51

<211> 135

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 51

Met Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly

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

20 25 30
Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe

	35	40	45	
	Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr			
	50	55	60	
	Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn			
	65	70	75	80
	Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile			
	85	90	95	
	Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr			
	100	105	110	
	Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu			
	115	120	125	
	Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe			
	130	135		
<210>	52			
<211>	423			
<212>	DNA			
<213>	Artificial Sequence			
<220><223>	Human NME7-B1 sequence optimized for E. coli expression			
<400>	52			
	atgaattgta cgtgctgtat tgtcaaaccg cacgcagtgt cagaaggcct gctgggtaaa			60
	attctgatgg caatccgtga tgctggcttt gaaatctcgg ccatgcagat gttcaacatg			120
	gaccgcgtta acgtcgaaga attctacgaa gtttaciaaag gcgtgggttac cgaatatcac			180
	gatatgggta cggaaatgta ctccggtcgg tgcgtcgcca tggaaattca gcaaaacaat			240
	gccacaaaaa cgtttcgtga attctgtggt ccggcagatc cggaaatcgc acgtcatctg			300
	cgtcctgggta ccctgcgcgc aatttttggt aaaacgaaaa tccagaacgc tgtgcactgt			360
	accgatctgc cggaagacgg tctgctggaa gttcaatact ttttcaaagt tctggataat			420
	tga			423
<210>	53			
<211>	140			
<212>	PRT			
<213>	Artificial Sequence			
<220><223>	Human NME7-B1 amino sequence optimized for E. coli expression			

<400> 53

Met Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly

1	5	10	15
Leu	Leu	Gly	Lys
Ile	Leu	Met	Ala
Ile	Arg	Asp	Ala
Gly	Phe	Glu	Ile
20	25	30	
Ser	Ala	Met	Gln
Met	Phe	Asn	Met
Asp	Arg	Val	Asn
Val	Glu	Glu	Phe
35	40	45	
Tyr	Glu	Val	Tyr
Lys	Gly	Val	Val
Thr	Glu	Tyr	His
Asp	Met	Val	Thr
50	55	60	
Glu	Met	Tyr	Ser
Gly	Pro	Cys	Val
Ala	Met	Glu	Ile
Gln	Gln	Asn	Asn
65	70	75	80

Ala	Thr	Lys	Thr
Phe	Arg	Glu	Phe
Cys	Gly	Pro	Ala
Asp	Pro	Glu	Ile
85	90	95	
Ala	Arg	His	Leu
Arg	Pro	Gly	Thr
Leu	Arg	Ala	Ile
Phe	Gly	Lys	Thr
100	105	110	
Lys	Ile	Gln	Asn
Ala	Val	His	Cys
Thr	Asp	Leu	Pro
Glu	Asp	Gly	Leu
115	120	125	
Leu	Glu	Val	Gln
Tyr	Phe	Phe	Lys
Ile	Leu	Asp	Asn
130	135	140	

<210> 54

<211> 453

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B2 sequence optimized for E. coli expression

<400> 54

atgccgagct ctggcgggtg cggtcggca aacaccgcca aatttacaa ttgtacgtgc	60
tgtattgtca aaccgcacgc agtgtcagaa ggctgtctgg gtaaaattct gatggcaatc	120
cgtgatgctg gctttgaaat ctcgccatg cagatgttca acatggaccg cgttaacgtc	180
gaagaattct acgaagtta caaaggcgtg gttaccgaat atcacgatat gggtacggaa	240
atgtactccg gtccgtgcgt cgcatggaa attcagcaaa acaatgccac caaacgttt	300
cgtgaattct gtggtccggc agatccggaa atcgcacgtc atctgcgtcc gggtaccctg	360

cgcgcaattt ttggtaaaac gaaaatccag aacgctgtgc actgtaccga tctgccggaa 420

gacggtctgc tggaagttca atactttttc tga 453

<210> 55

<211> 150

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B2 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 55

Met Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr

1 5 10 15

Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu

20 25 30

Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser

35 40 45

Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr

50 55 60

Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu

65 70 75 80

Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala

85 90 95

Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala

100 105 110

Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys

115 120 125

Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu

130 135 140

Glu Val Gln Tyr Phe Phe

145 150

<210> 56

<211> 468

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B3 sequence optimized for E. coli expression

<400> 56

atgccgagct ctggcgggtg cggtcggca aacacgcca aatttacaa ttgtacgtgc 60
 tgtattgtca aaccgcacgc agtgcagaa ggctgctgg gtaaaattct gatggcaatc 120
 cgtgatgctg gctttgaaat ctggccatg cagatgttca acatggaccg cgtaaacgtc 180
 gaagaattct acgaagtta caaaggcgtg gttaccgaat atcacgatat gggtacggaa 240
 atgtactccg gtccgtgcgt cgcgatggaa attcagcaaa acaatgccac caaacgttt 300
 cgtgaattct gtggtccggc agatccggaa atgcacgtc atctgcgtcc gggtaccctg 360
 cgcgcaattt ttggtaaaac gaaaatccag aacgtgtgc actgtaccga tctgccggaa 420

gacggtctgc tggaagttca atacttttc aaaattctgg ataattga 468

<210> 57

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-B3 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 57

Met Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr

1 5 10 15

Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu

20 25 30

Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser

35 40 45

Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr

50 55 60

Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu

65 70 75 80

Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala

85 90 95

Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala

100 105 110

Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys

115	120	125	
Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu			
130	135	140	
Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn			
145	150	155	
<210>	58		
<211>	861		
<212>	DNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Human NME7-AB sequence optimized for E. coli expression		
<400>	58		
atggaaaaaa cgctggccct gattaaaccg gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc			60
gaaattatca acaaagcggg ttccaccatc acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt			120
aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac cagtctcgcc cgtttttcaa tgaactgatt			180
caattcatca ccacgggtcc gattatcgca atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc			240
gaatggaaac gccctgtggg cccggcaaac tcagggtgtg cgcgtaccga tgccagtga			300
tccatttcgcg ctctgtttgg caccgatggg atccgtaatg cagcacatgg tccggactca			360
ttcgcacatcg cagctcgtga aatggaaactg tttttcccga gctctggcgg ttgcggtccg			420
gcaaacaccg ccaaatttac caattgtacg tgctgtattg tcaaaccgca cgcagtgtca			480
gaaggcctgc tgggtaaaaa tctgatggca atccgtgatg ctggctttga aatctcggcc			540
atgcagatgt tcaacatgga ccgcgttaac gtcgaagaat tctacgaagt ttacaaaggc			600
gtggttaccc aatatcacga tatggttacg gaaatgtact ccggtccgtg cgtcgcgatg			660
gaaattcagc aaaacaatgc caccaaaacg tttcgtgaat tctgtggtcc ggcatatccg			720
gaaatcgac gtcacttcgc tccgggtacc ctgcgcgcaa tttttggtaa aacgaaaatc			780
cagaacgtg tgcactgtac cgatctgccg gaagacggtc tgctggaagt tcaatacttt			840
ttcaaaattc tggataattg a			861
<210>	59		
<211>	286		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Human NME7-AB amino sequence optimized for E. coli expression		
<400>	59		

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala
1 5 10 15
Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys
20 25 30
Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val
35 40 45
Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr
50 55 60
Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys
65 70 75 80
Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr
85 90 95
Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg
100 105 110
Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met
115 120 125
Glu Leu Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala
130 135 140
Lys Phe Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser
145 150 155 160
Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe
165 170 175
Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu
180 185 190
Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met
195 200 205
Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln
210 215 220
Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro
225 230 235 240
Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly
245 250 255

Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp

260 265 270
Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn

275 280 285

<210> 60

<211> 846

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB1 sequence optimized for E. coli expression

<400> 60

atggaaaaaa cgctggccct gattaaaccg gatgcaatct ccaaagctgg cgaaattatc 60
gaaattatca acaaagcggg ttccaccatc acgaaactga aaatgatgat gctgagccgt 120
aaagaagccc tggattttca tgtcgaccac cagtctcgcc cgtttttcaa tgaactgatt 180

caattcatca ccacgggtcc gattatcgca atggaaattc tgcgtgatga cgctatctgc 240
gaatggaaac gcctgctggg cccggcaaac tcaggtgttg cgcgtaccga tgccagtga 300
tccattcgcg ctctgtttgg caccgatggt atccgtaatg cagcacatgg tccggactca 360
ttcgcatcgg cagctcgtga aatggaactg tttttccga gctctggcgg ttgcggtccg 420
gcaaacaccg ccaaatctac caattgtacg tgctgtattg tcaaaccga cgcagtgtca 480
gaaggcctgc tgggtaaaat tctgatggca atccgtgatg ctggctttga aatctcgcc 540
atgcagatgt tcaacatgga ccgcgttaac gtcgaagaat tctacgaagt ttacaaaggc 600

gtggttaccg aatatcacga tatggttacg gaaatgtact ccggtccgtg cgtcgcatg 660
gaaattcagc aaaacaatgc caccaaaacg tttcgtgaat tctgtggtcc ggcagatccg 720
gaaatcgcac gtcactcgcg tccgggtacc ctgcgcgcaa tttttggtaa aacgaaaatc 780
cagaacgctg tgcactgtac cgatctgccg gaagacggtc tgctggaagt tcaatacttt 840
ttctga 846

<210> 61

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME7-AB1 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 61

Met Glu Lys Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala
1 5 10 15
Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys
20 25 30
Leu Lys Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val
35 40 45
Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr
50 55 60
Thr Gly Pro Ile Ile Ala Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys
65 70 75 80
Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr
85 90 95
Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg
100 105 110
Asn Ala Ala His Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met
115 120 125
Glu Leu Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala
130 135 140
Lys Phe Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser
145 150 155 160
Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe
165 170 175
Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu
180 185 190
Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met
195 200 205
Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln
210 215 220
Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro
225 230 235 240
Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly
245 250 255

Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp

260

265

270

Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe

275

280

<210

> 62

<211> 570

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse NME6

<400> 62

atgacctcca tcttgcaag tccccaagct cttcagctca cactagccct gatcaagcct	60
gatgcagttg cccaccact gatcctggag gctgttcac agcagattct gagcaacaag	120
ttcctcatg tacgaacgag ggaactgcag tggaagctgg aggactgccg gaggttttac	180
cgagagcatg aagggcggtt tttctatcag cggctggtgg agttcatgac aagtgggcca	240
atccgagcct atatccttgc ccacaaagat gccatccaac tttggaggac actgatggga	300
cccaccagag tatttcgagc acgctatata gcccagatt caattcgtgg aagtttgggc	360

ctcactgaca ccgaaatac tacccatggc tcagactccg tggtttcgc cagcagagag	420
attgcagcct tcttcctga cttcagtga cagcgtggt atgaggagga ggaaccccag	480
ctgcggtgtg gtcctgtgca ctacagtcca gaggaaggta tccactgtgc agctgaaaca	540
ggaggccaca aacaacctaa caaacctag	570

<210> 63

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse NME6 amino sequence

<400> 63

Met Thr Ser Ile Leu Arg Ser Pro Gln Ala Leu Gln Leu Thr Leu Ala

1

5

10

15

Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala His Pro Leu Ile Leu Glu Ala Val

20

25

30

His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys Phe Leu Ile Val Arg Thr Arg Glu

35

40

45

Leu Gln Trp Lys Leu Glu Asp Cys Arg Arg Phe Tyr Arg Glu His Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu Val Glu Phe Met Thr Ser Gly Pro
65 70 75 80

Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His Lys Asp Ala Ile Gln Leu Trp Arg
85 90 95

Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val Phe Arg Ala Arg Tyr Ile Ala Pro
100 105 110

Asp Ser Ile Arg Gly Ser Leu Gly Leu Thr Asp Thr Arg Asn Thr Thr
115 120 125

His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser Ala Ser Arg Glu Ile Ala Ala Phe
130 135 140

Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg Trp Tyr Glu Glu Glu Glu Pro Gln

145 150 155 160

Leu Arg Cys Gly Pro Val His Tyr Ser Pro Glu Glu Gly Ile His Cys
165 170 175

Ala Ala Glu Thr Gly Gly His Lys Gln Pro Asn Lys Thr
180 185

<210> 64

<211> 585

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6

<400> 64

atgacccaga atctggggag tgagatggcc tcaatcttgc gaagccctca ggctctccag 60

ctcactctag ccctgatcaa gcctgacgca gtcgcccac cactgattct ggaggctgtt 120

catcagcaga ttctaagcaa caagttcctg attgtacgaa tgagagaact actgtggaga 180

aaggaagatt gccagagggt ttaccgagag catgaagggc gttttttcta tcagaggctg 240

gtggagtcca tggccagcgg gccaatccga gcctacatcc ttgccacaa ggatgccatc 300

cagctctgga ggacgtcat gggacccacc agagtgttcc gagcacgcca tgtggcccca 360

gattctatcc gtgggagttt cggcctcact gacacccgca acaccacca tggttcggac 420

tctgtggttt cagccagcag agagattgca gccttcttcc ctgacttcag tgaacagcgc 480

tggtatgagg aggaagagcc ccagttgcgc tgtggccctg tgtgctatag cccagaggga 540

gggtgtccact atgtagctgg aacaggaggc ctaggaccag cctga 585

<210> 65

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 amino sequence

<400> 65

Met Thr Gln Asn Leu Gly Ser Glu Met Ala Ser Ile Leu Arg Ser Pro

1 5 10 15

Gln Ala Leu Gln Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala

20 25 30

His Pro Leu Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys

35 40 45

Phe Leu Ile Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys

50 55 60

Gln Arg Phe Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu

65 70 75 80

Val Glu Phe Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His

85 90 95

Lys Asp Ala Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val

100 105 110

Phe Arg Ala Arg His Val Ala Pro Asp Ser Ile Arg Gly Ser Phe Gly

115 120 125

Leu Thr Asp Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser

130 135 140

Ala Ser Arg Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg

145 150 155 160

Trp Tyr Glu Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val Cys Tyr

165 170 175

Ser Pro Glu Gly Gly Val His Tyr Val Ala Gly Thr Gly Gly Leu Gly

180 185 190

Pro Ala

<210> 66

<211> 525

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 1

<400> 66

atgacccaga atctggggag tgagatggcc tcaatcttgc gaagccctca ggctctccag 60

ctcactctag ccctgatcaa gcctgacgca gtcgcccac cactgattct ggaggctgtt 120

catcagcaga ttctaagcaa caagttcctg attgtacgaa tgagagaact actgtggaga 180

aaggaagatt gccagaggtt ttaccgagag catgaagggc gttttttcta tcagaggctg 240

gtggagtcca tggccagcgg gccaatccga gcctacatcc ttgccacaa ggatgccatc 300

cagctctgga ggacgtcat gggacccacc agagtgttcc gagcacgcca tgtggcccca 360

gattctatcc gtgggagttt cggcctcact gacacccgca acaccacca tggttcggac 420

tctgtggttt cagccagcag agagattgca gccttcttcc ctgacttcag tgaacagcgc 480

tggtatgagg aggaagagcc ccagttgcgc tgtggccctg tgtga 525

<210> 67

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 1 amino sequence

<400> 67

Met Thr Gln Asn Leu Gly Ser Glu Met Ala Ser Ile Leu Arg Ser Pro

1 5 10 15

Gln Ala Leu Gln Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala

20 25 30

His Pro Leu Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys

35 40 45

Phe Leu Ile Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys

50 55 60

Gln Arg Phe Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu

65 70 75 80

Val Glu Phe Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His

85 90 95

Lys Asp Ala Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val

100 105 110

Phe Arg Ala Arg His Val Ala Pro Asp Ser Ile Arg Gly Ser Phe Gly

115 120 125

Leu Thr Asp Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser

130 135 140

Ala Ser Arg Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg

145 150 155 160

Trp Tyr Glu Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val

165 170

<210> 68

<211> 468

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 2

<400> 68

atgtctcactc tagccctgat caagcctgac gcagtcgccc atccactgat tctggaggct 60

gttcatcagc agattctaag caacaagttc ctgattgtac gaatgagaga actactgtgg 120

agaaaggaag attgccagag gttttaccga gagcatgaag ggcgtttttt ctatcagagg 180

ctggtggagt tcatggccag cgggccaatc cgagcctaca tccttgccca caaggatgcc 240

atccagctct ggaggacgct catgggaccc accagagtgt tccgagcacg ccatgtggcc 300

ccagattcta tccgtgggag ttctggcctc actgacaccc gcaacaccac ccatggttcg 360

gactctgtgg ttccagccag cagagagatt gcagccttct tccctgactt cagtgaacag 420

cgctggtatg aggaggaaga gccccagttg cgctgtggcc ctgtgtga 468

<210> 69

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 2 amino sequence

<400> 69

Met Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala His Pro Leu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys Phe Leu Ile

20 25 30

Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys Gln Arg Phe

35 40 45

Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu Val Glu Phe

50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His Lys Asp Ala

65 70 75 80

Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val Phe Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser Ala Ser Arg

115 120 125

Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg Trp Tyr Glu

130 135 140

Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val

145 150 155

<210> 70

<211> 528

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 3

<400> 70

atgctcactc tagccctgat caagcctgac gcagtcgccc atccactgat tctggaggct 60

gttcatacgc agattctaag caacaagttc ctgattgtac gaatgagaga actactgtgg 120

agaaaggaag attgccagag gttttaccga gagcatgaag ggcgtttttt ctatcagagg 180

ctggtggagt tcatggccag cgggccaatc cgagcctaca tccttgccca caaggatgcc 240

atccagctct ggaggacgct catgggaccc accagagtgt tccgagcag ccatgtggcc 300

ccagattcta tccgtgggag tttcggcctc actgacaccc gcaacaccac ccatggttcg 360

gactctgtgg tttcagccag cagagagatt gcagccttct tccttgactt cagtgaacag 420

cgctgggatg aggaggaaga gccccagttg cgctgtggcc ctgtgtgcta tagcccagag 480

ggaggtgtcc actatgtagc tggaacagga ggcctaggac cagcctga 528

<210> 71

<211> 175

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 3 amino sequence

<400> 71

Met Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala His Pro Leu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys Phe Leu Ile

20 25 30

Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys Gln Arg Phe

35 40 45

Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu Val Glu Phe

50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His Lys Asp Ala

65 70 75 80

Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val Phe Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser Ala Ser Arg

115 120 125

Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg Trp Tyr Glu

130 135 140

Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val Cys Tyr Ser Pro Glu

145 150 155 160
 Gly Gly Val His Tyr Val Ala Gly Thr Gly Gly Leu Gly Pro Ala
 165 170 175
 <210> 72
 <211> 585
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human NME6 sequence optimized for E. coli expression
 <400> 72
 atgacgcaaa atctgggctc ggaaatggca agtatcctgc gctccccgca agcactgcaa 60
 ctgaccctgg ctctgatcaa accggacgct gttgctcatc cgctgattct ggaagcggtc 120

 caccagcaaa ttctgagcaa caaatctctg atcgtgcgta tgcgcgaact gctgtggcgt 180
 aaagaagatt gccagcgctt ttatcgcgaa catgaaggcc gtttctttta tcaacgcctg 240
 gttgaattca tggcctctgg tccgattcgc gcatatatcc tggctcacia agatgcgatt 300
 cagctgtggc gtaccctgat ggggccgacg cgcgtctttc gtgcacgtca tgtggcacgc 360
 gactcaatcc gtggctcggt cggtctgacc gatacgcgca ataccacgca cggtagcgac 420
 tctgttgta gtgcgtcccg tgaaatcgcg gcccttttcc cggacttctc cgaacagcgt 480
 tggtagcaag aagaagaacc gcaactgcgc tgtggcccgg tctgttattc tccggaaggt 540

 ggtgtccatt atgtggcggg cacgggtggt ctgggtccgg catga 585
 <210> 73
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human NME6 amino sequence optimized for E. coli expression
 <400> 73
 Met Thr Gln Asn Leu Gly Ser Glu Met Ala Ser Ile Leu Arg Ser Pro
 1 5 10 15
 Gln Ala Leu Gln Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala
 20 25 30
 His Pro Leu Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys

 35 40 45
 Phe Leu Ile Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys

50 55 60
Gln Arg Phe Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu
65 70 75 80
Val Glu Phe Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His
85 90 95
Lys Asp Ala Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val
100 105 110

Phe Arg Ala Arg His Val Ala Pro Asp Ser Ile Arg Gly Ser Phe Gly
115 120 125
Leu Thr Asp Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser
130 135 140
Ala Ser Arg Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg
145 150 155 160
Trp Tyr Glu Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val Cys Tyr
165 170 175
Ser Pro Glu Gly Gly Val His Tyr Val Ala Gly Thr Gly Gly Leu Gly

180 185 190
Pro Ala

<210> 74

<211> 525

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 1 sequence optimized for E. coli expression

<400> 74

atgacgcaaa atctgggctc ggaaatggca agtatcctgc gctcccgca agcactgcaa 60
ctgaccctgg ctctgatcaa accggacgct gttgctcatc cgctgattct ggaagcggtc 120
caccagcaaa ttctgagcaa caaatctctg atcgtgcgta tgcgcgaact gctgtggcgt 180
aaagaagatt gccagcgttt ttatcgcgaa catgaaggcc gtttctttta tcaacgcctg 240

gttgaattca tggcctctgg tccgattcgc gcatatatcc tggtcacaa agatgcgatt 300
cagctgtggc gtaccctgat ggggccgacg cgcgtctttc gtgcacgtca tgtggcaccg 360
gactcaatcc gtggctcgtt cggcttgacc gatacgcgca ataccacgca cggtagcgac 420

tctgttggtta gtgcgtcccg tgaaatcgcg gcctttttcc cggacttctc cgaacagcgt 480

tggtacgaag aagaagaacc gcaactgcgc tgtggcccg tctga 525

<210> 75

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 1 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 75

Met Thr Gln Asn Leu Gly Ser Glu Met Ala Ser Ile Leu Arg Ser Pro

1 5 10 15

Gln Ala Leu Gln Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala

20 25 30

His Pro Leu Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys

35 40 45

Phe Leu Ile Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys

50 55 60

Gln Arg Phe Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu

65 70 75 80

Val Glu Phe Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His

85 90 95

Lys Asp Ala Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val

100 105 110

Phe Arg Ala Arg His Val Ala Pro Asp Ser Ile Arg Gly Ser Phe Gly

115 120 125

Leu Thr Asp Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser

130 135 140

Ala Ser Arg Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg

145 150 155 160

Trp Tyr Glu Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val

165 170

<210> 76

<211> 468

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 2 sequence optimized for E. coli expression

<400> 76

atgctgaccc tggctctgat caaacggac gctgttgctc atccgctgat tctggaagcg 60
gtccaccagc aaattctgag caacaaattt ctgatcgtgc gtatgcgcga actgctgtgg 120

cgtaaagaag attgccagcg tttttatcgc gaacatgaag gccgtttctt ttatcaacgc 180
ctggttgaat tcatggcctc tggtcgatt cgcgcataata tcttggtca caaagatgcg 240
attcagctgt ggcgaccct gatgggtccg acgcgcgtct ttcgtgcacg tcatgtggca 300
ccggactcaa tccgtggctc gttcggctcg accgatacgc gcaataccac gcacggtagc 360
gactctgttg ttagtgctgc ccgtgaaatc gcggcctttt tcccgactt ctcgaacag 420
cgttggtacg aagaagaaga accgcaactg cgctgtggcc cggcttga 468

<210> 77

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 2 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 77

Met Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala His Pro Leu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys Phe Leu Ile

20 25 30

Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys Gln Arg Phe

35 40 45

Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu Val Glu Phe

50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His Lys Asp Ala

65 70 75 80

Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val Phe Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser Ala Ser Arg
115 120 125

Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg Trp Tyr Glu
130 135 140

Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val
145 150 155

<210> 78

<211> 528

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 3 sequence optimized for E. coli expression

<400> 78

atgctgaccc tggctctgat caaacccggac gctgttgctc atccgctgat tctggaagcg 60
gtccaccagc aaattctgag caacaaattt ctgacgtgc gtatgcgcga actgctgtgg 120

cgtaaagaag attgccagcg tttttatcgc gaacatgaag gccgtttctt ttatcaacgc 180
ctggttgaat tcatggctc tgggccgatt cgcgcatata tcctggctca caaagatgcg 240
attcagctgt ggcgtacct gatgggtccg acgcgcgtct ttcgtgcacg tcatgtggca 300
ccggactcaa tccgtggctc gttcggctcg accgatacgc gcaataccac gcacggtagc 360
gactctgttg ttagtgcgtc ccgtgaaatc gcggcctttt tcccggactt ctccgaacag 420
cgttggtacg aagaagaaga accgcaactg cgctgtggcc cggtctgtta ttctcggaa 480
gggtgtgtcc attatgtggc gggcacgggt ggtctgggtc cgcatga 528

<210> 79

<211> 175

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human NME6 3 amino sequence optimized for E. coli expression

<400> 79

Met Leu Thr Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala Val Ala His Pro Leu
1 5 10 15
Ile Leu Glu Ala Val His Gln Gln Ile Leu Ser Asn Lys Phe Leu Ile
20 25 30
Val Arg Met Arg Glu Leu Leu Trp Arg Lys Glu Asp Cys Gln Arg Phe

35 40 45

Tyr Arg Glu His Glu Gly Arg Phe Phe Tyr Gln Arg Leu Val Glu Phe
50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ile Arg Ala Tyr Ile Leu Ala His Lys Asp Ala
65 70 75 80

Ile Gln Leu Trp Arg Thr Leu Met Gly Pro Thr Arg Val Phe Arg Ala
85 90 95

Arg His Val Ala Pro Asp Ser Ile Arg Gly Ser Phe Gly Leu Thr Asp
100 105 110

Thr Arg Asn Thr Thr His Gly Ser Asp Ser Val Val Ser Ala Ser Arg

115 120 125

Glu Ile Ala Ala Phe Phe Pro Asp Phe Ser Glu Gln Arg Trp Tyr Glu
130 135 140

Glu Glu Glu Pro Gln Leu Arg Cys Gly Pro Val Cys Tyr Ser Pro Glu
145 150 155 160

Gly Gly Val His Tyr Val Ala Gly Thr Gly Gly Leu Gly Pro Ala
165 170 175

<210> 80
<211> 1306
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> OriGene-NME7-1 full length

<400> 80

gacgttgtat acgactccta tagggcggcc gggaattcgt cgactggatc cggtagcgag 60
gagatctgcc gccgcgatcg ccatgaatca tagtgaaaga ttcgttttca ttgcagagtg 120
gtatgatcca aatgcttcac ttcttcgacg ttatgagctt ttattttacc caggggatgg 180
atctgttgaa atgcatgatg taaagaatca tcgcaccttt ttaaagcgga ccaaatatga 240
taacctgcac ttggaagatt tatttatagg caacaaagtg aatgtcttct ctcgacaact 300
ggtattaatt gactatgggg atcaatatag agctcgccag ctgggcagta ggaaagaaaa 360
aacgctagcc ctaattaaac cagatgcaat atcaaaggct ggagaaataa ttgaaataat 420

aaacaaagct ggatttacta taaccaaact caaaatgatg atgctttcaa ggaaagaagc 480

attggatttt catgtagatc accagtcaag accctttttc aatgagctga tccagtttat 540
tacaactggg cctattattg ccatggagat ttttaagagat gatgctatat gtgaatggaa 600
aagactgctg ggacctgcaa actctggagt ggcacgcaca gatgcttctg aaagcattag 660
agccctcttt ggaacagatg gcataagaaa tgcagcgcat ggccctgatt cttttgcttc 720
tgcggccaga gaaatggagt tgttttttcc ttcaagtgga ggttgtgggc cggcaaacac 780
tgctaaattt actaattgta cctgttgcat tgtaaacc ccatgctgtca gtgaaggact 840

gttgggaaag atcctgatgg ctatccgaga tgcaggtttt gaaatctcag ctatgcagat 900
gttcaatatg gatcggtta atgttgagga attctatgaa gttataaag gagtagtgac 960
cgaatatcat gacatggtga cagaaatgta ttctggccct tgtgtagcaa tggagattca 1020
acagaataat gctacaaaga catttcgaga attttgtgga cctgctgac ctgaaattgc 1080
ccggcattta cgccctggaa ctctcagagc aatctttggt aaaactaaga tccagaatgc 1140
tggtcactgt actgatctgc cagaggatgg cctattagag gttcaatact tcttcaagat 1200
cttggataat acgcgtacgc ggccgctcga gcagaaactc atctcagaag aggatctggc 1260

agcaaagat atcctggatt acaaggatga cgacgataag gtttaa 1306

<210> 81

<211> 407

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OriGene-NME7-1 full length smino sequence

<400> 81

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp

65 70 75 80

Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala

85 90 95

Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala Gly Glu Ile Ile Glu Ile
100 105 110

Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu
115 120 125

Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro
130 135 140

Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala
145 150 155 160

Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu
165 170 175

Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile

180 185 190

Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro
195 200 205

Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser
210 215 220

Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr Asn Cys Thr
225 230 235 240

Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu Leu Gly Lys
245 250 255

Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser Ala Met Gln
260 265 270

Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr
275 280 285

Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu Met Tyr Ser
290 295 300

Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr
305 310 315 320

Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu

325 330 335

Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn

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

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Val

405

<210> 82

<211> 376

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Abnova NME7-1 Full length

<400> 82

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro
1 5 10 15
Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp
20 25 30
Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys
35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn
50 55 60
Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp
65 70 75 80
Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala
85 90 95
Leu Ile Lys Pro Asp Ala Ile Ser Lys Ala Gly Glu Ile Ile Glu Ile
100 105 110
Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu

115 120 125
Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro

130 135 140
 Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala
 145 150 155 160
 Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu
 165 170 175
 Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile
 180 185 190

 Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro
 195 200 205
 Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser
 210 215 220
 Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr Asn Cys Thr
 225 230 235 240
 Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu Leu Gly Lys
 245 250 255
 Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser Ala Met Gln

 260 265 270
 Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr
 275 280 285
 Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu Met Tyr Ser
 290 295 300
 Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr
 305 310 315 320
 Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu
 325 330 335

 Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn
 340 345 350
 Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln
 355 360 365
 Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn
 370 375
 <210> 83

<211> 98
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Abnova Partial NME7-B
 <400> 83
 Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val
 1 5 10 15
 Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro Cys Val
 20 25 30
 Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe
 35 40 45
 Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr
 50 55 60
 Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala Val His Cys
 65 70 75 80
 Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys
 85 90 95
 Ile Leu

<210> 84
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Histidine Tag
 <400> 84
 ctcgagcacc accaccacca ccactga
 <210> 85
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Strept II Tag
 <400> 85
 accggttgga gccatcctca gttcgaaaag taatga

27

36

<210> 86
 <211> 35
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> N-10 peptide

<400> 86

Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr

1 5 10 15

Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln

20 25 30

Ser Gly Ala

35

<210> 87

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-10 peptide

<400> 87

Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys

1 5 10 15

Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val

20 25 30

Ser Asp Val

35

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 88

Leu Ala Leu Ile Lys Pro Asp Ala

1 5

<210> 89

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 89

Met Met Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His

1 5 10 15

Gln Ser

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 90

Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser

1 5 10

<210> 91

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 91

Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu

1 5 10

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 92

Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro

1 5 10

<210> 93

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 93

Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp

1 5

<210> 94

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 94

Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe

1 5 10 15

Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala

20 25

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 95

Glu Leu Phe Phe Pro Ser Ser Gly Gly

1 5

<210> 96

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 96

Lys Phe Thr Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser

1 5 10 15
Glu Gly Leu Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala

20 25
<210> 97
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
<400> 97

Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser Ala Met Gln Met

1 5 10 15
Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys
20 25 30
Gly Val Val Thr

35
<210> 98
<211> 15
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
<400> 98

Glu Phe Tyr Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp

1 5 10 15
<210> 99
<211> 43
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
<400> 99

Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe Cys Gly

1 5 10 15
Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu Arg Pro Gly Thr Leu Arg

20 25 30

Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn Ala

35 40

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 100

Tyr Ser Gly Pro Cys Val Ala Met

1 5

<210> 101

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 101

Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro

1 5

<210> 102

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 102

Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr

1 5 10 15

Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn

20

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 103

Ile Gln Asn Ala Val His Cys Thr Asp

1 5

<210> 104

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 104

Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys

1 5 10 15

Ile Leu Asp Asn

20

<210> 105

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 105

Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys

1 5 10

<210> 106

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 106

Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys

1 5 10

<210> 107

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400>

107

Met Leu Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser

1 5 10 15

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 108

Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr

1 5

<210> 109

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 109

Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu

1 5 10

<210> 110

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 110

Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile Arg Ala Leu Phe

1 5 10 15

Gly Thr Asp Gly Ile

20

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 111

Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser

1 5 10

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 112

Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile

1 5

<210> 113

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 113

Asn Cys Thr Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu

1 5 10

<210> 114

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 114

Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala

1 5 10

<210> 115

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400>

115

Glu Ile Ser Ala Met Gln Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu

1 5 10 15

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 116

Glu Val Tyr Lys Gly Val Val Thr

1 5

<210> 117

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 117

Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu

1 5

<210> 118

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 118

Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu Arg

1 5 10 15

<210> 119

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 119

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

1 5 10

<210> 120

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 120

Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln Tyr Phe Phe Lys Ile Leu

1 5 10 15

Asp Asn

<210> 121

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 121

Gly Pro Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe

1 5 10 15

Pro

<210> 122

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 122

Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu

1 5

<210> 123

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
 <400> 123
 Leu Gly Lys Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala
 1 5 10

<210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
 <400> 124
 His Ala Val Ser Glu Gly Leu Leu Gly Lys
 1 5 10

<210> 125
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
 <400> 125
 Val Thr Glu Met Tyr Ser Gly Pro
 1 5

<210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7
 <400> 126
 Asn Ala Thr Lys Thr Phe Arg Glu Phe
 1 5
 <210> 127
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 127

Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile

1 5

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400>

> 128

Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn

1 5 10

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 129

Asp His Gln Ser Arg Pro Phe Phe

1 5

<210> 130

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 130

Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu Gly Pro Ala Asn

1 5 10

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 131

Val Asp His Gln Ser Arg Pro Phe

1 5

<210> 132

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 132

Pro Asp Ser Phe Ala Ser

1 5

<210> 133

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME7

<400> 133

Lys Ala Gly Glu Ile Ile Glu Ile Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile

1 5 10 15

Thr Lys

<210> 134

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 134

Met Ala Asn Cys Glu Arg Thr Phe Ile Ala Ile Lys Pro Asp Gly Val

1 5 10 15

Gln Arg Gly Leu Val Gly Glu Ile Ile Lys Arg Phe Glu

20 25

<210> 135

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 135

Val Asp Leu Lys Asp Arg Pro Phe

1 5

<210> 136

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 136

His Gly Ser Asp Ser Val Glu Ser Ala Glu Lys Glu Ile Gly Leu Trp

1 5 10 15

Phe

<210> 137

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 137

Glu Arg Thr Phe Ile Ala Ile Lys Pro Asp Gly Val Gln Arg Gly Leu

1 5 10 15

Val Gly Glu Ile Ile Lys Arg Phe Glu

20 25

<210> 138

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 138

Val Asp Leu Lys Asp Arg Pro Phe Phe Ala Gly Leu Val Lys Tyr Met

1 5 10 15

His Ser Gly Pro Val Val Ala Met Val Trp Glu Gly Leu Asn

20 25 30

<210> 139

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 139

Asn Ile Ile His Gly Ser Asp Ser Val Glu Ser Ala Glu Lys Glu Ile

1 5 10 15

Gly Leu Trp Phe His Pro Glu Glu Leu Val

20 25

<210> 140

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunizing peptides derived from human NME1

<400> 140

Lys Pro Asp Gly Val Gln Arg Gly Leu Val Gly Glu Ile Ile

1 5 10

<210> 141

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-1 primer_F

<400> 141

atcgatcata tgaatcactc cgaacgc

27

<210> 142

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-1 primer_R

<400> 142

agagcctcga gattatccag aattttgaaa aagtattg 38

<210> 143

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-2 primer_F

<400> 143

atcgatcata tgcgatgacgt taaaaatcac 30

<210> 144

<211

> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-2 primer_R

<400> 144

agagcctcga gattatccag aattttgaaa aagtattg 38

<210> 145

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-A primer_F

<400> 145

atcgacatat ggaaaaaacg ctggccctga ttaaaccgga tg 42

<210> 146

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME7-A primer_R

<400> 146

actgcctcga ggaaaaacag ttccatttca cgagctgccg atg 43

<210> 147

<211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NME7-AB primer_F
 <400> 147
 atcgacatat ggaaaaaacg ctggccctga ttaaaccgga tg 42
 <210> 148
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NME7-AB primer_R
 <400> 148
 agagcctcga gattatccag aattttgaaa aagtattg 38
 <210> 149
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NME7-AB primer_F
 <
 <400> 149
 atcgacatat ggaaaaaacg ctggccctga ttaaaccgga tg 42
 <210> 150
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NME7-AB primer_R
 <400> 150
 agagcaccgg tattatccag aattttgaaa aagtattg 38
 <210> 151
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NME6 primer_F
 <400> 151
 atcgacatat gacgcaaat ctgggctcgg aaatg 35

<210> 152

<211

> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME6 primer_R

<400> 152

actgcctcga gtgccggacc cagaccaccc gtgc 34

<210> 153

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME6 primer_F

<400> 153

atcgacatat gacgcaaaat ctgggctcgg aaatg 35

<210> 154

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NME6 primer_R

<400> 154

actgcaccgg ttgccggacc cagaccaccc gtgcg 35

<210> 155

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PSMGFR N-10 peptide

<400> 155

Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr

1 5 10 15

Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln

20 25 30

Ser Gly Ala His His His His His His

35 40

<210> 156
 <211> 376
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> NME7 A amino sequence

<400> 156

Met Asn His Ser Glu Arg Phe Val Phe Ile Ala Glu Trp Tyr Asp Pro

1 5 10 15

Asn Ala Ser Leu Leu Arg Arg Tyr Glu Leu Leu Phe Tyr Pro Gly Asp

20 25 30

Gly Ser Val Glu Met His Asp Val Lys Asn His Arg Thr Phe Leu Lys

35 40 45

Arg Thr Lys Tyr Asp Asn Leu His Leu Glu Asp Leu Phe Ile Gly Asn

50 55 60

Lys Val Asn Val Phe Ser Arg Gln Leu Val Leu Ile Asp Tyr Gly Asp

65 70 75 80

Gln Tyr Thr Ala Arg Gln Leu Gly Ser Arg Lys Glu Lys Thr Leu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Ile Asn Lys Ala Gly Phe Thr Ile Thr Lys Leu Lys Met Met Met Leu

115 120 125

Ser Arg Lys Glu Ala Leu Asp Phe His Val Asp His Gln Ser Arg Pro

130 135 140

Phe Phe Asn Glu Leu Ile Gln Phe Ile Thr Thr Gly Pro Ile Ile Ala

145 150 155 160

Met Glu Ile Leu Arg Asp Asp Ala Ile Cys Glu Trp Lys Arg Leu Leu

165 170 175

Gly Pro Ala Asn Ser Gly Val Ala Arg Thr Asp Ala Ser Glu Ser Ile

180 185 190

Arg Ala Leu Phe Gly Thr Asp Gly Ile Arg Asn Ala Ala His Gly Pro

195 200 205

Asp Ser Phe Ala Ser Ala Ala Arg Glu Met Glu Leu Phe Phe Pro Ser

210 215 220

Ser Gly Gly Cys Gly Pro Ala Asn Thr Ala Lys Phe Thr Asn Cys Thr

225 230 235 240

Cys Cys Ile Val Lys Pro His Ala Val Ser Glu Gly Leu Leu Gly Lys

245 250 255

Ile Leu Met Ala Ile Arg Asp Ala Gly Phe Glu Ile Ser Ala Met Gln

260 265 270

Met Phe Asn Met Asp Arg Val Asn Val Glu Glu Phe Tyr Glu Val Tyr

275 280 285

Lys Gly Val Val Thr Glu Tyr His Asp Met Val Thr Glu Met Tyr Ser

290 295 300

Gly Pro Cys Val Ala Met Glu Ile Gln Gln Asn Asn Ala Thr Lys Thr

305 310 315 320

Phe Arg Glu Phe Cys Gly Pro Ala Asp Pro Glu Ile Ala Arg His Leu

325 330 335

Arg Pro Gly Thr Leu Arg Ala Ile Phe Gly Lys Thr Lys Ile Gln Asn

340 345 350

Ala Val His Cys Thr Asp Leu Pro Glu Asp Gly Leu Leu Glu Val Gln

355 360 365

Tyr Phe Phe Lys Ile Leu Asp Asn

370 375

<210> 157

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> WT NME6 cDNA primer_F

<400> 157

atcgacatat gacgcaaaat ctgggctcgg aaatg

35

<210> 158

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> WT NME6 cDNA primer_R

<400>

158

actgcctcga gtgccggacc cagaccaccc gtgc

34