



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년11월12일  
(11) 등록번호 10-2324924  
(24) 등록일자 2021년11월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/6886 (2018.05)  
G01N 33/574 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2020-0018916  
(22) 출원일자 2020년02월17일  
심사청구일자 2020년02월17일  
(65) 공개번호 10-2020-0101854  
(43) 공개일자 2020년08월28일  
(30) 우선권주장  
1020190019777 2019년02월20일 대한민국(KR)  
(56) 선행기술조사문헌  
J Appl Toxicol, 39(1):38-71 (2018.08.02.)\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
김재훈  
서울특별시 강남구 언주로 110, 9동 1107호(개포동, 경남아파트)  
김성훈  
서울특별시 서초구 반포대로 275, 122동 203호  
래미안퍼스티지아파트  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
파도특허법인유한회사, 이재영

전체 청구항 수 : 총 6 항

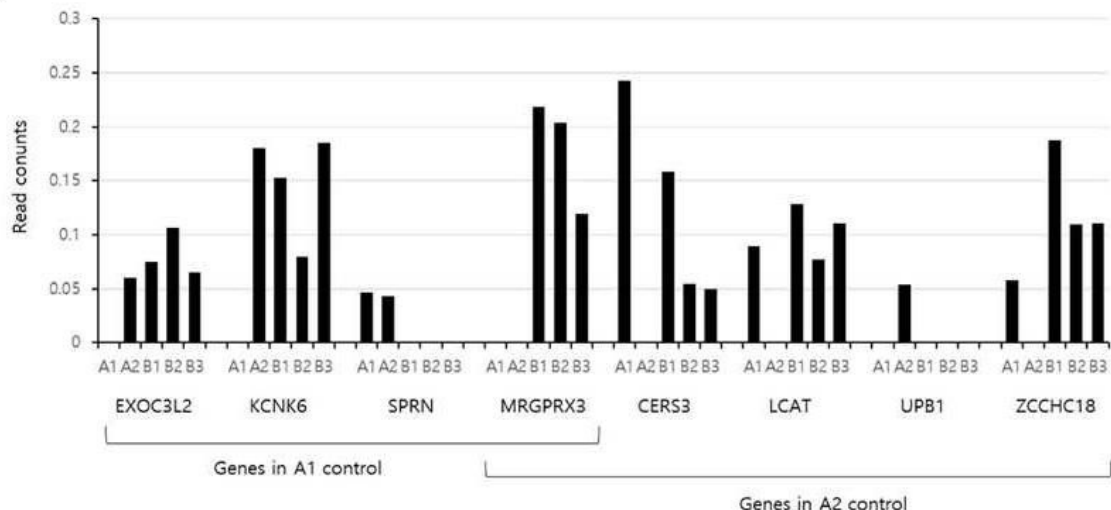
심사관 : 이준혁

(54) 발명의 명칭 항암제 선별방법

(57) 요약

본 발명은 (a) 생물학적 시료에서 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계에의 생물학적 시료에 후보물질을 첨가하고, 상기 유전자들의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준이 변화가 있는 경우에 이를 항암제로 선별하는 단계를 포함하는, 항암제 선별방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 유전자들의 mRNA 또는 단백질의 발현 수준을 조절할 수 있는 성분을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/106 (2013.01)  
C12Q 2600/118 (2013.01)  
C12Q 2600/136 (2013.01)  
C12Q 2600/158 (2013.01)  
G01N 2500/00 (2013.01)  
G01N 2800/52 (2021.08)  
G01N 2800/60 (2013.01)

(72) 발명자

**양우경**

서울특별시 은평구 은평로21길 36-3, 102동 203호  
(대도예코빌)

**신하연**

서울특별시 은평구 은평로21길 36-3, 102동 203호  
(대도예코빌)

**이은주**

경기도 부천시 오정구 오정로 253, 208동 1103호  
오정생활휴먼시아2단지아파트

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1D1A1A02017553
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학개인지초연구지원사업
연구과제명	고열량식이 난소암 성장과 전이에 미치는 영향과 그 영향을 억제시킬 수 있는 유전자 발현에 대한 전임상 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.06.01 ~ 2020.05.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1A2B2008505
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	유전체 통합 분석에 의한 고위험 난소암의 재발 및 예후 예측 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.03.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1D1A1A09000576
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학개인지초연구지원사업
연구과제명	Cdk1 pathway의 억제를 통한 정상 p53을 가진 고위험 난소암의 항암제 내성 및 재발 억제를 위한 전임상 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.06.01 ~ 2020.05.30

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) 생물학적 시료에서 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

(b) 상기 (a) 단계에의 생물학적 시료에 후보물질을 첨가하고, 상기 유전자들의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준이 변화가 있는 경우에 이를 난소암 항암제로 선별하는 단계를 포함하고,

상기 난소암 항암제는 수크로오스를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 것인, 항암제 선별방법.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 생물학적 시료는 개체로부터 분리된 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 뇨, 객담, 림프액, 조직 및 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 시료인 것을 특징으로 하는, 방법.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 (b) 단계에서 mRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 방법인 것을 특징으로 하는, 방법.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 (b) 단계에서 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 웨스턴 블랏, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS) 및 단백질 칩(protein chip), 질량분석법 (Mass spectrometer)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 방법인 것을 특징으로 하는, 방법.

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA의 수준 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 제제를 포함하는, 난소암 항암제 선별용 키트로,

상기 난소암 항암제는 수크로오스를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 것인, 난소암 항암제 선별용 키트.

#### 청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 키트는 RT-PCR 키트, 경쟁적 RT-PCR 키트, 실시간 RT-PCR 키트, 정량적 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트 또는 단백질 칩 키트인 것을 특징으로 하는, 키트.

#### 청구항 9

삭제

#### 청구항 10

삭제

#### 청구항 11

삭제

#### 청구항 12

삭제

#### 청구항 13

삭제

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 항암제 선별방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 암은 국내 사망 원인의 1위를 차지하는 중대 질환으로 암을 정복하기 위한 수많은 연구가 있어 왔지만 아직까지 정복되지 않고 있는 난치병이다. 진단된 암에 대한 치료법은 일반적으로 수술, 화학요법 및 방사선 치료 등이 있으나, 각각의 방법에는 한계가 많다. 또한 암은 일단 치료된 후에도 재발 가능성이 상당히 높으며, 항암제에 대한 감수성도 개체에 따라 차이가 많으므로 암의 예후 및 항암제 감수성을 예측하는 것이 암환자의 치료 방향을 결정하는데 필수적이다.

[0003] 특히 난소암은 원격전이(遠隔轉移)가 진행된 이후에는 생존율이 매우 낮으며, 난소암의 경우 조기 진단이 어렵고 복막 전이가 심하기 때문에 치료율이 매우 낮다. 또한, 난소암은 특히 유전적 다양성이 다른 암에 비해 매우 심해, 적합한 약물을 찾기도 어렵다. 약물(藥)에 대한 내성의 발현으로 재발이 잦기 때문이다. 그 단적인 예가 2011년 네이처에 발표된 논문에 따르면(Nature. 2011 Jun 29;474(7353):609-15), 난소암에서의 복제수변이(copy number variation)가 악성뇌교종(glioblastoma)에 비해 극히 심한 것이 기재되어 있다. 난소암은 종양간 이질성(intertumoral heterogeneity) 또는 종양내 이질성(intratumoral heterogeneity)이 매우 심각한 암이다. 난소암 환자 중 33%에서 BRCA1/2 변이가 발견되었고, 난소암 환자의 51%는 상동재조합과정의 변이(homologous recombination pathway alteration)가 있는 것으로 판명이 되어, 기존에 개발된 PARP 억제제인 올라파립(olaparib)이 난소암의 표적치료제로 주목을 받았다. 2015년 Lancet oncology에 발표된 난소암 환자들을 대상으로 올라파립에 대한 무작위 임상 2단계 결과를 살펴보면, BRCA 돌연변이 환자에서 PFS의 개선이 두드러졌으나, OS에서는 생존율 증가면에서 통계적으로 유의한 결과를 얻지 못하였다(Lancet Oncol. 2015 Jan;16(1):87-97). 하지만, 2018년 NEJM journal에 발표된 새롭게 진단된 진행성 난소암 환자들 중 BRCA1 또는 BRCA2 유전자의 변이를 가진 환자에서 platinum based chemotherapy에 complete 또는 partial clinical response를 나타내는 환자를 대상으로, olaparib과 placebo를 하루에 300mg씩 2회 처방한 결과 progression-free survival이 70%가 개선되었고, 기간으로는 생존율이 3년 높게 나타났다. 이는 기존 platinum based chemotherapy에 필적할 만한 획기적인 결과로 평가받고 있다. 하지만, BRCA1/2 유전자 변이된 환자에 한정된 결과로 여전히 난소암의 치료의 어려움이 큰 것에는 차이가 없다. 이 외에도 다양한 임상 연구들이 진행이 되었지만, 대동소이하다.

[0004] 암의 치료법은 외과적 수술, 방사선 치료법, 항암 화학 요법으로 크게 나눌 수 있으며, 암은 수술 실시가 가능하여 외과적 수술이 흔히 사용되고 있다. 하지만 외과적 수술을 받더라도, 암이 진행성인 경우 재발률이 매우

높다. 따라서, 재발을 예방하고, 암 환자들의 예후를 개선하기 위해 외과적 수술 후 화학요법이나, 화학-방사선 요법을 포함한 다학제적 치료가 도입되었다. 그러나 이들 치료 방법이 환자들에서 일반적인 임상 결과를 개선하기는 하나 종양의 임상병리학적 이질성과, 같은 병기에 있는 환자들의 다른 결과는 보조 화학요법의 임무를 예측하는데 한계가 있어 개별 환자들에 대한 최적 접근이 부족한 상태이다.

[0005] 최근의 진전에도 불구하고 발병적으로 별개의 종양 유형에 대해 특이적 치료 섭생을 표적화하고, 궁극적으로 성과를 최대화시키기 위하여 종양 치료를 개인화하기 위한 암 치료의 도전과제들이 남아있다. 따라서, 각종 치료 선택사항들에 대한 환자 반응에 관한 예측적 정보를 동시에 제공하는 시험을 필요로 하고 있다.

[0006] 2006년 암환자의 식욕부진과 영양상태 심포지움에서 발표된 내용에 따르면, 암으로 사망하는 환자의 20% 이상에 게 나타나는 직접적인 사망원인이 영양실조인 것으로 밝혀졌다. 암환자의 평균 63%가 영양실조를 겪고 있으며, 췌장암과 위암 환자의 경우에는 83% 이상이 영양실조로 고통을 겪고 있는 것으로 조사되었다. 암투병과정에서 영양결핍이 두드러지는 시기는 대개 말기이다. 그 이전 단계에서는 체중도 비교적 유지되며, 영양결핍이 나타나는 경우는 매우 드물다. 항암치료 중인 경우는 예외적인 상황인데, 수술 및 항암치료, 방사선 치료를 받는 기간에는 체중이 급격히 감소하는 경우가 대부분이며, 이 시기에는 칼로리를 보충해서 체중과 체력을 유지하는 것이 필수적이다. 가장 큰 문제점은 항암치료가 종결된 이후이다. 수술 후 또는 항암치료가 끝나고 한 달이 지난 시기에는 입맛 및 소화기능, 전신상태도 개선되기 때문에 체중이 늘기 시작한다. 환자의 경우 암 투병과정에서 영양상태가 중요하다는 설명을 많이 듣다보니 가리지 않고 섭취하여 오히려 체중이 과잉이 되는 경우도 상당수 존재한다. 만일, 암투병과정 중 수술 및 항암치료가 종결된 이후에도 난소암 환자들 고열량식을 유지하고, 그에 따른 비만 및 대사장애로 인해 난소암 성장 및 전이에 영향을 받을 경우 치료 예후가 좋지 않을 가능성이 매우 높다.

[0007] 게다가, 2016년 Nutrition and Cancer에 발표된 논문에 따르면, 난소암 환자의 경우 영양결핍이 나타난 경우 5년 전체생존율이 45.3%로 영양결핍이 나타나지 않은 경우 64%에 비해 예후가 좋지 않았고, 위험률은 5.8배로 높았다. 또한 progression free survival이 영양결핍이 나타나는 경우가 15개월로, 영양결핍이 나타나지 않는 환자의 28개월에 비해 현저히 낮았다.

[0008] 즉, 난소암 환자의 영양상태 및 식이조절을 통한 체중 조절이 난소암 환자의 예후와 밀접하게 연관되었을 가능성이 매우 높다. 다양한 meta-analysis 연구의 보고에 따르면 body size의 obesity의 증가는 난소암의 위험도 및 생존율과 연관성이 높은 것으로 밝혀졌다. 특히, 2015년 Cancer research에 보고된 바에 의하면, obesity가 lipogenesis를 통해 난소암의 전이 성공률을 높여주는 것으로 밝혀졌다. 하지만, 아직까지 난소암 치료 종료 후 발생된 비만 또는 식이조절에 따른 잔류종양에 대한 연관성 및 난소암 성장, 유전자 발현 연구, 그리고 각 유전자 간의 상호작용에 대한 연구는 진행된 바가 없다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 유전자 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상을 포함하는, 항암제 감수성 예측용 바이오 마커를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 유전자 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 항암제 감수성 예측용 바이오 마커 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA의 수준 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 제제를 포함하는, 항암제 감수성 예측용 키트를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 유전자의 발현 억제제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 유전자의 활성화제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

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

## 과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명자는 이러한 필요성을 해결하고자, 면역결핍 누드마우스에 난소암 환자유래종양조직 (Ovarian cancer patient's derived tumor xenograft, PDX)을 이식하여, 마우스에 인위적 식이조절을 유도한 뒤 난소암의 성장에의 영향과 RNA 염기서열 분석법을 이용하여 난소암 환자유래종양조직에서의 유전적 변화 분석을 통해 예후를 예측하여 난소암 환자의 예후를 향상시킬 수 있는 유전자 발현 모델을 제시하여, 본 발명을 완성하기에 이르렀다.
- [0016] 나아가, 정상조직, 양성 종양 조직, 악성 종양 조직 또는 전이 암 조직 간의 유전자 발현 양상을 통계학적으로 분석하여 항암조성물 또는 항암제 처리시 발현량에 변화가 있는 유전자들을 선별하고, 이에 대한 생존율을 관찰하여 항암제에 대한 감수성을 예측할 수 있는 유전자군을 선별하고, 이에 따른 암 치료 효과를 확인하였다.
- [0018] 이하, 본원에 기재된 다양한 구현예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구현예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구현예" 또는 "구현예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구현예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구현예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구현예에서" 또는 "구현예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구현예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구현예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.
- [0019] 본 발명 내 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당 업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.
- [0020] 본 발명에서 "항암제 감수성 예측용 마커"란 항암 조성물 또는 항암제를 대상체에게 처리하여 암 치료 후에 병의 경과, 생존 여부 또는 완치 여부를 확인할 수 있는 물질을 일컫는다. 이는 폴리펩타이드 또는 핵산(예: mRNA 등), 지질, 당지질, 당단백질 또는 당(단당류, 이당류, 올리고당류 등) 등과 같은 유기 생체 분자들을 포함한다. 본 발명의 목적상, 본 발명의 항암제 감수성 예측용 바이오 마커는 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자이다.
- [0021] 본 발명에서 "감수성"은 개개의 환자의 암에 대한 특정약물이 효과를 나타내는지 여부를 의미한다.
- [0022] 예컨대, 상기 특정약물은 주로 항암제이며, 이들 항암제에는 암의 종류에 따라 효과를 나타내는 경우와 효과를 나타내지 않는 경우가 있다. 또한, 유효한 것으로 인정되고 있는 종류의 암인 경우에도, 개개의 환자에 따라 효과를 나타내는 경우와 효과를 나타내지 않는 경우가 있는 것이 알려져 있다. 이와 같은 개개의 환자의 암에 대해 항암제가 효과를 나타내는지 여부를 항암제 감수성이라고 한다. 따라서, 본 발명에 따라 치료 개시 전에 효과를 기대할 수 있는 환자(반응자)와, 효과를 기대할 수 없는 환자(무반응자)를 예측할 수 있으면, 유효성과 안전성이 높은 화학 요법이 실현될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 항암제는 알킬화제, 항대사물, 폴산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 관련 억제제, 빈카 알칼로이드, 에피도도필로톡신, 항생제, L-아스파라기나제, 토포이소머라제 억제제, 인터페론, 백금 배위 착물, 탁산 안트라센디온 치환된 우레아, 메틸 히드라진 유도체, 부신피질 저해제, 아드레노코르티코스테로이드, 프로게스틴, 에스트로겐, 항에스트로겐, 안드로겐, 항안드로겐, 겐시타빈 및 고나도트로핀-방출 호르몬 유사체, 옥사리플라틴, 플루오로우라실, 레보폴리네이트 및 그 염, 탁산, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질-결합 입자 (예를 들어, 아브락산(Abraxane<sup>®</sup>), 겐시타빈, 백금 유사체, 카르보플라틴 또는 이들의 조합, 또는 수크로오스를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 조성물로 이루어진 군으로부터 선택된 것이다.
- [0024] 본 발명에서 "수크로오스(sucrose)"는 α-포도당(α-glucose)과 β-과당(β-fructose)이 1,2 결합한 이당류이다. 수크로오스는 분자식은 C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>로, 사탕수수, 사탕 무, 당단풍 등의 즙액 중 당의 주성분이다.
- [0025] 본 발명에서 "예측"은 본원에서 대상 환자가 약물 또는 약물 세트에 대해 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 지칭하는데 사용된다. 일 실시형태에서, 예측은 이러한 반응의 정도에 관한 것이다. 예컨대, 예측은 환자가 처치 후, 예를 들어 특정한 치료제의 처치 및/또는 초발성 종양의 수술적 제거 및/또는 특정 기간 동안의 화학요법 후에 암 재발 없이 생존할지 여부 및/또는 그러한 확률에 관한 것이다. 본 발명의 예측은 암 환자에 대



한 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료를 결정하는데 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측은 환자가 치료 처치, 예컨대 주어진 치료적 처치, 예를 들어 주어진 치료제 또는 조합물의 투여, 수술적 개입, 화학요법 등에 유리하게 반응할 것인지 또는 치료적 처치 후에 환자의 장기 생존이 가능한지의 여부를 예측하는데 있어서 유용한 도구이다.

[0026] 본 발명에서 암은 신경교종, 갑상선암, 폐암, 간암, 췌장암, 두경부암, 위암, 대장암, 요로상피암, 신장암, 전립선암, 고환암, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 흑색종양, 난관암, 자궁암, 혈액암, 골암, 피부암, 뇌암, 질암, 내분비암, 부갑상선암, 요관암, 요도암, 기관지암, 방광암 및 골수암으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있고, 예를 들면 난소암일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0027] 본 발명에서 "mRNA 발현 수준 측정"이란 항암제 감수성 예측을 위하여 생물학적 시료에서 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, mRNA의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 예를 들어, 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩, 차세대 염기서열 분석법(Next generation sequencing, NGS) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 바람직하게는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 프라이머 쌍 또는 프로브이다.

[0028] 본 발명에서 "안티센스"는 안티센스 올리고머가 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 RNA 내의 표적 서열과 혼성화되어, 표적서열 내에서, 전형적으로 mRNA와 RNA:올리고머 헤테로이중체의 형성을 허용하는, 뉴클레오타이드염기의 서열 및 서브 유닛간 백본을 갖는 올리고머를 지칭한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 근사 상보성을 가질 수 있다. 이 안티센스 올리고머는 mRNA의 번역을 차단 또는 저해하고 mRNA의 스플라이스 변이체를 생산하는 mRNA의 프로세싱 과정을 변화시킬 수 있다.

[0029] 본 발명에서 "프라이머"는 짧은 자유 3말단 수산화기를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 중합효소 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성이 개시할 수 있다.

[0030] 본 발명에서 "프로브"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 것은 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 표지(Labeling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 여부를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고 뉴클레오타이드 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 "단백질 발현 수준 측정"이란 항암제 감수성을 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터 발현된 단백질의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, 단백질의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), 단백질 칩(protein chip), 질량분석법(Mass spectrometer) 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 단백질 발현 수준을 측정하는 제제는 바람직하게는 항체이다.

[0032] 본 발명에서, "항체"란 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다.

[0033] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (a) 생물학적 시료에서 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계에의 생물학적 시료에 후보물질을 첨가하고, 상기 유전자들의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준이 변화가 있는 경우에 이를 항암제로 선별하는 단계를 포함하는, 항암제 선별방법을 제공한다.

- [0034] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 (a) 단계에서 생물학적 시료는 개체로부터 분리된 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 뇨, 객담, 림프액, 조직 및 세포로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상의 시료인 것을 특징으로 한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 (b) 단계에서 mRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 DNA 칩으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상의 방법인 것을 특징으로 한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 (b) 단계에서 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 웨스턴 블랏, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Flow Cytometry, FACS) 및 단백질 칩(protein chip), 질량분석법 (Mass spectrometer)으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상의 방법인 것을 특징으로 한다.
- [0035] 본 발명에서, 상기 항암제는 신경교종, 갑상선암, 폐암, 간암, 췌장암, 두경부암, 위암, 대장암, 요로상피암, 신장암, 전립선암, 고환암, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 흑색종양, 난관암, 자궁암, 혈액암, 골암, 피부암, 뇌암, 질암, 내분비암, 부갑상선암, 요관암, 요도암, 기관지암, 방광암, 및 골수암으로부터 선택된 1개 이상의 암에 대한 항암 작용이 있는 것이다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 항암제는 수크로오스를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 것이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 항암제는 수크로오스 60 내지 80kcal%를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 것이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 항암제는 수크로오스 70kcal%(하기 표 1의 수크로오스 70%)를 포함하는 탄수화물, 단백질, 및 지방으로 이루어진 것이다.
- [0037] 추가로, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 유전자의 mRNA의 수준 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 제제를 포함하는, 항암제 선별용 키트를 제공한다.
- [0038] 본 발명에서 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 프라이머 쌍 또는 프로브일 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 단백질의 수준을 측정하는 제제는 항체일 수 있다.
- [0040] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 키트는 RT-PCR 키트, 경쟁적 RT-PCR 키트, 실시간 RT-PCR 키트, 정량적 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트 또는 단백질 칩 키트일 수 있다.
- [0041] 추가로, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 SPRN 또는 UPB1 유전자의 억제제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0042] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 SPRN 또는 UPB1 유전자의 억제제는 각각의 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 뉴클레오타이드, siRNA(short interfering RNA) 및 shRNA(short hairpin RNA)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상이다.
- [0043] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 UPB1 유전자의 억제제는 서열번호 1 또는 2로 표시되는 염기 서열로 이루어진 것일 수 있고, 서열번호 5 또는 6으로 표시되는 염기 서열을 참조하여 통상의 기술자에 의해 다양하게 제조될 수 있으므로, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명에서, 상기 암은 신경교종, 갑상선암, 폐암, 간암, 췌장암, 두경부암, 위암, 대장암, 요로상피암, 신장암, 전립선암, 고환암, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 흑색종양, 난관암, 자궁암, 혈액암, 골암, 피부암, 뇌암, 질암, 내분비암, 부갑상선암, 요관암, 요도암, 기관지암, 방광암, 및 골수암으로부터 선택된 1개 이상일 수 있으며, 예를 들면 난소암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 추가로, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 MRGPRX3 유전자의 활성화제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0046] 본 발명에서 상기 MRGPRX3 유전자의 활성화제는 MRGPRX3 유전자를 활성화시킬 수 있는 것이라면 모두 포함될 수 있고, 예를 들면, MRGPRX3 유전자를 이루는 염기서열이 코딩된 유전자 발현 벡터 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 본 발명에서 상기 MRGPRX3 유전자는 서열번호 7 또는 8로 표시되는 염기 서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에



제한되는 것은 아니다.

- [0048] 본 발명에서 상기 "발현 벡터"는 일반적으로 재조합 DNA 기법에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태로 존재한다. 본 명세서에서, "플라스미드"와 "벡터"는, 플라스미드가 벡터 중 가장 통상적으로 사용되는 형태이기 때문에, 상호교환하여 사용될 수 있다.
- [0049] 본 발명에서 상기 발현 벡터의 구체적인 예시로는 상업적으로 널리 사용되는 pCDNA 벡터, F, R1, RP1, Col, pBR322, ToL, Ti 벡터; 코스미드; 람다, 람다이드(lambdoid), M13, Mu, p1 P22, Q $\mu$ , T-even, T2, T3, T7 등의 파아지; 식물 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 당업자에게 발현 벡터로 알려진 모든 발현 벡터는 본 발명에 사용 가능하고, 발현 벡터를 선택할 때에는 목적으로 하는 숙주 세포의 성질에 따른다. 숙주 세포로의 벡터 도입 시 인산칼슘 트랜스펙션, 바이러스 감염, DEAE-텍스트란 조절 트랜스펙션, 리포펙타민 트랜스펙션 또는 전기천공법에 의해 수행될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며 당업자는 사용하는 발현 벡터 및 숙주 세포에 알맞은 도입 방법을 선택하여 이용할 수 있다.
- [0050] 본 발명에서, 상기 암은 신경교종, 갑상선암, 폐암, 간암, 췌장암, 두경부암, 위암, 대장암, 요로상피암, 신장암, 전립선암, 고환암, 유방암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 흑색종양, 난관암, 자궁암, 혈액암, 골암, 피부암, 뇌암, 질암, 내분비암, 부갑상선암, 요관암, 요도암, 기관지암, 방광암, 및 골수암으로부터 선택된 1개 이상일 수 있으며, 예를 들면 난소암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 추가로, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 SPRN 또는 UPB1 유전자의 억제제 중 어느 하나; 및 MRGPRX3 유전자의 활성화제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0052] 본 발명에서 상기 유전자의 억제제, 활성화제 및 암 등은 앞서 기재한바와 동일하여 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 생략한다.
- [0053] [서열목록]
- [0054] 서열번호 1: UPB1 siRNA
- [0055] CAG AGU UUA GAC AUG ACU Att
- [0057] 서열번호 2: UPB1 siRNA
- [0058] CUG CAA UGU GUG GAG UCA Att
- [0060] 서열번호 3: forward primer
- [0061] GGA AGC ATG GAC TAT GCC CTT
- [0063] 서열번호 4: reverse primer
- [0064] TTC CAG GAT GGG AGA CAC CA
- [0066] 서열번호 5: SPRN 유전자의 mRNA 서열 (NCBI Reference Sequence: NM\_001012508)
- [0067] 1 ggccggaggcc tcgcgcaaaa ccaggcgcc gcggctccgc gctccggctg agggctccgcg
- [0068] 61 ccgccgccc cccgctcctt cccgctcggc cgcggcctca gggacggata ctccagcgcg
- [0069] 121 cggttccaac cgaggcccggt ggtttagccc cacgaagatg aactgggcac ccgcaacgtg
- [0070] 181 ctgggctctg ctactggcgg ccgccttctt ctgcgacagc ggcgacgcca agggcgggccg
- [0071] 241 cggaggtgcg cggggcagtg cccggggagg ggtccgcggg ggtgcgcgcg gggcctcgag
- [0072] 301 ggtgcgcggtg aggcgggcgc agcgctacgg tgccccgggc tctccctgc gcgtggctgc
- [0073] 361 cgccggggcg gcagccgggg cggcggcggg agcggccgcg ggcctggcgg cgggctcggg
- [0074] 421 ctggagaagg gcccggggac cgggggaacg cggcctggag gacgaggagg acgggggtgcc
- [0075] 481 cggaggcaac gggacaggcc ccggcatcta cagctaccgg gcgtggactt cgggcgctgg
- [0076] 541 acccacgcgc ggcccgcgtc tctgtctcgt gctgggcggc gccctcgag ccctggggct
- [0077] 601 gctgcggccc taggcctggc tgggctcggg gaccacatct ggccccggc ccgcgccatc

[0078] 661 ccccaggatc ctccggcctg ggctccccct tctcccttg ccacaggtct tggagcccca

[0079] 721 ctgggtgcag gagctgctgg ctgtccctgt ggaccgccca tccaccgtcc tgcccacgcc

[0080] 781 gcctcagcct gccacctccc acctagagga gaccatgggc cctgccccac ccactccagg

[0081] 841 atgttagggt cccctcagcc aaaaaggcag ctgcctgtgg ctctgtacc aaccgcccag

[0082] 901 ccacgtcca tcgcccga aaggaggtg ccaaggccag gaaccaagc caccgggt

[0083] 961 cccctcgcct gccaggggc cgtggtgact cagggcagg gaggcgacat caggctggtt

[0084] 1021 ctgccactga gccctgagg aatctgacct tccccaaaag aagcagtga atggacaaa

[0085] 1081 ggacttaaga atttggggg aagttaggga aaaacgttag gtgctaacca cctgccaga

[0086] 1141 agagtggatc tcacagccca ggaacattcc caagcaggaa aaccgtccgt ccgaggaacg

[0087] 1201 tccatcctgg ctctctcgg ctggtgggaa aacacacct gcctgaggg gctgtccagg

[0088] 1261 ctttctccc cacacctca ggccgagatc cgtgagagac ccactttgct ccaacaactt

[0089] 1321 gaaacaagtc actttacct ctttaggacc catTTTgggg gggaaaaacc aacacattcc

[0090] 1381 agagctttcc aagtccttg aacttcaggt tcacattcag ggatcacaca gttctgcctg

[0091] 1441 ttctcagggc acagcaactg ccaatcccgc tgaagggcc tccctgggca cagcacaggc

[0092] 1501 tgcacggtgc acgatttcc ctgaaggcag ccccttcttc ggaagcagct gtccaggcc

[0093] 1561 tcggaacagg gcctgggtat ccgctggtg ggctggcagc tgacggcctg ctcagtggag

[0094] 1621 ccaggagcta actcagacct caaagcaagc agggggccag tggcggggcc cagcgcccag

[0095] 1681 caggacacct atgcaaggc ctgagcccc caacatccaa ggacaggaga gacatggagt

[0096] 1741 ggcgtggac agtcacgaca aggacttgc tccagcactg gacacacctg tgttaagacc

[0097] 1801 agccctctgc ttcacagtc cccagcctg gggcatctc catgggtca gcactgagag

[0098] 1861 gtcttgggtc tgccacgttc tctagctctc cagtcacca ctcatccagg gtagggggg

[0099] 1921 ttctccctgc ccccgccgt ggcttggga tctaccctc tccatgtct ggggacagcc

[0100] 1981 tcgccctcag ccgactgca tccctctgg gcctgagcct cgggactcag tggacaccaa

[0101] 2041 agtcaagacc agcaccacc acgggccctg ccagcctctg ccttcccag ctggcctggg

[0102] 2101 ttctggcctg ggtgaggatc tggaagctgt tggcaggact caaccaagca ctgctctta

[0103] 2161 gctccagggc actaagccac aggaggcagc gcctgcagc ctccgtcca cactgccagc

[0104] 2221 aatgccccctg gccagttag ccagacgtc cctccacct ttcagacca agctcaacgc

[0105] 2281 ctccaagacc agcaggccaa ggccaagccc tgccccagat cctcataggc agagaagccc

[0106] 2341 ttctgacatt tccccagga ggcaggggt ggtctgagtc tctcacagc agagagacc

[0107] 2401 accggagccc cctcaacttt gcagatgcc acctggaaaa tgggtgagc tgcaccagac

[0108] 2461 cctcacacac cacagcactg caagctgat gaatgttcca gttatgatg acacttctg

[0109] 2521 atctgcaatg actgttgatt cagcacatta gcatctgaca cagccaacct gaatacttc

[0110] 2581 tgccccaggc ggtcagggtt atggcacgat gcaggaggca ctcaggggt aacttcaggc

[0111] 2641 tgatgagtgt gtgggtatg gggcagcaga ggcagccagc cagcaaagag gggccactga

[0112] 2701 gcaccagggc cctggtggag gctgctgtgg gacggtcagg ccaccaccgc aaagggcag

[0113] 2761 ccggagcttc tgcacaggat gtcctggcc ccaggtcctg cagcacctta gtccatacta

[0114] 2821 ccagcccccac ccaccttccct tccctcttccc tcttctagga cacaggctgt ggacccttc

[0115] 2881 aggtgcacta taatggggct ggagggggccc ccacatctct cagccccact aatgcagaat

[0116] 2941 cccactaccc gtgagctaga aggtgctcag aggccagggg tctctactgc ccatgccggg

[0117] 3001 cggccttcca gtcattgcac agcaaagcca tgtgcagggc gtccccctca accctgccct

[0118] 3061 gaacatgccc cagggcactg aggggcgaag ccagtgtctg ggctctgtg ctgggagtct

[0119] 3121 ctggtctgtg tctgtgtgtg cctgtaagtg tgaaataaac ctctctgatg gcaaaaaaaaa

[0120] 3181 aaaaaaaaa

[0122] 서열번호 6: UPB1 유전자의 mRNA 서열 (NCBI Reference Sequence: NM\_016327)

[0123] 1 gggcacctcc tcccactgcg ggcaaagggc aggcagtctg tgcgcggaca caagcactgg

[0124] 61 cggaccgtgg ccatggcggg cgctgagtgg aagtcgtgg aggaatgctt ggagaagcac

[0125] 121 ctgccctcc cgcacttga ggaagtgaag cgcgttctct atggcaagga actcaggaag

[0126] 181 cttgatctgc ccagggaagc ttctgaagct gcctccagag aagactttga actgcaggga

[0127] 241 tatgcctttg aagcagcggg ggagcagctg agacgacccc gcattgtgca cgtggggctg

[0128] 301 gttcagaaca gaatccccct ccccgcaaat gcccctgtgg cagaacaggt ctctgccctt

[0129] 361 catagacgca taaaggctat cgtagagggt gctgcaatgt gtggagtcaa catcatctgt

[0130] 421 ttccaggaag catggactat gccctttgcc ttctgtacga gagagaagct tccttgga

[0131] 481 gaatttctg agtcagcaga ggatggggccc accaccagat tctgtcagaa gctggcgaag

[0132] 541 aaccatgaca tgggtgggtgt gtctcccatc ctggaacgag acagcgagca tggggatgtt

[0133] 601 ttgtggaata cagccgtggt gatctccaat tccggagcag tcctgggaaa gaccaggaaa

[0134] 661 aaccacatcc ccagagtggg tgatttcaac gactcaactt actacatgga gggaaacctg

[0135] 721 ggccaccccg tgttcagac gcagttcgga aggatcgagg tgaacatttg ctacgggcgg

[0136] 781 caccaccccc tcaactggct tatgtacagc atcaacgggg ctgagatcat ctcaacccc

[0137] 841 tcggccacga taggagcact cagcgagtcc ctgtggccca tcgaggccag aaacgcagcc

[0138] 901 attgccaatc actgcttcac ctgcgccatc aatcgagtgg gcaccgagca ctccccgaac

[0139] 961 gagtttacct cgggagatgg aaagaaagct caccaggact ttggctactt ttatggctcg

[0140] 1021 agctatgtgg cagccccga cagcagccgg actcctgggc tgtcccgtag ccgggatgga

[0141] 1081 ctgctagtgt ctaagctcga cctaaccctc tgccagcagg tgaatgatgt ctggaacttc

[0142] 1141 aagatgacgg gcaggtatga gatgtacgca cgggagctcg ccgaagctgt caagtccaac

[0143] 1201 tacagcccca ccatcgtgaa agagttagccg gcttcagtgc ctgccttggg gtgaggaaga

[0144] 1261 cacctctgcc ccagtggatt agcaagtgtg gcaggcttaa catgtccagg ttctcccaa

[0145] 1321 taacattgtc caggttgggt ttaaaattcc caggcagggg gagagtggca tggggagtga

[0146] 1381 cttcttaatg ggtaaggggc tgcttacttc tggggtattg gaaatgtttg gggactaggt

[0147] 1441 agaggtgaat gtactaatg ccactgaatt tgtatacttc agaatgtttg ttatgtaaat

[0148] 1501 tttaacctca ctaaaaaaaaa aaatgcccg gtactgcttg tgcaggtgga tttaggtta

[0149] 1561 ggcagatgat gctgtccatc ccgtacacca gtgggaagag ggtgagggt gatccagaga

[0150] 1621 ccctgagcct acagcaaggc tgtggtgggt cggatggtct ttggatgtgt cagcttagct

[0151] 1681 aggccacagt caccagtaat tcaatcagac actaatctag gtattttctgt gaaggatattt

[0152] 1741 tgtagatgtg acagaagtcc attcccaatt gactaagtaa gtgagattat ctgagataat

[0153] 1801 ctgggtcagc ctgacctgat tagtcagaag gcctaaagaa cagagctaag ggtttccctg

[0154] 1861 aggaagaaat tctgcctgag gacagcagcc cagtgccttg cgagagttcc tgacagtctg

[0155] 1921 cccttctgat agcctgcctc acagagttaa gacatgacta gccagctcct acaatcactg

[0156] 1981 aagtcaattc cttgcaataa atctcaatat atcccctact ggttctgctt ctctagttag

[0157] 2041 atctgactga tacagatttt ggtgccaaaa gtggttctag aaaaatagaa tcttaaagat

[0158] 2101 gagttttctg cattggttct ggattttttt agaattcttc cctagtttga ttgaacttaa

[0159] 2161 aggcatcaat gactctattt ccatagagtc agggtaaaga gggtagttgg tagtccatgg

[0160] 2221 catggtgcag caatagttaa ttatgtgcga gactagccat cagccatcag tttgtgcca

[0161] 2281 gagttccagc ctgcccttct tgatggcttg tctgtggat atcagacttg cctgaccaga

[0162] 2341 ttccatcatc atagaaggta atttggtgca ctaaatcctt ttatatctct atccatcacc

[0163] 2401 tactaattct gctagttctg ctaatgtggt tgagctccat ttacacatc agattactca

[0164] 2461 cttctctaca ccttggtttt tacatctgta aaatgggact gggccaggtg tgggtgggtg

[0165] 2521 gcttatgcct gtgatccag cactttggga agccaaggca ggtggatcac ttgaggtcag

[0166] 2581 gagttcaaga ccagcctggc caacacggcg aaacccgctc tctactaaaa atacaaaaat

[0167] 2641 tagctgggca tgggtggcgca tgcctataat cccagctact cagcaggctg aggtatgaga

[0168] 2701 attgcttgaa tctgggaggc aaaggctgca gtgagctgag atcacgccac tgtgctccag

[0169] 2761 cctggacaac agagtgagag cctatctcca aaaaaaaaaa ggggtgggga ccatattcct

[0170] 2821 gctttatgtc aagacactgg taagagacag actagatggg ccaggagacc ccttggcagt

[0171] 2881 tatcagtga ggcctattt agccctgtcc ctgaacaaca cggcaagagc ccaacctgcc

[0172] 2941 aagtctcaaa tagcagttaa ccagagtatc gggttggagg tggggttag attctgtaat

[0173] 3001 tccccgtta ttgttcccaa tcagagaagg cagccagaga aggcagcttc atcccttacc

[0174] 3061 tggcccagca gctgaactat atggaaacct ccatgtcagg gctagggtac tctggacag

[0175] 3121 ccaccaagga tgagaaacct tgatggagct gcctggccac agctctgcgg taacttctt

[0176] 3181 gaactctctg tgctgcaggt ttctacttta cctaattggc cttcttgac ctttaaaaaa

[0177] 3241 aaaaaaaaaa aattccagtc ctacagacac agtgagcttt ttgcctgtt cctttagctt

[0178] 3301 tcaaaattta gtgtcagcca aggcgggcag atcacaaggt caagagatgg aaaccatcct

[0179] 3361 ggccaacatg gtgaaacccc atctctacta aaaatacaaa aattagctgg gtatggtggc

[0180] 3421 gcacgcctgt agtcccaggt actcagcagg ctgaggagg agaatactt gaaccggga

[0181] 3481 ggcgagggtt gcagtgagcc gagatcacac cactgcactc cagcttgccg acagagttag

[0182] 3541 actccgtctc aaaaaacaaa acaaaaacaaa acaccttagt gtttttggtt tctagagggt

[0183] 3601 gtaatcaacc taatacagaa gccagcttag gtgacaaatt ggtacatttg tgaaacaggc

[0184] 3661 atgaataaat ggaccacaac tctttgatta tctgcaactc tcattgcctg gaaacagaac

[0185] 3721 agtcaggccc atcttagagt atgcaggccc tgtacagcca aggtcatttc aaggtttaac

[0186] 3781 tcacccctgg aacatgcaga tgctcagtaa acatttgaat gaa

[0188] 서열번호 7: MRGPRX3 유전자의 mRNA 서열 variant 1 (NCBI Reference Sequence: NM\_054031)

[0189] 1 gccacgtctg gaaagtgagg agcgtctttg cccggccgcc atcccatcta ggaagtgagg

[0190] 61 agcgcctctt cccggccgcc atcccatcta ggaagtgagg agcgtctctg cccggccgcc

[0191] 121 catcgtctga gatgtgggga gtgcctttgc cccgccgcc cgtctgggat gtgaggagcg

[0192] 181 cctctgcccc gtcgcgaccc cgtctgggag ctctgtagg catctcctga attaagcaac

[0193] 241 acagaaaagt cctctgaagt cactgaatcc cataaaggct ctctaccttt agcacaaggg

[0194] 301 aggtcttcac cactggacaa agaaggaacg ataaggggtc atcagactgg ggtttctgag

[0195] 361 catggattca accatcccag tcttgggtac agaactgaca ccaatcaacg gacgtgagga

[0196] 421 gactccttgc tacaagcaga ccctgagctt cacggggctg acgtgcatcg ttcccttgt

[0197] 481 cgcgtctgaca ggaacgcgg ttgtctctg gtcctgggc tgccgcatgc gcaggaacgc

[0198] 541 tgtctccatc tacatctca acctggtegc ggccgacttc ctcttctta gcggccacat

[0199] 601 tatatgttcg cgttacgcc tcatcaatat ccgccatccc atctccaaaa tctcagtc

[0200] 661 tgtgatgacc ttccctact ttataggcct aagcatgctg agcgccatca gcaccgagcg

[0201] 721 ctgcctgtcc atctgtggc ccatctggta ccaactgccg cgccccagat acctgtcatc

[0202] 781 agtcatgtgt gtctgtctt gggccctgtc cctgtgcgg agtatcctgg agtggatgt

[0203] 841 ctgtgacttc ctgtttagt gtgctaattc tgtttggtgt gaaacgtcag atttcattac

[0204] 901 aatcgctggt ctggtttttt tatgtgtgt tctctgtggg tccagcctgg tctgtctggt

[0205] 961 caggattctc tgtggatccc ggaagatgcc gctgaccagg ctgtacgtga ccatcctct

[0206] 1021 cacagtgtg gtcttctcc tctgtggcct gccctttggc attcagtggg ccctgttttc

[0207] 1081 caggatccac ctggattgga aagtcttatt ttgtcatgtg catctagttt ccattttct

[0208] 1141 gtccgctctt aacagcagt ccaaccccat catttacttc ttcgtgggct cctttaggca

[0209] 1201 gcgtcaaaat aggcagaacc tgaagctggt tctccagagg gctctgcagg acacgcctga

[0210] 1261 ggtggatgaa ggtggagggt ggcttctca ggaaccctg gagctgtcgg gaagcagatt

[0211] 1321 ggagcagtga ggaagaacct ctgccctgtc agacaggact ttgagagcaa tgctgccctg

[0212] 1381 ccacccttga caattatag catttttctt agccttctgc ctcaaaaatg tctcagtgg

[0213] 1441 ccctcaaggt cttegaatag atgtttatct aacctgacag ttgcagtttt caccatgga

[0214] 1501 aagcattagt ctgacgtac aatgtttgga ttctccttga tattaccaat acattttccc

[0215] 1561 tgttatcttg cactgaatct ttctactga acatttttc tgcacttttc attgtaataa

[0216] 1621 aaggagtgtg tgtccacaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

[0218] 서열번호 8: MRGPRX3 유전자의 mRNA 서열 variant 2 (NCBI Reference Sequence: NM\_001370464)

[0219] 1 agcatcttcg taagcctgga ttgtcacca gtttcatctt cagctcctgt aggcattcc

[0220] 61 tgaattaaag aacacagaaa agtctctga agtcactgaa tccataaag gtctctacc

[0221] 121 tttagcaciaa gggaggctct caccactgga caaagaagga acgataaggg gtcacagac

[0222] 181 tggggtttct gagcatggat tcaaccatcc cagtcttggg tacagaactg acaccaatca

[0223] 241 acggacgtga ggagactcct tgctacaagc agaccctgag cttcacgggg ctgacgtgca

[0224] 301 tcgtttccct tgtcgcgtg acaggaaacg cggttgtgt ctggctcctg ggctgccgca



[0225] 361 tgcgcaggaa cgctgtctcc atctacatcc tcaacctggc cgcgcccgac ttctcttcc  
 [0226] 421 tttagcggcca cattatatgt tcgccgttac gcctcatcaa tatccgccat cccatctcca  
 [0227] 481 aaatcctcag tctgtgatg acctttccct actttatagg cctaagcatg ctgagcgcca  
 [0228] 541 tcagcaccga gcgctgcctg tccatcctgt ggcccatctg gtaccactgc cgccgcccc  
 [0229] 601 gatacctgtc atcagtcacg tgtgtcctgc tctgggccct gtcctgctg cggagtatcc  
 [0230] 661 tggagtggat gttctgtgac ttctgttta gtggtgctaa ttctgtttgg tgtgaaacgt  
 [0231] 721 cagatttcat tacaatcgcg tggctggttt ttttatgtgt ggttctctgt gggccagcc  
 [0232] 781 tggctctgct ggtcaggatt ctctgtggat cccggaagat gccgtgacc aggcgtgacg  
 [0233] 841 tgaccatcct cctcacagtg ctggctctcc tctctgtgg cctgcccttt ggcattcagt  
 [0234] 901 gggccctgtt ttccaggatc caccitggatt ggaaagcttt atttgtcat gtgcatctag  
 [0235] 961 ttccattttt cctgtccgct cttaacagca gtgccaaccc catcatttac ttcttctgtg  
 [0236] 1021 gctccttttag gcagcgtcaa aataggcaga acctgaagct ggttctccag agggctctgc  
 [0237] 1081 aggacacgcc tgaggtggat gaaggtggag ggtggcttcc tcaggaaacc ctggagctgt  
 [0238] 1141 cggaagcag attggagcag tgaggaagaa cctctgccct gtcagacagg actttgagag  
 [0239] 1201 caatgctgcc ctgccacct tgacaattat atgcattttt cttagccttc tgcctcagaa  
 [0240] 1261 atgtctcagt ggtccctcaa ggtcttcgaa tagatgttta tctaacctga cagttgcagt  
 [0241] 1321 ttccacccat ggaaagcatt agtctgacag tacaatgttt ggattctcct tgatattacc  
 [0242] 1381 aatacatttt cctgtttatc ttgactgaa tctttcttac tgaacacttt ttctgcactt  
 [0243] 1441 ttcattgtaa taaaaggagt tgctgtccac aaccctaaaa

### 발명의 효과

[0244] 본 발명에서 제공하는 항암제 및 항암조성물에 대한 치료반응 및 환자의 예후예측 방법은 유전자 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 또는 ZCCHC18를 하나 또는 그 이상의 조합으로 발현을 검출하여 측정하며, 각각의 유전자의 발현을 조절할 수 있는 하나 또는 그 이상의 조합의 억제제와 활성화제제를 통해 암환자의 생존율을 높이는데 유용하게 이용될 수 있다. 나아가, 상기 유전자의 발현 수준을 억제하거나, 활성화시키는 경우에는 암을 매우 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0245] 도 1은 각 사료그룹에서 얻어낸 난소암 PDTX 조직에서의 유전자 발현 패턴에 따른 상관분석을 나타낸 이미지이다. 난소암 PDTX의 성장을 효과적으로 억제한 70% 수크로오스군 및 대조군 식이요법 군(표 1 참조)의 검체를 피어슨 상관관계수에 따라 유사도가 높은 서브그룹으로 분류하였다.

도 2는 대조군 식이요법의 서브그룹 A1/A2를 기준으로 각각 70% 수크로오스군(표 1 참조)의 서브그룹 B1/B2/B3에 대한 차별 발현 유전자들을 찾아낸 모식도이다. 도 2의 (a) A1 서브그룹을 대조군으로 한 경우, B1/B2/B3 검체들에서 공통으로 변화하는 유전자 4개를 발견하였다. 도 2의 (b) A2 서브그룹을 대조군으로 한 경우, B1/B2/B3 검체들에서 공통으로 변화하는 유전자 5개를 발견하였다. 도 2의 (c) 각각의 공통유전자에서 다시 공통적으로 발현 변화하는 유전자 1개를 발견하였다. (Signal threshold  $\geq 0.001$ , 1.5 fold,  $p < 0.05$ )

도 3은 RNA 시퀀싱에 의한 유전자 발현 수준을 나타내는 그래프이다. EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3는 A1 서브그룹을 대조군으로 한 경우, B1/B2/B3 서브그룹에서 증가 또는 감소한 유전자이다. 또한, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, ZCCHC18은 A2 서브그룹을 대조군으로 한 경우, B1/B2/B3 서브그룹에서 증가 또는 감소한 유전자이다.

도 4 내지 도 6은 표 1에서 나타내는 바와 같이 The Cancer Genome Atlas (TCGA)의 난소암 데이터세트에서 각

유전자들에 대한 다양한 암종에 대해 발현 레벨을 기준으로 암환자의 생존곡선을 표현한 것이다. 도 4에서는 MRGPRX3에 대한 두경부암, 폐암 및 자궁경부암 환자에 대한 생존곡선을 나타낸다( $p > 0.05$ ). 도 5에서는 SPRN에 대한 신장암, 요로상피암 및 췌장암 환자들에 대한 생존곡선을 나타낸다. 도 6에서는 UPB1에 대한 간암 및 신장암 환자들에 대한 생존곡선을 나타낸다.

도 7은 표 1에서 나타내는 바와 같이 The Gene Expression Omnibus (GEO) 데이터세트 중 난소암 환자 조직에서 microarray를 진행한 GSE9899 세트에서 양성 종양 조직 (low malignant potential tissue; LMP) 및 난소암 조직(cancer)에서의 MRGPRX3, SPRN, 및 UPB1에 대한 발현양을 확인한 그래프이다. MRGPRX3의 경우에, LMP에 비해 난소암에서 통계적으로 유의하게 발현양이 증가하였음을 확인할 수 있었다.

도 8은 표 1에서 나타내는 바와 같이 The Gene Expression Omnibus (GEO) 데이터세트 중 난소암 환자 조직에서 microarray를 진행한 GSE26712 세트에서 정상 조직 (Normal) 및 난소암 조직(cancer)에서의 UPB1에 대한 발현양을 확인한 그래프이다. 난소암 GSE26712 세트에서는 UPB1만 데이터세트 내에 존재하였으며, UPB1에 대한 발현이 통계적으로 유의하게 난소암에서 증가되어 있음을 확인할 수 있었다.

도 9는 표 1에서 나타내는 바와 같이 The Gene Expression Omnibus (GEO) 데이터세트 중 난소암 환자 조직에서 microarray를 진행한 GSE14764 세트에서 UPB1에 대한 발현양과 난소암 환자의 생존기간을 이용하여 컷오프 값 (UPB1 발현 레벨, 4.593)을 기준으로 컷오프 값보다 높은 발현을 보이는 환자를 "High"로, 낮은 발현을 보이는 환자를 "Low"로 표기하였고, High와 Low 환자간의 UPB1 발현의 차이를 확인한 그래프이다 (도 9(a)). 그리고 각각의 UPB1 high 또는 Low 인 환자들의 생존곡선을 나타낸 그래프(도 9 (b))이다. UPB1의 발현이 높은 경우 위험률이 2.35배 증가하였다 ( $p = 0.045$ ).

도 10은 표 1에서 나타내는 바와 같이 The Gene Expression Omnibus (GEO) dataset 중 난소암 환자 조직에서 microarray를 진행한 GSE19829-GPL570 데이터세트에서 MRGPRX3, SPRN, UPB1에 대한 각 유전자의 발현양과 난소암 환자의 생존기간을 이용하여 컷오프 값 (MRGPRX3 = 5.298, UPB1 = 8.184, SPRN = 8.063)을 구하고, 각각의 컷오프 값을 기준으로 유전자 발현이 높으면 "High 또는 positive"로, 낮은 발현을 보이는 환자를 "Low 또는 negative"로 표기하였다. 그리고, High와 Low 환자간의 MRGPRX3, UPB1 및 SPRN 유전자 발현의 차이를 확인한 그래프이다.

도 11은 표 1에서 나타내는 바와 같이 GSE19829-GPL570 데이터세트에서 MRGPRX3, SPRN, UPB1에 대한 도 10에서 정한 유전자 발현 컷오프 값을 기준으로 각 유전자 발현에 따른 난소암 환자의 생존기간을 나타내는 그래프이다.

도 12는 표 1에서 나타내는 바와 같이 GSE19829-GPL570에서 SPRN 및 UPB1에 대한 유전자 발현 차이의 조합으로 환자를 분류하여 생존율을 나타내는 그래프이다.

도 13은 표 1에서 나타내는 바와 같이 GSE19829-GPL570에서 MRGPRX3, SPRN, UPB1에 대한 유전자 발현 차이의 조합으로 환자를 분류하여 생존율을 나타내는 그래프이다.

도 14는 UPB1에 특이적으로 결합하는 siRNA를 형질전환한 뒤, OVCAR3 세포주에서 UPB1의 mRNA 발현 수준을 실시간 중합효소 연쇄반응을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 15는 UPB1에 특이적으로 결합하는 siRNA를 형질전환한 뒤, SKOV3 세포주에서 UPB1의 mRNA 발현 수준을 실시간 중합효소 연쇄반응을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 16은 UPB1에 특이적으로 결합하는 siRNA를 형질전환한 뒤, OVCAR3 세포주의 생존도를 크리스탈 바이올렛 염색(Crystal violet staining) 분석을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 17은 UPB1에 특이적으로 결합하는 siRNA를 형질전환한 뒤, SKOV3 세포주의 생존도를 크리스탈 바이올렛 염색 분석을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0246] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

### [준비예 1] 환자 동의 및 PDIX 생성

[0249] 강남세브란스병원에서 난소암 진단을 받은 환자의 암조직을 한국부인암은행에서 수집하였다. 한국부인암은행으로부터 공여받은 환자의 난소암 조직을 대략 3 mm<sup>3</sup>의 절편으로 나눠 BALB/c 누드마우스에 이식하여 PDTX를 만들었다. 본 연구는 시작 전에 강남세브란스병원 IRB로부터 연구 승인을 받았고 (IRB approval No.3-2014-0184), 암조직 공여 환자로부터 연구동의서를 받았다.

[0251] [실시예 1] 동물실험

[0252] 5주령 BALB/c 누드마우스 (female)에 각각의 특수조제 사료를 공급하고 음용수를 2달간 제공하였다(표 1 참고). 이 후 PDTX-126과 PDTX-98의 조직을 3mm<sup>3</sup>의 절편으로 나누고, 졸레틸(zoletil), 럼폰(rompun), 및 식염수 (1:1:7)의 조합의 마취제를 이용하여 마우스를 마취하였다. 이후 마우스 당 2개의 위치의 피하조직에 PDTX 조직을 이식하였다. 일주일 간격으로 사료의 먹는 양과 조제사료(표 1 참조)에 해당하는 마우스가 먹는 사료 양의 섭취 칼로리를 계산하였고, 마우스의 몸무게를 측정하였다. 또한, 디지털 칼리퍼를 이용하여 종양의 부피를 측정하였다 (종양 부피 (mm<sup>3</sup>)=장길이 x 단길이<sup>2</sup> x 0.5)(표 2 내지 표 4 참고, 표 4는 PDTX-126 및 PDTX-98에서의 결과를 통합한 결과이다). PDTX-126은 총 187일, PDTX-98은 총 134일 동안 마우스와 PDTX의 정보를 기록하였고 그 후 희생시켰다. 희생시킨 마우스에서는 간 및 복막의 백색지방조직을 적출하여 중량을 측정하였고, 하대정맥으로부터 혈액을 채취하였다. PDTX 종양 조직은 절출하여, 최종 부피 및 무게를 측정하였고, 마우스와 암조직에 대한 사진을 기록으로 남겼다. 모든 동물실험은 연세대학교의 동물윤리위원회의 승인을 받았다 (IACUC Approval No. 2017-0157)

표 1

	대조군 (kcal %)		70% Sucrose (kcal %)		60% Fat (kcal %)		70% Fat (kcal %)	
단백질	20kcal %		20kcal %		20kcal %		20kcal %	
탄수화물	70kcal %		70kcal %		20kcal %		10kcal %	
지방	10kcal %		10kcal %		60kcal %		70kcal %	
총(kcal%)	100kcal %		100kcal %		100kcal %		100kcal %	
구성성분	카제인 30 메쉬	200gm 800kcal	200gm 800kcal	200gm 800kcal	200gm 800kcal	200gm 800kcal	200gm 800kcal	200gm 800kcal
	L-시스틴	3gm 12kcal	3gm 12kcal	3gm 12kcal	3gm 12kcal	3gm 12kcal	3gm 12kcal	3gm 12kcal
	옥수수 전분	315gm 1260kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal
	말토덱스트린 10	35gm 140kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	125gm 500kcal	91.42gm 366kcal	91.42gm 366kcal	91.42gm 366kcal
	수크로오스	350gm 1400kcal	700gm 2800kcal	68.8gm 275.2kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal	0gm 0kcal
	셀룰로즈 BW200	50gm 0kcal	50gm 0kcal	50gm 0kcal	50gm 0kcal	50gm 0kcal	50gm 0kcal	50gm 0kcal
	대두유	25gm 225kcal	25gm 225kcal	25gm 225kcal	25gm 225kcal	25gm 225kcal	25gm 225kcal	25gm 225kcal
	라드*	20gm 180kcal	20gm 180kcal	245gm 2205kcal	290.5gm 2615kcal	290.5gm 2615kcal	290.5gm 2615kcal	290.5gm 2615kcal
	미네랄 믹스 S10026	10gm 0kcal	10gm 0kcal	10gm 0kcal	10gm 0kcal	10gm 0kcal	10gm 0kcal	10gm 0kcal
	디칼슘 포스페이트	13gm 0kcal	13gm 0kcal	13gm 0kcal	13gm 0kcal	13gm 0kcal	13gm 0kcal	13gm 0kcal
	칼슘 카보네이트	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal	5.5gm 0kcal
	구연산칼륨, 1 H <sub>2</sub> O	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal	16.5gm 0kcal
	비타민 믹스 V10001	10gm 40kcal	10gm 40kcal	10gm 40kcal	10gm 40kcal	10gm 40kcal	10gm 40kcal	10gm 40kcal
	타타르산 수소콜린	2gm 0kcal	2gm 0kcal	2gm 0kcal	2gm 0kcal	2gm 0kcal	2gm 0kcal	2gm 0kcal
	염료**	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal	0.05gm 0kcal
총	1055.0 gm	4057kcal	1055.05 gm	4057kcal	773.85 gm	4057kcal	716.97gm	4058kcal

\*라드 중 콜레스테롤의 함량 = 0.72mg/gram.  
콜레스테롤 (mg)/4057 kcal = 14.4  
콜레스테롤 (mg)/kg = 13.6

[0253]

표 2

PDTX - 126								
Growth rate	10% Fat		70% Sucrose		60% Fat		70% Fat	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Total	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0
Vary fast	1	8.3			1	8.3	1	8.3
Fast	1	8.3			1	8.3	1	8.3
Medium	4	33.3	3	25.0			2	16.7
Slow	5	41.7	2	16.7	5	41.7	1	8.3
Vary slow	1	8.3	7	58.3	5	41.7	7	58.3
Mouse number (n = 6, per diet group)								
Metastasis	0		0		1		0	

[0255]

표 3

PDTX - 98								
Growth rate	10% Fat		70% Sucrose		60% Fat		70% Fat	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Total	12	100.0	10	100.0	12	100.0	12	100.0
Vary fast	1	8.3			1	8.3	1	8.3
Fast	1	8.3	1	10.0				
Medium	3	25.0	1	10.0	3	25.0	1	8.3
Slow	6	50.0	4	40.0	3	25.0	2	16.7
Vary slow	1	8.3	4	40.0	5	41.7	8	66.7
Mouse number (n = 6, per diet group)								
Metastasis	0		0		0		0	

[0256]

표 4

Growth rate	PDTX (Merge)							
	10% Fat		70% Sucrose		60% Fat		70% Fat	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Total	24	100.0	22	100.0	24	100.0	24	100.0
Vary fast	2	8.3		0.0	2	8.3	2	8.3
Fast	2	8.3	1	4.5	1	4.2	1	4.2
Medium	7	29.2	4	18.2	3	12.5	3	12.5
Slow	11	45.8	6	27.3	8	33.3	3	12.5
Vary slow	2	8.3	11	50.0	10	41.7	15	62.5
Mouse number (n = 6, per diet group)								
Metastasis	0		0		1		0	

[0257]

[0258]

표 2 내지 4에서 나타나는 바와 같이, 종양 성장이 70%의 수크로오스 식이요법(70% Sucrose)에서 가장 낮은 것을 확인하였다. 60% 지방 식이요법(60% Fat) 및 70% 지방 식이요법(70% Fat)의 경우, 종양 성장이 낮은 수치를 보였지만, 동시에 종양 성장이 매우 빠른 결과도 동시에 보였으므로, 항암 치료요법에 적합하지 않은 식이요법을 확인하였다 (Final volume (mm<sup>3</sup>) 기준: Vary slow 0-250, Slow 250-500, Medium 500-1000, Fast 1000-1500, Vary fast > 1500).

[0260]

[실시예 2] RNA 시퀀싱

[0261]

*Ion AmpliSeq<sup>TM</sup> 전사체 라이브러리 제조*

[0262]

표 1에서 제시된 사료를 먹인 후 일정시간이 흐른 후 BALB/c nude 마우스로부터 얻어진 PDTX 조직을 이용하여, 제조사의 프로토콜에 따라 총 RNA를 TRIzol<sup>®</sup> 시약(Ambion, Carlsbad, CA)으로 추출하고, Qubit<sup>®</sup> RNA HS Assay Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA)로 정량화하고, Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA)의 스미어 분석을 사용하여 200nt보다 큰 RNA 단편의 백분율을 계산하였다. Qubit<sup>®</sup> dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies)를 사용하여 DNA 샘플을 정량화하였다. Ion AmpliSeq<sup>TM</sup> 전사체 라이브러리는 제조사의 프로토콜에 따라 Ion Transcriptome Human Gene Expression Kit (Life Technologies)로 제작하였다. 전체 RNA의 10 ng을 역전사시켜 무작위 프라이밍으로 cDNA를 만들었다. cDNA 산물은 Ion AmpliSeq<sup>TM</sup> Library Kit Plus가 함께 있는 Ion AmpliSeq<sup>TM</sup> Human Gene Expression Core Panel을 사용하여 증폭된 표적 유전자이다. 프라이머 분해 후, 어댑터 및 분자 바코드를 증폭산물에 연결하고 이어서 마그네틱 비드로 정제를 수행하였다. 이 라이브러리는 총 5사이클 동안 증폭되고 정제하였다. 증폭산물 크기와 DNA 농도는 Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies)을 사용하여 제조업체의 권장 사항에 따라 측정하였다.

[0263]

샘플 에멀전 PCR, 에멀전 브레이크 및 농축은 제조사의 지침에 따라 Ion PI<sup>TM</sup> Template OT2 200 Kit v3 (Life Technologies, Part #4488318 Rev. B.0)을 사용하여 수행하였다. 하나의 Ion PI<sup>TM</sup> v2 칩에 대해 여러 바코드된 라이브러리를 같은 물비로 결합하였다. 2개의 풀링된 Ion AmpliSeq<sup>TM</sup> Exome 라이브러리를 단일 Ion PI<sup>TM</sup> v2 칩에 로딩하였다. 5개의 풀링된 AmpliSeq<sup>TM</sup> 전사체 라이브러리를 단일 Ion PI<sup>TM</sup> v2 칩에 로딩하였다. 후속 에멀전 PCR 및 풀링된 라이브러리의 시퀀싱 비드의 농축은 제조사의 프로토콜에 따라 Ion OneTouch<sup>TM</sup> 시스템 (Life



Technologies)을 사용하여 약 7시간 이내에 수행하였다. 마지막으로 Ion Proton™ 시퀀서 (Life Technologies) 상에서 Ion PI™ Sequencing 200 Kit v3 (Life Technologies, Part #4488315 Rev. B.0)을 사용하여 Ion PI™ v2 칩에서 520 Flows 시퀀싱을 수행하였다.

#### [실시예 3] RNA 시퀀싱 판독 및 유전자 발현 분석

RNA 시퀀싱 판독 맵핑은 DNASTAR Lasergene 15 소프트웨어 및 인간 게놈19 (hg19) 레퍼런스를 이용하여 수행하였다. 각각의 검체들을 선형상관 ( $R^2$  값) 분석을 수행하였다. 또한, 유클리디안 거리법에 따른 집단화 (clustering)를 수행하였다. 집단화 결과에 따라, 표 1에서 나타내는 바와 같이 대조군 식이요법 군은 2개(도 1의 A1 및 A2), 70% 수크로오스 군은 3개(도 1의 B1, B2, 및 B3)의 아집단으로 분류를 하였다(도 2 참고). 각각의 그룹 간 차별 발현 유전자(differentially expressed genes; DEG)를 획득하였다(도 3). 그 유전자 리스트를 하기 표 5 및 표 6에 나열하였다.

표 5

Gene list in A1 control		
Accession No.	Symbol	Gene name
NM_138568	EXOC3L2	exocyst complex component 3 like 2
NM_004823	KCNK6	potassium two pore domain channel subfamily K member 6
NM_054031	MRGPRX3	MAS related GPR family member X3
NM_001012508	SPRN	shadow of prion protein homolog

표 6

Gene list in A2 control		
Accession No.	Symbol	Gene name
NM_178842	CERS3	ceramide synthase 3
NM_000229	LCAT	lecithin-cholesterol acyltransferase
NM_054031	MRGPRX3	MAS related GPR family member X3
NM_016327	UPB1	bata-ureidopropionase 1
NM_001143978	ZCCHC18	zinc finger CCHC-type containing 18

표 5와 6 및 도 3에 나타난 바와 같이, 표 1에서 나타내는 바와 같이 70% 수크로오스를 유효 성분으로 포함하는 항암 조성물을 처리한 후에 유전자 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 및 ZCCHC18의 수준 측정으로, 항암제에 대한 감수성을 예측할 수 있었다. 바람직하게는, 유전자 EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 및 ZCCHC18의 수준 측정으로, 70% 수크로오스를 포함하는 탄수화물, 지방, 및 단백질로 이루어진 본 발명에 따른 항암 조성물에 대한 감수성을 예측할 수 있었다.

#### [실시예 4] 생존분석

The Gene Expression Omnibus (GEO) 데이터세트에서 GSE 19829-GPL570 세트를 다운로드 받아서, SPRN (affymetrix probe no. 238333\_s\_at), MRGPRX3 (affymetrix probe no. 1553293\_at), 및 UPB1 (affymetrix probe no. 228219\_s\_at) 유전자에 해당하는 microarray expression 값을 이용하였다. 이어서, 생존기간을 기준으로 각 유전자의 컷오프값을 획득하였다(PLoS One. 2012;7(12):e51862.). 컷오프값을 기준으로 발현이 높으면 "High"(positive) 및 낮으면 "Low"(negative)로 구분하였다. 각 유전자의 조합별로 카플란 메이어 방법 (Kaplan-Meier method)을 이용하여 생존곡선을 그리고 통계적 유의성은 로그순위 검정(log-rank test)으로 계산하였다. 모든 통계적 분석은 Graphpad Prism 7 소프트웨어를 사용하여 진행하였다.

- [0273] The Cancer Genome Atlas (TCGA) 데이터세트를 기반으로 각 유전자들에 대한 다양한 암종에 대해, 발현 레벨을 기준으로 암환자의 생존곡선을 얻었다(도 4 내지 도 6). MRGPRX3의 발현이 증가한 경우에 두경부암 환자들에 대한 생존율이 증가하고, MRGPRX3의 발현이 감소한 경우에 폐암 및 자궁경부암 환자들에 대한 생존율이 감소한 것을 확인하였다(도 4). 또한, SPRN의 발현이 증가한 경우에 요로상피암 및 췌장암 환자들에 대한 생존율이 증가하고, SPRN의 발현이 감소한 경우에 신장암 환자들에 대한 생존율이 증가한 것을 확인하였다(도 5). UPB1의 발현이 증가한 경우에 간암 및 신장암 환자들에 대한 생존율이 증가한 것을 확인하였다(도 6).
- [0274] 또한, GEO 데이터세트 (GSE9899, GSE26712, GSE14764)의 결과를 이용하여, MRGPRX3, SPRN, UPB1의 정상(Normal), 양성종양(low malignant potential tissue; LMP), 악성종양(Cancer)에 대한 발현양을 계산하였다(도 7 및 8 참고). MRGPRX3의 경우에, LMP에 비해 난소암(악성종양)에서 통계적으로 유의하게 발현양이 증가하였음을 확인할 수 있었다. 난소암 GSE26712 세트에서는 UPB1만 데이터세트 내에 존재하였으며, UPB1에 대한 발현이 통계적으로 유의하게 난소암에서 증가하였음을 확인할 수 있었다. 도 9은 GEO 데이터세트 중 난소암 GSE14764 세트에서 UPB1에 대한 발현양의 차이를 확인한 그래프(도 9(a)) 및 환자들의 생존곡선을 나타낸 그래프(도 9의 (b))이다. GSE14764 세트에서는 UPB1만 데이터세트 내에 존재하였으며, UPB1에 대한 발현 레벨을 난소암 환자의 생존기간을 이용하여 컷오프 값(4.593)을 구하고 컷오프 값보다 높은 발현을 보이는 환자는 "High"로, 낮은 발현을 보이는 환자를 "Low"로 표기하였다. 도 9의 (a)는 High 및 Low 값의 차이를 그래프로 표현한 것이고, 도 9의 (b)는 High 및 Low 환자들에 대한 생존곡선을 나타낸 것이다. 발현이 높은 경우 위험률이 2.35배 증가였다 ( $p=0.045$ ).
- [0275] GSE19829-GPL570 데이터세트에서 MRGPRX3, SPRN, UPB1에 대한 각 유전자의 발현양(도 10) 및 난소암 환자의 생존시간(도 11)을 이용하여 컷오프 값을 계산하였다(Receiver operation characteristic analysis). 각각의 컷오프 값은 MRGPRX3=5.298, UPB1=8.184, 및 SPRN=8.063이었다. 각각의 컷오프 값을 기준으로 높으면 "High"(positive)로, 낮은 발현을 보이는 환자를 "Low"(negative)로 표기하였다. 도 10는 High 및 Low 값의 차이를 그래프로 나타냈다. 도 11은 유전자 발현양의 많고 적음에 따른 환자의 생존율과 각 유전자들의 조합에 따른 생존율을 계산하였다. 상기한 8개의 유전자들 중 3개의 후보 유전자들 (MRGPRX3(NM\_054031), SPRN(NM\_001012508), UPB1(NM\_016327))을 이용하여 생존율을 분석하였다. MRGPRX3의 경우 저발현이 생존율이 낮으며(적색 라인) ( $p=0.15$ ), SPRN 및 UPB1은 과발현이 생존율이 낮은 것을 확인하였다(청색 라인) ( $p=0.16$ ,  $p=0.012$ ). 다만, UPB1의 생존율만 통계학적으로 유의미하였다 ( $p<0.05$ ).
- [0276] 또한, 도 12에서 나타난 바와 같이, GSE19829-GPL570에서 SPRN 및 UPB1에 대해 두 유전자 모두 컷오프값 이상의 과발현 환자(double positive) 또는 두 유전자 모두 컷오프값 이하의 저발현 환자(double negative)로 나누고 생존곡선을 확인하였다(Log rank  $p=0.0474$ ). "Single positive"는 상기 두 유전자 중 하나의 유전자가 컷오프값 이상의 과발현 환자인 경우를 나타내었다. "double negative" 환자가 그런지 않은 두가지 경우에 비해 생존율이 높았음을 확인할 수 있었다.
- [0277] GSE19829-GPL570에서 MRGPRX3, SPRN, 및 UPB1에 대한 유전자 발현 조합으로 환자를 분류하여 생존곡선을 확인하였다(도 13). GSE19829-GPL570에서 MRGPRX3, SPRN, 및 UPB1에 대한 유전자 발현 수준이 MRGPRX3의 과발현, SPRN, 및 UPB1의 저발현을 확인할 수 있었다("+/-/-"), 따라서, 본 발현 패턴과 동일한 난소암 환자의 경우 그 반대의 발현("-/+ /+")을 나타내는 환자에 비해 통계적으로 유의하게 생존율이 높게 나타남을 확인하였다(Log-rank  $p=0.005$ ).
- [0278] 본 연구를 통해, 암환자에게 항암조성물 또는 항암제를 처리한 후에, 항암조성물 또는 항암제에 대한 이 환자의 감수성을 예측할 수 있는 유전자로서, EXOC3L2, KCNK6, SPRN, MRGPRX3, CERS3, LCAT, UPB1, 및 ZCCHC18을 확인하였다.
- [0280] **[실시예 5] 유전자 발현 억제에 따른 성장 억제 효과 확인**
- [0281] *유전자의 발현 억제 효과 확인*
- [0282] 난소암 세포주인 OVCAR3 및 SKOV3 세포주에 상기 실시예 4에서 확인된 환자의 감수성을 예측할 수 있는 유전자인 UPB1에 특이적인 하기 표 7에 기재된 siRNA를 형질전환한 뒤, 하기 표 8에 기재된 UPB1의 mRNA에 특이적인 프라이머를 이용한 실시간 중합효소 연쇄반응을 통해 발현 수준을 확인하여, 그 결과를 도 14 및 15에 나타내었다. 여기서, 대조군으로는 하기 표 7에 기재된 서열번호 3으로 표시된 siRNA(siLuc)를 사용하였다.

표 7

[0283]

서열번호	표적 유전자	염기 서열
서열번호 1	UPB1(UPB1 #1)	5'-CAG AGU UUA GAC AUG ACU A=tt-3'(antisense)
서열번호 2	UPB1(UPB1 #2)	5'-CUG CAA UGU GUG GAG UCA A=tt-3' (antisense)

표 8

[0284]

서열번호	특징	염기 서열
서열번호 3	정방향	5'-GGA AGC ATG GAC TAT GCC CTT-3'
서열번호 4	역방향	5'-TTC CAG GAT GGG AGA CAC CA-3'

[0286]

도 14 및 15에서 보는 바와 같이, 하기 표 7에 기재된 siRNA는 대조군(siLuc)과 비교하여 60 내지 80% 정도 UPB1 유전자의 발현 수준을 억제하였다.

[0288]

유전자의 발현 억제에 따른 암 세포주의 성장 억제 효과 확인

[0289]

OVCAR3 및 SKOV3 세포주에 상기 실시예 4에서 확인된 환자의 감수성을 예측할 수 있는 유전자인 UPB1에 특이적인 하기 표 7에 기재된 siRNA를 형질전환한 뒤, 24시간 동안 충분히 배양하였다. 그런 다음, 상기 각각의 세포주들이 포함된 웰 플레이트에 Crystal violet staining 용액 (0.5% crystal violet with 20% MeOH)을 첨가하여 염색하였다. 그런 다음, 상기 웰 플레이트에서 크리스탈 바이올렛 염색(crystal violet staining) 용액을 제거한 뒤에, 3차 증류수를 이용해 여분의 크리스탈 바이올렛 염색 용액을 제거하고, 2% SDS(Sodium dodecyl sulfate) 용액을 추가로 넣고 세포내 염색된 크리스탈 바이올렛 염색 용액을 용해시키고, 595 nm에서 흡광도를 측정하여 그 결과를 도 16 및 17에 나타내었다. 여기서, 대조군으로는 상기 표 7에 기재된 서열번호 3으로 표시된 siRNA(siLuc)를 사용하였다.

[0290]

도 16 및 17에서 보는 바와 같이, UPB1에 특이적인 siRNA가 형질전환된 OVCAR3 및 SKOV3 세포주는 대조군(siLuc)과 비교하여 20 내지 40% 세포의 성장을 억제하였다.

[0291]

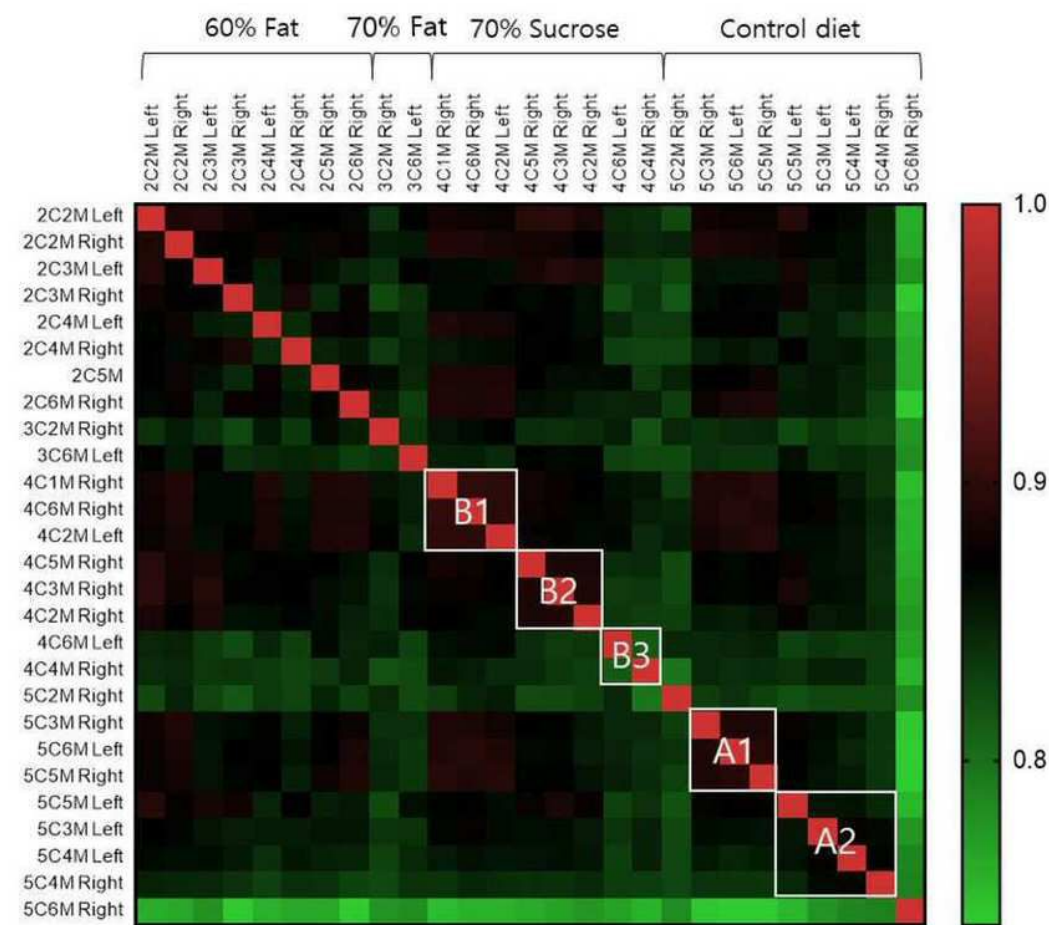
상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 감수성을 예측할 수 있는 유전자의 발현 수준을 억제시킨 경우에는 암 세포주의 성장을 매우 현저하게 억제할 수 있기 때문에, 이와 같은 유전자의 발현 수준을 억제하는 조성물은 암의 예방 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

[0293]

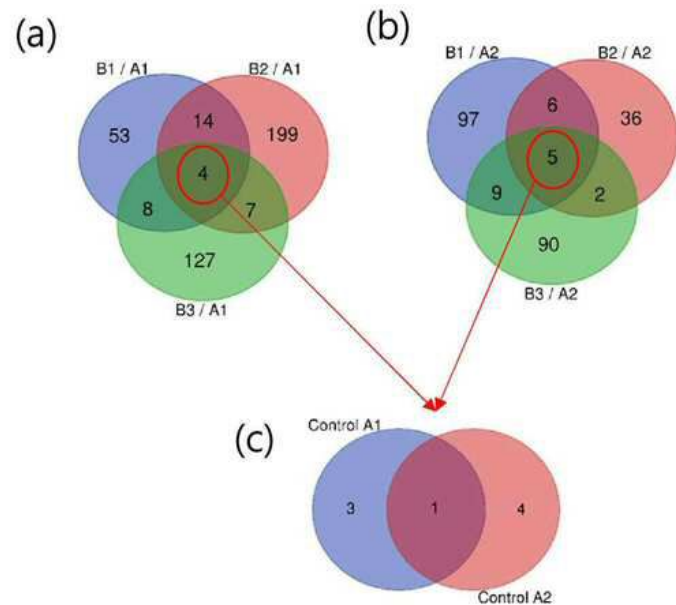
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

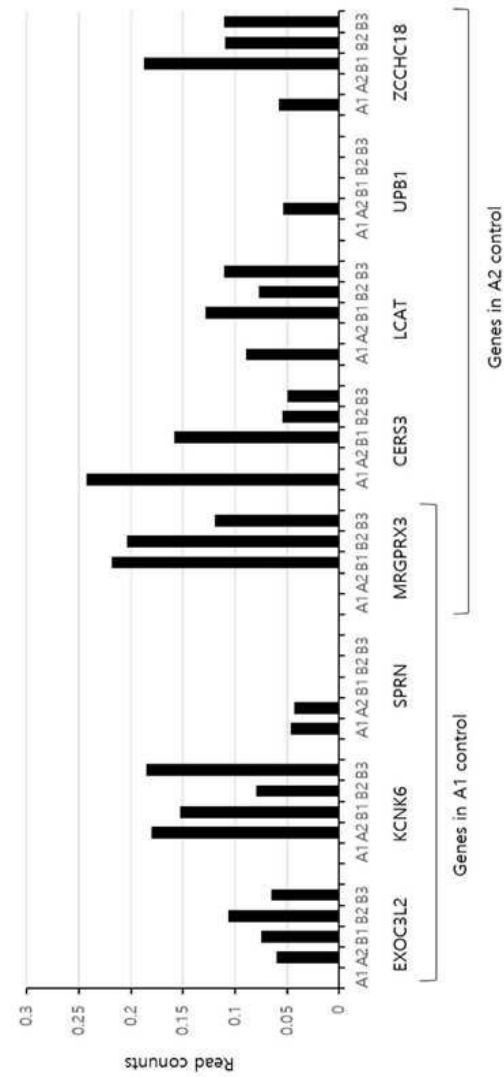
도면1



도면2

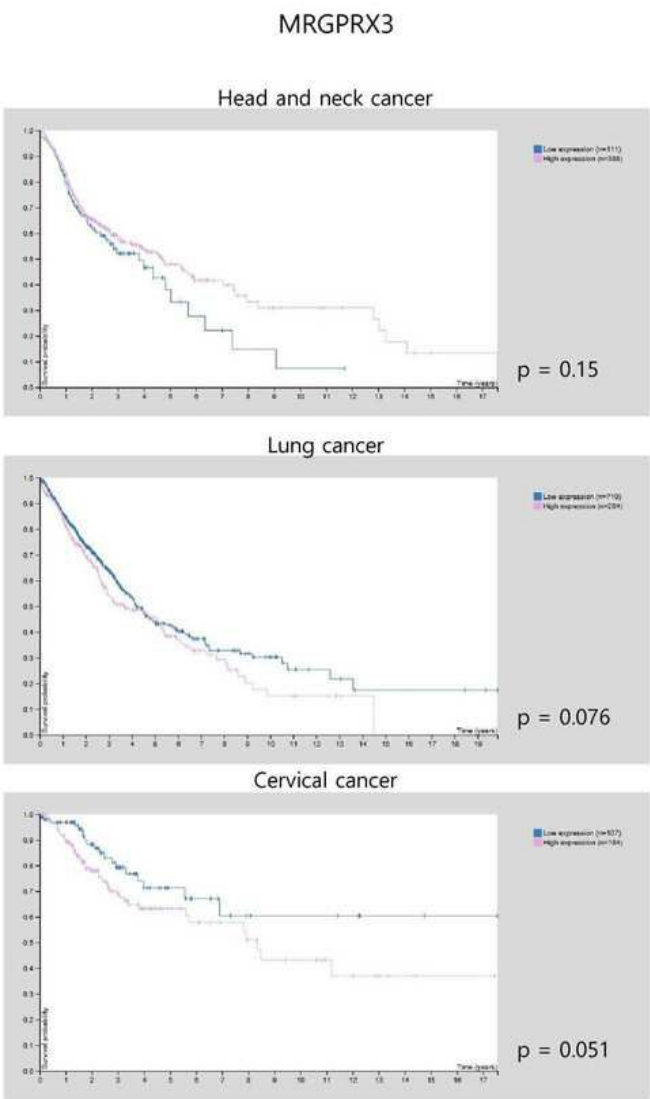


도면3





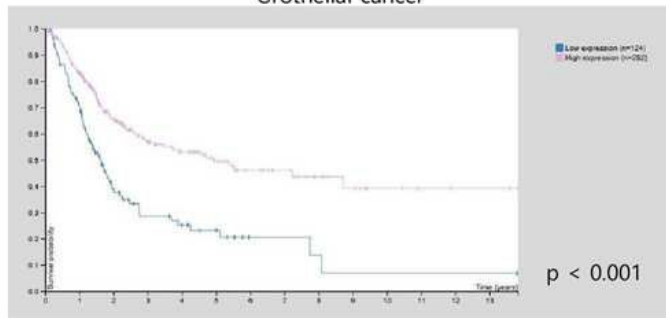
도면4



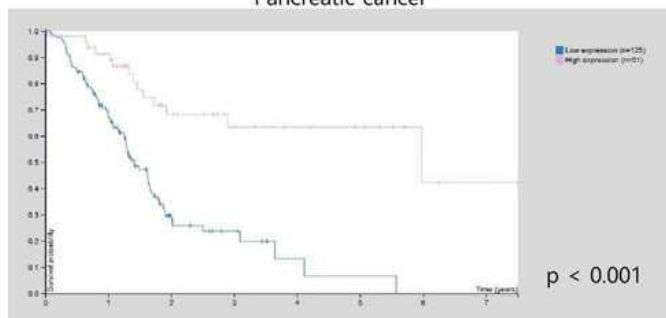
도면5

SPRN

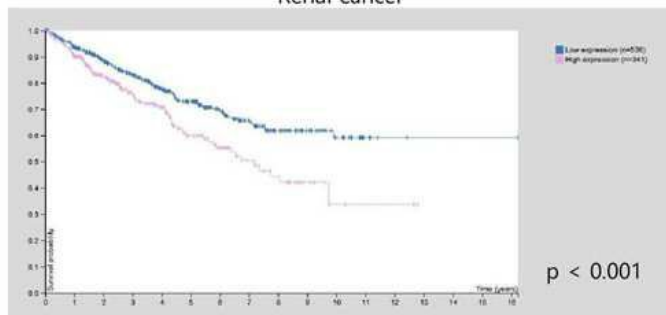
Urothelial cancer



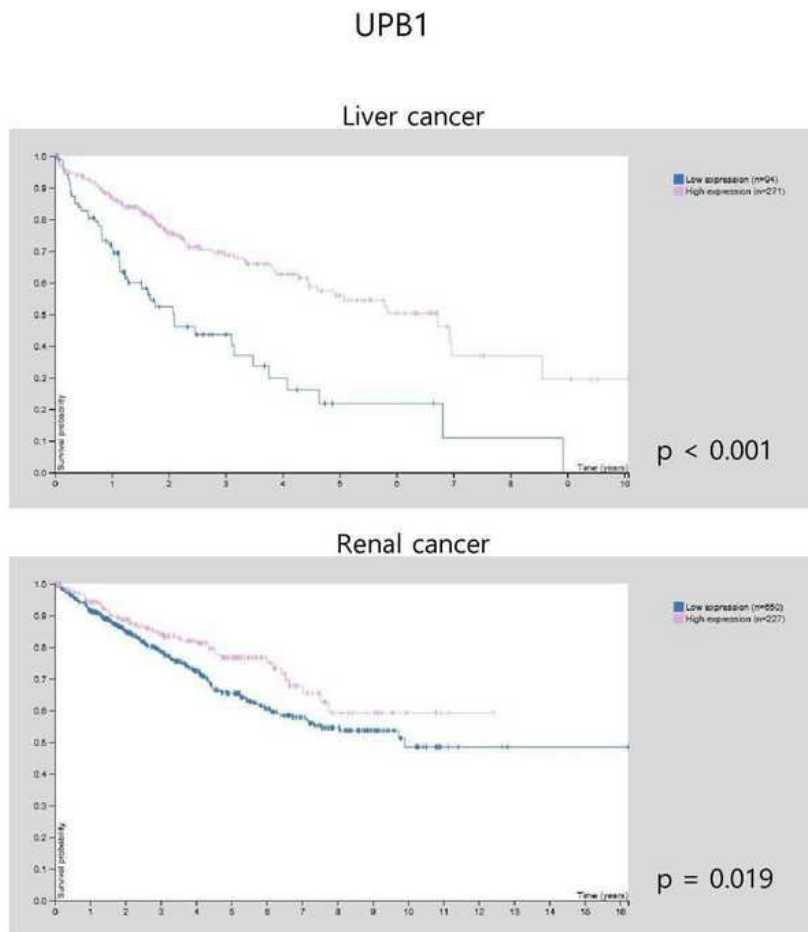
Pancreatic cancer



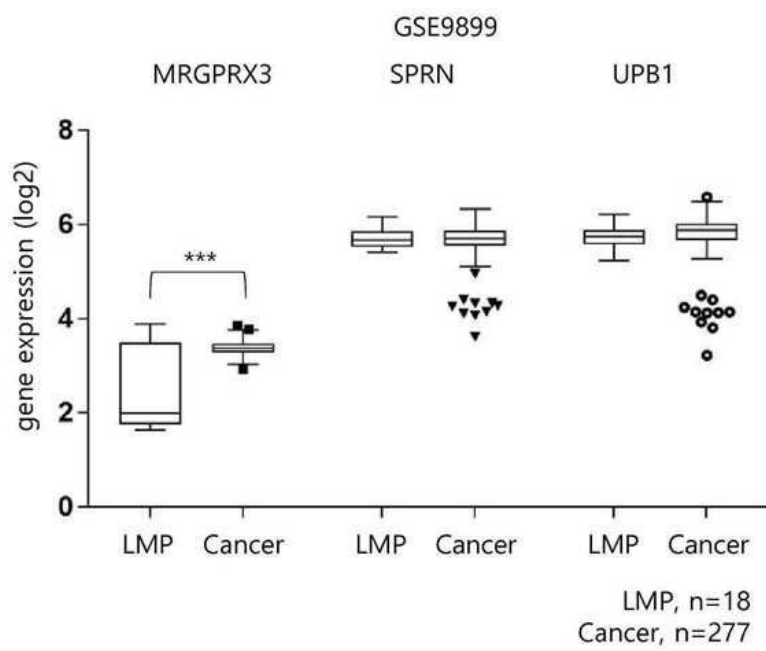
Renal cancer



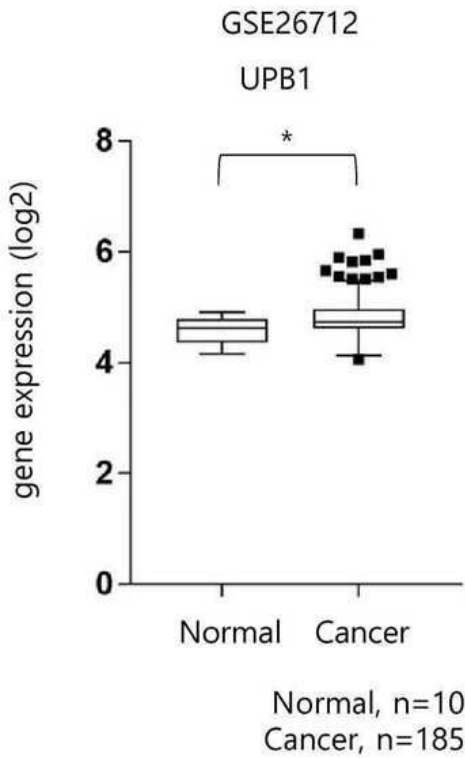
도면6



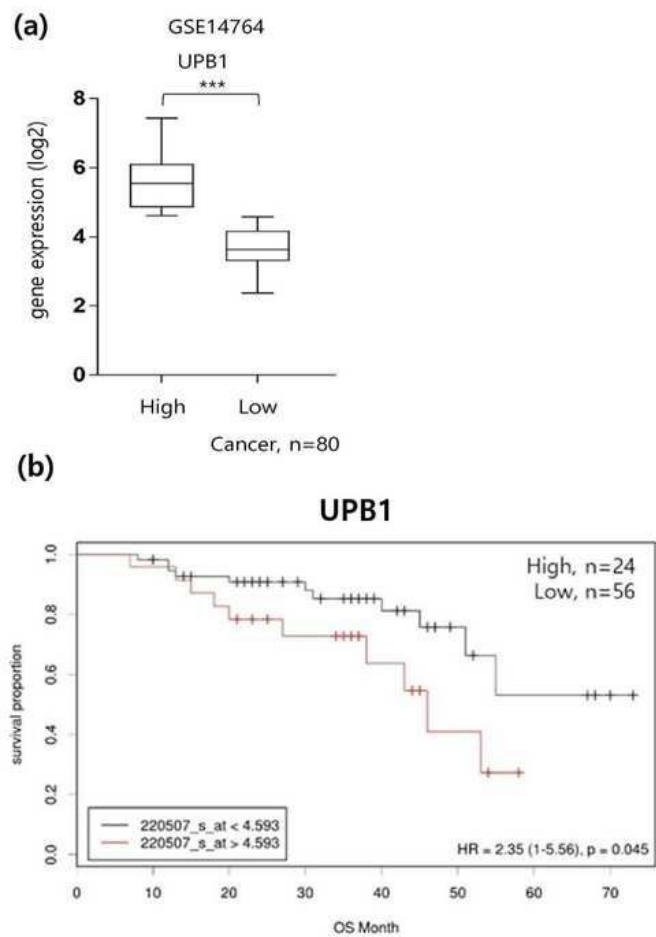
도면7



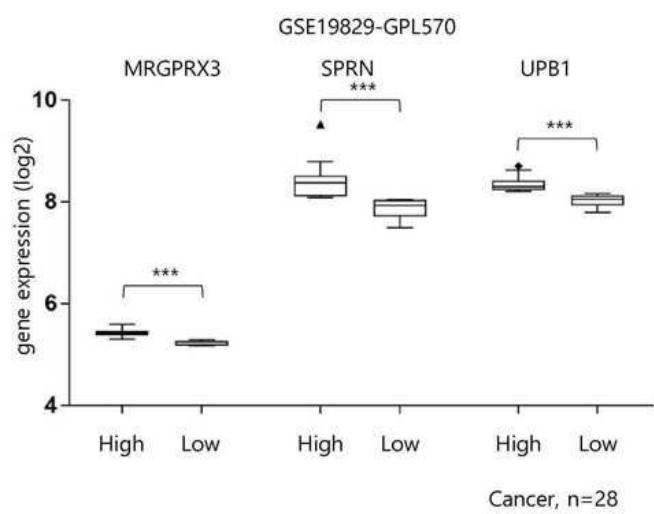
도면8



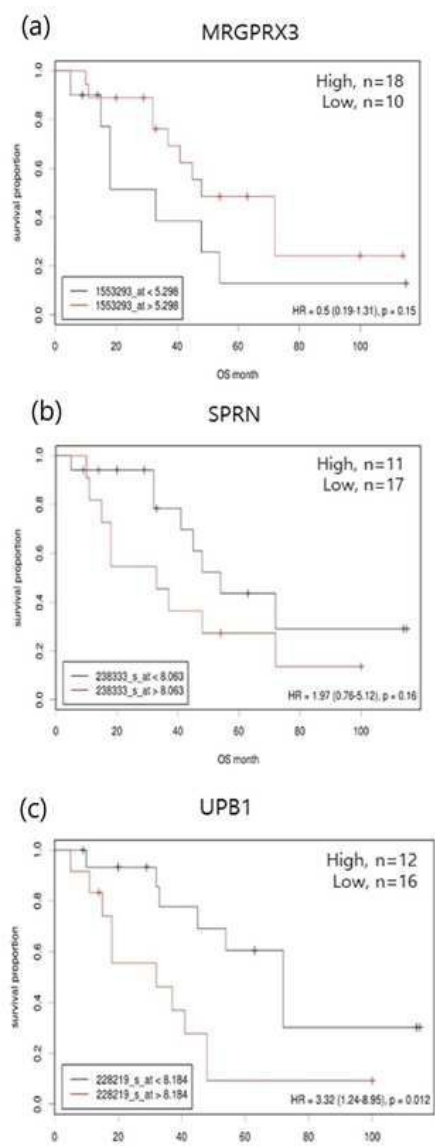
도면9



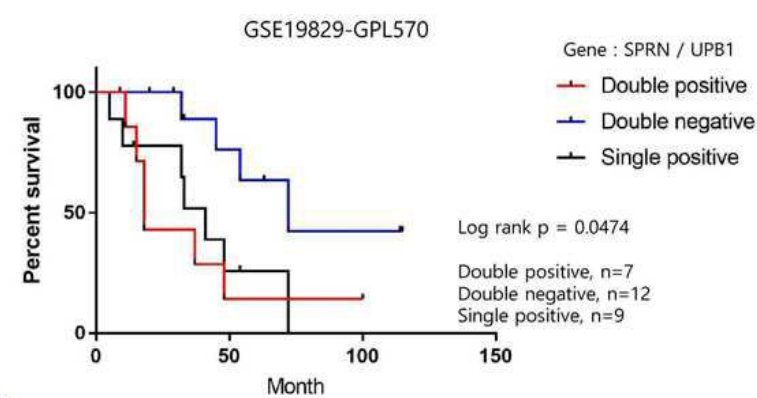
도면10



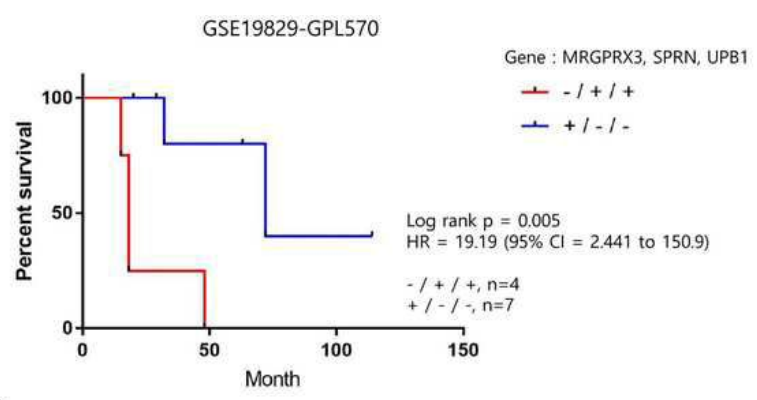
도면11



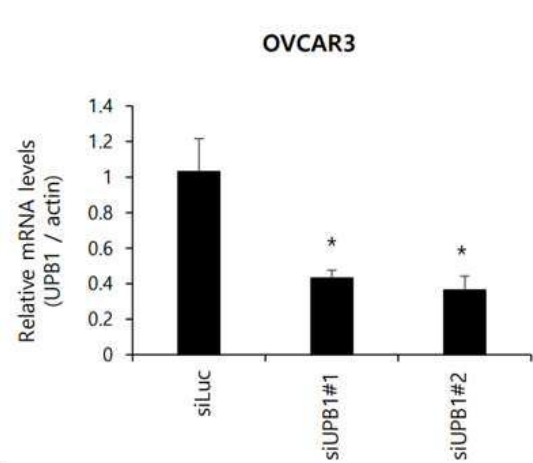
도면12



도면13

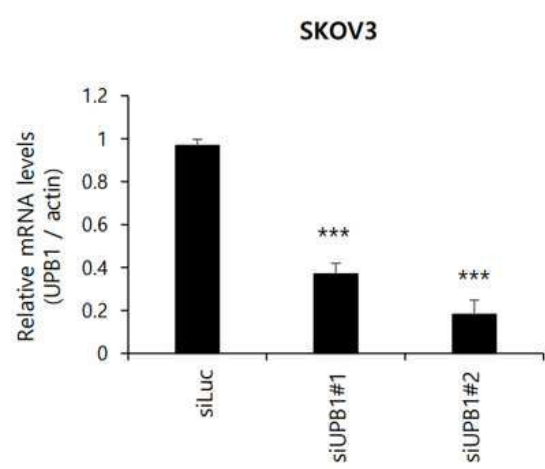


도면14

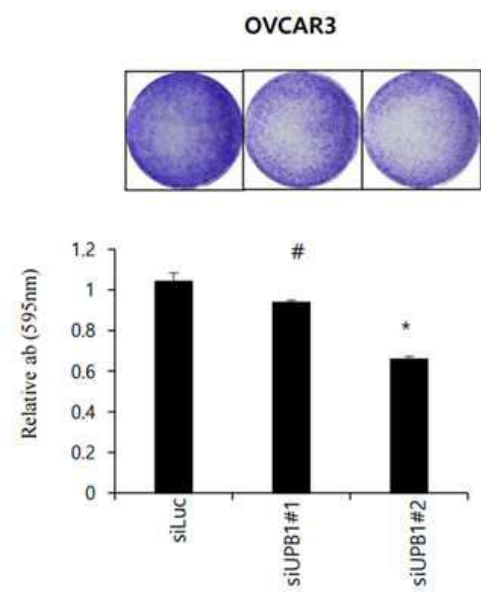




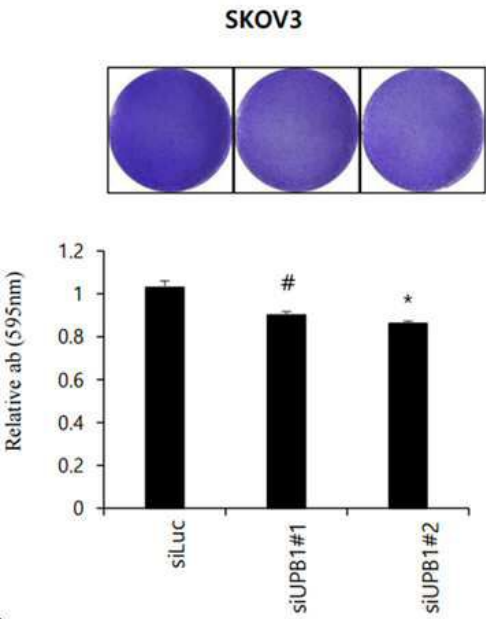
도면15



도면16



도면17



서 열 목 록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> A SCREENING METHOD FOR ANTI-CANCER AGENTS
- <130> PDPB187364k01
- <150> KR 10-2019-0019777
- <151> 2019-02-20
- <160> 8
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 21
- <212> RNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> UPB1 siRNA
- <400> 1
- cagaguuuag acaugacuat t
- <210> 2
- <211> 21
- <212> RNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223>
- > UPB1 siRNA
- <400> 2

cugcaaugug uggagucaat t	21
<210> 3	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> forward primer	
<400> 3	
ggaagcatgg actatgccct t	21
<210> 4	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> reverse primer	
<400> 4	
ttccaggatg ggagacacca	20
<210> 5	
<211> 3188	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 5	
ggcggaggcc tcgcgcaaaa ccagggcgcc gcggctccgc gctccggctg agggctccgcg	60
ccgccgcccg ccgctcctt ccgctcggc cgcggcctca gggacggata ctccagcgcg	120
cggttccaac cgaggcccggt ggtttagccc cacgaagatg aactgggcac ccgcaacgtg	180
ctgggctctg ctactggcgg ccgccttcct ctgcgacagc ggcgagcca agggcgggccg	240
cggaggtgcg cggggcagtg ccgggggagg ggtccgcggg ggtgcgcgcg gggcctcgag	300
ggtgcgctg aggccggcgc agcgtacgg tgccccgggc tcctccctgc gcgtggctgc	360
cgccggggcg gcagccgggg cggcggcggg agcgcccgcg ggctggcgcg cgggctcggg	420
ctggagaagg gccgcgggac ccggggaacg cggcctggag gacgaggagg acggggtgcc	480
cggaggcaac gggacaggcc ccggcatctc cagctaccgg gcgtggactt cgggcgctgg	540
acccacgcgc ggcccgctc tctgtctcgt gctgggcggc gccctcgag ccctggggct	600
gctgcggccc taggcctggc tgggctcggg gaccacatct ggccccggc ccgcgccatc	660
ccccaggatc ctccggcctg ggctccccct tcctcccttg ccacgggtct tggagcccca	720

ctgggtgcag gagctgctgg ctgtccctgt ggacccgccca tccaccgtcc tgcccacgcc	780
gcctcagcct gccacctccc acctagagga gaccatgggc cctgccccac ccactccagg	840
atgttagggt cccctcagcc aaaaaggcag ctgcctgtgg ctctgtacc aaccgcccag	900
ccacgtcca tcgccgccca aaggagggtg ccaaggccag gaaccaagc caccggtgt	960
cccctgcct gcccaggggc cgtgtgtact caggggcagg gaggcgacat caggctggtt	1020
ctgccactga gccctgagg aatctgacct tccccaaaag aagcagtga atggacaaa	1080
ggacttaaga atttgggggg aagtgaggga aaaacgttag gtgctaacca cctgcccaga	1140
agagtggatc tcacagccca ggaacattcc caagcaggaa aaccgtccgt ccgaggaacg	1200
tccatcctgg ctctctgcgg ctggtgggaa aacacacct gccctgaggg gctgtccagg	1260
ccttctcccc cacacctca ggccgagatc cgtgagagac ccactttgct ccaacaactt	1320
gaaacaagtc actttacct ctttaggacc cattttgggg gggaaaaacc aacacattcc	1380
agagctttcc aagtccttg aattcagggt tcacattcag ggatcacaca gttctgcctg	1440
ttctcagggc acagcaactg ccaatccgc tgaagaggcc tccctgggca cagcacaggc	1500
tgcacggtgc acgatttcc ctgaaggcag ccccttcttc ggaagcagct gttccaggcc	1560
tcggaacagg gcctgggtat ccgcgtggtg ggctggcagc tgacggcctg ctcagtggag	1620
ccaggagcta actcagacct caaagcaagc agggggccag tggcggggcc cagcggccag	1680
caggacacct atgcaagagg ctgagcccc caacatccaa ggacaggaga gacatggagt	1740
ggcgtggac agtcacgaca aggacttgc tccagcactg gacacacctg tgttaagacc	1800
agccctctgc ttcccagtc cgccagcctg gggcatctc catgggtca gcactgagag	1860
gtcttgggtc tgccacgttc tctagctctc cagtcacca ctcatccagg gtaggagggg	1920
ttctccctgc ccccccgct ggccttggga tctcacctc tccatgtct ggggacagcc	1980
tcgcctcag ccggactgca tccctcctgg gcctgagcct cgggactcag tggacacaa	2040
agtcaagacc agcaccacc acgggccctg ccagcctctg ccttccccag ctggcctggg	2100
ttctggcctg ggtgaggatc tggaagctgt tggcaggact caaccaagca ctgctctcta	2160
gtccagggc actaagccac aggaggcagc gccctgcagc ctccgtcca cactgccagc	2220
aatgccctg gccagtgag ccagacgt cctccacccc ttccagacca agctcaacgc	2280
ctccaagacc agcaggccaa ggccaagccc tgcctcagat cctcataggc agagaagccc	2340
ttctgacatt tccccagga ggcagggggt ggtctgagtc tccacacagc agagagaccc	2400
accggagccc cctcaacttt gcagatgcc acctggaaaa tgggtgagc tgcaccagac	2460

cctcacacac cacagcactg caagctgatg gaatgttcca gttatgatgg acatttcgtg 2520  
atctgcaatg actgttgatt cagcacatta gcatctgaca cagccaacct gaatacttcc 2580  
tgccccaggc ggtcagggtt atggcacgat gcaggtggca ctcaggggct aacttcaggc 2640  
tgatgagtgt gtggggtatg gggcagcaga ggagccagc cagcaaagag gggccactga 2700  
gcaccagggc cctggtggag gctgctgtgg gacggtcagg ccaccaccgc aaagaggcag 2760  
ccggagcttc tgcacaggat gtccctggcc ccaggtcctg cagcacctta gtccatacta 2820  
ccagcccccac ccaccttctt tctcttccc tcttctagga cacaggctgt ggacccttc 2880

aggtgcacta taatggggct ggagggggccc ccacatctct cagccccact aatgcagaat 2940  
cccactaccc gtgagctaga aggtgctcag aggccagggg tctctactgc ccatgccggg 3000  
cggccttcca gtcatcgac agcaaagcca tgtgcagggc gtccccctca accctgccct 3060  
gaacatgccc cagggcactg aggggcgaag ccagtgtctg ggctctgctg ctgggagtct 3120  
ctggtctgtg tctgtgtgtg cctgtaagtg tgaataaac ctctctgatg gcaaaaaaaaa 3180  
aaaaaaaa 3188

<210> 6

<211> 3823

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

gggcacctcc tccactgcg ggcaaaggc aggcagttcg tgcgcggaca caagcactgg 60  
cggaccgtgg ccatggcggg cgctgagtgg aagtcgctgg aggaatgctt ggagaagcac 120  
ctgccgtcc ccgacttga ggaagtgaag cgcgttctct atggcaagga actcaggaag 180  
cttgatctgc ccaggaagc ttctgaagct gcctccagag aagactttga actgcaggga 240  
tatgcctttg aagcagcga ggagcagctg agacgacccc gcattgtgca cgtgggctg 300  
gttcagaaca gaatccccct ccccgcaaat gccctgtgg cagaacaggt ctctgccctt 360  
catagacgca taaaggtat cgtagagggt gctgcaatgt gtggagtcaa catcatctgt 420

ttccaggaag catggactat gccctttgcc tctgtacga gagagaagct tcttggaca 480  
gaatttctg agtcagcaga ggatggggccc accaccagat tctgtcagaa gctggcgaag 540  
aaccatgaca tgggtgtgtg gtctcccatc ctggaacgag acagcgagca tggggatgtt 600  
ttgtggaata cagccgttgt gatctccaat tccggagcag tcctgggaaa gaccaggaaa 660  
aaccacatcc ccagagtggg tgatttcaac gactcaactt actacatgga gggaaacctg 720  
ggccaccccg tgttccagac gcagttcgga aggatcgagg tgaacatttg ctacggcg 780

caccaccccc tcaactggct tatgtacagc atcaacgggg ctgagatcat cttcaacccc	840
tcggccacga taggagcact cagcgagtcc ctgtggccca tcgaggccag aaacgcagcc	900
attgccaatc actgcttcac ctgcgccatc aatcgagtgg gcaccgagca cttcccgaac	960
gagtttacct cgggagatgg aaagaaagct caccaggact ttggctactt ttatggctcg	1020
agctatgtgg cagccccga cagcagccgg actcctgggc tgtcccgtag ccgggatgga	1080
ctgctagtgt ctaagctcga cctaaacctc tgccagcagg tgaatgatgt ctggaacttc	1140
aagatgacgg gcaggtatga gatgtacga cgggagctcg ccgaagctgt caagtccaac	1200
tacagcccca ccatcgtgaa agagtagccg gcttcagtgc ctgccttggg gtgaggaaga	1260
cacctctgcc ccagtggatt agcaagtgtg gcaggcttaa catgtccagg ttctcccaa	1320
taacattgtc caggttggtt ttaaaattcc caggcagggg gagagtggca tggggagtga	1380
cttcttaatg ggtaaggggc tgcttacttc tggggtatgt gaaatgttg gggactaggt	1440
agaggtgaat gtactaaatg ccactgaatt tgtatacttc agaatgttg ttatgtaaat	1500
tttacctcaa ctaaaaaaaaa aaatgccag gtactgcttg tgcaggtgga tttaggtta	1560
ggcagatgat gctgtccatc ccgtacacca gtgggaagag ggtgagggt gatccagaga	1620
ccctgagcct acagcaaggc tgtgtgggt cggatggtct ttggatgtgt cagcttagct	1680
aggccacagt caccagtaat tcaatcagac actaatctag gtatttctgt gaaggtattt	1740
tgtagatgtg acagaagtc attcccaatt gactaagtaa gtgagattat ctcagataat	1800
ctgggtcagc ctgacctgat tagtcagaag gcctaaagaa cagagctaag ggtttccctg	1860
aggaagaaat tctgcctgag gacagcagcc cagtgccttg cgagagttcc tgacagtctg	1920
cccttctgat agcctgcctc acagagttaa gacatgacta gccagctcct acaatcactg	1980
aagtcaattc cttgcaataa atctcaatat atcccctact ggttctgctt ctctagtga	2040
atctgactga tacagatttt ggtgccaaaa gtggttctag aaaaatagaa tcttaaagat	2100
gagttttctg cattggttct ggattttttt agaattcttc cctagtttga ttgaacttaa	2160
aggcatcaat gactctattt ccatagagtc agggtaaaga gggtagttgg tagtccatgg	2220
catggtgcag caatagtat ttatgtgcga gactagccat cagccatcag ttgtgcccc	2280
gagttccagc ctgcccttc tgatggcttg tctgtggat atcagacttg cctgaccaga	2340
ttccatcacc atagaaggta atttgttgca ctaaatcctt ttatatctct atccatcacc	2400
tactaattct gctagtctg ctaatgtggt tgagctccat ttacacatc agattactca	2460
cttctctaca ccttggtttt tacatctgta aaatgggact gggccaggtg tgggtgggtg	2520



gcttatgcct gtgatccag cactttggga agccaaggca ggtggatcac ttgaggtcag	2580
gagttcaaga ccagcctggc caacacggcg aaaccccgtc tctactaaaa atacaaaaat	2640
tagctgggca tggtagcgca tgcctataat cccagctact cagcaggctg aggtatgaga	2700
attgcttgaa tctgggaggg aaaggctgca gtgagctgag atcacgccac tgtgctccag	2760
cctggacaac agagtgagag cctatctcca aaaaaaaaaa ggggtgggga ccatattcct	2820
gctttatgtc aagacactgg taagagacag actagatggg ccaggagacc ccttggcagt	2880
tatcagtga ggcctatatt agccctgtcc ctgaacaaca cggcaagagc ccaacctgcc	2940
aagtctcaaa tagcagttaa ccagagtatc gggttggagg tggggttgag attctgtaat	3000
tccccgctta ttgttccaa tcagagaagg cagccagaga aggcagcttc atcccttcac	3060
tggcccagca gctgaactat atggaaacct ccatgtcagg gctagggtac tcttgacag	3120
ccaccaagga tgagaaacct tgatggagct gcctggccac agctctgcgg taacttcctt	3180
gaactctctg tgctgcaggt ttctacttta cctaattggc cttcttgac ctttaaaaaa	3240
aaaaaaaaa aattccagtc ctacagacac agtgagcttt ttgcctgtt cctttagctt	3300
tcaaaattta gtgtcagcca aggcgggcag atcacaaggt caagagatgg aaaccatcct	3360
ggccaacatg gtgaaacccc atctctacta aaaatacaaa aattagctgg gtatggtggc	3420
gcacgcctgt agtcccaggt actcagcagg ctgagggagg agaatactt gaacccggga	3480
ggcggaggtt gcagtgagcc gagatcacac cactgcactc cagcttggcg acagagtgag	3540
actccgtctc aaaaaacaaa acaaaacaaa acaccttagt gtttttggtt tctagagggt	3600
gtaatcaacc taatacagaa gccagcttag gtgacaaatt ggtacatttg tgaaacaggc	3660
atgaataaat ggaccacaac tctttgatta tctgcaactc tcattgcctg gaaacagaac	3720
agtcaggccc atcttagagt atgcaggccc tgtacagcca aggtcatttc aaggtttaac	3780
tcatccctgg aacatgcaga tgctcagtaa acatttgaat gaa	3823
<210> 7	
<211> 1660	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 7	
gcccagtctg gaaagtgagg agcgtctttg cccggccgcc atcccatcta ggaagtgagg	60
agcgcctctt cccggccgcc atcccatcta ggaagtgagg agcgtctctg cccggccgcc	120
catcgtctga gatgtgggga gtgcctttgc cccgccgcc cgtctgggat gtgaggagcg	180
cctctgcccg gtcgcgacct cgtctgggag ctctgtagg catctcctga attaagcaac	240

acagaaaagt cctctgaagt cactgaatcc cataaaggct ctctaccttt agcacaaggg 300

aggtctttcac cactggacaa agaaggaacg ataaggggtc atcagactgg ggtttctgag 360

catggattca accateccag tcttgggtac agaactgaca ccaatcaacg gacgtgagga 420

gactccttgc tacaagcaga ccctgagctt cacggggctg acgtgcatcg tttcccttgt 480

cgcgctgaca ggaacgcgg ttgtgctctg gctcctgggc tgccgcatgc gcaggaacgc 540

tgtctccatc tacatectca acctggctgc ggccgacttc ctcttctta gcggccacat 600

tatatgttcg ccgttacgcc tcatcaatat ccgccatccc atctccaaaa tctcagtc 660

tgtgatgacc tttccctact ttataggcct aagcatgctg agcgccatca gcaccgagcg 720

ctgcctgtcc atcctgtggc ccatctggta ccaactgccg cgccccagat acctgtcatc 780

agtcattgtg gtctgtctct gggccctgtc cctgtgcgg agtatcctgg agtggatgtt 840

ctgtgacttc ctgtttagt gtgctaattc tgtttgtgt gaaacgtcag atttcattac 900

aatcgctgg ctggtttttt tatgtgtgt tctctgtggg tccagcctgg tctgtctgtt 960

caggattctc tgtggatccc ggaagatgcc gctgaccagg ctgtacgtga ccatcctct 1020

cacagtgtg gtcttctcc tctgtggcct gccctttggc attcagtggg cctgttttc 1080

caggatccac ctggattgga aagtcttatt ttgtcatgtg catctagttt ccattttct 1140

gtccgtcttt aacagcagt ccaaccccat catctacttc ttcgtgggt cctttaggca 1200

gcgtcaaat aggcagaacc tgaagctgtt tctccagagg gctctgcagg acacgcctga 1260

ggtggatgaa ggtggagggt ggcttctca ggaacccctg gagctgtcgg gaagcagatt 1320

ggagcagtga ggaagaacct ctgccctgtc agacaggact ttgagagcaa tgctgccctg 1380

ccacccttga caattatag catctttctt agccttctgc ctcaaaaatg tctcagtgtt 1440

ccctcaaggt cttcgaatag atgtttatct aacctgacag ttgcagtttt cacccatgga 1500

aagcattagt ctgacagtac aatgtttgga ttctccttga tattaccaat acattttccc 1560

tgttatcttg cactgaatct ttctactga acacttttc tgcacttttc attgtaataa 1620

aaggagtgc tgtccacaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1660

<210> 8

<211> 1480

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

agcatcttcg taagcctgga ttgtcacca gctttcattt cagctcctgt aggcatctcc 60

tgaattaagc aacacagaaa agtctcttga agtcactgaa tcccataaag gctctctacc 120

tttagcaciaa gggaggtctt caccactgga caaagaagga acgataaggg gtcacacagac	180
tggggtttct gagcatggat tcaacatcc cagtcttggg tacagaactg acaccaatca	240
acggacgtga ggagactcct tgctacaagc agaccctgag cttcacgggg ctgacgtgca	300
tcgtttccct tgctgcgtg acaggaaacg cggttgtgct ctggctcctg ggctgccgca	360
tgccagga cgtgtctcc atctacatcc tcaacctggg cgcggccgac ttcctcttcc	420
ttagcggcca cattatatgt tcgccgttac gcctcatcaa tatccgcat cccatctcca	480
aaatcctcag tctgtgatg acctttccct actttatagg cctaagcatg ctgagcgcca	540
tcagcaccga gcgtgcctg tccatcctgt ggcccatctg gtaccactgc cgcgcacca	600
gatacctgtc atcagtcagt tgtgtcctgc tctgggcct gtccctgtg cggagtatcc	660
tggagtggat gttctgtgac ttcctgttta gtggtgctaa ttctgtttgg tgtgaaacgt	720
cagatttcat tacaatcgcg tggctgggtt ttttatgtgt ggttctctgt gggccagcc	780
tggctctgct ggtcaggatt ctctgtggat cccggaagat gccgctgacc aggctgtacg	840
tgaccatcct cctcacagtg ctggtcttcc tctctgtgg cctgcccttt ggcattcagt	900
gggcctgtt ttcaggatc cacctggatt ggaaagtctt atttgtcat gtgcatctag	960
tttccatttt cctgtccgt cttaacagca gtgccaacc catcatttac tttctgtgg	1020
gtccttttag gcagcgtcaa aataggcaga acctgaagct ggttctccag agggctctgc	1080
aggacacgcc tgagggtgat gaagggtgag ggtggcttcc tcaggaaacc ctggagctgt	1140
cgggaagcag attggagcag tgaggaagaa cctctgcct gtcagacagg actttgagag	1200
caatgtgcc ctgccacct tgacaattat atgcatttt cttagccttc tgcctcagaa	1260
atgtctcagt ggtccctcaa ggtcttcgaa tagatgttta tctaacctga cagttgcagt	1320
tttaccat ggaagcatt agtctgacag tacaatgttt ggattctcct tgatattacc	1380
aatacatttt cctgttacc ttgactgaa tcttctac tgaacattt ttctgcatt	1440
ttcattgtaa taaaaggagt tgctgtccac aacctaaaa	1480