



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201000115 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：098119196

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 06 月 09 日

(51)Int. Cl.：

A61K38/08 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/06/11

美國

61/060,538

(71)申請人：腫瘤療法 科學股份有限公司 (日本) ONCOTHERAPY SCIENCE, INC. (JP)
日本

(72)發明人：角田卓也 TSUNODA, TAKUYA (JP)；大澤龍司 OHSAWA, RYUJI (JP)；吉村祥子 YOSHIMURA, SACHIKO (JP)；渡邊朝久 WATANABE, TOMOHISA (JP)

(74)代理人：洪澄文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：7 共 137 頁

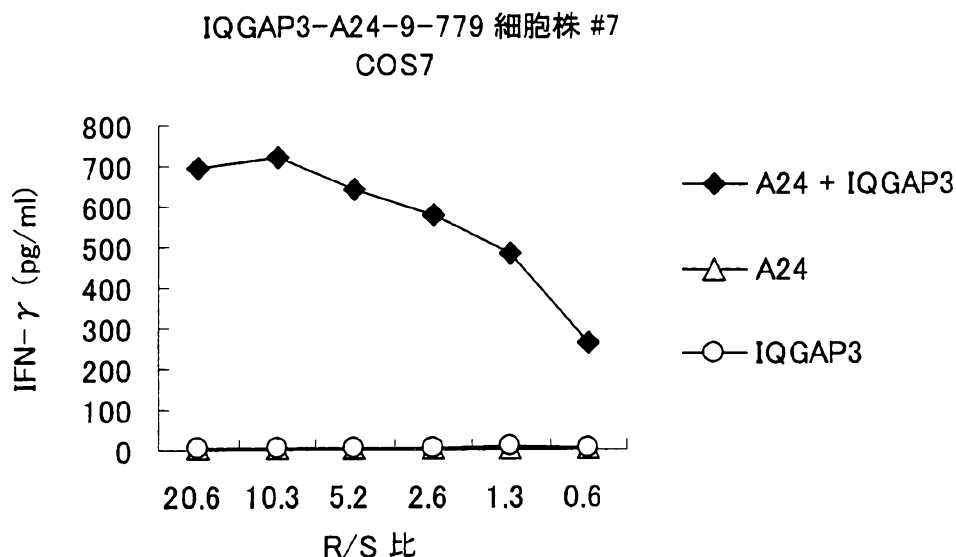
(54)名稱

I Q G A P 3 抗原決定位胜肽及含此胜肽之疫苗

IQGAP3 EPI TOPE PEPTIDES AND VACCINES CONTAINING THE SAME

(57)摘要

本發明提供一種癌症疫苗，特別揭示一種衍生自 IQGAP3 之抗原決定胜肽，其會誘發 CTLs。本發明亦提供一種可專一性辨識具 HLA-A24 或 HLA-A02 的 CTLs。本發明更提供可表現任何胜肽之抗原呈現細胞與外吐小體，以及誘發此抗原呈現細胞與外吐小體的方法。本發明更提供一種醫藥組成物，其中含有作為活性成份的 IQGAP3 聚胜肽或聚核酸以及外吐小體與抗原呈現細胞。此外，本發明更提供一種治療及/或預防癌症（腫瘤）及/或預防其術後的復發的方法，以及促進抗腫瘤免疫的方法，其藉由 IQGAP3 聚胜肽、編碼此胜肽之聚核酸、表現此胜肽之外吐小體或抗原呈現細胞、或本發明之醫藥組成物。所針對的癌症包括，但不限於，腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201000115 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：098119196

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 06 月 09 日

(51)Int. Cl.:

A61K38/08 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/06/11

美國

61/060,538

(71)申請人：腫瘤療法 科學股份有限公司 (日本) ONCOTHERAPY SCIENCE, INC. (JP)
日本

(72)發明人：角田卓也 TSUNODA, TAKUYA (JP)；大澤龍司 OHSAWA, RYUJI (JP)；吉村祥子 YOSHIMURA, SACHIKO (JP)；渡邊朝久 WATANABE, TOMOHISA (JP)

(74)代理人：洪澄文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：7 共 137 頁

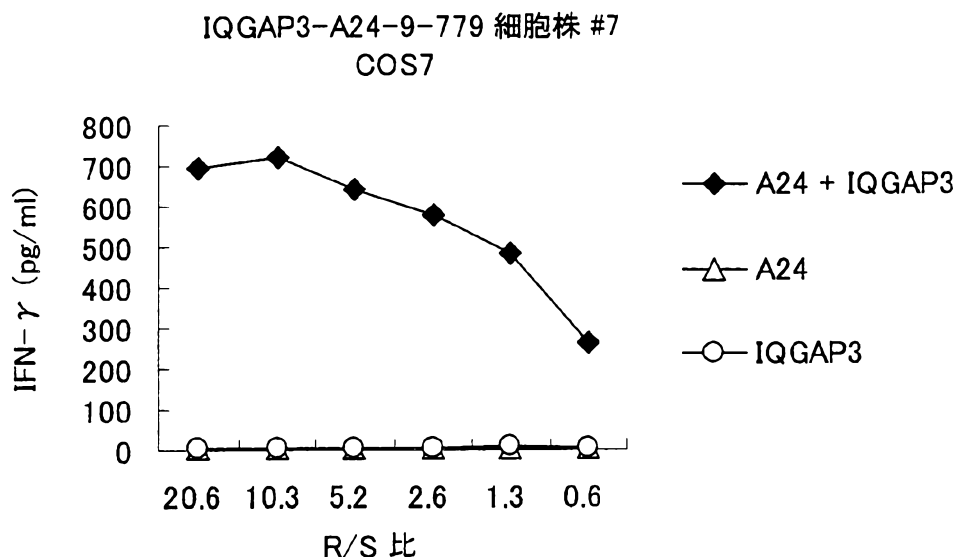
(54)名稱

I Q G A P 3 抗原決定位胜肽及含此胜肽之疫苗

IQGAP3 EPI TOPE PEPTIDES AND VACCINES CONTAINING THE SAME

(57)摘要

本發明提供一種癌症疫苗，特別揭示一種衍生自 IQGAP3 之抗原決定胜肽，其會誘發 CTLs。本發明亦提供一種可專一性辨識具 HLA-A24 或 HLA-A02 的 CTLs。本發明更提供可表現任何胜肽之抗原呈現細胞與外吐小體，以及誘發此抗原呈現細胞與外吐小體的方法。本發明更提供一種醫藥組成物，其中含有作為活性成份的 IQGAP3 聚胜肽或聚核酸以及外吐小體與抗原呈現細胞。此外，本發明更提供一種治療及/或預防癌症（腫瘤）及/或預防其術後的復發的方法，以及促進抗腫瘤免疫的方法，其藉由 IQGAP3 聚胜肽、編碼此胜肽之聚核酸、表現此胜肽之外吐小體或抗原呈現細胞、或本發明之醫藥組成物。所針對的癌症包括，但不限於，腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌。



esophageal, gastric, lung, breast, bladder and pancreatic cancer.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(3)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於生物科學的領域，更具體地來說係有關於癌症治療的領域。本發明特別有關於新穎胜肽，其為極有效的癌疫苗以及治療和預防腫瘤的藥物。

【先前技術】

目前已證實 CD8 陽性細胞毒性 T 淋巴細胞(以下簡稱 CTLs)會辨認位於主要組織相容複合體(MHC)第一類分子上之衍生自腫瘤相關抗原(以下簡稱 TAAs)的抗原決定位胜肽，並殺死腫瘤細胞。雖然黑色素瘤抗原(MAGE)家族係第一個被發現的腫瘤相關抗原，許多其他的腫瘤相關抗原已經由免疫方法發現(Boon T, Int J Cancer 1993 May 8, 54(2): 177-80; Boon T & van der Bruggen P, J Exp Med

1996 Mar 1, 183(3): 725-9), 而其中一些腫瘤相關抗原現在則作為臨床研究中的免疫治療標靶。

鑑別可能會引發與特定抗腫瘤免疫反應的新 TAAs, 可作為各種癌症中胜肽接種策略之臨床使用發展的依據 (Harris CC, J Natl Cancer Inst 1996 Oct 16, 88(20): 1442-55; Butterfield LH et al., Cancer Res 1999 Jul 1, 59(13): 3134-42; Vissers JL et al., Cancer Res 1999 Nov 1, 59(21): 5554-9; van der Burg SH et al., J Immunol 1996 May 1, 156(9): 3308-14; Tanaka F et al., Cancer Res 1997 Oct 15, 57(20): 4465-8; Fujie T et al., Int J Cancer 1999 Jan 18, 80(2): 169-72; Kikuchi M et al., Int J Cancer 1999 May 5, 81(3): 459-66; Oiso M et al., Int J Cancer 1999 May 5, 81(3): 387-94)。至今已有許多文獻報導使用這些腫瘤相關抗原衍生胜肽的數個臨床試驗。很不幸地, 目前在這些癌症疫苗試驗中只能觀察到低客觀反應率(objective response rate)(Belli F et al., J Clin Oncol 2002 Oct 15, 20(20): 4169-80; Coulie PG et al., Immunol Rev 2002 Oct, 188: 33-42; Rosenberg SA et al., Nat Med 2004 Sep, 10(9): 909-15)。

由於 TTA 可降低因 TAA 刪除、突變或向下調控所產生的癌細胞免疫逃逸, 因此 TAA 對癌細胞的增生及存活是不可或缺的, 且是免疫治療的重要標靶。

IQGAPs, 含有 GTPase 活性蛋白的 IQ 模體(domain), 已知可藉由與 Cdc42、Rac 及 RhoA 的反應來調控許多肌動

蛋白骨架活性。所有的 IQGAP 家族蛋白皆包括不變區 (conserved domain)，其包含與 Ras-GAP 相關之模體、IQ 模體及 calponin 同源區。IQGAPs 已知為活化 Rac1 及 Cdc42 的受動器，且直接與肌動蛋白絲反應。目前對染色體 I 同源 IQGAP1 之 IQGAP3 序列研究發現，IQGAP3 (GenBank 編號：NM_178229，序列識別號：153，其編碼序列識別號：154) 為一新的 IQGAP 家族成員 (Wang S et al., J Cell Sci 2007 Feb 15, 120: 567-77)。此外，以含 23,040 個基因的 genome-wide cDNA 晶片進行分析，發現在胃癌中 IQGAP3 基因的表現被向上調控 (Jinawath N et al., AACR 2006)。事實上，已有許多公開文獻指出在許多癌細胞中 IQGAP3 被向上調控，例如膀胱癌 (W02006/085684)、腎臟癌 (W02007/013575)、肺癌 (W02004/031413 及 W02007/013665)、食道癌 (W02007/013671)、胰臟癌 (W02004/031412) 及乳癌，上述內容皆屬於本發明之範疇。由對人類正常組織的表現分析，可在睪丸、小腸、及結腸中發現 IQGAP3 的轉錄。因此，IQGAP3 被視為是一適當的癌症免疫治療標靶，且可預期其衍生之抗原決定性肽可用於癌症免疫治療，以治療各種癌症。

【發明內容】

本發明係以 IQGAP3 作為適當的免疫療法標靶。由於免疫系統認為 TAA 為自身物質，因此不具有天生的免疫抗原性，故發現適當的標靶物變的極為重要。由於已發現 IQGAP3

在癌症(例如,膀胱癌、腎臟癌、肺癌、食道癌、胃癌、乳癌及胰臟癌)中可被向上誘導,因此本發明進一步針對細胞分裂週期 1(CDA1)蛋白(IQGAP3)(序列識別號:154,其被GeneBank編號NM_178229(序列識別號:153)所編碼)進行研究。特別是,含抗原呈現細胞之IQGAP3基因產物可誘發對於相對應分子具有專一性的CTLs。利用衍生自IQGAP3的HLA-A*24及HLA-A*02結合候選胜肽刺激從健康捐贈者得到的週邊血液單核細胞(PBMCs)。本發明進一步地提供已確立CTLs,該細胞毒性T淋巴細胞專一地辨識以個別候選胜肽脈動產生的(pulsed)HLA-A24或HLA-A20陽性標的細胞,以及辨識HLA-A24之表位胜肽,此表位胜肽可引強烈與專一發對抗IQGAP3的免疫反應。這些結果證明IQGAP3具有強大的免疫性,而其抗原決定位為腫瘤免疫治療的有效標的。

因此,本發明提供一種具有細胞毒性T細胞誘發性之分離的胜肽,以及一選自序列識別號:2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148及150的胺基酸序列。此外,本發明可修飾序列識別號:2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148及150的胺基酸序列,將其中1個、2個或以上之胺基酸被取代或增加的,但此修改的胜肽仍保留原

始的細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性。

當投予本發明之胜肽至一個體時，該胜肽存在抗原表現或外吐小體的表面上，然後誘發以個別胜肽為目標的 CTLs。因此，根據本發明的觀點，本發明也提供呈現本發明的任何胜肽的抗原呈現細胞與外吐小體，以及提供用以引發抗原呈現之細胞的方法。

抗腫瘤免疫反應係經由投予本發明 IQGAP3 或編碼該多肽之多核苷酸，以及表現 IQGAP3 多胜肽之外吐小體與抗原呈現細胞。因此，本發明提供含有多胜肽或含有編碼該多胜肽之多核酸的藥劑，以及作為其活性成分的外吐小體與抗原表現細胞。本發明之藥劑係用來作為疫苗。

此外，本發明提供用來治療及/或預防癌症(腫瘤)及/或預防其術後復發的方法，以及提供誘發 CTLs 的方法、誘發抵抗腫瘤相關的內皮細胞層而產生之免疫反應與抗腫瘤免疫力的方法，該方法包括以下步驟：投與 IQGAP3 多胜肽，編碼 IQGAP3 多胜肽、外吐小體或表現 IQGAP3 多胜肽之抗原表現細胞的多核苷酸，或本發明之藥劑。另外，本發明之 CTLs 也可作為對抗癌症的疫苗。

本發明可用於治療任何與 IQGAP3 過度表現相關的疾病，例如癌症，包括，膀胱癌、腎臟癌、肺癌、食道癌、乳癌、胰臟癌及胃癌。較佳之目標癌症包括，但不限於，胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌。

除上述之外，由下列之圖示及實施例可更了解本發明之目的及特徵。然而，應了解的是本發明之上述內容及以

下之實施方式為本發明之實施例，且不可用來限制本發明或本發明其他之實施例。特別是，本文之特定實施例僅在於描述本發明之特徵，而不可用於限制本發明。熟悉此技術領域人士自可了解說明書中未揭示的其他變化。同樣地，熟悉此技術領域人士可可由下文清楚了解本發明其他的目的、特徵及優點。另外，也可結合上述內容及本文中之實施例、數據、圖示、及所有參考文獻以了解本發明之目的、特徵及優點。

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵、和優點能更明顯易懂，下文特舉較佳實施例，並配合所附圖示，作詳細說明如下：

【實施方式】

雖然可使用任何與本文所述類似的材料及方法來實施及測試本發明實施例，但本文並未揭示本發明最佳的方法、元件及材料。然而，除了本發明之材料及方法外，應可了解本發明並不限於本文中特定的尺寸、形狀、大小、材料、教學法、步驟等，其可由例行的實驗及最佳化來改變。另應了解的是，本文中所述之專有術語僅限於特定實施例之用途，並不可用於限定本發明之範疇，本發明的範疇為申請專利範圍所述之範圍。

本文中所述的每個公開文獻、專利或專利申請案皆屬於本發明之範疇。然而，本發明之內容並未揭示於前案中。

I. 定義

除非特別說明，本發明中所有的技術及科學用語皆與一般熟悉此技術領域人士所了解的定義相同。然而，若有不一致的時候，將以本發明之定義為主。

除非有特別說明，否則本發明中所使用的“一種”、“一個”、“該”或“該等”係指“至少一種”。

本發明中所述“多胜肽”、“胜肽”或“蛋白質”係指胺基酸殘基的聚合物，該等名詞在本文中可互換使用。該等名詞應用於胺基酸聚合物—其中之一種或以上之胺基酸殘基係修飾的殘基或非天然產生的殘基（例如：對應之天然胺基酸的人工化學模擬物質），以及應用於天然產生的胺基酸聚合物。

本發明中的“胺基酸”係指天然產生與合成的胺基酸以及胺基酸類似物與功能與天然胺基酸類似的胺基酸模擬物。天然產生的胺基酸係那些被基因密碼編碼的胺基酸以及那些在細胞中轉譯後被修飾的胺基酸（例如：羥脯胺酸（hydroxyproline）、 γ -羧基谷氨酸（carboxyglutamate）與 O-磷絲胺酸（phosphoserine））。“胺基酸類似物”係指與天然胺基酸具有相同之基本化學結構（一個結合至氫、羧基、胺基與 R 基團的 α 碳）但具有一修飾之 R 基團或修飾之骨架（例如：高絲胺酸（homoserine）、正白胺酸（norleucine）、甲硫胺酸（methionine）、亞砜（sulfoxide）、甲硫胺酸甲基鎂（methionine methyl sulfonium））的化合物。“胺基酸模擬物”係指與一般胺基

酸具有相似功能但結構不同的化學化合物。

本文中的胺基酸可用一般所知的 3 個字母表示或以 IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission 建議的單一字母表示。

除非特別說明，否則本發明中的“基因”、“多核苷酸”、“核苷酸”與“核酸”可交互使用，這些名詞以其常用的單一字母密碼表示。

除非特別說明，本發明中所述之“癌症”係指過度表現 IQGAP3 基因的癌症，包括，但不限於，膀胱癌、腎臟癌、肺癌、食道癌、胃癌、乳癌及胰臟癌。

除非特別說明，本發明中所述之“細胞毒性 T 淋巴細胞”、“細胞毒性 T 細胞”及“CTLs”係指 T 淋巴細胞的子群，其可辨識非自身的細胞（例如，腫瘤細胞、病毒感染細胞），並促使此細胞的死亡。

II. 胜肽

為了證明衍生自 IQGAP3 胜肽的功能為被 CTLs 辨識的抗原，因此分析衍生自 IQGAP3 的胜肽（序列識別號：154）以確定其是否為被人類白血球抗原-A24（以下簡稱 HLA-A24）或-A02（以下簡稱 HLA-A02）（其為常見的人類白血球抗原等位基因（HLA alleles））所限定的抗原表位（Date Y et al., Tissue Antigens 47: 93-101, 1996；Kondo A et al., J Immunol 155: 4307-12, 1995；Kubo RT et al., J Immunol 152: 3913-24, 1994）。利用對於 HLA-A24 及 HLA-A02 的結合親合力，可鑑定出可與 IQGAP3 衍生胜肽結合的 HLA-A24

及 HLA-A20 候選物。將載有這些胜肽的樹狀細胞在體外刺激 T 細胞之後，利用下列每一胜肽順利地建立細胞毒性 T 淋巴細胞。

IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)、
IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)、
IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)、
IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)、
IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)、
IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)、
IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)、
IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)、
IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)、
IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)、
IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)、
IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)、
IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)、
IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)、
IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)、
IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)、
IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)、
IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)、
IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、
IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、
IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、

IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、
IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、
IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)、
IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、
IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、
IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)、
IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、
IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、
IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、
IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、
IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、
IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、
IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)及
IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)。

這些已建立的 CTL 顯示 CTL 對抗以個別胜肽衝擊之目標細胞所產生之有效的專一活性。這些結果證明 IQGAP3 係一種被 CTL 辨識的抗原，而此胜肽係被 HLA-A24 或 HLA-A20 所限定之 IQGAP3 抗原決定胜肽。

由於 IQGAP3 基因在大部分癌症病人(例如，胃癌、腎臟癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌)身上皆過度表現，因此該基因係一良好的評估目標。因此，本發明提供由 IQGAP3 獲得之 CTL 辨識抗原決定位(CTL-recognized epitopes)的九胜肽(由 9 個胺基酸殘基組成的胜肽)與十胜肽(由 10 個胺基酸殘基組成的胜肽)。在本發明中，九胜肽或十胜肽

的胺基酸序列較佳選自於序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150。

一般來說，現在在網際網路上可獲得軟體程式，例如 Parker KC et al., J Immunol 1994 Jan 1, 152(1): 163-75 所述的程式可經由電腦模擬(in silico)計算各種胜肽與人類白血球抗原之間的結合親合力。舉例來說，與人類白血球抗原的結合親合力可利用 Parker KC et al., J Immunol 1994 Jan 1, 152(1): 163-75 與 Kuzushima K et al., Blood 2001, 98(6): 1872-81 所述的方法來測量。確定結合親合力的方法描述於 Journal of Immunological Methods, 1995, 185: 181-190. 與 Protein Science, 2000, 9: 1838-1846 等文獻中。因此，本發明包含會與 HLA 抗原結合之 IQGAP3 的胜肽。

可在本發明之九胜肽及十胜肽側邊加上胺基酸，此胜肽仍然具有其可被 CTL 誘發的能力。此具有 CTL 刺激能力的胜肽一般來說少於約 40 個胺基酸，通常少於約 20 個胺基酸，通常少於約 15 個胺基酸。本發明含九胜肽及十胜肽(例如，由序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 或 150 之胺基酸序列所組成之胜肽)的特定的胺基酸序列並無特別限制，可由任何胺基酸所組成，因

此其並不會降低 CTL 的誘發性。因此，本發明更提供具有 CTL 誘發性的胜肽，且此胺基酸序列擇自於序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 或 150。

一般已知，1、2 或以上個胺基酸的修飾並不會影響蛋白質的功能，且在一些情況下甚至可增加原始蛋白質之期望的功能。事實上，已知修飾的胜肽（即由修飾之胺基酸序列組成的胜肽，修飾（即取代，增加或插入）1、2 或數個胺基酸殘基至一原始的參考序列）能保持原始胜肽的生物活性（Mark et al., Proc Natl Acad Sci USA 1984, 81: 5662-6; Zoller and Smith, Nucleic Acids Res 1982, 10: 6487-500; Dalbadie-McFarland et al., Proc Natl Acad Sci USA 1982, 79: 6409-13）。因此，在一實施例中，本發明具有 CTL 誘發性的胜肽可由含有序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150 胺基酸序列的胺基酸組成，其中之 1 個、2 個或數個以上的胺基酸係可被插入、添加、去除及/或取代。

熟悉此技術領域人士可辨識到改變單一胺基酸或一小部分胺基酸的特定添加或取代作用會保留原始胺基酸側鏈的性質，因此稱該作用為“保留取代作用（conservative substitution）”或“保留修飾作用（conservative

modification)”，其中蛋白質之修改可產生具有與原蛋白功能相似的蛋白質。良好胺基酸支鏈特性的保留，例如，疏水性胺基酸(A、I、L、M、F、P、W、Y、V)、親水性胺基酸(R、D、N、C、E、Q、G、H、K、S、T)以及具有以下官能基或共同特性的側鏈：脂肪族側鏈(G、A、V、L、I、P)；含有羥基的側鏈(S、T、Y)；含有硫元子的側鏈(C、M)；含有羧酸與醯胺的側鏈(D、N、E、Q)；含有鹼基的側鏈(R、K、H)；以及含有芳香族的側鏈(H、F、Y、W)。另外，還有以下 8 個基團，其中每個基團含有可互作保留取代作用的胺基酸：

- 1) 丙胺酸(A)，甘胺酸(G)；
- 2) 天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)；
- 3) 天門冬胺酸(N)、麩醯胺酸(Q)；
- 4) 精胺酸(R)、離胺酸(K)；
- 5) 異白胺酸(I)、白胺酸(L)、甲硫胺酸(M)、纈胺酸(V)；
- 6) 苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)、色胺酸(W)；
- 7) 絲胺酸(S)、羥丁胺酸(T)；以及
- 8) 半胱胺酸(C)、甲硫胺酸(M)(參考例如：Creighton, Proteins 1984)。

該等保留特性的修飾胜肽也包含在本發明的胜肽。然而，本發明之胜肽並不限定為此類胜肽，可保留 CTL 誘發性的非保留修飾作用胜肽也包含在本發明中。再者，該修飾之胜肽未排除多態變異體(polymorphic variants)、種

間同系物(interspecies homologues)與 IQGAP3 等位基因(alleles)的 CTL 誘發胜肽。

為了保留必要的 CTL 誘發性，可修改(插入、添加及/或取代)少數(1 個、2 個或數個)或少量百分比的胺基酸。此處的“數個”係指 5 個或以下的胺基酸，例如：4 或 3 個或以下。胺基酸的修改百分比可為 20%或以下，例如：15%以下，10%或 1%至 5%。

本發明之較佳胜肽為 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)、IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)、IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)、IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)、IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)、IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)、IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)、IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)、IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)、IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)、IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)、IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)、IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)、IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)、IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)、IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)、IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)、IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)、IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)、

IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)、IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)及 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)的同源性分析(homology analysis)顯示這些胜肽與衍生自任何其他已知人類基因產物的胜肽不具有顯著的同源性。因此，這降低了它們使用於免疫治療時產生未知或不良免疫反應的可能性。從此觀點來看，這些胜肽可用於引發腫瘤病患(例如，腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌以及胰臟癌)抵抗腫瘤相關之內皮細胞層之 IQGAP3 的免疫力。

當這些胜肽用於免疫治療時，本發明之胜肽存在於細胞或外吐小體的表面，且與 HLA 抗原形成一複合物。因此，除了胜肽的 CTL 誘發性之外，還需選擇對 HLA 抗原具有高度結合親合力的胜肽。該等胜肽可經由取代、插入、移除及/或添加來修飾胺基酸序列殘基以達到較高的結合親合力。除了自然呈現的胜肽之外，由於已知經由結合至人類白血球抗原所呈現之胜肽序列的規則性(J Immunol 1994, 152: 3913; Immunogenetics 1995, 41: 178; J Immunol 1994, 155: 4307)，以此規則性為基礎的修飾作用可用於

本發明的致免疫性胜肽上。例如，也可適當地將其 N 端之第二胺基酸被苯丙胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸或色胺酸取代，及/或將其胺基酸在 C 端被苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、色胺酸或甲硫胺酸取代。為了增加 HLA-A-24 的結合親合力，本發明包含具有序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67 胺基酸序列，其中此胺基酸序列的 N 端第二胺基酸被苯丙胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸或色胺酸取代，及/或此胺基酸序列的 C 端被苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、色胺酸或甲硫胺酸取代。另一方面，當此胺基酸序列的 N 端第 2 個胺基酸置換為白胺酸或甲硫胺酸，及 C 端胺基酸被置換為纈胺酸或白胺酸時，此胜肽具有高 HLA-A02 的親合性。因此，此胜肽具有序列識別號：75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 或 150 的胺基酸序列，其中此胺基酸序列的 N 端第 2 個胺基酸置換為白胺酸或甲硫胺酸，及 C 端胺基酸被置換為纈胺酸或白胺酸。胺基酸的取代並不僅在序列末端，也可在胜肽的 TCR 區域。已有許多研究證實胺基酸取代後之胜肽與原始的胜肽具有相同，甚至更好的活性，例如，CAP1、p53₍₂₆₄₋₂₇₂₎、Her-2/neu₍₃₆₉₋₃₇₇₎ 或 gp100₍₂₀₉₋₂₁₇₎ (Zaremba et al. Cancer Res. 57, 4570-4577, 1997, T. K. Hoffmann et al. J Immunol. (2002) Feb 1;168(3):1338-47., S. O. Dionne et al. Cancer Immunol immunother. (2003) 52: 199-206 and S. O. Dionne et al. Cancer Immunology,

Immunotherapy (2004) 53, 307-314)。

本發明也可將 1 至 2 個胺基酸添加至本發明之胜肽的 N 和 / 或 C 端。此具有高度 HLA 結合親合力及保留 CTL 誘發性的修飾胜肽。

然而，當胜肽序列與具有不同功能之內源性或外源性蛋白質的部分胺基酸序列相同時，可能會引起抵抗特定物質而生的副作用，例如：自體免疫疾病及 / 或過敏症狀。因此，較佳可利用現有的資料庫進行同源性研究，以避免胜肽的序列與另一蛋白質的胺基酸序列相符。當同源性研究清楚地證明相較於目標胜肽，胜肽與甚至不存有 1 或 2 個不同的胺基酸，可修飾此目標胜肽以增加其與人類白血球抗原的結合親合力及 / 或增加其 CTL 誘發性，而不會有任何產生副作用的風險。

雖然預期如上所述之對人類白血球抗原具有高度結合親合力的胜肽具有高效力，然而根據其高度結合親合力而選出的候選胜肽需進一步地檢視其是否具有細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性。此處所述的“細胞毒性 T 淋巴細胞 (CTL) 誘發性”係指當 CTL 存在於抗原呈現細胞上時胜肽誘發 CTL 的能力。再者，“CTL 誘發性”包括胜肽誘發 CTL 活化、CTL 增生、促進目標細胞之 CTL 溶解 (lysis) 以及增加 CTL 干擾素- γ 產生的能力。

經由誘發載有人類主要組織相容複合體抗體的抗原呈現細胞 (例如：B 淋巴細胞、巨噬細胞與樹狀細胞 (DCs)) 或更具體地說誘發衍生自人類週邊血液單核白血球的樹狀

細胞——完成細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性的確定，以胜肽刺激之後，再與 CD8 陽性細胞混合，然後測量細胞毒性 T 淋巴細胞對抗目標細胞時所產生與釋放的干擾素- γ （以下簡稱 INF- γ ）。為了表現人類白血球抗原（例如：BenMohamed L, Krishnan R, Longmate J, Auge C, Low L, Primus J, Diamond DJ, Hum Immunol 2000 Aug, 61(8): 764-79、相關文章、書籍、Linkout Induction of CTL response by a minimal epitope vaccine in HLA A*0201/DR1 transgenic mice: dependence on HLA class II restricted T(H) response 所述的人類白血球抗原），可使用基因轉殖動物作為反應系統。舉例來說，可利用 ⁵¹ 鉻這類物質來放射標記目標細胞，然後由目標細胞釋出的放射性計算細胞毒殺活性。或者 CTL 誘發性可在載有固定化胜肽之抗原呈現細胞的存在下經由測量細胞毒性 T 淋巴細胞產生與釋出的 INF- γ 以及檢視培養基上抗 INF- γ 單株抗體的抑制區來檢視該活性。

如上所述檢視胜肽之 CTL 誘發性的結果顯示，對於 HLA 具有高度結合親合力的胜肽不必然具有高誘發性。然而，自含有胺基酸序列之序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150 之胜肽所選出的九胜肽或十胜肽顯示特別高的 CTL 誘發性以及對於 HLA 抗原的高度結合親合力。因此，這些胜肽為本發明之較佳實施例。

除了以上所討論之修飾，本發明之胜肽也可進一步地連接至其他的物質，此連接胜肽保有原本胜肽的 CTL 誘導性。此適當的物質包括：胜肽、脂肪、糖與糖鏈、乙醯基、天然與合成的聚合物等。只要修飾作用未破壞原本胜肽的生物活性，則該胜肽可包含的修飾作用包括糖化作用、側鏈氧化作用或磷酸化作用等。這些修飾作用可給予額外的功能（例如：標靶功能與傳送功能）或用以安定多胜肽。

例如，為了增加多胜肽的體內安定性，在此項技術中已知可使用 D-胺基酸、胺基酸模擬物或非天然的胺基酸；此概念可應用於本發明之多胜肽。多胜肽的安定性可利用數種方法分析。例如，可用肽酶(peptidases)與各種生物介質——例如：人類血漿與血清——測試安定性（參考 Verhoef *et al.*, Eur J Drug Metab Pharmacokin 1986, 11: 291-302）。

本發明之胜肽也可稱為“IQGAP3 胜肽”或“IQGAP3 聚胜肽”。

本發明之胜肽位於細胞的表面（例如，抗原呈現細胞）或外吐小體與 HLA 抗原結合成一複合體，且可誘導 CTLs。因此，本發明之胜肽包括可與位於細胞的表面或外吐小體表面 HLA 抗原結合成複合體之胜肽。外吐小體可以日本專利公報 11-510507 及 W099/03499 所述之方法形成，以及可使用由接受治療及/或預防之患者所獲得的 APC 來形成。具有本發明胜肽之外吐小體或細胞可像疫苗一樣接種。

包含上述複合物的 HLA 抗原必須與需要治療或/預防

的的個體相互配對。例如，在日本族群中，HLA 抗原以 HLA-A24 及 HLA-A02，因此適合用來治療日本族群。A24 及 A02 型普遍存在於日本人及高加索人，因此可獲得較佳的效果，且也可使用其子型。一般來說，臨床上，在預先鑑定患者的 HLA 抗原型，可篩選出與特定抗原具有高結合親合力的的胜肽，或在抗原存在時具有 CTL 誘導性。

當在外吐小體或細胞上使用 A24 型及 A02 型之 HLA 抗原時，此胜肽較佳具有序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150 之序列。

III. IQGAP3 胜肽的製備

本發明之胜肽可利用已知的技術製備。例如，可利用重組去氧核糖核酸技術或化學合成合成該胜肽。本發明之胜肽可個別地合成或合成為包含 2 個或以上之胜肽的較長多胜肽。該胜肽可被分離，即大致上係純化或分離出來而無其他天然產生宿主細胞蛋白質及其片段或其他任何的化學物質。

本發明之胜肽可以選擇的胺基酸序列為基礎然後經由化學合成而獲得。例如，一般的胜肽合成方法可用來合成，包括，但不限於：

(i) Peptide Synthesis, Interscience, New York, 1966;

(ii) The Proteins, Vol. 2, Academic Press, New

• York, 1976 ;

(iii) Peptide Synthesis (in Japanese), Maruzen Co., 1975 ;

(iv) Basics and Experiment of Peptide Synthesis (in Japanese), Maruzen Co., 1985 ;

(v) Development of Pharmaceuticals (second volume) (in Japanese), Vol. 14 (peptide synthesis), Hirokawa, 1991 ;

(vi) W099/67288 ; 以及

(vii) Barany G. & Merrifield R.B., Peptides Vol. 2, "Solid Phase Peptide Synthesis", Academic Press, New York, 1980, 100-118。

或者，本發明之胜肽可利用任何已知用以製造胜肽的基因工程法來獲得（例如：Morrison J, J Bacteriology 1977, 132: 349-51；Clark-Curtiss & Curtiss, Methods in Enzymology (eds. Wu *et al.*) 1983, 101: 347-62)。

例如，首先製備一表達形式(expressible form)(例如，對應於一促進劑序列之調節序列的下游)之擁有多核苷酸(該多核苷酸編碼目標胜肽)的適當載體，並將該載體轉換至一適當的宿主細胞內。然後培養該宿主細胞進而產生吾人感興趣的胜肽。該胜肽也可利用 *in vitro* 轉譯系統在 *in vitro* 製造。

IV. 多核苷酸

本發明更提供一種多核苷酸，其編碼任何上述之本發

明的胜肽。該多核苷酸包括衍生自天然產生之 IQGAP3 基因 (GenBank Accession No. NM_178229(序列識別號：153)) 的多核苷酸與其具有保留修飾之核苷酸序列的多核苷酸。此處所述之“保留修飾之核苷酸序列”係指編碼完全相同或大體上相同之胺基酸序列的序列。因為基因密碼的衰亡，造成大量功能性相同的核酸編碼任何指定的蛋白質。例如，密碼子 GCA、GCC、GCG 與 GCU 皆編碼胺基酸丙胺酸。因此，在每個丙胺酸被一密碼子指定的位置上，該密碼子可改變成所述之任何相對應的密碼子而不需改變編碼的多胜肽。該核酸變異體係“寂靜的變異體 (silent variations)”，其為一種保留修飾的變異體。本文所述的每一種編碼胜肽的核酸序列也描述核酸之每一種可能的寂靜變異體。具備此技術的人員將辨識到在一核酸(除了 AUG 之外—其通常為甲硫胺酸的唯一密碼子，以及除了 TGG 之外—其通常為色胺酸的唯一密碼子)的每一密碼子可經過修飾而產生功能性相同的分子。因此，編碼胜肽之核酸的每一寂靜變異體係含蓄地描述於每一揭露的序列中。

本發明之多核苷酸可由去氧核糖核酸、核糖核酸及其衍生物組成。去氧核糖核酸適當地由鹼基(例如：A、T、C 與 G)組成，而在核糖核酸中 T 被 U 取代。

本發明之多核苷酸可利用或不利用介於中間的間隔胺基酸序列(intervening amino acid sequences)編碼多種本發明的胜肽。例如，該間隔胺基酸序列可提供多核苷酸或轉譯胜肽的分裂位置(例如：酶識別序列)。此外該多核

苷酸可在編碼序列(其編碼本發明的胜肽)之外包含任何額外的序列。舉例來說，該多核苷酸可為一重組多核苷酸，其包括表現胜肽所需的調節序列或可為一具有標誌基因與同類物的表現載體(質體)。該等重組多核苷酸一般可經由傳統的重組技術使用聚合酶與內核酸酶等進行多核苷酸的控制而製備。

重組與化學合成技術皆可用以製造本發明的多核苷酸。例如，多核苷酸可經由插入一適當的載體而製得，當該多核苷酸轉染入一適當的細胞時即可表現。或者可利用聚合酶鏈鎖反應(PCR)技術或在適當的宿主中放大多核苷酸(參考 Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989)。或者，可利用如 Beaucage SL & Iyer RP, Tetrahedron 1992, 48: 2223-311; Matthes *et al.*, EMBO J 1984, 3: 801-5 所述的固相技術合成多核苷酸。

V. 抗原呈現細胞(APCs)

本發明也提供抗原呈現細胞，該抗原呈現細胞於其表面呈現形成於人類白血球抗原與本發明之胜肽之間的複合物。經由接觸本發明之胜肽或載入表現形式之核苷酸(其編碼本發明之胜肽)而獲得的抗原呈現細胞可衍生自接受治療和/或預防的病患，並且該抗原呈現細胞可如疫苗般單獨地投與或與其他藥物(包括本發明的胜肽、外吐小體或細胞毒性 T 細胞)同時投與。

抗原呈現細胞不只限於特定種類的細胞，其包括樹狀

細胞、蘭格罕細胞(Langerhans cells)、巨噬細胞、B 細胞與活化的 T 細胞，已知這些細胞在其細胞表面存在蛋白質的抗原(proteinaceous antigens)以便於被淋巴細胞辨識。由於樹狀細胞係抗原呈現細胞當中具有最強之細胞毒性 T 淋巴細胞誘發活性的代表性抗原呈現細胞，因此樹狀細胞可作為本發明的抗原呈現細胞。

舉例來說，從週邊血液單核細胞誘發樹狀細胞，然後以本發明之胜肽在體外(*in vitro*)、活體外(*ex vivo*)或活體內(*in vivo*)接觸(刺激)這些樹狀細胞便可得到抗原呈現細胞。當將本發明之胜肽投與至個體時，表現本發明之胜肽的抗原呈現細胞便在個體體內被誘發。“誘發抗原呈現細胞”包括以本發明之胜肽或編碼本發明之胜肽的核苷酸接觸(刺激)一細胞，以表現細胞表面上之人類白血球抗原與本發明之胜肽之間所形成的複合物。或是在將本發明之胜肽載入抗原呈現細胞使得該抗原呈現細胞表現該胜肽之後，可將該抗原呈現細胞如疫苗般地投與至個體。例如，活體外(*ex vivo*)的投與可包括以下步驟：

- a：從第一位個體收集抗原呈現細胞；
- b：以胜肽接觸步驟 a 的抗原呈現細胞以及
- c：投與該載有胜肽的抗原呈現細胞至第二位個體。

第一位與第二位個體可為同一個體或不同個體。或者，本發明提供用來生產誘發抗原呈現細胞之藥學組合物的胜肽。本發明亦提供一種製備誘導抗原呈現細胞的醫藥組成物。另外，本發明更提供用來誘發抗原呈現細胞的胜

肽。步驟 b 所得的抗原呈現細胞可如疫苗般地投與至個體。

從本發明的觀點來看，抗原呈現細胞具有高度的細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性。“高度的細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性”當中的高度係與未以胜肽接觸或以未能誘發細胞毒性 T 淋巴細胞之胜肽接觸的抗原呈現細胞相互比較的程度。該等具有高度細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性的抗原呈現細胞可經由一種方法來製備，該方法包括在體外轉移含有多核苷酸（其編碼本發明的胜肽）之基因至抗原呈現細胞的步驟。該載入的基因可為去氧核糖核酸或核糖核酸形式。載入的方法包括此技術領域一般所使用的各種方法—例如：脂質體轉染、電轉染與磷酸鈣法等。更具體地說，可使用 Cancer Res 1996, 56: 5672-7; J Immunol 1998, 161: 5607-13; J Exp Med 1996, 184: 465-72; Published Japanese Translation of International Publication No. 2000-509281 所述的方法。將基因轉移至抗原呈現細胞內，該基因在細胞內進行轉錄、轉譯與類似作用，所得的蛋白質經由第一類或第二類主要組織相容複合體(MHC)處理，然後經過一表現途徑來表現部分的胜肽。

VI. 細胞毒性 T 細胞

被誘發而抵抗任何本發明之胜肽的細胞毒性 T 細胞加強了活體內標靶腫瘤相關之內皮細胞層的免疫反應，因此該細胞毒性 T 細胞可作為類似於胜肽的疫苗。因此，本發明提供分離出來的細胞毒性 T 細胞，該細胞毒性 T 細胞被本發明之胜肽專一地誘發或活化。

此細胞毒性 T 細胞可經由(1)投與至一個體或(2)在體外以本發明之胜肽接觸(刺激)個體衍生的抗原呈現細胞與 CD8 陽性細胞或週邊血液單核白血球。

細胞毒性 T 細胞(其由表現本發明之胜肽的抗原呈現細胞經由刺激而被誘發)可衍生自接受治療和/或預防的病患，並且可因應調節的目的而單獨投與或與其他藥物(包括本發明的胜肽或外吐小體)共同投與。所獲得的細胞毒性 T 細胞專一地產生作用並抵抗表現本發明之胜肽或同樣用以產生誘發作用之胜肽的目標細胞。該目標細胞可為內源性表現 IQGAP3 細胞或為以 IQGAP3 基因轉染的細胞；而因為被胜肽刺激而在細胞表面表現本發明之胜肽的細胞也可作為被活化之細胞毒性 T 淋巴細胞攻擊的目標。

VII. T 細胞受體(TCR)

本發明也提供一種包含編碼多胜肽(該多胜肽能夠形成 T 細胞受體的次單位)之核酸的組合物以及使用該組合物的方法。該 T 細胞受體次單位能夠形成 T 細胞受體，該 T 細胞受體提供 T 細胞抵抗表現 IQGAP3 腫瘤細胞的專一性。利用此技術中已知的方法可確認於 CTL 中，以本發明之一個或以上胜肽誘發之包含 T 細胞受體的 α 與 β 鏈核酸(WO2007/032255 and Morgan et al., J Immunol, 171, 3288 (2003))。該衍生的 T 細胞受體可以高親合性結合顯現 IQGAP3 胜肽的目標細胞，並且隨意地在活體內或體外有效地殺死表現 IQGAP3 胜肽的目標細胞。

編碼 T 細胞受體次單元的核酸可被併入適當的載體

中，例如：反轉錄病毒載體。這些載體在此項技術中已為吾人所熟知。該等核酸或含有該有用核酸的載體可轉移至一 T 細胞中，例如：從病患得來的 T 細胞。有利之處是本發明提供一現成的組合物，使得病患自身的 T 細胞（或其他哺乳動物的 T 細胞）快速地修飾，進而快速且容易地產生具有極佳之癌細胞殺死特性的修飾 T 細胞。

同時，本發明提供以核酸轉導而製備的 CTL，此核酸編碼連接至 IQGAP3 胜肽——例如 HLA-A24 或 HLA-A02 當中的序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150——的 T 細胞受體次單元多胜肽。被轉導的 CTL 在活體內能夠返回癌細胞，並且可藉由所熟知的體外培養方法進行擴增（例如：Kawakami et al., J Immunol., 142, 3452-3461 (1989)）。本發明之 T 細胞可用以形成能有效治療或預防需接受治療或預防之病患之癌症的致免疫組合物（W02006/031221）。

預防包括任何降低因疾病所造成之死亡或發病的活動。預防可發生在“初級、第二級與第三級的預防”。當初級預防避免了疾病的發展，第二級與第三級的預防活動便著重於預防疾病的惡化與症狀顯現，以及經由恢復功能與降低疾病相關的併發症來降低已發生之疾病的負面影響。或者，預防包括一廣泛的預防治療，其目的在減緩特定疾病的嚴重性，例如：減少腫瘤的增生與轉移。

癌症的治療和/或預防和/或其術後復發的預防包括任何下列的步驟，例如：手術移除癌細胞、抑制癌細胞的生長、腫瘤的衰退或退化、誘發癌症發生的緩解與抑制作用、腫瘤緩解以及轉移的減少或抑制。有效治療和/或預防癌症會減少死亡率與改善患癌病患的預後、減少腫瘤標記在血液中的含量以及減緩伴隨癌症而來並可查覺的症狀。例如，症狀的減輕或改善係指有效地治療和/或預防包括10%、20%、30%或以上的減輕，或指病況穩定。

VIII. 藥劑及組成物

與正常的組織(Jinawath N et al., AACR 2006)相比較之下，IQGAP3之表現在胃癌會特別升高，因此本發明之胜肽或編碼該胜肽的多核苷酸可用來治療和/或預防癌症，和/或預防其術後復發。因此，本發明提供一用來治療及/或預防癌症，及/或預防其術後復發的藥劑或組成物，該藥劑包括一個或以上之作為活性成分之本發明的胜肽或編碼該胜肽的多核苷酸。或者，本發明之胜肽可在任何前述之外吐小體或細胞(例如：作為藥劑或組成物的APCs)的表面上表現。此外，前述之標靶任何本發明之胜肽的細胞毒性T細胞也可作為本藥劑或組成物的活性成分。

在另一實施例中，本發明另提供活性成份的使用，此活性成份擇自於：

- (a)本發明之胜肽，
- (b)在一可表現之形式中，編碼本發明胜肽之核酸，
- (c)本發明之APC，以及

(d)本發明之細胞毒性 T 細胞

以製備治療癌症的醫藥組成物或藥劑。

此外，本發明另提供一活性成份，此活性成份擇自於：

(a)本發明之胜肽

(b)在一可表現之形式中，編碼本發明胜肽之核酸，

(c)本發明之 APC，以及

(d)本發明之細胞毒性 T 細胞

以治療癌症。

此外，本發明更提供一種製備醫藥組成物或藥劑的方法或程序以用於治療癌症，其中本發明之方法或程序包括與一活性成分形成一藥學上或生理上可接受之載體，此活性成份擇自於：

(a)本發明之胜肽

(b)在一可表現之形式中，編碼本發明胜肽之核酸，

(c)本發明之 APC，以及

(d)本發明之細胞毒性 T 細胞

在另一實施例中，本發明提供一種製備醫藥組成物或藥劑的方法及程序以用於治療癌症，其中本發明之方法或程序包括混合一活成份與一藥學上或生理上可接受之載體，此活性成份擇自於：

(a)本發明之胜肽

(b)在一可表現之形式中，編碼本發明胜肽之核酸，

(c)本發明之 APC，以及

(d)本發明之細胞毒性 T 細胞

此外，本發明之醫藥組成物可用來預防癌症及避免術後再發生。

本藥劑或組成物可作為疫苗。在本發明中，“疫苗”（也稱為免疫組合物）一詞係指接種至動物體內後具有引發抗腫瘤免疫性功能的物質。

本發明之藥劑或組成物可用以治療和/或預防預防癌症，和/或預防其術後復發，其可適用於個體或病患，包括：人類或任何其他的哺乳動物—包括小鼠、大鼠、天竺鼠、兔子、貓、狗、綿羊、山羊、豬、牛、馬、猴子、狒狒與黑猩猩，特別是經濟上重要的動物或畜產動物，但不只限於此類。

根據本發明，已發現含有序列識別號：2, 4, 7, 21, 25, 29, 32, 35, 37, 40, 49, 53, 55, 56, 57, 62, 63 及 67，或含有序列識別號：75, 85, 99, 101, 111, 114, 121, 125, 130, 139, 140, 141, 142, 143, 145, 148 及 150 的多胜肽係 HLA-A24 或 HLA-A02 限定的表面胜肽或候選物，其可誘發有效力且專一的免疫反應。因此，包含具序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63 及 67 之任何多胜肽的本發明藥劑或組成物特別適合投與至 HLA 抗原為 HLA-A24 的個體。另一方面，包含具序列識別號：75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150 之任何多胜肽的本發明藥劑或組成物特別適合投與至 HLA 抗原為 HLA-A02 的個體。含有編碼任何該等多胜肽之多核苷酸的

藥劑或組成物也可作相同的應用。

以本發明之藥劑或組成物治療的癌症未受限定，其包括所有形式的癌症，而 IQGAP3 皆與其相關，這些癌症的例子包括：腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌以及胰臟癌。

除了前述的活性成分之外，本發明之藥劑或組成物還可包含其他能夠誘發 CTL 抵抗癌細胞的胜肽、編碼其他胜肽的其他多核苷酸、表現其他胜肽的其他細胞或同類物。此處所述之能夠誘發 CTL 抵抗癌細胞的其他胜肽係以癌專一的抗體（例如：被鑑別的腫瘤相關抗原）為例子，但不因此受到限制。

如果有需要，本發明之藥劑或組成物可隨意地包含其他的治療物質作為一活性成分，只要該物質未抑制活性成分（例如：本發明之任何胜肽）在內皮細胞層上的抗腫瘤作用。例如，處方可包括抗發炎劑、止痛劑、化學治療劑與相似物。除了包含其他的治療物質在藥劑本身之外，本發明之藥劑或組成物也可與一個或以上的其他藥學製劑連續或同時投與。藥劑或藥學製劑的量當視使用之藥學製劑的形式、所治療疾病以及投與時程與途徑而定。

應了解的是，除了此處特別提及的成分之外，本發明之藥劑或組成物可包括其他在一般技術當中考慮到處方形式的製劑。

在本發明之一實施例中，本發明之藥劑或組成物可包括在含有用以治療疾病（例如：癌症）病理狀態之物質的商

品與套組之中。該商品可包括任何該藥劑或組成物的容器與標籤。適當的容器包括瓶子、小玻璃瓶與試管。該容器可為各種材質，例如：玻璃或塑膠。在容器上的標籤應標明用以治療或預防一個或以上之病症的製劑。該標籤也可標明投與方式等資訊。

除了上述的容器之外，包含本發明之藥劑或組成物的套組可任意地包含第二個貯存藥學上可接受之稀釋劑的容器。該套組可進一步地包含商業上或使用所認可的其他原料，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針頭、針筒以及藥品使用說明。

該藥學組合物也可存在於一包裝或配藥裝置(dispenser device)中，其中含有一個或以上之單位劑量形式的活性成分。該包裝可包括金屬或塑料膜，例如：單板包裝(blister pack)。依循使用說明可進行該包裝或配藥裝置的投與。

(1)含有胜肽並以其為活性成分的藥劑或組成物

本發明之胜肽可作為一藥劑或組成物而直接地投與，或者，如果有需要，可以一般的配製方法配製該胜肽。在之後的例子中，除了本發明的胜肽之外，一般用於藥物中的載體、賦形劑與這類物質也可適當地包含其中而沒有特定的限制。該等載體的例子為無菌水、生理食鹽水、磷酸緩衝液、培養液與這類物質。有必要的話，該藥劑或組成物還可包含安定劑、懸浮液、防腐劑、介面活性劑與這類物質。本發明之藥劑或組成物可用於抗癌症。

本發明的胜肽可配製在一組合中，為了在活體內誘發CTL，該組合包含2個或以上的本發明胜肽。該胜肽組成物可混合在一混合物中，或利用標準技術相互結合。例如，該胜肽可化學連結或表現成單一融合多胜肽序列(single fusion polypeptide sequence)。在組合中的胜肽可以相同或不同。經由投與本發明之胜肽，在抗原呈現細胞上之人類白血球抗原(HLA antigens)週邊表現高密度的胜肽，然後專一地與複合物(其形成於顯現之胜肽與人類白血球抗原之間)反應的CTL被誘發。或者，從個體移出之抗原呈現細胞(例如：樹狀細胞)獲得在其細胞表面表現任何本發明之胜肽的抗原呈現細胞，以本發明之胜肽刺激該抗原呈現細胞，將這些抗原呈現細胞(例如：樹狀細胞)再投與至個體，CTL在個體體內被誘發，便可增加對於癌細胞，如睪丸癌、胰臟癌、膀胱癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌以及食道癌的危害。

用以治療及/或預防癌症的藥劑或組成物可包含一佐劑(藥劑或組成物中包含作為活性成分的本發明胜肽)，如此將可有效地建立細胞的免疫性。此外，本發明之藥劑或組成物可與其他活性成分一起投與或可將該等藥劑配製成顆粒(granules)配方並進行投與。佐劑係指當與具有免疫活性之蛋白質同時(或連續地)投與時能夠增加對抗蛋白質之免疫反應的化合物。本發明中的佐劑包括文獻(Clin Microbiol Rev 1994, 7: 277-89)中所述的佐劑。佐劑的例子包括，但不限於，磷酸鋁、氫氧化鋁、明礬、霍亂毒

素、沙門氏菌毒素及其類似物，但不因此受限制。

此外，胜肽連接至數毫米直徑小珠的脂質體劑型、顆粒劑型以及脂質連接至胜肽的劑型也便於使用。

在一些實施例中，本發明之藥劑或組成物可更包含啟動(prime)CTL 的成分。已確定脂質係能夠在活體內啟動CTL 對抗病毒抗原的製劑或組成物。舉例來說，棕櫚酸殘基可連接至離胺酸殘基的 ϵ -與 α -胺基，然後連接至本發明的胜肽。該脂類胜肽可以合併至脂質體中或在佐劑中乳化，然後以微膠粒或顆粒形式直接地投與。大腸桿菌脂蛋白（例如：tripalmitoyl-S-glycerylcysteinylserine (P3CSS)）係另一個脂質啟動細胞毒性 T 淋巴細胞反應的例子，當大腸桿菌共價地連接至一適當的胜肽時，大腸桿菌可啟動細胞毒性 T 淋巴細胞（其例見 Deres et al., Nature 1989, 342: 561-4）。

投與的方法可為口服的、皮膚內的、皮下的、靜脈內注射投與或這類方式以及全身性的投與或局部投與至目標位置的鄰近區域。投與可為單次投與或增加為多次投與。本發明之胜肽的劑量可根據治療的疾病、病患的年紀、體重、投與的方式與這類狀態而適當地調整，其一般劑量為 0.001 毫克至 1000 毫克，例如：0.001 毫克至 1000 毫克或 0.1 毫克至 10 毫克，並且可數天至數月投與一次。熟悉此技術的人員可選擇一適當的劑量。

(2)含有多核苷酸並以其為活性成分的藥劑或組成物

本發明之藥劑或組成物也可包含編碼本文揭露之表現

形式之胜肽的核酸。此處所稱之“表現形式”係指當多核苷酸載入一細胞時，該多核苷酸將在活體內表現成誘發抗腫瘤免疫性的多胜肽。在一實施例中，吾人感興趣之多核苷酸的核酸序列包括表現該核苷酸所需要的調節元素。可如此裝置該多核苷酸使其適當地插入目標細胞的基因組（同源重組基因盒載體（homologous recombination cassette vectors））例子的描述見 Thomas KR & Capecchi MR, *Cell* 1987, 51: 503-12）。其例見 Wolff et al., *Science* 1990, 247: 1465-8；美國專利案號 5,580,859；5,589,466；5,804,566；5,739,118；5,736,524；5,679,647 與 WO 98/04720。以去氧核糖核酸為基礎之傳送技術的例子包括“裸露的去氧核糖核酸（naked DNA）”、助益的（布比卡因（bupivacaine）、聚合物、胜肽促成的）傳送、陽離子脂質複合物與顆粒促成的（particle-mediated）（“基因槍”）或壓力促成的傳送（其例見美國專利案號 5,922,687）。

本發明之胜肽也可經由病毒或細菌的載體表現。表現載體的例子包括弱病毒宿主（attenuated viral hosts），例如：牛痘或禽痘。此方法的例子包括使用牛痘病毒為一表現核苷酸序列（其編碼胜肽）的載體。該重組的牛痘病毒經由載入一宿主而表現致免疫的胜肽，並因此引發免疫反應。用於免疫計畫之牛痘載體與方法的例子可見美國專利案號 4,722,848。另一載體為卡介苗（BCG, Bacille Calmette Guerin）。卡介苗載體描述於 Stover et al., *Nature* 1991, 351: 456-60。其他各種用於治療投與或免

疫的載體例子—例如：腺與腺相關的病毒載體、反轉錄病毒載體、沙門氏菌傷寒載體、解毒的炭疽熱毒素載體及其類似物—將顯而易見。其例見 Shata et al., Mol Med Today 2000, 6: 66-71; Shedlock et al., J Leukoc Biol 2000, 68: 793-806; Hipp et al., In Vivo 2000, 14: 571-85。

多核苷酸可直接地傳送入一個體(病患直接接受多核苷酸-運送載體(polynucleotide-carrying vector))或非直接地傳送入一病患(首先在體外以吾人感興趣之多核苷酸轉換細胞，然後將該細胞移植入病患體內)。這兩種方式分別為眾人所知的活體內(*in vivo*)與活體外(*ex vivo*)基因治療。

基因治療的方法可見 Goldspiel et al., Clinical Pharmacy 1993, 12: 488-505; Wu and Wu, Biotherapy 1991, 3: 87-95; Tolstoshev, Ann Rev Pharmacol Toxicol 1993, 33: 573-96; Mulligan, Science 1993, 260: 926-32; Morgan & Anderson, Ann Rev Biochem 1993, 62: 191-217; Trends in Biotechnology 1993, 11(5): 155-215。也可用於本發明之一般所知的重組去氧核糖核酸技術係描述於 Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY, 1993 與 Krieger, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY, 1990。

投與的方法可為口服的、皮膚內的、皮下的、靜脈內注射投與或這類方式以及全身性的投與或局部投與至目標

位置的鄰近區域。投與可為單次投與或增加為多次投與。在適當載體中或以多核苷酸(其編碼本發明之胜肽)轉換之細胞中的多核苷酸的劑量可根據治療的疾病、病患的年紀、體重、投與的方式與這類狀態而適當地調整，其一般劑量為 0.001 毫克至 1000 毫克，例如：0.001 毫克至 1000 毫克或 0.1 毫克至 10 毫克，並且可每數天至數月投與一次。熟悉此技術的人員可選擇一適當的劑量。

IX. 使用胜肽、外吐小體、APC 與 CTL 的方法

本發明之胜肽與編碼該胜肽的多核苷酸可用以誘發抗原呈現細胞與細胞毒性 T 淋巴細胞。本發明之外吐小體與抗原呈現細胞也可用以誘發細胞毒性 T 淋巴細胞。該等胜肽、多核苷酸、外吐小體與抗原呈現細胞也可與任何其他化合物併用，只要該等化合物未抑制它們的細胞毒性 T 細胞誘發性。因此，任何上述之本發明的藥劑皆可用以誘發細胞毒性 T 淋巴細胞，另外，那些含有胜肽與多核苷酸的藥劑也可如以下所述地用以誘發抗原呈現細胞。

(1) 誘發抗原呈現細胞的方法

本發明提供利用本發明之胜肽或編碼該等胜肽之多核苷酸誘發抗原呈現細胞的方法。抗原呈現細胞的誘發可依循之前“VI. 抗原呈現細胞”段落中所述的方法進行。本發明也提供一種誘發具有高度細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性之抗原呈現細胞的方法，該誘發作用也描述於之前的“VI. 抗原呈現細胞”段落中。

(2) 誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的方法

此外，本發明提供使用本發明之胜肽、編碼該胜肽之多核苷酸或表現該胜肽之外吐小體或抗原呈現細胞誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的方法。

本發明更提供一種藉由編碼多胜肽之聚核酸來誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的方法，此多胜肽可形成辨識本發明胜肽與 HLA 抗原複合物之 T 細胞受體。此誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的方法較佳包括以下步驟至少一步：

a: 將 CD8+ 之 T 細胞與一抗原呈現細胞及 / 或外吐小體接觸，其表面具有 HLA 與本發明胜肽之複合體，以及

b: 將此編碼多胜肽之聚核酸導入一 CD8+T 細胞中，此多胜肽可形成辨識本發明胜肽與 HLA 抗原複合物之 T 細胞受體。

當投與本發明之胜肽至一個體時，細胞毒性 T 淋巴細胞在個體體內被誘發，然後標靶與腫瘤相關之內皮細胞層的免疫反應強度增加。或者，該胜肽與編碼該胜肽的多核苷酸可用於活體外的治療法，在此方法中，在體外以本發明之胜肽接觸(刺激)由個體衍生的抗原呈現細胞與 CD8 陽性細胞或週邊血液單核白血球，然後在誘發細胞毒性 T 淋巴細胞後，將該活化的細胞毒性 T 淋巴細胞植回該個體。例如，該方法可包括以下步驟：

a: 由個體收集抗原呈現細胞，

b: 以胜肽接觸步驟 a 的抗原呈現細胞，

c: 將步驟 b 的抗原呈現細胞與 CD8+ T 細胞混合，並且共同培養以誘發細胞毒性 T 淋巴細胞，以及

d:從步驟 c 的共同培養物收集出 CD8⁺ T 細胞。

另外，本發明提供使用本發明之胜肽製造一誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的藥學組合物。本發明亦提供一種製備含 CTL 醫藥組成物的方法。此外，本發明更提供用以誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的本發明胜肽。

步驟 d 所得之具有細胞毒性的 CD8⁺ T 細胞可如疫苗般投與至個體。在步驟 c 與 CD8⁺ T 細胞混合的抗原呈現細胞也可經由“VI. 抗原呈現細胞”段落所詳述的方法製備，其製備係將為本發明之胜肽編碼的基因轉移入抗原呈現細胞；但此方法並不因此受限，任何能夠有效表現該等胜肽至 T 細胞的抗原呈現細胞或外吐小體皆可用於本發明中。

以下的實施例將說明本發明並協助具有一般技術的人員重複該等試驗。這些實施例並不以其他任何方式限制本發明的範圍。

【實施例】

材料與方法

細胞株

將 EB 病毒(Epstein-bar virus)轉化成 HLA-A24 陽性人類 B 淋巴細胞，以建立 A24 淋巴母細胞株(A24 lymphoblastoid cell line)(A24LCL)細胞。T2(HLA-A2)人類 B 淋巴細胞及 COS7 細胞則購自 ATCC。

衍生自 IQGAP3 之候選胜肽的選擇

利用結合預測軟體“BIMAS”(http://www.bimas.cit.nih.gov/molbio/hla_bind)預測結合至 HLA-A*2402 與

HLA-A*0201 分子之 IQGAP3 衍生 9-mer 與 10-mer 胜肽，該軟體系統描述於 Parker KC et al. (J Immunol 1994, 152(1): 163-75) 與 Kuzushima K et al. (Blood 2001, 98(6): 1872-81)。這些胜肽係由 Sigma(Sapporo, Japan)根據標準固相合成法合成並經由逆相高效液相層析法純化。以分析的高效液相層析法與質譜分析分別確定該等胜肽的純度與特性。將 20 毫克/毫升的胜肽溶於二甲基亞砷並貯存在攝氏-80℃。

體外之細胞毒性 T 淋巴細胞的誘發

將單核白血球衍生的樹狀細胞作為抗原表現細胞，以誘發對抗存於人類白血球抗原上之胜肽所引起的細胞毒性 T 淋巴細胞反應。如 (Nakahara S et al., Cancer Res 2003 Jul 15, 63(14): 4112-8)所述的在體外產生樹狀細胞。具體地來說，經由 Ficoll-Plaque(Pharmacia)溶液從一正常志願者分離出來的週邊血液單核細胞(PBMCs)(HLA-A*2402 或 HLA -A*0201 陽性)係經由黏附至一塑膠組織培養皿(Becton Dickinson)(便於以單核白血球片段培養)而分離。將該單核白血球滋養的族群培養在含有 2%熱不活化自體血清 (autologous serum, AS) 的 AIM-V Medium (Invitrogen)，其中含有 1000 單位(U)/毫升的粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF))(R&D System)與 1000 單位/毫升的介白素 (interleukin, IL)-4(R&D System)。培養 7 天之後，在攝氏 37℃ 的 AIM-V Medium 中以含有 3 微克/

毫升之 $\beta 2$ 微球蛋白之 20 微克/毫升之每一合成的胜肽衝擊該細胞介素誘發的樹狀細胞 3 小時。產生的細胞似乎在其細胞表面上表現與樹狀細胞相關的分子，例如：CD80、CD83、CD86 與第二類人類白血球抗原(未顯示數據)。然後利用 Mitomycin C(MMC)(以 30 微克/毫升進行 30 分鐘)使這些受胜肽衝擊的樹狀細胞失活，並且將其以 1:20 的比例與自體 CD8+ T 細胞混合，然後以 CD8 Positive Isolation Kit (Dyna1)選擇陽性反應的樹狀細胞。將這些培養物置於 48 孔的孔盤中，每一孔含有 0.5 毫升的 AIM-V/2%自體血清培養基，另外含有 1.5×10^4 個胜肽衝擊的樹狀細胞、 3×10^5 個 CD8+ T 細胞與 10 奈克(ng)/毫升的介白素-7。3 天之後，以介白素-2(CHIRON)補給這些培養物至最後濃度為 20 國際單位(IU)/毫升。在第 7 天與第 14 天進一步地以自體胜肽衝擊的樹狀細胞刺激該 T 細胞。這些樹狀細胞每一次皆以上述的相同方法製備。在第 21 天第 3 回合的胜肽刺激之後測試抵抗胜肽衝擊之 A24LCL 細胞的細胞毒性 T 淋巴細胞 (Tanaka H et al., Br J Cancer 2001 Jan 5, 84(1): 94-9; Umano Y et al., Br J Cancer 2001 Apr 20, 84(8): 1052-7; Uchida N et al., Clin Cancer Res 2004 Dec 15, 10(24): 8577-86; Suda T et al., Cancer Sci 2006 May, 97(5): 411-9; Watanabe T et al., Cancer Sci 2005 Aug, 96(8): 498-506)。

CTL 的擴增程序

利用類似於 Riddell 等人所述的方法(Walter EA et

al., N Engl J Med 1995 Oct 19, 333(16): 1038-44; Riddell SR et al., Nat Med 1996 Feb, 2(2): 216-23) 在培養基中擴增細胞毒性 T 淋巴細胞。總數為 5×10^4 的細胞毒性 T 淋巴細胞與 2 種人類 B 淋巴母細胞株懸浮於 25 毫升的 AIM-V/5% 自體血清培養基中，在 40 奈克/毫升之抗 CD3 單株抗體 (Pharmingen) 存在下利用 MMC 使細胞失活。在開始培養 1 天之後，將 120 國際單位/毫升之介白素-2 添加至該培養物中。在第 5、8 與 11 天以含有 30 國際單位/毫升之介白素-2 的新鮮 AIM-V/5% 自體血清培養基供給該培養物 (Tanaka H et al., Br J Cancer 2001 Jan 5, 84(1): 94-9; Umano Y et al., Br J Cancer 2001 Apr 20, 84(8): 1052-7; Uchida N et al., Clin Cancer Res 2004 Dec 15, 10(24): 8577-86; Suda T et al., Cancer Sci 2006 May, 97(5): 411-9; Watanabe T et al., Cancer Sci 2005 Aug, 96(8): 498-506)。

CTL 的建立

在 96 圓底微量滴定盤中作 0.3、1 與 3 倍的細胞毒性 T 淋巴細胞/孔的稀釋 (Nalge Nunc International)。細胞毒性 T 淋巴細胞與 1×10^4 個細胞/孔的 2 種人類 B 淋巴母細胞株、30 奈克/毫升的抗 CD3 抗體與 125 單位/毫升的介白素-2 在總量為 150 毫升/孔之含有 5% 自體血清的 AIM-V Medium 當中一起培養。10 天之後將 50 微升/孔之介白素-2 添加至該培養基，使介白素-2 的最後濃度為 125 單位/毫升。在第 14 天測試細胞毒性 T 淋巴細胞的活性，利用上述

的相同方法擴增細胞毒性 T 淋巴細胞株 (Uchida N et al., Clin Cancer Res 2004 Dec 15, 10(24): 8577-86; Suda T et al., Cancer Sci 2006 May, 97(5): 411-9; Watanabe T et al., Cancer Sci 2005 Aug, 96(8): 498-506)。

專一的 CTL 活性

為了檢視細胞毒性 T 淋巴細胞的專一活性，進行 INF- γ 酶連結免疫斑點 (ELISPOT) 分析與 INF- γ 酵素連結免疫吸附法 (ELISA)。具體地來說，胜肽衝擊的 A24 或 T2 LCL (1×10^4 /孔) 係製備成刺激物細胞 (stimulator cells)。在限制稀釋之後，在 48 孔中的培養細胞係作為反應物細胞 (responder cells)。在製造程序之下進行 INF- γ ELISPOT 分析與 INF- γ 酵素連結免疫吸附法分析。

表現目標基因及 HLA-A24 細胞的建立

以 PCR 擴增目標基因或 HLA-A24 之編碼開放讀架 (open reading frame) 的 cDNA。將此 PCR 擴增的產物構築至 pCAGGS 載體。利用 lipofectamine 2000 (Invitrogen) 及使用手冊的教示將此質體轉染至 COS7 細胞，其中不含有目標基因及 HLA-A24。轉染後 2 天，將轉染的細胞置於 versene (Invitrogen) 中，並使用為目標細胞 (5×10^4 細胞/孔) 以進行 CTLe 活性分析。

質體的轉染

以 PCR 擴增目標基因或 HLA-A*0201 之編碼開放讀架 (open reading frame) 的 cDNA。將此 PCR 擴增的產物構築至 pCAGGS 載體。利用 lipofectamine 2000 (Invitrogen)

及使用手冊的教示將此質體轉染至 COS7 細胞，其中不含有目標基因及 HLA-A24。轉染後 2 天，將轉染的細胞置於 versene(Invitrogen)中，並使用為目標細胞 (5×10^4 細胞/孔)以進行 CTLe 活性分析。

結果

衍生自 IQGAP3 之 HLA-A24 結合胜肽的預測

表 1 依照結合親合力的高低依序來表示 IQGAP3 的 HLA-A*2402 結合胜肽。表 1a 顯示衍生自 IQGAP3 的 9-mer 胜肽，表 1b 顯示衍生自 IQGAP3 的 10-mer 胜肽。分析所有具有與 HLA-A24 結合能力的 68 個胜肽，以鑑定出抗原決定位胜肽。

表 1a、衍生自 IQGAP3 的 HLA-A24 結合 9-mer 胜肽

起始位置	胺基酸序列	結合分數	序列識別號
483	RYFDALLKL	528	1
955	AYQHLFYLL	432	2
1458	GYQGLVDEL	396	3
1167	VYKVVGNNL	336	4
92	RYQATGLHF	300	5
417	MYQLELAVL	300	6
779	IYLEWLQYF	216	7
139	VYCIHALSL	200	8
181	KYGLQLPAF	200	9
773	GYRQRKIYL	200	10
809	QYLRRLLHYF	150	11
680	AYYFHLQTF	120	12
960	FYLLQTQPI	90	13
1588	RFQLHYQDL	72	14
1574	KFEVNAKFL	60	15
749	KFAEHSNFL	48	16
1621	IFLLNKKFL	30	17
867	DFLAEAELL	30	18

188	AFSKIGGIL	28	19
1224	AFSGQSQHL	24	20
74	CFAPSVVPL	24	21
1145	RYVAKVLKA	16.5	22
835	KAQDDYRIL	14.4	23
1486	KLQATLQGL	14.4	24
26	RQNVAYQYL	14.4	25
1439	RVLRNLRRRL	12	26
1423	RSLTAHSL	12	27
564	RYHLLLVAA	12	28
137	RVVYCIHAL	12	29
1442	RNLRRLEAL	12	30
1436	KQRRVLRNL	11.2	31
63	RNGVLLAKL	10.56	32
1279	VYITVGELV	10.5	33
896	NIMDIKIGL	10.08	34

表 1b、衍生自 IQGAP3 的 HLA-A24 結合 10-mer 胜肽

起始位置	胺基酸序列	結合分數	序列識別號
1600	QYEGVAVMKL	330	35
1510	QYIRACLDHL	300	36
1507	YYSQYIRACL	280	37
1237	DYLEETHLKF	198	38
984	KFMEAVIFSL	100.8	39
139	VYCIHALSLF	100	40
1588	RFQLHYQDLL	60	41
815	HYFQKNVNSI	60	42
785	QYFKANLDAI	50	43
968	IYLAKLIFQM	45	44
649	GYQRALESAM	45	45
12	AYERLTAEEM	41.25	46
732	GFVIQLQARL	36	47
1580	KFLGVDMERF	30	48
1097	PYDVTPEQAL	24	49
329	DFADWYLEQL	24	50
1145	RYVAKVLKAT	21	51
886	RSNQQLQDL	17.28	52
345	KAQELGLVEL	15.84	53
1047	RGQSALQEIL	14.4	54

1614	KVNVNLLIFL	14.4	55
191	KIGGILANEL	12.672	56
314	KALQDPALAL	12	57
1545	KGVLVEIEDL	12	58
630	RVLRNPAVAL	12	59
181	KYGLQLPAFS	12	60
728	KANVGFIQL	12	61
1363	RSLLLSTKQL	12	62
1114	RLDIALRNLL	11.52	63
1592	HYQDLLQLQY	10.8	64
1458	GYQGLVDELA	10.5	65
295	GALEVDDAL	10.08	66
1207	HALGAVAQLL	10.08	67
99	HFRHTDNINF	10	68

起始位置顯示衍生自 IQGAP3 的胺基酸殘基號。

結合分數由“BIMAS”獲得。

以限定 HLA-A*2402 之 IQGAP3 預測胜肽誘發 CTL 以及建立被 IQGAP3 衍生之胜肽刺激的 CTL 細胞株

根據“材料與方法”中所述的步驟產生針對衍生自 IQGAP3 之胜肽的細胞毒性 T 淋巴細胞。以 INF- γ ELISPOT 分析法確定胜肽專一的 CTL 活性(第 1a-r 圖)。與對照孔相比較之下，IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)(a)，IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)(b)，IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)(c)，IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)(d)，IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)(e)，IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)(f)，IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)(g)，IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)(h)，IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)(i)，IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)(j)，IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)(k)，IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)(l)，IQGAP3-

A24-10-1614(序列識別號：55)(m)，IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)(n)，IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)(o)，IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)(p)，IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)(q)及 IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)(r)產生有效力的 INF- γ 。此外，在陽性孔號碼#3及6以 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)(a)刺激的細胞、在#5以 IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)(b)刺激的細胞，在#7以 IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)(c)刺激的細胞、在#2以 IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)(d)刺激的細胞、在#8以 IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)(e)刺激的細胞、在#4以 IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)(f)刺激的細胞、在#8以 IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)(g)刺激的細胞、在#8以 IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)(h)刺激的細胞、在#2以 IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)(i)刺激的細胞、在#2以 IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)(j)刺激的細胞、在#5以 IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)(k)刺激的細胞、在#7以 IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)(l)刺激的細胞、在#1以 IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)(m)刺激的細胞、在#3以 IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)(n)刺激的細胞、在#5以 IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)(o)刺激的細胞、在#5以 IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)(p)刺激的細胞、在#7以 IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)(q)刺激的細胞及在#2以 IQGAP3-

A24-10-1207(序列識別號：67)(r)刺激的細胞被擴增並建立 CTL 細胞株。以 INF- γ 酵素連結免疫吸附法確認那些 CTL 細胞株的 CTL 細胞活性(第 2a-r 圖)。結果顯示相對於未以胜肽衝擊的目標細胞，所有的 CTL 細胞株對於以相對應之胜肽衝擊的目標細胞產生有效力的 INF- γ 。另一方面，經由表 1 顯示的其他胜肽刺激無法建立 CTL 細胞株，儘管那些胜肽可能與 HLA-A*2402 具有結合活性。例如，第 1s 圖與第 2s 圖顯示以 IQGAP3-A24-9-417(序列識別號：6)刺激之 CTL 反應的典型陰性數據。因此，有 18 個衍生自 IQGAP3 的胜肽被篩選為能夠誘發有效力之細胞毒性 T 淋巴細胞株的胜肽。

對抗外源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*2402 目標細胞的專一性 CTL 活性

經分析，發現建立之 CTL 細胞對抗胜肽的能力增加，進而增加辨識內源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*2402 的目標細胞。以對應胜肽所刺激之 CTL 細胞株來分析專一性對抗 COS7 細胞的 CTL 活性，其中 COS7 細胞轉染有全長之 IQGAP3 及 HLA-A*2402 基因(目標細胞的專一性模式，其內源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*2402)。在第 3 圖中，CTLs 促進 IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)顯示 CTL 可有效地對抗表現 IQGAP3 基因或 HLA-A*2402 的 COS7 細胞。另一方面，在對照組中，並未偵測到 CTL 的專一性活性。由此結果可證明，以 CTL 辨識出 IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)與 HLA-A*2402 表現於目標細胞上。此結果指出衍生自 IQGAP3

的胜肽可作為疫苗給予至表現 IQGAP3 的腫瘤患者。

抗原胜肽的同源性分析

已證明以 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2), IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4), IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7), IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21), IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25), IQGAP3-A24-9-137((序列識別號：29), IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32), IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35), IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37), IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40), IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49), IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53), IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55), IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56), IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57), IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62), IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63) and IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)分別刺激的 CTL 會表現顯著且專一的 CTL 細胞活性。此結果可能是由於 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)、IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)、IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)、IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)、IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)、IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)、IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)、IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)、IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)、IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)、IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)、IQGAP3-A24-10-345(序列識別

號：53)、IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)、IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)、IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)、IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)、IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)及 IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)序列與衍生自其他已知會使人類免疫系統敏感之分子的同源胜肽。為了排除此可能性，使用 BLAST 演算法 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>)對這些胜肽序列進行同源性分析，其顯示無一序列具有顯著的同源性。該同源性分析的結果顯示 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)、IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)、IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)、IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)、IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)、IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)、IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)、IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)、IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)、IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)、IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)、IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)、IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)、IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)、IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)、IQGAP3-A24-10-1363(序列識別號：62)、IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)及 IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)都分別為獨特的序列，因此，就我們目前所知，這些分子對不相關分子產生非意料之免疫反應的可能性極小。

最後確認衍生自 IQGAP3 之新穎的 HLA-A24 表面胜肽，且已證實可用於癌症的免疫治療。

衍生自 IQGAP3 之 HLA-A20 結合胜肽的預測

表 2a 及表 2b 顯示 HLA-A02 與 9mer 及 10mer 的 IQGAP3 胜肽具有高親合性的結合。分析並篩選 84 個胜肽對 HLA-A02 的結合活性以找出抗原決定胜肽。

表 2a：與 9mer 之 IQGAP3 衍生胜肽結合的 HLA-A02

起始位置	胺基酸序列	結合分數	序列識別號
1004	YLLQLFKT	1691.953	69
1129	FLLAITSSV	1183.775	70
144	ALSLFLFRL	1082.903	71
1541	QLEKGVLV	1055.104	72
783	WLQYFKANL	373.415	73
969	YLAKLIFQM	304.856	74
146	SLFLFRLGL	300.355	75
1055	ILGKVIQDV	271.948	76
813	RLHYFQKNV	264.298	77
962	LLQTQPIYL	199.738	78
1122	LLAMTDKFL	199.738	79
1486	KLQATLQGL	171.967	80
416	SMYQLELAV	160.742	81
1006	LLQLFKTAL	138.001	82
1365	LLLSTKQLL	134.369	83
1292	LLLEHQDCI	131.835	84
553	GLDDVSLPV	114.065	85
315	ALQDPALAL	87.586	86
1596	LLQLQYEGV	86.905	87
1051	ALQEILGKV	85.264	88
588	WLEEIRQGV	83.952	89
546	ALLPAAGL	79.041	90
1364	SLLLSTKQL	79.041	91
1063	VLEDKVLVS	71.359	92
1598	QLQYEGVAV	69.552	93
376	AMLHAVQRI	64.121	94

985	FMEAVIFSL	60.592	95
405	AQLPPVYPV	60.011	96
663	RPADTAFWV	59.381	97
1005	LLLQLFKTA	59.373	98
1234	VLNDYLEET	58.537	99
1068	VLSVHTDPV	57.937	100
756	FLRTWLPAV	55.925	101
239	NLREPLAAV	49.847	102
153	GLAPQIHDL	49.134	103
934	MVLDKQKGL	48.205	104
911	TLQEVVSHC	46.848	105
896	NIMDIKIGL	44.559	106
1154	TLAEKFPDA	38.701	107
904	LLVKNRITL	36.316	108
989	VIFSLYNYA	35.448	109
194	GILANELSV	35.385	110

啟始位置顯示衍生自 IQGAP3 N 端的胺基酸殘基號。
結合分數由 “BIMAS” 獲得。

表 2b：與 10mer 之 IQGAP3 衍生胜肽結合的 HLA-A02

啟始位置	胺基酸序列	結合分數	序列識別號
961	YLLQtQPIYL	1999.734	111
725	QLWKaNVGFV	949.34	112
868	FLAEaELLLKL	926.658	113
70	KLGHcFAPSV	925.042	114
1608	KLFNkAKVNV	900.698	115
802	RMWAaRRQYL	704.306	116
1005	LLLQ1FKTAL	510.604	117
1121	NLLAmTDKFL	434.725	118
1013	ALQEeIKSKV	285.163	119
1124	AMTDkFLLAI	270.002	120
1174	LLYYrFLNPA	236.207	121
1122	LLAMtDKFLL	210.633	122
1004	YLLLqLFKTA	160.655	123
235	ALLEnLREPL	158.793	124
548	LLPAaGLDDV	133.255	125
1620	LIFL1NKKFL	101.617	126
109	WLSAiAHIGL	98.267	127
860	LLNQsQQDFL	97.872	128

1614	KVNVnLLIFL	82.759	129
903	GLLVkNRITL	79.041	130
1364	SLLSsTKQLL	79.041	131
501	FLSWnDLQAT	78.842	132
737	LQARlRGFLV	69.531	133
876	KLQEEVVRKI	68.867	134
438	FVAVeMLSAV	64.388	135
1154	TLAEkFPDAT	56.89	136
117	GLPStFFPET	53.803	137
1292	LLLEhQDCIA	52.529	138
953	LEAYqHLFYl	51.81	139
1590	QLHYqDLLQL	49.134	140
1424	SLTAhSLLPL	49.134	141
416	SMYQlELAVL	46.557	142
67	LLAKlGHCFA	46.451	143
1597	LQLQyEGVAV	44.356	144
1461	GLVDeLAKDI	42.774	145
1067	KVLSvHTDPV	38.617	146
921	KLTKrNKEQL	36.637	147
842	ILVHaPHPPL	36.316	148
1547	VLVEiEDLPA	34.627	149
897	IMDIkIGLLV	34.158	150
1059	VIQDvLEDKV	32.662	151
1365	LLSStKQLLA	31.249	152

啟始位置顯示衍生自 IQGAP3 N 端的胺基酸殘基號。

結合分數由 “BIMAS” 獲得。

以限定 HLA-A*0201 之 IQGAP3 預測胜肽誘發 CTL

根據 “材料與方法” 中所述的步驟產生針對衍生自 IQGAP3 之胜肽的細胞毒性 T 淋巴細胞。以 INF- γ ELISPOT 分析法確定胜肽專一的 CTL 活性(第 4a-q 圖)。與對照孔相比較之下，在孔號碼 #6 及 6 以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)刺激、在 #6 以 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)刺激、在 #1 以 IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)(c)刺激、在 #7 以 IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：

111)(d)刺激、在#7及6以 IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)(e)刺激、在#5以 IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(f)刺激、在#8以 IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)(g)刺激、在#1以 IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(h)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)(i)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)(j)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)(k)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)(l)刺激、在#4以 IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(m)刺激、在#6以 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(n)刺激、在#5以 IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)(o)刺激、在#3以 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)(p)刺激，以及在#5以 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(q)刺激下證明可誘發 INF- γ 的產生。另一方面，經由表 2 顯示的其他胜肽刺激無法建立 CTL 細胞株，儘管那些胜肽可能與 HLA-A*2401 具有結合活性。例如，典型陰性數據為以 IQGAP3-A02-10-868(序列識別號：113)刺激之 CTL 反應並不會產生 INF- γ 。

IQGAP3 衍生胜肽刺激之 CTL 細胞株的建立

以 INF- γ ELISPOT 分析法確定胜肽專一的 CTL 活性(第 4a-q 圖)。與對照孔相比較之下，在孔號碼#6及6以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)刺激、在#6以 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)刺激、在#1以 IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)(c)刺激、在#7以 IQGAP3-A02-10-

961(序列識別號：111)(d)刺激、在#7及6以 IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)(e)刺激、在#5以 IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(f)刺激、在#8以 IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)(g)刺激、在#1以 IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(h)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)(i)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)(j)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)(k)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)(l)刺激、在#4以 IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(m)刺激、在#6以 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(n)刺激、在#5以 IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)(o)刺激、在#3以 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)(p)刺激，以及在#5以 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(q)刺激以擴增且建立 CTL 細胞株。CTL細胞株的 CTL 活性可以 INF- γ ELISA 來進行分析(第 5a-q 圖)。此結果顯示，相對於無胜肽之目標細胞，所有的 CTL 細胞株皆會誘發針對目標細胞的 INF- γ 。此外，以限數稀釋法建立 CTL 細胞株，並以 ELISA 分析由 CTL 細胞株所產生之對抗目標細胞的 INF- γ 。第 6 圖顯示以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(c)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(d)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(e)及 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(f)刺激 CTL 細胞株產生 INF- γ 的情況。

對抗外源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*2402 目標細胞的專一性 CTL 活性

經分析，發現建立之 CTL 細胞對抗胜肽的能力增加，進而增加辨識內源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*0201 的目標細胞。以對應胜肽所刺激之 CTL 細胞株來分析專一性對抗 COS7 細胞的 CTL 活性，其中 COS7 細胞轉染有全長之 IQGAP3 及 HLA-A*0201 基因(目標細胞的專一性模式，其內源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*0201)。在第 7 圖中，CTLs 促進 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(a)及 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(b)顯示 CTL 可有效地對抗表現 IQGAP3 及 HLA-A*0201 的 COS7 細胞。另一方面，在對照組中，並未偵測到 CTL 的專一性活性。由此結果可證明，以 CTL 辨識出 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)及 IQGAP3-A02-1234(序列識別號：99)為內源性與 HLA-A*2402 表現於目標細胞上。此結果更指出衍生自 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(a)及 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(b)可作為疫苗給予至表現 IQGAP3 的腫瘤患者。

抗原胜肽的同源性分析

已證明以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、IQGAP3-

A02-10-903(序列識別號：130)、IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)及 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)分別刺激的 CTL 會表現顯著且專一的 CTL 細胞活性。此結果可能是由於 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)、IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)及 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)序列與衍生自其他已知會使人類免疫系統敏感之分子的同源胜肽。為了排除此可能性，使用 BLAST 演算法(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>)對這些胜肽序列進行同源性分析，其顯示無一序列具有顯著的同源性。該同源性分析的結果顯示

IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)、IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)及 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)都分別為獨特的序列，因此，就我們目前所知，這些分子對不相關分子產生非意料之免疫反應的可能性極小。

最後確認衍生自 IQGAP3 之新穎的 HLA-A02 表面胜肽，且已證實可用於癌症的免疫治療。

產業的利用性

本發明提供新穎的 TAA，其特別衍生自 IQGAP3，其可促進有效且專一地產生抑制癌症的免疫反應，且可廣泛地應用於各種癌症。此 TAA 更可作為一胜肽疫苗以對抗與 IQGAP3 相關的疾病，例如，癌症，特別的是，膀胱癌、腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以

限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

第 1A 及 1B 圖為一系列之照片。第 a-s 圖顯示 CTLs 的 INF- γ ELISPOT 分析結果，其可被 IQGAP3 衍生胜肽所誘導。相較於對照組，此外，在陽性孔號碼 #3 及 6 以 IQGAP3-A24-9-955(序列識別號：2)(a)、在 #5 以 IQGAP3-A24-9-1167(序列識別號：4)(b)，在 #7 以 IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)(c)刺激的細胞、在 #2 以 IQGAP3-A24-9-74(序列識別號：21)(d)刺激的細胞、在 #8 以 IQGAP3-A24-9-26(序列識別號：25)(e)刺激的細胞、在 #4 以 IQGAP3-A24-9-137(序列識別號：29)(f)刺激的細胞、在 #8 以 IQGAP3-A24-9-63(序列識別號：32)(g)刺激的細胞、在 #8 以 IQGAP3-A24-10-1600(序列識別號：35)(h)刺激的細胞、在 #2 以 IQGAP3-A24-10-1507(序列識別號：37)(i)刺激的細胞、在 #2 以 IQGAP3-A24-10-139(序列識別號：40)(j)刺激的細胞、在 #5 以 IQGAP3-A24-10-1097(序列識別號：49)(k)刺激的細胞、在 #7 以 IQGAP3-A24-10-345(序列識別號：53)(l)刺激的細胞、在 #1 以 IQGAP3-A24-10-1614(序列識別號：55)(m)刺激的細胞、在 #3 以 IQGAP3-A24-10-191(序列識別號：56)(n)刺激的細胞、在 #5 以 IQGAP3-A24-10-314(序列識別號：57)(o)刺激的細胞、在 #5 以 IQGAP3-A24-10-1363

(序列識別號：62)(p)刺激的細胞、在#7以 IQGAP3-A24-10-1114(序列識別號：63)(q)刺激的細胞及在#2以 IQGAP3-A24-10-1207(序列識別號：67)(r)刺激 CTL 可產生 INF- γ 以對抗胜肽衝擊之目標細胞。相較之下，以 IQGAP3-A24-9-417(序列識別號：6)刺激之 CTL 反應並不會產生 INF- γ 。在這些圖當中，孔上的方塊區域顯示從相對應之孔中得來的細胞係擴增來建立 CTL 細胞株。在圖中，“+”代表對抗以適當胜肽衝擊之目標細胞時的 INF- γ 產生，而“-”代表對抗未以任何胜肽衝擊之目標細胞時的 INF- γ 產生。在圖中，“+”代表孔中的細胞具有適當的胜肽，且“-”代表孔中的細胞不具有胜肽。

第 1B 圖為第 1A 圖的延續。

第 2A、B、C 圖為一系統之曲線圖。第 a-s 圖顯示以不同 IQGAP3 胜肽刺激 CTL 細胞的 INF- γ ELISA 結果，IQGAP3 胜肽為序列識別號：2(a)、序列識別號：4(b)、序列識別號：7(c)、序列識別號：21(d)、序列識別號：25(e)、序列識別號：29(f)、序列識別號：32(g)、序列識別號：35(h)、序列識別號：37(i)、序列識別號：40(j)、序列識別號：49(k)、序列識別號：53(l)、序列識別號：55(m)、序列識別號：56(n)、序列識別號：57(o)、序列識別號：62(p)、序列識別號：63(q)及序列識別號：67(r)。此結果證明以每一胜肽刺激而建立的細胞毒性 T 淋巴細胞株在與對照組比較之後會有效地產生 INF- γ 。相反地，在典型的陰性反應中，以序列識別號：6 建立的細胞毒性 T 淋巴細胞未產

生對抗胜肽衝擊目標細胞的特定 $\text{INF-}\gamma$ 。在圖中，“+”代表對抗以適當胜肽衝擊之目標細胞時的干擾素- γ 產生，而“-”代表對抗未以任何胜肽衝擊之目標細胞時的干擾素- γ 產生。

第 2B 圖為第 2A 圖的延續。

第 2C 圖為第 2B 圖的延續。

第 3 圖為針對外源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*2402 目標細胞的 CLT 活性。相較於對照組，COS7 細胞轉染 HLA-A*2402 或全長的 IQGAP3 基因。以 IQGAP3-A24-9-779(序列識別號：7)建立之 CLT 細胞株具有針對轉染 IQGAP3 或 HLA-A*2402(黑色菱形)之 COS7 細胞的 CLT 活性。相較之下，在未表現 HLA-A*2402(三角形)或 IQGAP3(圓形)之目標細胞中則未偵測到專一性 CLT 活性。

第 4A 及 4B 圖為一系列之照片。第 a-r 圖顯示 CTLs 的 $\text{INF-}\gamma$ ELISPOT 分析結果，其可被 IQGAP3 衍生胜肽所誘導。相較於對照組，此外，在孔號碼孔號碼 #6 及 6 以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)刺激、在 #6 以 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)刺激、在 #1 以 IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)(c)刺激、在 #7 以 IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)(d)刺激、在 #7 及 6 以 IQGAP3-A02-10-70(序列識別號：114)(e)刺激、在 #5 以 IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(f)刺激、在 #8 以 IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)(g)刺激、在 #1 以 IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(h)刺激、在 #2 以 IQGAP3-A02-10-

953(序列識別號：139)(i)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)(j)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)(k)刺激、在#2以 IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)(l)刺激、在#4以 IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(m)刺激、在#6以 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(n)刺激、在#5以 IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)(o)刺激、在#3以 IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)(p)刺激，以及在#5以 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(q)刺激 CTL 可產生 $\text{INF-}\gamma$ 以對抗胜肽衝擊之目標細胞。相較之下，針對具胜肽之目標基因，以 IQGAP3-A02-10-868(序列識別號：113)刺激之 CTL 反應並不會產生 $\text{INF-}\gamma$ 。在這些圖當中，孔上的方塊區域顯示從相對應之孔中得來的細胞係擴增來建立 CTL 細胞株。在圖中，“+”代表對抗以適當胜肽衝擊之目標細胞時的 $\text{INF-}\gamma$ 產生，而“-”代表對抗未以任何胜肽衝擊之目標細胞時的 $\text{INF-}\gamma$ 產生。在圖中，“+”代表孔中的細胞具有適當的胜肽，且“-”代表孔中的細胞不具有胜肽。

第 4B 圖為第 4A 圖的延續。

第 5A 及 B 圖為一系統之曲線圖。第 a-q 圖顯示以不同 IQGAP3 胜肽刺激 CTL 細胞的 $\text{INF-}\gamma$ ELISA 結果，IQGAP3 胜肽為 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)、IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)、IQGAP3-A02-9-756(序列識別號：101)、IQGAP3-A02-10-961(序列識別號：111)、IQGAP3-A02-10-70(序列

識別號：114)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)、IQGAP3-A02-10-548(序列識別號：125)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)、IQGAP3-A02-10-953(序列識別號：139)、IQGAP3-A02-10-1590(序列識別號：140)、IQGAP3-A02-10-1424(序列識別號：141)、IQGAP3-A02-10-416(序列識別號：142)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)、IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)、IQGAP3-A02-10-842(序列識別號：148)、IQGAP3-A02-10-897(序列識別號：150)及 IQGAP3-A02-10-1234(序列識別號：99)(q)。此結果證明以每一胜肽刺激而建立的細胞毒性 T 淋巴細胞株在與對照組比較之後會有效地產生 INF- γ 。在圖中，“+”代表對抗以適當胜肽衝擊之目標細胞時的干擾素- γ 產生，而“-”代表對抗未以任何胜肽衝擊之目標細胞時的干擾素- γ 產生。

第 5B 圖為第 5A 圖的延續。

第 5C 圖為第 5B 圖的延續。

第 6 圖顯示為一系統之曲線圖。第 a-f 圖顯示以限數稀釋法建立 CTL 細胞株，並以 ELISA 分析以各種 IQGAP3 胜肽刺激 CTL 細胞株所產生之對抗目標細胞的 INF- γ ，IQGAP3 胜肽為 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(c)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(d)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(e)及 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(f)。相較於對

照組，此結果證明以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(c)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(d)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(e)及 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(f)刺激所建立之 CTL 可產生 INF- γ 。在圖中，“+”代表對抗以 IQGAP3-A02-9-146(序列識別號：75)(a)、IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(b)、IQGAP3-A02-10-1174(序列識別號：121)(c)、IQGAP3-A02-10-903(序列識別號：130)(d)、IQGAP3-A02-10-67(序列識別號：143)(e)及 IQGAP3-A02-10-1461(序列識別號：145)(f)衝擊之目標細胞時的干擾素- γ ，且“-”代表對抗未以任何胜肽衝擊之目標細胞時的干擾素- γ 產生。

第 7 圖為針對外源性表現 IQGAP3 及 HLA-A*0201 目標細胞的 CLT 活性。相較於對照組，COS7 細胞轉染 HLA-A*0201 或全長的 IQGAP3 基因。以 IQGAP3-A02-9-553(序列識別號：85)(a)及 IQGAP3-A02-9-1234(序列識別號：99)(b)建立之 CLT 細胞株具有針對轉染 IQGAP3 或 HLA-A*0201(黑色菱形)之 COS7 細胞的 CLT 活性。相較之下，在未表現 HLA-A*0201(三角形)或 IQGAP3(圓形)之目標細胞中則未偵測到專一性 CLT 活性。

【主要元件符號說明】

無。

序列表

- <110> 腫瘤療法・科學股份有限公司
- <120> IQGAP3 抗原決定位胜肽及含此胜肽之疫苗
- <130> ONC-A0806-TW
- <150> US 61/060, 538
- <151> 2008-06-11
- <160> 154
- <170> PatentIn version 3.4
- <210> 1
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工合成之胜肽序列
- <400> 1

Arg Tyr Phe Asp Ala Leu Leu Lys Leu
1 5

- <210> 2
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 2

Ala Tyr Gln His Leu Phe Tyr Leu Leu
1 5

- <210> 3
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 3

Gly Tyr Gln Gly Leu Val Asp Glu Leu
1 5

- <210> 4
- <211> 9

201000115

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 4

Val Tyr Lys Val Val Gly Asn Leu Leu
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 5

Arg Tyr Gln Ala Thr Gly Leu His Phe
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 6

Met Tyr Gln Leu Glu Leu Ala Val Leu
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 7

Ile Tyr Leu Glu Trp Leu Gln Tyr Phe
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

201000115

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 8

Val Tyr Cys Ile His Ala Leu Ser Leu
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 9

Lys Tyr Gly Leu Gln Leu Pro Ala Phe
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 10

Gly Tyr Arg Gln Arg Lys Ile Tyr Leu
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 11

Gln Tyr Leu Arg Arg Leu His Tyr Phe
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

201000115

<400> 12

Ala Tyr Tyr Phe His Leu Gln Thr Phe
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 13

Phe Tyr Leu Leu Gln Thr Gln Pro Ile
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 14

Arg Phe Gln Leu His Tyr Gln Asp Leu
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 15

Lys Phe Glu Val Asn Ala Lys Phe Leu
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 16

Lys Phe Ala Glu His Ser His Phe Leu

1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 17

Ile Phe Leu Leu Asn Lys Lys Phe Leu
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 18

Asp Phe Leu Ala Glu Ala Glu Leu Leu
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 19

Ala Phe Ser Lys Ile Gly Gly Ile Leu
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 20

Ala Phe Ser Gly Gln Ser Gln His Leu
1 5

201000115

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 21

Cys Phe Ala Pro Ser Val Val Pro Leu
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 22

Arg Tyr Val Ala Lys Val Leu Lys Ala
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 23

Lys Ala Gln Asp Asp Tyr Arg Ile Leu
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 24

Lys Leu Gln Ala Thr Leu Gln Gly Leu
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT

201000115

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 25

Arg Gln Asn Val Ala Tyr Gln Tyr Leu
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 26

Arg Val Leu Arg Asn Leu Arg Arg Leu
1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 27

Arg Ser Leu Thr Ala His Ser Leu Leu
1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 28

Arg Tyr His Leu Leu Leu Val Ala Ala
1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 29

Arg Val Val Tyr Cys Ile His Ala Leu
1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 30

Arg Asn Leu Arg Arg Leu Glu Ala Leu
1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 31

Lys Gln Arg Arg Val Leu Arg Asn Leu
1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 32

Arg Asn Gly Val Leu Leu Ala Lys Leu
1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 33

Val Tyr Ile Thr Val Gly Glu Leu Val
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 34

Asn Ile Met Asp Ile Lys Ile Gly Leu
1 5

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 35

Gln Tyr Glu Gly Val Ala Val Met Lys Leu
1 5 10

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 36

Gln Tyr Ile Arg Ala Cys Leu Asp His Leu
1 5 10

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 37

Tyr Tyr Ser Gln Tyr Ile Arg Ala Cys Leu
1 5 10

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 38

Asp Tyr Leu Glu Glu Thr His Leu Lys Phe
1 5 10

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 39

Lys Phe Met Glu Ala Val Ile Phe Ser Leu
1 5 10

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 40

Val Tyr Cys Ile His Ala Leu Ser Leu Phe
1 5 10

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 41

Arg Phe Gln Leu His Tyr Gln Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 42

201000115

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 42

His Tyr Phe Gln Lys Asn Val Asn Ser Ile
1 5 10

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 43

Gln Tyr Phe Lys Ala Asn Leu Asp Ala Ile
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 44

Ile Tyr Leu Ala Lys Leu Ile Phe Gln Met
1 5 10

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 45

Gly Tyr Gln Arg Ala Leu Glu Ser Ala Met
1 5 10

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 46

Ala	Tyr	Glu	Arg	Leu	Thr	Ala	Glu	Glu	Met
1				5					10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 47

Gly	Phe	Val	Ile	Gln	Leu	Gln	Ala	Arg	Leu
1				5					10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 48

Lys	Phe	Leu	Gly	Val	Asp	Met	Glu	Arg	Phe
1				5					10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 49

Pro	Tyr	Asp	Val	Thr	Pro	Glu	Gln	Ala	Leu
1				5					10

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

201000115

<400> 50

Asp Phe Ala Asp Trp Tyr Leu Glu Gln Leu
1 5 10

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 51

Arg Tyr Val Ala Lys Val Leu Lys Ala Thr
1 5 10

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 52

Arg Ser Asn Gln Gln Leu Glu Gln Asp Leu
1 5 10

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 53

Lys Ala Gln Glu Leu Gly Leu Val Glu Leu
1 5 10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 54

201000115

Arg Gly Gln Ser Ala Leu Gln Glu Ile Leu
1 5 10

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 55

Lys Val Asn Val Asn Leu Leu Ile Phe Leu
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 56

Lys Ile Gly Gly Ile Leu Ala Asn Glu Leu
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 57

Lys Ala Leu Gln Asp Pro Ala Leu Ala Leu
1 5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 58

Lys Gly Val Leu Val Glu Ile Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 59

Arg Val Leu Arg Asn Pro Ala Val Ala Leu
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 60

Lys Tyr Gly Leu Gln Leu Pro Ala Phe Ser
1 5 10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 61

Lys Ala Asn Val Gly Phe Val Ile Gln Leu
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 62

Arg Ser Leu Leu Leu Ser Thr Lys Gln Leu
1 5 10

<210> 63
<211> 10

201000115

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 63

Arg Leu Asp Ile Ala Leu Arg Asn Leu Leu
1 5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 64

His Tyr Gln Asp Leu Leu Gln Leu Gln Tyr
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 65

Gly Tyr Gln Gly Leu Val Asp Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 66

Gly Ala Leu Glu Val Val Asp Asp Ala Leu
1 5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

201000115

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 67

His Ala Leu Gly Ala Val Ala Gln Leu Leu
1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 68

His Phe Arg His Thr Asp Asn Ile Asn Phe
1 5 10

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 69

Tyr Leu Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr
1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 70

Phe Leu Leu Ala Ile Thr Ser Ser Val
1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

201000115

<400> 71

Ala Leu Ser Leu Phe Leu Phe Arg Leu
1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 72

Gln Leu Leu Glu Lys Gly Val Leu Val
1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 73

Trp Leu Gln Tyr Phe Lys Ala Asn Leu
1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 74

Tyr Leu Ala Lys Leu Ile Phe Gln Met
1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 75

Ser Leu Phe Leu Phe Arg Leu Gly Leu

1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 76

Ile Leu Gly Lys Val Ile Gln Asp Val
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 77

Arg Leu His Tyr Phe Gln Lys Asn Val
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 78

Leu Leu Gln Thr Gln Pro Ile Tyr Leu
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 79

Leu Leu Ala Met Thr Asp Lys Phe Leu
1 5

201000115

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 80

Lys Leu Gln Ala Thr Leu Gln Gly Leu
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 81

Ser Met Tyr Gln Leu Glu Leu Ala Val
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 82

Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr Ala Leu
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 83

Leu Leu Leu Ser Thr Lys Gln Leu Leu
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT

201000115

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 84

Leu Leu Leu Glu His Gln Asp Cys Ile
1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 85

Gly Leu Asp Asp Val Ser Leu Pro Val
1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 86

Ala Leu Gln Asp Pro Ala Leu Ala Leu
1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 87

Leu Leu Gln Leu Gln Tyr Glu Gly Val
1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 88

Ala Leu Gln Glu Ile Leu Gly Lys Val
1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 89

Trp Leu Glu Glu Ile Arg Gln Gly Val
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 90

Ala Leu Leu Leu Pro Ala Ala Gly Leu
1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 91

Ser Leu Leu Leu Ser Thr Lys Gln Leu
1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 92

Val Leu Glu Asp Lys Val Leu Ser Val
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 93

Gln Leu Gln Tyr Glu Gly Val Ala Val
1 5

<210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 94

Ala Met Leu His Ala Val Gln Arg Ile
1 5

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 95

Phe Met Glu Ala Val Ile Phe Ser Leu
1 5

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 96

Ala Gln Leu Pro Pro Val Tyr Pro Val
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 97

Arg Pro Ala Asp Thr Ala Phe Trp Val
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 98

Leu Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr Ala
1 5

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 99

Val Leu Asn Asp Tyr Leu Glu Glu Thr
1 5

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 100

Val Leu Ser Val His Thr Asp Pro Val
1 5

<210> 101

201000115

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 101

Phe Leu Arg Thr Trp Leu Pro Ala Val
1 5

<210> 102
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 102

Asn Leu Arg Glu Pro Leu Ala Ala Val
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 103

Gly Leu Ala Pro Gln Ile His Asp Leu
1 5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 104

Met Val Leu Asp Lys Gln Lys Gly Leu
1 5

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 105

Thr Leu Gln Glu Val Val Ser His Cys
1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 106

Asn Ile Met Asp Ile Lys Ile Gly Leu
1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 107

Thr Leu Ala Glu Lys Phe Pro Asp Ala
1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 108

Leu Leu Val Lys Asn Arg Ile Thr Leu
1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

201000115

<400> 109

Val Ile Phe Ser Leu Tyr Asn Tyr Ala
1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 110

Gly Ile Leu Ala Asn Glu Leu Ser Val
1 5

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 111

Tyr Leu Leu Gln Thr Gln Pro Ile Tyr Leu
1 5 10

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 112

Gln Leu Trp Lys Ala Asn Val Gly Phe Val
1 5 10

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 113

201000115

Phe Leu Ala Glu Ala Glu Leu Leu Lys Leu
1 5 10

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 114

Lys Leu Gly His Cys Phe Ala Pro Ser Val
1 5 10

<210> 115
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 115

Lys Leu Phe Asn Lys Ala Lys Val Asn Val
1 5 10

<210> 116
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 116

Arg Met Trp Ala Ala Arg Arg Gln Tyr Leu
1 5 10

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 117

Leu Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr Ala Leu
1 5 10

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 118

Asn Leu Leu Ala Met Thr Asp Lys Phe Leu
1 5 10

<210> 119
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 119

Ala Leu Gln Glu Glu Ile Lys Ser Lys Val
1 5 10

<210> 120
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 120

Ala Met Thr Asp Lys Phe Leu Leu Ala Ile
1 5 10

<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 121

Leu Leu Tyr Tyr Arg Phe Leu Asn Pro Ala
1 5 10

<210> 122
<211> 10

201000115

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 122

Leu Leu Ala Met Thr Asp Lys Phe Leu Leu
1 5 10

<210> 123
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 123

Tyr Leu Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr Ala
1 5 10

<210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 124

Ala Leu Leu Glu Asn Leu Arg Glu Pro Leu
1 5 10

<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 125

Leu Leu Pro Ala Ala Gly Leu Asp Asp Val
1 5 10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

201000115

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 126

Leu Ile Phe Leu Leu Asn Lys Lys Phe Leu
1 5 10

<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 127

Trp Leu Ser Ala Ile Ala His Ile Gly Leu
1 5 10

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 128

Leu Leu Asn Gln Ser Gln Gln Asp Phe Leu
1 5 10

<210> 129
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 129

Lys Val Asn Val Asn Leu Leu Ile Phe Leu
1 5 10

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

201000115

<400> 130

Gly Leu Leu Val Lys Asn Arg Ile Thr Leu
1 5 10

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 131

Ser Leu Leu Leu Ser Thr Lys Gln Leu Leu
1 5 10

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 132

Phe Leu Ser Trp Asn Asp Leu Gln Ala Thr
1 5 10

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 133

Leu Gln Ala Arg Leu Arg Gly Phe Leu Val
1 5 10

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 134

Lys Leu Gln Glu Glu Val Val Arg Lys Ile

1 5 10

<210> 135
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 135

Phe Val Ala Val Glu Met Leu Ser Ala Val
1 5 10

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 136

Thr Leu Ala Glu Lys Phe Pro Asp Ala Thr
1 5 10

<210> 137
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 137

Gly Leu Pro Ser Thr Phe Phe Pro Glu Thr
1 5 10

<210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 138

Leu Leu Leu Glu His Gln Asp Cys Ile Ala
1 5 10

201000115

<210> 139
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 139

Leu Glu Ala Tyr Gln His Leu Phe Tyr Leu
1 5 10

<210> 140
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 140

Gln Leu His Tyr Gln Asp Leu Leu Gln Leu
1 5 10

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 141

Ser Leu Thr Ala His Ser Leu Leu Pro Leu
1 5 10

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 142

Ser Met Tyr Gln Leu Glu Leu Ala Val Leu
1 5 10

<210> 143
<211> 10
<212> PRT

201000115

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 143

Leu Leu Ala Lys Leu Gly His Cys Phe Ala
1 5 10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 144

Leu Gln Leu Gln Tyr Glu Gly Val Ala Val
1 5 10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 145

Gly Leu Val Asp Glu Leu Ala Lys Asp Ile
1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 146

Lys Val Leu Ser Val His Thr Asp Pro Val
1 5 10

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

201000115

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 147

Lys Leu Thr Lys Arg Asn Lys Glu Gln Leu
1 5 10

<210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 148

Ile Leu Val His Ala Pro His Pro Pro Leu
1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 149

Val Leu Val Glu Ile Glu Asp Leu Pro Ala
1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 150

Ile Met Asp Ile Lys Ile Gly Leu Leu Val
1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 151

Val Ile Gln Asp Val Leu Glu Asp Lys Val
1 5 10

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成之胜肽序列

<400> 152

Leu Leu Leu Ser Thr Lys Gln Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 153
<211> 6069
<212> DNA
<213> 人類

<220>
<221> CDS
<222> (76).. (4971)

<400> 153
gtcctgtctg gcggtgccga cggtagggg cggtaggcca acggcgggag attcaaacct 60

ggaagaagga ggaac atg gag agg aga gca ggc ggc cca ggc tgg gca gcc 111
Met Glu Arg Arg Ala Ala Gly Pro Gly Trp Ala Ala
1 5 10

tat gaa cgc ctc aca gct gag gag atg gat gag cag agg cgg cag aat 159
Tyr Glu Arg Leu Thr Ala Glu Glu Met Asp Glu Gln Arg Arg Gln Asn
15 20 25

gtt gcc tat cag tac ctg tgc cgg ctg gag gag gcc aag cgc tgg atg 207
Val Ala Tyr Gln Tyr Leu Cys Arg Leu Glu Glu Ala Lys Arg Trp Met
30 35 40

gag gcc tgc ctg aag gag gag ctt cct tcc ccg gtg gag ctg gag gag 255
Glu Ala Cys Leu Lys Glu Glu Leu Pro Ser Pro Val Glu Leu Glu Glu
45 50 55 60

agc ctt cgg aat gga gtg ctg ctg gcc aag cta ggc cac tgt ttt gca 303
Ser Leu Arg Asn Gly Val Leu Leu Ala Lys Leu Gly His Cys Phe Ala
65 70 75

ccc tcc gtg gtt ccc ttg aag aag atc tac gat gtg gag cag ctg cgg 351
Pro Ser Val Val Pro Leu Lys Lys Ile Tyr Asp Val Glu Gln Leu Arg
80 85 90

tac cag gca act ggc tta cat ttc cgt cac aca gac aac atc aac ttt 399
Tyr Gln Ala Thr Gly Leu His Phe Arg His Thr Asp Asn Ile Asn Phe
95 100 105

tgg cta tct gca ata gcc cac atc ggt ctg cct tcg acc ttc ttc cca Trp Leu Ser Ala Ile Ala His Ile Gly Leu Pro Ser Thr Phe Phe Pro 110 115 120	447
gag acc acg gac atc tat gac aaa aag aac atg ccc cgg gta gtc tac Glu Thr Thr Asp Ile Tyr Asp Lys Lys Asn Met Pro Arg Val Val Tyr 125 130 135 140	495
tgc atc cat gct ctc agt ctc ttc ctc ttc cgg ctg gga ttg gcc cct Cys Ile His Ala Leu Ser Leu Phe Leu Phe Arg Leu Gly Leu Ala Pro 145 150 155	543
cag ata cat gat cta tac ggg aaa gtg aaa ttc aca gct gag gaa ctc Gln Ile His Asp Leu Tyr Gly Lys Val Lys Phe Thr Ala Glu Glu Leu 160 165 170	591
agc aac atg gcg tcc gaa ctg gcc aaa tat ggc ctc cag ctg cct gcc Ser Asn Met Ala Ser Glu Leu Ala Lys Tyr Gly Leu Gln Leu Pro Ala 175 180 185	639
ttc agc aag atc ggg ggc atc ttg gcc aat gag ctc tcg gtg gat gag Phe Ser Lys Ile Gly Gly Ile Leu Ala Asn Glu Leu Ser Val Asp Glu 190 195 200	687
gct gca gtc cat gca gct gtt ctt gcc atc aat gaa gca gtg gag cga Ala Ala Val His Ala Ala Val Leu Ala Ile Asn Glu Ala Val Glu Arg 205 210 215 220	735
ggg gtg gtg gag gac acc ctg gct gcc ttg cag aat ccc agt gct ctt Gly Val Val Glu Asp Thr Leu Ala Ala Leu Gln Asn Pro Ser Ala Leu 225 230 235	783
ctg gag aat ctc cga gag cct ctg gca gcc gtc tac caa gag atg ctg Leu Glu Asn Leu Arg Glu Pro Leu Ala Ala Val Tyr Gln Glu Met Leu 240 245 250	831
gcc cag gcc aag atg gag aag gca gcc aat gcc agg aac cat gat gac Ala Gln Ala Lys Met Glu Lys Ala Ala Asn Ala Arg Asn His Asp Asp 255 260 265	879
aga gaa agc cag gac atc tat gac cac tac cta act cag gct gaa atc Arg Glu Ser Gln Asp Ile Tyr Asp His Tyr Leu Thr Gln Ala Glu Ile 270 275 280	927
cag ggc aat atc aac cat gtc aac gtc cat ggg gct cta gaa gtt gtt Gln Gly Asn Ile Asn His Val Asn Val His Gly Ala Leu Glu Val Val 285 290 295 300	975
gat gat gcc ctg gaa aga cag agc cct gaa gcc ttg ctc aag gcc ctt Asp Asp Ala Leu Glu Arg Gln Ser Pro Glu Ala Leu Leu Lys Ala Leu 305 310 315	1023
caa gac cct gcc ctg gcc ctg cga ggg gtg agg aga gac ttt gct gac Gln Asp Pro Ala Leu Ala Leu Arg Gly Val Arg Arg Asp Phe Ala Asp 320 325 330	1071
tgg tac ctg gag cag ctg aac tca gac aga gag cag aag gca cag gag Trp Tyr Leu Glu Gln Leu Asn Ser Asp Arg Glu Gln Lys Ala Gln Glu 1119	1119

335	340	345	
ctg ggc ctg gtg gag ctt ctg gaa aag gag gaa gtc cag gct ggt gtg Leu Gly Leu Val Glu Leu Leu Glu Lys Glu Glu Val Gln Ala Gly Val 350 355 360			1167
gct gca gcc aac aca aag ggt gat cag gaa caa gcc atg ctc cac gct Ala Ala Ala Asn Thr Lys Gly Asp Gln Glu Gln Ala Met Leu His Ala 365 370 375 380			1215
gtg cag cgg atc aac aaa gcc atc cgg agg gga gtg gcg gct gac act Val Gln Arg Ile Asn Lys Ala Ile Arg Arg Gly Val Ala Ala Asp Thr 385 390 395			1263
gtg aag gag ctg atg tgc cct gag gcc cag ctg cct cca gtg tac cct Val Lys Glu Leu Met Cys Pro Glu Ala Gln Leu Pro Pro Val Tyr Pro 400 405 410			1311
gtt gca tcg tot atg tac cag ctg gag ctg gca gtg ctc cag cag cag Val Ala Ser Ser Met Tyr Gln Leu Glu Leu Ala Val Leu Gln Gln Gln 415 420 425			1359
cag ggg gag ctt ggc cag gag gag ctc ttc gtg gct gtg gag atg ctc Gln Gly Glu Leu Gly Gln Glu Glu Leu Phe Val Ala Val Glu Met Leu 430 435 440			1407
tca gct gtg gtc ctg att aac cgg gcc ctg gag gcc cgg gat gcc agt Ser Ala Val Val Leu Ile Asn Arg Ala Leu Glu Ala Arg Asp Ala Ser 445 450 455 460			1455
ggc ttc tgg agc agc ctg gtg aac cct gcc aca ggc ctg gct gag gtg Gly Phe Trp Ser Ser Leu Val Asn Pro Ala Thr Gly Leu Ala Glu Val 465 470 475			1503
gaa gga gaa aat gcc cag cgt tac ttc gat gcc ctg ctg aaa ttg cga Glu Gly Glu Asn Ala Gln Arg Tyr Phe Asp Ala Leu Leu Lys Leu Arg 480 485 490			1551
cag gag cgt ggg atg ggt gag gac ttc ctg agc tgg aat gac ctg cag Gln Glu Arg Gly Met Gly Glu Asp Phe Leu Ser Trp Asn Asp Leu Gln 495 500 505			1599
gcc acc gtg agc cag gtc aat gca cag acc cag gaa gag act gac cgg Ala Thr Val Ser Gln Val Asn Ala Gln Thr Gln Glu Glu Thr Asp Arg 510 515 520			1647
gtc ctt gca gtc agc ctc atc aat gag gct ctg gac aaa ggc agc cct Val Leu Ala Val Ser Leu Ile Asn Glu Ala Leu Asp Lys Gly Ser Pro 525 530 535 540			1695
gag aag act ctg tot gcc cta ctg ctt cct gca gct ggc cta gat gat Glu Lys Thr Leu Ser Ala Leu Leu Leu Pro Ala Ala Gly Leu Asp Asp 545 550 555			1743
gtc agc ctc cct gtc gcc cct cgg tac cat ctc ctc ctt gtg gca gcc Val Ser Leu Pro Val Ala Pro Arg Tyr His Leu Leu Leu Val Ala Ala 560 565 570			1791
aaa agg cag aag gcc cag gtg aca ggg gat cct gga gct gtg ctg tgg			1839

Lys	Arg	Gln	Lys	Ala	Gln	Val	Thr	Gly	Asp	Pro	Gly	Ala	Val	Leu	Trp	
		575					580					585				
ctt	gag	gag	atc	cgc	cag	gga	gtg	gtc	aga	gcc	aac	cag	gac	act	aat	1887
Leu	Glu	Glu	Ile	Arg	Gln	Gly	Val	Val	Arg	Ala	Asn	Gln	Asp	Thr	Asn	
		590				595					600					
aca	gct	cag	aga	atg	gct	ctt	ggt	gtg	gct	gcc	atc	aat	caa	gcc	atc	1935
Thr	Ala	Gln	Arg	Met	Ala	Leu	Gly	Val	Ala	Ala	Ile	Asn	Gln	Ala	Ile	
		605			610					615					620	
aag	gag	ggc	aag	gca	gcc	cag	act	gag	cgg	gtg	ttg	agg	aac	ccc	gca	1983
Lys	Glu	Gly	Lys	Ala	Ala	Gln	Thr	Glu	Arg	Val	Leu	Arg	Asn	Pro	Ala	
				625					630					635		
gtg	gcc	ctt	cga	ggg	gta	gtt	ccc	gac	tgt	gcc	aac	ggc	tac	cag	cga	2031
Val	Ala	Leu	Arg	Gly	Val	Val	Pro	Asp	Cys	Ala	Asn	Gly	Tyr	Gln	Arg	
			640					645					650			
gcc	ctg	gaa	agt	gcc	atg	gca	aag	aaa	cag	cgt	cca	gca	gac	aca	gct	2079
Ala	Leu	Glu	Ser	Ala	Met	Ala	Lys	Lys	Gln	Arg	Pro	Ala	Asp	Thr	Ala	
		655					660					665				
ttc	tgg	gtt	caa	cat	gac	atg	aag	gat	ggc	act	gcc	tac	tac	ttc	cat	2127
Phe	Trp	Val	Gln	His	Asp	Met	Lys	Asp	Gly	Thr	Ala	Tyr	Tyr	Phe	His	
		670				675					680					
ctg	cag	acc	ttc	cag	ggg	atc	tgg	gag	caa	cct	cct	ggc	tgc	ccc	ctc	2175
Leu	Gln	Thr	Phe	Gln	Gly	Ile	Trp	Glu	Gln	Pro	Pro	Gly	Cys	Pro	Leu	
		685			690					695					700	
aac	acc	tct	cac	ctg	acc	cgg	gag	gag	atc	cag	tca	gct	gtc	acc	aag	2223
Asn	Thr	Ser	His	Leu	Thr	Arg	Glu	Glu	Ile	Gln	Ser	Ala	Val	Thr	Lys	
				705					710					715		
gtc	act	gct	gcc	tat	gac	cgc	caa	cag	ctc	tgg	aaa	gcc	aac	gtc	ggc	2271
Val	Thr	Ala	Ala	Tyr	Asp	Arg	Gln	Gln	Leu	Trp	Lys	Ala	Asn	Val	Gly	
			720					725					730			
ttt	gtt	atc	cag	ctc	cag	gcc	cgc	ctc	cgt	ggc	ttc	cta	gtt	cgg	cag	2319
Phe	Val	Ile	Gln	Leu	Gln	Ala	Arg	Leu	Arg	Gly	Phe	Leu	Val	Arg	Gln	
		735					740					745				
aag	ttt	gct	gag	cat	tcc	cac	ttt	ctg	agg	acc	tgg	ctc	cca	gca	gtc	2367
Lys	Phe	Ala	Glu	His	Ser	His	Phe	Leu	Arg	Thr	Trp	Leu	Pro	Ala	Val	
		750				755					760					
atc	aag	atc	cag	gct	cat	tgg	cgg	ggt	tat	agg	cag	cgg	aag	att	tac	2415
Ile	Lys	Ile	Gln	Ala	His	Trp	Arg	Gly	Tyr	Arg	Gln	Arg	Lys	Ile	Tyr	
		765			770			775							780	
ctg	gag	tgg	ttg	cag	tat	ttt	aaa	gca	aac	ctg	gat	gcc	ata	atc	aag	2463
Leu	Glu	Trp	Leu	Gln	Tyr	Phe	Lys	Ala	Asn	Leu	Asp	Ala	Ile	Ile	Lys	
				785					790					795		
atc	cag	gcc	tgg	gcc	cgg	atg	tgg	gca	gct	cgg	agg	caa	tac	ctg	agg	2511
Ile	Gln	Ala	Trp	Ala	Arg	Met	Trp	Ala	Ala	Arg	Arg	Gln	Tyr	Leu	Arg	
			800					805					810			

cgt ctg cac tac ttc cag aag aat gtt aac tcc att gtg aag atc cag Arg Leu His Tyr Phe Gln Lys Asn Val Asn Ser Ile Val Lys Ile Gln 815 820 825	2559
gca ttt ttc cga gcc agg aaa gcc caa gat gac tac agg ata tta gtg Ala Phe Phe Arg Ala Arg Lys Ala Gln Asp Asp Tyr Arg Ile Leu Val 830 835 840	2607
cat gca ccc cac cct cct ctc agt gtg gta cgc aga ttt gcc cat ctc His Ala Pro His Pro Pro Leu Ser Val Val Arg Arg Phe Ala His Leu 845 850 855 860	2655
ttg aat caa agc cag caa gac ttc ttg gct gag gca gag ctg ctg aag Leu Asn Gln Ser Gln Gln Asp Phe Leu Ala Glu Ala Glu Leu Leu Lys 865 870 875	2703
ctc cag gaa gag gta gtt agg aag atc cga tcc aat cag cag ctg gag Leu Gln Glu Glu Val Val Arg Lys Ile Arg Ser Asn Gln Gln Leu Glu 880 885 890	2751
cag gac ctc aac atc atg gac atc aag att ggc ctg ctg gtg aag aac Gln Asp Leu Asn Ile Met Asp Ile Lys Ile Gly Leu Leu Val Lys Asn 895 900 905	2799
cgg atc act ctg cag gaa gtg gtc tcc cac tgc aag aag ctg acc aag Arg Ile Thr Leu Gln Glu Val Val Ser His Cys Lys Lys Leu Thr Lys 910 915 920	2847
agg aat aag gaa cag ctg tca gat atg atg gtt ctg gac aag cag aag Arg Asn Lys Glu Gln Leu Ser Asp Met Met Val Leu Asp Lys Gln Lys 925 930 935 940	2895
ggc tta aag tcg ctg agc aaa gag aaa cgg cag aaa cta gaa gca tac Gly Leu Lys Ser Leu Ser Lys Glu Lys Arg Gln Lys Leu Glu Ala Tyr 945 950 955	2943
caa cac ctc ttc tac ctg ctc cag act cag ccc atc tac ctg gcc aag Gln His Leu Phe Tyr Leu Leu Gln Thr Gln Pro Ile Tyr Leu Ala Lys 960 965 970	2991
ctg atc ttt cag atg oca cag aac aaa acc acc aag ttc atg gag gca Leu Ile Phe Gln Met Pro Gln Asn Lys Thr Thr Lys Phe Met Glu Ala 975 980 985	3039
gtg att ttc agc ctg tac aac tat gcc tcc agc cgc cga gag gcc tat Val Ile Phe Ser Leu Tyr Asn Tyr Ala Ser Ser Arg Arg Glu Ala Tyr 990 995 1000	3087
ctc ctg ctc cag ctg ttc aag aca gca ctc cag gag gaa atc aag Leu Leu Leu Gln Leu Phe Lys Thr Ala Leu Gln Glu Glu Ile Lys 1005 1010 1015	3132
tca aag gtg gag cag ccc cag gac gtg gtg aca ggc aac cca aca Ser Lys Val Glu Gln Pro Gln Asp Val Val Thr Gly Asn Pro Thr 1020 1025 1030	3177
gtg gtg agg ctg gtg gtg aga ttc tac cgt aat ggg cgg gga cag Val Val Arg Leu Val Val Arg Phe Tyr Arg Asn Gly Arg Gly Gln 1035 1040 1045	3222

agt Ser 1050	gcc Ala	ctg Leu	cag Gln	gag Glu	att Ile 1055	ctg Leu	ggc Gly	aag Lys	gtt Val	atc Ile 1060	cag Gln	gat Asp	gtg Val	cta Leu	3267
gaa Glu 1065	gac Asp	aaa Lys	gtg Val	ctc Leu	agc Ser 1070	gtc Val	cac His	aca Thr	gac Asp	cct Pro 1075	gtc Val	cac His	ctc Leu	tat Tyr	3312
aag Lys 1080	aac Asn	tgg Trp	atc Ile	aac Asn	cag Gln 1085	act Thr	gag Glu	gcc Ala	cag Gln	aca Thr 1090	ggg Gly	cag Gln	cgc Arg	agc Ser	3357
cat His 1095	ctc Leu	cca Pro	tat Tyr	gat Asp	gtc Val 1100	acc Thr	cgc Pro	gag Glu	cag Gln	gcc Ala 1105	ttg Leu	agc Ser	cac His	ccc Pro	3402
gag Glu 1110	gtc Val	cag Gln	aga Arg	cga Arg	ctg Leu 1115	gac Asp	atc Ile	gcc Ala	cta Leu	cgc Arg 1120	aac Asn	ctc Leu	ctc Leu	gcc Ala	3447
atg Met 1125	act Thr	gat Asp	aag Lys	ttc Phe	ctt Leu 1130	tta Leu	gcc Ala	atc Ile	acc Thr	tca Ser 1135	tct Ser	gtg Val	gac Asp	caa Gln	3492
att Ile 1140	cgc Pro	tat Tyr	ggg Gly	atg Met	cga Arg 1145	tat Tyr	gtg Val	gcc Ala	aaa Lys	gtc Val 1150	ctg Leu	aag Lys	gca Ala	act Thr	3537
ctg Leu 1155	gca Ala	gag Glu	aaa Lys	ttc Phe	cct Pro 1160	gac Asp	gcc Ala	aca Thr	gac Asp	agc Ser 1165	gag Glu	gtc Val	tat Tyr	aag Lys	3582
gtg Val 1170	gtc Val	ggg Gly	aac Asn	ctc Leu	ctg Leu 1175	tac Tyr	tac Tyr	cgc Arg	ttc Phe	ctg Leu 1180	aac Asn	cca Pro	gct Ala	gtg Val	3627
gtg Val 1185	gct Ala	cct Pro	gac Asp	gcc Ala	ttc Phe 1190	gac Asp	att Ile	gtg Val	gcc Ala	atg Met 1195	gca Ala	gct Ala	ggt Gly	gga Gly	3672
gcc Ala 1200	ctg Leu	gct Ala	gcc Ala	ccc Pro	cag Gln 1205	cgc Arg	cat His	gcc Ala	ctg Leu	ggg Gly 1210	gct Ala	gtg Val	gct Ala	cag Gln	3717
ctc Leu 1215	cta Leu	cag Gln	cac His	gct Ala	gcg Ala 1220	gct Ala	ggc Gly	aag Lys	gcc Ala	ttc Phe 1225	tct Ser	ggg Gly	cag Gln	agc Ser	3762
cag Gln 1230	cac His	cta Leu	cgg Arg	gtc Val	ctg Leu 1235	aat Asn	gac Asp	tat Tyr	ctg Leu	gag Glu 1240	gaa Glu	aca Thr	cac His	ctc Leu	3807
aag Lys 1245	ttc Phe	agg Arg	aag Lys	ttc Phe	atc Ile 1250	cat His	aga Arg	gcc Ala	tgc Cys	cag Gln 1255	gtg Val	cca Pro	gag Glu	cca Pro	3852
gag Glu	gag Glu	cgt Arg	ttt Phe	gca Ala	gtg Val	gac Asp	gag Glu	tac Tyr	tca Ser	gac Asp	atg Met	gtg Val	gct Ala	gtg Val	3897

1260	1265	1270	
gcc aaa ccc atg gtg tac Ala Lys Pro Met Val Tyr 1275	atc acc gtg ggg gag Ile Thr Val Gly Glu 1280	ctg gtc aac acg Leu Val Asn Thr 1285	3942
cac agg ctg ttg ctg gag His Arg Leu Leu Leu Glu 1290	cac cag gac tgc att His Gln Asp Cys Ile 1295	gcc cct gat cac Ala Pro Asp His 1300	3987
caa gac ccc ctg cat gag Gln Asp Pro Leu His Glu 1305	ctc ctg gag gat ctt Leu Leu Glu Asp Leu 1310	ggg gag ctg ccc Gly Glu Leu Pro 1315	4032
acc atc cct gac ctt att Thr Ile Pro Asp Leu Ile 1320	ggt gag agc atc gct Gly Glu Ser Ile Ala 1325	gca gat ggg cac Ala Asp Gly His 1330	4077
acg gac ctg agc aag cta Thr Asp Leu Ser Lys Leu 1335	gaa gtg tcc ctg acg Glu Val Ser Leu Thr 1340	ctg acc aac aag Leu Thr Asn Lys 1345	4122
ttt gaa gga cta gag gca Phe Glu Gly Leu Glu Ala 1350	gat gct gat gac tcc Asp Ala Asp Asp Ser 1355	aac acc cgt agc Asn Thr Arg Ser 1360	4167
ctg ctt ctg agc acc aag Leu Leu Leu Ser Thr Lys 1365	cag ctg ttg gcc gat Gln Leu Leu Ala Asp 1370	atc ata cag ttc Ile Ile Gln Phe 1375	4212
cat cct ggg gac acc ctc His Pro Gly Asp Thr Leu 1380	aag gag atc ctg tcc Lys Glu Ile Leu Ser 1385	ctc tog gct tcc Leu Ser Ala Ser 1390	4257
aga gag caa gaa gca gcc Arg Glu Gln Glu Ala Ala 1395	cac aag cag ctg atg His Lys Gln Leu Met 1400	agc cga cgc cag Ser Arg Arg Gln 1405	4302
gcc tgt aca gcc cag aca Ala Cys Thr Ala Gln Thr 1410	cgc gag cca ctg cga Pro Glu Pro Leu Arg 1415	cga cac cgc tca Arg His Arg Ser 1420	4347
ctg aca gct cac tcc ctc Leu Thr Ala His Ser Leu 1425	ctg cca ctg gca gag Leu Pro Leu Ala Glu 1430	aag cag cgg cgc Lys Gln Arg Arg 1435	4392
gtc ctg cgg aac cta cgc Val Leu Arg Asn Leu Arg 1440	cga ctt gaa gcc ctg Arg Leu Glu Ala Leu 1445	ggg ttg gtc agc Gly Leu Val Ser 1450	4437
gcc aga aat ggc tac cag Ala Arg Asn Gly Tyr Gln 1455	ggg cta gtg gac gag Gly Leu Val Asp Glu 1460	ctg gcc aag gac Leu Ala Lys Asp 1465	4482
atc cgc aac cag cac aga Ile Arg Asn Gln His Arg 1470	cac agg cac agg cgg His Arg His Arg Arg 1475	aag gca gag ctg Lys Ala Glu Leu 1480	4527
gtg aag ctg cag gcc aca tta cag ggc ctg agc act aag acc acc			4572

Val 1485	Lys	Leu	Gln	Ala	Thr 1490	Leu	Gln	Gly	Leu	Ser 1495	Thr	Lys	Thr	Thr	
ttc	tat	gag	gag	cag	ggt	gac	tac	tac	agc	cag	tac	atc	cgg	gcc	4617
Phe 1500	Tyr	Glu	Glu	Gln	Gly 1505	Asp	Tyr	Tyr	Ser	Gln 1510	Tyr	Ile	Arg	Ala	
tgc	ctg	gac	cac	ctg	gcc	ccc	gac	tcc	aag	agt	tct	ggg	aag	ggg	4662
Cys 1515	Leu	Asp	His	Leu	Ala 1520	Pro	Asp	Ser	Lys	Ser 1525	Ser	Gly	Lys	Gly	
aag	aag	cag	cct	tct	ctt	cat	tac	act	gct	gct	cag	ctc	ctg	gaa	4707
Lys 1530	Lys	Gln	Pro	Ser	Leu 1535	His	Tyr	Thr	Ala	Ala 1540	Gln	Leu	Leu	Glu	
aag	ggt	gtc	ttg	gtg	gaa	att	gaa	gat	ctt	ccc	gcc	tct	cac	ttc	4752
Lys 1545	Gly	Val	Leu	Val	Glu 1550	Ile	Glu	Asp	Leu	Pro 1555	Ala	Ser	His	Phe	
aga	aac	gtc	atc	ttt	gac	atc	acg	ccg	gga	gat	gag	gca	gga	aag	4797
Arg 1560	Asn	Val	Ile	Phe	Asp 1565	Ile	Thr	Pro	Gly	Asp 1570	Glu	Ala	Gly	Lys	
ttt	gaa	gta	aat	gcc	aag	ttc	ctg	ggt	gtg	gac	atg	gag	cga	ttt	4842
Phe 1575	Glu	Val	Asn	Ala	Lys 1580	Phe	Leu	Gly	Val	Asp 1585	Met	Glu	Arg	Phe	
cag	ctt	cac	tat	cag	gat	ctc	ctg	cag	ctc	cag	tat	gag	ggt	gtg	4887
Gln 1590	Leu	His	Tyr	Gln	Asp 1595	Leu	Leu	Gln	Leu	Gln 1600	Tyr	Glu	Gly	Val	
gct	gtc	atg	aaa	ctc	ttc	aac	aag	gcc	aaa	gtc	aat	gtc	aac	ctt	4932
Ala 1605	Val	Met	Lys	Leu	Phe 1610	Asn	Lys	Ala	Lys	Val 1615	Asn	Val	Asn	Leu	
ctc	atc	ttc	ctc	ctc	aac	aag	aag	ttt	ttg	cgg	aag	tga	cagaggcaaa		4981
Leu 1620	Ile	Phe	Leu	Leu	Asn 1625	Lys	Lys	Phe	Leu	Arg 1630	Lys				
gggtgctacc	caagcccctc	ttacctctct	ggatgctttc	tttaacacta	actcaccact										5041
gtgctttccct	gcagacaccc	agagctcagg	actgggcaag	gccagggat	tctcaccct										5101
tcccagctg	ggaggagctt	gcctgcctgg	ccacagacag	tgtatcttct	aattggctaa										5161
agtgggcctt	gccagagtc	cagctgtgtg	gcttttatca	tgcattgaaa	accctggct										5221
ttcctgccag	atggtaggac	atggaccttg	acctgggaaa	gccattactc	tttgtctgc										5281
tactgccctc	ccacagtcac	cccaatatta	caagcactgc	cccagcggct	tgatttcccc										5341
tctgccttcc	ttctctctgc	actcccacaa	agccagggcc	aggctcccca	tcctacctc										5401
ccactgcac	agcagtgggt	gttctgccc	ttcctgagtc	taggcagctc	tgctgctgtg										5461
atctgcacac	cctccaacct	gggcagggac	tggggggatg	cagtgtgtgt	tagtgcccat										5521
gtggcattgt	ggcactgttg	cccccatgg	cgcatgggc	aagatgacct	tccattagct										5581

tcaagtcttg ttctcttgtc tgtggtotgt ttaatatgtg ggtcactagg gtatttatto 5641
tttctcccat ccttacactc tggatcattg tgcagactta atcagggttt taacgcttc 5701
atTTTTTTTT tTTTTTTTT tTTTTgagc tcaaagagag ttctcatttt ccctattcaa 5761
actaatacc atgocgtgtt ttttaccttg gatttaaagt caccttaggt tggggcaaca 5821
gattctcact catgtttaag atcttgttat ttcagcttca taagatcaaa gaggagtctt 5881
tcccttttct cttttaccct caggattctc atcccttaca gctgactctt ccaggcaatt 5941
tccatagatc tgcagtctg cctctgccac agtctctctg ttgtccccac atctacccaa 6001
cttctgtac tgttgccctt ctgatgttaa taaaagcagc tgttactccc aaaaaaaaaa 6061
aaaaaaaaa 6069

<210> 154
<211> 1631
<212> PRT
<213> 人類

<400> 154

Met Glu Arg Arg Ala Ala Gly Pro Gly Trp Ala Ala Tyr Glu Arg Leu
1 5 10 15

Thr Ala Glu Glu Met Asp Glu Gln Arg Arg Gln Asn Val Ala Tyr Gln
20 25 30

Tyr Leu Cys Arg Leu Glu Glu Ala Lys Arg Trp Met Glu Ala Cys Leu
35 40 45

Lys Glu Glu Leu Pro Ser Pro Val Glu Leu Glu Glu Ser Leu Arg Asn
50 55 60

Gly Val Leu Leu Ala Lys Leu Gly His Cys Phe Ala Pro Ser Val Val
65 70 75 80

Pro Leu Lys Lys Ile Tyr Asp Val Glu Gln Leu Arg Tyr Gln Ala Thr
85 90 95

Gly Leu His Phe Arg His Thr Asp Asn Ile Asn Phe Trp Leu Ser Ala
100 105 110

Ile Ala His Ile Gly Leu Pro Ser Thr Phe Phe Pro Glu Thr Thr Asp
115 120 125

Ile Tyr Asp Lys Lys Asn Met Pro Arg Val Val Tyr Cys Ile His Ala

201000115

130

135

140

Leu Ser Leu Phe Leu Phe Arg Leu Gly Leu Ala Pro Gln Ile His Asp
145 150 155 160

Leu Tyr Gly Lys Val Lys Phe Thr Ala Glu Glu Leu Ser Asn Met Ala
165 170 175

Ser Glu Leu Ala Lys Tyr Gly Leu Gln Leu Pro Ala Phe Ser Lys Ile
180 185 190

Gly Gly Ile Leu Ala Asn Glu Leu Ser Val Asp Glu Ala Ala Val His
195 200 205

Ala Ala Val Leu Ala Ile Asn Glu Ala Val Glu Arg Gly Val Val Glu
210 215 220

Asp Thr Leu Ala Ala Leu Gln Asn Pro Ser Ala Leu Leu Glu Asn Leu
225 230 235 240

Arg Glu Pro Leu Ala Ala Val Tyr Gln Glu Met Leu Ala Gln Ala Lys
245 250 255

Met Glu Lys Ala Ala Asn Ala Arg Asn His Asp Asp Arg Glu Ser Gln
260 265 270

Asp Ile Tyr Asp His Tyr Leu Thr Gln Ala Glu Ile Gln Gly Asn Ile
275 280 285

Asn His Val Asn Val His Gly Ala Leu Glu Val Val Asp Asp Ala Leu
290 295 300

Glu Arg Gln Ser Pro Glu Ala Leu Leu Lys Ala Leu Gln Asp Pro Ala
305 310 315 320

Leu Ala Leu Arg Gly Val Arg Arg Asp Phe Ala Asp Trp Tyr Leu Glu
325 330 335

Gln Leu Asn Ser Asp Arg Glu Gln Lys Ala Gln Glu Leu Gly Leu Val
340 345 350

Glu Leu Leu Glu Lys Glu Glu Val Gln Ala Gly Val Ala Ala Ala Asn
355 360 365

201000115

Thr Lys Gly Asp Gln Glu Gln Ala Met Leu His Ala Val Gln Arg Ile
370 375 380

Asn Lys Ala Ile Arg Arg Gly Val Ala Ala Asp Thr Val Lys Glu Leu
385 390 395 400

Met Cys Pro Glu Ala Gln Leu Pro Pro Val Tyr Pro Val Ala Ser Ser
405 410 415

Met Tyr Gln Leu Glu Leu Ala Val Leu Gln Gln Gln Gln Gly Glu Leu
420 425 430

Gly Gln Glu Glu Leu Phe Val Ala Val Glu Met Leu Ser Ala Val Val
435 440 445

Leu Ile Asn Arg Ala Leu Glu Ala Arg Asp Ala Ser Gly Phe Trp Ser
450 455 460

Ser Leu Val Asn Pro Ala Thr Gly Leu Ala Glu Val Glu Gly Glu Asn
465 470 475 480

Ala Gln Arg Tyr Phe Asp Ala Leu Leu Lys Leu Arg Gln Glu Arg Gly
485 490 495

Met Gly Glu Asp Phe Leu Ser Trp Asn Asp Leu Gln Ala Thr Val Ser
500 505 510

Gln Val Asn Ala Gln Thr Gln Glu Glu Thr Asp Arg Val Leu Ala Val
515 520 525

Ser Leu Ile Asn Glu Ala Leu Asp Lys Gly Ser Pro Glu Lys Thr Leu
530 535 540

Ser Ala Leu Leu Leu Pro Ala Ala Gly Leu Asp Asp Val Ser Leu Pro
545 550 555 560

Val Ala Pro Arg Tyr His Leu Leu Leu Val Ala Ala Lys Arg Gln Lys
565 570 575

Ala Gln Val Thr Gly Asp Pro Gly Ala Val Leu Trp Leu Glu Glu Ile
580 585 590

Arg Gln Gly Val Val Arg Ala Asn Gln Asp Thr Asn Thr Ala Gln Arg
595 600 605

Met Ala Leu Gly Val Ala Ala Ile Asn Gln Ala Ile Lys Glu Gly Lys
610 615 620

Ala Ala Gln Thr Glu Arg Val Leu Arg Asn Pro Ala Val Ala Leu Arg
625 630 635 640

Gly Val Val Pro Asp Cys Ala Asn Gly Tyr Gln Arg Ala Leu Glu Ser
645 650 655

Ala Met Ala Lys Lys Gln Arg Pro Ala Asp Thr Ala Phe Trp Val Gln
660 665 670

His Asp Met Lys Asp Gly Thr Ala Tyr Tyr Phe His Leu Gln Thr Phe
675 680 685

Gln Gly Ile Trp Glu Gln Pro Pro Gly Cys Pro Leu Asn Thr Ser His
690 695 700

Leu Thr Arg Glu Glu Ile Gln Ser Ala Val Thr Lys Val Thr Ala Ala
705 710 715 720

Tyr Asp Arg Gln Gln Leu Trp Lys Ala Asn Val Gly Phe Val Ile Gln
725 730 735

Leu Gln Ala Arg Leu Arg Gly Phe Leu Val Arg Gln Lys Phe Ala Glu
740 745 750

His Ser His Phe Leu Arg Thr Trp Leu Pro Ala Val Ile Lys Ile Gln
755 760 765

Ala His Trp Arg Gly Tyr Arg Gln Arg Lys Ile Tyr Leu Glu Trp Leu
770 775 780

Gln Tyr Phe Lys Ala Asn Leu Asp Ala Ile Ile Lys Ile Gln Ala Trp
785 790 795 800

Ala Arg Met Trp Ala Ala Arg Arg Gln Tyr Leu Arg Arg Leu His Tyr
805 810 815

Phe Gln Lys Asn Val Asn Ser Ile Val Lys Ile Gln Ala Phe Phe Arg
820 825 830

Ala Arg Lys Ala Gln Asp Asp Tyr Arg Ile Leu Val His Ala Pro His
835 840 845

Pro Pro Leu Ser Val Val Arg Arg Phe Ala His Leu Leu Asn Gln Ser
850 855 860

Gln Gln Asp Phe Leu Ala Glu Ala Glu Leu Leu Lys Leu Gln Glu Glu
865 870 875 880

Val Val Arg Lys Ile Arg Ser Asn Gln Gln Leu Glu Gln Asp Leu Asn
885 890 895

Ile Met Asp Ile Lys Ile Gly Leu Leu Val Lys Asn Arg Ile Thr Leu
900 905 910

Gln Glu Val Val Ser His Cys Lys Lys Leu Thr Lys Arg Asn Lys Glu
915 920 925

Gln Leu Ser Asp Met Met Val Leu Asp Lys Gln Lys Gly Leu Lys Ser
930 935 940

Leu Ser Lys Glu Lys Arg Gln Lys Leu Glu Ala Tyr Gln His Leu Phe
945 950 955 960

Tyr Leu Leu Gln Thr Gln Pro Ile Tyr Leu Ala Lys Leu Ile Phe Gln
965 970 975

Met Pro Gln Asn Lys Thr Thr Lys Phe Met Glu Ala Val Ile Phe Ser
980 985 990

Leu Tyr Asn Tyr Ala Ser Ser Arg Arg Glu Ala Tyr Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Leu Phe Lys Thr Ala Leu Gln Glu Glu Ile Lys Ser Lys Val Glu
1010 1015 1020

Gln Pro Gln Asp Val Val Thr Gly Asn Pro Thr Val Val Arg Leu
1025 1030 1035

Val Val Arg Phe Tyr Arg Asn Gly Arg Gly Gln Ser Ala Leu Gln
1040 1045 1050

Glu Ile Leu Gly Lys Val Ile Gln Asp Val Leu Glu Asp Lys Val
1055 1060 1065

Leu Ser Val His Thr Asp Pro Val His Leu Tyr Lys Asn Trp Ile

1070	1075	1080
Asn Gln Thr Glu Ala Gln Thr Gly Gln Arg Ser His Leu Pro Tyr 1085 1090 1095		
Asp Val Thr Pro Glu Gln Ala Leu Ser His Pro Glu Val Gln Arg 1100 1105 1110		
Arg Leu Asp Ile Ala Leu Arg Asn Leu Leu Ala Met Thr Asp Lys 1115 1120 1125		
Phe Leu Leu Ala Ile Thr Ser Ser Val Asp Gln Ile Pro Tyr Gly 1130 1135 1140		
Met Arg Tyr Val Ala Lys Val Leu Lys Ala Thr Leu Ala Glu Lys 1145 1150 1155		
Phe Pro Asp Ala Thr Asp Ser Glu Val Tyr Lys Val Val Gly Asn 1160 1165 1170		
Leu Leu Tyr Tyr Arg Phe Leu Asn Pro Ala Val Val Ala Pro Asp 1175 1180 1185		
Ala Phe Asp Ile Val Ala Met Ala Ala Gly Gly Ala Leu Ala Ala 1190 1195 1200		
Pro Gln Arg His Ala Leu Gly Ala Val Ala Gln Leu Leu Gln His 1205 1210 1215		
Ala Ala Ala Gly Lys Ala Phe Ser Gly Gln Ser Gln His Leu Arg 1220 1225 1230		
Val Leu Asn Asp Tyr Leu Glu Glu Thr His Leu Lys Phe Arg Lys 1235 1240 1245		
Phe Ile His Arg Ala Cys Gln Val Pro Glu Pro Glu Glu Arg Phe 1250 1255 1260		
Ala Val Asp Glu Tyr Ser Asp Met Val Ala Val Ala Lys Pro Met 1265 1270 1275		
Val Tyr Ile Thr Val Gly Glu Leu Val Asn Thr His Arg Leu Leu 1280 1285 1290		

201000115

Leu Glu His Gln Asp Cys Ile Ala Pro Asp His Gln Asp Pro Leu
1295 1300 1305

His Glu Leu Leu Glu Asp Leu Gly Glu Leu Pro Thr Ile Pro Asp
1310 1315 1320

Leu Ile Gly Glu Ser Ile Ala Ala Asp Gly His Thr Asp Leu Ser
1325 1330 1335

Lys Leu Glu Val Ser Leu Thr Leu Thr Asn Lys Phe Glu Gly Leu
1340 1345 1350

Glu Ala Asp Ala Asp Asp Ser Asn Thr Arg Ser Leu Leu Leu Ser
1355 1360 1365

Thr Lys Gln Leu Leu Ala Asp Ile Ile Gln Phe His Pro Gly Asp
1370 1375 1380

Thr Leu Lys Glu Ile Leu Ser Leu Ser Ala Ser Arg Glu Gln Glu
1385 1390 1395

Ala Ala His Lys Gln Leu Met Ser Arg Arg Gln Ala Cys Thr Ala
1400 1405 1410

Gln Thr Pro Glu Pro Leu Arg Arg His Arg Ser Leu Thr Ala His
1415 1420 1425

Ser Leu Leu Pro Leu Ala Glu Lys Gln Arg Arg Val Leu Arg Asn
1430 1435 1440

Leu Arg Arg Leu Glu Ala Leu Gly Leu Val Ser Ala Arg Asn Gly
1445 1450 1455

Tyr Gln Gly Leu Val Asp Glu Leu Ala Lys Asp Ile Arg Asn Gln
1460 1465 1470

His Arg His Arg His Arg Arg Lys Ala Glu Leu Val Lys Leu Gln
1475 1480 1485

Ala Thr Leu Gln Gly Leu Ser Thr Lys Thr Thr Phe Tyr Glu Glu
1490 1495 1500

Gln Gly Asp Tyr Tyr Ser Gln Tyr Ile Arg Ala Cys Leu Asp His
1505 1510 1515

201000115

Leu Ala Pro Asp Ser Lys Ser Ser Gly Lys Gly Lys Lys Gln Pro
1520 1525 1530

Ser Leu His Tyr Thr Ala Ala Gln Leu Leu Glu Lys Gly Val Leu
1535 1540 1545

Val Glu Ile Glu Asp Leu Pro Ala Ser His Phe Arg Asn Val Ile
1550 1555 1560

Phe Asp Ile Thr Pro Gly Asp Glu Ala Gly Lys Phe Glu Val Asn
1565 1570 1575

Ala Lys Phe Leu Gly Val Asp Met Glu Arg Phe Gln Leu His Tyr
1580 1585 1590

Gln Asp Leu Leu Gln Leu Gln Tyr Glu Gly Val Ala Val Met Lys
1595 1600 1605

Leu Phe Asn Lys Ala Lys Val Asn Val Asn Leu Leu Ile Phe Leu
1610 1615 1620

Leu Asn Lys Lys Phe Leu Arg Lys
1625 1630

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：98119196

※申請日：98.6.9

※IPC 分類：

A61k 38/08 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

IQGAP3 抗原決定位胜肽及含此胜肽之疫苗 / IQGAP3
EPITOPE PEPTIDES AND VACCINES CONTAINING THE SAME

二、中文發明摘要：

本發明提供一種癌症疫苗，特別揭示一種衍生自 IQGAP3 之抗原決定胜肽，其會誘發 CTLs。本發明亦提供一種可專一性辨識具 HLA-A24 或 HLA-A02 的 CTLs。本發明更提供可表現任何胜肽之抗原呈現細胞與外吐小體，以及誘發此抗原呈現細胞與外吐小體的方法。本發明更提供一種醫藥組成物，其中含有作為活性成份的 IQGAP3 聚胜肽或聚核酸以及外吐小體與抗原呈現細胞。此外，本發明更提供一種治療及/或預防癌症(腫瘤)及/或預防其術後的復發的方法，以及促進抗腫瘤免疫的方法，其藉由 IQGAP3 聚胜肽、編碼此胜肽之聚核酸、表現此胜肽之外吐小體或抗原呈現細胞、或本發明之醫藥組成物。所針對的癌症包括，但不限於，腎臟癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳癌、膀胱癌及胰臟癌。

三、英文發明摘要：

Peptide vaccines against cancer are described herein. In particular, the present invention describes epitope peptides derived from IQGAP3 that elicit CTLs. The present invention also provides established CTLs that specifically recognize HLA-A24 or HLA-A02 positive target cells pulsed with the peptides. Antigen-presenting cells and exosomes that present any of the peptides, as well as methods for inducing antigen-presenting cells are also provided. The present invention further provides pharmaceutical agents containing the IQGAP3 polypeptides or polynucleotides encoding thereof, as well as exosomes and antigen-presenting cells as active ingredients. Furthermore, the present invention provides methods for treating and/or prophylaxis of (*i. e.*, preventing) cancers (tumors), and/or prevention of postoperative recurrence thereof, as well as methods for inducing CTLs, methods for inducing anti-tumor immunity, using the IQGAP3 polypeptides, polynucleotides encoding the polypeptides, exosomes or antigen-presenting cells presenting the polypeptides, or the pharmaceutical agents of the present invention. The cancers to be targeted include, but are not limited to, renal,

esophageal, gastric, lung, breast, bladder and pancreatic cancer.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(3)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於生物科學的領域，更具體地來說係有關於癌症治療的領域。本發明特別有關於新穎胜肽，其為極有效的癌疫苗以及治療和預防腫瘤的藥物。

【先前技術】

目前已證實 CD8 陽性細胞毒性 T 淋巴細胞(以下簡稱 CTLs)會辨認位於主要組織相容複合體(MHC)第一類分子上之衍生自腫瘤相關抗原(以下簡稱 TAAs)的抗原決定位胜肽，並殺死腫瘤細胞。雖然黑色素瘤抗原(MAGE)家族係第一個被發現的腫瘤相關抗原，許多其他的腫瘤相關抗原已經由免疫方法發現(Boon T, Int J Cancer 1993 May 8, 54(2): 177-80; Boon T & van der Bruggen P, J Exp Med

七、申請專利範圍：

1. 一種經分離之具細胞毒性 T 細胞誘發性之九胜肽或十胜肽，其中該九胜肽或十胜肽包含一擇自序列識別號：154 的胺基酸序列。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之九胜肽或十胜肽，其中該胜肽包含一胺基酸序列，該胺基酸序列係擇自下列所組成之族群序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150。

3. 一種具有細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性的胜肽，其中該胜肽包含一胺基酸序列，該胺基酸序列擇自下列所組成之族群：

(a) 序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150；或

(b) 序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、37、40、49、53、55、56、57、62、63、67、75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150，其中一、二或數個胺基酸被取代、插入、刪除或添加。

4. 如申請專利範圍第 3 項所述之胜肽，其中該胺基酸序列擇自於序列識別號：2、4、7、21、25、29、32、35、

37、40、49、53、55、56、57、62、63 及 67，其具有下列一或二個特徵：

(a) 序列識別號的 N 端第二個胺基酸係經修飾成下列所組成之族群：苯丙胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸與色胺酸，以及

(b) 序列識別號的 C 端胺基酸係經修飾成下列所組成之族群：苯丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、色胺酸與甲硫胺酸。

5. 如申請專利範圍第 3 項所述之胜肽，其中該胺基酸序列擇自於序列識別號：75、85、99、101、111、114、121、125、130、139、140、141、142、143、145、148 及 150，其具有下列一或二個特徵：

(a) 序列識別號的 N 端第二個胺基酸係擇自下列所組成之族群：白胺酸與甲硫胺酸，以及

(b) 序列識別號的 C 端胺基酸係擇自下列所組成之族群：纈胺酸與白胺酸。

6. 一種醫藥組成物，包含一或複數個申請專利範圍第 1-5 項之胜肽，或一編碼該胜肽之聚核酸，以及一藥學上可接受之載體，該醫藥組成物的目的擇自於下列所組成之族群：

(i) 腫瘤的治療，

(ii) 腫瘤的預防

(iii) 預防腫瘤術後的復發，以及

(iv) 上述之組合。

7. 如申請專利範圍第 6 項所述之醫藥組成物，該醫藥組成物係投予至一白血球抗原為 HLA-A24 或 HLA-A02 之個體。

8. 如申請專利範圍第 7 項所述之醫藥組成物，該醫藥組成物用於治療癌症。

9. 如申請專利範圍第 8 項所述之醫藥組成物，其中該組成物包括一疫苗。

10. 一種外吐小體，其表面具有一包含申請專利範圍第 1-5 項任一項胜肽與 HLA 抗原之複合物。

11. 如申請專利範圍第 10 項所述之外吐小體，其中該 HLA 抗原為 HLA-A24。

12. 如申請專利範圍第 10 項所述之外吐小體，其中該 HLA 抗原為 HLA-A2402。

13. 如申請專利範圍第 10 項所述之外吐小體，其中該 HLA 抗原為 HLA-A02。

14. 如申請專利範圍第 10 項所述之外吐小體，其中該 HLA 抗原為 HLA-A0201。

15. 一種利用申請專利範圍第 1 至 5 項中任一項所述之胜肽誘發一具有高度細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性之抗原呈現細胞的方法。

16. 一種利用申請專利範圍第 1 至 5 項中任一項所述之胜肽誘發細胞毒性 T 淋巴細胞的方法。

17. 如申請專利範圍第 15 項所述之誘發具有高度細胞毒性 T 淋巴細胞誘發性之抗原呈現細胞的方法，其中該方

法包括導入一含有編碼申請專利範圍第 1-5 項所述胜肽之核酸的基因至一抗原呈現細胞中。

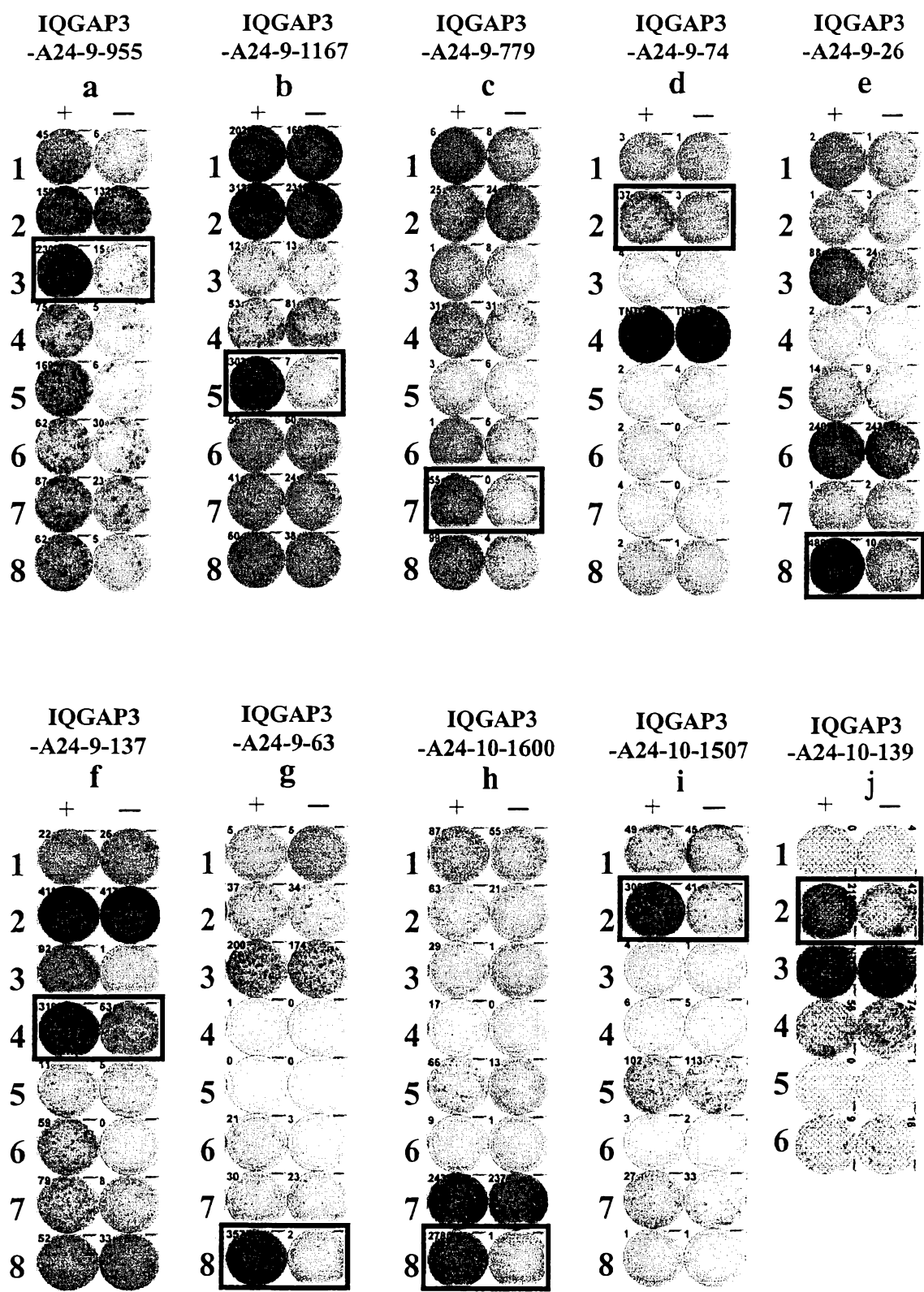
18. 一種經分離之細胞毒性 T 細胞，其標靶至申請專利範圍第 1 至 5 項所述之任何胜肽。

19. 一種經分離之細胞毒性 T 細胞，其被申請專利範圍第 1 至 5 項所述之任何胜肽所誘發。

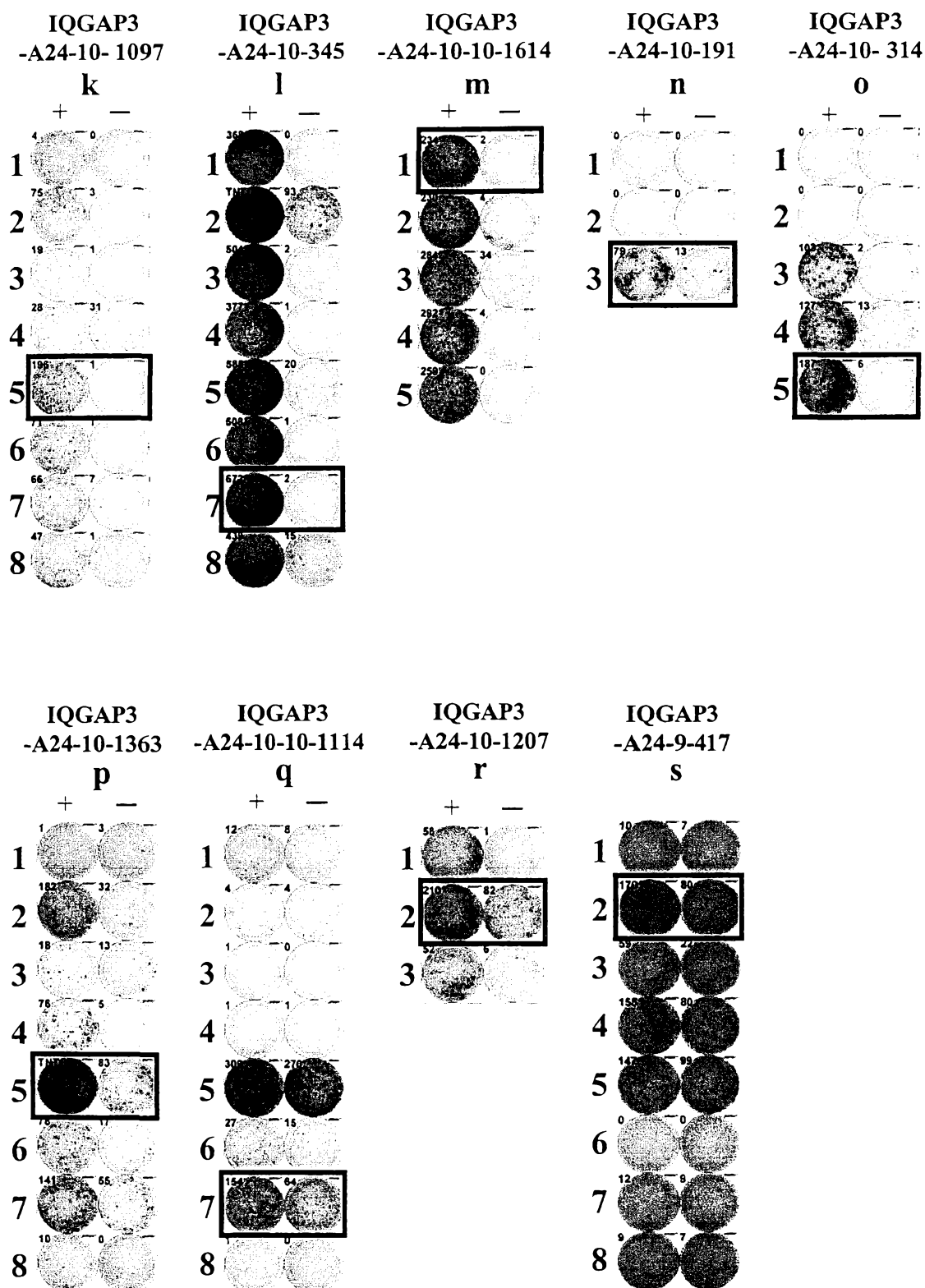
20. 一種經分離之抗原呈現細胞，其細胞表面上存有人類白血球抗原及申請專利範圍第 1 至 5 項任一項所述胜肽之複合物。

21. 如申請專利範圍第 20 項所述之抗原呈現細胞，其中該細胞係以申請專利範圍第 15 或 17 項之方法所誘導。

22. 一種誘發一個體中對抗癌症之免疫反應的方法，該方法包括投予該個體一含有申請專利範圍第 1 至 5 項所述任一胜肽之疫苗、其免疫活性片段或編碼該胜肽或片段的多核酸。



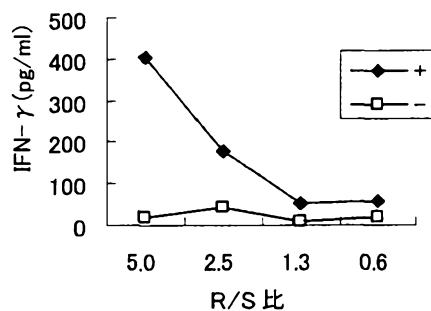
第1A圖



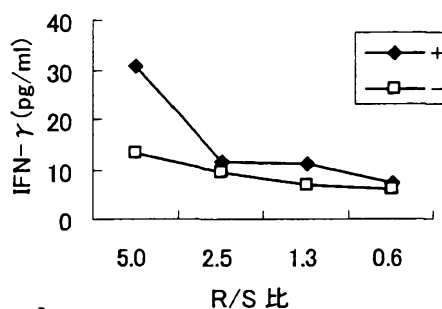
第1B圖

a

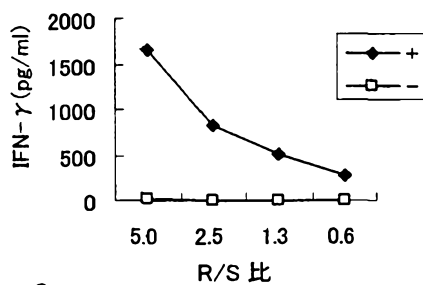
IQGAP3-A24-9-955 #3

**b**

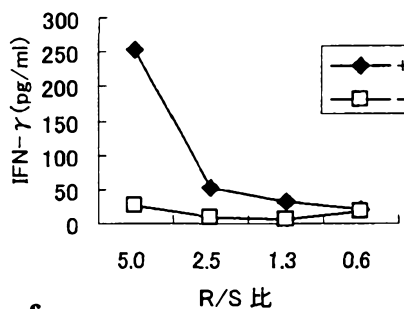
IQGAP3-A24-9-1167 #5

**c**

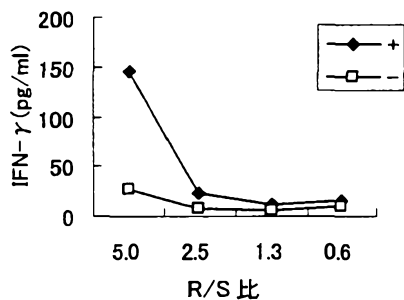
IQGAP3-A24-9-779 #7

**d**

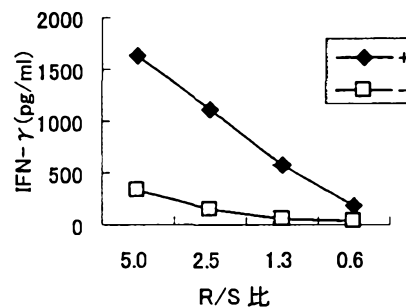
IQGAP3-A24-9-74 #2

**e**

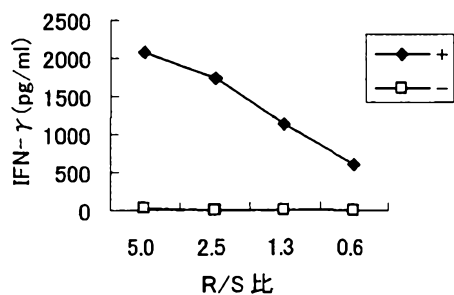
IQGAP3-A24-9-26 #8

**f**

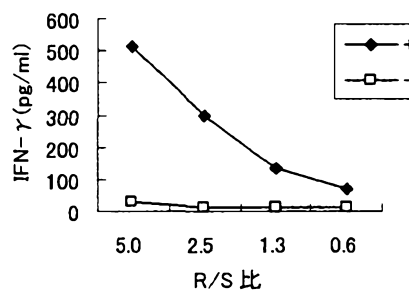
IQGAP3-A24-9-137 #4

**g**

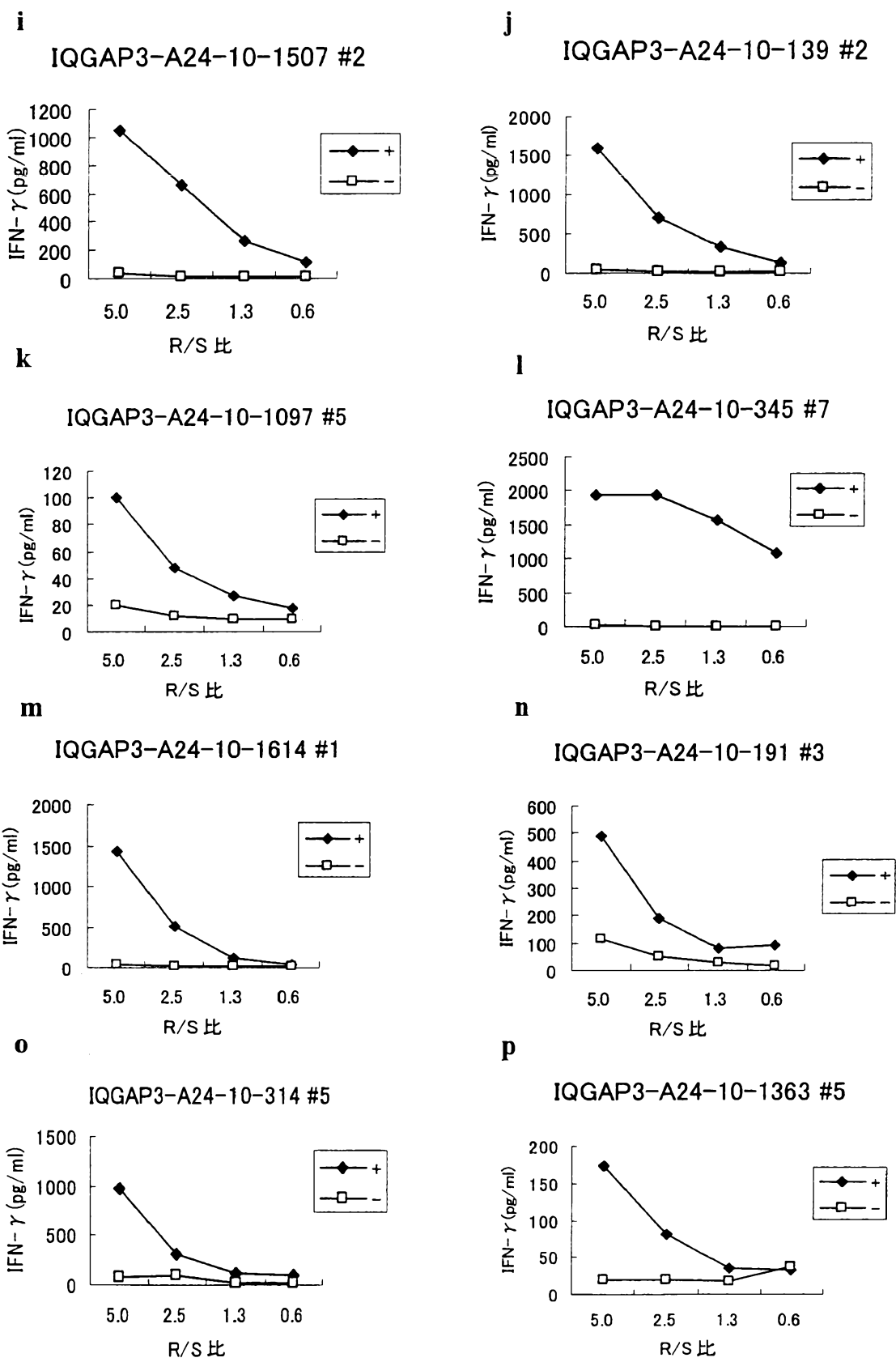
IQGAP3-A24-9-63 #8

**h**

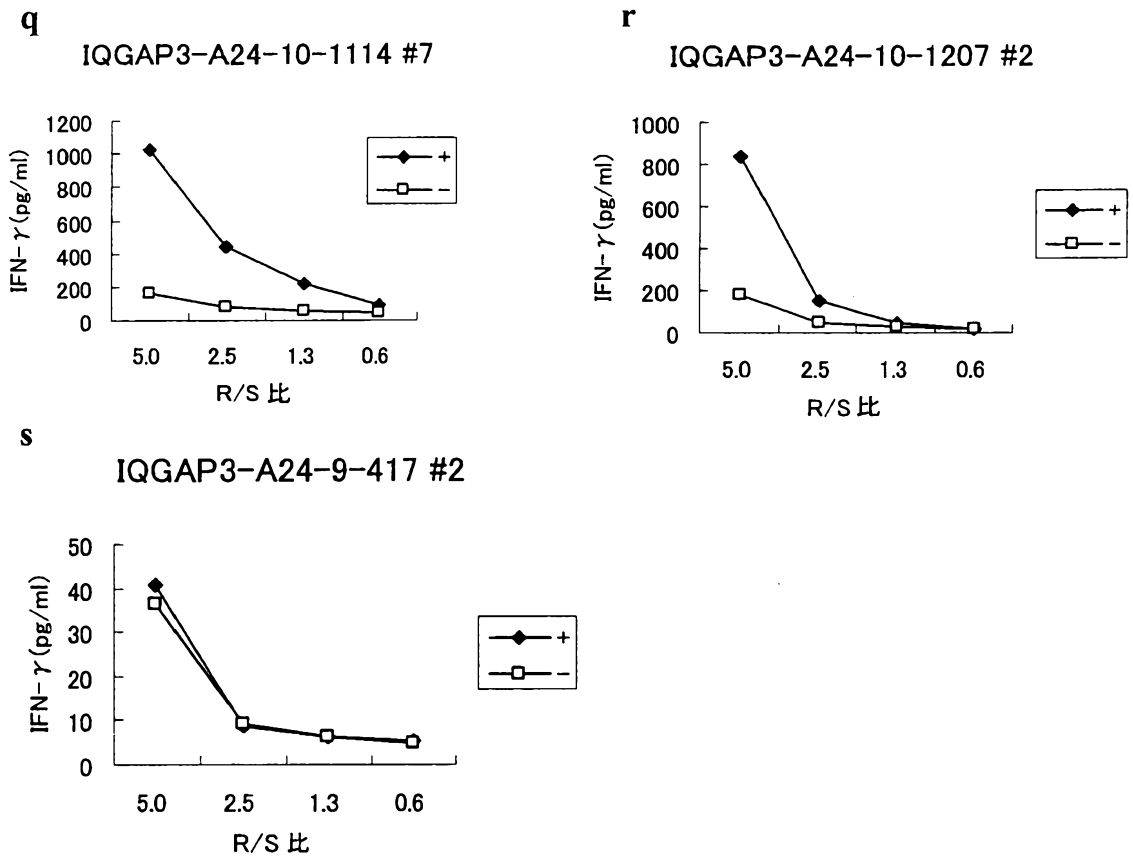
IQGAP3-A24-10-1600 #8



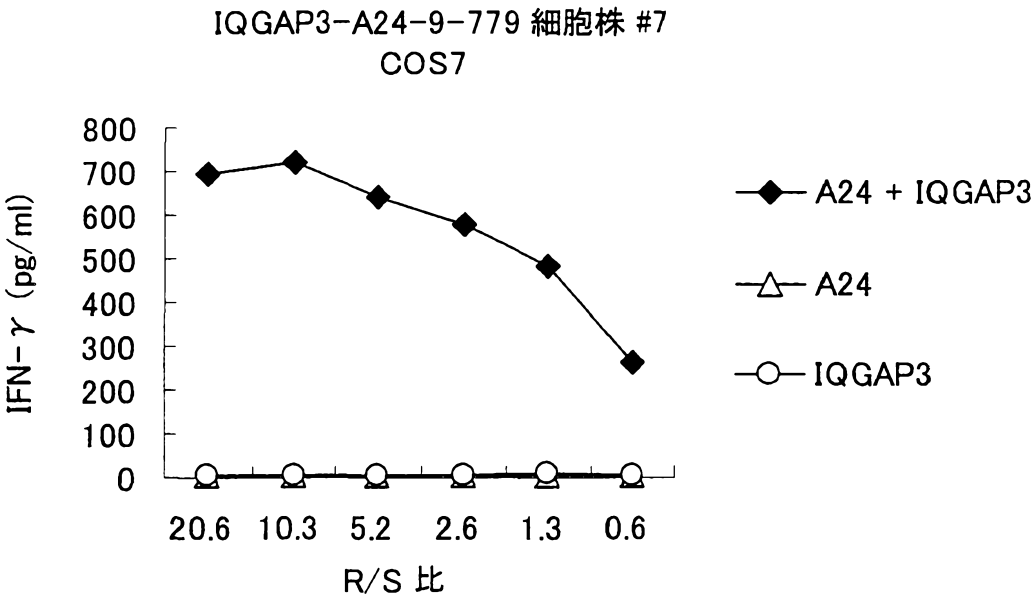
第2A圖



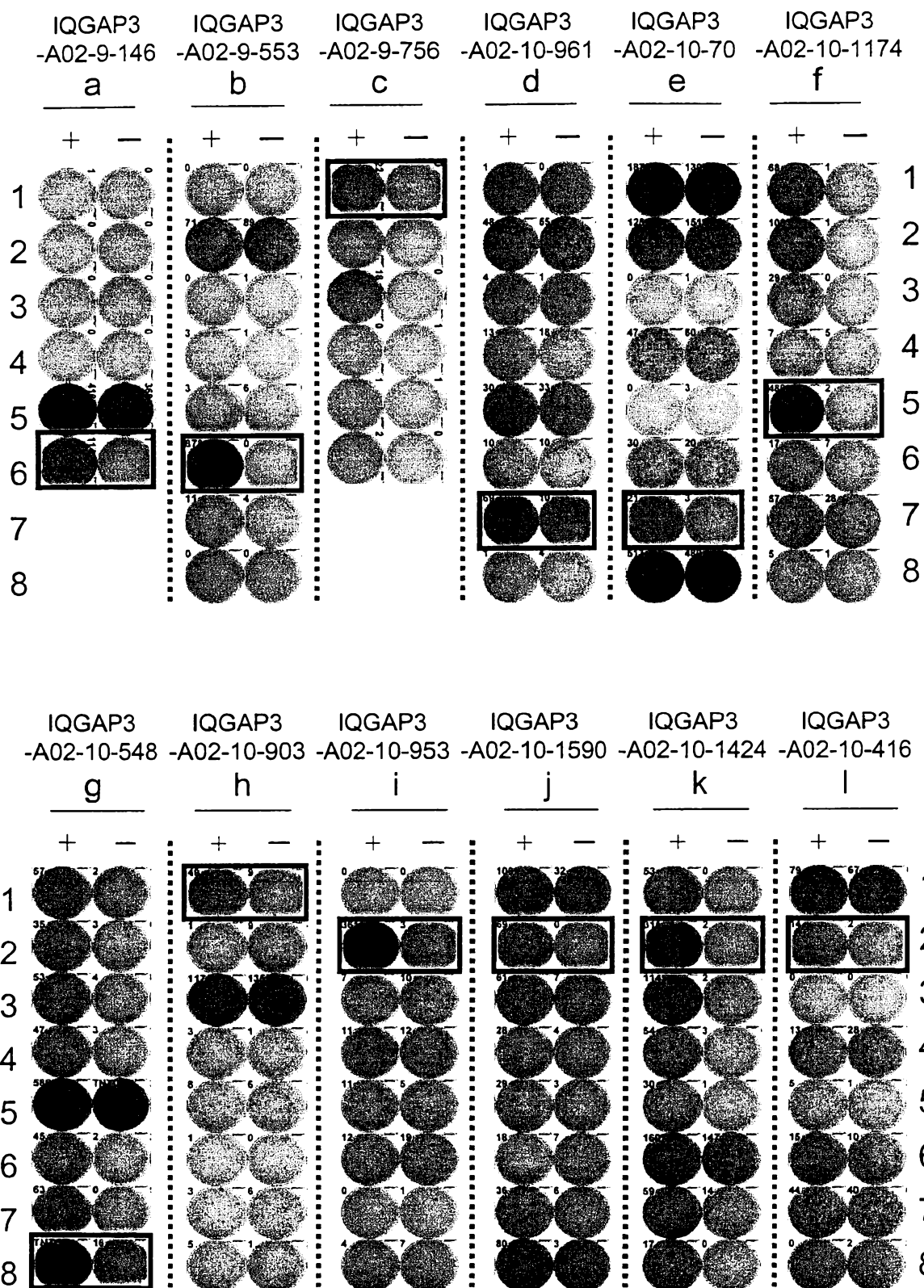
第2B圖



第2C圖

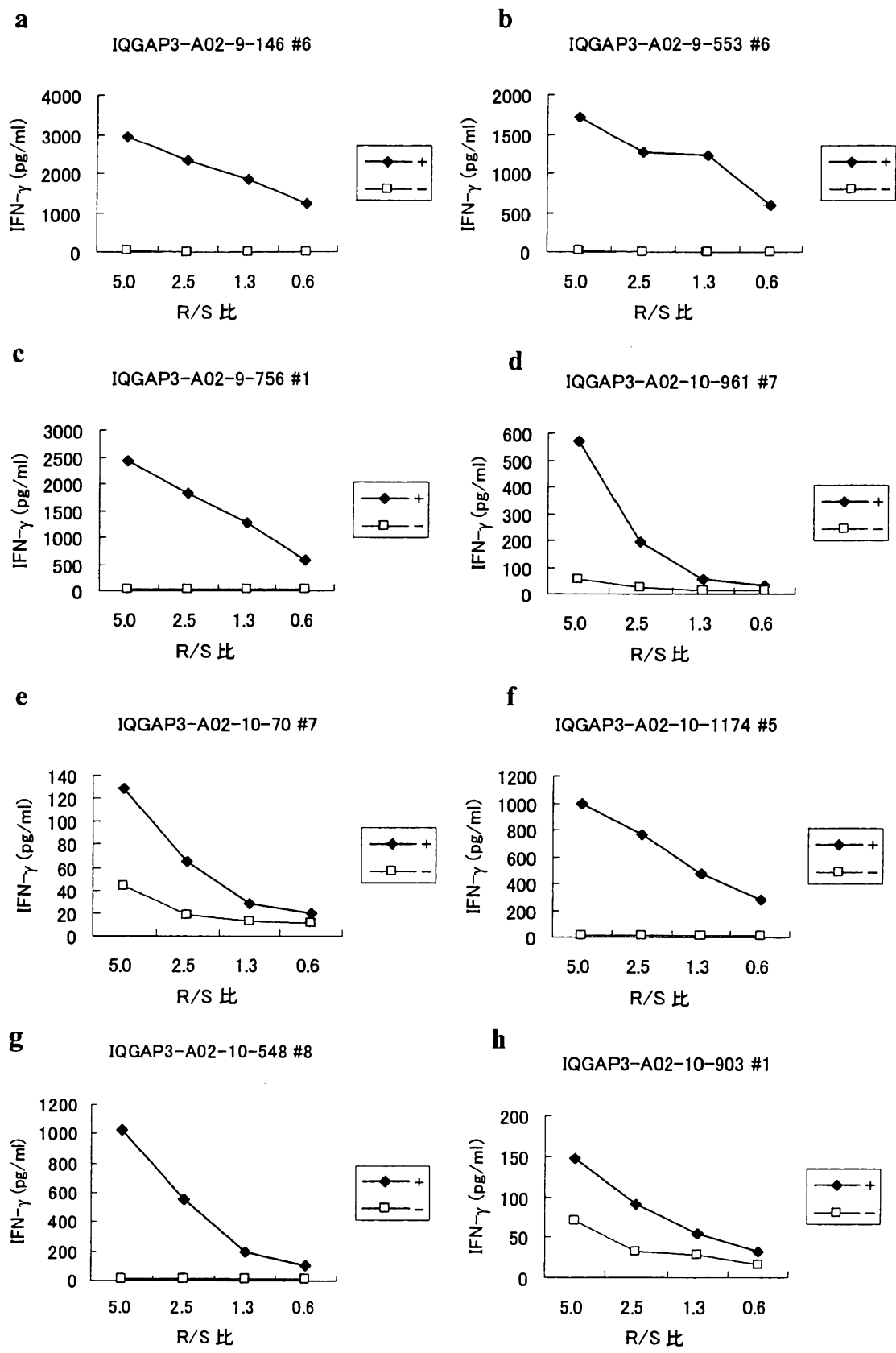


第3圖

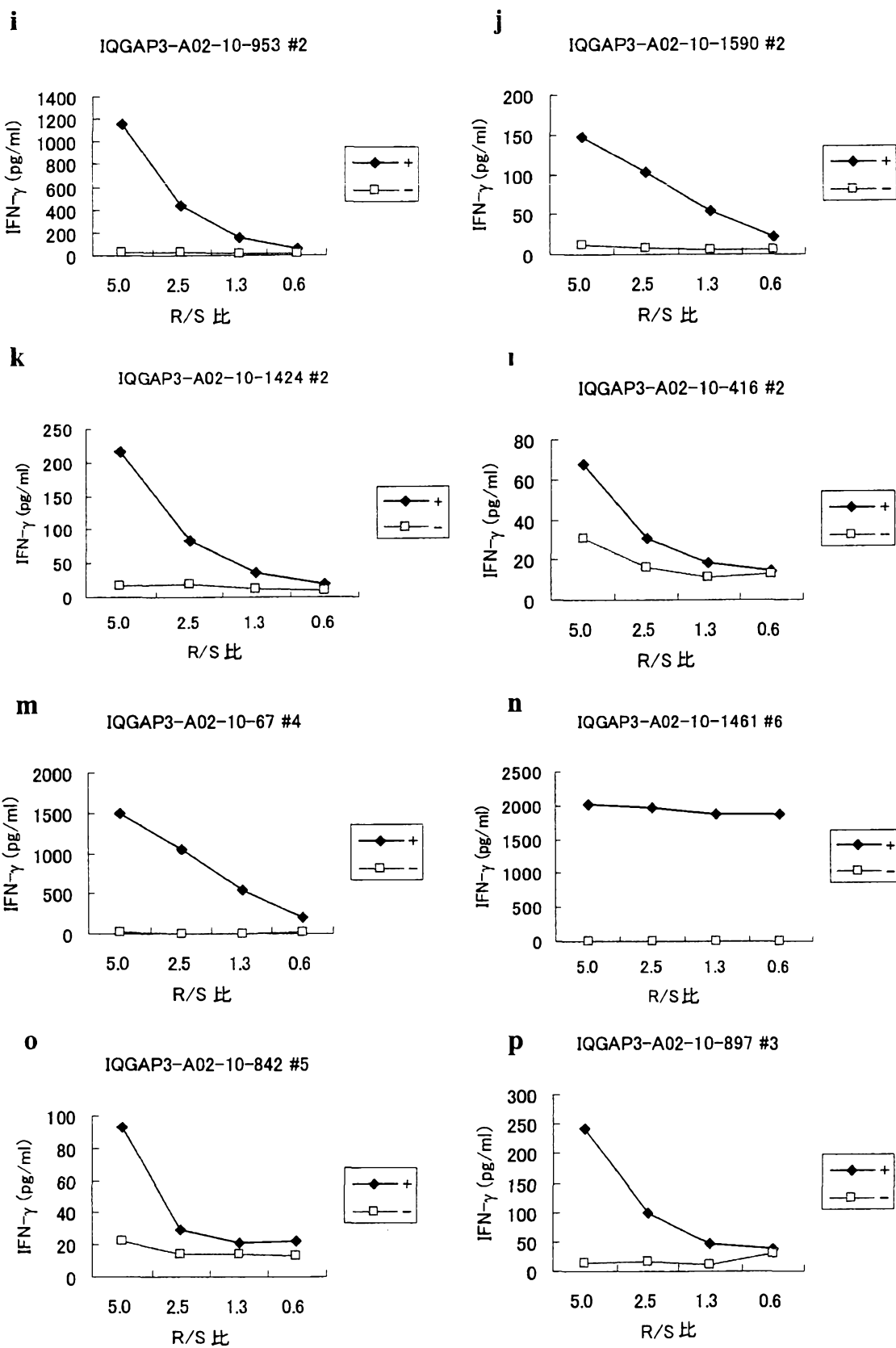


第4A圖



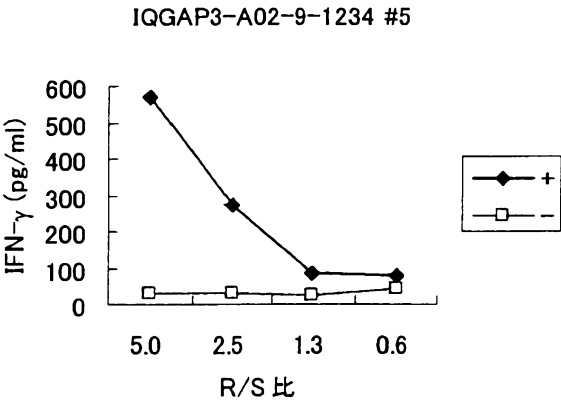


第5A圖

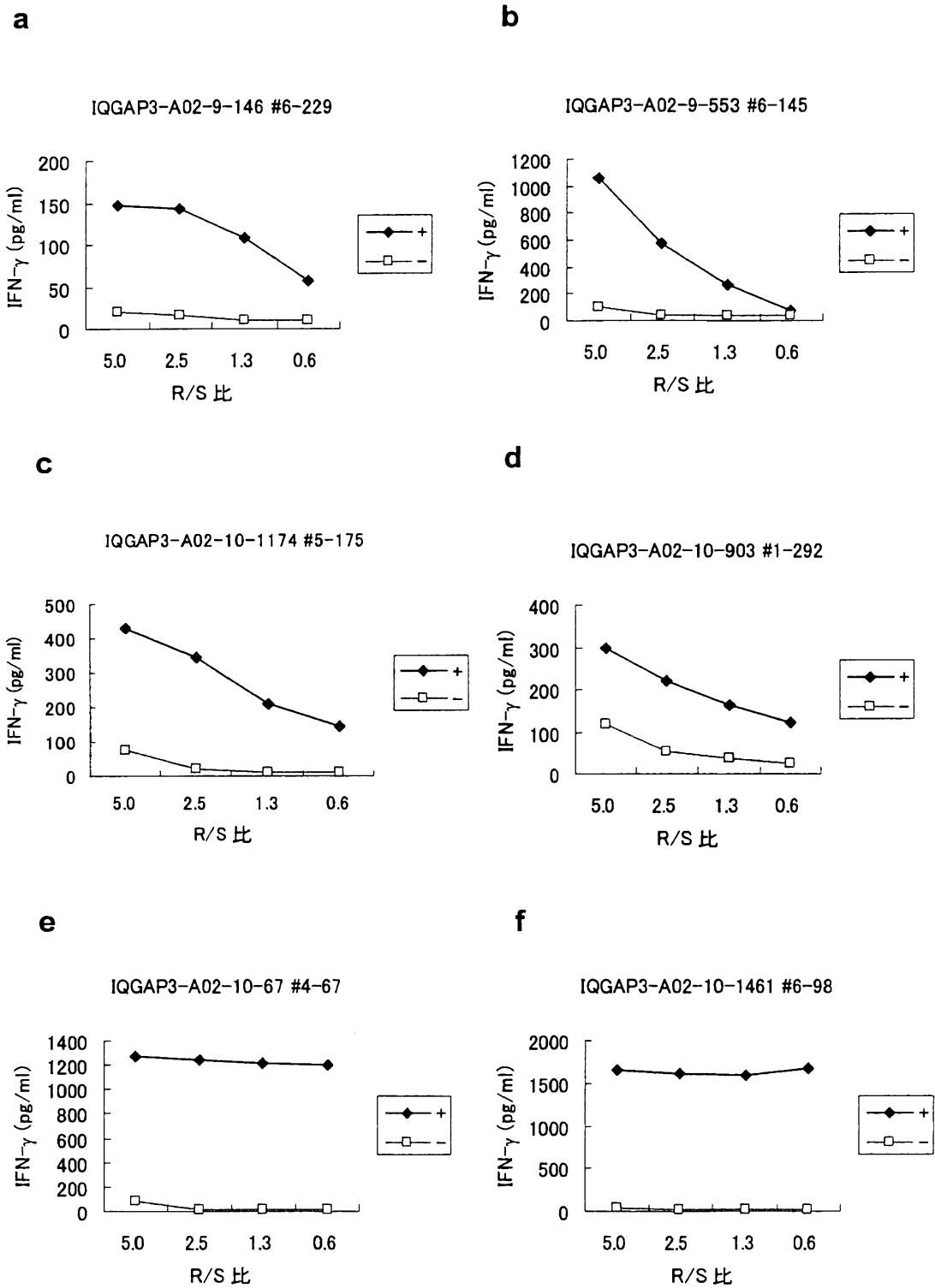


第5B圖

q

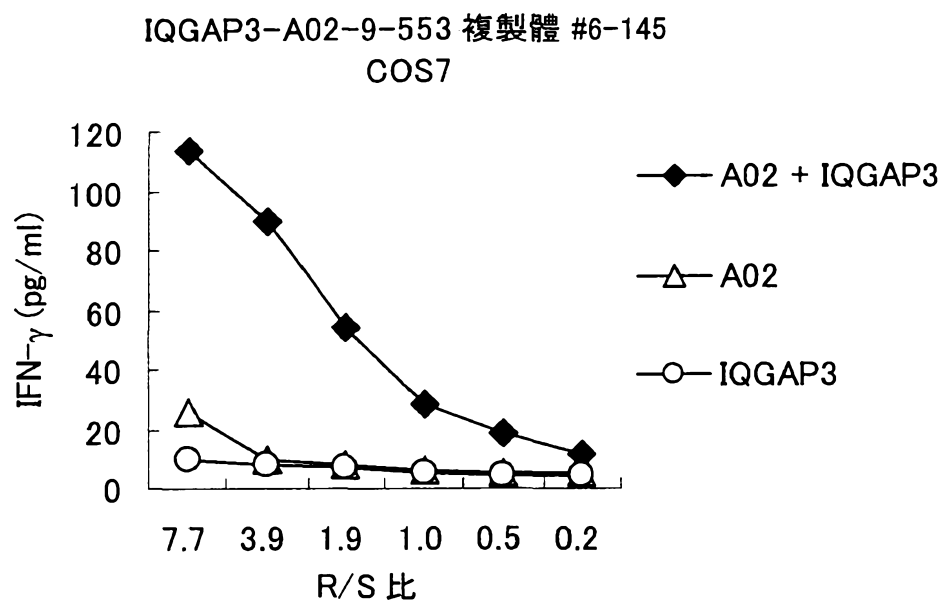


第5C圖

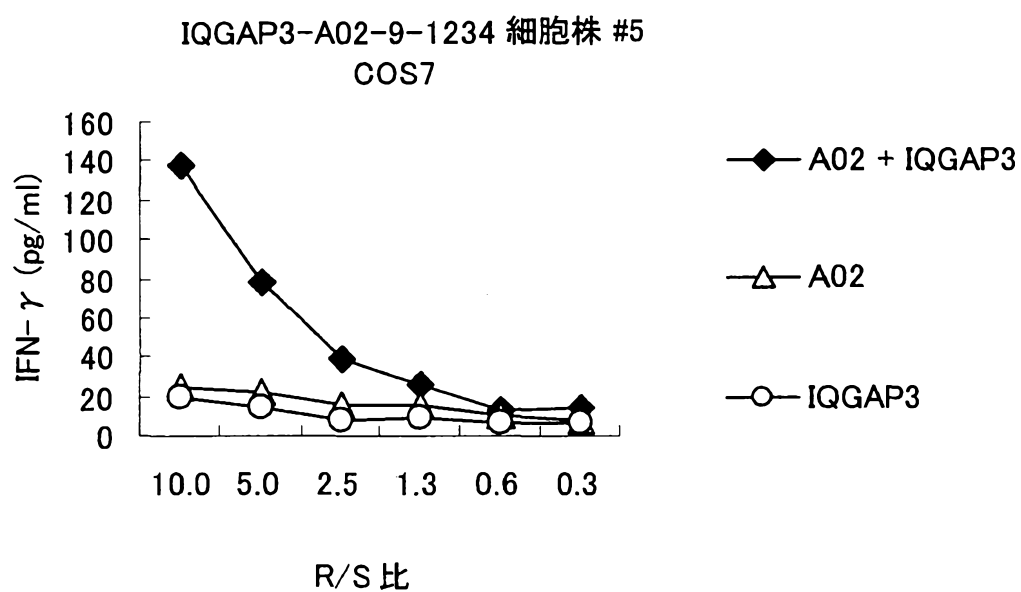


第6圖

a



b



第7圖

esophageal, gastric, lung, breast, bladder and pancreatic cancer.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(3)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於生物科學的領域，更具體地來說係有關於癌症治療的領域。本發明特別有關於新穎胜肽，其為極有效的癌疫苗以及治療和預防腫瘤的藥物。

【先前技術】

目前已證實 CD8 陽性細胞毒性 T 淋巴細胞(以下簡稱 CTLs)會辨認位於主要組織相容複合體(MHC)第一類分子上之衍生自腫瘤相關抗原(以下簡稱 TAAs)的抗原決定位胜肽，並殺死腫瘤細胞。雖然黑色素瘤抗原(MAGE)家族係第一個被發現的腫瘤相關抗原，許多其他的腫瘤相關抗原已經由免疫方法發現(Boon T, Int J Cancer 1993 May 8, 54(2): 177-80; Boon T & van der Bruggen P, J Exp Med