



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0029010
 (43) 공개일자 2020년03월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 14/485 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
C07K 14/28 (2013.01)
A61K 39/00113 (2018.08)
 (21) 출원번호 10-2020-7004272
 (22) 출원일자(국제) 2018년07월18일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2020년02월13일
 (86) 국제출원번호 PCT/IB2018/000898
 (87) 국제공개번호 WO 2019/016597
 국제공개일자 2019년01월24일
 (30) 우선권주장
 62/533,901 2017년07월18일 미국(US)

(71) 출원인
인3바이오 리미티드
 버뮤다 에이치엠 11 헤밀턴 처치 스트리트 2 클라
 렌든 하우스
 (72) 발명자
동트 에릭
 벨기에 바젤 이-9150 루펠몽드스트라트 166
찰턴 키이스 알렌
 영국 애버딘셔주 에이비25 3유엑스 애버딘 자메이
 카 스트리트 5
 (74) 대리인
하영욱

전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 **합성 단백질 및 그 치료학적 용도**

(57) 요약

본 개시는 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시는 합성 단백질 및 암 치료를 위한 그 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/001131 (2018.08)

A61K 39/001134 (2018.08)

C07K 14/485 (2013.01)

A61K 2039/6037 (2013.01)

A61K 2039/627 (2013.01)

A61K 2039/64 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

합성 성장 인자 서열;
적어도 하나의 링커, 및
폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 폴리펩티드 서열은 면역원성 폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 폴리펩티드 서열은 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질을 포함하는 합성 단백질.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 적어도 하나의 링커는 폴리펩티드 서열로부터 합성 성장 인자를 분리하는 제 1 링커를 포함하는 합성 단백질.

청구항 5

제 4 항에 있어서,
상기 제 1 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGSGG, GGSGGTSGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGG, 및 SSGGGGSGGGSSGG로 이루어지는 군으로부터 선택되는 합성 단백질.

청구항 6

제 4 항에 있어서,
상기 제 1 링커는 GGSGGTSGGGGSG인 합성 단백질.

청구항 7

제 1 항에 있어서,
상기 합성 성장 인자 서열은 합성 표피 성장 인자(sEGF) 서열을 포함하는 합성 단백질.

청구항 8

제 1 항에 있어서,
상기 합성 성장 인자 서열은 인간 상피 성장 인자(hEGF) TSP(hTSP) 도메인의 적어도 하나의 합성 표적 신호전달 경로(sTSP) 도메인을 포함하며, 상기 적어도 하나의 sTSP는 6, 7, 8, 9, 10, 또는 그 이상의 아미노산만큼 hTSP와 다른 합성 단백질.

청구항 9

제 8 항에 있어서,
상기 합성 성장 인자 서열은 제 1 TSP 도메인 및 제 2 TSP 도메인을 포함하는 합성 단백질.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 링커는 제 1 TSP 도메인과 제 2 TSP 도메인을 분리하는 제 2 링커를 포함하는 합성 단백질.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 제 2 링커는 SSG, GSSG, SSGG, SGG, GGSG, GGGG, SSGGSGG, SSGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGSGG, GGSGGTSGGGSGG, SSGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGG, 및 SSGGGSGGGSSGG로 이루어지는 군으로부터 선택되는 합성 단백질.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 제 2 링커는 GSSG인 합성 단백질.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

상기 합성 단백질은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 합성 단백질.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 합성 단백질은 SEQ ID NO:1의 핵산 서열에 의해 암호화되는 합성 단백질.

청구항 15

제 1 항에 있어서,

상기 합성 성장 인자의 일부는 상기 합성 단백질에 존재하는 적어도 두개의 상이한 성장 인자의 전장 또는 중화 도메인을 포함하는 합성 단백질.

청구항 16

합성 성장 인자 서열, 적어도 하나의 링커, 및 폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질을 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 폴리펩티드 서열은 면역원성 폴리펩티드 서열을 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 18

제 16 항에 있어서,

상기 폴리펩티드 서열은 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질을 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 19

제 16 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 링커는 폴리펩티드 서열로부터 합성 성장 인자를 분리하는 제 1 링커를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 20

제 16 항에 있어서,

상기 제 1 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGG, 및 SSGGGGSGGGSSGG로 이루어지는 군으로부터 선택되는 번역원성 조성물.

청구항 21

제 20 항에 있어서,

상기 제 1 링커는 GGSGGTSGGGGSG인 번역원성 조성물.

청구항 22

제 16 항에 있어서,

상기 합성 성장 인자 서열은 합성 표피 성장 인자(sEGF) 서열을 포함하는 번역원성 조성물.

청구항 23

제 16 항에 있어서,

상기 합성 성장 인자 서열은 인간 상피 성장 인자(hEGF) TSP(hTSP) 도메인의 적어도 하나의 합성 표적 신호전달 경로(sTSP) 도메인을 포함하며, 상기 적어도 하나의 sTSP는 6, 7, 8, 9, 10, 또는 그 이상의 아미노산만큼 hTSP 와 다른 번역원성 조성물.

청구항 24

제 16 항에 있어서,

상기 합성 성장 인자 서열은 제 1 TSP 도메인 및 제 2 TSP 도메인을 포함하는 번역원성 조성물.

청구항 25

제 24 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 링커는 제 1 TSP 도메인과 제 2 TSP 도메인을 분리하는 제 2 링커를 포함하는 번역원성 조성물.

청구항 26

제 25 항에 있어서,

상기 제 2 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGG, 및 SSGGGGSGGGSSGG로 이루어지는 군으로부터 선택되는 번역원성 조성물.

청구항 27

제 26 항에 있어서,

상기 제 2 링커는 GSSG인 번역원성 조성물.

청구항 28

제 16 항에 있어서,

상기 합성 단백질은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 번역원성 조성물.

청구항 29

제 16 항에 있어서,

상기 합성 단백질은 SEQ ID NO:1의 핵산 서열에 의해 암호화되는 번역원성 조성물.

청구항 30

제 16 항에 있어서,

상기 합성 성장 인자의 일부는 상기 합성 단백질에 존재하는 적어도 2개의 상이한 성장 인자의 전장 또는 중화 도메인을 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 31

제 16 항에 있어서,

아주반트를 더 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 32

제 16 항에 기재된 면역원성 조성물을 백신 접종 기간시 접종 당일 또는 격일로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 필요로 하는 환자를 치료하는 방법.

청구항 33

제 32 항에 있어서,

상기 환자는 암에 걸려 있는 방법.

청구항 34

합성 뉴레굴린 1 β (NRG1 β) 서열 또는 합성 형질전환 성장 인자 α (TGF α) 서열;

적어도 하나의 링커, 및

폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질.

청구항 35

제 34 항에 있어서,

상기 폴리펩티드 서열은 면역원성 폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질.

청구항 36

제 34 항에 있어서,

상기 폴리펩티드 서열은 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질을 포함하는 합성 단백질.

청구항 37

제 34 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 링커는 폴리펩티드 서열로부터 합성 성장 인자를 분리하는 제 1 링커를 포함하는 합성 단백질.

청구항 38

제 37 항에 있어서,

상기 제 1 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGSGG, GGSGGTSGGGSGG, SSGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGG, 및 SSGGGSGGGSSGG로 이루어지는 군으로부터 선택되는 합성 단백질.

청구항 39

제 37 항에 있어서,

상기 제 1 링커는 GGSGGTSGGGSG인 합성 단백질.

청구항 40

제 34 항에 있어서,

상기 합성 뉴레글린 1β (NRG1β) 서열은

GTSHLVKCPLSHEAYCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRQCQNYVMASF (SEQ ID NO:11)인 합성 단백질.

청구항 41

제 34 항에 있어서,

상기 합성 형질전환 성장 인자 α (TGF α) 서열은

NTENDCPLSHEAYCLHDGVCVRFVLVQEDKPCVVCVGVYGERcQFRDLRWW DAR (SEQ ID NO:12)인 합성 단백질.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시는 합성 단백질 및 암 치료를 위한 그 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세계 보건 기구(WHO)에 따르면 종양(예를 들면, 암)은 전세계 사망의 주요 원인 중 하나이며, 2015년 880만명의 사망자가 발생했다. 전세계 인구의 암 발생 빈도는 상당하고: 6명 중 거의 1명이 사망한다. 2015년, 가장 흔한 암 사망은 이하의 암 유형: 폐암(약 170만 사망), 간암(약 800,000 사망), 대장암(약 800,000 사망), 위암(약 800,000 사망) 및 유방암(약 600,000명 사망)에서 발생하고 있다.

[0003] 암은 전형적으로, 예를 들면 수술, 화학 요법, 방사선 요법, 암 면역 요법 등과 같은 다양한 방법 중 임의의 것에 의해 치료된다. 불행하게도, 이들 방법 중 다수는 독성/원하지 않은 부작용을 가지고 있다. 예를 들면, 표준 암 화학 요법은 빠르게 분열하는 세포를 사멸시키는 능력에 기초하여 개발되었으며, 다수는 예를 들면 면역 억제, 메스꺼움, 탈모 등과 같은 원하지 않은 부작용을 일으키는 독성 특성을 갖는다. 지난 20년 동안 암 연구의 주요 목표는 효능이 높고 부작용이 적은 새로운 치료법을 발견하는 것이다.

[0004] 이러한 치료법 중 하나는 암 면역학에 포함되는데, 이는 면역 체계와 종양 또는 악성 종양과 같은 암세포 사이의 상호작용에 대한 연구이다. 인간 종양에 의해 발현되고 정상 조직에서는 발현되지 않는 암-특이적 항원의 인식과 같은 면역 반응의 개시가 특히 중요하다. 일반적으로, 악성 세포의 분열 및 증식을 제어하는 방법은 이들 항원을 단리하고 이를 제시하여, 비자기 항원으로서 면역 체계에 의해 특정 면역 반응(예를 들면, 암 백신)을 유도하는데 초점을 맞추고 있다. 불리하게도, 이러한 암 백신은 주로 제조 방법 및 단백질 생성물의 균일성, 활동성 및 상동성의 잠재적인 부족으로부터 발생하는 다수의 중요한 한계를 나타낸다. 예를 들면, 암 백신은 일반적으로 글루타르알데히드를 사용하여 화학적으로 컨주게이션된 재조합 담체 단백질 및 인간 유래의 폴리펩티드의 혼합물을 포함한다. 불행하게도, 이 반응성 시약은 다양한 화학군 사이에 공유 가교 결합을 형성하는 원하지 않은 경향이 있으며, 일반적으로 매우 비균질한 생성물을 초래한다. 따라서, 생성된 백신은 다양한 수의 표적 인간 폴리펩티드가 부착된 담체 단백질 분자(예를 들면, 0, 1, 2, 3 등)를 포함할 수 있을 뿐만 아니라, 인간 폴리펩티드는 상이한 원자를 통해 담체에 각각 부착될 수 있으므로, 상이한 위치와 상이한 방향으로 존재해야 한다. 또한, 표적 폴리펩티드 및 담체 단백질 분자 모두는 그들 자신에 컨주게이션될 수 있으며, 이는 임상적 효능을 가지지 않을 수 있고 항암 환자 면역 반응에 기여하지 않을 수 있는 다양한 호모-멀티머를 야기할 수 있다. 따라서, 암 면역 요법 분야에서 이러한 상당한 기존의 한계를 극복하는 새로운 암 백신이 절실히 필요하다.

발명의 내용

[0005] 본 개시는 합성 단백질/분자 및 이들 각각의 제조 방법; 예를 들면 폐, 유방, 방광, 전립선, 난소, 외음부, 결장, 결장직장, 장, 폐, 뇌, 식도, 기타암, 및 기타 질환과 같은 만성 질환을 치료하기 위해 합성 단백질/분자를 특성화하고 합성 단백질/분자를 사용하는 치료 방법에 관한 것이다.

[0006] 본 개시는, 예를 들면 암과 같은 질환을 치료하기 위한 치료법으로서 사용될 수 있는 합성 단백질을 제공한다.

예시적인 실시형태에 있어서, 본 개시는 합성 성장 인자, 하나 이상의 링커 영역, 및 하나 이상의 면역원성 도메인으로부터 하나 이상의 단백질 도메인을 포함하는 합성 단백질/분자를 제공한다.

- [0007] 일 양태에 있어서, 본 개시는 합성 성장 인자 서열을 포함하는 합성 단백질; 적어도 하나의 링커, 및 폴리펩티드 서열을 제공한다.
- [0008] 예시적인 실시형태에 있어서, 폴리펩티드 서열은 면역원성 폴리펩티드 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 폴리펩티드 서열은 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질을 포함한다.
- [0009] 예시적인 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 링커는 폴리펩티드 서열로부터 합성 성장 인자를 분리하는 제 1 링커를 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 1 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGGG, 및 SSGGGGSGGGSSGGG로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 1 링커는 GGSGGTSGGGGSG이다.
- [0010] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 합성 표피 성장 인자(sEGF) 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 인간 표피 성장 인자(hEGF) TSP(hTSP) 도메인의 적어도 하나의 합성 표적 신호전달 경로(sTSP) 도메인을 포함하며, 상기 적어도 하나의 sTSP는 6, 7, 8, 9, 10, 또는 그 이상의 아미노산만큼 hTSP와 다르다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 제 1 TSP 도메인 및 제 2 TSP 도메인을 포함한다.
- [0011] 예시적인 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 링커는 제 1 TSP 도메인과 제 2 TSP 도메인을 분리하는 제 2 링커를 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 2 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGGG, 및 SSGGGGSGGGSSGGG로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 2 링커는 GSSG이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질은 SEQ ID NO:1의 핵산 서열에 의해 암호화된다.
- [0012] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자의 일부는 상기 합성 단백질에 존재하는 적어도 2개의 상이한 성장 인자의 전장 또는 중화 도메인을 포함한다.
- [0013] 일 양태에 있어서, 본 개시는 합성 성장 인자 서열, 적어도 하나의 링커 및 폴리펩티드 서열을 포함하는 합성 단백질을 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다.
- [0014] 예시적인 실시형태에 있어서, 폴리펩티드 서열은 면역원성 폴리펩티드 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 폴리펩티드 서열은 콜레라 독소 B(CT-B) 단백질을 포함한다.
- [0015] 예시적인 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 링커는 폴리펩티드 서열로부터 합성 성장 인자를 분리하는 제 1 링커를 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 1 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGGG, 및 SSGGGGSGGGSSGGG로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 1 링커는 GGSGGTSGGGGSG이다.
- [0016] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 합성 표피 성장 인자(sEGF) 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 인간 표피 성장 인자(hEGF) TSP(hTSP) 도메인의 적어도 하나의 합성 표적 신호전달 경로(sTSP) 도메인을 포함하며, 상기 적어도 하나의 sTSP는 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 아미노산만큼 hTSP와 다르다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자 서열은 제 1 TSP 도메인 및 제 2 TSP 도메인을 포함한다.
- [0017] 예시적인 실시형태에 있어서, 적어도 하나의 링커는 제 1 TSP 도메인과 제 2 TSP 도메인을 분리하는 제 2 링커를 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 2 링커는 SSG, GSSG, SSGGG, SGG, GGSGG, GGGGS, SSGGGSGG, SSGGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGGSGG, GGSGGTSGGGGSGG, SSGGGGSGGGSSG, SSGGGSGGSSGGG, 및 SSGGGGSGGGSSGGG로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 제 2 링커는 GSSG이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0018] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질은 SEQ ID NO:1의 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0019] 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 성장 인자의 일부는 상기 합성 단백질에 존재하는 적어도 2개의 상이한 성장 인자의 전장 또는 중화 도메인을 포함한다. 예시적인 실시형태에 있어서, 조성물은 아주반트를 추가로 포함한다.

[0020] 일 양태에 있어서, 본 개시는 합성 성장 인자 서열을 갖는 합성 단백질, 적어도 하나의 링커, 및 폴리펩티드 서열을 포함하는 면역원성 조성물을 백신 접종 기간시 접종 당일 또는 격일로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 환자를 치료하는 방법을 제공한다.

[0021] **정의**

[0022] "BVN22E 핵산 분자"는 BVN22E 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 BVN22E 핵산 분자는 이하에 재현된다(SEQ ID NO:1):

```
>BVN22E
AATACCGAAAACGATTGCCCTCTGTCTCATGAAGCGTATTGTCTGCACGACGGCGTGTGT
ATGTACATGAAGCCCTGGACAAATATGCATGTAACGTGTCTGTGGGCTACGTGGGGGAG
CGATGTACAGTTTCGAGACCTGCGTTGGTGGGATGCGCGCGGCTCGAGCGGTAATACCGAA
AACGATTGCCCTCTGTCTCATGAAGCGTATTGTCTGCACGACGGCGTGTGTATGTACATT
GAAGCCCTGGACAAATATGCATGTAACGTGTCTGTGGGCTACGTGGGGGAGCGATGTACAG
TTTCGAGACCTGCGTTGGTGGGATGCGCGCGGGTCTGGAGGTACTAGTGGCGGGCGGT
GGAGGGTCGGGTACCCCGCAGAATCACCAGCCTGTGCGCCGAGTACCACAACACCCAG
ATCCACACCCCTGAACGACAAGATCTTCTCGTACACCGAGAGCCTGGCCGATAAGCGTGAA
ATGGCCATCATCACCTTCAAGAACGGTGCACCTTCCAGGTGAGGTTCCCGGGTAGCCAG
CACATCGATTACAGAAGAAGGCCATCGAGCGTATGAAGGACACCCTGCGTATCGCCTAC
CTGACCGAAGCCAAGGTGGAAAAGCTGTGCGTCTGGAACAACAAGACGCCGCACGCCATC
GCCGCCATCAGCATGGCCAAT
```

[0023]

[0024] "BVN22E 폴리펩티드"는 이하의 아미노산 서열(SEQ ID NO:2)로 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 유사성(이하의 아미노산 변화를 제외: T2S, E3D, N4S, D5E, E11D, A12G, V38I, F44Y, R48K, D51E 및 A52L)을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프래그먼트를 의미한다:

```
>BVN22E
NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYYVGERCQFRDLRWWDARGSSGNTE
NDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYYVGERCQFRDLRWWDARGSSGGTSGGG
GGSGTPQNIITDLCAEYHNTQIHITLNDKIFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPGSQ
HIDSQKKAIERMKDTRLRIAYLLEAKVEKLCVWNNKTPHAIATAISMAN
```

[0025]

[0026] "표피 성장 인자 수용체(EGFR) 핵산 분자"는 EGFR 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 EGFR 핵산 분자는 NCBI 수탁 번호 NM_005228.4에 제공되며, 이하에 재현된다(SEQ ID NO:3):

>NM_005228.4

gtccgggcagcccccggcgcagcgcggccgcagcagcctccgcccccgcaacggtgtgag
 cgcccagcgcggccgagggcggccggaggtcccgagctageccccggcgccgcgcgcgccc
 gaccggagcagcaggccaactcgtcggcgtccgcccaggtccccgectcgccgccaacgc
 acaaccaccgcgcaacggccccctgactccgtccagtattgatcgggagagccggagcga
 ctctcggggagcagcgatgcgaccctccgggacggccggggcagcgcctcctggcgtgc
 tggctcgcctctgcccggcagtcgggctctggaggaaaagaaagtttgccaaggca cga
 gtaacaagctcacgcagttgggcacttttgaagatcattttctcagcctccagaggatgt
 tcaataactgtgaggtggtccttgggaatttggaaattacctatgtgcagagggaattatg
 atcttctctcttaaagaccatccaggaggtggctgggttatgtctctcatgcccaca
 cagtgaggcgaattcctttggaaaacctgcagatcatcagaggaaat atgtactacgaaa
 attcctatgccttagcagctcttactaactatgatgcaaaataaaaccggactgaaggagc
 tgcccatgagaaatttacaggaaatcctgcatggcgccgtgcccgttcagcaacaaccctg
 ccctgtgcaacgtggagagcatccagtgccgggacatagtcagcagtgactttctcagca
 acatgtcgatggacttccagaaccacctgggcagctgcaaaaagtgtgataccaagctgtc
 ccaatgggagctgctggggtgcagggagaggagaactgccagaaaactgacaaaaatcctc
 gtgcccagcagctgctccgggcgctgcccgtggcaagtccccagtgactgctgccacaacc
 agtgtgctgcagcgtgcacaggccccgggagagcgaactgctgggtcgcgcgcaaatcc
 gagaagcagcagctgcaaggacaacctgcccccaactcatgctctacaaccccccaact
 accagatggatgtgaacccccgagggcaaatcacagctttgggtgccacctgctgaagaagt
 gtccccgtaattatgtggtgacagatcacggctcgtgctcggagcctgtggggccgaca
 gctatgagatggagggaagacggcgtccgcaagtgtaaagaagtgcgaaggccttgccgca
 aagtgtgtaacgggaatagggtatgggtgaatttaaagaactcactctccataaatgctacga
 atataaacacttcaaaaactgcacctccatcagtgggcgtctccacatcctgcccgtgg
 catttaggggtgactccttcacacatactcctcctctggatccacaggaactggatattc
 tgaaaaccgtaaaaggaaatcacagggtttttgctgatcaggcttggcctgaaaacagga
 cggacctccatgccccttgagaacctagaaatcatacggggcaggaccagcaacatggctc
 agttttctcttgcagtcgtcagcctgaacataacatccttgggatta cgtccctcaagg
 agataagtgtgagatgtgataatttcaggaaacaaaaatttgtgctatgcaaaataca
 taaactggaaaaaactgtttgggacctccggtcagaaaaacaaaaattataagcaacagag
 gtgaaaacagctgcaaggccacaggccaggtctgcccagccttgtgctccccgagggct
 gctggggccccgagccccagggaactgctctctgcccgaatgtcagccgagggcagggaa
 tggctggacaagtgcacctctctggagggtgagccaagggaagtgtgaggagaactctgagt
 gcatacagtgccaccagagtgctgctcaggccatgaacatcacctgcacaggacggg
 gaccagacaactgtatccagtggtcccactacattgacggccccactgctgcaagaact
 gcccggcaggagtcattgggagaaaacaacacctggctggaagtacgcagacgcccggcc
 atgtgtgccacctgtgccatccaaactgcacctacggatgcaactggccaggtcttgaag
 gctgtccaacgaatgggectaaagatcccgctccatcgccactgggatgggtgggggcccctc
 tcttctgctggtggtggccctggggatcggcctcttcatgcgaaggcgcacatcgttc
 ggaagcgcacgctgcccagggtgctgcaggagaggagcttggggagcctcttaaccca
 gtggagaagctcccaaccaagctctcttgaggatcttgaaggaaactgaattcaaaaaga
 tcaaatgctgggctccgggtgctcggccacgggtgtataagggaactctggatcccagaag
 gtgagaaggttaaaattcccgctcgtatcaaggaaatgaagagaagcaacatctccgaaag
 ccaacaaggaaaatcctcgatgaagcctacgtgatggccagcgtggacaacccccacgtgt
 gccgctgctgggcatctgectcacctccaccgtgcagctcatcacgcagctcatgccc
 tggctgectcctggaactatgtccgggaacacaaagacaatattggctcccagtaacctgc
 tcaactggtgtgtgcagatcgcaagggtcatgaaactctggaggaccgtgcttgggtgc
 accgcgacctggcagccaggaaactgactggtgaaaacaccgcagcatgtcaagatcacag
 attttgggctggccaaactgctgggtgcccgaagagaagaat accatgcagaaggaggca
 agtgctatcaagtggtggcatggaaatcaatttacacagaatctatacccaccaga
 gtgatgtctggagctacggggtgactgtttgggagttgatgaccttggatccaagccat
 atgacggaatccttgcagcagatctcctccatcctggagaaagggaacgectcctc

[0027]

agccaccatgtaccatcgatgtctacatgatcatgggtcaagtgtggatgatagacg
 cagatagtcgcccagggtccgtgagttgatcatcgaattctccaaaatggcccgagacc
 ccagcgtctacottgtcattcagggggatgaaagaatgcatttgccaagtoctacagact
 ccaacttctacogtgcctgatggatgaagaagacatggacgacgtgggtggatgccgacg
 agtacctcatcccacagcaggggtcttcagcagccctccacgtcaogactccctcc
 tgagctctctgagtgaaccagcaacaattccaccgtggcttgcattgatagaaatgggc
 tgcaaaagctgtcccatcaaggaagacagctctttgcagcgatcacagctcagaccccacag
 gcgcttgactgaggacagcatagacgacaccttccctccagtgectgaatacataaac
 agtccgttcccaaaaggcccgctggctctgtgcagaatcctgtctatcacaatcagectc
 tgaaccccgcgcccagcagagaccacactaccaggaccccacagcactgcagtgggca
 accccgagtatctcaacactgtccagcccactgtgtcaacagcacattcgacagccctg
 cccactgggcccagaaaggcagccaccaaattagcctggacaacctgactaccagcagg
 acttctttcccaagggaagccaaagccaaatggcatctttaagggtccacagctgaaaatg
 cagaatacctaaagggtgcgcccacaaagcagtgatttattggagcatgaccacggagga
 tagtatgagccctaaaaatccagactctttcgatacccaggacaaagccacagcaggtec
 tccatcccacagccatgcccgcattagctcttagaccacagactgggttttgcaagctt
 tacaccgactagccagggaagtaactccacctcgggacatctttgggaagttgcatctctt
 tgtcttcaaacgtggaagcatttacagaaacgcacccagcaagaatattgtccctttgag
 cagaaatttatctttcaagaggtatatttgaaaaaaagataatgtgaggattt
 ttattgattggggatcttggagtttttcatgtcgtatgtattttacttcaatgggct
 ctccaacaagggaagaagcttgcctgtagcacttgcctaccctgagttcatccaggccca
 ctgtgagcaaggagcacaagccacaagctctccagaggatgcttgattccagtggttctg
 ctccaaggttccactgcaaaacactaaagatccaagaaggccttcattggcccagcagg
 ccggtcggtaactgtatcaagctcatggcaggtacagtaggataagccactctgtccctc
 ctgggcaaaagaagaaacggaggggatggaattctctcttagacttacttttgtaaaatg
 tcccacggtaacttactcccactgatggaccagtggttccagtcagtagcgttagact
 gacttgtttgtctccattccattgttttgaactcagtagctgcccctgtcttgcctgt
 catgaaatcagcaagagaggatgacacatcaataataactcggattccagcccacattg
 gattcatcagcatttggacccaatagcccacagctgagaatgtggaatacctaaaggatagc
 accgcttttgtctcgcacaaaacgtatctcctaatggaggetcagatgaaatgcacag
 gtccctttggggcatagatcagaagactacaaaaatgaagctgctctgaaatctccttag
 ccatcaccaccccccaaaatagtttgtgttacttatggaagatagttttctccttt
 tactcacttcaaaagcttttactcaaaagagtatagttccctccaggtcagctgccc
 caaacccctccttaogctttgtcacacaaaaagtgctctcgccttgagtcattctatca
 agcacttacagctctggccacaacagggcattttacaggtgcgaatgacagtagcattat
 gagtgtgtggaatcaggttagtaaatatgaaactaggggttgaaatgataatgctttc
 acaacatttgacagatgttttagaaggaaaaagttccttccctaaaataatttctctaca
 ttggaagattggaagatcagctagtttaggagcccactttttctaaatctgtgtgtgc
 cctgtaacctgactggttaacagcagctcctttgtaaacagtggttttaaacctctcctagtc
 aatatcccccocccaattttatcaaggaagaatgggttcagaaatattttcagcctac
 agttatgttcagtcac
 ctcccagatcagtcagagcccctacagcattgttaagaaagatattgatttttgtctcaa
 tgaaaaataaaactatattcatttccactctattatgctctcaaataccocctaagcatcta
 tactagcctggatagggatgaaagatacaaaagataaaataaaacatagtcctctgattcta
 agaaatccacaatttagcacaaggaatggactcatagatgctaaccttaaaacaacgtga
 caaatgccagacaggaccatcagccaggcactgtgagagcaagagcagggagggtggg
 tccctgctgaggagacctggaaggaggcctcagaggaggatgaccaggtctcagtcagc
 ggggagggtggaagtgccaggtgcatcaggggaccctgaccaggaaacagctgccaag
 gcctccactgctaaagtccacataaggctgaggtcagtcacctaaacaacctgctccct
 ctaagccaggggatgagcttgagcactccacaaagtccctaaaagttgcagcccccagg
 gggattttgagctatcatctctgcacatgcttagtgagaagactacacaacatttctaa
 aatctgagattttatattgtcagtttaaccactttcattattcattcactcaggacatgc
 agaaatatttcagtcagaaactgggaaacagaaggacctacattctgctgtaacttatgtg
 tcaagaagcagatgatcgatgagggcaggtcagttgtaagtgagtcacattgtagcattaa
 attctagattttttagtatttgaacagtaacttaataaaagagcaaaagctaaaaaaa
 aaaaaaaaa

[0028]

[0029]

"표피 성장 인자 수용체(EGFR) 폴리펩티드"는 이하에 재현되는 바와 같이 NCBI 수탁 번호 NP_005219.2에 대해 적어도 약 85%의 아미노산 유사성을 가지고, 표피 성장 인자(EGF) 결합 활성을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프레그먼트를 의미한다(SEQ ID NO:4):

```
>NP_005219.2
MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNCEV
VLGNLEITYVQRNYDLFLKTIQEVAGYVLIALNIVERIPLLENLQIIRGNMYENSYALA
VLSNYDANKTGLKELPMRNLQELHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF
QNHGSCQCKDPCPNPSCWGWAGEENCQKLTKII CAQQCSGRCRGSKSPDCCHNQCAAGC
TGPRESDECLVCRKFRDEATCKDTCPLMLLYNPITYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYV
VTDHGSCVRCGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFGKDSLSINATNIKHFK
NCTSIISGDLHLPLVAFRGDSFTHTPLDPOELDI LKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF
ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIVISGNKNLCYANTINWKKL
FGTSGQTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGWPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN
LLEGEPPREFVENSEC IQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVM
GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCTNGPKIPSIATGMVGLLLLLLVV
ALGIGLFMRRRHIVRKRTRLRRLLOERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGS
GAFGTVYKGLWIPPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLGI
CLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIQSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLAA
RNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAAEKEYHAEGGKVP IKWMALESILHRIYTHQSDVWSY
GVTVWELMTFGSKPYDGI PASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCMMIDADSRPK
FRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDSNFYRALMDEEDMDDVDADEYLIPQ
QGGFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTED
SIDDTFLVPPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLN
TVQPTCVNSTFDSPAHWQKGSQHSQISLDNPDYQQDFFPKKAKPNGIFKGSTAENAEYLRV
APQSSEFIGA
```

[0030]

[0031]

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

```
>NM_001963.5
aaaaagagaaactgttgggagaggaatcgatatctccatattttctctttccagecccaate
caagggttgtagctggaactttccatcagttcttctcttcttcttctctcttaagccttt
gccttgetctgtcacagtgaagtcagccagagcagggctgttaaactctgtgaaatttgt
cataaggggtgacaggtattttcttactggcttccaagaacaatagataaagaaatctttc
ctgtggcttcccttggcaggtgcattcagaaggtctctcagttgaagaaagagcttggg
ggacaacagcacaaacaggagagtaaaagatgcccagggctgaggcctccgctcagggcag
ccgeatctgggggtcaatcactcacccttggccggccatgctccagcaaaatcaagctg
tttcttttgaaagttcaaacctcatcaagattatgctgctcactcttatactctgttgc
cagtagtttcaaaatttagttttgttagtctctcagcaccgcagcaactggagctgtcctg
aaggtaactctgcaggaatgggaattctacttgtgtgggtcctgcacccttcttaattt
tctccatggaaatagtatctttaggattgacacagaaggaaaccaatfatgagcaattgg
tggtaggtagctgtgtctcagtgatcattttcattataatgagaaaaagaatctatt
gggtggatttagaagacaactttgcaaagagttttctgaatgggtcaaggcaagaga
gagtatgtaatatagagaaaaatgtttctggaatggcaataaatggataaatgaagaag
ttatttgggtcaaatcaacaggaaggaatcattacagtaacagatatgaaaggaaataatt
cccacattcttttaagtgttttaaaatctcctgcaaatgtagcagttgatccagtagaaa
ggtttataatgggtcttcagaggtggctggaagcctttatagagcagatctcgatgggtg
tgggagtgaggctctgttggagacatcagagaaaataacagctgtgtcattggatgtgc
ttgataagcggctgttttggatcagtaacaacagagaaaggaaatctctctattttgct
cctgtgattatgatggaggtctgtccacattagtaaacatcaacacagcataatttgg
ttgcaatgtccctttttggtagccttatctctattcaacatggaaaatgaagacaattt
```

[0032]

ggatagccaacaacacactggaaaggacatggttagaattaacctccattcatcatttg
 taccacttgggaaactgaaagttagtgcactccactgcacaacccaggcagaagatgaca
 ctggggagcctgagcagaaactttgcaaattgaggaaaggaaactgcagcagcactgtgt
 gtgggcaagacctccagtccacttgtgcatgtgtgcagaggatcacgcccaagtcgag
 accggaagtactgtgaagatgttaatgaatgtgctttttggaatcatggctgtactcttg
 ggtgtaaaaacacctggatcctattactgcactgcccctgtaggatttgttctgtctc
 ctgatgggaaacagatgtcatcaacttgtttctgtccacgcaatgtgtgtaatgcagcc
 atgactgtgttctgacatcagaaggtecccttatgtttctgtcctgaaggetcagtgtttg
 agagagatgggaaaacatgttagcggttgttctccaccgataatggggatgtagccagc
 tctgcttctcttagcccagatcctgggaaatgtgattgtcttctgggatagacctac
 aactggatgaaaaaagctgtgcagcttcaggaccacaacccatttttgtgtttgccaatt
 ctcaagatattcgacacatgcattttgatggaacagactatggaactctgctcagccagc
 agatgggaaatggtttatgcctagatcatgacctgtggaaaataagatatactttgccc
 atacagccctgaaggatagagagagctaatatggatggttccagcgagaaaggctta
 ttgaggaaaggatagatgtgccagaaggctcttctgtgtggactggattggccgtagattct
 attggaacagacagaggaaatctctgatggaaaggatgtttaaatgggaaacggttcca
 aaataactactaaggagaacatctctcaaccaaggaatgtctgttcaaccatggcca
 agagattatctggactgatacagggattaatccacgaattgaaagtcttccctccaag
 gcttggccgtctgggttatagccagctctgatctaatctggcccagtggaataacgattg
 actcttaactgacaagttgtactgggtgcgatgccaaagcagctctgtgatgaaatggcca
 atctggatgggtcaaaaacgocgaaagacttaccagaatgtgtaggccaacctttgtctg
 tagcagtgtttgaggattatgtgtgttctcagattgggctatgccatcagtaatgagag
 taacaagaggactggcaaaagatagagtaeagtctccaagcagcatgctgaagccctcat
 cactggttgtggttccatccattggcaaaaacaggagcagatcctctgcttatatacaaacg
 gaggtgtgaaacatatttgcaaaaagaggcttggaaactgcttgggtctgtctgtgag
 gttttatgaaagcctcagatgggaaaacgctgtctggctctggatggctcactgctgtgg
 caggtgtgaaagtgtatcaaaagaccagtaacacctggacatcttgtccaagacta
 gagtgtcagaagataaacatcacagaatctcaacacatgctagtggctgaaactcatggtg
 cagatcaagatgactgtgctcctgtgggatgcagcatgtatgctcgggtgtatttcagagg
 gagaggatgccacatgtcagtttgaaggatttgctggggatggaaaactatggtctg
 atatagatgaatgtgagatgggtgtcccagtgctgccccctgctcctccaagtgcataca
 acaccgaaggtgggttatgtctgcccgggtctcagaaggctaccaaggagatgggattcact
 gtcttgatattgatgagtgccaactgggggagcacagctgtggagagaaagccagctgca
 caaatacagagggggctataactgcattgtgtgctggacgctctgtgaaacagggactga
 ttgcccctgactctactccaccctcaccctcagggaaagatgaccaccaactattccgtaa
 gaaatagtgactctgaatgtcccctgtcccacgaggggactgectccaatgattggtgtgt
 gcatgtatattgaagcattggcaagatgcatgcaactgtgttggctacatcggggg
 agcagatgctcagtagcagactgaagtggtgggaaactgcccacagctggccaacgggcagc
 agcagaaggtcactcgtggtggtctgtcgtggtggtgctgtcagctgctcctcctga
 gctgtggggggcccactactacaggactcagaagctgctatcgaaaaacccaaagaatc
 ctatgaggagtcagacagagatgtgaggagtcgagggctgctgacactgaggatggga
 gttcctcttgccctcaaccttgggtttgtggttataaaagaacaccaaagcctcaagaatg
 ggggtcaaccagtggtggtgaggatggccagcagcagatgggtcaatgcaacccaactt
 catggaggcagggagcccagttatgtggaatgggacagagcaaggctgctggattccag
 tatecagtgataaggctcctgtcccagtgaaatggagcgaagctttcattatgcccctcct
 atgggacaacagacccttgaagggggtgtcgagaagcccacttctcctatcagctaaac
 cattatggcaacaaaggccctggaccaccaaccaaatggagctgactcagtgaaaac
 tggaaataaaaggaaagtcaagaagaatgaactatgtcagatgcaagatattttcttct
 aaaagttagagcaaaactatagggtttgtgtccacaactctctacgactaatcaactca
 atgcttgagacagatagctagttgtgcttttgtttgctcttttaagcagctcactgca
 gtcttatttccaagttaagatgactgggagaatcactaggtaacttatagaaaacccaaat
 tgggacaacagtgctttgtaaaattgtgttctcagcagtcatacaaatagatttttg
 tttttgtgttctcagcccagcagaaagaattaggggttaagcagacagctcactcaggt
 ttggtcagttacaagtaatttctttgatctggacagaaatcttatcagtttcatgaa
 atgattggaatattacaataccgttaagatcagctgtaggcatttaactcctcattggcg
 tggctcctgctgatgattttgcaaaatgagttgtgatgaaatcaatgaaaaatgtaattta
 gaaactgatttctcagaattagatggcttatttttaaaatatttgaaatgaaaacattt
 tatttttaaaatattacacaggaggtctcggagttctctagtcattactgctctttccc
 ctacagaattttccctcttgggtgtgattgcacagaatttgtagtatttcagttacaag
 attgtaagtaaaattgctgattttgttttcaattatagacaacagatgaaatttctcaatta
 tttaaataaaatcaccaaaaacataaacattttattgtatgctgattaaagtattaat
 atagctcaaggcagtagagttgaaccaaaatgattttgtcaagctgctgattgttt

gtttttcgttttttttttttttccggagagaggataggatctcaectctgttatccaggt
 ggagtggtcaatggcacaatcatagctcagtgccagctcaaaactcctgggctcaagcaat
 cctcctgctcagcctcccagtaactaggaccaacaggcagcagccaccatgectggctga
 aggtttttatttttttttttgtagacatggggatcaacacaatggtgcccaggtggtct
 tgaactcctggcctcaagagggtcgtgctggttaattttgcaaaatgaaattgtgattgac
 ttccagcctcccacgctattagattataggcaatagccatggtgcccagcctgttaactt
 ttaaaaaattttttaactcaactctgttagatataaaatctcaactggtgttctaaat
 aatattttcttgcagccaaagataattgttactacagataaacacaactgatattgtaact
 ttaaattttgggggctttgaaatcattcagtttatgcattaactagtcctttgtttatct
 ttcatttctcaaccctgtactttgggtgataccagacatcagaataaaaagaaatgaa
 gtactcgttttcaaatggatactttataggaaattttggttaagattgggtgagggaggga
 tgaactgaggtttgtggatattagtttaattatcagtagtatcctcaccagctcaattt

[0033] "표피 성장 인자(EGF) 폴리펩티드"는 이하에 재현되는 바와 같이 NCBI 수탁 번호 NP_001954.2에 대해 적어도 약 85%의 아미노산 유사성을 가지고, 53개의 아미노산 EGF 분자(굵게 나타냄)를 생성하도록 공정된 프리-프로-단백질 형태의 EGF에 상당하고, EGFR 결합 활성을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프레그먼트를 의미한다(SEQ ID NO:6):

```

>NP_001954.2
MLLTLIIILLPVVSKFSFVLSLAPQHWSCPEGTLAGNGNSTCVGPAPFLIFSHGNSIFRID
TEGTNYEQLVVDAGVSVIMDFHYNEKRIYWVDLERQLLQRVFLNGSRQERVCNIEKNVSG
MAINWINEEVIWSNQOEGIITVTDKMGNNSHILLSALKYPANVAVDPVERFIWSSSEVAG
SLYRADLDGVGKALLETSEKITAVSLDVLDRKLFWIQYNREGNSNLICSDYDGGSVHI
SKHPTQHNLFAMSLFGDRIFYSTWKMKTIIWIANKHTGKDMVRINLHSSFVPLGELKVVHP
LAQPKAEDDTWEPEQKLCCKLRKGNCSSTVCGQDLQSHLCMCAEGYALSRDRKYCEDVNEC
AFWNHGCITLGCNTPGSYCTCPVGFVLLPDGKRCHQLVSCPRNVSECSHDCVLTSEGPL
CFCPEGSVLERDGTCSGCSSPDNGGCSQLCVPLSPVSWECDFPGYDLQLDEKSCAASG
PQPFLLFANSQDIRHMHFDGTDYGTLLSQQMGMYALDHDHPVENKIYFAHTALKWIERAN
MDGSQRERLIEEGVDVPEGLAVDWIGRRFYWTDGKSLIGRDLNGKRSKIITKENISQP
RGIADVHPMAKPLFWTDTGINPRIESSLQGLGRLVIASSDLIWPSTGITI DFLTDKLYWC
AKQSVIEMANLDGSKRRRLTQNDVGHFPAVAVFEDYVWFSDWAMPVSMRVNKRITGKDRVR
LQGSMLKPSLWVHPLAKPGADPCLYQNGGCEHICKKRLGTAWCSCREGFMKASDGKTC
LALDGHQLLAGGEVDLKNQVTPLDLILSKTRVSEDNITESQHMLVAEIMVSDQDDCAPVGC
SMYARCISEGEDATCQCLKGFAGDGKLCSDIDECEMGVPCPPASSKCIINTEGGYVCRCS
EGYQGDGIHCLDIDECQLGEHSCGENASCTNTEGGYTCMCAGRLSEPGLICPDSTPPPPL
REDDHYSVRNSDSECPLSHDGVCYLEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDLKWW
ELRHAGHGQQKVIVAVCVVVLVMLLLLSLWGAHYRTQKLLSKNPNPYEESRDVRS
RRPADTEDGMSSCPQPFVVIKEHQDLKNGGQPVAGEDGQAADGSMQPTSWRQEPQLCGM
GTEQGCWIPVSSDKGSCPQVMERSFHMPSTGTQTEGGVEKPHSLLSANPLWQQRALDPP
HOMELTQ

```

[0036]

[0037]

"뉴레클린 1(NRG1) 핵산 분자"는 NRG1 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 NRG1 핵산 분자는 NCBI 수탁 번호 BC150609.1에 제공되며, 이하에 재현된다(SEQ ID NO:7):

```

>BC150609.1
gagcccttgaccacaaactgcctgcgcgagagccgtccgcgtagagcgetccgtctccg
gcgagatgtccgagcgcaaagaaggcagagggc aaagggaggc caagaagaaggagcgag
gctccggcaagaagccggaggtccgcggcgggcagccagagcc cagccttgctcccccatt
tgaaagagatgaaaagccaggaatcggtgcaggttccaaactagtccttcggtgtgaaa
ccagttctgaatactctctctcagatccaagtggttcaagaatgggaa tgaatgaate
gaaaaaaacaaaccacaaaatatacagatacaaaaaaagccagggaaagtcagaacttcgca
ttaacaaagcatcactgggtgattctggagagtatatgtgcaaagtgatcagcaaatag
gaaatgacagtgccctctgccaatatccatcctggaatcaaacgagatcatcactggta
tgccagcctcaactgaaggagc atatgtgtcttcagagctccccattagaatatacagtat
ccacagaaggagcaataacttctctcatctacatctacatccaccactgggacaagccatc
ttgtaaatgagcgaggaaggagaaaaacttctgtgtgaaatggaggggagtgcttcattgg
tgaaagacctttcaaacccctcgagatacttgtgcaagtgccaaacctggattcactggag
caagatgtaactgagaatgtgccatgaaagtccaaaaccaagaaaaggcggagagctgt
accagaagagagtgctgaccataaccggc atctgcatcgccctccttctgtggctcggcatac
tgtgtttgggtggcctactgcaaaacaaagaaaacagcggaaaaagctgcatgaccgtcttc
ggcagagccttcgggtctgaacgaaacaatatagatgaacattgccaatgggcctcaccate
ctaaccaccccccgagaatgtccagctggtgaaatcaatacgtatctaaaaacgtcactct
ccagtgagcatattgttgagagagaagcagagacatccttttccaccagtcactatactt
ccacagcccatacctccactactgtcaccagactcctagccacagctggagcaacggac
acactgaaagcactccttccgaaagccactctgtaatcgtgatgcatccgtagaaaaaca
gtaggcacagcagcccaactgggggccc aagaggaagctcttaattggcacaggaggccctc
gtgaatgtaacagcttctcaggcatgccagagaaacccctgatctctaccgagactctc
ctcatagtgaaaggtatgtgtcagccatgaccacccccggctcgtatgtcacctgtagatt
tccacacgccaagctcccccaaatcgcccccttcggaaatgtctccaccctgtccagca
tgacgggtgctcatgcttccatggcggtcagcccttctcatggaagaagagagacctctac
ttctcgtgacaccacaaaggtcggggaagaagatttgaccatcacctcagcagttca
gctccttccaccacaaccccgccatgacagtaacagcctccctgctagcccttgagga
tagtggaggatgaggagatgaaacgacccaagagtagcagagccagcccaagagcctgta
agaaactcgcccaatagccggcgggccaaaaagaaccaagcccaatggccacattgctaaca
gattggaagtggacagcaacacaaagctccagagcagtaactcagagagtgaaaacagaag
atgaaagagtaggtgaagatacgccttctcctgggcatacagaacccccctggcagccagtc
ttgaggcaacacctgcttccgcttggtgacagcaggactaacccagcaggccgctctc
cgacacaggaagaaatccaggccaggtgtctagtgaatgctaaccaagaccctattg
ctgataaaacctaaaataaacacataagattccctgtaaaactttattttatataataaaa
gtattccaccttaaatataacaattttattttatttagcagttctgcaaatagaaaaacag
gaaaaa

```

[0038]

[0039]

"뉴레클린 1(NRG1) 폴리펩티드"는 NCBI 수탁 번호 AAI50610.1에 대해 적어도 약 85% 아미노산 유사성을 가지고, 이하에 재현되는 바와 같이 뉴레클린 1(NRG1) 결합 활성을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프래그먼트를 의미한다 (SEQ ID NO:8):

gttttggttgcatacagggtaaaactaacaccttacaagaggactgagtgctcactttct
ctctgggggaatgatccagcagcttatctagtggacaatcaaaacacggctgataaagg
gcaatcatttctgacatgtattttactgatgttgaaagctagtgattgggtgtgctctc
ttggctcaaaaagaagcatattacggcacaanaagcccagcccagacagcacatgcagca
ttttgtctgaaatacttctagagtcacaacgtgctgctgtacatagcgatgacttgtcat
cataggggaagtattccatcgttagagtggtcagaaggagtgactgataaggtggagagaa
gcttagtgactccgttgaaattttaaagtgtggatgaccaccctttctccccctattt
ttcttttatctttccatgtgcttgatcagggtcaataactatgcataaacatttttate
aggaatggccgatgtgatgtgatgtgtaatcacaagtaatgatcactcaggaaatgtca
atcctgttggaaagattgcaccttacttgcagaagtgaccccacctgtgctcctgacct
ctccatttacaggctctctcacccttcccccaacctctttaaatttttcttactgtc
ataaagttaggactaagattggctcaagcattgcatgtcttttgtgatgtaaatcaaaa
ggaaaggcctataagtatcaacatttgaataactgctaatcaggaaaaatggaaagaaaa
aaatattttgaaacacagaaccatttcatggcctgcctgatctgtgaaatcagggt
ggagctttacttaggattccacatggcctcctaggaaccaatgggcaaaatggaaacaggt
tatcgggggattcatgaagtcagtgagagtaattgctcttttttgggggtgaaatgaa
gtatttctccacaaatcttgatgttaacaataaaaaagaagaaatgacatgcaagtagg
ctctagcagaaaaatgcaggctgggcatgagtcagtgtgttaccctcccacatgctccta
caatccacagagatgctgtctgcagggttctgaagtattgttagtatttggatctca
aattttctgactgttccacatgccactttctctgtgcacagtggtatcctcatttgctt
tttaacctacactgaggagctcttctcagggttgcactgattttccaatctgcagtaatg
agtaagctcacggcatggggaagaagacagtcagtcacatgaagttctctaaatatttt
aacattgctttgaggcttgaagccttgactcactccttagctatttcaatgaagaaatctacca
tgaattttaaaccctaaaaatctgtttcaaatctttgggcatggggtaactcagataat
cccattgtggaagaattttaaagaaataatagaagtttctgttgagaaccatgagcaaat
gtttcttacaatgagaattgtctatgcattttaaattgcaaatatatagaaaattgaaag
acaagaggaaaattgtatttctaacttgattctgactcactcagaggtggcatattatta
tagttgggacatcctttgcacctctcaaaaaaggccagctgactgctcagcatcact
gcaaggccactagatttgggttacaggggtatctctgtgatgcttgcacatcactct
tgaccacctctgttaataaattccgacagtgacagtgccgatcggagtgtaacttatgtt
cccagcatatggaaagctatcttaggttttaaggtagtagaaatgcccaggagtttgac
agcaactttgtttcccgggtctaaaatcgtatcccactgagggtgatgcagtgaggcata
atacatgcaaatcatgcaaaaactcctttgtttcacctaaatcacttctctatcttac
ttcccttctgctcctagtgtgacttttgcccccaagagtgcttgacagcattctgattt
ctacaaaatggctctctgtgtaggtgaaatgtgtcccaaacctgctatcactttctgttt
cagtgtagctgtctgttagaggtgaagtttatccagggttaactgtctcactaaatctc
ctttttatggcctggggttaaaaggcgcacatggctcacactgggtaaaaataggaaaggcct
ggctctatcttctgtaataaataactggctgcaatccaccagccagagatttctatctgg
aagacctatgaaacactgaaagaaaatgtaggcagaaggaatggccacatatacaagt
tctattatataatttttgaataacatattgtataatacttggatgttttcttataca
tttaactgtctttttagttaaattgtcagttttactctctcaacttactatgtaacattgt
aaataacataatgtcctttattttatattttaaagcatcaacataatagagttgtttca
tataagtttaagataaatgtcaaaaatataatgttcttttgttttctttgctttaaaatt
atgtatctttctctttctttttttaaagaataatttattgttcaggagaaaagaatgtat
atgtaactgaaaactatctgaaagaatgcacattgaaggccgtgaggtactgataaactaa
gaatttattattcaaaaactaagcaataagtaattgtgatttattttaaagttttgtcca
ttttccatgaaagacactgcaataaaaaatgctactctgtggaaaaaiaaaaaaaaaa

[0044]

"뉴레굴린 1β (NRG1β) 폴리펩티드"는 이하에 재현되는 바와 같이 NCBI 수탁 번호 NP_001309134.1에 대해 적어도 약 85% 아미노산 유사성을 가지고, 뉴레굴린 1(NRG1) 결합 활성을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프레그먼트를 의미한다(SEQ ID NO:10):

>NP_001309134.1
MEIYSPDMSEVAERSSSPSTQLSADPSLDGLPAAEDMPEPQTEDGRTPLVGLVAVPCCA
CLEAERLRGLNSEKICIVPILACLVLCLCIAGLKWVFDKIFEYDSPHTLDPGGLGQD
PIISLDATAASAVVWVSSSEAYTSPVSRQSESEVQVTVQGDKAVVVFEPSPAAPTPKNRIFA
ESFLPSTAPSFSPTRNPEVTRPKSATQPQTTEINLQTA PKLSTSTSTTGTSHLVKCAEK
EKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYKHLGIEFMEAEELYQ
KRVLTITGICIAALLVVGIMCVVAYCKTKKQRKKLHDLRQLRSLRERNMMNIANGPHHPN
PPENVQLVNOYVSKNVISSSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVTQTPSHSWNGHT
ESILSESHSVIVMSVENSRRHSSPTGGPRGLNGTGGPRECSFLRHARETPDSYRDSPH
SERYVSAMTTPARMSPVDFHTPSSPKSPPSEMSPPVSSMTVSMPSMAVSPFMEERPLLL
VTPPRLREKKFDHHPQQFSSFHHPAHDSNSLPASPLRIVEDEEYETTQEYEPAQEPVKK
LANSRRAKRTKPNHIANRLEVDSENTSSQSSNSESETEDERVGEDTFFLGIQNPLAASLE
ATPAFRLADSRTPNAGRFSTQEEIQARLSSVIANQDPIAV

[0046]

"NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드"는 이하의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 아미노산 유사성을 가지는 폴리펩티드 및 그 프레그먼트를 의미한다(SEQ ID NO:11):

>NRG-BVN-hybrid
GTSHLVKCLPSHEAYCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASF

[0048]

"TGF α 하이브리드 폴리펩티드"는 이하의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

[0049]

95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 아미노산 유사성을 가지는 폴리펩티드 또는 그 프래그먼트를 의미한다(SEQ ID NO:12):

>TGF-BVN-hybrid
 .NTENDCPLSHEAYCLHDGVCRCFLVQEDKPCVCVVGIVGGERCQFRDLRWWDAR

[0050]

범위는 본원에서 "약" 하나의 특정값 및/또는 "약" 다른 특정값으로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현되는 경우, 다른 양태는 하나의 특정값 및/또는 다른 특정값을 포함한다. 유사하게, 선행어 "약"을 사용하여 값이 근사치로 표현되는 경우, 특정값이 다른 양태를 형성하는 것으로 이해된다. 각 범위의 종점은 다른 종점과 관련되어 있고, 다른 종점과 독립적으로 유의하다는 것이 추가로 이해된다. 다수의 값이 본원에 개시되어 있고, 또한 각각의 값은 그 값 자체 이외에 그 특정값에 대해 "약"으로 개시되는 것으로 이해된다. 출원 전체에 걸친 데이터는 여러가지 다른 형식으로 제공되며, 이 데이터는 데이터 포인트의 모든 조합에 대한 종점과 시작점 및 범위를 나타내는 것으로 이해된다. 예를 들면, 특정 데이터 포인트 "10" 및 특정 데이터 포인트 "15"가 개시되면, 10과 15 사이뿐만 아니라, 초과, 이상, 미만, 이하, 및 동등으로 이해된다. 또한, 2개의 특정 유닛 사이의 각각의 유닛이 개시되는 것으로 이해된다. 예를 들면, 10 및 15가 개시되면, 11, 12, 13 및 14도 개시된다.

[0052]

본원에 제공되는 범위는 범위 내의 모든 값에 대해 축약된 것으로 이해된다. 예를 들면, 1~50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50로 이루어지는 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합 또는 하위 범위뿐만 아니라, 예를 들면 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 및 1.9 등의 앞에서 언급한 정수 사이의 모든 중간 10진수값을 포함하는 것으로 이해된다. 하위 범위와 관련하여, 범위의 종점 중 어느 하나로부터 연장되는 "중첩된 하위 범위"가 구체적으로 고려된다. 예를 들면, 1~50의 예시적인 범위의 중첩된 하위 범위는 한 방향으로 1~10, 1~20, 1~30, 및 1~40을 포함하거나, 다른 방향으로 50~40, 50~30, 50~20, 50~10을 포함할 수 있다.

[0053]

적용가능하거나 구체적으로 부인하지 않는 경우, 본 개시의 상이한 양태 하에서 실시형태가 설명되지만, 본원에서 설명된 실시형태 중 임의의 하나는 임의의 다른 하나 이상의 실시형태와 결합될 수 있는 것으로 고려된다.

[0054]

이들 및 다른 실시형태는 이하의 상세한 설명에 의해 개시 및/또는 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0055]

예를 들면, 개시된 특정 실시형태로만 본 개시를 제한하려는 것이 아니지만, 이하의 상세한 설명은 수반되는 도면과 관련하여 가장 잘 이해될 수 있다:

도 1a~1b는 본 개시의 예시적인 실시형태에 따른 합성 단백질의 도메인 및 특징을 도시한다. 도 1a는 단일선 밀줄로 나타낸 표적 신호전달 경로(TSP) 도메인 1 및 2, 이중선 밀줄로 나타낸 2개의 링커 서열, 및 점선 밀줄로 나타낸 면역원성 담체 도메인을 포함하는 BVN22E의 아미노산 서열을 도시한다. 도 1b는 인간 EGF(hEGF)의 상응하는 영역과 정렬된 BVN22E의 합성 표피 성장 인자(sEGF) 영역의 Clustal Omega 정렬을 도시한다.

도 2는 본 개시의 예시적인 실시형태에 따라 1 μ g/ml의 농도로 코팅된 고정시킨 재조합 인간 표피 성장 인자(rhEGF)를 BVN22E 결합으로 면역화된 5마리 토끼로부터 정제된 IgG 분획의 적정 그래프를 도시한다.

도 3은 본 개시의 예시적인 실시형태에 따라 BVN22E 또는 2개의 천연 표피 성장 인자(EGF) 도메인을 함유하는 등가 단백질 중 어느 하나로 면역화한 후에 5마리 토끼로부터 폴링된 IgG 분획의 비교를 나타내는 그래프를 도시한다.

도 4a~4b는 인산화를 자극하기 위한 BVN22E의 능력을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 도 4a는 BVN22E가 A431 세포의 표피 성장 인자 수용체(EGFR)의 인산화를 농도-의존 방식으로 천연 인간 EGF 도메인을 함유하는 유사한 분자와 동일한 정도로 자극할 수 있음을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 도 4b는 EGF계 분자와 비교하지 않은 다른 분석 결과를 도시한다.

도 5는 2개의 농도에서 BVN22E로 면역화된 5마리 토끼로부터 정제된 폴링된 IgG를 나타내는 웨스턴 블롯을 도시하고, 상업적으로 이용가능한 중화 모노클로날 항체와 유사한 방식으로 30ng/ml rhEGF에 의해 A431 세포의 EGFR 활성화를 중화시킬 수 있음을 도시한다.

도 6은 BVN22E로 면역화된 모든 5마리 토끼로부터의 혈청이 상업적으로 이용가능한 중화 모노클로날 항체와 유사한 방식으로 30ng/ml rhEGF에 의해 A431 세포의 EGFR 활성화를 중화시킬 수 있음을 나타내는 웨스턴 블롯을

도시한다.

도 7은 BVN22E로 면역화를 받고 있는 토끼로부터의 풀링된 혈청이 중화 모노클로날만큼 효과적으로 단 한번의 부스트 주입(테스트 블리드 1; 레인 6) 후에 A431 세포에서 30ng/ml rhEGF로부터 EGFR 신호전달을 중화할 수 있음을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 면역화 전에 동물로부터의 혈청은 중화 활성이 없다(레인 5).

도 8은 BVN22E에 대해 면역화된 토끼의 혈청으로부터 정제된 IgG의 중화 활성이 천연 EGF 도메인만을 포함하는 유사한 분자로 면역화된 동물의 것과 유사하다는 것을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다.

도 9는 BVN22E 또는 화학적으로 컨주게이션된 천연 인간 EGF(hEGF)를 함유하는 면역원 중 어느 하나로 면역화된 마우스로부터 유래된 풀링된 혈청(n=10)에 의한 EGF 신호전달 경로의 억제를 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 레인 4~6은 BVN22E 면역이 천연 hEGF에 기초한 면역원보다 더 큰 EGF 중화 능력을 생성했음을 입증한다.

도 10은 합성 NRG-CTB 분자의 쿠마시 염색된 SDS 겔을 도시하고, Un=천연, D=열 변성, R=감소, RD=감소 및 변성이다.

도 11은 합성 NRG-CTB 분자의 항-NRG 웨스턴 블롯을 도시하고, Un=천연, D=열 변성, R=감소, RD=감소 및 변성이다.

도 12는 MCF-7 세포 활성화 분석의 결과를 도시한다. 상단 패널은 rhNRG-1β(레인 2), 합성 NRG-CTB 분자(레인 4)에 의한 ERB3 수용체의 활성화(예를 들면, 인산화), 및 중화 항체(레인 3 및 5)에 의한 둘 모두의 억제를 도시하는 반면에, 하부 패널은 ERB3 수용체 발현에 대한 대조군이다.

도 13a~13c는 합성 TGF α 분자의 SDS 겔을 도시한다. 도 13a는 쿠마시 염색된 SDS 겔을 도시한다. 도 13b는 도 13a의 SDS 겔의 웨스턴 블롯이고, 합성 TGF α 분자가 2개의 상이한 중화 항-TGF α 항체에 의해 인식된다는 것을 나타내기 위해 항-TGF α 항체로 염색되어 있다. 도 13c는 도 13a의 SDS 겔의 웨스턴 블롯이고, 2개의 상이한 항-EGF 항체가 합성 TGF α 분자를 인식하지 않는다는 것을 나타내기 위해 항-EGF 항체로 염색되어 있다.

도 14는 합성 TGF α 분자의 정제가 단일 펜타머 밴드를 생성한다는 것을 나타내는 쿠마시 염색된 블루-네이티브 겔(Blue-native gel)을 도시한다.

도 15a~15b는 쿠마시 염색된 SDS 겔 및 항-TGF α 웨스턴 블롯을 각각 도시하고, 합성 TGF α 분자가 승온(예를 들면, 실온 및 37°C)에서 3주 이상 경과한 후에 이산 펜타머 밴드로서 남아 있는 개선된 안정성을 나타내는 것을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056] 본 개시는 합성 성장 인자, 하나 이상의 링커 영역, 및 하나 이상의 면역원성 도메인으로부터 하나 이상의 단백질 도메인을 포함하는 합성 단백질/분자가, 예를 들면 암과 같은 다양한 질환을 치료하기 위한 치료적 분자로서 사용될 수 있다는 발견에 기초한다. 합성 분자는 선행기술에 비해 몇 가지 예상치 못한 이점을 제공한다. 예를 들면, 12개의 서로 상이한 분자종을 함유하는 비균질한 혼합물에 존재하는 종래기술의 인간 표피 성장 인자(hEGF) 분자(예를 들면, Davila 외, 미국 특허 번호 제5,984,018호)와는 달리, 본원에 기재된 합성 단백질/분자는 단일 분자(예를 들면, 균질한 분자 집단)로서 생성될 수 있다. 또한, 본원에 기재된 합성 단백질/분자는 분자당 10개의 활성 성분을 포함하지만(활성 성분은, 예를 들면 펜타머의 일부로서 5의 배수로 증가 또는 감소될 수 있지만), 종래기술의 hEGF 분자(예를 들면, Davila 외, 미국 특허 번호 제5,984,018호)는 분자당 존재하는 활성 성분의 수에 있어서 매우 가변적이다(예를 들면, Davila의 분자당 활성 성분의 평균 수는 1.5이다). 또한, 본원에 기재된 합성 단백질/분자는 제조하는데 훨씬 더 간단하다. 예를 들면, 종래기술의 hEGF 분자(예를 들면, 미국 특허 번호 제5,984,018호)는 rP64k와 재조합 인간 EGF(rhEGF)를 화학적으로 컨주게이션시켜 서로 화학적으로 컨주게이션된 2개의 분자로 구성된 최종 분자를 생성함으로써 제조된다. 이것은 단일 합성 분자인 본원에 기재된 합성 단백질/분자와는 극명하게 대조적이다. 유리하게, 본원의 기술은 종래기술 방법(예를 들면, 미국 특허 번호 제5,984,018호)보다 더 높은 면역원성 활성 수준을 갖는 암(예를 들면, 암 백신)과 같은 질환을 치료하기 위해 치료적으로 사용될 수 있는 신규한 합성 단백질을 제공한다.

[0057] **개요**

[0058] 암 면역학은 면역 체계와 암 세포, 예를 들면 종양 또는 악성 종양 사이의 상호작용에 대해 연구하는 학문이다. 인간 종양에 의해 발현되고 정상 조직에서는 발현되지 않는 암-특이적 항원의 인식과 같은 면역 반응의 개시가 특히 관심사이다. 일반적으로, 악성 세포의 분열 및 증식을 제어하는 방법은 이들 항원을 단리하고 이를 제시하

여, 비자기 항원으로서 면역 체계에 의해 인식되어 특정 면역 반응을 유도하는데 초점을 맞추고 있다.

- [0059] 현재 확인된 성장 인자는 상당한 수가 있으며, 전부는 아니지만 대부분은 다른 질환 조건에 연루되어 있을 뿐만 아니라 다양한 암에서 세포 증식의 중요한 매개체인 것으로 밝혀졌다. 일반적으로, 성장 인자는 세포 표면에 위치한 성장 인자 수용체군을 인식하고 이에 결합하는 가용성 혈청 단백질이다. 특정 성장 인자는 단일 수용체에 대해 특이적이거나, 또는 다른 친화력으로 서로 밀접하게 관련된 둘 이상의 수용체에 결합할 수 있다. 유사하게, 일부 수용체는 단일 성장 인자 리간드에만 결합하는 반면에, 다른 수용체는 일반적으로 다른 친화력으로 다수의 관련 성장 인자에 결합할 수 있다. 그 천연 수용체에 결합하면, 수용체의 세포질 도메인은 인산화되고, 이는 하나 이상의 유전자의 전사 조절 및 궁극적으로 세포 주기 및 세포 증식을 통해 진행되도록 하는 세포내 신호전달 캐스케이드를 개시한다.
- [0060] 성장 인자 및 이들의 수용체는 성장, 발달 및 회복의 정상적인 과정의 필수 성분이며, 이들의 조직 분포 프로파일 및 발현 수준은 세포 성장을 밀접하게 조절한다. 다수의 연구에 따르면, 성장 인자는 인비트로 및 인비보 모두에서 다양한 세포 유형의 증식을 자극할 수 있음을 나타냈다(Cohen S., Carpenter G., PNAS USA 72, 1317, 1975, Witsch E et al: Physiology: 25(2): 85~101, (2010)). 또한, 특정 성장 인자는 일부 암 세포주에서 증식을 자극하는 것으로 나타났다. 예를 들면, 표피 성장 인자(EGF)는 일부 비소세포 폐암 세포를 자극할 수 있다 (Osborne C. K et al. Can Res. 40, 2. 361(1980)). 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 섬유 아세포 성장 인자(FGF) 및 혈소판 유래 성장 인자(PDGF)와 같은 다른 성장 인자는 비소세포 폐암(NSCLC)(BallasMS, Chachoua A., Onco Targets and Therapy: 4, 43~58(2011)), 전립선암(CoxME et al; Prostate 69(1):33~40(2009)), 및 유방암(Law J et al, Cancer Res; 68, 24: 10238~10346(2008))과 같은 여러 종양학 질환에서 중요하다.
- [0061] 악성 조직에서 높은 수준의 다양한 성장 인자 수용체가 보고되어 있다. 예를 들면, 표피 성장 인자 수용체(EGFR)는 폐, 유방, 방광, 난소, 외음부, 대장, 폐, 뇌 및 식도암과 같은 상피 유래의 악성 종양에서 비정상적으로 높은 수준으로 검출되었다. 종양 성장 조절에서 성장 인자 및 그들의 수용체에 의해 수행되는 역할은 알려져 있지 않지만, 종양 세포에서의 성장 인자 수용체 발현은 조절되지 않은 증식을 초래하는 자가분비 성장 자극에 대한 메커니즘을 제공한다는 제안이 있다(Schlessinger J., Schreiber AB, Levi A, Liberman T., Yarden Y. Crit. Rev. Biochem. 1983, 14(2) 93~111). 또한, Liao Y 외; Hum Pathol 36(11): 1186~196(2005) 및 CoxME 외; Prostate: 69(1) 33~40(2009)는 전이성 전립선암에서 증가된 인슐린 수용체 및 성장 인자의 역할을 설명한다.
- [0062] 암 치료에서 성장 인자 신호전달을 표적으로 하는 하나의 치료 전략은 관련된 특정 수용체/수용체에 대해 수동 면역 요법(예를 들면, 단일 클론 항체)을 사용하는 것이다. 이러한 연구는 리간드의 결합을 억제할 수 있는 수용체의 항체에 의한 특이적 인식이 악성 세포의 유사 분열 촉진 자극에 억제 효과를 가져올 수 있다는 것을 입증했다(SATO J. D., et al. Methods in Enzymology, vol. 146, pp63~81, 1987). 그러나, 무린 유래의 항체는 일반적으로 인간 항-마우스 항체 반응(HAMA)을 생성함으로써, 단일 투여로 제한하게 된다.
- [0063] 다른 치료 전략은 관심 성장 인자를 함유하는 백신과 함께 활성 면역 요법을 사용하여 종양에 대한 성장 인자의 증식 효과를 억제하기 위한 분자에 대한 면역 반응을 유도한다. 미국 특허 번호 제5,984,018호의 Davila 외, Vaccine Composition Comprising Autologous Epidermal Growth Factor or a Fragment or a Derivative Thereof having Anti-tumor Activity and use Thereof in the Therapy of Malignant Diseases에는, 예를 들면 글루타르알데히드를 사용하여 화학적으로 함께 컨주게이션된 성장 인자 및 면역원성(즉, 비인간) 담체 단백질의 혼합물을 함유하는 백신을 사용한다. 그러나, 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 화학적 컨주게이션은 백신에 대한 면역 반응을 방해한다고 생각된다.
- [0064] 이것은 숙주가 '자기 항원'에 대한 면역 반응을 생성하도록 요구되기 때문에 기술적으로 도전적인 접근법이며, 척추동물 면역 체계가 그러한 반응의 발생을 막기 위해 진화했다. 예를 들면, 도움 T 세포 활성화를 포함하는 것과 같은 자가 항원에 대해 강한 면역 반응이 생성되는 경우, 자가 면역 질환 상태가 대개 발생한다. 수년 동안, 예를 들면 루푸스, 다발성 경화증(MS), 당뇨병 등과 같은 일부 자가 면역 장애는 자기-에피토프를 밀접하게 모방하는 면역원성 에피토프(T 세포 에피토프)를 포함하는 환경 에이전트에 조기에 노출되어 발생할 수 있다는 가설이 있다. 이것은 숙주 에피토프와 교차 반응성인 도움 T 세포의 자극으로 이어질 수 있다. 이후에, 환경 에이전트에 노출되면 항-자기 면역 반응을 초래할 수 있다(Albert, L. J., and Inman, R. D New England Journal of Medicine, pp2068~2074, 1999). 바이러스 항원은 실제로 신경 세포 단백질에 대해 항-자체 면역 반응을 생성할 수 있음이 입증되었다(Levin, M.C. et al., Nature Medicine vol 8(5) pp509~513, 2002).
- [0065] Casimiro 외, Method for Treatment of Malignant and Infectious Chronic Diseases의 미국 특허 출원 제

2006/0251654호('654 공보)에는, 악성 또는 감염성 만성 질환을 앓고 있는 피험체를 치료하는 방법으로서, 담체 단백질에 커플링된 악성 또는 감염성 만성 질환과 관련된 자가 항원을 함유하는 백신으로 피험체를 면역화하는 단계; 상기 피험체를 면역 조절제로 치료하는 단계; 및 단계 1의 백신, 및 수산화알루미늄 및 몬타니드 ISA 51 (프랑스 파리, Seppic)로부터 선택된 적절한 아췌반트로 상기 피험체를 다시 면역화하는 단계를 포함한다. 불행하게도, 화학적 컨주게이션에 의한 백신의 제조는 면역 반응을 방해하는 것으로 생각된다.

[0066] 상기 기재된 백신의 대부분은 제조 방법 및 단백질 생성물의 균일성 및 상동성의 잠재적 결여에서 주로 비롯되는 다수의 한계를 나타낸다. 상기 기재된 백신은 일반적으로 글루타르알데히드를 사용하여 화학적으로 컨주게이션된 재조합 담체 단백질 및 인간 유래의 폴리펩티드의 혼합물을 포함한다. 불행하게도, 이 반응성 에이전트는 다양한 화학군 사이에서 공유 가교 결합을 원하지 않게 형성할 수 있고, 일반적으로 매우 비균질한 생성물로 이어진다. 따라서, 생성된 백신은 다양한 수의 표적 인간 폴리펩티드가 부착된 담체 단백질 분자(예를 들면, 0, 1, 2, 3 등)를 포함할 수 있을 뿐만 아니라, 인간 폴리펩티드는 상이한 원자를 통해 담체에 각각 부착될 수 있으므로, 상이한 위치와 상이한 방향으로 있다. 또한, 표적 폴리펩티드 및 담체 단백질 분자 모두는 그들 스스로 컨주게이션될 수 있으며, 이는 임상적 효능을 가지지 않을 수 있고 항암 환자 면역 반응에 기여하지 않을 수 있는 다양한 호모-멀티머를 야기할 수 있다.

[0067] **합성 단백질/분자**

[0068] 본 개시는 면역원성 합성 단백질/분자의 요소로서 성장 인자 에피토프, 종양 항원 에피토프 및/또는 수용체 결합 부위의 최대수의 존재를 개선시키기 위한 균질한 합성 단백질/분자를 제공한다. 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 면역원성 담체 도메인의 전체 또는 일부를 발현하는 합성 단백질/분자(예를 들면, 콜레라 독소 B(CT-B)), 및 합성 표적 성장 인자(sEGF), 종양 항원 및/또는 수용체를 설명한다. 대안적인 예시적인 실시형태에 있어서, 단백질은 공지된 면역원성 단백질에 기초하여 모델링된 다른 면역원성 합성 또는 재조합 단백질/분자를 발현할 수 있다. 이러한 합성 단백질/분자가 인간 면역 체계에 대해 높은 면역원성인 폴리펩티드를 발현할 수 있는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 바람직하게, 합성 단백질/분자는, 예를 들면 높은 발현 수율 및 제조 용이성, 구강 안정성 및 내장에서 혈류로의 교차 능력, 및/또는 인간에게서의 이전의 안전한 사용과 같은 추가 특성을 키메라 단백질에 부여한다.

[0069] 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 총 분자량의 함수로서 표적 자가 항원으로부터 유래된 높은 비율의 단백질 서열을 포함하거나 발현할 수 있다. 이것은, 예를 들면 다수의 성장 인자 에피토프를 함유하는 큰 단백질 모델을 사용함으로써 달성될 수 있다. 이들 성장 인자 에피토프는 단일 성장 인자의 전체 또는 일부의 다중 복제물이거나, 또는 둘 이상의 상이한 성장 인자의 전체 또는 일부의 복제물일 수 있다. 이들 성장 인자 에피토프는 자연 발생 또는 합성(예를 들면, 인공)일 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 예시적인 합성 단백질인 BVN22E는 약 120kD의 분자량을 가질 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 성장 인자 에피토프는 성장 인자 내의 하나 이상의 도메인(예를 들면, EGF 표적 신호전달 경로(TSP) 도메인)에 상응할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, EGF 도메인은 β -루프를 제시하거나 제한하는 영역, 예를 들면 합성 단백질 서열의 약 시스테인 6~약 시스테인 42에 의해 규정된 영역, 약 시스테인 6~약 시스테인 31에 의해 규정된 영역, 약 시스테인 22~약 시스테인 31에 의해 규정된 영역, 또는 약 시스테인 62~약 시스테인 14에 의해 규정된 영역을 포함할 수 있다(예를 들면, 도 1a). 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 시스테인 6과 시스테인 42 사이의 상이한 영역 또는 하위 영역이 본 개시의 합성 단백질/분자에 혼입될 때에 유리한 효과를 가질 수 있는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 예를 들면, 이하의 영역은 유리한 효과를 가질 수 있다: 시스테인 6과 시스테인 14 사이의 영역, 시스테인 6과 시스테인 20 사이의 영역, 시스테인 6과 시스테인 31 사이의 영역, 시스테인 6과 시스테인 33 사이의 영역, 및 시스테인 6과 시스테인 42 사이의 영역. 또한, 역순차적 서열이 유리할 수 있다는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 예를 들면, 이하의 영역은 유리한 효과를 가질 수 있다: 시스테인 42와 시스테인 33 사이의 영역, 시스테인 42와 시스테인 31 사이의 영역, 시스테인 42와 시스테인 20 사이의 영역, 시스테인 42와 시스테인 14 사이의 영역, 및 영역 시스테인 42와 시스테인 6 사이의 영역. 시스테인 6과 시스테인 42 사이의 영역 내의 특정 간격이 본 개시의 합성 단백질/분자 내로 혼입될 때에 유리한 효과를 제공할 수 있는 것이 본 개시의 범위 내에서 추가로 고려된다(예를 들면, 시스테인 6과 시스테인 14 사이의 영역, 시스테인 14와 시스테인 20 사이의 영역, 시스테인 20과 시스테인 31 사이의 영역, 및 시스테인 33과 시스테인 42 사이의 영역).

[0070] 본 개시에 따르면, 성장 인자 에피토프의 발현은 천연 형질이 실질적으로 유지되고, 상기 에피토프에 대한 강력한 숙주 면역 반응을 유도하는 방식으로 숙주 면역 체계의 성분에 제시되도록 풀딩되어야 한다. 합성 단백질/분자의 에피토프 지지 도메인을 모델링하는데 적합한 천연 단백질 모델의 예는 콜레라 독소 B 서브유닛, 대장균

(E. coli) 열 불안정한 LT 및 LT-II 장독소 B 서브유닛, 베라톡신, 백일해 독소, 캄필로박터(C. jejuni) 장독소, 시가 독소, 리스테리아 독소, 과산화물 독소이드, 디프테리아 독소이드, 수막구균성(N.Meningitidis) 외막 단백질, 박테리오파지 외막 단백질, 아데노바이러스 및 기타 바이러스 외막 단백질을 포함하지만, 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한, 단백질의 비자기 성분은 작을 수 있다. 최소한으로, 비자기 서열(들)은 약 9, 10, 11개 또는 그 이상의 아미노산 길이를 포함하고, 적어도 하나의 인간 T-세포 에피토프를 전체적으로 또는 부분적으로 포함해야 한다. 본원에 기재된 바와 같이 전체 단백질에 면역원성을 부여하고, 숙주 면역 체계에 대해 성장 인자, 수용체, 종양 항원 또는 그 에피토프의 적절한 제시 요건을 충족시키는데 비천연 합성 폴리펩티드 (예를 들면, BVN22E)를 사용할 수 있다.

[0071] 본 개시에 따르면, 본원에 제공된 합성 단백질/분자, 즉 성장 인자 또는 그 일부, 세포 수용체 또는 그 일부, 또는 종양 항원 또는 그 일부는 상기 합성 단백질 내에서 종양 항원으로서의 사용에 대해 만성 질환, 성장 인자 기반 또는 수용체 기반 암 및/또는 고형 종양에 관련된 광범위한 세포 경로와 관련되어 있다. 단백질은 합성 단백질/분자의 형태이며, 만성 질환, 예를 들면 유방, 폐, 방광, 난소, 외음부, 결장, 폐, 뇌, 결장, 장, 두경부 및 식도암의 치료에 유용할 수 있다. 상이한 종양 항원이 발현될 수 있고 상기 질환에서 다수의 세포 수용체 및 성장 인자가 과발현됨으로써, 본원에 기재된 단백질은 하나 이상의 상이한 종양 항원, 하나 이상의 상이한 수용체, 또는 질환과 관련된 하나 이상의 다수의 세포 경로의 성장 인자를 함유할 수 있다. 이들 단백질을 다가라고 한다.

[0072] 예시적인 실시형태에 있어서, 하나 이상의 표피 성장 인자(EGF) 중화 도메인(예를 들면, TSP 도메인)을 발현하는 균질한 합성 단백질/분자로 구성된 단백질이 개시된다. 단백질은 합성 단백질/분자의 형태일 수 있으며, 예를 들면 유방, 폐, 방광, 난소, 외음부, 결장, 폐, 뇌, 결장, 장, 두경부 및 식도암과 같은 만성 질환의 치료에 유용할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 단백질은 도 1a에 도시된 바와 같이 합성 EGF 서열 및 CT-B 서열을 발현하거나 포함하는 합성 단백질/분자이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 합성 단백질 서열의 성장 인자 성분은 EGF와 80% 미만 유사한 서열을 포함할 수 있다. 예를 들면, 성장 인자 성분은 합성 단백질 서열의 성장 인자 부분의 면역원성을 증가시킬 수 있는 11개의 아미노산 치환을 갖는 EGF 서열을 포함할 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, β -루프를 '제시'하거나 제한하는 EGF의 영역(예를 들면, Cys6-Cys31에 의해 규정된 영역)은 합성 단백질에 포함시키는 것이 중요하고, 아미노산 변형에 대한 표적으로 처리할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, Cys6-Cys31의 외부 영역은 또한 변형에 대한 표적으로 할 수 있다(예를 들면, E11 및 A12).

[0073] 예시적인 실시형태에 있어서, hEGF의 TSP1 및 TSP2 도메인은 도 1b에 도시된 바와 같이 변형되어, 본원의 합성 단백질/분자에 포함될 수 있는 합성 EGF(sEGF) 영역을 생성할 수 있다.

[0074] 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는, 예를 들면 뉴레귤린 1 β (NRG1 β), 형질전환 성장 인자 α (TGF α), 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 등과 같은 제한 없는 성장 인자를 포함하는 성장 인자의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다.

[0075] 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 합성 단백질/분자는 하나 이상의 링커 또는 스페이서를 포함할 수 있다. 상기 기재된 하나 이상의 실시형태는 합성 분자의 sEGF 부분이 GGSGGTSGGGGSG 링커에 의해 CT-B 부분으로부터 분리되도록 CT-B에 융합된 sEGF를 포함한다. 이들 생성된 재조합 또는 키메라 단백질은 본질적으로 CT-B에 직접 융합된 sEGF를 포함한다. 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 키메라 단백질의 EGF 및 CT-B 성분은 3~14개의 아미노산에 의해 효과적으로 분리되며, 이는 2개의 도메인 사이에서 가요성 스페이서 또는 링커를 형성한다. 링커는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14개의 아미노산 길이일 수 있는 것이 본 개시의 범위 내에서 고려된다. 성장 인자가 더 큰 크기(예를 들면, 인간 성장 인자)를 갖는 일부 경우에, 더 긴 링커 서열을 사용하는 것이 유용할 수 있다. 이하의 예시적인 링커를 사용하고 포함하지만, 이것에 제한되는 것은 아니다: SSG, SSGGG, SGG, GSSG, GGSG, GGGG, SSGGGSGG, SSGGGSGGG, TSGGGSG, TSGGGSGG, SSGGGSGGSSG, GGSGGTSGGGSG, SGGTSGGGSGG, GGSGGTSGGGSGG, SSGGGSGGGSSG, SSGGGSGGGSSGG, 및 SSGGGSGGGSSGG. 당업자는 유용한 링커 서열로서 역할을 하는 주로 'G' 및 'S'의 다수의 다른 서열/조합이 있음을 이해할 수 있다.

[0076] 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 상당한 임상적 이점을 제공하는 것으로 고려된다. 예를 들면, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 정확하게 폴딩되고 기능적으로 안정한 폴리펩티드를 생성하면서, 상업적 규모 및 순도로 박테리아 시스템에서 발현될 수 있다. 또한, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 펜타머를 형성할 수 있다. 또한, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 선행기술 방법(예를 들면, Davila 외, 미국 특허 출원 제5,984,018호)보다 필요한 담체의 양이 상당히 낮기 때문에 백신 접종을 위해 훨씬 더 낮은 수준의 단백질을 요구하는 유리한 특성을 가지고 있다. 이와 관련하여, 본원에 개시된 합성 단백질/분자는 상당히

적은 양의 백신으로 환자에게 더 많은 성장 인자를 전달할 수 있다.

[0077] **아주반트**

[0078] 본원에 제공된 바와 같은 특정 예시적인 실시형태는 백신 조성물, 및 적어도 하나의 아주반트로서 합성 단백질/분자 이외에 약학 조성물을 포함하는 면역학적 아주반트 조성물을 포함하며, 보조적 활동을 가지는 이러한 조성물의 성분을 말한다. 이러한 아주반트 활성을 가지는 아주반트는 인간(예를 들면, 인간 환자), 비인간 영장류, 포유류 또는 인식된 면역 체계를 갖는 다른 고등 진핵생물과 같은 피험체에 투여될 때에 면역 반응의 효능 및/또는 수명을 변경(즉, 통계적으로 유의한 방식으로 증가 또는 감소, 및 특정 바람직한 실시형태에 있어서의 향상 또는 증가)할 수 있는 조성물을 포함한다. 본원에 개시된 특정 예시적인 실시형태에 있어서, 원하는 항원 및/또는 단백질 담체 내에 함유되는 항원, 및 임의로 하나 이상의 아주반트는 원하는 항원 및/또는 투여시에 동시에 투여되거나 또는 시간 및/또는 공간(예를 들면, 상이한 해부학적 부위)에서 분리될 수 있는 항원에 대해 유도된 면역 반응을 변경, 예를 들면 유도하거나 향상시킬 수 있지만, 특정 예시적인 실시형태에 있어서는 그렇게 제한되지 않으므로써, 특정 항원을 포함하지는 않지만 하나 이상의 코아주반트(co-adjutant)인 이미다조키놀린 면역 반응 조절제를 포함할 수 있으나 이것에 제한되지 않는 조성물에서 합성 단백질/분자의 투여도 고려된다.

[0079] 따라서, 상기 언급된 바와 같이, 아주반트는 사포닌, 및 QS21 및 QS21 모방체(예를 들면, 미국 특허 제 5,057,540호; EP 0 362 279 B1; WO 95/17210 참조), 알룸, 토마틴과 같은 식물 알칼로이드, 사포닌, 폴리소르베이트 80, 스펠 85 및 스테아릴티로신과 같은(이것에 제한되지 않음) 세정제, 하나 이상의 사이토카인(예를 들면, GM-CSF, IL-2, IL-7, IL-12, TNF-알파, IFN-감마), 이미다조키놀린 면역 반응 조절제, 및 이중 스템 루프 면역 조절제(dSLIM, 예를 들면 Weeratna 외, 2005 Vaccine 23: 5263)를 포함하는 사포닌 모방체와 같은 아주반트 효과를 갖는 조성물을 포함한다.

[0080] 사포닌을 포함하는 세정제는, 예를 들면 미국 특허 제6,544,518호; Lacaille-Dubois, M and Wagner H.(1996 Phytomedicine 2: 363-386), 미국 특허 제5,057,540호, Kensil, Crit. Rev Ther Drug Carrier Syst, 1996, 12(1-2): 1-55 및 EP 0 362 279 B1에 개시되어 있다. Quil A(사포닌)의 분획을 포함하는 면역 자극 복합체(ISCOMS)로 불리는 미립자 구조는 용혈성이며, 백신 제조에 사용되어 왔다(Morein, B., EP 0 109 942 B1). 이들 구조는 아주반트 활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(EP 0 109 942 B1; WO 96/11711). 용혈성 사포닌 QS21 및 QS17(Quil A의 HPLC 정제 분획)은 강력한 전신성 아주반트로서 기재되어 있으며, 이들의 생산 방법은 미국 특허 제5,057,540호 및 EP 0 362 279 B1에 기재되어 있다. 또한, 이들 참고 문헌에는 전신성 백신에 대한 강력한 아주반트로서 작용하는 QS7(QuilA의 비용혈 분획)의 사용이 기재되어 있다. QS21의 사용은 Kensil 외(1991. J. Immunology 146: 431~437)에 추가로 기재되어 있다. QS21과 폴리소르베이트 또는 시클로덱스트린의 조합도 공지되어 있다(WO 99/10008). QS21 및 QS7과 같은 QuilA의 분획을 포함하는 미립자 아주반트 시스템은 WO 96/33739 및 WO 96/11711에 기재되어 있다. 전신성 백신 접종 연구에 사용되고 있는 다른 사포닌은 예를 들면 Gypsophila 및 Saponaria 등의 다른 식물종에서 유래된 것을 포함한다(Bomford 외, Vaccine, 10(9): 572-577, 1992). 에스신(Escin)은 본원에 개시된 실시형태의 아주반트 조성물에 사용하기 위한 사포닌과 관련된 또 다른 세정제이다. 에스신은 마로니에 나무, Aesculus hippocastanum의 종자에서 발생하는 사포닌의 혼합물로서 Merck 지수(12.sup.th Ed. entry 37377)에 설명되어 있다. 이의 단리는 크로마토그래피 및 정제(Fiedler, Arzneimittel-Forsch. 4, 213(1953)) 및 이온교환 수지(Erbring 외, 미국 특허 제3,238,190호)에 의해 설명된다. 에스신(aescin이라고 함)의 분획이 정제되어 생물학적으로 활성인 것으로 나타났다(YoshikawaM, 외.(Chem Pharm Bull(Tokyo) 1996 August; 44(8): 1454~1464)). 디기토닌(Digitonin)은 또 다른 세정제이며, Merck 지수(12th Ed., 항목 3204)에서 사포닌으로서 기재되어 있으며, 디기탈리스의 종자로부터 유래되고 Gisvold 외, J. Am. Pharm. Assoc., 1934, 23, 664; 및 Rubenstroth-Bauer, Physiol. Chem., 1955, 301, 621에 기재되어 있다.

[0081] 본원에 개시된 특정 실시형태에 따라 사용하기 위한 다른 아주반트 또는 코아주반트는 블록 공중합체 또는 생분해성 중합체를 포함하고, 이는 당업자에게 익숙한 중합체 화합물의 부류를 지칭한다. 백신 조성물 또는 면역학적 아주반트에 포함될 수 있는 블록 공중합체 또는 생분해성 중합체의 예에는 Pluronic. RTM. L121.을 포함한다(BASF Corp., Mount Olive, N.J.; 예를 들면, Yeh 외, 1996 Pharm. Res. 13: 1693 참조).

[0082] 특정의 추가적인 예시적인 실시형태는 오일을 포함하지만 이것에 제한되지 않는 면역학적 아주반트를 고려하며, 이러한 실시형태에 있어서 코아주반트 활성에 기여할 수 있고, 다른 이러한 실시형태에 있어서 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 추가로 또는 대안적으로 제공할 수 있다. 임의의 수의 적합한 오일이 공지되어 있으며, 본 개시에 기초하여 백신 조성물 및 면역학적 아주반트 조성물에 포함시키기 위해 선택될 수 있다. 이

러한 오일의 예는 비제한적인 예로서, 스쿠알렌, 스쿠알란, 미네랄 오일, 올리브 오일, 콜레스테롤, 및 만니드 모노올레에이트를 포함한다.

[0083] 또한, 이미다조퀴놀린 면역 반응 조절제와 같은 면역 반응 조절제는 기술 분야에 공지되어 있으며, 현재 개시된 특정 실시형태에 있어서 아쥬반트 또는 코아쥬반트로서 포함될 수 있다.

[0084] 또한 위에서 언급한 바와 같이, 본원에 기재된 바와 같은 개시에 따라 백신 조성물에 사용하기 위한 한 가지 유형의 아쥬반트 또는 코아쥬반트는 알루미늄 코아쥬반트일 수 있으며, 이는 일반적으로 "알루미늄(alum)"으로 지칭된다. 알루미늄 코아쥬반트는 이하를 기초로 한다: 알루미늄 옥시-수산화물; 알루미늄 히드록시포스포에이트; 또는 다양한 독점적인 염. 알루미늄 코아쥬반트는 우수한 안전성 전력을 가지고 있고, 항체 반응을 증가시키고, 항원을 안정화시키고, 대규모 생산에 대해 비교적 간단하기 때문에 유리하다(Edelman 2002 Mol. Biotechnol. 21: 129~148; Edelman, R. 1980 Rev. Infect. Dis.2: 370~383).

[0085] **약학적 조성물**

[0086] 특정 예시적인 실시형태에 있어서, 약학 조성물은 개시에 따른 합성 단백질/분자 모두를 포함하고, 본원에 제공된 바와 같이 TLR 작용제, 코아쥬반트(예를 들면, 사이토카인, 이미다조퀴놀린 면역 반응 조절제 및/또는 dSLIM) 등으로부터 선택된 하나 이상의 성분 및/또는 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 조합한 제조물 발현 구성물을 추가로 포함할 수 있는 백신 조성물이다.

[0087] 예시적인 담체는 사용된 용량 및 농도에서 수용자에게 무독성일 것이다. 합성 단백질/분자를 포함하는 백신의 경우, 체중당 약 0.01µg/kg~약 100mg/kg이 전형적으로 피내, 피하, 근육내 또는 정맥 경로, 또는 다른 경로에 의해 투여될 것이다.

[0088] 투여 횟수 및 빈도는 숙주의 반응에 따라 달라질 것임이 당업자에게 명백할 것이다. 치료적 사용을 위한 "약학적으로 허용되는 담체"는 제약 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들면 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co.(AR Gennaro edit.1985)에 기재되어 있다. 예를 들면, 생리적 pH에서 멸균 식염수 및 인산염 완충 식염수가 사용될 수 있다. 방부제, 안정제, 염료 및 심지어 착향료가 약학적 조성물에 제공될 수 있다. 예를 들면, 벤조산나트륨, 아스코르브산 및 p-히드록시벤조산의 에스테르가 보존제로서 첨가될 수 있다. 또한, 항산화제 및 현탁제가 사용될 수 있다.

[0089] 약학적 조성물은 조성물이 환자에게 투여될 수 있는 임의의 형태일 수 있다. 예를 들면, 조성물은 고체, 액체 또는 기체(에어로졸) 형태일 수 있다. 전형적인 투여 경로는 경구, 국소, 비경구(예를 들면, 설하 또는 흡입), 설하, 직장, 질 및 비강(예를 들면, 스프레이)을 제한하지 않고 포함한다. 본원에 사용되는 용어 비경구는 이온삼투 초음파 영동, 수동 경피, 현미침 투여, 및 또한 피하 주사, 정맥내, 근육내, 흉골내, 해면내, 척수강내, 비내, 요도 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 바와 같은 조성물(백신 및 약학적 조성물 포함)은 이온 삼투법(iontophoresis), 미세 공동 현상(microcavitation), 초음파 영동(sonophoresis) 또는 현미침(microneedle)으로부터 선택된 기술에 의해 피내 투여된다.

[0090] 약학적 조성물은 조성물이 환자에게 투여되자마자 그 안에 함유된 활성 성분이 생체 이용가능하도록 제형화된다. 환자에게 투여될 수 있는 조성물은 하나 이상의 투여 단위의 형태를 취하고, 예를 들면 태블릿은 단일 투여 단위일 수 있고, 에어로졸 형태의 본 발명의 하나 이상의 화합물의 용기는 복수의 투약 단위를 유지할 수 있다.

[0091] 경구 투여를 위해, 부형제 및/또는 결합제가 존재할 수 있다. 예로는 수크로오스, 카올린, 글리세린, 전분 텍스트린, 알긴산 나트륨, 카르복시메틸셀룰로오스 및 에틸셀룰로오스이다. 착색제 및/또는 착향료가 존재할 수 있다. 코팅 셀이 사용될 수 있다.

[0092] 조성물은 액체, 예를 들면 엘릭시르(elixir), 시럽, 용액, 에멀션 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 액체는 2가지 예로서 경구 투여용 또는 주사에 의한 투여용일 수 있다. 경구 투여용을 의도하는 경우, 바람직한 조성물은 감미제, 보존제, 염료/착색제 및 화학 조미료 중 하나 이상을 함유한다. 주사에 의한 투여용을 의도하는 경우, 계면활성제, 보존제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 완충제, 안정화제 및 등장화제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0093] 용액, 현탁액의 형태, 또는 다른 유사한 형태로 본원에 사용되는 액체 약학적 조성물은 이하의 담체 또는 부형제: 주사용 증류수와 같은 멸균 희석제, 식염수, 바람직하게는 생리식염수, 링거 용액, 등장성 염화나트륨, 스쿠알렌, 스쿠알란, 미네랄오일, 만니드 모노올레에이트, 콜레스테롤과 같은 고정유 및/또는 용매 또는 현탁 매질, 폴리에틸렌글리콜, 글리세린, 프로필렌글리콜 또는 다른 용매로 작용할 수 있는 합성 모노 또는

디글리시드; 벤질알코올 또는 메틸파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 아황산 수소나트륨과 같은 항산화제; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 킬레이트제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충제, 및 염화나트륨 또는 텍스트로스와 같은 긴장성 조절제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리, 또는 플라스틱으로 제조된 다회용 바이알을 포함할 수 있다. 주입가능한 약학적 조성물은 멸균이 바람직하다.

- [0094] 특정 실시형태에 있어서, 본 발명의 약학적 또는 백신 조성물은 0.2 μ m 미만의 안정한 수용성 현탁액을 포함하고, 인지질, 지방산, 계면활성제, 세정제, 사포닌, 플루오르화 지질로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 성분을 더 포함한다.
- [0095] 또한, 알루미늄염, 유중 수성 에멀션, 생분해성 오일 비히클, 수중 유형 에멀션, 생분해성 마이크로 캡슐 및 리포솜을 포함하지만 이것에 제한되지 않는, 전달 비히클과 같은 백신 또는 약학적 조성물에 다른 성분을 포함시키는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 비히클에 사용하기 위한 추가 면역 자극 물질(코아주반트)의 예는 또한 상기에 설명되어 있으며, N-아세틸무라밀-L-알라닌-D-이소글루타민(MDP), 글루칸, IL-12, GM-CSF, 감마 인터페론 및 IL-12를 포함할 수 있다.
- [0096] 당업자에게 공지된 임의의 적합한 담체가 본 발명의 약학적 조성물에 사용될 수 있지만, 담체의 유형은 투여 방식 및 지효성의 여부에 따라 달라질 것이다. 피하 주입과 같은 비경구 투여의 경우, 담체는 바람직하게는 물, 식염수, 알코올, 지방, 왁스 또는 완충제를 포함한다. 경구 투여에 대해서, 상기 담체 중 임의의 것 또는 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아르산 마그네슘, 사카린 나트륨, 활석, 셀룰로오스, 글루코오스, 수크로오스 및 탄산 마그네슘과 같은 고형 담체가 사용될 수 있다. 또한, 생분해성 마이크로스피어(예를 들면, 폴리락트 갈락티드)가 본 발명의 약학적 조성물용 담체로서 사용될 수 있다.
- [0097] 또한, 약학적 조성물은 완충제, 아스코르브산과 같은 항산화제, 저분자량(약 10잔기 미만) 폴리펩티드, 단백질, 아미노산, 글루코스, 수크로오스 또는 텍스트린을 포함하는 탄수화물, EDTA, 글루타티온 및 다른 안정제와 같은 킬레이트제, 및 부형제를 함유할 수 있다. 비특이적 혈청 알부민과 혼합된 중성 완충 식염수 또는 식염수는 예시적인 적절한 희석제이다. 바람직하게는, 생성물은 희석제로서 적절한 부형제 용액(예를 들면, 수크로오스)을 사용하여 동결 건조물로서 제형화될 수 있다.
- [0098] 예시적인 실시형태에 있어서, 천연 또는 합성 폴리펩티드 서열로부터 유래된 합성 단백질/분자의 에피토프 또는 수용체 지지 도메인은 적절한 화학적/환경적 조건 하에서 올리고머 멀티머로 자가 조립되거나 대체 조건 하에서 모노머로 환원될 수 있는 능력을 가져야 한다. 이상적으로, 멀티머화 도메인은 균질한 크기의 생성물을 생성하고 고품 다이머, 트라이머, 테트라머, 펜타머 등과 같이 신중한 서브유닛의 수를 갖는 안정한 멀티머로 조립될 것이다. 천연 폴리펩티드의 예는 류신 지퍼, 락 리프레서 단백질, 스트렙타비딘/아비딘, 콜레라 독소 B 서브유닛, 슈도모나스 트라이머화된 도메인 및 바이러스 캡시드 단백질을 포함하지만, 이것에 제한되지 않는다.
- [0099] 예시적인 실시형태에 있어서, 다가 분자의 제조 공정이 개시된다. 이 예시적인 실시형태에 있어서, 공정은 하나 이상의 종양 항원, 수용체 및/또는 성장 인자 또는 그 일부를 포함하는 합성 단백질을 형성하기 위해 모노머 서브유닛으로부터 멀티머를 조립하는 것을 포함한다.
- [0100] 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 백신 제형의 제조 공정이 개시된다. 이 예시적인 실시형태에 있어서, 공정은 하나 이상의 단일 1가 멀티머를 혼합하여 하나 이상의 종양 항원, 수용체 및/또는 성장 인자 또는 그 일부를 포함하는 합성 단백질/분자를 포함하는 다가 백신을 함께 제조하는 단계를 포함한다.
- [0101] 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 환자를 치료하기 위한 공정이 개시된다. 이 예시적인 실시형태에 있어서, 공정은 하나 이상의 1가, 하나의 종양 항원, 수용체 및/또는 성장 인자 재조합 단백질을 백신 접종 기간시 접종 당일 또는 격일로 환자에게 개별적으로 투여하는 것을 포함한다.
- [0102] 합성 단백질/분자는 종양 항원, 성장 인자 및/또는 수용체의 적어도 하나의 서열, 및 CT-B 서열 중 하나 이상 또는 일부를 포함하거나 발현하는 것으로 설명되지만, 합성 단백질/분자는 천연 CT-B 서열, 또는 천연 CT-B 서열 및/또는 합성 서열과 실질적으로 유사한 서열을 포함할 수 있다. 합성 단백질/분자는 CT-B 서열을 포함하거나 발현하는 것으로 설명되어 있지만, 합성 단백질/분자는 CT-B 서열, 또는 CT-B 서열과 실질적으로 유사한 서열을 포함하거나 발현할 수 있다.
- [0103] 하나 이상의 종양 항원, 합성 성장 인자 및/또는 수용체를 발현 또는 도입하는 균질한 합성 단백질/분자가 특정 실시형태와 관련하여 설명되고 예시되어 있지만, 다수의 변형 및 수정은 당업자에게 명백할 것이고 본 개시의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 이루어질 수 있다. 따라서, 본 개시는 이러한 변형 및 수정이 본 개시의 범위 내

에 포함되도록 의도된 것이므로, 상기에서 열거된 방법론 또는 구성의 정확한 세부사항은 제한되지 않는다.

[0104] **실시예**

[0105] 본 개시는 이하의 실시예에 의해 추가로 설명되며, 이는 제한적인 것으로 해석되어서는 안된다. 모든 참고 문헌, GenBank Accession 및 유전자 번호, 및 공개된 특허 및 출원 전체에 인용된 특허 출원은 참조에 의해 본원에 포함된다. 당업자는 개시된 구조, 재료, 조성물 및 방법에 대한 변형으로 본 개시를 실시할 수 있으며, 이러한 변형은 본 개시의 범위 내에 있는 것으로 간주된다는 것을 인식할 것이다.

[0106] **실시예 1: BVN22E 면역화 프로토콜**

[0107] BVN22E는 표준 프로토콜을 사용하여 봉입체로서 500밀리리터(ml) BL21 pLys6 세포의 세포질에서 발현되었다. 배제체를 10ml 8M 우레아 2mM DTT에서 원심분리에 의해 단리, 세척 및 가용화시켰다. 1밀리리터의 단백질 용액을 1시간에 걸쳐 산화 환원 완충액(GSH/GSSG)을 함유하는 100ml 50mM 트리스-HCl 완충액 2M 우레아, 1mM DTT pH 7.4에 적하 희석하여 재폴딩했다. 폴딩을 지속할 수 있도록 단백질을 4°C에서 보관했다.

[0108] 크게 폴딩된 단백질을 투석에 의해 50mM Tris-HCl pH 8.0으로 완충 교환한 후, 'Hitrap' HP Q 컬럼에서 이온교환 크로마토그래피(IEC)에 의해 정제했다. 용리된 BVN22E와 동등한 분획을 단계적 용리에 의해 단리하고, 다른 올리고머 상태로부터 펜타머 단백질을 분리하기 위해 Sephadex 75 크기 배제 컬럼에서 추가로 정제했다. 이어서, 표준 방법론을 사용하여 내독소를 제거하기 위해 추가로 정제했다.

[0109] 단백질을 이하의 스케줄을 이용하여 프로인드(Freund) 완전(기본적인 주입만) 또는 프로인드 불완전(부스트 주입)에서 100µg/주입으로 토끼(n=5)를 면역화시켰다:

[0110] 제 0 일 사전 블리드

[0111] 제 0 일 면역화

[0112] 4주차 부스트 1

[0113] 6주차 블리드 테스트 1

[0114] 8주차 부스트 2

[0115] 9주차 블리드 테스트 2

[0116] 12주차 부스트 3

[0117] 13주차 최종 블리드

[0118] 개별 토끼로부터의 혈청을 표준 카프릴산 침전에 의해 정제하여 IgG 분획을 단리하고, 정제된 항체를 폴딩하거나 개별적으로 분석했다.

[0119] **실시예 2: 결합 ELISA 분석**

[0120] 플레이트를 1µg/ml에서 100µl rhEGF로 1시간 동안 실온에서 코팅하고, PBS로 3번 세척하고, 2시간 동안 200µl/웰 2% BSA로 차단했다. 플레이트를 기계된 바와 같이 세척하고, 200µl/웰의 정제된 IgG를 제 1 웰에 첨가했다. 제 1 웰로부터의 100마이크로리터를 인접한 웰에서 100µl PBS로 피펫팅하고, 플레이트를 가로질러 연속 2배 희석을 행했다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 배양하고 이전과 같이 세척했다. HRP-표지된 항-토끼 2차 항체를 처방된대로 첨가하고 PBS-tween으로 세척하기 전에 실온에서 1시간 동안 배양했다. 100마이크로리터/웰 TMB 기질을 첨가하고, 발색될 때까지 배양했다. 50µl의 1M H₂SO₄로 반응을 중지시키고 플레이트를 450nm에서 판독했다.

[0121] 도 2에 도시된 바와 같이, rhEGF 결합 분석에서 5마리의 면역화된 토끼 각각으로부터의 정제된 IgG 분획의 적정은 1,000~1,000,000배 연속 희석 범위에 걸쳐서 거의 일치하고, 각각의 면역화된 토끼에서 BVN22E에 대한 강한 면역 반응을 나타냈다.

[0122] BVN22E 면역 반응의 특이성 및 민감성을 테스트하기 위해서, 5마리 토끼 각각으로부터의 정제된 IgG 분획을 폴딩하고, rhEGF 결합 분석에서 2개의 천연 EGF 도메인을 함유하는 동등한 단백질로 면역화된 5개의 풀(pool)로부터의 정제된 IgG 분획과 비교했다(도 1b에서 더 낮은 서열).

[0123] **실시예 3: A431 EGFR 인산화(EGF 신호전달) 분석**

[0124] A431 세포를 10% FBS로 보충된 DMEM에서 표준 조건 하의 T75 배양 플라스크에서 50% 합류로 배양했다. 배지를

피펫팅하고 10ml의 예열된 PBS를 첨가하여 세포를 세척했다. 이어서, 이것을 제거하고 트립신 2ml를 첨가했다. 플라스크는 세포가 플라스크로부터 분리되도록 20분 동안(또는 필요한 경우 더 길게) 배양했다. 10밀리리터의 신선한 DMEM을 플라스크에 첨가한 다음, 세포를 50ml 'Falcon' 튜브로 옮겼다. 세포를 10분 동안 250×g에서 부드럽게 펠릿화하고, 상청액을 디캔팅하여 트립신을 제거한 다음, 세포를 10ml의 신선한 DMEM에 재현탁시켰다.

- [0125] 200마이크로리터 세포를 96-웰 플레이트의 각 웰에 피펫팅한 다음, 세포가 플레이트에 부착되도록 밤새 배양했다. 다음날 모든 웰을 PBS로 1회 세척하고, 신선한 무혈청 배지를 첨가했다. 이어서, 플레이트를 낮/밤 동안 배양하여 기저 수준의 EGF-R 인산화가 확립되도록 했다.
- [0126] 세포를 분석하기 위해서, 배지를 제거하고, 다음 중 하나를 추가했다:
- [0127] i) 100 μ l 신선한 무혈청 배지(기저 EGF-R 활성화);
- [0128] ii) 100 μ l SFM + rhEGF @ 30ng/ml(EGF-R 활성화 제어);
- [0129] iii) 100 μ l SFM + 원하는 농도에서 대조군(중화) 항체(5 μ g/ml); 또는
- [0130] iv) 100 μ l SFM + 원하는 농도에서 샘플 항체 +/- rhEGF @ 30ng/ml.
- [0131] rhEGF 및 항체(대조군 또는 샘플)가 필요한 웰의 경우, 500 μ l 반응을 에펜도르프(Eppendorf) 튜브에서 준비하고, @ 37°C 1시간 동안 미리 배양했다. 이어서, 100마이크로 리터를 상기와 같이 A431 세포에 적용했다.
- [0132] 모든 분석에서, 사중 웰을 제조했다. 세포를 반응 배지와 함께 5% CO₂에서 37°C에서 60분 동안 배양했다.
- [0133] 배양 시간 후에, 배지를 피펫팅에 의해 제거하고 웰당 40 μ l 용해 완충액(lysis buffer)(6M 우레아, 50Mm TrisHCl pH 7.9, 2% SDS, 5% 베타-메르캅토에탄올)을 첨가했다. 플레이트를 벤치에서 10분 동안 배양하여 세포를 용해시켰다. 각 샘플에 대해 4개의 복제 웰로부터의 반응물을 부드럽게 상하로 피펫팅하고, 웰의 바닥을 긁어 모든 용해물을 방출시키고, 신선한 에펜도르프 튜브로 옮겼다. 20마이크로리터 로딩 염료를 각 튜브에 첨가하고, 튜브를 10분 동안 끓인 다음 5분 동안 최고 속도로 원심분리했다.
- [0134] 샘플을 웨스턴 블롯(Western blot)에 직접 사용하거나 필요할 때까지 4°C에서 보관했다.
- [0135] 웨스턴 블롯을 이중으로 행하여, 제 1 막은 토끼 항-EGFR 항체(Abcam ab52894)로 프로브하여 샘플 사이의 수용체 발현 수준을 정규화하고, 제 2 막은 인산화된 EGFR-특이적 토끼 항체(Abcam ab32578)로 수용체 활성화 수준을 평가했다. 이들 둘 모두는 HRP-표지된 항-토끼 항체(Abcam ab97051)로 개발되었다.
- [0136] 도 4a~4b에 도시된 바와 같이, BVN22E는 A431 세포에서 EGFR의 인산화를 자극할 수 있다. 특히, 도 4a는 BVN22E가 천연 인간 EGF 도메인을 함유하는 유사한 분자와 동일한 정도로 A431 세포의 EGFR의 인산화를 자극할 수 있고, 이러한 자극은 농도-의존적 방식으로 발생한다는 것을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 도 4b는 유사한 분석의 결과를 보여주지만 EGF-기반 분자와 비교하지 않는다.
- [0137] 항-BVN22E 항체는 EGFR-활성화를 중화시킬 수 있다. 도 5에 도시된 바와 같이, 2개의 농도에서 BVN22E로 면역화된 5마리 토끼로부터의 정제된 폴링된 IgG는 상업적으로 이용가능한 중화 단일클론 항체(예를 들면, R&D Systems monoclonal antibody 10825)와 유사한 방식으로 30ng/ml rhEGF에 의해 A431 세포의 EGFR-활성화를 중화시킬 수 있다. 도 6은 BVN22E로 면역화된 5마리 토끼 각각으로부터의 개별 혈청이 상업적으로 이용가능한 중화 단일 클론 항체와 유사한 방식으로 30ng/ml rhEGF에 의해 A431 세포의 EGFR-활성화를 중화시킬 수 있음을 나타낸다.
- [0138] 항-BVN22E 항체는 단 한번의 부스트 주입 후에도 EGFR 활성화를 중화시킬 수 있다. 예를 들면, 도 7은 BVN22E로 면역화되어 있는 토끼로부터의 폴링된 혈청이 중화 단일 클론 항체(예를 들면, R&D Systems monoclonal antibody 10825)만큼 효과적으로 단 한번의 부스터 주입(블리드 테스트 1) 후에 A431 세포에서 30ng/ml rhEGF로부터 EGFR 신호전달을 중화시킬 수 있음을 나타낸다. 면역화 전에 동물로부터의 혈청은 중화 활성이 없었다(레인 5).
- [0139] 또한, 항-BVN22E 항체는 EGFR-활성화를 중화시키는데 매우 효과적이다. 예를 들면, 도 8은 항-BVN22E IgG의 중화 활성이 천연 EGF 도메인만을 포함하고 이하의 서열을 갖는 유사한 분자로 면역화된 동물로부터 정제된 IgG의 중화 활성과 유사 함을 나타낸다:

NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMIYIEALDKYACNCVVGVIIGERCQYRDLKWWELRGSSGNSDSECPLSHDGYCLHDGVCMIYIEALDKYACNCVVGVIIGERCQYRDLKWWELRGSSGGTSGGGGSGTPQNIITDLCAEYHNTQIHITLNDKIFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPGSQHSDSKKAIERMKDTLRIAYLTEAKVEKLCVWNNKTPHATAAISMAN.

[0140]

[0141]

실시예 4: 천연 hEGF 기반 면역원과 BVN22E의 효능 비교

[0142]

BVN22E를 상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 발현시키고 정제했다. CTB 펜타머와 유사한 크기의 면역원성 박테리아 단백질과 rhEGF를 화학적으로 가교시킴으로써 천연 EGF-기반 면역원을 제조했다.

[0143]

단백질을 이하의 스케줄을 이용하여 프로인드 완전(기본적인 주입만) 또는 프로인드 불완전(부스트 주입)에서 30 μ g/주입으로 마우스(n=10)에 면역화시켰다:

[0144]

제 0 일 사전 블리드

[0145]

제 0 일 면역화

[0146]

제 14 일 블리드 2

[0147]

제 14 일 부스터

[0148]

제 28 일 블리드 3

[0149]

10마리 마우스의 각 그룹으로부터의 혈청을 폴딩하고, 상기 실시예 3에 개략적으로 기재된 바와 같이 rhEGF에 의한 A431 세포의 인산화의 억제를 정확하게 평가하기 위해 3개의 상이한 농도로 사용했다.

[0150]

도 9는 두 면역원에 의해 생성된 혈청이 EGF 신호전달 경로를 차단할 수 있는 항체를 포함하는 면역 반응을 유도할 수 있음을 나타낸다. 라인 4와 7, 라인 5와 8을 비교할 때, 항-BVN22E 혈청은 면역원을 함유하는 천연 EGF에 대한 항혈청보다 더 큰 중화 활성을 가지는 것을 알 수 있었다.

[0151]

실시예 5: 박테리아 발현 시스템에 의해 생성될 수 있는 안정한 합성 뉴레굴린 1 β

[0152]

뉴레굴린 1 β (NRG1 β) 기반 분자는 생성 및 사용이 매우 어려운 것으로 입증되었다. 예를 들면, 이러한 박테리아에 의해 생성되는 NRG1 β 는 매우 낮은 수율로 생성되고 원하지 않게 글리코실화되며, 기능적으로 활성인 형태로 폴딩할 수 없기 때문에, 대장균에서 기능성 NRG1 β 를 생성하는 것은 매우 어렵다. 또한, 박테리아에 의해 생성되는 NRG1 β 단백질은 안정적이지 않다. 예를 들면, 천연 야생형 뉴레굴린은 자연적으로 매우 불안정하며, 상업적으로 구입한 재료의 저장수명은 -80 $^{\circ}$ C에서 한 달밖에 되지 않는다.

[0153]

NRG1 β 는 이하의 서열을 포함한다:

[0154]

GTSHLVKcAEKEKTFcVNGGecFMVKDLSNPSRYLcKcPNEFTGDRcQNYVMASF

[0155]

BVN22E의 등가 부분에는 이하의 순서를 포함한다:

[0156]

NTENDcPLSHEAYcLHDGVcMIYIEALDKYAcNcVVGyVGERcQFRDLRWWDAR

[0157]

BVN22E 서열의 일부가 NRG1 β 폴리펩티드의 수율, 안정성 및 기능에 긍정적인 영향을 미칠 수 있는지의 여부를 테스트하기 위해서, 시스테인 잔기(소문자) 사이의 NRG1 β 영역을 BVN22E 폴리펩티드로부터의 등가 영역으로 체계적으로 교체되었다. 놀랍게도, 제 1 시스테인과 제 2 시스테인 사이에 위치한 BVN22E의 일부(예를 들면, PLSHEAY)는 NRG1 β 와 유사한 위치에 통합될 때에 유리한 영향을 미쳤지만, 나머지 시스테인 잔기 사이의 영역은 그렇지 않았다. 이 하이브리드 '합성' 폴리펩티드 서열은 NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드라고 하며, 이하의 서열을 가지고 있다:

[0158]

NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드(SEQ ID NO:11)

[0159]

GTSHLVKcPLSHEAYcVNGGecFMVKDLSNPSRYLcKcPNEFTGDRcQNYVMASF

[0160]

NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드는 대장균에서 폴딩된 단백질로서 발현될 수 있고, 펜타머로서 BVN22E 정제 공정의 변형된(그러나 여전히 매우 유사한) 버전으로 정제될 수 있다. 또한, NRG-BVN 서열은 비록 낮은 수율에서도 적절한 대장균 균주에서 폴딩된 가용성 형태로 발현될 수 있다.

[0161]

도 10 및 11에 도시된 바와 같이, 웨스턴 블롯에서의 밴드는 다양한 상태의 단백질을 인식하는 항-NRG 항체의 능력을 반영한다.

[0162]

도 12는 상단 패널이 rhNRG-1 β 에 의한 ERB3 수용체의 활성화(예를 들면, 인산화)(라인 2), 합성 NRG-CTB 분자

(레인 4), 및 중화 항체(레인 3 및 5)의 억제를 나타내는 MCF-7 세포 활성화 검정을 나타낸다. 하단 패널은 ERB3 수용체 발현에 대한 대조군이다. 이 데이터는 합성 NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드가 상당한 안정성을 나타내는 것을 나타낸다(예를 들면, >1개월 후에 가시적인 분해는 없음). 또한, NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드는 EGF에 대한 천연 수용체인 EGFR(ERB1)에 결합하지 않는다.

[0163] **실시예 6: 박테리아 발현 시스템에 의해 생성될 수 있는 안정한 합성 TGFβ**

[0164] 또한, TGF α-기반 분자는 박테리아 발현 시스템에서도 생성하는데 문제가 있었다. 예를 들면, TGF α-기반 분자가 가진 주된 문제점은 이들이 박테리아 시스템에서 발현되어 폴딩된 단백질을 생성할 수 있지만, 상기 생성된 단백질은 또한 매우 불안정하여 언폴딩될 수 있다는 것이다.

[0165] BVN22E 서열의 일부가 TGF α-기반 폴리펩티드의 불안정성 및 기능에 긍정적인 영향을 미칠 수 있는지의 여부를 테스트하기 위해서, 시스템 간기 사이의 TGF α 영역은 BVN22E 폴리펩티드로부터의 등가 영역으로 체계적으로 교체되었다. 영향력이 큰 수용체 결합 영역을 예측/식별하기 위해 컴퓨터 모델링 및 알려진 구조 정보를 사용하여 합성 분자를 설계하고 제조했다. NRG-BVN 하이브리드 폴리펩티드와 대조적으로, 합성 TGF α 분자는 시스템인 3-5(예를 들면, RFLVQEDKPAcV)에서 발견된 TGF α 서열만을 함유한다. 이 영역에는 'B- 루프'가 포함되어 있었다. 이 하이브리드 '합성' 폴리펩티드 서열은 TGF α 하이브리드 폴리펩티드라고 하며, 이하의 서열을 가지고 있다:

[0166] TGF α 하이브리드 폴리펩티드(SEQ ID NO:12)

[0167] NTENDcPLSHEAYcLHDGVcRFLVQEDKPAcVcVGVYGERcQFRDLRWW DAR

[0168] 도 13a~13c에 도시된 바와 같이, TGF α 하이브리드 폴리펩티드는 BVN22E와 매우 유사한 방식으로 발현, 폴딩 및 정제될 수 있다. 이 도면은 2개의 상이한 중화 항-TGF α 항체(도 13b)에 의해 인식되지만 2개의 상이한 항-EGF 항체(도 13c)에 의해 인식되지 않는 합성 TGF α 분자(도 13a)의 SDS 겔을 나타낸다.

[0169] 또한, TGF α 하이브리드 폴리펩티드는 정제시에 제거되는 펜타머 및 일부 다른 올리고머를 형성한다. 도 14에 도시된 바와 같이, 정제 후 단일 펜타머 밴드는 블루-네이티브 겔에서 볼 수 있다.

[0170] 도 15a 및 15b에 도시된 바와 같이, TGF α 하이브리드 폴리펩티드는 또한 개선된 안정성을 나타내며, 가속 안정성 연구에 있어서 고온에서 >3주 후에 뚜렷하게 펜타머로서 남아 있었다.

[0171] **참조로서 통합**

[0172] 본원에 인용되거나 참조된 모든 문서, 및 본원에서 인용되거나 인용된 모든 문서의 참조는 본원에 언급된 임의의 제품 또는 본원에 참조로서 포함된 임의의 문서에 대한 제조자의 지침, 설명, 제품 사양 및 제품 시트와 함께 참조로서 통합되며, 본 개시의 실시예 사용될 수 있다.

[0173] **등가**

[0174] 본원에 기재된 상세한 실시예 및 실시형태는 예시적인 목적으로만 제공되며, 본 개시를 제한하는 것으로 간주되는 것은 아니다. 그 다양한 변형 또는 수정은 당업자에게 제안될 것이며, 본 출원의 사상 및 범위 내에 포함되고 첨부된 청구범위의 범위 내에서 고려된다. 본 개시의 시스템, 방법 및 공정과 관련된 추가적인 유리한 특징 및 기능은 첨부된 청구범위로부터 명백할 것이다. 또한, 당업자는 본원에 기재된 본 개시의 특정 실시형태에 대한 다수의 등가를 단지 일상적인 실험만을 사용하여 인식하거나 확인할 수 있다. 이러한 등가는 이하의 청구범위에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1a

합성 단백질 서열

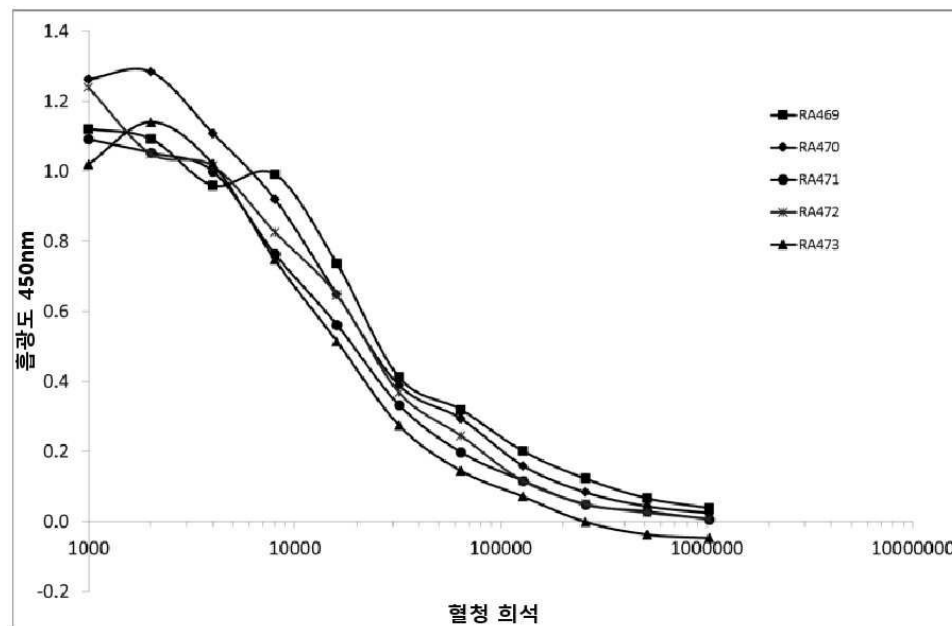
NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMI EALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWDARGSSGNT E
 NDCPLSHEAYCLHDGVCMI EALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWDARGSSGGTSGGG
 GSGT P Q N I T D L C A E Y H N T Q I H T L N D K I F S Y T E S L A D K R E M A I I T F K N G A T F Q V E V P G S Q
 H I D S Q K K A I E R M K D T L R I A Y L T E A K V E K L C V W N N K T P H A I A A I S M A N

표적 신호전달 경로(Targeted Signaling Pathway(TSP)) 도메인 1 & 2 (단일선 밑줄)
 링커 1 & 2 (이중선 밑줄)
 면역원성 담체 도메인 (점선 밑줄)

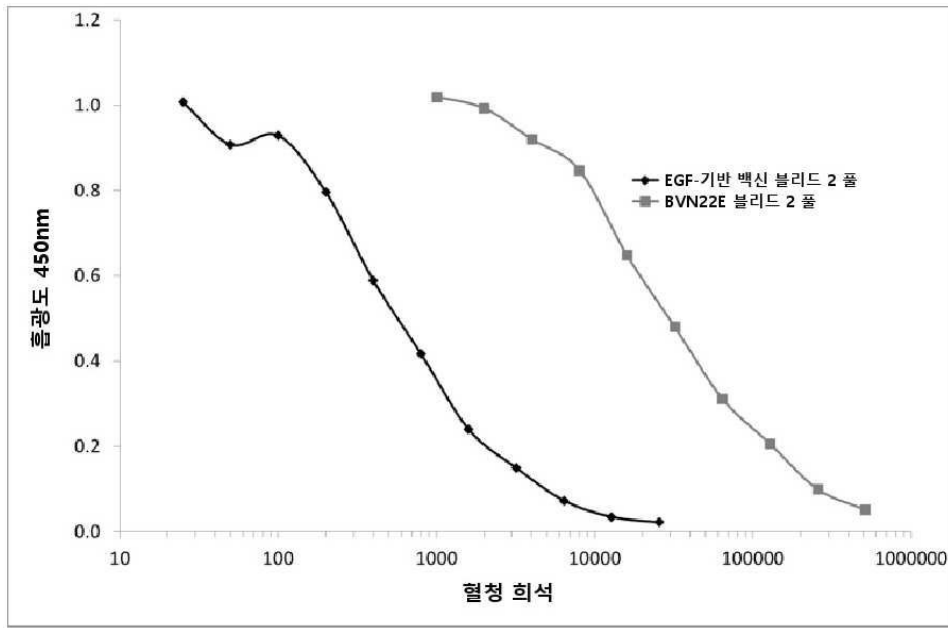
도면1b

BVN22E NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMI EALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWDAR
 hEGF NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMI EALDKYACNCVVG Y I GERCQYRDLKWWELR
 * : : : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *

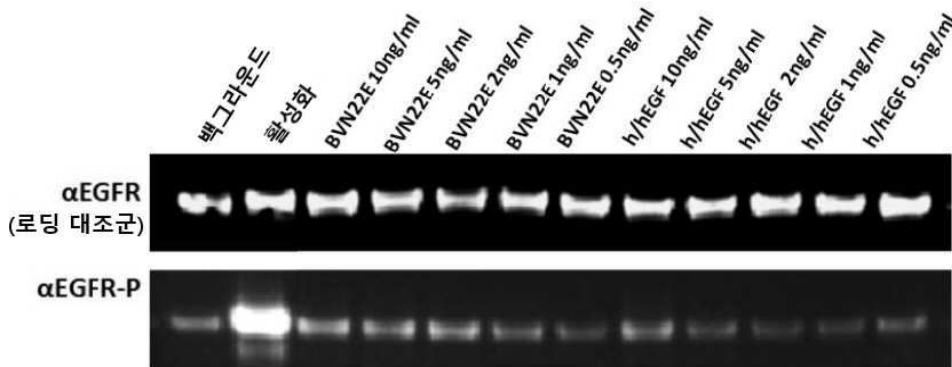
도면2



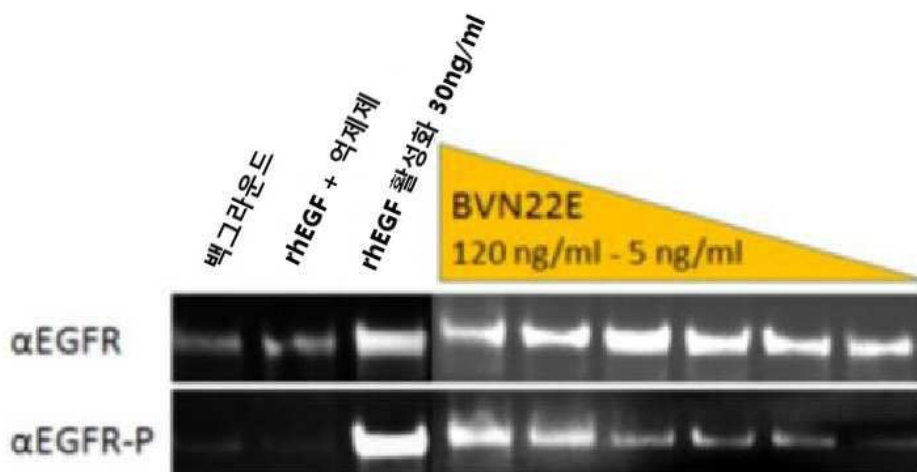
도면3



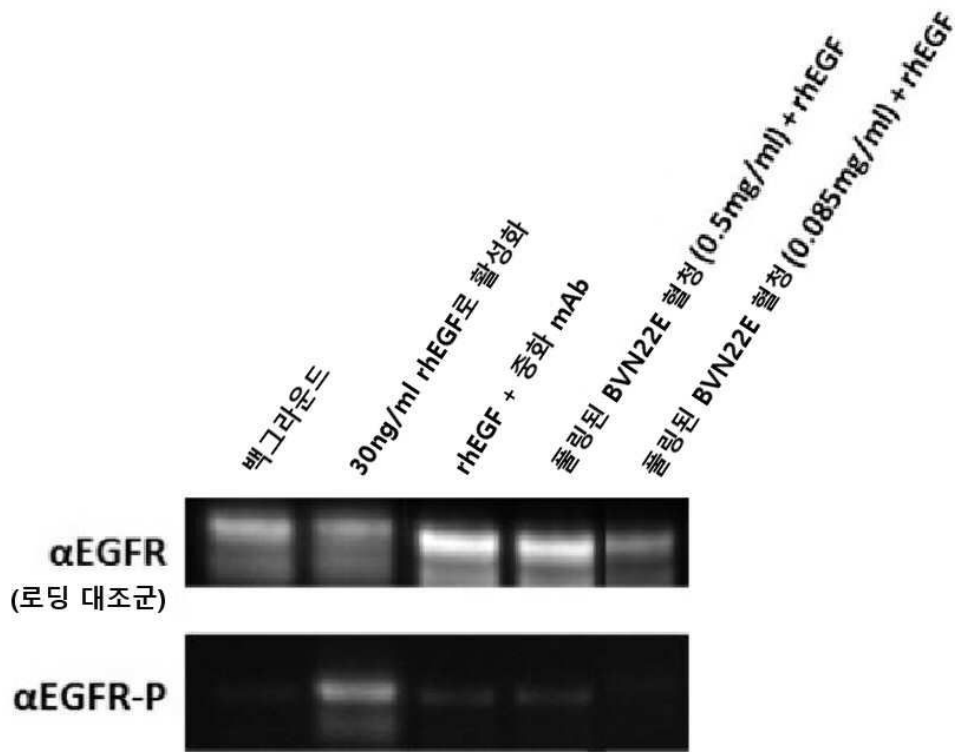
도면4a



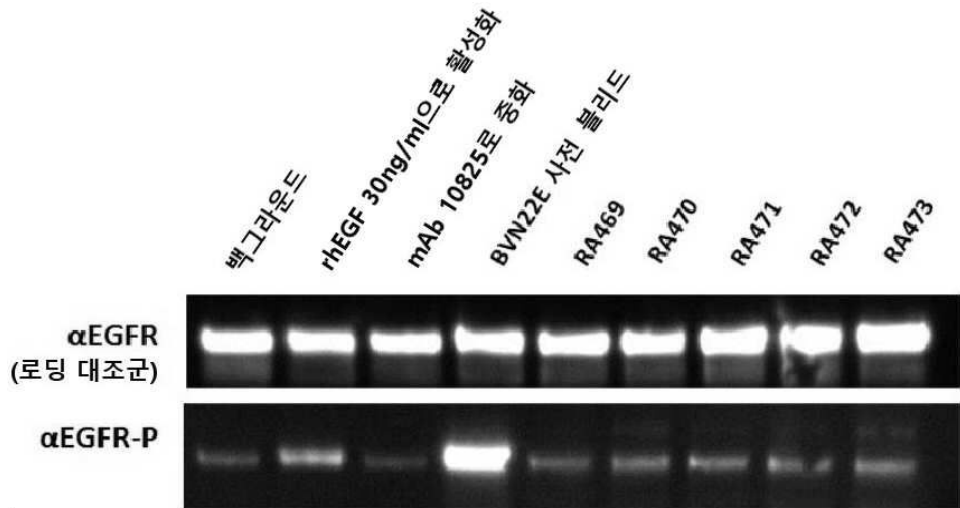
도면4b



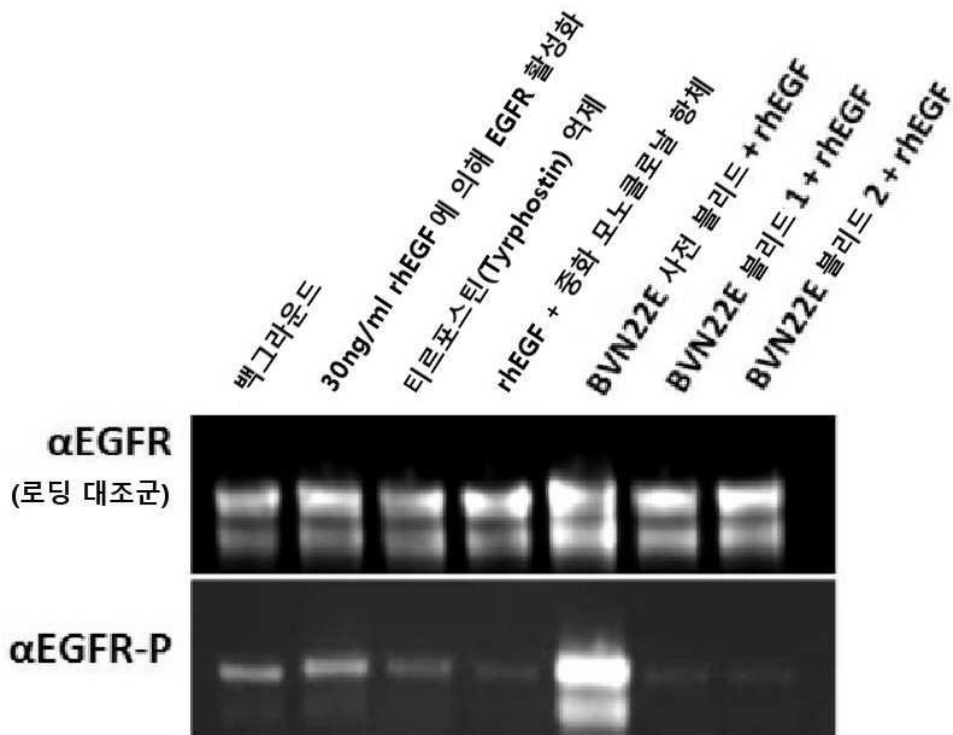
도면5



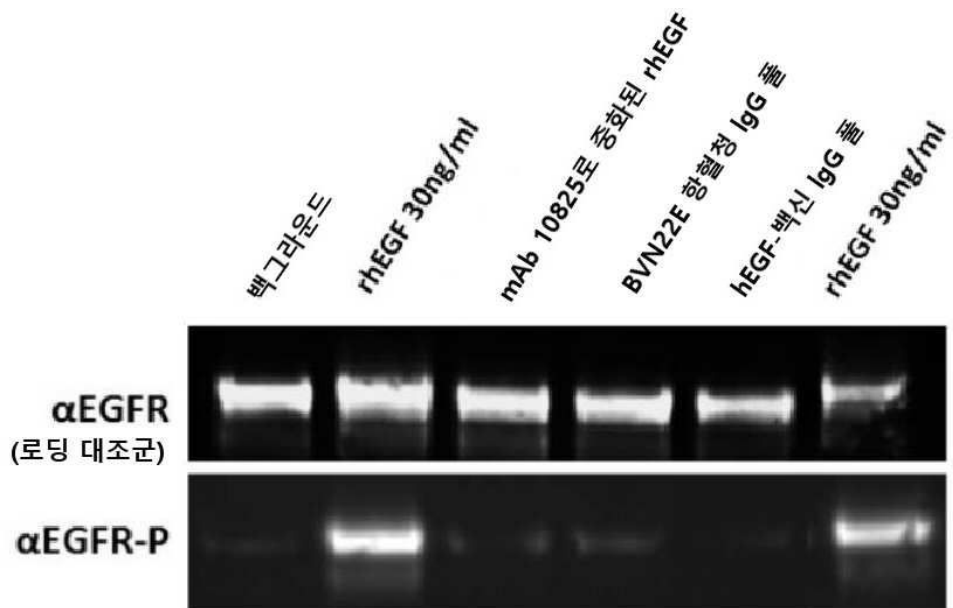
도면6



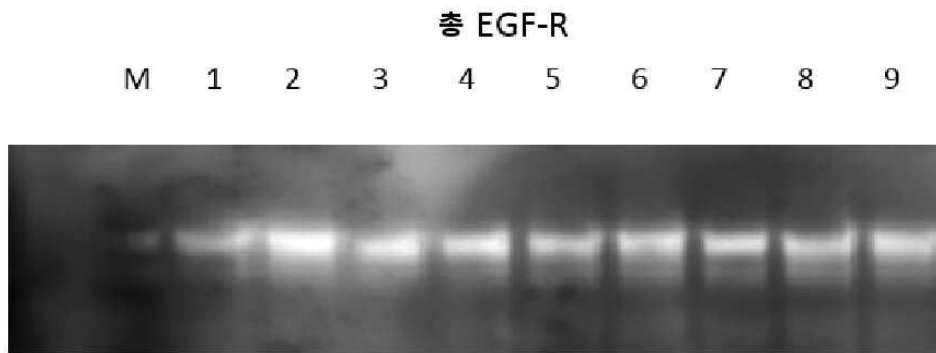
도면7



도면8

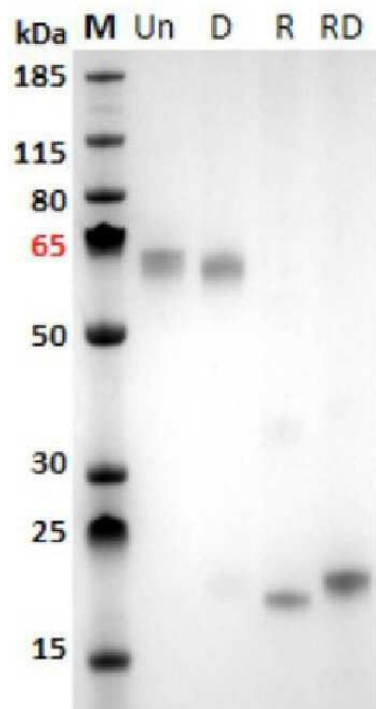


도면9

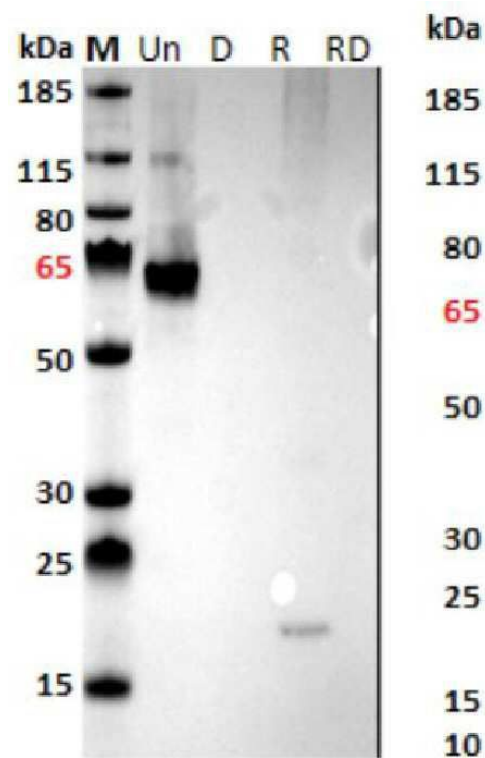


<p>레인: M 마커</p> <p>1 세포만 대조군 (비활성화)</p> <p>2 +ve 대조군 (30ng/ml rhEGF로 활성화된)</p> <p>3 -ve 대조군 (rhEGF + 중화 mAb)</p> <p>4 30 ng/ml rhEGF + BVN22E 혈청 @1/10</p> <p>5 30 ng/ml rhEGF + BVN22E 혈청 @1/100</p> <p>6 30 ng/ml rhEGF + BVN22E 혈청 @1/1000</p> <p>7 30 ng/ml rhEGF + EGF 면역원 혈청 @1/10</p> <p>8 30 ng/ml rhEGF + EGF 면역원 혈청 @1/100</p> <p>9 30 ng/ml rhEGF + EGF 면역원 혈청 @1/1000</p>

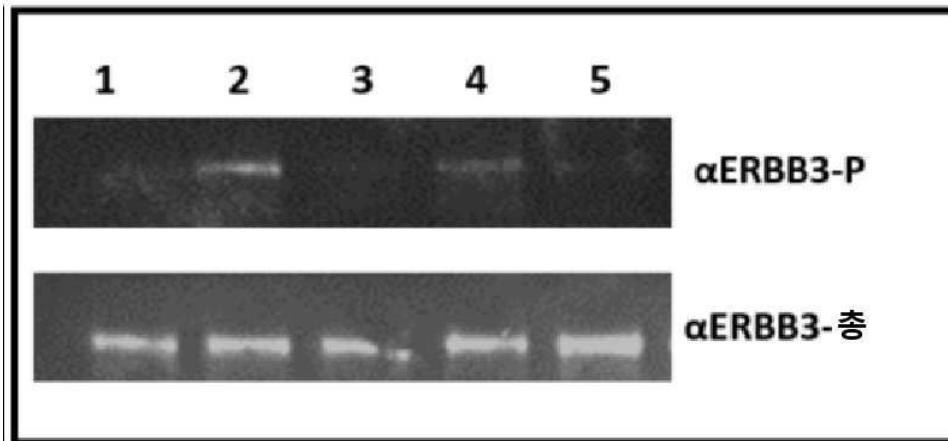
도면10



도면11

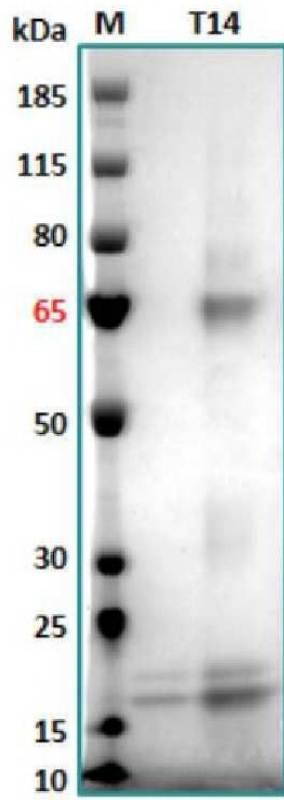


도면12



Number	Tube
1	세포만/백그라운드 대조군
2	rhNRG β 1 (50 ng/ml)
3	rhNRG β 1 (50 ng/ml) + Ab AF396-NA
4	정제된 합성 NRG (1:10,000)
5	정제된 합성 NRG (1:10,000)+ Ab AF396-NA

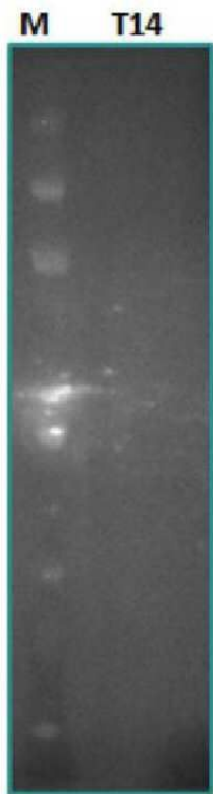
도면13a



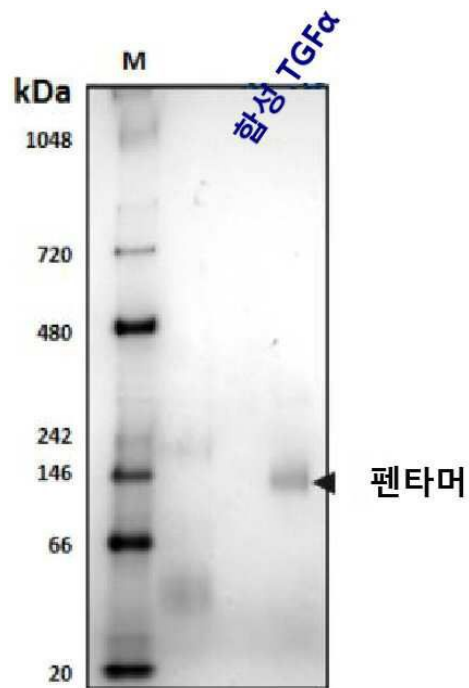
도면13b



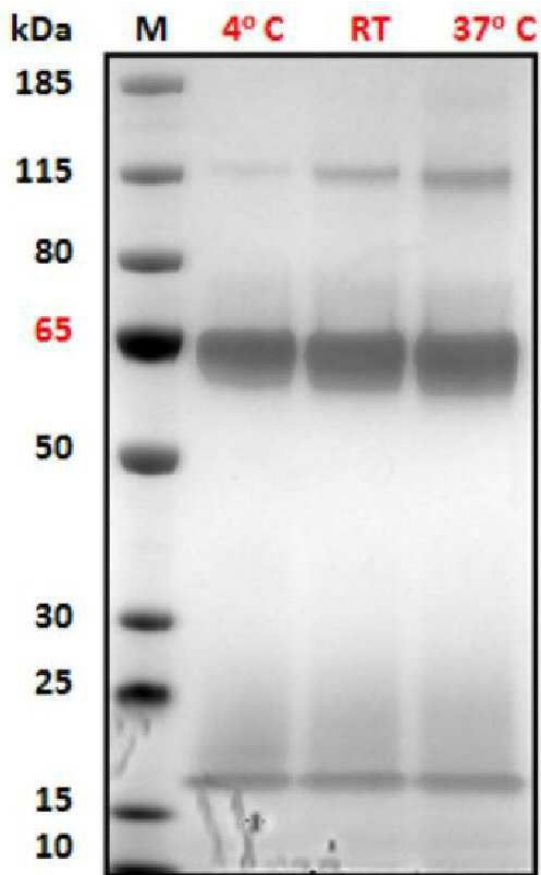
도면13c



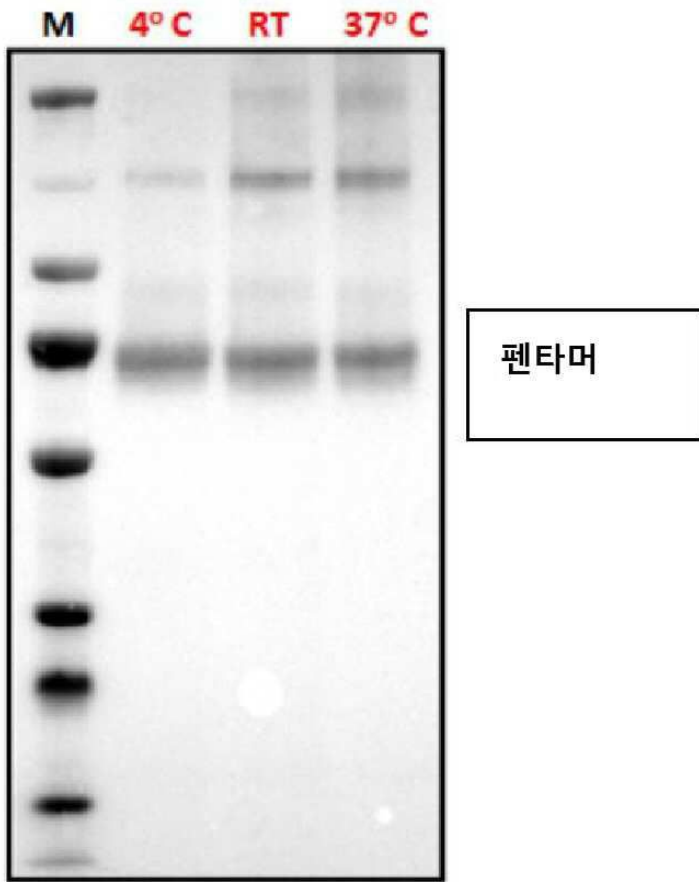
도면14



도면15a



도면15b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Bioven 3 Limited

<120> SYNTHETIC PROTEINS AND THERAPEUTIC USES THEREOF

<130> 48199-103PCT

<140> PCT/IB18/00898

<141> 2018-07-18

<150> 62/533,901

<151> 2017-07-18

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 681

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

aataccgaaa acgattgcc tctgtctcat gaagcgtatt gtctgcacga cggcgtgtgt 60
 atgtacattg aagccctgga caaatatgca tgtaactgtg tcgtgggcta cgtgggggag 120
 cgatgtcagt ttcgagacct gcgttgggtgg gatgcgcgcg gctcgagcgg taataccgaa 180

aacgattgcc ctctgtctca tgaagcgtat tgtctgcacg acggcgtgtg tatgtacatt 240
 gaagccctgg acaaatatgc atgtaactgt gtcgtgggct acgtggggga gcgatgtcag 300
 tttcgagacc tgcgttgggtg ggatgcgcgc gccgggtctg gaggtactag tggcggcggg 360
 ggagggtcgg gtaccccga gaacatcacc gacctgtcgc cagtagacca caacaccag 420
 atccacaccc tgaacgacaa gatcttctcg tacaccgaga gcctggccga taagcgtgaa 480
 atggccatca tcaccttcaa gaacgggtcgc accttccagg tggaggtccc ggtagccag 540
 cacatcgatt cacagaagaa ggccatcgag cgtatgaagg acaccctgcg tatcgcctac 600

ctgaccgaag ccaaggtgga aaagctgtgc gtctggaaca acaagacgcc gcacgccatc 660
 gccgccatca gcatggccaa t 681

<210> 2

<211> 227

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

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

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

Met Ala Asn

225

<210> 3

<211> 6369

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gtccgggcag cccccggcgc agcgcggcgc cagcagcctc cgccccccgc acggtgtgag 60
 cgccccgacgc ggccgaggcg gccggagtcc cgagctagcc ccggcggcgc cgcccgccca 120
 gaccggacga caggccacct ctctggcgctc cgccccagtc cccgcctcgc cgccaacgcc 180
 acaaccaccg cgcacggccc cctgactccg tccagtattg atcgggagag cgggagcgag 240
 ctcttcgggg agcagcgatg cgaccctccg ggacggccgg ggcagcgtc ctggcgtgctc 300
 tggctgcgct ctgccccggc agtcgggctc tggaggaaaa gaaagtttgc caaggcacga 360
 gtaacaagct cagcagttg ggcacttttg aagatcattt tctcagcctc cagaggatgt 420

 tcaataactg tgaggtggtc cttgggaatt tggaaattac ctatgtgcag aggaattatg 480
 atctttcctt cttaaagacc atccaggagg tggctggtta tgtctcatt gcctcaaca 540
 cagtgagcgc aattcctttg gaaaacctgc agatcatcag aggaaatatg tactacgaaa 600
 attcctatgc cttagcagtc ttatctaact atgatgcaaa taaaaccgga ctgaaggagc 660

tgcccatgag aaatttacag gaaatcctgc atggcgccgt gcggttcagc aacaaccctg 720
 ccctgtgcaa cgtggagagc atccagtggc gggacatagt cagcagtgac tttctcagca 780
 acatgtcgat ggacttccag aaccacctgg gcagctgcca aaagtgtgat ccaagctgtc 840

 ccaatgggag ctgctggggt gcaggagagg agaactgcca gaaactgacc aaaatcatct 900
 gtgccacgca gtgctccggg cgctgccgtg gcaagtcccc cagtgactgc tgccacaacc 960
 agtgtgctgc aggctgcaca ggccccggg agagcgactg cctggtctgc cgcaaattec 1020
 gagacgaagc cacgtgcaag gacacctgcc cccactcat gctctacaac cccaccactg 1080
 accagatgga tgtgaacccc gagggcaaat acagctttgg tgccacctgc gtgaagaagt 1140
 gtccccgtaa ttatgtggtg acagatcacg gctcgtgcgt ccgagcctgt ggggccgaca 1200
 gctatgagat ggaggaagac ggcgtccgca agtctaagaa gtgcgaaggg ccttgccgca 1260

 aagtgtgtaa cggaataggt attggtgaat ttaaagactc actctccata aatgctacga 1320
 atattaaca ctcaaaaac tgcacctcca tcagtggcga tctccacatc ctgccggtgg 1380
 catttagggg tgactccttc acacatactc ctctctgga tccacaggaa ctggatattc 1440
 tgaaaacctt aaagaaaac acagggtttt tcttgattca ggcttggcct gaaaacagga 1500
 cggacctcca tgcctttgag aacctagaaa tcatacgcgg caggaccaag caacatggc 1560
 agttttctct tgcagtcgtc agcctgaaca taacatcctt gggattacgc tcctcaagg 1620
 agataagtga tggagatgtg ataattcag gaaacaaaaa tttgtgctat gcaaatata 1680

 taaactgga aaaaactggtt gggacctccg gtcagaaaac caaaattata agcaacagag 1740
 gtgaaaacag ctgcaaggcc acaggccagg tctgceatgc cttgtgctcc cccgagggt 1800
 gctggggccc ggagcccagg gactgcgtct cttgccgga tgtcagccga ggcagggat 1860
 gcgtggacaa gtgcaacctt ctggagggtg agccaaggga gtttgggag aactctgagt 1920
 gcatacagtg ccacceagag tgcctgcctc aggccatgaa catcacctgc acaggacggg 1980
 gaccagaaa ctgtatccag tgtgcccact acattgacgg cccctactgc gtcaagacct 2040
 gcccgcagg agtcatggga gaaaacaaca ccctggtctg gaagtacga gacgccggcc 2100

 atgtgtgcca ccgtgcat ccaaactgca cctacggatg cactgggcca ggtcttgaag 2160
 gctgtccaac gaatgggctt aagatcccgt ccatgccac tgggatggtg ggggcctcc 2220
 tcttctgctt ggtggtggcc ctggggatcg gcctcttcat gcgaaggcgc cacatcgttc 2280
 ggaagcgcac gctgcgagg ctgctgcagg agaggagct tgtggagcct cttacacca 2340
 gtggagaagc tccaaccaa gctctcttga ggatctttaa ggaaactgaa ttcaaaaaga 2400
 tcaaagtgtt gggtccggt gcgttcggca cgggtataa gggactctgg atcccagaag 2460

gtgagaaagt taaaattccc gtcgctatca aggaattaag agaagcaaca tctccgaaag 2520

ccaacaagga aatcctcgat gaagcctacg tgatggccag cgtggacaac ccccacgtgt 2580

gccgcctgct gggcatctgc ctcaccteca ccgtgcagct catcacgcag ctcacgccct 2640

tccgctgcct cciggactat gtccgggaac acaaagaca tattggctcc cagtacctgc 2700

tcaactgggtg tgtgcagatc gcaaagggca tgaactactt ggaggaccgt cgcttggtgc 2760

accgcgacct ggcagccagg aacgtactgg tgaacacacc gcagcatgtc aagatcacag 2820

atcttgggct ggccaaactg ctgggtgcgg aagagaaaga atacatgca gaaggaggca 2880

aagtgcctat caagtggatg gcattggaat caattttaca cagaatctat acccaccaga 2940

gtgatgtctg gagctacggg gtgactgttt gggagttagt gacctttgga tccaagccat 3000

atgacggaat cctgccagc gagatctcct ccacctgga gaaaggagaa cgctccctc 3060

agccaccat atgtaccatc gatgtctaca tgatcatggt caagtgtctg atgatagacg 3120

cagatagtgc ccaaagtcc cgtgagttga tcatcgaatt ctccaaaatg gcccgagacc 3180

cccagcgcta ccttgtcatt cagggggatg aaagaatgca ttgccaagt cctacagact 3240

ccaacttcta ccgtgccttg atggatgaag aagacatgga cgacgtggtg gatgccgacg 3300

agtacctcat cccacagcag ggcttcttca gcagccctc cacgtcacgg actccctcc 3360

tgagctctct gagtgaacc agcaacaatt ccaccgtggc ttgcattgat agaaatgggc 3420

tgcaaagctg tccatcaag gaagacagct tcttgacgag atacagctca gacccacag 3480

gcgccttgac tgaggacagc atagacgaca ccttctccc agtgctgaa tacataaacc 3540

agtccgttcc caaaaggccc gctggctctg tgcagaatcc tgtctatcac aatcagcctc 3600

tgaacccgcg gccacagaga gacccacact accaggaccc ccacagcact gcagtgggca 3660

accccgagta tctcaacact gtccagccca cctgtgtcaa cagcacattc gacagccctg 3720

cccactgggc ccagaaaggc agccacaaa ttagcctgga caaccctgac taccagcagg 3780

acttctttcc caaggaagcc aagccaaatg gcatctttaa gggctccaca gctgaaaatg 3840

cagaatacct aagggtcgcg ccacaagca gtgaatttat tggagcatga ccacggagga 3900

tagtatgagc cctaaaaatc cagactcttt cgataccag gaccaagcca cagcaggtcc 3960

tccatccaa cagccatgcc cgcattagct cttagacca cagactggtt ttgcaacgtt 4020

tacaccgact agccaggaag tacttccacc tcgggcacat tttgggaagt tgcattcctt 4080

tgtcttcaa ctgtgaagca tttacagaaa cgcattccagc aagaatattg tccctttgag 4140

cagaaattta tcttcaag aggtatattt gaaaaaaaaaaa aaaagtatat gtgaggattt 4200

ttattgattg gggatcttgg agtttttcat tgtcgctatt gatttttact tcaatgggct 4260
 cttccaacaa ggaagaagct tgctggtagc acttgctacc ctgagttcat ccaggcccaa 4320
 ctgtgagcaa ggagcacaag ccacaagtct tccagaggat gcttgattcc agtggttctg 4380
 cttcaaggct tccactgcaa aacctaaag atccaagaag gccttcatgg ccccagcagg 4440
 ccgcatcggc actgtatcaa gtcatggcag gtacagtagg ataagccact ctgtcccttc 4500
 ctgggcaaag aagaacgga ggggatggaa ttcttcctta gacttacttt tgtaaaaatg 4560
 tccccacggc acttactccc cactgatgga ccagtggttt ccagtcatga gcgttagact 4620

 gacttgtttg tcttcattc cattgttttg aaactcagta tgctgccctt gtcttgctgt 4680
 catgaaatca gcaagagagg atgacacatc aaataataac tcggattcca gcccacattg 4740
 gattcatcag catttgacc aatagccac agctgagaat gtggaatacc taaggatagc 4800
 accgcttttg ttctcgcaa aacgtatctc ctaatttgag gctcagatga aatgcatcag 4860
 gtcccttggg gcatagatca gaagactaca aaaatgaagc tgctctgaaa tctccttag 4920
 ccatcacc ccccccaa aattagtttg tgtacttat ggaagatagt tttctccttt 4980
 tacttcactt caaaagcttt ttactcaaag agtatatggt ccctccaggt cagctgcccc 5040

 caaacccct ccttacgctt tgtcacacaa aaagtgtctc tgccttgagt catctattca 5100
 agcacttaca gctctggcca caacagggca ttttacaggt gcgaatgaca gtagcattat 5160
 gagtagtggt gaattcaggc agtaaatatg aaactagggt ttgaaattga taatgctttc 5220
 acaacatttg cagatgtttt agaaggaaaa aagtctcttc ctaaaataat ttcttaciaa 5280
 ttggaagatt ggaagattca gctagttagg agcccactt ttttcctaat ctgtgtgtgc 5340
 cctgtaacct gactggttaa cagcagtcct ttgtaaacag tgttttaaac tctcctagtc 5400
 aatatccacc ccatccaatt tatcaaggaa gaaatggttc agaaaatatt ttcagcctac 5460

 agttatgttc agtcacacac acatacaaaa tgttcccttt gcttttaag taatttttga 5520
 ctcccagatc agtcagagcc cctacagcat tgtaagaaa gtatttgatt tttgtctcaa 5580
 tgaaaataaa actatattca tttccactct attatgctct caaatacccc taagcatcta 5640
 tactagcctg gtatgggtat gaaagataca aagataaata aaacatagtc cctgattcta 5700
 agaaattcac aatttagcaa aggaaatgga ctcatagatg ctaaccttaa aacaactga 5760
 caaatgccag acaggaccba tcagccaggc actgtgagag cacagagcag ggaggttggg 5820
 tctgctga ggagacctgg aaggaggcc tcacaggagg atgaccaggt ctcagtcagc 5880

 ggggaggtgg aaagtgcagg tgcacaggg gcaccctgac cgaggaaaca gctgccagag 5940
 gcctccactg ctaaagtcca cataaggctg aggtcagtc cctaataca cctgctccct 6000
 ctaagccagg ggatgagctt ggagcatccc acaagtccc taaaagttgc agccccagg 6060

gggattttga gctatcatct ctgcacatgc ttagtgagaa gactacacaa catttctaag 6120
aatctgagat tttatattgt cagttaacca ctttcattat tcattcacct caggacatgc 6180
agaaatattt cagtcagaac tgggaaacag aaggacctac attctgctgt cacttatgtg 6240
tcaagaagca gatgatcgat gaggcaggtc agttgtaagt gaggcacatt gtagcattaa 6300

attctagtat tttttagtgg tgaacagta acttaataaa agagcaaaag ctaaaaaaaaa 6360
aaaaaaaaa 6369

<210> 4

<211> 1210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala

1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln

20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe

35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn

50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys

65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val

85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr

100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn

115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu

130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu

145 150 155 160

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

405 410 415
 Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln

420 425 430
 His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu

435 440 445
 Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser

450 455 460
 Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu

465 470 475 480
 Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu

485 490 495
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro

500 505 510
 Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn

515 520 525
 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly

530 535 540
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro

545 550 555 560
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro

565 570 575
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val

580 585 590
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp

595 600 605
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys

610 615 620
 Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly

625 630 635 640
 Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu

645 650 655

Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
 660 665 670
 Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
 675 680 685
 Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
 690 695 700
 Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
 705 710 715 720
 Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
 725 730 735
 Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
 740 745 750
 Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
 755 760 765
 Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
 770 775 780
 Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
 785 790 795 800
 Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
 805 810 815
 Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
 820 825 830
 Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
 835 840 845
 Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
 850 855 860
 Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
 865 870 875 880
 Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
 885 890 895
 Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser

900	905	910	
Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu			
915	920	925	
Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr			
930	935	940	
Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys			
945	950	955	960
Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln			
965	970	975	
Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro			
980	985	990	
Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp			
995	1000	1005	
Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe			
1010	1015	1020	
Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu			
1025	1030	1035	
Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn			
1040	1045	1050	
Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg			
1055	1060	1065	
Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp			
1070	1075	1080	
Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro			
1085	1090	1095	
Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln			
1100	1105	1110	
Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro			
1115	1120	1125	
His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln			
1130	1135	1140	

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
 1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
 1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
 1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
 1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 1205 1210

<210> 5

<211> 5700

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

aaaaagagaa actgttggga gaggaatcgt atctccat atctctcttc agccccaatc 60
 caagggttgt agctggaact ttccatcagt tcttctcttc ttttctctct ctaagccttt 120
 gccttgctct gtcacagtga agtcagccag agcagggtctg ttaaactctg tgaatttgt 180

 cataagggtg tcaggatatt cttactggct tccaaagaaa catagataaa gaaatctttc 240
 ctgtggcttc ccttggcagg ctgcattcag aaggctctctc agttgaagaa agagcttgga 300
 ggacaacagc acaacaggag agtaaaagat gccccagggc tgaggcctcc gctcaggcag 360
 ccgcatctgg ggtcaatcat actcaccttg cccgggcat gctccagcaa aatcaagctg 420
 ttttcttttg aaagttcaaa ctcatcaaga ttatgctgct cactcttacc attctgttgc 480
 cagtagtttc aaaatttagt tttgttagtc tctcagcacc gcagcactgg agctgtcctg 540
 aaggtactct cgcaggaat gggaattcta cttgtgtggg tctgcacc ttcttaattt 600

 tctcccatgg aaatagtatc tttaggattg acacagaagg aaccaattat gagcaattgg 660
 tggtagatgc tgggtgtctca gtgatcatgg attttcatta taatgagaaa agaacttatt 720
 gggtagattt agaaagacaa cttttgcaaa gagtttttct gaatgggtca aggcaagaga 780
 gagtatgtaa tatagagaaa aatgtttctg gaatggcaat aaattggata aatgaagaag 840
 ttatttggtc aatcaacag gaaggaatca ttacagtaac agatagaaa ggaaataatt 900
 cccacattct ttaagtgtc ttaaaatc ctgcaaatgt agcagttgat ccagtagaaa 960

ggtttatatt ttggtcttca gaggtggctg gaagccttta tagagcagat ctcgatggtg 1020

 tgggagtgaag ggcctctgtg gagacatcag agaaaataac agctgtgtca ttggatgtgc 1080
 ttgataagcg gctgttttgg attcagtaca acagagaagg aagcaattct cttatttgc 1140
 cctgtgatta tgatggaggt tctgtccaca ttagtaaca tccaacacag cataatttgt 1200
 ttgcaatgtc ctttttggg gaccgtatct tctattcaac atggaaaatg aagacaattt 1260
 ggatagccaa caaacacact ggaaaggaca tggttagaat taacctccat tcatcatttg 1320
 taccacttgg tgaactgaaa gtagtgcac cacttgcaca acccaaggca gaagatgaca 1380
 cttgggagcc tgagcagaaa ctttgcaaat tgaggaaagg aaactgcagc agcactgtgt 1440

 gtgggcaaga cctccagtca cacttgtgca tgtgtgcaga gggatagcc ctaagtcgag 1500
 accggaagta ctgtgaagat gttaatgaat gtgctttttg gaatcatggc tgtactcttg 1560
 ggtgtaaaaa cacccttggg tcttattact gcacgtgccc ttaggattt gttctgcttc 1620
 ctgatgggaa acgatgtcat caacttgttt cctgtccacg caatgtgtct gaatgcagcc 1680
 atgactgtgt tctgacatca gaaggtccct tatgtttctg tctgaagc tcagtcttg 1740
 agagagatgg gaaaacatgt agcggttgtt cctcaccga taatggtgga ttagccagc 1800
 tctgcgttcc tcttagccca gtatcctggg aatgtgattg ctttctggg tatgacctac 1860

 aactggatga aaaaagctgt gcagcttcag gaccacaacc atttttgctg ttgccaatt 1920
 ctcaagatat tcgacacatg cttttgatg gaacagacta tggaaactctg ctgagccagc 1980
 agatgggaat ggtttatgcc ctgatcatg accctgtgga aaataagata tactttgccc 2040
 atacagccct gaagtggata gagagagcta atatggatgg tccagcga gaaagctta 2100
 ttgaggaagg agtagatgtg ccagaaggtc ttgctgtgga ctggattggc cgtagattct 2160
 attggacaga cagagggaaa tctctgattg gaaggagtga ttaaatggg aaacgttcca 2220
 aaataatcac taaggagaac atctctcaac cagaggaat tgctgttcat ccaatggcca 2280

 agagattatt ctggactgat acagggatta atccacgaat tgaaagtctt tcctccaag 2340
 gccttggccg tctggttata gccagctctg atctaactctg gccagtgga ataacgattg 2400
 acttctaac tgacaagttg tactggtgcg atccaagca gtctgtgatt gaaatggcca 2460
 atctggatgg ttcaaacgc cgaagactta ccagaatga ttaggtcac ccatttctg 2520
 tagcagtgtt tgaggattat gtgtggttct cagattgggc tatgcatca gtaatgagag 2580
 taacaagag gactggcaaa gatagagtac gtctccaagg cagcatgctg aagccctcat 2640
 cactggttgt ggttcatcca ttggcaaac caggagcaga tccctgctta tatcaaacg 2700

gaggctgtga acatatttgc aaaaagaggc ttggaactgc ttggtgttcg tgtcgtgaag 2760
 gttttatgaa agcctcagat gggaaaacgt gctctggctct ggatggatcat cagctgttgg 2820
 caggtgggtga agttgatcta aagaaccaag taacaccatt ggacatcttg tccaagacta 2880
 gagtgtcaga agataacatt acagaatctc aacacatgct agtggctgaa atcatgggtgt 2940
 cagatcaaga tgactgtgct cctgtgggat gcagcatgta tgctcgggtgt atttcagagg 3000
 gagaggatgc cacatgtcag tgtttgaaag gatttgcctgg ggatggaaaa ctatgttctg 3060
 atatagatga atgtgagatg ggtgtcccag tgtgcccccc tgcctcctcc aagtgcacatca 3120

 acaccgaagg tggttatgtc tgccgggtgct cagaaggcta ccaaggagat gggattcact 3180
 gtcttgatat tgatgagtgc caactggggg agcacagctg tggagagaat gccagctgca 3240
 caaatacaga gggaggctat acctgcatgt gtgctggacg cctgtctgaa ccaggactga 3300
 ttgcccctga ctctactcca cccctcacc tcagggaaga tgaccaccac tattccgtaa 3360
 gaaatagtga ctctgaatgt cccctgtccc acgatgggta ctgcctccat gatgggtgtgt 3420
 gcatgtatat tgaagcattg gacaagtatg catgcaactg tgttgttggc tacatcgggg 3480
 agcgatgtca gtaccgagac ctgaagtggg gggaactgcg ccacgctggc cacgggcagc 3540

 agcagaaggt catcgtgggtg gctgtctgcg ttggtgggtgct tgtcatgctg ctctcctga 3600
 gcctgtgggg ggcccactac tacaggactc agaagctgct atcgaaaaac ccaaagaatc 3660
 ctatagagga gtcgagcaga gatgtgagga gtcgcaggcc tgctgacact gaggatggga 3720
 tgtcctcttg ccctcaacct tggtttgtgg ttataaaaga acaccaagac ctcaagaatg 3780
 ggggtcaacc agtggctggg gaggatggcc aggcagcaga tgggtcaatg caaccaactt 3840
 catggaggca ggagccccag ttatgtggaa tgggcacaga gcaaggctgc tggattccag 3900
 tatccagtga taagggtccc tgtccccagg taatggagcg aagctttcat atgccctcct 3960

 atgggacaca gacccttga gggggtgtcg agaagcecca ttctctccta tcagctaacc 4020
 cattatggca acaaagggcc ctggaccac cacacaaat ggagctgact cagtgaaaac 4080
 tggaaattaa aggaaagtca agaagaatga actatgtcga tgcacagtat cttttcttcc 4140
 aaaagtagag caaaactata ggttttgggt ccacaatctc tacgactaat cacctactca 4200
 atgcctggag acagatacgt agttgtgctt ttgtttgctc ttttaagcag tctcactgca 4260
 gtcttatttc caagtaagat tactgggaga atcactaggt aacttattag aaacccaat 4320
 tgggacaaca gtgctttgta aattgtgttg tcttcagcag tcaatacaaa tagatTTTTG 4380

 tttttgttgt tctgcagcc ccagaagaaa ttaggggtta aagcagacag tcacactggg 4440
 ttggtcagtt acaaagtaat ttctttgatc tggacagaac atttatatca gtttcatgaa 4500
 atgattggaa tattacaata ccgttaagat acagtgtagg catttaactc ctcatggcgc 4560

tggatccatgc tgatgatttt gcaaaatgag ttgtgatgaa tcaatgaaaa atgtaattta 4620
 gaaactgatt tcttcagaat tagatggcct attttttaaa atatttgaat gaaaacattt 4680
 tatttttaaa atattacaca ggaggcttcg gagtttctta gtcattactg tccttttccc 4740
 ctacagaatt ttccctcttg gtgtgattgc acagaatttg tatgtatttt cagttacaag 4800

attgtaagta aattgcctga tttgttttca ttatagacaa cgatgaattt cttctaatta 4860
 tttaaataaa atcaccaaaa acataaacat ttatttgtat gcctgattaa gtagttaatt 4920
 atagtctaag gcagtactag agttgaacca aatgatttg tcaagcttgc tgatgtttct 4980
 gtttttcggt tttttttttt ttccggagag aggataggat ctcactctgt tatccaggct 5040
 ggagtgtgca atggcacaat catagctcag tgcagcctca aactcctggg ctcaagcaat 5100
 cctcctgcct cagcctcccg agtaactagg accacaggca caggccacca tgcttggtta 5160
 aggtttttat ttttattttt tgtagacatg gggatcacac aatgttgccc aggctggtct 5220

tgaactcctg gcctcaagca aggtcgtgct ggtaattttg caaaatgaat tgtgattgac 5280
 tttcagcctc ccaacgtatt agattatagg cattagccat ggtgcccagc cttgtaactt 5340
 ttaaaaaaat tttttaatct acaactctgt agattaaaaat ttcacatggt gttctaatta 5400
 aatatttttc ttgcagccaa gatattgtta ctacagataa cacaacctga tatggtaact 5460
 ttaaattttg ggggctttga atcattcagt ttatgcatta actagtcctt ttgtttatct 5520
 ttcattttct aacccttgt actttgggtga taccagacat cagaataaaa agaaattgaa 5580
 gtacctgttt tcaaatggat actttatagg aattttggta aagatttgggt gatgggagga 5640

tgacttgagg tttgtggata ttagttaatt attcagtatg atacctcacc cagctaattt 5700

<210> 6

<211> 1207

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

 Glu Val Ala Gly Ser Leu Tyr Arg Ala Asp Leu Asp Gly Val Gly Val
 180 185 190
 Lys Ala Leu Leu Glu Thr Ser Glu Lys Ile Thr Ala Val Ser Leu Asp
 195 200 205
 Val Leu Asp Lys Arg Leu Phe Trp Ile Gln Tyr Asn Arg Glu Gly Ser
 210 215 220
 Asn Ser Leu Ile Cys Ser Cys Asp Tyr Asp Gly Gly Ser Val His Ile
 225 230 235 240

 Ser Lys His Pro Thr Gln His Asn Leu Phe Ala Met Ser Leu Phe Gly
 245 250 255
 Asp Arg Ile Phe Tyr Ser Thr Trp Lys Met Lys Thr Ile Trp Ile Ala
 260 265 270
 Asn Lys His Thr Gly Lys Asp Met Val Arg Ile Asn Leu His Ser Ser
 275 280 285
 Phe Val Pro Leu Gly Glu Leu Lys Val Val His Pro Leu Ala Gln Pro
 290 295 300

Lys Ala Glu Asp Asp Thr Trp Glu Pro Glu Gln Lys Leu Cys Lys Leu
305 310 315 320

Arg Lys Gly Asn Cys Ser Ser Thr Val Cys Gly Gln Asp Leu Gln Ser
 325 330 335

His Leu Cys Met Cys Ala Glu Gly Tyr Ala Leu Ser Arg Asp Arg Lys
 340 345 350

Tyr Cys Glu Asp Val Asn Glu Cys Ala Phe Trp Asn His Gly Cys Thr
 355 360 365

Leu Gly Cys Lys Asn Thr Pro Gly Ser Tyr Tyr Cys Thr Cys Pro Val
 370 375 380

Gly Phe Val Leu Leu Pro Asp Gly Lys Arg Cys His Gln Leu Val Ser
385 390 395 400

Cys Pro Arg Asn Val Ser Glu Cys Ser His Asp Cys Val Leu Thr Ser
 405 410 415

Glu Gly Pro Leu Cys Phe Cys Pro Glu Gly Ser Val Leu Glu Arg Asp
 420 425 430

Gly Lys Thr Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Asp Asn Gly Gly Cys Ser
 435 440 445

Gln Leu Cys Val Pro Leu Ser Pro Val Ser Trp Glu Cys Asp Cys Phe
 450 455 460

Pro Gly Tyr Asp Leu Gln Leu Asp Glu Lys Ser Cys Ala Ala Ser Gly
465 470 475 480

Pro Gln Pro Phe Leu Leu Phe Ala Asn Ser Gln Asp Ile Arg His Met
 485 490 495

His Phe Asp Gly Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Leu Ser Gln Gln Met Gly
 500 505 510

Met Val Tyr Ala Leu Asp His Asp Pro Val Glu Asn Lys Ile Tyr Phe
 515 520 525

Ala His Thr Ala Leu Lys Trp Ile Glu Arg Ala Asn Met Asp Gly Ser
 530 535 540

Gln Arg Glu Arg Leu Ile Glu Glu Gly Val Asp Val Pro Glu Gly Leu

Thr Pro Leu Asp Ile Leu Ser Lys Thr Arg Val Ser Glu Asp Asn Ile
 805 810 815

Thr Glu Ser Gln His Met Leu Val Ala Glu Ile Met Val Ser Asp Gln
 820 825 830

Asp Asp Cys Ala Pro Val Gly Cys Ser Met Tyr Ala Arg Cys Ile Ser
 835 840 845

Glu Gly Glu Asp Ala Thr Cys Gln Cys Leu Lys Gly Phe Ala Gly Asp
 850 855 860

Gly Lys Leu Cys Ser Asp Ile Asp Glu Cys Glu Met Gly Val Pro Val
 865 870 875 880

Cys Pro Pro Ala Ser Ser Lys Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Val
 885 890 895

Cys Arg Cys Ser Glu Gly Tyr Gln Gly Asp Gly Ile His Cys Leu Asp
 900 905 910

Ile Asp Glu Cys Gln Leu Gly Glu His Ser Cys Gly Glu Asn Ala Ser
 915 920 925

Cys Thr Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Met Cys Ala Gly Arg Leu
 930 935 940

Ser Glu Pro Gly Leu Ile Cys Pro Asp Ser Thr Pro Pro Pro His Leu
 945 950 955 960

Arg Glu Asp Asp His His Tyr Ser Val Arg Asn Ser Asp Ser Glu Cys
 965 970 975

Pro Leu Ser His Asp Gly Tyr Cys Leu His Asp Gly Val Cys Met Tyr
 980 985 990

Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn Cys Val Val Gly Tyr Ile
 995 1000 1005

Gly Glu Arg Cys Gln Tyr Arg Asp Leu Lys Trp Trp Glu Leu Arg
 1010 1015 1020

His Ala Gly His Gly Gln Gln Gln Lys Val Ile Val Val Ala Val
 1025 1030 1035

Cys Val Val Val Leu Val Met Leu Leu Leu Leu Ser Leu Trp Gly

1040	1045	1050
Ala His Tyr Tyr Arg Thr Gln Lys Leu Leu Ser Lys Asn Pro Lys		
1055	1060	1065
Asn Pro Tyr Glu Glu Ser Ser Arg Asp Val Arg Ser Arg Arg Pro		
1070	1075	1080
Ala Asp Thr Glu Asp Gly Met Ser Ser Cys Pro Gln Pro Trp Phe		
1085	1090	1095
Val Val Ile Lys Glu His Gln Asp Leu Lys Asn Gly Gly Gln Pro		
1100	1105	1110
Val Ala Gly Glu Asp Gly Gln Ala Ala Asp Gly Ser Met Gln Pro		
1115	1120	1125
Thr Ser Trp Arg Gln Glu Pro Gln Leu Cys Gly Met Gly Thr Glu		
1130	1135	1140
Gln Gly Cys Trp Ile Pro Val Ser Ser Asp Lys Gly Ser Cys Pro		
1145	1150	1155
Gln Val Met Glu Arg Ser Phe His Met Pro Ser Tyr Gly Thr Gln		
1160	1165	1170
Thr Leu Glu Gly Gly Val Glu Lys Pro His Ser Leu Leu Ser Ala		
1175	1180	1185
Asn Pro Leu Trp Gln Gln Arg Ala Leu Asp Pro Pro His Gln Met		
1190	1195	1200
Glu Leu Thr Gln		
1205		
<210> 7		
<211> 2106		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 7		
gagcccttgg accaaactcg cctgcgccga gagccgtccg cgtagagcgc tccgtctccg	60	
gcgagatgtc cgagcgcaaa gaagcgagag gcaaagggaa gggcaagaag aaggagcgag	120	
gctccggcaa gaagccggag tccgcggcgg gcagccagag cccagccttg cctcccctaat	180	

tgaaagagat gaaaagccag gaatcggctg caggttccaa actagtcctt cgggtgtaaa 240

 ccagttctga atactcctct ctcagattca agtggttcaa gaatgggaat gaattgaatc 300
 gaaaaaaca accacaaaat atcaagatac aaaaaagcc agggaagtca gaacttcgca 360
 ttaacaaagc atcactggct gattctggag agtatatgtg caaagtgatc agcaaattag 420
 gaaatgacag tgcctctgcc aatatacca tcgtggaatc aaacgagatc atcactggta 480
 tgccagcctc aactgaagga gcatatgtgt cttcagagtc tcccattaga atatcagtat 540
 ccacagaagg agcaaaact tcttcatcta catctacatc caccactggg acaagccatc 600
 ttgtaaaatg tgcggagaag gagaaaactt tctgtgtgaa tggaggggag tgcttcatgg 660

 tgaaagacct ttcaaaccct tcgagatact tgtgcaagtg ccaacctgga ttcactggag 720
 caagatgtac tgagaatgtg cccatgaaag tccaaaacca agaaaaggcg gaggagctgt 780
 accagaagag agtgctgacc ataaccggca tetgcatcgc cctccttgtg gtcggcatca 840
 tgtgtttggt ggctactgc aaaaccaaga aacagcggaa aaagtgcac gaccgtcttc 900
 ggacagcctc tcggtctgaa cgaaacaata tgatgaacat tgccaatggg cctcaccatc 960
 ctaaccacc ccccagaat gtccagctgg tgaatcaata cgtatctaaa aacgtcatct 1020
 ccagtgagca tattgttgag agagaagcag agacatcctt tccaccagt cactatactt 1080

 ccacagccca tcaactccact actgtcacc agactcctag ccacagctgg agcaacggac 1140
 aactgaaag catcctttcc gaaagccact ctgtaatcgt gatgtcatcc gtagaaaaca 1200
 gtaggcacag cagcccaact gggggcccaa gaggacgtct taatggcaca ggaggcctc 1260
 gtgaatgtaa cagcttcctc aggcattgcca gagaaacccc tgattcctac cgagactctc 1320
 ctcatagtga aaggtatgtg tcagccatga ccacccggc tcgtatgtca cctgtagatt 1380
 tccacagcc aagetcccc aaatgcccc ctctcgaaat gtctccacc gtgtccagca 1440
 tgacggtgtc catgccttcc atggcgggtca gccccttcat ggaagaagag agacctctac 1500

 ttctctgac accaccaagg ctgcgggaga agaagtttga ccatcacct cagcagttca 1560
 gctccttcca ccacaacccc gcgcatgaca gtaacagcct cctgctagc cccttgagga 1620
 tagtggagga tgaggagtat gaaacgacc aagagtacga gccagcccaa gaccctgtta 1680
 agaaactcgc caatagccgg cgggcaaaa gaaccaagcc caatggccac attgctaaca 1740
 gattggaagt ggacagcaac acaagctccc agagcagtaa ctcagagagt gaaacagaag 1800
 atgaaagagt aggtgaagat acgcctttcc tgggcataca gaaccccctg gcagccagtc 1860
 ttgaggcaac acctgccttc cgcctggctg acagcaggac taaccagca ggccgcttct 1920

cgacacagga agaaatccag gccaggctgt ctagtgaat tgctaaccaa gaccctattg 1980
 ctgtataaaa cctaaataaa cacatagatt cacctgtaaa actttatttt atataataaa 2040
 gtattccacc ttaaattaaa caatttattt tatttttagca gttctgcaaa tagaaaacag 2100
 gaaaaa 2106

<210> 8

<211> 640

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys

1 5 10 15

Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser

20 25 30

Pro Ala Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala

35 40 45

Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser

50 55 60

Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys

65 70 75 80

Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu

85 90 95

Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys

100 105 110

Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr

115 120 125

Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu

130 135 140

Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr

145 150 155 160

Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr

165 170 175

Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn

180 185 190
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 195 200 205
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn

 210 215 220
 Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln
 225 230 235 240
 Lys Arg Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val
 245 250 255
 Gly Ile Met Cys Leu Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys
 260 265 270
 Lys Leu His Asp Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn

 275 280 285
 Met Met Asn Ile Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Asn Val Gln Leu Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser
 305 310 315 320
 Glu His Ile Val Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His
 325 330 335
 Tyr Thr Ser Thr Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser

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

 405 410 415
 Asp Ser Pro His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala
 420 425 430

Arg Met Ser Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro
 435 440 445
 Pro Ser Glu Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro
 450 455 460
 Ser Met Ala Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu
 465 470 475 480
 Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln
 485 490 495
 Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu
 500 505 510
 Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr
 515 520 525
 Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser
 530 535 540
 Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu
 545 550 555 560
 Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu
 565 570 575
 Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln
 580 585 590
 Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala
 595 600 605
 Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile
 610 615 620
 Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 625 630 635 640
 <210> 9
 <211> 6661
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 9
 ggcttaactg atgcctgcct gcctctcttt gatttgatgg cctttattcc ttctaattgg

ataaaatagg aagtcactgg cagtcctgtg tggctgggga tactgatttt actcagacca 120

gcctgcagct ctagagtgtg ggtagagagc ggggagtggg ggttgggaga gggggaggaa 180

agagagagag gagagaggac gggcttggat gaagaaggga aagaaagaga aagagactga 240

agcagagaag agccgcagag gaagaaagtg aatgagcact caagaaggac aaagaggagt 300

agtccgggggt ggggtggagg cagggcgggg aaggagtgga ccgccctcc tggctgcaact 360

cttgcctccg gagccctctg atcctgtttg cagtgatgct ccgagggcag gcacctgctg 420

ctctgtaatg attcagcccc ttccagccgt cgtcgcgtta acacaacagg atgctgttgc 480

tattgtcaact actgcctctc ctgccgccgc tctgctgcc gccgcccca ccgccctgg 540

tctcctctct gcttttactt ctctgcatg acagttgttt tcttcatctg agcagacacc 600

agcttcagat gctcgaggtg agaaacatgc ctttcagttt gggctactgg ttacttaat 660

taatcagccg gcagctccgt cgatctatit tcttccctgt cctcttgacg agccccggat 720

ggtttggagt agcatttaaa agaactagaa aagtggccca gaaacagcag cttaaagaat 780

tattacgata tactttgatt ttgtagtgc taggagcttt tcttcccccc ttgcatcttt 840

ctgaactctt cttgatttta ataatggcct tggacttggga cgatttatcg atttcccct 900

glaagatgct gtatcatttg gttggggggg cctctgcgtg gtaatggacc gtgagagcgg 960

ccaggecttc ttctggaggt gagccgatgg agatttattc cccagacatg tctgaggtcg 1020

ccgccgagag gtctccagc ccctccactc agctgagtgc agacccatct cttgatgggc 1080

ttccggcagc agaagacatg ccagagcccc agactgaaga tgggagaacc cctggactcg 1140

tgggcctggc cgtgccctgc tgtgcgtgcc tagaagctga gcgcctgaga ggttgcctca 1200

actcagagaa aatctgcatt gtccccatcc tggcttgccct ggtcagcctc tgcctctgca 1260

tgcggccct caagtgggta tttgtggaca agatctttga atatgactct cctactcacc 1320

ttgaccctgg ggggttaggc caggacccta ttatttctct ggacgcaact getgcctcag 1380

ctgtgtgggt gtcgtctgag gcatacactt cacctgtctc tagggctcaa tctgaaagtg 1440

aggttcaagt tacagtgcaa ggtgacaagg ctgttgtctc ctttgaacca tcagcggcac 1500

cgacaccgaa gaatcgtatt ttgctttt ctttcttgcc gtccactgcg ccatccttc 1560

cttcaccac ccggaacct gaggtgagaa cgcccaagtc agcaactcag ccacaacaa 1620

cagaaactaa tctccaaact gctcctaaac tttctacatc tacatccacc actgggacaa 1680

gccatctgt aaaaatgtcg gagaaggaga aaactttctg tgtgaatgga ggggagtgct 1740

tcatggtgaa agaccttca aaccctcga gatacttgtg caagtgccca aatgagtta 1800

ctggtgatcg ctgccccaac tacgtaatgg ccagcttcta caagcatctt gggattgaat 1860
 ttatggaggc ggaggagctg taccagaaga gagtgtctgac cataaccggc atctgcatcg 1920
 ccctccttgt ggtcggcatc atgtgtgtgg tggcctactg caaaaccaag aaacagcggg 1980
 aaaagctgca tgaccgtctt cggcagagcc ttcggtctga acgaaacaat atgatgaaca 2040
 ttgccaatgg gcctcaccat cctaaccac cccccagaa tgtccagctg gtgaatcaat 2100
 acgtatctaa aaacgtcatc tccagtgage atattgttga gagagaagca gagacatcct 2160
 tttccaccag tcaactaact tccacagccc atcactccac tactgtcacc cagactccta 2220

 gccacagctg gagcaacgga cactgaaa gcatccttc cgaaagccac tctgtaatcg 2280
 tgatgtcatc cgtagaaaac agtaggcaca gcagcccaac tgggggcca agaggacgtc 2340
 ttaatggcac aggaggcctt cgtgaatgta acagcttctt caggcatgcc agagaaacc 2400
 ctgattccta ccgagactct cctcatagtg aaaggtatgt gtcagccatg accaccccg 2460
 ctgctatgtc acctgtagat ttccacacgc caagctcccc caaatcgccc ccttcggaaa 2520
 tgtctccacc cgtgtccagc atgacggtgt ccatgccttc catggcggtc agccccttca 2580
 tggaagaaga gagacctcta cttctcgtga caccaccaag gctgcgggag aagaagtttg 2640

 accatcacc tcagcagttc agctccttc accacaacc cgcgcatgac agtaacagcc 2700
 tccttctag cccttgagg atagtggagg atgaggagta tgaacgacc caagagtacg 2760
 agccagccca agagcctgtt aagaaactcg ccaatagccg gggggccaaa agaaccaagc 2820
 ccaatggcca cattgctaac agattggaag tggacagcaa cacaagctcc cagagcagta 2880
 actcagagag tgaacagaa gatgaaagag taggtgaaga tacgccttc ctgggcatac 2940
 agaaccctt ggcagccagt cttgaggcaa cacctgcctt ccgcttggt gacagcagga 3000
 ctaaccagc aggccgcttc tcgacacagg aagaaatcca ggccaggctg tctagttaa 3060

 ttgctaacca agacctatt gctgtataaa acctaaataa acacatagat tcacctgtaa 3120
 aactttatt tatataata agtattccac cttaaataa acaatttatt ttattttagc 3180
 agttctgcaa atagaaaaca ggaaaaaac tttataaat taaatatag tatgtaaaaa 3240
 tgtgttatgt gccatatgta gcaatTTTT acagtattc aaaacgagaa agatatcaat 3300
 ggtgccttta tgttatgta tgtcgagagc aagttttgta cagttacagt gattgctttt 3360
 ccacagtatt tctgcaaac ctctcataga ttcagttttt gctggcttct tgtgcattgc 3420
 attatgatgt tgactggatg tatgatttgc aagacttga actgtccctc tgtttgcttg 3480

 tagtagcacc cgatcagat gtcttgtaat ggcacatcca tccagatatg cctctcttgt 3540
 gtatgaagtt ttctttgctt tcagaatatg aaatgagttg tgtctactct gccagccaaa 3600
 ggtttgctc attgggctct gagataatag tagatccaac agcatgctac tattaatac 3660

agcaagaaac tgcattaagt aatgttaa attaggaaga aagtaatact gtgatttaaa 3720
 aaaaactata ttattaatca gaagacagct tgctcttact aaaaggagct ctcatctact 3780
 ttatttgatt ttatcttct tgacaaaaag caacagtttt agggatagct tagaaaaatgg 3840
 gttctggctt gciatcaggg taaatctaac accttacaag aggactgagt gtcactttct 3900

 ctctggggga atgatccagc agcttatcta gttgacaatc aaaacacggc tgataaaggt 3960
 gcaatcattt ctgacatgta ttttctactg attttgaagc tagtgattgg ttgtgtcttc 4020
 ttggctcaaa aagaagcata ttacggcaca aaaagcccag cccagacagc acatgcagca 4080
 ttttctctga aatacttcta gactcaaacg tgctgtctgt acatagcgat gacttgtcat 4140
 catagggag tatttccatc gtagagtgtt cagaaggagt gactgtatag gtggagagaa 4200
 gcttagtgac tccgttgaaa ttttaaaatg tggatgacca cccctttctc ccccttattt 4260
 ttcttttacc tttccatgtt gccttgatca ggtcataact atgcatgaac attttttacc 4320

 aggaatggcc gatgtgatg tgattttaa tcacaagtaa tgattcatca gaaaatgtca 4380
 atcctgttgg aaagattgca ctttacttg cagaagtgc cccacctgt gtctgacct 4440
 ctccatttac agctctctc accttttcc cccacctct ttaatcttg ctctactgtc 4500
 ataaagtagg actaagattg gtctaagcat tgcatgttct tttgtgatgg taaatccaaa 4560
 ggaaggccta taagtattaa catttgaat aactgctaat tcaggaaaat ggaagaaaaa 4620
 aaattatttg aaacacagaa cccatttcat ggctgctg atatctgtga aatcagggt 4680
 ggagctttac ttaggattca catggcctcc taggaacct gggacaaatg gaaacaggt 4740

 tatcggggga ttcatgaagt cagtgagagt aattgcttct tttttgctgg tgaactgaat 4800
 gtatttcttc accaaatctt gatgttaaca attaaaaaga agaaatgaca tgcaagtagg 4860
 tcttagcaga aaaaatgcagg ctgggcatga gtcattgtt tacctccca catgctccta 4920
 caatccacag agatgctgt ctgcaggttc ttgaagtat tgttagtatt tggatctca 4980
 aattttctg cactgttcc atgcccattt ctctgtgcac agtggatcc tcatttctt 5040
 tttaacctac actgaggagt ctttctcagg ttgactgat tttccaatc tgcagtaatg 5100
 agtaagctca cggcatgggg aagaagacag tcagtccaat gaagtctct aaattattt 5160

 aacattgctt ttgaaggcct tgactcatcc ttagctattt caatgaagaa attcctacca 5220
 tgaatttaaa acctaaaaa ttctgtttca aattctttgg gcattggggg actcagatat 5280
 cccattgttg aagaatttta agaataaata gaagtttctg ttgagaacca tgagcaacat 5340
 gtttcttaca atgagaattg ctatgcattt taaaattgca aatatatag aaaattgaag 5400
 acaagaggaa attgtatttc taacttgatt ctgatcactc acagagggtg catattatta 5460
 tagttgggac atcttttga ccttcataa aaaaggccag ctgactgctc agcatcacct 5520

gccaaggcca ctgatttgt gtttacagg gttatctctgt gatgcttgtc acatcactct 5580

tgaccacctc tgtaataaaa ttccgacagt gcagtggcga tccgagtgtg aacttatggt 5640

cccagcatat gaaagetat cttaggtttt aaggtagtag aaattgccca ggagtgtgac 5700

agcaactttg tttccgggt ctaaaatcgt atcccactga ggtgatgca gtggagcata 5760

atacatgcaa atacatgcaa aactcctttt gtttcaccta agattcactt tctatcttac 5820

tttccttcc tgctagtgt gacttttggc cccaagagtg cctggacagc attctagttt 5880

ctacaaaatg gtctctgtg taggtgaatg tgcctcaaac ctgctatcac tttcttgttt 5940

cagtgtgact gtcttgttag aggtgaagt taccagggt aacttgctca ctaactatc 6000

ctttttatgg cciggggtta aaggcgcat ggctcacact ggtgaaaata aggaaggcct 6060

ggctttatct tgtattaata atactggctg cattccacca gccagagatt tctatctgcg 6120

aagacctatg aaacactgaa gagaaatgta ggcagaagga aatggccaca taccacaagt 6180

tctattatat attcttttgt aaatacatat tgtatattac ttggatgttt tcttatatca 6240

tttactgtct ttttgagtta atgtcagttt ttactctctc aacttactat gtaacattgt 6300

aaataacata atgtccttta ttatttatat ttaagcatct aacatataga gttgttttca 6360

tataagttta agataaatgt caaaaatata tgttcttttg ttttctttg ctttaaatt 6420

atgtatcttt tccttttctt ttttttaaga ataatttatt gttcaggaga aagaatgtat 6480

atgtaactga aactatctga agaatgcaca ttgaaggccg tgaggtagctg ataaactaaa 6540

gaatttatta ttcaaaatc taagcaataa gtaattgtga tttattttaa gttttgtcca 6600

ttttccatga aagacatact gcaataaaaa tgcactctg tggaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6660

a 6661

<210> 10

<211> 700

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Glu Ile Tyr Ser Pro Asp Met Ser Glu Val Ala Ala Glu Arg Ser

1 5 10 15

Ser Ser Pro Ser Thr Gln Leu Ser Ala Asp Pro Ser Leu Asp Gly Leu

 20 25 30

Pro Ala Ala Glu Asp Met Pro Glu Pro Gln Thr Glu Asp Gly Arg Thr

 35 40 45

Pro Gly Leu Val Gly Leu Ala Val Pro Cys Cys Ala Cys Leu Glu Ala
 50 55 60
 Glu Arg Leu Arg Gly Cys Leu Asn Ser Glu Lys Ile Cys Ile Val Pro

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

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

 195 200 205
 Pro Gln Thr Thr Glu Thr Asn Leu Gln Thr Ala Pro Lys Leu Ser Thr
 210 215 220
 Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys
 225 230 235 240
 Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp
 245 250 255
 Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr

 260 265 270
 Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys His Leu
 275 280 285
 Gly Ile Glu Phe Met Glu Ala Glu Glu Leu Tyr Gln Lys Arg Val Leu

290 295 300
 Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile Met Cys
 305 310 315 320
 Val Val Ala Tyr Cys Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp

 325 330 335
 Arg Leu Arg Gln Ser Leu Arg Ser Glu Arg Asn Asn Met Met Asn Ile
 340 345 350
 Ala Asn Gly Pro His His Pro Asn Pro Pro Pro Glu Asn Val Gln Leu
 355 360 365
 Val Asn Gln Tyr Val Ser Lys Asn Val Ile Ser Ser Glu His Ile Val
 370 375 380
 Glu Arg Glu Ala Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr Thr Ser Thr

 385 390 395 400
 Ala His His Ser Thr Thr Val Thr Gln Thr Pro Ser His Ser Trp Ser
 405 410 415
 Asn Gly His Thr Glu Ser Ile Leu Ser Glu Ser His Ser Val Ile Val
 420 425 430
 Met Ser Ser Val Glu Asn Ser Arg His Ser Ser Pro Thr Gly Gly Pro
 435 440 445
 Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu Cys Asn Ser Phe

 450 455 460
 Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro His
 465 470 475 480
 Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser Pro
 485 490 495
 Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu Met
 500 505 510
 Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala Val

 515 520 525
 Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro
 530 535 540

Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser
 545 550 555 560

Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro
 565 570 575

Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu
 580 585 590

Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys
 595 600 605

Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser
 610 615 620

Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu
 625 630 635 640

Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala
 645 650 655

Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr
 660 665 670

Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu
 675 680 685

Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 690 695 700

<210> 11

<211> 55

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

1 5 10 15

Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser
 20 25 30

Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln
 35 40 45

Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe

50 55
 <210> 12
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Asn Thr Glu Asn Asp Cys Pro Leu Ser His Glu Ala Tyr Cys Leu His

1 5 10 15
 Asp Gly Val Cys Arg Phe Leu Val Gln Glu Asp Lys Pro Ala Cys Val
 20 25 30
 Cys Val Val Gly Tyr Val Gly Glu Arg Cys Gln Phe Arg Asp Leu Arg
 35 40 45
 Trp Trp Asp Ala Arg
 50