



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월22일

(11) 등록번호 10-2435015

(24) 등록일자 2022년08월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) A61K 35/12 (2020.01)
A61K 35/17 (2014.01) A61K 38/04 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01) C12N 15/115 (2010.01)
C12N 5/0783 (2010.01) G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 7/06 (2013.01)

A61K 35/17 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-7030041(분할)

(22) 출원일자(국제) 2015년12월16일

심사청구일자 2020년12월16일

(85) 번역문제출일자 2020년10월20일

(65) 공개번호 10-2020-0123269

(43) 공개일자 2020년10월28일

(62) 원출원 특허 10-2017-7017192

원출원일자(국제) 2015년12월16일

심사청구일자 2018년10월24일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/080018

(87) 국제공개번호 WO 2016/102272

국제공개일자 2016년06월30일

(30) 우선권주장

1423016.3 2014년12월23일 영국(GB)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

US20050053918 A1

Eur. J. Immunol, Vol. 32, pp. 213-222(2002.)*

Journal of Hepatology, Vol. 45, pp. 868-878(2006.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

이메텍스 바이오테크놀로지스 게엠베하

독일 72076 투빈겐 파울-울리히-스트라쎄 15

(72) 발명자

바인헨크 토니

독일 73773 아이히발트 임 모르겐라인 15

마르 안드레아

독일 72076 튀빙겐 키르헨베크 22

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 26 항

심사관 : 광희찬

(54) 발명의 명칭 간세포 암종(HCC) 및 기타 암들에 대한 면역요법에서의 사용을 위한 신규 펩티드 및 펩티드의 조합

(57) 요약

본 발명은 면역요법 방법에서의 사용을 위한 펩티드, 단백질, 핵산 및 세포에 관한 것이다. 특히 본 발명은 암의 면역요법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 단독으로 또는 예를 들어 백신 조성물의 활성 약학적 성분으로 역할가능한 기타 종양-연관 펩티드들과 병용하여, 항종양 면역 반응을 촉진하거나 T 세포를 생체 외 촉진하여 환자로

(뒷면에 계속)

대표도

펩티드: ALVDTLKVFV (A*02)



이전하기 위한 종양-연관 T 세포 펩티드 에피토프에 관한 것이다. 구조적적합 복합체(MHC)의 분자에 결합된 펩티드 또는 상기와 같은 펩티드는 항체, 가용성 T 세포 수용체 및 기타 결합하는 분자의 표적일 수도 있다. 특히, 본 발명은 항종양 면역 반응을 이끌어내는데 필요한 백신 조성물에 또는 약학적/면역학적 활성 화합물 및 세포의 개발에 필요한 표적으로서 사용할 수 있는 인간 종양 세포의 HLA 클래스 I 및 HLA 클래스 II 분자로부터 유래하는 몇몇 신규한 펩티드 서열들 및 이들의 변이체에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 38/04 (2013.01)
A61K 39/0011 (2021.08)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 16/18 (2013.01)
C12N 15/115 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)
G01N 33/6803 (2013.01)
A61K 2035/124 (2013.01)
A61K 2039/5158 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/096,165 2014년12월23일 미국(US)
 1501017.6 2015년01월21일 영국(GB)

(72) 발명자

프리체 옌스

독일 72144 두스링겐 레르헨베크 11

필러 필립

독일 34117 카셀 오베레 카를스트라쎄 14

비에베 아니타

독일 72124 뢰가르텐 쾰렌스트라쎄 49

쿠처 사라

독일 72072 튀빙겐 프란츠시쎄 알레 13

명세서

청구범위

청구항 1

- a) GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드;
- b) 비펩티드 결합을 포함하는 a)에 따른 펩티드; 및
- c) HLA-DR 항원-연관 불변쇄(Ii)의 N-말단 아미노산을 포함하는 융합 단백질의 부분이거나, 항체 또는 항체의 서열에 융합된, a)에 따른 펩티드

로 구성되는 군으로부터 선택되는 펩티드를 담체 및 부형제로부터 선택되는 하나 이상과 함께 포함하는, 간세포 암종의 치료에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 2

세포 독성 T 림프구를 항원 특이적 방식으로 활성화시키는 시간 동안, 세포 독성 T 림프구를 항원-제시 세포의 표면에 발현된 항원-로딩된 인간 클래스 I 구조적 적합 복합체(MHC) 분자와 시험관 내에서 접촉시키는 것을 포함하는 시험관 내 방법에 의해 생산되는 활성화된 세포 독성 T 림프구를 담체 및 부형제로부터 선택되는 하나 이상과 함께 포함하는, 간세포 암종의 치료 또는 진단에 사용하기 위한 약학 조성물로서,

상기 항원이 GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식하는, GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드인, 약학 조성물.

청구항 3

구조적 적합 복합체(MHC)와 GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드의 MHC/펩티드 복합체에 대해 특이적인 항체로서, 간세포 암종에서 면역 독소 요법에 사용하기 위한 항체.

청구항 4

구조적 적합 복합체(MHC)와 GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드의 MHC/펩티드 복합체에 대해 특이적인 항체로서, 간세포 암종에서 ELISA, 면역조직화학 또는 생체 내 이미징에 사용하기 위한 항체.

청구항 5

GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 HLA 리간드와 반응성인 가용성 또는 막-결합된 T 세포 수용체.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

HLA 리간드가 MHC/펩티드 복합체의 일부인, T 세포 수용체.

청구항 7

GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드를 포함하는, 간세포 암종의 치료 또는 진단에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 8

세포 독성 T 림프구를 항원 특이적 방식으로 활성화시키는 시간 동안, 세포 독성 T 림프구를 항원-제시 세포의 표면에 발현된 항원-로딩된 인간 클래스 I 구조적 적합 복합체(MHC) 분자와 시험관 내에서 접촉시키는 것을 포함하는 시험관 내 방법에 의해 생산되는, 간세포 암종의 치료 또는 진단에 사용하기 위한 활성화된 세포 독성 T 림프구로서,

상기 항원이 GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드인, 활성화된 세포 독성 T 림프구.

청구항 9

간세포 암종을 갖는 환자에서 암 세포를 선택적으로 인식하는 활성화된 T 세포의 집단을 포함하는, 상기 환자에서 면역 반응을 이끌어내기 위한 약학 조성물로서,

상기 암 세포가 GVDGEEHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드를 이상 발현하고, 상기 펩티드가 MHC 분자와의 복합체로 존재하는, 약학 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

T 세포가 환자의 자가조직인, 약학 조성물.

청구항 11

제 9 항에 있어서,

T 세포가 건강한 공여자로부터 획득되는, 약학 조성물.

청구항 12

제 9 항에 있어서,

T 세포가 종양-침윤 림프구 또는 말초 혈액 단핵 세포로부터 획득되는, 약학 조성물.

청구항 13

제 9 항에 있어서,

활성화된 T 세포가 시험관 내에서 확대되는, 약학 조성물.

청구항 14

제 9 항에 있어서,

MHC 분자가 클래스 I 분자인, 약학 조성물.

청구항 15

제 9 항에 있어서,

보조제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

보조제가 이미퀴모드, 레시퀴모드, GM-CSF, 사이클로포스파마이드, 수니티닙, 베바시주맙, 인터페론-알파, CpG 올리고뉴클레오타이드 및 유도체, 폴리-(I:C) 및 유도체, RNA, 실데나필, 및 폴리(락티드 코-글리콜리드)(PLG) 및 비로솜의 입자 제형으로 구성되는 군으로부터 선택되는, 약학 조성물.

청구항 17

제 9 항에 있어서,

활성화된 T 세포가, T 세포를 항원-제시 세포의 표면에서 MHC 클래스 I 분자와의 복합체로 펩티드를 발현하는 상기 항원-제시 세포와, 상기 T 세포를 상기 펩티드에 대해 특이적으로 활성화시키는 시간 동안 접촉시킴으로써 생산되는 세포 독성 T 세포인, 약학 조성물.

청구항 18

제 17 항에 있어서,

T 세포가 항원-제시 세포와 시험관 내에서 접촉하는, 약학 조성물.

청구항 19

제 17 항에 있어서,

항원-제시 세포가 펩티드를 발현하는 재조합 바이러스에 의해 감염되는, 약학 조성물.

청구항 20

제 19 항에 있어서,

항원-제시 세포가 수지상 세포 또는 대식세포인, 약학 조성물.

청구항 21

제 13 항에 있어서,

활성화된 T 세포가 항-CD28 항체 및 IL-12의 존재 하에 확대되는, 약학 조성물.

청구항 22

제 9 항에 있어서,

활성화된 T 세포의 집단이 CD8-양성 세포를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 23

GVYDGEHHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드를 포함하는, 간세포 암종을 갖는 환자에서 면역 반응을 이끌어내어, 상기 환자에서 T 세포 반응을 유도하기 위한 약학 조성물.

청구항 24

제 23 항에 있어서,

T 세포 반응이 세포 독성 T 세포 반응인, 약학 조성물.

청구항 25

제 23 항에 있어서,

펩티드가 약학적으로 허용가능한 염의 형태인, 약학 조성물.

청구항 26

약학적으로 허용가능한 염의 형태인, GVYDGEHHSV(서열번호 303)의 아미노산 서열로 구성되는 펩티드.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 면역요법 방법에서의 사용을 위한 펩티드, 단백질, 핵산 및 세포에 관한 것이다. 특히 본 발명은 암의 면역요법에 관한 것이다. 본 발명은 더욱 단독 또는 예를 들어 백신 조성물의 활성 약학적 성분으로 역할할 수 있는 기타 종양-연관 펩티드들과 병용하여 항종양 면역 반응을 촉진하거나 T 세포를 생체 외 촉진하여 환자로 이전하기 위한 종양-연관 T 세포 에피토프에 관한 것이다. 주조직적합 복합체(MHC)의 분자에 결합된 펩티드 또는 상기와 같은 펩티드는 항체, 가용성 T 세포 수용체 및 기타 결합하는 분자의 표적일 수도 있다. 특히, 본 발명은 항종양 면역 반응을 이끌어내는데 필요한 백신 조성물에 또는 약학적/면역학적 활성 화합물 및 세포의 개발에 필요한 표적으로서 사용할 수 있는 인간 종양 세포의 HLA 클래스 I 및 HLA 클래스 II 분자로부터 유래하는 몇몇 신규한 펩티드 서열들 및 이들의 변이체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

간세포 암종(HCC)은 세계에서 가장 흔한 종양에 속하며 세계적으로 진단되는 모든 신규 암 사례의 약 6%를 차지

한다. 2012년에는 약 782,000 건의 신규 HCC 사례가 세계적으로 발생했으며, 이로써 남자의 경우 5번째(554,000 건) 및 여자의 경우 9번째(228,000 건)로 가장 흔한 암이 되었다(<http://globocan.iarc.fr>). HCC는 가장 흔한 원발성 악성 간암으로 모든 성인 원발성 간암의 80%를 넘게 차지한다.

- [0003] HCC의 분포는 지리적으로 다르며 발생률은 성별에 따라 다르다. 남자의 경우 HCC의 연령 준화 발생률(ASR)은 동아시아(31.9) 및 남동 아시아(22.2)에서 가장 높으며, 남유럽(9.5) 및 북미(9.3)에서는 중간이며, 북유럽(4.6) 및 남중앙 아시아(3.7)에서는 가장 낮다. 여자의 경우 HCC의 발생률은 남자의 ASR보다 낮다. 여자에서 가장 높은 ASR은 동아시아(10.2) 및 서아프리카(8.1)에서 발생하며, 북유럽(1.9) 및 미크로네시아(1.6)에서 가장 낮다.
- [0004] HCC 환자의 전반적 예후는 불량하다. HCC의 5년 상대 생존율(5Y-RSR)은 약 15%이며, 진찰 시의 병기에 따라 다르다. 암이 아직 간에 국한된 국소화 HCC의 경우, 5Y-RSR은 약 28%이다. 암이 근처 부위나 떨어져 있는 기관으로 성장한 국부 및 국소 HCC의 경우, 5Y-RSR은 각각 7% 및 2%이다.
- [0005] HCC의 발생률은 몇 가지 위험 요인과 관련이 있으며, 경변이 가장 중요한 것이다. 경변은 흔히 알코올 남용이나 HBV 또는 HCV 감염과 함께 발생하지만, 당뇨병 II형과 같은 대사 질병에 의해서도 유발될 수 있다. 이의 결과 건강한 간 조직은 상처 조직에 의해 교체되며, 이는 암 발생의 위험을 증가시킨다.
- [0006] 질병 관리는 진단 시 종양 병기 및 간의 전반적 상태에 의존한다. 가능하다면 간의 일부(부분 간절제) 또는 전체 기관(간 절제)을 수술에 의해 제거한다. 특히 일부 또는 완전히 절제가능한 암 환자는 간 이식을 받을 자격이 있다.
- [0007] 수술이 치료 옵션이 아니라면, 다른 기타 요법이 즉시 사용가능하다. 종양 절제의 경우, 탐침을 간 안으로 주입하며 종양은 고주파나 마이크로파 또는 냉동요법에 의해 파괴된다. 색전술에서는, 종양의 혈액 공급이 기계적 또는 화학적 수단에 의해 차단된다. 방사능 요법에서는 고에너지 고주파를 사용하여 종양을 파괴할 수 있다.
- [0008] HCC에 대한 화학요법에는 전신 요법의 경우 독소루비신, 5-플루오로우라실 및 시스플라틴의 병용, 간동맥 주입의 경우 독소루비신, 플록수리딘 및 미토마이신이 포함된다. 하지만 대부분의 HCC는 화학치료에 대한 높은 내성을 보인다(Enguita-German and Fortes, 2014).
- [0009] 진행성 절제불가능한 HCC에서 치료 옵션은 멀티-티로신 키나아제 억제제인 소라페닙으로 제한된다(Chang et al., 2007; Wilhelm et al., 2004). 소라페닙은 생존을 약 3개월 증가시키는 것으로 확인된 유일한 전신 약물이며 현재 그러한 환자를 위한 유일한 실험적 치료 옵션이다(Chapiro et al., 2014; Llovet et al., 2008).
- [0010] 최근에 HCC를 위한 제한된 수의 면역요법 시험이 실행된 바 있다. 사이토카인은 면역 세포의 하위 조합의 활성화 및/또는 종양 면역원성의 증가에 사용되고 있다(Reinisch et al., 2002; Sangro et al., 2004). 다른 시험에서는 종양-침윤 림프구 또는 활성화 말단 혈액 림프구의 주입에 초점을 맞추었다(Shi et al., 2004a; Takayama et al., 1991; Takayama et al., 2000).
- [0011] 지금까지, 적은 수의 치료 예방 접종 시험이 실행되었다. 버터필드(Butterfield) 등은 백신으로 알파-태아단백(AFP)에서 유래된 펩티드 또는 AFP 펩티드가 로딩된 자가 수지 세포(DC)를 사용한 생체 외 시험 두 가지를 수행했다(Butterfield et al., 2003; Butterfield et al., 2006). 두 가지 다른 연구에서는, 자가 수지 세포(DC)를 자가 종양 용해물(Lee et al., 2005) 또는 간모세포종 세포주 HepG2의 용해물(Palmer et al., 2009)로써 생체 외 펄스를 가했다. 지금까지 예방접종 시험에서는 제한된 임상적 결과의 개선만을 보여주었다.

발명의 내용

- [0012] 본 발명의 제 1 양태에서, 본 발명은 서열번호 1 내지 서열번호 300 또는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 대해 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90%, 상동성인(바람직하게는 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일한) 이의 변이체 서열로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것으로, 상기 변이체는 MHC에 결합하고/거나 상기 펩티드와 교차 반응하는 T 세포를 유도하며, 상기 펩티드는 기저의 전장 폴리펩티드가 아니다.
- [0013] 본 발명은 또한 서열번호 1 내지 서열번호 300 또는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 대해 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 88% 상동성인(바람직하게는 적어도 80% 또는 적어도 88% 동일한) 이의 변이체로 구성되는 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 본 발명의 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드 또는 이의 변이체가 갖는 전체 길이는 8 내지 100개, 바람직하게는 8 내지 30개, 가장 바람직하게는 8 내지 14개의 아미노산이다.
- [0014] 다음 표에는 본 발명에 따른 펩티드들과 각각의 서열번호 및 이 펩티드들의 장래의 소스(기저) 유전자가 나와

있다. 표 1에 있는 모든 펩티드는 HLA-A*02 대립형질과 결합하며, 표 2의 펩티드는 HLA-A*24 대립형질과 결합한다. 표 3에 있는 펩티드는 오류 비율이 높은 고처리량 선별의 결과로서 대규모 목록으로 이전에 공개되었거나 다른 알고리즘을 사용하여 계산된 바 있으나 이전에는 전혀 암과 연관된 적은 없다. 이들은 HLA-A*02와 결합한다. 표 4의 펩티드는 본 발명의 다른 펩티드와 병용하여 유용할 수 있는 추가의 펩티드이다. 펩티드는 A*02 또는 표시된 경우 A*24와 결합한다. 표 5에 있는 펩티드는 각각의 기저 폴리펩티드의 과발현 또는 과다제시가 연루되는 다양한 악성 종양의 진단 및/또는 치료에 있어서 더욱 유용하다.

[0015] [표 1]

[0016] 본 발명에 따른 HLA-A*02 펩티드 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
1	VMAPFTMTI	338	APOB
2	KLQAGTVFV	10840	ALDH1L1
3	ILDDNMQKL	79611	ACSS3
4	KLQDFSDQL	338	APOB
5	ALVEQGFTV	338	APOB
6	KLSPTVVGL	8313	AXIN2
7	ALVDTLKFV	338	APOB
8	KLLEEATISV	54808	DYM
9	ALANQKLYSV	23195	MDN1
10	SLLEEFDFHV	8615	USO1
11	SLSQELVGV	24149	ZNF318
12	FLAELAYDL	2719	GPC3
13	GLIDTETAMKAV	3290	HSD11B1
14	ALADLTGTVV	23385	NCSTN
15	LLYGHTVTV	347734	SLC35B2

[0017]

16	SLLGGNIRL	2181	ACSL3
17	RVAS*PTSGV	8660	IRS2
18	ALYGKTEVV	57513	CASKIN2
19	FLEETKATV	338	APOB
20	KLSNVLQQV	338	APOB
21	QLIEVSPITL	338	APOB
22	RIAGIRGIQGV	23167	EFR3A
23	RLYDPASGTISL	23456	ABCB10
24	SLAEEKLQASV	2194	FASN
25	SLDGKAALTEL	338	APOB
26	SLLHTIYEV	85407	NKD1
27	TLPDFRLPEI	338	APOB
28	TLQDHLNSL	338	APOB
29	YIQDEINTI	338	APOB
30	YLGEGPRMV	5704	PSMC4
31	YQMDIQQEL	338	APOB
32	ALNAVRLLV	9368	SLC9A3R1
33	LLHGHIVEL	57678	GPAM
34	SLAEGTATV	540	ATP7B
35	SLQESILAQV	23644	EDC4
36	ILNVDGLIGV	47	ACLY
37	LLLPLPPLSP	347252	IGFBPL1
38	ALADVVHEA	26873	OPLAH
39	ALDPKANFST	10188	TNK2
40	ALLAEGITWV	54499	TMCO1
41	ALLELDEPLVL	2158	F9
42	ALLGGNVRMML	2182	ACSL4
43	ALLGVWTSV	444	ASPH
44	ALQDAIRQL	51268	PIPOX
45	ALQDQLVLV	183	AGT
46	AMAEMKVVL	11283, 4051, 57834, 66002, 8529	CYP4F8,CYP4F3,CYP4F11, CYP4F12,CYP4F2
47	FLDTPIAKV	85407	NKD1
48	FLLEQPEIQV	5345	SERPINF2
49	FLYPEKDEPT	338	APOB
50	FTIPKLYQL	338	APOB
51	GLAEELVRA	5091	PC
52	GLFNAELLEA	3929	LBP
53	GLIHLEGDTV	81494	CFHR5
54	GLLDPNVKSIFV	79033	ERI3

[0018]

55	GLYGRTEL	55908	C19orf80
56	GVLPGLVGV	162515	SLC16A11
57	HLTEAIQYV	6097	RORC
58	ILADLNLSV	55705	IPO9
59	ILADTFIGV	222223	KIAA1324L
60	ILSPLSVAL	5345	SERPINF2
61	KIADFELPTI	338	APOB
62	KIAGTNAEV	2752	GLUL
63	KIDEKNFVV	5887	RAD23B
64	KILEETLYV	8443	GNPAT
65	KLFSGDELLEV	8777	MPDZ
66	KLHEEIDRV	1571	CYP2E1
67	KLKETIQKL	338	APOB
68	KLLAATVLLL	336	APOA2
69	KLLDEVTYLEA	1573	CYP2J2
70	KLLDLETERILL	2803	GOLGA4
71	KLLDNWDSV	335	APOA1
72	KLSEAVTSV	55258	THNSL2
73	KLTLVVISV	8647	ABCB11
74	KLYDLELIV	570	BAAT
75	KQMEPLHAV	284111	SLC13A5
76	LLADIGGDPFAA	3268	AGFG2
77	LLHEENFSV	6942	TCF20
78	LLIDDEYKV	23065	EMC1
79	LLLSTGYEA	23556	PIGN
80	LLYEGKLTLL	440107	PLEKHG7
81	NLASFIEQVAV	5092	PCBD1
82	NVFDGLVRV	338	APOB
83	QLHDFVMSL	8647	ABCB11
84	QLTPVLVSV	1244	ABCC2
85	RILPKVLEV	10840	ALDH1L1
86	RLAAFYSQV	91289	LMF2
87	RLFEENDVNL	5053	PAH
88	RLIDRIKTV	60560	NAA35
89	RLIEEIKNV	347051	SLC10A5
90	RLLDVLAPLV	80781	COL18A1
91	RLPDIPLRQV	55656	INTS8
92	RLPPDTLLQQV	5986	RFNG
93	RLYTMDGITV	1571	CYP2E1
94	RMSDVVKGV	113251	LARP4

[0019]

95	SICNGVPMV	54575, 54576, 54577, 54578, 54579, 54600, 54657, 54658, 54659	UGT1A10,UGT1A8,UGT1A 7,UGT1A6,UGT1A5,UGT1A 9,UGT1A4,UGT1A1,UGT1A 3
96	SLLEPNVIRV	4703	NEB
97	SLLPQLIEV	338	APOB
98	SLLSPEHLQYL	7512	XPNPEP2
99	SLSAFLPSL	54757	FAM20A
100	SLVGDIGNVNM	1401	CRP
101	SLWEGGVRGV	411	ARSB
102	SLWSVARGV	57678	GPAM
103	SMGDHLWVA	2752	GLUL
104	SVWFGPKEV	28982	FLVCR1
105	SVYDGKLLI	5445	PON2
106	TLAAIIHGA	5243	ABCB1
107	TLGQFYQEV	3700, 375346	ITIH4,TMEM110
108	TLLKKISEA	84675	TRIM55
109	TLYALSHAV	338	APOB
110	TVGGSEILFEV	1401	CRP
111	TVMDIDTSGTFNV	26063, 4833	DECR2,NME4
112	VLGEVKVGV	122622	ADSSL1
113	VLMDKLVEL	338	APOB
114	VLSQVYSKV	338	APOB
115	VVLDDKDYFL	100292290, 3336	HSPE1
116	WVIPAISAV	1528	CYB5A
117	YAFPKSITV	6566	SLC16A1
118	YLDDEKNWGL	5005	ORM2
119	YLDKNLTVSV	100293534, 720, 721	C4A,C4B
120	YLGEYYVKA	7018	TF
121	YLITGNLEKL	1314	COPA
122	YLSQAADGAKVL	2584	GALK1
123	YLWDLDHGFAGV	832	CAPZB
124	LLIDVVTYL	338	APOB
125	ALYGRLEV	23294	ANKS1A
126	TLLDSPIKV	338	APOB
127	VLIGSNHSL	9919	SEC16A
128	GLAFSLNGV	81502	HM13
129	SQADVIPA	55034	MOCOS
130	ALDAGAVYTL	10840	ALDH1L1

[0020]

131	ALDSGAFQSV	55907	CMAS
132	ALHEEVVGV	1593	CYP27A1
133	ALLEMDARL	54512	EXOSC4
134	ALLETNPYLL	1209	CLPTM1
135	ALLGKIEKV	2590	GALNT2
136	ALLNQHYQV	2058	EPRS
137	ALPTVLVGV	5351	PLOD1
138	ALSQVTLLL	392636	AGMO
139	ALSSKPAEV	256987	SERINC5
140	ALTSISAGV	392636	AGMO
141	AMGEKSFSV	57720	GPR107
142	AVIGGLIYV	366	AQP9
143	FILPDSLPLDTL	6632	SNRPD1
144	FIQLITGV	477, 478	ATP1A2,ATP1A3
145	FLIAEYFEHV	23743, 635	BHMT2,BHMT
146	FLWTEQAHTV	3953	LEPR
147	GLAPGGLAVV	58525	WIZ
148	GLFAPLVFL	6566	SLC16A1
149	GLLSGLDIMEV	383	ARG1
150	GLSNLGIKSI	122553	TRAPPC6B
151	HLAKVTAEV	6184	RPN1
152	KLDNNLDSV	80232	WDR26
153	KLIEVNEEL	100507203	SMLR1
154	KLTDHLKYV	3250	HPR
155	LLEPYKPPSAQ	439	ASNA1
156	LLFPHPVNQV	8518	IKBKAP
157	QLLPNLRAV	5092	PCBD1
158	RIISGLVKV	101060372, 2330	FMO5
159	RLFPDGIIVTV	152831	KLB
160	RLLAKIICL	3075	CFH
161	RLLDEQFAV	9026	HIP1R
162	RLMSALTQV	9462	RASAL2
163	RLTESVLYL	368	ABCC6
164	RMLIKLLEV	6710, 6711	SPTB,SPTBN1
165	RVIEHVEQV	3034	HAL
166	SILDIVTKV	130132	RFTN2
167	SLAESSFDV	54658	UGT1A1
168	SLAVLVPIV	1361	CPB2
169	SLFEWFHPL	2519	FUCA2
170	SLHNGVIQL	1314	COPA

[0021]

171	SLIPAVLTV	57462	KIAA1161
172	SLLNFLQHL	2968	GTF2H4
173	SLTSEIHFL	55755	CDK5RAP2
174	TLAELGAVQV	2875	GPT
175	TLFEHLPHI	2888	GRB14
176	TLGQIWDV	1778	DYNC1H1
177	VLDEPYEKV	100034743, 5174, 728939	PDZK1P2,PDZK1,PDZK1P1
178	YIFTTPKSV	22862	FNDC3A
179	YIHNILYEV	160518	DENND5B
180	YLGPHIASVTL	81671	VMP1
181	YLLEKFVAV	1663, 440081, 642846	DDX11,DDX12P
182	YLLHFPMAL	1109	AKR1C4
183	YLYNNEEQVGL	1109	AKR1C4
184	VVLDDGGQIVTV	6506	SLC1A2
185	ALFPALRPGGFQA	8878	SQSTM1
186	VLLAQIIQV	89797	NAV2

[0022]

[0023]

[표 2]

[0024]

본 발명에 따른 HLA-A*24 펩티드 및 서열번호 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
187	SYPTFFPRF	6596	HLTF
188	RYSAGWDAKF	8630	HSD17B6
189	AFSPDSHYLLF	3679	ITGA7
190	RYNEKCFKL	54800	KLHL24
191	KYPDIISRI	3978	LIG1
192	SYITKPEKW	79694	MANEA
193	IYPGAFVDL	51360	MBTPS2
194	QYASRFVQL	10733	PLK4
195	RYAPPPSFSEF	29066	ZC3H7A
196	AYLKWISQI	60561	RINT1
197	RWPKKSAEF	100132742, 100526842, 6139, 645296, 645441	RPL17P7, RPL17- C18orf32, RPL17, RPL17P39, RPL17P6
198	LYWSHPRKF	6235, 648343	RPS29, RPS29P9
199	KFVTVQATF	718	C3
200	AYLLQPSQF	732	C8B
201	AYVNTFHNI	1201	CLN3
202	AYGTYRSNF	9919	SEC16A
203	YYGILQEKI	10237	SLC35B1
204	KYRLTYAYF	2266	FGG

[0025]

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
205	VYGLQRNLL	57159, 84675, 84676	TRIM54, TRIM55, TRIM63
206	KWPETPLLL	55757	UGGT2
207	IYLERFPIF	51096	UTP18
208	SYNPAENAVLL	1314	COPA
209	VFHPRQELI	1314	COPA
210	AYPAIRYLL	7818	DAP3
211	IYIPSYFDF	27042	DIEXF
212	VYGDVISNI	8893	EIF2B5
213	YYNKVSTVF	8661	EIF3A
214	IYVTSIEQI	55879	GABRQ
215	IYTGNISF	8836	GGH
216	IYADVGEF	100302182, 11052	MIR1279, CPSF6
217	DYIPYVFKL	338	APOB
218	VYQGAIRQI	338	APOB

[0026]

[0027]

[표 3]

[0028]

이전에 알려진 암 연관이 없는 본 발명에 따른 추가 펩티드 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
219	GVMAGDIYSV	123	PLIN2
220	SLLEKELESV	1819	DRG2
221	ALCEENMRGV	1938	EEF2
222	LTDITKGV	1938	EEF2
223	FLFNTENKLLL	3422	IDI1
224	ALASVIKEL	28981	IFT81
225	KMDPVAYRV	5859	QARS
226	AVLGPLGLQEV	79178	THTPA
227	ALLKVNQEL	25813	SAMM50
228	YLITSVELL	2182	ACSL4
229	KMFESFIESV	5576	PRKAR2A
230	VLTEFTREV	55705	IPO9
231	RLFNDPVAMV	10195	ALG3
232	KLAEIVKQV	8550	MAPKAPK5
233	ALLGKLDAI	5876	RABGGTB
234	YLEPYLKEV	727947,7381	UQCRB
235	KLFEIREI	255394	TCP11L2
236	ALADKELLPSV	84883	AIFM2
237	ALRGEIETV	10128	LRPPRC
238	AMPPPPQGV	5885	RAD21
239	FLLGFIPAKA	5976	UPF1

[0029]

240	FLWERPTLLV	79922	MRM1
241	FVLPLLGLHEA	55161	TMEM33
242	GLFAPVHKV	6249	CLIP1
243	GLLDNPELRV	26263	FBXO22
244	KIAELLENV	9100	USP10
245	KLGAVFNQV	23450	SF3B3
246	KLISSYYNV	84928	TMEM209
247	KLLDTMVDFTL	100527963,11243	PMF1-BGLAP,PMF1
248	KLNDLIQRL	1314	COPA
249	LLLGERVAL	23475	QPRT
250	NLAEVVERV	26263	FBXO22
251	RLFADILNDV	64755	C16orf58
252	RTIEYLEEV	3030	HADHA
253	RVPPPPQSV	6464	SHC1
254	RVQEIAIEV	57678	GPAM
255	SLFGQDVKAV	26036	ZNF451
256	SLFQGVEFHV	3930	LBR
257	SLLEKAGPEL	54625	PARP14
258	SLMGPVVHEV	5116	PCNT
259	TLITDGMRSV	29894	CPSF1
260	TLMDMRLSQV	24148	PRPF6
261	VLFEALWHV	2194	FASN
262	VLPNFLPYNV	10299	MARCH6
263	VLYPSLKEI	50717,5824	DCAF8,PEX19
264	VMQDPEFLQSV	266971,5710	PIPSL,PSMD4
265	WLIEDGKVVTV	10726	NUDC
266	SLLESNKDLLL	6520	SLC3A2
267	ALNENINQV	80025	PANK2
268	KLYQEVEIASV	5976	UPF1
269	YLMEGSYNKV	5714	PSMD8
270	SVLDQKILL	9875	URB1
271	LLLDKLILL	85440	DOCK7
272	QQLDSKFLEQV	6772	STAT1
273	AILETAPKEV	6238	RRBP1
274	ALAEALKEV	55164	SHQ1
275	ALIEGAGILL	10440	TIMM17A
276	ALLEADVNIKL	6729	SRP54
277	ALLEENSTPQL	83933	HDAC10
278	ALTSVVVTL	1021	CDK6
279	ALWTGMHTI	51479	ANKFY1
280	ATLNIHHSV	51542	VPS54

[0030]

281	GLLAGDRLVEV	9368	SLC9A3R1
282	GQFPSYLETV	54919	HEATR2
283	ILSGIGVSQV	3703	STT3A
284	KLDAFVEGV	528	ATP6V1C1
285	KLLDLSDESTSV	6093	ROCK1
286	KVLDKVFRA	375056	MIA3
287	LIGEFLEKV	8731	RNMT
288	LLDDSLVSI	25824	PRDX5
289	LLLEEGGLVQV	7353	UFD1L
290	NLIDLDDLYV	57187	THOC2
291	QLIDYERQL	11072	DUSP14
292	RIPAYFVTV	7407	VAR5
293	FLASESLIKQI	4736	RPL10A
294	RLIDLHTNV	23256	SCFD1
295	SLFSSPPEI	252983	STXBP4
296	SLLSGRISTL	51133,92799	KCTD3,SHKBP1
297	TLFYSLREV	80233	C17orf70
298	TMAKESSIIGV	1429	CRYZ
299	ALLRVTPFI	401505	TOMM5
300	TLAQQPTAV	4802	NFYC

[0031]

[0032] [표 4]

[0033] 예를 들어 개인화 암 요법에 유용한 펩티드 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
301	VLADFGARV	114899,23600	C1QTNF3,AMACR
302	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3
303	GVYDGEHSV	4113	MAGEB2
304	SLIDQFFGV	9097	USP14
305	GVLENIFGV	399909	PCNXL3
306	KLVEFDLGA	10460	TACC3
307	AVVEFLTSV	29102	DROSHA
308	ALLRTVVSV	2590	GALNT2
309	GLIEIISNA	23020	SNRNP200
310	SLWGGDVVL	157680	VPS13B
311	FLIPIYHQV	31	ACACA
312	RLGIKPESV	1466	CSR2
313	LTAPPEALLMV	79050	NOC4L
314	YLAPFLRNV	23019	CNOT1
315	KVLDGSPIEV	29974	A1CF
316	LLREKVEFL	4779	NFE2L1
317	KLPEKWESV	26156	RSL1D1

[0034]

서열번호	서열	유전자 ID	공식적 유전자 부호
318	KLNEINEKI	1373	CPS1
319	KLFNEFIQL	10885	WDR3
320	GLADNTVIAKV	6897	TARS
321	GVIAEILRGV	10528	NOP56
322	ILYDIPDIRL	10667	FARS2
323	KIIDEDGLNL	5981	RFC1
324	RLFETKITQV	100293534,720,721	C4A,C4B
325	RLSEAI TV	51249	TMEM69
326	ALSDGVH KI	55179	FAIM
327	GLNEEIARV	10403	NDC80
328	RLEEDDGDVAM	10482	NXF1
329	SLIEDLILL	64754	SMYD3
330	SMSADVPLV	5111	PCNA
331	SLLAQNTSWLL	7070	THY1
332	AMLA VLHTV	60673	C12orf44
333	GLAEDIDKGEV	1938	EEF2
334	SILTIEDGIFEV	100287551,3306,3312	HSPA8P8,HSPA2,HSPA8
335	SLLPVDIRQYL	6773	STAT2
336	YLPTFFLTV	54898	ELOVL2
337	TLLAAEFLKQV	100288772,10574	CCT7P2,CCT7
338	KLFDSDPITVTV	1191	CLU
339	RLISKFDTV	1977	EIF4E
340	KVFDEVIEV	8908	GYG2
341	YLAIGIHEL	3034	HAL
342	AMSSKFFLV	7474	WNT5A
343	LLLPDYLV	27044	SND1
344	VYISSLALL (A*24)	10213	PSMD14
345	SYNPLWLRI (A*24)	259266	ASPM
346	LYQILQGIVF (A*24)	983	CDK1
347	ALNPADITV	51497	TH1L
348	AYKPGALTF	84883	AIFM2

[0035]

[0036]

본 발명은 또한 일반적으로 예를 들어, 췌장암, 결장암, 직장암, 신장암, 뇌암 및/또는 백혈병과 같은 증식 질병의 치료에 있어서 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.

[0037]

특히 바람직한 것은 서열번호 1 내지 서열번호 300으로 구성되는 군으로부터 선택된 본 발명에 따른 단독 또는 병용하는 펩티드이다. 보다 바람직한 것은 바람직하게는 A*02 결합을 위한 서열번호 1 내지 서열번호 124(표 1 참조)로 구성되는 군, 바람직하게는 A*24 결합을 위한 서열번호 187 내지 서열번호 218(표 2 참조)로 구성되는 군으로부터 선택된 단독 또는 병용하는 펩티드이고, HCC, 뇌암, 신장암, 췌장암, 결장암, 직장암 또는 백혈병, 바람직하게는 HCC의 면역요법에서 이들의 사용이다.

[0038]

다음 표 5A 및 5B에 나와 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 다수의 펩티드는 다른 적응증의 면역요법에서 사용될 수 있다. 이 표들은 선택된 펩티드들에 있어서, 측정된 종양 샘플들의 5% 초과에서 과다 제시(특히 제시 포함)를 보이거나 정상 조직 대 기하 평균 종양의 비율이 3보다 큰 측정된 종양 샘플들이 5% 초과에서 제시를 보이는 추가 종양 유형을 보여준다. 과다제시는 가장 높은 제시를 가진 정상 샘플에 비해 종양 샘플에 대한 더 높은 제시로서 정의된다. 과다 제시를 시험한 정상 조직들은 다음과 같다: 지방 조직, 부신, 혈액 세포, 혈관, 골수, 뇌, 연골, 식도, 눈, 담낭, 심장, 신장, 대장, 간, 폐, 림프절, 신경, 췌장, 부갑상선, 복막, 뇌하수체, 흉막, 침샘, 골격근, 피부, 소장, 지라, 위, 갑상선, 기관, 요관, 방광.

[0039]

[표 5A]

[0040] 본 발명에 따른 펩티드 및 다른 증식 질병, 특히 다른 암 질병에서 이의 구체적 사용 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
1	VMAFFTMTI	췌장
6	KLSPTVVGL	결장, 직장
10	SLLEEFDFHV	신장
14	ALADLTGTVV	신장, 뇌, 췌장
15	LLYGHTVTV	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장
16	SLLGGNIRL	뇌, 결장, 직장
17	RVAS*PTSGV	뇌
22	RIAGIRGIQGV	신장, 결장, 직장
26	SLLHTIYEV	결장, 직장
30	YLGEGPRMV	결장, 직장, CLL
34	SLAEGTATV	결장, 직장

[0041]

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
36	ILNVDGLIGV	신장, 뇌, 결장, 직장
39	ALDPKANFST	신장, 뇌
41	ALLELDEPLVL	췌장
43	ALLGVWTSV	췌장
47	FLDTPIAKV	뇌, 결장, 직장
51	GLAEELVRA	뇌
54	GLDPNVKSIFV	신장, 뇌
55	GLYGRTEL	신장
58	ILADLNLSV	췌장
59	ILADTFIGV	결장, 직장, 췌장
60	ILSPLSVAL	신장, 췌장
65	KLFSGDELLEV	뇌, 결장, 직장
69	KLLDEVTYLEA	결장, 직장
70	KLLDLETERILL	결장, 직장
72	KLSEAVTSV	신장
77	LLHEENFSV	신장, 결장, 직장
80	LLYEGKLT	결장, 직장
81	NLASFIEQVAV	신장, 결장, 직장, 췌장
88	RLIDRIKTV	뇌, 결장, 직장
90	RLLDVLAPLV	신장
96	SLLEEPNVIRV	신장
101	SLWEGGVRGV	뇌
112	VLGEVKVGV	신장
116	WVIPAISAV	신장
119	YLDKNLTVSV	신장
121	YLITGNLEKL	신장, 결장, 직장, 췌장
123	YLWDLDHGFAGV	뇌, 결장, 직장
125	ALYGRLEV	뇌, 결장, 직장
127	VLIGSNHSL	결장, 직장
133	ALLEMDARL	신장, 뇌, 결장, 직장
134	ALLETNPYLL	뇌
135	ALLGKIEKV	뇌, 췌장
137	ALPTVLVGV	신장, 뇌, 결장, 직장
138	ALSQVTL	신장
139	ALSSKPAEV	결장, 직장, 췌장
141	AMGEKSFSV	뇌
144	FIQLITGV	췌장
147	GLAPGGLAVV	뇌
148	GLFAPLVFL	신장

[0042]

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
161	RLLDEQFAV	뇌
166	SILDIVTKV	뇌
169	SLFEWFHPL	신장, 뇌, 결장, 직장
170	SLHNGVIQL	신장
172	SLLNFLQHL	신장, 결장, 직장, CLL
173	SLTSEIHFL	CLL
176	TLGQIWDV	뇌, 결장, 직장, 횡장
177	VLDEPYEKV	신장
179	YIHNILYEV	뇌
181	YLLEKFVAV	결장, 직장
184	VVLDGGQIVTV	뇌
186	VLLAQIIQV	신장, 뇌, 결장, 직장
187	SYPTFFPRF	신장, 뇌
189	AFSPDSHYLLF	신장, 뇌
191	KYPDIIISRI	뇌
192	SYITKPEKW	신장, 뇌
193	IYPGAFVDL	뇌
194	QYASRFVQL	뇌
195	RYAPPPSFSEF	뇌
196	AYLKWISQI	뇌
197	RWPKKSAEF	신장, 뇌
198	LYWSHPRKF	신장
199	KFVTVQATF	뇌
203	YYGILQEKI	신장, 뇌
206	KWPETPLLL	신장, 뇌
208	SYNPAENAVLL	뇌
214	IYVTSIEQI	뇌
219	GVMAGDIYSV	신장
220	SLLEKELESV	뇌
221	ALCEENMRGV	신장, 뇌, 결장, 직장
223	FLFNTENKLLL	결장, 직장
224	ALASVIKEL	뇌
229	KMFESFIESV	신장, 뇌, 결장, 직장
230	VLTEFTREV	신장, 뇌, 결장, 직장
231	RLFNDPVAMV	뇌, 결장, 직장
232	KLAIEVKQV	결장, 직장
233	ALLGKLDAI	신장, 결장, 직장
234	YLEPYLKEV	신장, 뇌, 결장, 직장
236	ALADKELLPSV	신장, 결장, 직장, 횡장

[0043]

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
237	ALRGEIETV	결장, 직장
238	AMPPPPQGV	뇌, 결장, 직장
239	FLLGFIKAKA	뇌
240	FLWERPTLLV	CLL
244	KIAELLENV	뇌, 결장, 직장
245	KLGAVFNQV	뇌
247	KLLDTMVDTFI	결장, 직장
248	KLNDLIQRL	췌장
249	LLLGERVAL	결장, 직장
250	NLAEVVERV	뇌, 결장, 직장, CLL
251	RLFADILNDV	뇌, 결장, 직장
255	SLFGQDVKAV	신장, 뇌, 결장, 직장
258	SLMGPVVHEV	뇌
259	TLITDGMRSV	뇌
260	TLMDMRLSQV	신장, 뇌, 결장, 직장
261	VLFQEALWHV	결장, 직장
266	SLLESNKDLLL	결장, 직장
268	KLYQEVEIASV	뇌
269	YLMEGSYNKV	뇌, 결장, 직장
270	SVLDQKILL	신장, 뇌
271	LLLDKLILL	뇌, 결장, 직장
272	QQLDSKFLEQV	신장, 뇌
274	ALAEALKEV	결장, 직장
275	ALIEGAGILL	신장, 결장, 직장, 췌장
276	ALLEADVNIKL	췌장
277	ALLEENSTPQL	신장
278	ALTSVVVTL	신장, 뇌
279	ALWTGMHTI	신장, 뇌
281	GLLAGDRLVEV	신장
282	GQFPSYLETV	신장, 뇌, 결장, 직장
283	ILSGIGVSQV	췌장
285	KLLDLSDSTSV	신장, 결장, 직장
286	KVLDKVFRA	췌장
287	LIGEFLEKV	CLL
288	LLDDSLVSI	췌장
289	LLLEEGGLVQV	신장, 결장, 직장, 췌장
290	NLIDLDDLYV	뇌, 결장, 직장, 췌장
291	QLIDYERQL	신장, 결장, 직장, 췌장
292	RIPAYFVTV	신장

[0044]

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
293	FLASESLIKQI	뇌, 결장, 직장
295	SLFSSPPEI	신장, 뇌
296	SLLSGRISTL	신장
297	TLFYSLREV	신장, 뇌, 결장, 직장
299	ALLRVTPFI	CLL
300	TLAQQTAV	췌장
301	VLADFGARV	신장, 결장, 직장
302	KIQEILTQV	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장, CLL
304	SLIDQFFGV	뇌, 결장, 직장, 췌장
305	GVLENIFGV	신장, 뇌
306	KLVEFDLGA	뇌, 결장, 직장
308	ALLRTVVSV	신장, 췌장
309	GLIEIISNA	뇌
310	SLWGGDVVL	뇌, 결장, 직장
311	FLIPIYHQV	신장, 뇌
312	RLGIKPESV	뇌
313	LTAPPEALLMV	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장
315	KVLDGSPIEV	신장
316	LLREKVEFL	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장
317	KLPEKWESV	뇌, 결장, 직장, 췌장
319	KLFNEFIQL	신장, 뇌, 결장, 직장
321	GVIAEILRGV	신장, 뇌
324	RLFETKITQV	신장
325	RLSEAIVTV	뇌, 췌장
326	ALSDGVHKL	췌장
327	GLNEEIARV	뇌, 결장, 직장
328	RLEEDDGDVAM	신장, 뇌, 결장, 직장
329	SLIEDLILL	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장
330	SMSADVPLV	뇌, 결장, 직장
331	SLLAQNTSWLL	뇌, 결장, 직장, 췌장
332	AMLAVLHTV	뇌, 결장, 직장
333	GLAEDIDKGEV	신장, 뇌
334	SILTIEDGIFEV	신장, 뇌, 결장, 직장, 췌장, CLL
335	SLLPVDIRQYL	신장, CLL
336	YLPTFFLTV	신장, 뇌
337	TLLAAEFLKQV	뇌
338	KLFDSDPITVTV	뇌
339	RLISKFDTV	뇌
340	KVFDEVIEV	뇌

[0045]

서열번호	서열	다른 관련 기관 / 질병
342	AMSSKFFLV	뇌, 결장, 직장, 췌장
343	LLLPDYLV	뇌, 췌장
344	VYISSLALL (A*24)	뇌
345	SYNPLWLRI (A*24)	뇌
346	LYQILQGIVF (A*24)	신장
347	ALNPADITV	뇌

[0046]

[0047]

[표 5B]

[0048] 본 발명에 따른 펩티드 및 다른 증식 질병, 특히 다른 암 질병에서 이의 구체적 사용 - S* = 포스포세린.

서열번호	서열	추가 질병
189	AFSPDSHYLLF	NSCLC, PrC
273	AILETAPKEV	식도암
236	ALADKELLPSV	NSCLC, SCLC, GC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL
14	ALADLTGTVV	NSCLC, SCLC, BRCA, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, PC
38	ALADVVEHA	BRCA, OC
274	ALAEALKEV	BRCA, MCC, 흑색종, OC, 자궁암, AML
9	ALANQKLYSV	NSCLC, CRC, MCC, OC, 방광암, 담낭암, 담관암, PC
224	ALASVIKEL	SCLC, PC, 흑색종
221	ALCEENMRGV	NSCLC, SCLC, MCC, 흑색종
131	ALDSGAFQSV	CRC, 흑색종, 담낭암, 담관암
185	ALFPALRPGGF QA	담낭암, 담관암
275	ALIEGAGILL	SCLC, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, NHL
276	ALLEADVNIKL	담낭암, 담관암, OC
277	ALLEENSTPQL	SCLC, CLL, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, NHL
133	ALLEMDARL	NSCLC, SCLC, BRCA, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, AML, NHL
134	ALLETNPYLL	방광암, 담낭암, 담관암
135	ALLGKIEKV	NSCLC, SCLC, BRCA, OC, 담낭암, 담관암
233	ALLGKLDAI	CLL, OC, 방광암, 담낭암, 담관암, AML, NHL

[0049]

43	ALLGVWTSV	SCLC, 뇌암, CLL, BRCA, PC
227	ALLKVNQEL	흑색종, 자궁암
136	ALLNQHYQV	BRCA, OC
299	ALLRVTPFI	NHL, OC
32	ALNAVRLLV	SCLC
267	ALNENINQV	SCLC, 뇌암, MCC, 흑색종, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암
137	ALPTVLVGV	NSCLC, GC, BRCA, 흑색종, 식도암, 방광암, 자궁암, 방광암, 담낭암, 담관암, PC
45	ALQDQLVLV	SCLC, 뇌암
237	ALRGEIETV	SCLC, BRCA, OC, 식도암, 방광암, NHL
139	ALSSKPAEV	PrC, OC, 자궁암
278	ALTSVVVTL	NSCLC, SCLC, GC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암, AML, NHL
279	ALWTGMHTI	식도암, 방광암, PC
125	ALYGRLEVV	BRCA, MCC, 흑색종, OC, 방광암, 자궁암
141	AMGEKSFSV	흑색종
238	AMPPPPQGV	NSCLC, SCLC, BRCA, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL
342	AMSSKFFLV	NSCLC, GC, PrC, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, PC
280	ATLNIIHSV	방광암
226	AVLGPLGLQEV	PrC, 흑색종, OC
202	AYGTYRSNF	NSCLC
196	AYLKWISQI	NSCLC
210	AYPAIRYLL	NSCLC, GC
144	FIQLITGV	NSCLC, 뇌암, 방광암
293	FLASESLIKQI	NSCLC, PrC, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
47	FLDTPIAKV	NSCLC, GC, 식도암
223	FLFNTENKLLL	흑색종, 방광암, NHL
145	FLIAEYFEHV	SCLC
239	FLLGFIPAKA	방광암, AML, NHL
128	GLAFSLNGV	흑색종, 자궁암, 담낭암, 담관암
147	GLAPGGGLAVV	NSCLC, SCLC, PrC, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암
148	GLFAPLVFL	식도암, 담낭암, 담관암, NHL
242	GLFAPVHKV	방광암
52	GLFNAELLEA	SCLC

[0050]

281	GLLAGDRLVE V	NSCLC, SCLC, OC, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL
243	GLLDNPELRV	방광암
54	GLLDPNVKSIF V	NSCLC, SCLC, OC, 방광암
149	GLLSGLDIMEV	SCLC
150	GLSNLGIKSI	방광암, NHL
55	GLYGRTIEL	SCLC
282	GQFPSYLETV	NSCLC, CLL, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, NHL
219	GVMAGDIYSV	SCLC, 방광암, 담관암, PC
151	HLAKVTAEV	SCLC, OC, 방광암
57	HLTEAIQYV	NHL
58	ILADLNLSV	BRCA
59	ILADTFIGV	NSCLC, SCLC, GC, OC, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL
36	ILNVDGLIGV	NSCLC, SCLC, PrC, 흑색종, OC, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
283	ILSGIGVSQV	NSCLC, PrC, BRCA, 흑색종, OC, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
216	IYADVGEF	NSCLC, GC, PrC
211	IYIPSYFDF	NSCLC, 뇌암, GC
207	IYLERFPIF	NSCLC, GC
193	IYPGAFVDL	NSCLC
214	IYVTSIEQI	NSCLC, RCC
244	KIAELLENV	NSCLC, SCLC, PrC, CLL, BRCA, 흑색종, OC, 자궁암, AML, NHL
62	KIAGTNAEV	BRCA
63	KIDEKNFVV	SCLC, 뇌암, 방광암, 자궁암
64	KILEETLYV	식도암, 방광암, 자궁암
302	KIQEILTQV	NSCLC, SCLC, GC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, AML, NHL, PC
232	KLAEIVKQV	NSCLC, SCLC, BRCA, 흑색종, OC, 방광암
284	KLDAFVEGV	BRCA, OC
152	KLDNNLDSV	BRCA, 흑색종
235	KLFEEIREI	NSCLC, CRC, 흑색종, 방광암
245	KLGAVFNQV	NSCLC, SCLC, RCC, PrC, BRCA, 흑색종, 식도암, 방광암, 자궁암
246	KLISSYYNV	OC
69	KLLDEVTYLEA	방광암
70	KLLDLETERIL	OC, 자궁암

[0051]

	L	
285	KLLDLSDESTSV	SCLC, 자궁암
247	KLLDTMVDTF L	NSCLC, SCLC, RCC, 뇌암, CLL, BRCA, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, AML, NHL
8	KLLEEATISV	SCLC, MCC, 흑색종, 방광암, 자궁암
248	KLNDLIQRL	GC, 자궁암
20	KLSNVLQQV	SCLC
6	KLSPTVVGL	CLL, OC
154	KLTDHLKYV	SCLC
268	KLYQEVEIASV	CRC, MCC, 흑색종, 방광암
225	KMDPVAYRV	CRC, PrC, BRCA, 방광암, 자궁암
229	KMFESFIESV	NSCLC, SCLC, PrC, OC, 방광암
286	KVLDKVFRA	CRC, 담낭암, 담관암
206	KWPETPLLL	GC
191	KYPDIISRI	NSCLC, GC
287	LIGEFLEKV	SCLC, RCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, NHL
288	LLDDSLVSI	흑색종, 방광암, AML
156	LLFPHPVNQV	NSCLC, SCLC, OC, 식도암, 방광암
77	LLHEENFSV	NSCLC, SCLC, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL
78	LLIDDEYKV	식도암, 방광암, PC
271	LLLDKLILL	CLL, 흑색종, OC, 방광암, 자궁암
289	LLLEEGGLVQV	NSCLC, SCLC, PrC, 흑색종, OC, 방광암, NHL
249	LLLGERVAL	OC
37	LLLPLLPLSP	SCLC, PC, MCC, 자궁암, 담낭암, 담관암
80	LLYEGKLT	OC
15	LLYGHTVTV	NSCLC, SCLC, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, NHL, PC
222	LTDITKGV	BRCA, NHL
346	LYQILQGIVF	NSCLC, 뇌암, GC
198	LYWSHPRKF	NSCLC
250	NLAEVVERV	NSCLC, SCLC, PrC, BRCA, MCC, OC, 담낭암, 담관암
81	NLASFIEQVAV	SCLC, PrC, OC, 자궁암, NHL
290	NLIDLDDLYV	SCLC, PrC, MCC, OC, 방광암, 자궁암
291	QLIDYERQL	NSCLC, SCLC, 뇌암, BRCA, 흑색종, 식도암, 방광암, NHL, PC
157	QLLPNLRAV	RCC
272	QQLDSKFLEQV	MCC, OC, NHL
194	QYASRFVQL	NSCLC, GC

[0052]

22	RIAGIRGIQGV	NSCLC, PrC, BRCA, OC, NHL
292	RIPAYFVTV	GC, BRCA, 흑색종, NHL
86	RLAAFYSQV	AML
251	RLFADILNDV	NSCLC, SCLC, PrC, 흑색종, 방광암, 자궁암
231	RLFNDPVAMV	NSCLC, SCLC, MCC, 흑색종, OC, 방광암, 담낭암, 담관암
294	RLIDLHTNV	식도암
88	RLIDRIKTV	NSCLC, SCLC, OC, AML, NHL
89	RLIEEIKNV	SCLC
161	RLLDEQFAV	SCLC, BRCA
90	RLLDVLAPLV	BRCA
91	RLPDIPLRQV	NSCLC, CLL, 방광암, NHL
92	RLPPDTLLQQV	방광암
23	RLYDPASGTIS L	CLL, 흑색종, NHL
164	RMLIKLLEV	SCLC, CRC
94	RMSDVVKGV	BRCA, OC
252	RTIEYLEEV	흑색종
17	RVASPTSGV	AML
197	RWPKKSAEF	NSCLC
195	RYAPPPSFSEF	NSCLC
190	RYNEKCFKL	NSCLC
95	SICNGVPMV	방광암
166	SILDIVTKV	SCLC, CLL, MCC, 흑색종, 방광암, AML
24	SLAEEKLQASV	PrC, BRCA, 방광암
169	SLFEWFHPL	NSCLC, 담낭암, 담관암
255	SLFGQDVKAV	NSCLC, SCLC, CLL, BRCA, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
256	SLFQGVEFHYV	CRC, CLL, MCC, NHL
295	SLFSSPPEI	NSCLC, SCLC, CRC, PrC, BRCA, 흑색종, OC, 방광암, 자궁암
170	SLHNGVIQL	NSCLC, 방광암, 자궁암, NHL
331	SLLAQNTSWL L	NSCLC, RCC, GC, BRCA, 흑색종, 식도암, 방광암
10	SLLEEFDFHV	NSCLC, BRCA, OC, 식도암, 자궁암
96	SLLEEPNVIRV	흑색종, 담낭암, 담관암
257	SLLEKAGPEL	CLL, 흑색종, OC
220	SLLEKELESV	NSCLC, SCLC, PrC, CLL, BRCA, OC, 식도암, 방광암, NHL
266	SLLESNKDLLL	SCLC, MCC, 자궁암

[0053]

16	SLLGGNIRL	GC, PrC, 식도암, 방광암, 자궁암, PC
26	SLLHTIYEV	PrC, BRCA, 식도암, NHL
172	SLLNFLQHL	AML
97	SLLPQLIEV	SCLC
296	SLLSGRISTL	BRCA, 방광암
258	SLMGPVVHEV	SCLC, MCC, 흑색종, OC, 방광암, NHL
35	SLQESILAQV	NSCLC, SCLC, PrC, MCC, 흑색종, 방광암, AML
99	SLSAFLPSL	OC, 식도암, 담낭암, 담관암, NHL
11	SLSQELVGV	뇌암, 흑색종, 자궁암, NHL
173	SLTSEIHFL	자궁암, NHL
101	SLWEGGVRGV	흑색종
103	SMGDHLWVA	BRCA, 방광암, NHL
330	SMSADVPLV	NSCLC, SCLC, BRCA, MCC, 흑색종, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, AML, NHL
129	SQADVIPAV	방광암
270	SVLDQKILL	흑색종, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL
104	SVWFGPKEV	SCLC, 흑색종, 방광암, PC
192	SYTKPEKW	NSCLC
208	SYNPAENAVLL	NSCLC
345	SYNPLWLRI	NSCLC, RCC, GC
187	SYPTFFPRF	NSCLC, PrC
300	TLAQQPTAV	방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL
297	TLFYSLREV	BRCA, 자궁암, AML
176	TLGQIWDV	NSCLC, GC, 흑색종, 방광암, PC
259	TLITDGMRSV	RCC, CRC, OC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암, PC
260	TLMDMRLSQV	SCLC, PrC, CLL, OC, 자궁암, 담낭암, 담관암
298	TMAKESSIIGV	SCLC, 담낭암, 담관암
110	TVGGSEILFEV	SCLC, 담낭암, 담관암
111	TVMDIDTSGT FNV	SCLC, CRC, CLL, 흑색종, OC, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL
209	VFHPRQELI	NSCLC
261	VLFQEALWHV	방광암
127	VLIGSNHSL	PC, BRCA, 식도암, 방광암, 자궁암, AML
186	VLLAQIIQV	흑색종, OC, 자궁암, 담낭암, 담관암
262	VLPNFLPYNV	NSCLC, SCLC, 뇌암, GC, BRCA, MCC, 흑색종, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
114	VLSQVYSKV	SCLC
230	VLTEFTREV	NSCLC, SCLC, CLL, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL
263	VLYPSLKEI	RCC, BRCA, 자궁암

[0054]

1	VMAPFTMTI	SCLC, 흑색종, NHL
264	VMQDPEFLQS V	SCLC, CRC, PC, CLL, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암, NHL
115	VVLDDKDYFL	CLL
344	VYISLALL	NSCLC, GC, CRC
265	WLIEDGKVVT V	흑색종
117	YAFPKSITV	PC
178	YIFTTPKSV	AML
179	YIHNLIEV	CLL, NHL
341	YLAIGHHEL	SCLC
234	YLEPYLKEV	NSCLC, SCLC, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, AML, NHL, PC
30	YLGEPRMV	NSCLC, 흑색종, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암
180	YLGPHIASVTL	흑색종
121	YLITGNLEKL	NSCLC, CLL, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 자궁암, 담낭암, 담관암, NHL, PC
228	YLITSVELL	OC, NHL
181	YLLEKFVAV	NSCLC, SCLC, CLL, OC, 방광암, AML, NHL
269	YLMEGSYNKV	NSCLC, SCLC, PrC, BRCA, MCC, 흑색종, OC, 식도암, 방광암, 담낭암, 담관암
123	YLWDLDHGFA GV	NSCLC, SCLC, PrC, BRCA, 흑색종, OC, 식도암, AML, NHL
31	YQMDIQQEL	SCLC
203	YYGILQEKI	NSCLC
213	YYNKVSTVF	NSCLC

[0055]

[0056]

NSCLC = 비소세포 폐암, SCLC = 소세포 폐암, RCC = 신장암, CRC = 결장암 또는 직장암, GC = 위암, HCC = 간암, PC = 췌장암, PrC = 전립선암, BRCA = 유방암, MCC = 메르켈 세포 암종, OC = 난소암, NHL = 비호치킨 림프종, AML = 급성 골수성 백혈병, CLL = 만성 림프성 백혈병.

[0057]

따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 하나의 합쳐진 바람직한 구현에서 췌장암의 치료를 위한 서열번호 1, 14, 15, 41, 43, 58, 59, 60, 81, 121, 135, 139, 144, 176, 236, 248, 275, 276, 283, 286, 288, 289, 290, 291, 300, 302, 304, 308, 313, 316, 317, 325, 326, 329, 331, 334, 342 및 343 중 어느 하나에 따라 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드의 사용에 관한 것이다.

[0058]

따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 하나의 합쳐진 바람직한 구현에서 결장암 또는 신장암의 치료를 위한 서열번호 6, 15, 16, 22, 26, 30, 34, 36, 47, 59, 65, 69, 70, 77, 80, 81, 88, 121, 123, 125, 127, 133, 137, 139, 169, 172, 176, 181, 186, 221, 223, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 236, 237, 238, 244, 247, 249, 250, 251, 255, 260, 261, 266, 269, 271, 274, 275, 282, 285, 289, 290, 291, 293, 297, 301, 302, 304, 306, 310, 313, 316, 317, 319, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 334 및 342에 따라 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드의 사용에 관한 것이다.

[0059]

따라서, 본 발명은 또 다른 양태는 하나의 합쳐진 바람직한 실시예에서 신장암의 치료를 위한 서열번호 10, 14, 15, 22, 36, 39, 54, 55, 60, 72, 77, 81, 90, 96, 112, 116, 119, 121, 133, 137, 138, 148, 169, 170, 172, 177, 186, 187, 189, 192, 197, 198, 203, 206, 219, 221, 229, 230, 233, 234, 236, 255, 260, 270, 272, 275, 277, 278, 279, 281, 282, 285, 289, 291, 292, 295, 296, 297, 301, 302, 305, 308, 311, 313, 315, 316, 319, 321, 324, 328, 329, 333, 334, 335, 336 및 346에 따라 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드의 사용에 관한 것이다.

[0060]

따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 하나의 합쳐진 바람직한 구현에서 뇌암의 치료를 위한 서열번호 14, 15, 16, 17, 36, 39, 47, 51, 54, 65, 88, 101, 123, 125, 133, 134, 135, 137, 141, 147, 161, 166, 169, 176, 179, 184, 186, 187, 189, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 199, 203, 206, 208, 214, 220, 221, 224, 229, 230, 231, 234, 238, 239, 244, 245, 250, 251, 255, 258, 259, 260, 268, 269, 270, 271, 272, 278, 279,

282, 295, 297, 302, 304, 305, 306, 309, 310, 311, 312, 313, 316, 317, 319, 321, 325, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 336, 337, 338, 339, 340, 342, 343, 344, 345 및 347에 따라 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드의 사용에 관한 것이다.

- [0061] 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 하나의 합쳐진 바람직한 구현에서 CLL의 치료를 위한 서열번호 172, 173, 240, 250, 287, 299, 302, 334 및 335에 따라 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드의 사용에 관한 것이다.
- [0062] 마찬가지로, 위에 있는 표 5B에 나열된 펩티드들은 하나의 합쳐진 바람직한 구현에서 지적된 질병들의 치료를 위한 기반을 형성할 수 있다.
- [0063] 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 HCC, 뇌암, 신장암, 췌장암, 결장암 또는 직장암 및 백혈병으로 구성되는 군으로부터 선택된 증식 질병의 치료, 바람직하게는 병용 치료를 위한 본 발명에 따른 펩티드의 사용에 관한 것이다.
- [0064] 본 발명은 또한 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 길이 변이체와 같은 긴 형태의 MHC 클래스 II의 분자와 결합하는 능력을 가진 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.
- [0065] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드는 (각각) 서열번호 1 내지 서열번호 300에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성된다.
- [0066] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드는 변형되고/거나 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0067] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드는 융합 단백질의 일부이며 특히 HLA-DR 항원-연관된 불변쇄(Ii)의 N-말단 아미노산에 융합되거나 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체와 같은 항체에 (또는 이의 서열 안으로) 융합된다.
- [0068] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드를 암호화하는 핵산에 관한 것이다. 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0069] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있고/거나 발현하는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0070] 본 발명은 또한 질병의 치료, 특히 암을 포함한 질병 및 자가면역 염증성/면역병리학적 질병의 치료 및 의학에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0071] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 대한 항체 또는 본 발명에 따른 상기 펩티드와 MHC와의 복합체, 및 이들을 만드는 방법에 관한 것이다.
- [0072] 본 발명은 또한 T 세포 수용체(TCR), 특히 가용성 TCR(sTCR) 및 상동성 또는 동종이형 T 세포로 조작된 복제된 TCR, 및 이들을 만드는 방법은 물론 상기 TCR을 함유하거나 상기 TCR과 교차반응하는 NK 세포 또는 기타 세포들에 관한 것이다.
- [0073] 항체 및 TCR는 즉시 사용가능한 본 발명에 따른 펩티드의 면역치료적 사용의 추가 구현이다.
- [0074] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산 또는 전에 설명한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 본 발명은 또한 항원-제시 세포인, 바람직하게는 수지상 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0075] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따른 숙주 세포의 배양과 상기 숙주 세포 또는 이의 배양 배지로부터 펩티드의 단리를 포함한다.
- [0076] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 상기 방법에 관한 것으로, 충분한 양의 항원을 항원-제시 세포와 접촉시킴으로써 항원이 적합한 항원-제시 세포 또는 인공 항원-제시 세포의 표면에 발현된 클래스 I 또는 II MHC 분자 위에 로딩된다.
- [0077] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 상기 항원-제시 세포는 서열번호 1 내지 서열번호 300을 포함하는, 바람직하게는 서열번호 1 내지 서열번호 124 및 서열번호 187 내지 서열번호 218 또는 변이체 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 발현할 수 있거나 발현하는 발현 벡터를 포함한다.
- [0078] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 의해 생산된 활성화된 T 세포에 관한 것으로, 상기 T 세포는 본 발명에 따른 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 또한 발현하는 세포를 선택적으로 인식한다.
- [0079] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 임의의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 표적 세포를 환

자에서 죽이는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따라 생산된 효과적인 수의 T 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

- [0080] 본 발명은 또한 설명한 임의의 펩티드, 본 발명에 따른 핵산, 본 발명에 따른 발현 벡터, 본 발명에 따른 세포, 활성화된 T 림프구, T 세포 수용체 또는 본 발명에 따른 항체나 다른 펩티드 및/또는 펩티드-MHC-결합 분자의 약제로서 또는 약제의 제조에서의 사용에 관한 것이다. 바람직하게는 이의 약제는 항암활성이다.
- [0081] 바람직하게는 상기 약제는 세포 요법, 백신 또는 가용성 TCR 또는 항체에 근거한 단백질이다.
- [0082] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로, 상기 암 세포는 HCC, 뇌암, 신장암, 췌장암, 결장암 또는 직장암 또는 백혈병이며 바람직하게는 HCC 세포이다.
- [0083] 본 발명은 또한 HCC의 진단 및/또는 예후에 사용할 수 있는 여기서 "표적"으로 부르는, 본 발명에 따른 펩티드에 근거한 특이적 마커 단백질 및 바이오마커에 관한 것이다. 본 발명은 또한 암 치료의 맥락에서 이러한 신규 표적들의 사용에 관한 것이다.
- [0084] MHC 분자에는 2가지 클래스가 있으며, MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II이다. MHC 분자는 알파 중쇄와 베타-2-지분자글로불린(MHC 클래스 I 수용체) 또는 알파 및 베타 쇄(MHC 클래스 II 수용체)로 각각 구성되어 있다. 이들의 3차원 형태는 결합 홈을 형성하며, 이는 펩티드와의 비공유 결합에 사용된다. MHC 클래스 I 분자는 대부분의 유핵 세포에서 찾을 수 있다. 이는 대부분 내인 단백질, 결손 리보솜 생성물(DRIP)과 큰 펩티드의 단백질분해 분할로 인해 생성된 펩티드를 제시한다. MHC 클래스 II 분자는 대부분 전문적인 항원-제시 세포(APC)에서 찾아볼 수 있으며, 이들은 주로 APC에 의해 세포내 섭취 중 섭취된 외인 또는 막전 단백질의 펩티드를 제시하며, 이는 후에 처리된다. 펩티드와 MHC 클래스 I 분자의 복합물은 적당한 TCR(T 세포 수용체)을 갖는 CD8-양성 T 세포에 의해서 인식이 되는 반면, 펩티드와 MHC 클래스 II 분자의 복합물은 적당한 TCR을 갖는 CD4-양성 조력 T 세포에 의해 인식이 된다. 그러므로, TCR, 펩티드 및 MHC가 1:1:1의 화학양론적 양으로 존재한다는 사실은 잘 알려져 있다.
- [0085] CD4-양성 조력 T 세포는 CD8-양성 세포 독성 T 세포에 의한 효과적인 반응을 유도하고 지속하는데 중요한 역할을 한다. 종양 연관 항원(TAA)에서 유도된 CD4-양성 T 세포 에피토프의 동정은 항-종양 면역 반응을 일으키기 위한 의약품의 개발에 아주 중요하다. 암 환자에서 NY-ESO-1에 대한 자연적으로 발생하는 CD4 + T 세포 반응의 조사: 항체 반응과의 상관관계(Gnjatic S, et al. 암 환자에서 NY-ESO-1에 대한 자연적으로 발생하는 CD4+ T 세포 반응의 조사: 항체 반응과의 상관관계(Survey of naturally occurring CD4+ T cell responses against NY-ESO-1 in cancer patients: correlation with antibody responses) Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Jul 22;100(15):8862-7). 종양 부위에서, 조력 T 세포는 세포 독성 T 세포-(CTL-)친화적 사이토카인 환경을 지지하고(Mortara L, et al., 포유 선암종에서 CIITA-유도 MHC 클래스 II 발현은 종양 미세환경, 종양 거부 및 특이적 항종양은 기억의 Th1 분극을 초래하고(CIITA-induced MHC class II expression in mammary adenocarcinoma leads to a Th1 polarization of the tumor microenvironment, tumor rejection, and specific antitumor memory). Clin Cancer Res. 2006 Jun 1;12(11 Pt 1):3435-43) 효과기 세포(예를 들어, CTL, NK 세포, 대식세포, 과립구)를 유인한다(Hwang ML, et al. 수지 세포 초회감작에 의해 생성된 동극 기억 CD4+ T 세포는 2차 CD8+ T 세포의 팽창, 트래피킹 및 분화에 영향을 미치고 종양 제어를 강화(Cognate memory CD4+ T cells generated with dendritic cell priming influence the expansion, trafficking, and differentiation of secondary CD8+ T cells and enhance tumor control). J Immunol. 2007 Nov 1;179(9):5829-38).
- [0086] 염증이 없는 경우, MHC 클래스 II 분자의 발현은 주로 면역계의 세포, 특히 전문적 항원-제시 세포(APC), 예를 들어, 단핵 세포, 단핵 세포-유도된 세포, 대식세포, 수지상 세포로 제한된다. 암 환자에서, 종양의 세포는 MHC 클래스 II 분자를 발현하는 것으로 알려졌다(Dengjel J, et al. HLA 클래스 II의 예기치 않은 풍부함은 원발성 신장 세포 암종에서 펩티드를 제시했다(Unexpected abundance of HLA class II presented peptides in primary renal cell carcinomas). Clin Cancer Res. 2006 Jul 15;12(14 Pt 1):4163-70).
- [0087] 본 발명의 신장(더 긴) 펩티드는 HLA 클래스 II 활성 에피토프로 작용할 수 있다. MHC 클래스 II에 의해 활성화된 조력 T 세포는 항-종양 면역에서 CTL 효과기 기능을 조절하는데 중요한 역할을 한다. TH1 유형의 조력 T 세포 반응을 일으키는 조력 T 세포 에피토프는 CD8-양성 킬러 T 세포의 효과기 기능을 지지하고, 이들의 세포 표면에서 종양 관련 펩티드/MHC 복합체를 보이는 종양 세포에 대한 세포 독성 기능을 포함한다. 이런 식으로 종양 관련 조력 T 세포 펩티드 에피토프는, 단독 또는 다른 종양 관련 펩티드와 함께, 항-종양 면역 반응을 자극하는 백신 조성의 활성 약학 원료로 사용될 수 있다.

- [0088] 예를 들어, 생쥐 같은 포유류 동물 모델에서는 심지어 CD8-양성 T 림프구의 부재 하에서도, CD4-양성 T 세포가 인터페론-감마(IFN γ)의 분비에 의한 혈관신생의 저해를 통한 종양의 억제 징후에 충분하다는 것이 보여졌다.
- [0089] CD4 T 세포가 직접적 항종양 효과기라는 증거가 있다(Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014).
- [0090] HLA 클래스 II 분자의 구성적인 발현이 일반적으로 면역 세포로 제한되기 때문에, 클래스 II 펩티드를 원발성 종양에서 직접적으로 단리하는 것은 가능하지 않다고 간주되었다. 그러나, 뎡젤(Dengjel) 등은 MHC 클래스 II 에피토프의 수를 종양에서 직접적으로 동정하는데 성공했다(WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1).
- [0091] 종양 특이적 세포 독성 T 림프구에 의해 인식되는 항원, 즉 그들의 에피토프는, 발현되고, 같은 원조의 변형없는 세포들에 비해서, 각각의 종양의 세포에서 상향규제된 효소, 수용체, 전사 인자와 같은 모든 단백질 클래스에서 유도된 분자일 수 있다.
- [0092] CD8 및 CD4에 의존하는 두 유형의 반응이 항-종양 효과에 같이 및 시너지 있게 기여하므로, CD8+ T 세포(리간드: MHC 클래스 I 분자 + 펩티드 에피토프) 또는 CD4-양성 조력 T 세포(리간드: MHC 클래스 II 분자 + 펩티드 에피토프)에 의해 인식되는 종양 관련 항원의 동정 및 특성화가 종양 백신의 개발에 중요하다.
- [0093] MHC 클래스 I 펩티드가 세포 면역 반응을 촉발(유도)하려면, MHC 분자에도 결합해야 한다. 이 과정은 MHC 분자의 대립형질 및 이의 펩티드의 아미노산 서열의 특정한 다형성에 의존한다. MHC 클래스 I-결합 펩티드는 대개 길이가 8 내지 12개의 아미노산 잔기이며 대개 이의 서열 내에 MHC 분자의 상응하는 결합 홈과 상호작용하는 2 개의 보존된 잔기("고정")를 포함하고 있다. 이렇게 함으로써 각 MHC 대립형질은 어떤 펩티드가 결합 홈에 특이적으로 결합할 수 있는가를 결정하는 "결합 모티프"를 갖는다.
- [0094] MHC 클래스 I 의존 면역 반응에서, 펩티드는 종양 세포에 의해 발현되는 어떤 MHC 클래스 I 분자와 결합할 수 있어야 하며 또한 추후 특정한 T 세포 수용체(TCR)을 갖는 T 세포에 의해 인식될 수 있어야 한다.
- [0095] 종양 관련 항원의 현재 분류는 다음과 같은 주요 군을 포함한다:
- [0096] a) 암-고환 항원: T 세포에 의해 인식될 수 있는 항상 동정된 제 1 TAA는 이 분류에 속하며, 이는 이의 멤버들의 발현이 조직학적으로 인간 종양과 다르며, 정상 조직 중, 고환의 정모 세포/정원 세포에서만 있으며, 때로는 태반에서도 있기 때문에 암-고환(CT) 항원이라고 최초에 불렸다. 고환의 세포들이 클래스 I 또는 II HLA 분자를 발현하지 않기 때문에, 이 항원들은 정상 조직에 있는 T 세포에 의해 인식될 수 없으므로 면역학적으로 종양 특이적이라고 간주될 수 있다. CT 항원의 잘 알려진 예로는 MAGE 과 멤버들 또는 NY-ESO-1이 있다.
- [0097] b) 분화 항원들: 이 TAA는 종양과 종양이 생긴 정상 조직 사이에서 공유된다; 대부분은 흑색종과 정상 멜라닌 세포에서 발견된다. 많은 멜라닌 세포 혈통-관련 단백질은 멜라닌의 생합성에 관련되어 있으므로 종양 특이적이지 않지만 암 면역치료에 널리 사용된다. 예로는, 티로시나아제 및 흑색종을 위한 멜란-A/MART-1 또는 전립선암을 위한 PSA가 있고 이로 국한되지 않는다.
- [0098] c) 과발현된 TAA: 널리 발현된 TAA를 암호화하는 유전자는 일반적으로 낮은 발현 수준이 있는 많은 정상 조직뿐만 아니라 조직학적으로 다른 유형의 종양에서 검출되었다. 정상 조직에서 처리되고 잠재적으로 제시되는 많은 에피토프가 T 세포 인식의 한계치 수준보다 낮을 수 있고, 그의 종양 세포에서의 과발현은 이전에 생성된 내성을 중단함으로써 항암 반응을 일으킬 수 있다. TAA의 이 종류의 유력한 예로는 Her-2/neu, 서바이빈, 텔로머라제 또는 WT1이 있다.
- [0099] d) 종양 특이적 항원: 이러한 독특한 TAA는 정상 유전자의 돌연변이로써 발생한다(예컨대, β -카테닌, CDK4, 등). 이러한 분자 변경의 일부는 종양 변이 및/또는 진행과 관련되어 있다. 종양 특이적 항원은 일반적으로 강한 면역 반응을 정상 조직에 대한 자가 면역 반응에 대한 위험성 없이 유도할 수 있다. 반면에, 대부분의 경우 이러한 TAA는 이들을 동정하고 일반적으로 많은 개별 종양에서 공유되지 않는 정확한 종양에만 적절하다. 종양 특이적(연관된) 아형을 갖는 단백질의 경우 펩티드가 종양(관련) 엑손으로부터 비롯된다면 펩티드의 종양-특이성(또는 연관성) 또한 발생할 수 있다.
- [0100] e) 비정상 번역 후 변형에서 발생하는 TAA: 이러한 TAA는 종양에서 특이적이지도 않고 과발현되지도 않는 단백질에서 발생할 수 있지만 종양에서 주로 활동적인 번역 후 과정에 의해 종양과 관련된다. 이 클래스의 예는 종양 특이적일 수도 아닐 수도 있는 저하 동안의 단백질 접합과 같은 이벤트 또는 MUC1을 위한 종양의 새로운 에피토프로 이끄는 변경된 당화 패턴에서 발생한다.
- [0101] f) 종양 바이러스 단백질: 이러한 TAA는 종양발생 과정에서 중요한 역할을 할 수 있는 바이러스 단백질이며, 그

들이 이질적이기 때문에(인간 태생이 아닌), T 세포 반응을 일으킬 수 있다. 이런 단백질의 예로는 인간 유두종 바이러스 16 바이러스 단백질, 및 자궁경부 암종에서 발현하는 E6과 E7이 있다.

- [0102] 종양 특이적 또는 관련된 항원과 같은 세포 독성 T-림프구에 의해 단백질이 인식되고, 치료에 사용되려면, 특정한 전체 조건이 충족되어야 한다. 항원은 주로 종양 세포에 의해 발현되어야 하며 비교적 소량일지라도 정상 건강한 조직에 의해서는 안 된다. 바람직한 구현에서, 펩티드는 정상의 건강한 조직과 비교하여 종양 세포에 의해 과다제시되어야 한다. 더욱이 각각의 항원이 하나의 유형의 종양에서뿐만 아니라 높은 농도로 나타나는 것이 바람직하다(즉, 세포마다 펩티드의 각각의 카피수). 종양 특이적 및 종양 관련 항원은 흔히 기능, 예를 들어 세포 주기 관리 또는 세포자멸사의 억제 때문에 정상 세포를 종양 세포로 변환하는데 관련된 단백질에서 유도된다. 또한, 변환을 직접적으로 일으키는 단백질의 하류 표적은 상향조절될 수 있으며 따라서 간접적으로 종양-연관될 수 있다. 그런 간접적 종양 관련된 항원은 백신 접근법의 표적이 될 수도 있다(Singh-Jasuja et al., 2004). 종양 관련 항원에서 유도된 그런 펩티드("면역성 펩티드")는 시험관 내 또는 생체 내 T 세포-반응을 유도하기 때문에 에피토프가 항원의 아미노산 서열에 나타나는 것이 중요하다.
- [0103] 기본적으로, MHC 분자에 결합할 수 있는 임의의 펩티드는 T 세포 에피토프로서 기능할 수 있다. 시험관 내 또는 생체 내 T 세포 반응의 유도의 전체 조건은 상응하는 TCR이 있는 T 세포의 존재와 이 특이적 에피토프에 대한 면역성 내성의 부재이다.
- [0104] 그러므로, TAA는 종양 백신으로 제한되지 않지만 이를 포함하는 T 세포 기반 요법의 개발에 있어서 시작점이 된다. TAA의 동정과 특성화의 방법은 환자 또는 건강한 대상에서 단리될 수 있는 T 세포의 사용에 기반되거나, 차등 전사 프로파일 또는 종양과 정상 조직 사이의 차등 전사 프로파일이나 차등 펩티드 발현 패턴의 생성에 기반한다.
- [0105] 그러나, 종양 조직 또는 인간 종양 세포주에서 과발현되거나 그런 조직 또는 세포주에서 선택적으로 발현되는 유전자의 동정은 면역 치료에서 이런 유전자에서 전사된 항원의 이용에 대한 정확한 정보를 제공하지 않는다. 이것은 상응하는 TCR이 있는 T 세포가 나타나야 하고 이 특이적 에피토프에 대한 면역성 내성이 없거나 최소화되어야 하므로 개인의 이러한 항원의 에피토프의 소집단만이 그런 응용에 적합하기 때문이다. 따라서 본 발명의 매우 바람직한 구현에서, 기능성 및/또는 T 세포가 발견될 수 있는 그러한 과제시된 또는 선택적으로 제시된 펩티드만 선택하는 것은 중요하다. 그런 기능성 T 세포는 특이적 항원에 의해 자극되었을 때 클론적으로 확대되고 효과기 기능("효과기 T 세포")을 실행할 수 있는 T 세포로 정의된다.
- [0106] 본 발명에 따른 TCR 및 항체의 경우 기저 펩티드의 면역원성은 이차적인 것이다. 본 발명에 따른 TCR과 항체에서 이의 제시가 결정 요인이다.
- [0107] 추가의 암 질환에 대한 치료 및 진단 사용 모두 본 발명에 따른 펩티드의 기저 단백질(폴리펩티드)에 대한 다음의 상세한 설명에 공개된다.
- [0108] COL18A1의 차등 발현이 방광암, 간상 종양 및 난소 암종에서 보고되었으며, 유전자 내의 특이적 다형체는 산발성 유방암의 위험을 증가시키는 것으로 나타났다(Fang et al., 2013; Gadd et al., 2010; Peters et al., 2005; Lourenco et al., 2006).
- [0109] COPA 유전자 발현 및 RNA 편집의 변화는 간세포 암종과 관련이 있는 것으로 나타났으며 실험적 연구에 의하면 중피종 세포에서 COPA의 항세포자멸사 영향을 드러냈다(Sudo et al., 2010; Qi et al., 2014; Wong et al., 2003).
- [0110] CPB2의 활성화는 급성 전골수세포 백혈병에서 유의하게 절감된 것으로 나타났다(Meijers et al., 2000).
- [0111] CRP는 간에서 합성된 급성기 단백질로서 다양한 암 유형에서 예후적 마커로 나타났으며, 신장 세포 암종 및 다발 골수종 등이 포함된다(Ljungberg, 2007; Fassas and Tricot, 2004).
- [0112] CRYZ는 종양 억제인자 p53의 표적 유전자이다(Bansal et al., 2011). 이의 암호화된 단백질 제타-크리스탈린은 항세포자멸사 분자 bcl-2의 mRNA와 직접적으로 상호작용하며 T 세포 급성 림프구 백혈병에서 bcl-2의 과발현을 안정제시키는 것으로 나타났다(Lapucci et al., 2010).
- [0113] CSRP2의 과발현은 간세포 암종의 탈분화와 연관이 있다(Midorikawa et al., 2002).
- [0114] CYB5A는 발암성 분자를 해독하는 효소이며 췌장암의 예후 인자이다(Blancke et al., 2014; Giovannetti et al., 2014).

- [0115] CYP27A1의 증가된 발현 수준은 자궁내막 암종, 유방암 및 결장직장암과 연관이 있다(Bergada et al., 2014; Nelson et al., 2013; Matusiak and Benya, 2007).
- [0116] CYP2E1의 과발현은 결장직장암에서 보고되었으며, 특이적 다형태는 방광암, 폐암 및 유방암 세포와 연관이 있다(Ye et al., 2014; Patel et al., 2014; Deng et al., 2014; Leung et al., 2013).
- [0117] CYP2J2는 효소이며 이는 식도, 폐, 유방, 위, 간 및 결장의 암을 포함한 다양한 인간 암에서 과발현되는 것으로 나타났다(Jiang et al., 2005; Narjoz et al., 2014).
- [0118] CYP4F8은 전립선암에서 주로 발현된 것으로 나타났다(Vainio et al., 2011). CYP4F2 및 CYP4F3 모두 췌장관 선암종에서 과발현되고, CYP4F2만이 난소암에서 과발현되는 것으로 나타났다(Gandhi et al., 2013; Alexanian et al., 2012).
- [0119] CYP4F11의 발현은 NF- κ B 및 p53에 의해 조절되는 것으로 나타났다(Kalsotra et al., 2004; Bell and Strobel, 2012; Goldstein et al., 2013).
- [0120] CYP4F12의 유전적 변이체는 췌장암 환자에서 켈시타빈 반응과 상당히 연관이 있다(Goldstein et al., 2013; Harris et al., 2014).
- [0121] DAP3의 높은 수준은 한편으로는 위암에서 화학요법의 더 나은 반응과 상관관계가 있고 유방암에서 더 나은 임상적 결과와 상관관계가 있는 반면에 DAP3의 과발현은 갑상선 종양세포 종양 및 침습성 교아세포종에서 보고되었다(Jia et al., 2014; Wazir et al., 2012; Jacques et al., 2009; Mariani et al., 2001).
- [0122] PEX19는 과산화수소체 생물발생에 필수적이지만, p19ARF와의 직접 상호작용을 통해 궁극적으로 세포질에서 이 요인의 유지 및 p53 종양-억제 기능의 불활성화를 초래하는 것으로도 나타났다(Sugihara et al., 2001).
- [0123] DDX11은 DNA 헬리카아제의 DEAH족에 속하며 진행 흑색종에서 주로 발현된다(Bhattacharya et al., 2012).
- [0124] NME4는 뉴클레오타이드 비인산염 키나아제이며 결장암 및 위암은 물론 골수형성이상 증후군에서 과발현되는데, 후자의 경우 불량한 예후와 연관이 있다(Kracmarova et al., 2008; Seifert et al., 2005).
- [0125] DENND5B는 Rab-GTPases를 활성화시키는 GDP-GTP 교환 인자로서 작용한다(Yoshimura et al., 2010).
- [0126] DIEXF는 종양 억제 인자 p53의 비프로테아좀 열화를 매개하는 것으로 나타났다(Tao et al., 2013).
- [0127] DOCK7은 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자이며, 이는 Rac-1의 활성화에 의한 HGF에 대한 반응으로 교아세포종에서 과발현되며 교아세포종 세포 침입을 증가시키는 것으로 나타났다(Murray et al., 2014).
- [0128] 간세포 암종의 세포주에서, DRG2는 화학치료 약물 유도된 세포자멸사를 하향조절하는 것으로 나타났으며, DRG2의 과발현은 이러한 세포에서 독소루비신 유도 세포자멸사를 억제한다(Chen et al., 2012a).
- [0129] DRISHA는 microRNA 생물발생에서의 두 가지 중대 효소 중 하나로서 위장종양, 유방암 및 자궁경부암을 포함하는 다수의 암에서 과발현되며, 종양 세포의 증식, 침략 형성 및 이동을 강화하는 것으로 나타난다(Avery-Kiejda et al., 2014; Havens et al., 2014; Zhou et al., 2013b).
- [0130] DUSP14 유전자의 SNP는 변형된 흑색종 위험과 연관이 있다(Yang et al., 2014a; Liu et al., 2013b).
- [0131] 전유전체 염기서열 연구를 통해 췌장의 담관내 유도상 점액 종양 환자에서 DYNC1H1 유전자 내의 체세포 돌연변이를 밝혔다(Furukawa et al., 2011).
- [0132] EEF2 단백질은 폐, 식도, 췌장, 유방 및 전립선 암, 다형성 교모세포종 및 비호지킨 림프종에서 과발현되며 암 세포 성장에서 종양발생 역할을 하는 것으로 나타났다(Oji et al., 2014; Zhu et al., 2014a).
- [0133] EFR3A의 유전자 내에서의 돌연변이는 결장직장 선종 샘플에서 동정되었다(Bojjireddy et al., 2014; Zhou et al., 2013a).
- [0134] EIF2B5는 번역 개시 인자 B의 아단위 하나를 암호화한다. 이 유전자의 단일 뉴클레오타이드 다형태는 난소암에서 생존시간과 연관 있는 것으로 묘사되었다(Goode et al., 2010).
- [0135] EIF3A는 진행 번역 개시인자 소단위 A이며 유방, 폐, 자궁경부, 식도, 위 및 결장의 암에서 과발현되며 세포주기 조절에 관여하는 것으로 나타났다(Dong and Zhang, 2006).
- [0136] EIF4E는 유방, 전립선, 폐, 두부 및 경부는 물론 다수의 백혈병 및 림프종을 포함하여 인간 악성 종양의 최대

30%까지 상승하는 효력있는 종양유전자이다(Carroll and Borden, 2013).

- [0137] ELOVL2는 간세포 암종에서 과발현하는 것으로 나타났다(Jakobsson et al., 2006; Zekri et al., 2012).
- [0138] EPRS는 다기능성 아미노아실-tRNA 합성효소를 암호화하며, 이것은 결장암에서 종양 관련 항원인 것으로 보고되었다(Line et al., 2002).
- [0139] EXOSC4 프로모터 활성은 DNA 저메틸화로 인해 간세포 암종에서 증가한다. EXOSC4는 암세포 성장 및 세포 침습 능력을 효과적이고 특이적으로 억제한다(Drazkowska et al., 2013; Stefanska et al., 2014).
- [0140] 가수분해 효소 FUCA2는 인간 위암 세포에 대한 헬리코박터 필로리 유착에 필수적인 것으로 나타났다(Liu et al., 2009a).
- [0141] GABRQ는 GABAA 수용체 세타 소단위를 암호화한다. GABA는 과발현된 GABAA 작용제 세타 소단위를 통해 인간 간세포 암종의 성장을 촉진시키는 것으로 나타났다(Li et al., 2012).
- [0142] 편평 세포 암종의 경우 GALNT2의 과발현은 O-글리코실화 및 EGFR 활성을 변형시켜 종양 세포의 침습 잠재성을 강화시키는 것으로 보고되었다(Lin et al., 2014; Hua et al., 2012a; Wu et al., 2011).
- [0143] GGH의 높은 수준은 항폴린산제, 특히 메토토크세이트에 의한 세포 내성 및 침습성 유방암과 폐 내분비 종양에서의 불량한 예후와 연관지어져 왔다(Schneider and Ryan, 2006; Shubbar et al., 2013; He et al., 2004).
- [0144] GLUL은 인간 유방 암종 세포 및 별아교세포종에서 과발현된다(Zhuang et al., 2011; Collins et al., 1997; Christa et al., 1994; Cadoret et al., 2002).
- [0145] GNPAT는 전이성 흑색종에서 성장 억제 및 세포자멸사 유도과 연루된 것으로 보고되었다(Ofman et al., 2001; Qin et al., 2013).
- [0146] GOLGA4의 염색체 영역에서의 결손이 경부 암종 및 골수증식 신생물에서 GOLGA4의 PDGFRB와의 인프레임(in-frame) mRNA 융합에서 보고된 바 있다(Senchenko et al., 2003; Hidalgo-Curtis et al., 2010).
- [0147] GPAM은 인간 유방암에서 발현되며, 이는 세포 대사의 변화 및 더 나은 전체 생존율과 연관이 있다(Brockmoller et al., 2012).
- [0148] GPT의 높은 혈청 수준은 위장암의 위험을 증가시키는 것으로 보고되었으며 C형 간염 바이러스 유도 간세포 암종의 발암 및 재발과 연관이 있다(Kunutsor et al., 2014; Tarao et al., 1997; Tarao et al., 1999).
- [0149] GRB14는 유방암에서 상향조절되는 것으로 나타났으며, 이 경우 높은 발현은 더 나은 무병 및 전체 생존율과 유의하게 연관이 있었다(Huang et al., 2013; Balogh et al., 2012).
- [0150] GTF2H4 유전자의 단일 뉴클레오티드 다형태는 흡연 관련 폐암 및 유두종 바이러스 유도 자궁경부암의 발진 위험을 증가시키는 것을 보고되었다(Mydlikova et al., 2010; Buch et al., 2012; Wang et al., 2010).
- [0151] 여러 연구들에 의하면 자궁경부암, 신장세포암종 및 방광암의 질병 진행에서 HSPA2의 중요한 역할이 시사된다. 유전자 내의 다형태는 위암의 발진과 연관이 있다(Singh and Suri, 2014; Ferrer-Ferrer et al., 2013; Garg et al., 2010a; Garg et al., 2010b).
- [0152] HSPA8은 식도 편평 세포 암종에서 과발현되는 것으로 나타났다. 더욱이, HSPA8은 다발성 골수종 및 결장 암종에서 과발현되며, HSPA8의 BCR-ABL1 유도 발현은 만성 골수성 백혈병에서 세포 생존을 촉진시킨다(Dadkhah et al., 2013; Wang et al., 2013a; Chatterjee et al., 2013; Kubota et al., 2010; Jose-Eneriz et al., 2008).
- [0153] MDN1은 내강형 B의 유방암에서 돌연변이되는 종양 억제인자 유전자 후보로서 묘사되었다(Cornen et al., 2014).
- [0154] MIA3은 수송 및 골지 조직화 단백질 1(TANGO)로도 알려져 있으며, 결장 및 간세포 암종에서 하향조절 및 이러한 객체에서 종양 억제 역할을 수행하는 것으로 보고되었다(Arndt and Bosserhoff, 2007). 이와 반대로, 구강 편평 세포 암종에 대한 연구는 MIA3 발현과 종양 진행, 전이 형성 및 임상적 병기의 연관성을 나타내고 이는 MIA3의 발암 작용으로의 향방을 지적한다(Sasahira et al., 2014).
- [0155] CPSF6은 유방, 결장, 간, 폐, 식도 및 갑상선의 암과 같은 일부종양 유형에서 전이 및 침습 잠재력의 유의한 차이와 연관이 있는 "잠재적 유전자 카세트" 내부의 하나의 유전자로서 파악되었다(Yu et al., 2008).

- [0156] 낮은 수준의 MPDZ 발현은 유방암 환자에서의 불량한 예후와 연관 있는 것으로 보고되었다(Martin et al., 2004).
- [0157] NAA35는 MAK10로도 알려져 있으며 N(알파)-아세틸트랜스퍼라아제 35인 NatC 보조적 소단위를 암호화한다. 식도 편평 세포 암종의 환자에서 고도로 암 강화된 키메라 GOLM1-MAK10 RNA가 검출되었으며, 이는 분자 마커로서 유용할 수 있는 분비된 융합 단백질을 암호화한다(Zhang et al., 2013b).
- [0158] NAV2는 결장암의 하나의 군 및 NAV2 유도 세포자멸사를 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드를 갖는 결장암 세포의 치료에서 특이적으로 발현되는 것으로 나타났다(Ishiguro et al., 2002).
- [0159] NCSTN 과발현은 에스트로겐-수용체-음성 유방암 환자에서 악화된 전체 생존율을 지적하는 것이며, 활성화가 궁극적으로 침습성 행위를 주도하는 내분비 요법 내성의 유방암 세포에서는 높은 수준의 니카스트린 및 Notch4가 검출되었다(Sarajlic et al., 2014; Lombardo et al., 2014).
- [0160] 비소세포 폐암에서는 NKD1 단백질이 절감되지만 NKD1 mRNA는 상승되는데, 전자는 증가된 침습성 가능성 및 불량한 예후와 상관관계가 있다(Zhang et al., 2011). NKD1 mRNA는 인간 결장 종양의 세포에서도 상승되는 것으로 나타났다(Yan et al., 2001; Zhang et al., 2011).
- [0161] 식도암에서는, NUDC가 결절 전이와 연관있는 것으로 보고되는 반면, 전립선암 세포에서 NUDC의 과발현이 세포 분열의 차단을 초래한다(Hatakeyama et al., 2006; Lin et al., 2004).
- [0162] 난소암에서 Notch 신호전달 경로의 역할을 조사한 연구에서 암종에 비해 선종에서의 RFNG 발현이 빈도가 더 높음을 보고했다(Gu et al., 2012; Hopfer et al., 2005).
- [0163] RINT1은 다형 교모세포종에서는 종양유전자로서, 유방암은 물론 림프 증후군 관련 암에서 보이는 중간 정도의 침투 암 감수성 유전자로서 묘사된다(Ngeow and Eng, 2014; Quayle et al., 2012).
- [0164] RORC의 높은 발현은 유방암에서 더 긴 무전이 생존율과 연관이 있는 것으로 나타났다. 성장자극세포 선종에서 악화된 RORC 발현은 증가된 종양 크기 및 소마토스타틴 치료에 대한 둔화된 임상적 반응과 연관이 있다(Cadenas et al., 2014; Lekva et al., 2013).
- [0165] RPL17은 약물 유도 세포자멸사를 억제함으로써 다중약물 내성을 촉진하는 것으로 보고되었다(Shi et al., 2004b).
- [0166] RPS29의 증가된 발현은 위암 및 결장직장암에서 보고되었다(Takemasa et al., 2012; Sun et al., 2005).
- [0167] SAMM50은 미토콘드리아 외막의 SAM(Sorting and Assembly Machinery)의 구성요소를 암호화하는 데, 이는 베타 배럴 단백질을 미토콘드리아 외막 안으로 조립하는데 있어서 기능을 수행한다. 성장 촉진 키메라 mRNA(SAMM50-PARVB)는 유방 및 난소 암 세포, 유방, 위, 결장, 신장 및 자궁암으로부터의 다수의 샘플에서 검출되었다(Plebani et al., 2012).
- [0168] SERPINF2는 플라스민의 주요 억제제를 암호화하며 이는 피브린 및 다양한 다른 단백질들을 열화시킨다. 플라스민-알파 2-플라스민 억제제 복합체의 혈장 수준은 비소세포 폐암에서 생존율의 예측자인 것으로 나타났으며, 전립선 암종 환자의 혈액에서는 알파 2-안티플라스민의 낮은 활성이 관찰된 바 있다(Zietek et al., 1996; Taguchi et al., 1996).
- [0169] SF3B3의 과발현은 에스트로겐 수용체-양성 유방암에서 전체 생존율 및 내분비 내성과 유의하게 상관관계가 있다(Gokmen-Polar et al., 2014).
- [0170] SHC1의 단백질 수준은 전립선, 전이성 유방, 난소 및 갑상선 암, 및 다른 아형들에서 상승하며, 스테로이드의 분열촉진을 비유전체 수준에서 매개하기 위한 일차 어댑터 단백질로서 기능하는 것으로 사료된다(Alam et al., 2009; Rajendran et al., 2010).
- [0171] AMACR은 이 객체에서 주로 과발현되므로 전립선암의 바이오마커로서 사용된다(Wu et al., 2014). 더욱이 이것은 신장 세포 암종의 진찰용 면역조직화학적 마커로서 사용된다(Ross et al., 2012).
- [0172] 실험 데이터에 의하면, C1QTNF3 발현은 ERK1/2 신호전달 경로의 활성화와 연관이 있는 골암 종양 성장에서 역할을 할 수 있고 또한 이는 PI3K/Akt 신호전달 경로를 통해 중간엽 줄기 세포를 저산소증/혈청 박탈 유도 세포자멸사로부터 보호하는 신규 항세포자멸사 아디포킨임을 시사한다(Hou et al., 2014; Akiyama et al., 2009).

- [0173] GPC3은 대부분의 간세포 암종에 의해 발현된다. GPC3을 표적하는 HCC에 대한 2가지 치료 접근 방법은 현재 제 II상 임상 시험에서 시험 중이다: 인간화 GPC3 단클론성 항체 및 2개의 GPC3-유래 펩티드로 구성되는 백신. 후자 연구에 사용되는 펩티드는 본 문서에서 제시된 펩티드로부터 뚜렷이 다르다. GPC3 발현은 모든 난황낭 종양, 일부 폐의 편평 세포 암종 및 난소의 투명 세포 암종에서도 동정된 바 있다(Filmus and Capurro, 2013; Kandil and Cooper, 2009).
- [0174] MAGEB2는 고환 및 태반에서, 및 다발골수종과 두부 및 경부 편평 세포 암종 등 다양한 조직학 유형들의 종양의 상당한 부분으로 발현되므로 암고환 항원으로서 분류된다(Pattani et al., 2012; van et al., 2011).
- [0175] MAPKAPK5는 종양 억제인자 및 세린/트레오닌 키나아제족의 구성원을 암호화한다. MAPKAPK5는 결장직장암에서 저 발현되어 myc 종양단백의 증가된 활성을 초래하며 또한 조혈암의 생쥐 모델에서 발암유전자 rac 활성을 억제함으로써 암 형성을 감소시키는 것으로 나타났다(Yoshizuka et al., 2012; Kress et al., 2011).
- [0176] USP14의 과발현은 상피 난소, 비소세포 폐 및 결장직장 암에서 증가된 종양세포 증식 및 불량한 예후와 연관된다(Wang et al., 2015; Wu et al., 2013a; Shinji et al., 2006).
- [0177] C4A는 다낭 난소 증후군 및 자궁내막암의 바이오마커로서 묘사된 바 있으며, 실험 데이터는 C4가 암 성장을 매개할 수 있음을 시사한다(Galazis et al., 2013; Rutkowski et al., 2010).
- [0178] CAPZB는 인간 유두종 바이러스 18-양성 경구 편평 세포 암종에서 과발현된 것으로 보고되었고 전립선암 감수성 유전자 자리로서 동정되었다(Lo et al., 2007; Nwosu et al., 2001).
- [0179] CFHR5를 위한 유전자 내의 단일 뉴클레오티드 다형체는 소포 림프종에서 사건 없는 생존과 연관된다(Charbonneau et al., 2012).
- [0180] CLIP1은 세포내 소수포를 미세관에 연결시키는 연결 단백질 1을 함유하는 CAP-GLY 도메인을 암호화한다. 이 유전자는 호지킨 림병과 유방암의 리드-스테른베르크(Reed-Sternberg) 세포에서 주로 발현되며 유방암 및 췌장암 세포의 이전 및 침입에 연루된 것으로 보인다(Sun et al., 2013; Suzuki and Takahashi, 2008; Li et al., 2014a; Sun et al., 2012).
- [0181] CLU는 종양 진행을 억제할 수 있는 반면, 진행 신생물의 경우에는 다수의 치료 스트레스 인자의 억제 및 전이의 강화에 의해 이 암의 상당한 생존 이점을 제공할 수 있다. CLU는 전립선암의 발병기전에서 중대한 역할을 하며, ERK1/2 신호전달 및 MMP-9 발현의 빈도를 통해 인간 투명 신장세포 암종 세포의 공격적 행동을 조절하고 또한 폐암의 진행 병기에서의 치료에 대한 내성을 부여하는 것으로 나타난 바 있다(Trougakos, 2013; Panico et al., 2009; Takeuchi et al., 2014; Wang et al., 2014).
- [0182] 융합 유전자 SEC16A-NOTCH1은 유방암에서 최초의 재발 융합 유전자로서 보고되었다(Edwards and Howarth, 2012).
- [0183] SHQ1 유전의 반복적 결손은 전립선 및 경부 암에서 관찰된 바 있으며, SHQ1의 종양 억제 역할을 연루시킨다(Krohn et al., 2013; Lando et al., 2013).
- [0184] 투명 세포 신장세포 암종 및 방광암에서 SLC16A1의 높은 발현은 불량한 예후 인자와 연관되며 종양 진행을 예측한다. 결장직장암에서 SLC16A1 유전자에 있는 단일 뉴클레오티드 다형체는 임상적 결과에 영향을 줄 수 있으며 보조 화학요법에 대한 반응을 예측하는데 사용할 수 있다(Kim et al., 2015; Fei et al., 2014a; Fei et al., 2014a).
- [0185] 교모세포종은 글루탐산염을 높은 수준으로 방출하는 것으로, 나타난 바 있으며, 이는 종양 세포 증식을 자극할 수 있고 종양 침입을 원활하게 하며 또한 SLC1A2를 하향조절하는 것으로 나타난 바 있으며 이는 교세포 종양 진행에서의 가능한 역할을 연루시킨다. 더욱이, 위험에서 SLC1A2와 CD44의 융합 유전자가 검출된 바 있으며, 종양 성장 및 생존을 선호하는 선종양 대사성 환경을 확립하는 유전자 융합의 부류를 나타낼 수 있다(Tao et al., 2011; de Groot et al., 2005).
- [0186] SLC3A2의 높은 발현은 담관암 환자의 종양 성장, 생물학적 공격성 및 생존과 연관되며, PI3K/Akt 경로를 통한 세포 증식의 촉진에 의해 비소세포 폐암의 불량한 예후에 유의하게 기여한다. 더욱이, 인테그린 β 1, 인테그린 β 3 및 Fak와 함께 SLC3A2의 과발현은 결장직장암의 진행 및 간 전이와 연관된다(Kaira et al., 2014; Fei et al., 2014b; Sun et al., 2014).
- [0187] 암 발전에 대한 SLC9A3R1 연루의 증거는 간세포 암종, 슈반세포종, 교모세포종, 결장직장암 및 특히 유방암에서

존재한다(Saponaro et al., 2014).

- [0188] NFYC는 위암과 전립선암 세포에서 종양 유전자의 발현의 촉진하는 것으로 보고된 바 있다(Zhang et al., 2014a; Gong et al., 2013).
- [0189] THY1은 항침습성 활성을 지닌 코인두 암종에서 후보 종양 억제 유전자이다(Lung et al., 2010).
- [0190] TIMM17A는 21T 유방암 세포에서 과발현되며 유방암 조직에서의 mRNA 발현은 종양 진행과 상관관계가 있었다(Xu et al., 2010).
- [0191] TMEM209는 폐암에서 널리 발현된다(Fujitomo et al., 2012).
- [0192] TNK2는 ACK1 티로신 키나아제로도 알려져 있으며 광범위한 인간 암에서 활성화, 증폭 또는 변이된다. 탈조절된 키나아제는 종양유전성이며 이의 활성화는 전이 단계로의 진행과 상관관계가 있다. ACK1 억제제는 전임상 연구에서 기대를 보인바 있다(Mahajan and Mahajan, 2013).
- [0193] TRIM55는 근육 근절 조립 동안 미세관, 미오신 및 티틴과 일시적으로 연관있는 RING 아연 핑거 단백질을 암호화 하며 근절부터 핵까지의 신호전달에도 관여한다(Pizon et al., 2002).
- [0194] Ufd1 단백질의 RNA 간섭은 히드록시캄토테신-내성 결장암 세포주인 SW1116/HCTP를 히드록실-캄토테신으로 감작 시킬 수 있다(Chen et al., 2011a; Chen et al., 2011c).
- [0195] 결장직장암에서 UGT1A1 유전자는 메틸화를 통해 무증상화되므로 약물 내성의 역전에서 이리노테칸(CPT-11) 약물 저항 및 제어 기전에 대한 연구 대상으로 간주된다(Xie et al., 2014).
- [0196] UGT1A10은 위 및 췌장 조직에서 발현되며(Strassburg et al., 1997) 이의 과발현은 항종양제 5-디메틸아미노프 로필아미노-8-히드록시트리아졸로아크리딘은 C-1305의 세포 독성을 유의하게 증가시켰다(Pawlowska et al., 2013). 더욱이 UGT1A10은 생체 이물질, 돌연변이원 및 반응성 대사물을 촉매하므로 간접적 항산화제로서 작용한 다. UGT1A8, UGT1A9 및 UGT1A10의 프로모터에서 생체이물질(XRE) 및 항산화제(ARE) 반응 요소들이 검출되었다 (Kalthoff et al., 2010).
- [0197] UGT1A8은 위장관에서 주로 발현되며(Gregory et al., 2003) mRNA 발현은 화학 예방제 술포라판(SFN)과의 치료 시 상향조절된다(Wang et al., 2012).
- [0198] UGT1A7 일배체형은 B형 간염 보균자에서 간세포 암종의 위험 증가와 연관이 있다(Kong et al., 2008).
- [0199] UGT1A6은 메토타렉세이트에 대해 내성인 유방암 세포에서 과발현되며(de Almagro et al., 2011) β -나프토폴라 본인 추정 화학예방제에 의해 유도된다(Hanioka et al., 2012).
- [0200] UGT1A9는 간 및 신장에서 주로 발현된다(Gregory et al., 2003). UGT1A9 생식계열 다형태는 전립선 절제술 후 전립선 재발에 대한 잠재적 예측자이다(Laverdiere et al., 2014).
- [0201] UGT1A4 프로모터 및 암호화 영역 다형태는 유방암 환자의 아로마테이스 억제제인 아나스트로졸의 글루쿠론산화 에서의 변이성을 초래한다(Edavana et al., 2013).
- [0202] UPF1은 넌센스 매개 mRNA 분해(NMD) 기작의 일부이며 전립선암 진행 및 전이에서 기능적 역할을 수행할 수 있다 (Yang et al., 2013). 추가로 UPF1 RNA 감시 유전자는 췌장 편평상피 선암종에서 보통 돌연변이된다(Liu et al., 2014).
- [0203] UQCRB는 미토콘드리아 복합체 III의 소단위이다. 종양 세포에서 UQCRB의 억제는 저산소증 유도 혈관생성을 억제 한다(Jung et al., 2013). UQCRB의 3' 미번역 영역에서 SNP 2개는 결장직장암의 예후 마커의 후보이다(Lascorz et al., 2012).
- [0204] USO1의 카피수 변경은 결절 흑색종과 비교하여 얇은 확산 흑색종에서 차등 유전자 발현과 상관관계가 있었다 (Rose et al., 2011).
- [0205] USP10 및 SIRT6 모두의 단백질 발현에서 유의한 감소가 인간 결장암에서 검출되었다(Lin et al., 2013).
- [0206] UTP18은 번역을 변경하여 스트레스 내성 및 성장을 촉진시키며, 암에서 흔히 증가되고 과발현된다(Yang et al., 2014b).
- [0207] VARS rs2074511 다형태는 삼중 음성형 유방암 환자들의 생존율과 연관이 있으므로 조기 유방암 환자들의 생존율

의 예후 인자로서 간주될 수 있다(Chae et al., 2011).

- [0208] VMP1은 스트레스 유도인자의 자식작용 연관된 단백질로서 종양유전자 KRAS에 의해서도 유도된다(Lo Re et al., 2012). VMP1은 화학요법 약물에 대한 반응으로서 불량하게 차등화된 인간 췌장암에서 과발현된다(Gilabert et al., 2013). VMP1의 유의한 하향 조절은 인간 HCC 조직에서 발견되었으며, HCC의 복수 종양 결절, 피막형상의 부재, 정맥 침습 및 불량한 예후와 밀접하게 상관관계가 있었다(Guo et al., 2012).
- [0209] WDR26은 심근 세포를 산화성 스트레스로부터 보호한다(Feng et al., 2012).
- [0210] ZC3H7A는 대식세포 활성화의 조절인자로 알려진 CCCH 아연 핑거 단백질 족의 일부이다(Liang et al., 2008). ZC3H7A는 췌장관 선암종의 전이성 세포에서 기능적 변이에 대한 더 높은 대립유전자 빈도를 갖는 것으로 나타났다(Zhou et al., 2012).
- [0211] FASN은 지방산 합성효소이며, 유방, 췌장, 전립선, 간, 난소, 결장 및 자궁내막의 암 등 각종 유형의 암에서 증강된 지질 합성과 연루되어 있다(Wu et al., 2014; Zhao et al., 2013).
- [0212] FGG는 간세포 암종은 물론 전립선, 폐 및 유방암에서 상향조절된다(Vejda et al., 2002; Zhu et al., 2009).
- [0213] FMO5는 우세한 간 특이적 FMO인 모노옥시제나아제이며, 에스트로겐 수용체 알파-양성 유방암에서 상향조절된다(Bieche et al., 2004; Zhang and Cashman, 2006).
- [0214] HADHA mRNA는 HCC(Tanaka et al., 2013) 및 에스트로겐 수용체 알파-음성 유방암(Mamtani and Kulkarni, 2012)에서 탈-분화의 진행을 절감한다.
- [0215] HAL 유전자의 유전적 변이는 피부암의 발전에서 역할을 할 수 있다(Welsh et al., 2008).
- [0216] HLTf는 헬리케이스 및 E3 유비퀴틴 리가아제 활성을 가진 전사 조절인자의 SWI/SNF 족의 구성원이며, 결장, 위, 자궁, 방광 및 폐 종양에서 과메틸화에 의해 비활성화되는 것으로 나타났다(Debaube et al., 2008; Castro et al., 2010; Garcia-Baquero et al., 2014).
- [0217] HDAC10은 히스톤 탈아세틸 효소로 전사 조절인자이다. HDAC10의 발현은 주위 조직과 비교하여 위암 조직에서 유의하게 감소했다(Jin et al., 2014). HDAC10은 경부 편평 세포 암종의 환자에서 림프절 전이와 역으로 관련이 있다(Song et al., 2013). HDAC10은 악성 부신피질 종양 안에서 과메틸화된다(Fonseca et al., 2012). HDAC10 수준은 만성 림프구 백혈병에서 증가한다(Wang et al., 2011). HDAC10-589C>T 프로모터 다형성은 만성 HBV 환자 가운데 HCC 발생은 물론 만성 HBV 환자 가운데 HCC 발생과 유의하게 연관되었다(Park et al., 2007). 클래스 II 히스톤 탈아세틸 효소의 절감된 발현은 폐암 환자에서의 불량한 예후와 연관이 있다(Osada et al., 2004).
- [0218] 낮은 HIP1R 발현은 미만성 거대 B 세포 림프종 환자에서의 불량한 결과와 강력히 연관된다(Wong et al., 2014).
- [0219] HM13은 신호 펩티드 펩티다아제이며 결장직장 선종에서 세포 생존력에 영향을 미쳤다(Sillars-Hardebol et al., 2012).
- [0220] 악성 림프종 환자에게 혈청 HPR 수준은 질병이 없는 대조군보다 훨씬 높았으며 HPR 발현은 질병 진행에 따라 증가했다(Epelbaum et al., 1998). HPR 발현은 유방암에서의 증가된 음성 잠재성과 평행하며 HPR-양성 유방암은 일차 절제 후 재발할 확률이 더 높으며 더 짧은 무질병 간격과 연관이 있다(Shurbaji et al., 1991).
- [0221] HSD11B1 유전자의 변이체(rs932335)는 결장직장암 및 유방암과 연관이 있다(Feigelson et al., 2008; Wang et al., 2013b).
- [0222] 안드로겐 결핍 요법(ADT)을 받은 전립선암 환자의 조직에서의 HSD17B6 발현은 치료받지 않은 개인의 조직에서의 것보다 유의하게 높았다(Ishizaki et al., 2013).
- [0223] HSPE1은 단백질 접기 및 세포 신호전달(NF- κ B 및 WNT 신호전달)의 기능을 가진 미토콘드리아 샤페론이다. Hsp10의 증가된 수준은 대장암, 바깥 자궁목암, 전립선암, 외부 세포 림프종 및 장액성 난소암의 종양 세포에서 나타난 바 있다. 기관지 발암에서 Hsp10의 감소된 수준이 보고된 바 있다(David et al., 2013).
- [0224] 누드 생쥐의 옆구리에 난소 암종 이종이식을 수행하고 파클리탁셀로 치료한 결과 치료하지 않은 이종이식에 비해 IDI1 발현의 감소가 나타났다(Bani et al., 2004).
- [0225] IGFBL1은 인슐린-성장 인자의 조절인자이며 유방암 세포주에서 이상 과메틸화에 의해 하향조절된다. IGFBL1에서 메틸화는 더 나쁜 전체 생존 및 무질병 생존과 분명히 연관이 있었다(Smith et al., 2007).

- [0226] 안드로겐의 민감한 마이크로솜 연관된 단백질인 IKBKAP는 LNCaP 전립선 선암종 세포에서 전립선 상피 및 뉴런까지의 발현을 변조하고, 안드로겐 수용체-의존 기전을 통해 증식을 약화시키고, 또한 안드로겐 수용체-매개 전사를 공동조절했다(Martinez et al., 2011).
- [0227] INTS8은 위 암종을 주위의 비암성 조직으로부터 분별하는 마커 패널의 일부이다(Cheng et al., 2013).
- [0228] IRS2-유래 펩티드인 pIRS-21097-1105는 HLA-A2(+) 흑색종 및 유방, 난소 및 결장직장 암종에서 제시되었다(Zarling et al., 2014). IRS-2 1057 DD 유전자형 및 D 대립형질은 HCC 위험과 유의하게 연관되었다(Rashad et al., 2014).
- [0229] ITGA7은 라미닌-1 수용체 이량체 인테그린 알파-7/베타-1의 알파 사슬이다. ITGA7은 음성 종양의 성장을 억제하는데 중대한 종양-억제 유전자이다. 돌연변이 분석에 의하면 전립선암, 간세포 암종, 연조직 평활근모세포종 및 다형성 교아종에서 *ITGA7* 돌연변이를 드러냈다. ITGA7은 비전이성 전립선암 및 평활근모세포종에서 하향조절되었다(Tan et al., 2013).
- [0230] ITIH4는 결장, 위, 난소, 폐, 신장, 직장 및 전립선 등 일부 종양 조직에서 하향조절되었다(Hamm et al., 2008). HBV-연관 HCC 환자에서 ITIH4의 낮은 혈청 수준은 보다 짧은 생존율과 연관된다(Noh et al., 2014). 유방암에서는 유의하게 증가된 ITIH4 혈청 농도가 관찰되었으며, 수술 후 ITIH4의 혈청 수준은 유의하게 감소했다(van, I et al., 2010).
- [0231] 미스센스 돌연변이가 SHKBP1에서 파악되었으며, 이것은 AML 사례의 약 30% 비율로 돌연변이되는 수용체 티로신 키나아제인 FLT3의 하류에서 작용한다(Greif et al., 2011). SHKBP1은 질병의 여러 병기에서 잘 분화된 소장 신경내분비 암종(WD-SI-NET)의 분류를 위한 몇 가지 잠재적인 단백질 바이오마커 후보의 하나이다(Darmanis et al., 2013).
- [0232] KLB 발현은 상응하는 비종양 조직에 비해 HCC 조직에서 상승한다(Poh et al., 2012).
- [0233] LBP 다형태 rs2232596은 중국 한족에서 결장직장 암종의 유의하게 증가된 위험과 연관된다(Chen et al., 2011b). LBP는 난소 암종에서 후보 혈청 바이오마커이다(Boylan et al., 2010). LBP는 소세포 폐 암종 환자에서 화학요법에 의한 치료 후 유의하게 절감되었다(Staal-van den Brekel AJ et al., 1997).
- [0234] LBR mRNA 발현은 유방암에서 종양 등급 및 노딩업 예후 지수와 직접 연관이 있었다(Wazir et al., 2013). LBR은 유두상 갑상선 암종 세포에서 심하게 발현되지만, 단백질의 비정상적 주름은 면역조직화학적 반응성의 결여를 설명할 수 있으며 핵막의 이상 주름과 연관이 있을 수 있다(Recupero et al., 2010).
- [0235] LEPR 조절 장애는 결장암, 간세포 암종, 자궁내막암, 갑상선암종, 유방암 및 폐암 등 다양한 음성 세포에서 보고된 바 있다(Ntikoudi et al., 2014; Surmacz, 2013; Uddin et al., 2011).
- [0236] LIG1 단일-뉴클레오티드 다형태는 폐암, 자궁내막암 및 신경교질의 위험과 연관이 있다(Doherty et al., 2011; Lee et al., 2008; Liu et al., 2009b).
- [0237] 위암 조직에서 LRPPRC 발현은 상응하는 대조 조직에서의 것보다 유의하게 더 높다(Li et al., 2014b). LRPPRC 수준은 전립선 선암종(PCA) 환자의 예후 마커로서 역할을 하며, LRPPRC 수준이 높은 환자는 LRPPRC 수준이 낮은 환자보다 수술 후 생존 기간이 더 짧다(Jiang et al., 2014). LRPPRC는 폐 선암종, 식도 편평 세포 암종, 위, 결장, 유방 및 자궁내막 선암종 및 림프종과 같은 다양한 유형의 종양에서 풍부하게 발현된다(Tian et al., 2012).
- [0238] MANEA 발현은 전립선암 세포에서 안드로겐에 의해 조절된다(Romanuik et al., 2009).
- [0239] OPLAH는 폐, 유방, 신장, 결장 및 난소의 정상 및 종양 조직에서 발현되고, OPLAH 수준은 개별 환자의 종양보다 정상 샘플에서 훨씬 더 높다(Srivenugopal and Ali-Osman, 1997).
- [0240] ORM2 당단백질 형태는 1차 및 2차 간암 사이의 차별화에 대한 소중한 정보를 제공한다(Mackiewicz and Mackiewicz, 1995). 결장직장 암종을 앓는 환자의 혈장 ORM2 수준은 대조군과 비교하여 유의하게 상승된 것으로 확인되었다(Zhang et al., 2012). 폐암 선암종에서 포코실화 당단백질 형태 ORM2 수준은 대조군과 비교하여 훨씬 더 높았다(Ahn et al., 2014). ORM2는 담관암종의 조기 진단을 위한 추정 바이오마커이다(Rucksaken et al., 2012).
- [0241] 인간 간 세포에서 테트라하이드로바이오프테린 수준의 증가는 PAH 활성 및 PAH 단백질의 강화를 초래한다

(McGuire, 1991).

- [0242] PARP14는 골수종 형질세포에서 주로 발현되며 질병 진행 및 불량한 생존율과 연관이 있다. PARP14는 JNK2 의존 생존에 중대하게 연루된다. PARP14는 JNK1에 대한 결합 및 억제에 의해 골수종 세포의 생존을 촉진하는 것으로 나타났다(Barbarulo et al., 2013).
- [0243] 간 종양 및 폐암에서 PC 수준은 상승한다(Chang and Morris, 1973; Fan et al., 2009).
- [0244] AML, CML, 외투 세포 림프종, 유방암 및 전립선암을 포함하는 다양한 활성 혈액 종양 및 고형 종양에서 PCNT 수준과 중심체 이상이 묘사된 바 있다(Delaval and Doxsey, 2010).
- [0245] PIGN은 암 염색체 불안정(CIN)-억제 유전자이며 CIN(+) 결장직장암에서 빈번한 카피수 손실에 해당된다(Burrell et al., 2013).
- [0246] PIPOX 발현은 유방암의 아형에 따라 변동되었으며, HER-2 유형 종양은 상승된 발현을 보이며 삼중 음성 유방암 아형은 감소된 발현을 보였다. 종양 PIPOX는 더 짧은 무질병 생존의 연관이 있었다(Yoon et al., 2014). PIPOX는 전립선 종양에서 절감되었으며 사르코신의 대사에 의하여 전립선 세포의 발암 관계성을 감소시켰다(Khan et al., 2013).
- [0247] 결장암, 골수종 및 간세포 암종 등에서 PSMD4 수준의 증가가 검출되었다(Arlt et al., 2009; Midorikawa et al., 2002; Shaughnessy, Jr. et al., 2011).
- [0248] 투명 세포 및 유두상 간 신장 세포 암종의 환자에서는 PLIN2가 대조군과 비교하여 유의하게 증가한다. PLIN2의 수술전 요 농도는 종양 크기와 병기를 반영한다(Morrissey et al., 2014). 폐 선암종 샘플의 PLIN2 발현은 정상 조직 및 폐 편평 세포 암종보다 유의하게 더 높다(Zhang et al., 2014b).
- [0249] PLK4는 인간 암에서 재배열이나 손실을 빈번히 겪으며, 간세포 암종은 물론 결장직장암, 두부 및 경부암에서 특히 이의 비율이 높다(Swallow et al., 2005). PLK4는 유방암에서 과발현된다(Marina and Saavedra, 2014).
- [0250] QARS는 아미노아실-tRNA 합성효소(ARS)의 구성원이며 tRNA를 글루타민으로 충전한다. ARS 발현 및 다형체는 유방암 및 교모세포종과 연관이 있다(He et al., 2014b; Kim et al., 2012).
- [0251] 메틸화 PMF1 유전자는 방광암 환자를 위한 진단 및 예후 바이오마커이다(Kandimalla et al., 2013).
- [0252] 갑상선, 전립선, 췌장, 고환, 자궁내막/자궁, 간 및 신장암, 림프종 조직, 방광 종양, ALL 및 CML을 포함하는 일부 인간 종양과 혈액 악성암은 PON2를 상향조절했으며, 그러한 과발현은 여러가지 다른 화학치료들(이마티닙, 독소루비신, 스타우로스포린 또는 악티노마이신)에 대한 내성을 제공했다(Witte et al., 2011).
- [0253] PRKAR2A는 단백질 키나아제 A의 조절 소단위이다. PRKAR2A는 탁솔과 탁소테레로 치료한 전립선암 세포주의 생존을 현저히 증가시켰다(Zynda et al., 2014). PRKAR2A는 폐 선암종에서 과발현된다(Bidkhor et al., 2013).
- [0254] PRPF6은 성장 조직과 연관 있는 유전자들의 우선적 스플라이싱에 의해 결장암 증식을 주도하는 트라이-snRNP(소핵산 단백질) 스플라이시오솜 복합체의 구성원이다(Adler et al., 2014). PRPF6은 폐 선암종에서 과발현되었다(Bidkhor et al., 2013).
- [0255] PSMC4는 전립선 암종 세포에서 상응하는 주위의 정상 전립선 조직에 비해 유의미하고 일관성 있게 상향조절된다(Hellwinkel et al., 2011).
- [0256] QPRT 발현은 신경교종에서 악성과 함께 증가하며, 방사능 화학요법 후 재발하는 교모세포종에서는 QPRT 발현의 불량한 예후와 연관이 있다(Sahm et al., 2013). QPRT는 소포성 갑상선 분자의 번역조직화학적 스크리닝에서 가능한 마커이다(Hinsch et al., 2009).
- [0257] RABGGTB는 화학요법에 불응성인 미만성 거대 B 세포 림프종에서 과발현되었다(Linderoth et al., 2008).
- [0258] RAD21은 위장 종양, 결장직장 암종, 진행 자궁내막암, 전립선암 및 유방암에서 과발현된다(Atienza et al., 2005; Deb et al., 2014; Porkka et al., 2004; Supernat et al., 2012; Xu et al., 2014).
- [0259] RAD23B는 유방암 진행에서 잠재적 역할을 갖는다(Linge et al., 2014). 단일 뉴클레오타이드 다형체인 RAD23B rs1805329는 HCV가 있는 일본인 환자에서 HCC의 발생 및 재발과 유의하게 연관이 있었다(Tomoda et al., 2012).
- [0260] RASAL2는 에스트로젠 수용체-양성 유방암, 난소암 및 폐암에서 종양 억제인자 기능이 있는 RAS-GTPase-활성화

단백질이다(Li and Li, 2014; Huang et al., 2014). 이와 반대로, RASAL2는 삼중-음성 유방암에서 발암유전자이며 중간염 침수 및 전이를 주도한다(Feng et al., 2014a).

- [0261] RNMT의 소진은 간암 등 여러 유형의 암에서 암 세포 성장과 세포의 침습 능력을 효과적이고 특이적으로 억제한다(Stefanska et al., 2014).
- [0262] 키나아제 활성의 상승을 초래하는 ROCK1의 과발현 또는 ROCK1 유전자의 변이는 폐암, 위 암종, CML 및 AML 등 몇몇 암에 대해 보고된 바 있다(Rath and Olson, 2012).
- [0263] RPL10A는 c-Myc 표적 유전자이며 간세포 변형에 기여할 수 있다(Hunecke et al., 2012).
- [0264] Inv(3) 및 t(3;3) 중단점은 골수성 백혈병 또는 골수형성 이상에서의 특히 불량한 예후와 연관이 있으며, 동원체에 위치하고 RPN1 유전자의 하류인 영역에 군집한다(Wieser, 2002).
- [0265] RRBP1은 폐암과 유방암에서 과발현된다(Telikicherla et al., 2012; Tsai et al., 2013).
- [0266] SCFD1 발현은 위 암종과 연계된 미란 위염에서 증가된다(Galamb et al., 2008).
- [0267] ABCB1은 내장, 간, 신장, 뇌 및 태반과 같은 다양한 기관의 정상 세포에서 발현되는 P-당단백질(P-gp)이다. P-gp 과발현 및 유전적 다형성은 결장직장 암종, 부신으로부터 유래한 종양, 폐암 및 ALL에서 검출된 바 있다(Zhang et al., 2013a; Fojo et al., 1987; Gervasini et al., 2006; Jamroziak et al., 2004).
- [0268] ABCB10은 B 아족(MDR/TAP)의 ABC 수송체를 암호화한다. ABCB10은 KCP-4 인간 표피양 암종 세포의 시스플라틴 내성에 연루되는 것으로 나타났다(Oiso et al., 2014).
- [0269] ABCB11의 발현은 약물 내성이 가장 강한 암에 속하는 췌장관 선암종에서 상향조절되는 것으로 나타났다. 따라서, 이것은 이 암의 일반적으로 불량한 치료 반응에 기여할 수 있다(Mohelnikova-Duchonova et al., 2013).
- [0270] 원발성 나팔관 암종에서 ABCC2의 상향조절된 발현은 불량한 예후와 연관이 있다(Halon et al., 2013).
- [0271] ABCC6은 완화 화학요법에 대한 무반응자의 결장직장암에서 하향조절되었다(Hlavata et al., 2012). 이와 반대로 췌시타빈 내성의 인간 NSCLC A549이 세포에서 상향조절되었다(Ikeda et al., 2011).
- [0272] ACACA의 발현은 유방, 전립선 및 간 암종과 같은 다수의 인간 암에서 상향조절되는 것으로 나타났으며 암 세포의 강화된 지방형성과 상관관계가 있었다. 다양한 ACACA 억제제들은 세포 증식의 억제 및 세포자멸사를 통한 세포사의 유도에 의해 암 세포의 치료에서 치료 효과를 나타냈다(Zu et al., 2013).
- [0273] ACLY는 유방, 간, 결장, 폐 및 전립선암과 같은 다양한 종양에서 이상하게 발현되며 종양 병기 및 분화와 역으로 상관관계가 있다(Zu et al., 2012).
- [0274] ACSL3은 폐암에서 과발현되며 전임상 조사에 근거하면 폐암에서 유망한 신규 치료 표적이다(Pei et al., 2013). ACSL3의 상향조절된 발현은 에스트로겐 수용체-특이적 유방암 위험의 잠재적 바이오마커로서 역할을 할 수 있다(Wang et al., 2013c).
- [0275] ACSL4는 에스트로겐 수용체-음성 유방 종양 및 안드로겐 수용체-음성 유방 및 전립선 암에서 과발현된다. 스테로이드 호르몬 민감도의 손실은 ACSL4 발현의 유도와 연관이 있었다(Monaco et al., 2010). ACSL4의 발생 상향조절은 선종에서 선암종으로의 변형 동안에 발생하는 것으로 나타났다(Cao et al., 2001).
- [0276] ACSS3의 메틸화는 고전적 위험 요인들 즉, 연령, 병기 또는 신경모세포종에서 MYCN 상태 중 적어도 하나와 연관 있는 것으로 나타났다(Decock et al., 2012).
- [0277] ADSSL1의 결손은 발암물질 유도된 생쥐 원발성 폐 선암종, 생쥐 및 인간 폐 선암종 세포주에서 흔히 관찰되었으며, 원발성 생쥐 폐 종양에서보다 방대한 염색체 불안정성 표현형과 연관이 있었다(Miller et al., 2009).
- [0278] AGFG2는 전이성 재발 없이 유지될 확률이 있는 호르몬 수용체-음성 또는 삼중-음성 유방암의 사례를 파악하는데 있어서 14개의 예후 유전자 후보 가운데 하나로서 파악되었다(Yau et al., 2010).
- [0279] AGT는 매우 강력한 항-혈관신생 인자이며, 이는 시험관 내 및 생체 내에서 항종양 효과를 가하는 것으로 나타났다(Bouquet et al., 2006). 유전자이식 생쥐에서, 인간 AGT의 과발현은 혈관생성을 감소시켜 간암종의 종양 진행을 지연시키는 것으로 나타났다(Vincent et al., 2009).

- [0280] AKR1C4는 인간 알도-케토 환원효소족 1 구성원 C4를 암호화하며 레티날데하이드로부터 레티놀로의 환원을 촉매한다(Ruiz et al., 2011). 따라서, 레티날데하이드의 소진은 레티노산의 생물합성을 하향조절하며 레티노이드 신호전달의 차단이 뒤따르는데, 이는 종양 진행을 선호한다(Tang and Gudas, 2011; Ruiz et al., 2012)
- [0281] ALDH1L1의 발현은 HCC 및 신경아교종에서 하향조절로 나타났다. 이러한 암에서 ALDH1L1의 하향조절은 더 불량한 예후 및 더 공격적인 표현형과 연관이 있었다(Rodriguez et al., 2008; Chen et al., 2012b)
- [0282] ALG3의 발현은 식도 편평 세포 암종과 자궁경부암에서 강화되는 것으로 나타났다(Shi et al., 2014; Choi et al., 2007). 식도 편평 세포 암종에서 ALG3의 증가된 발현은 림프절 전이와 상관 관계가 있었다(Shi et al., 2014).
- [0283] ANKS1A는 일부 결장직장암의 발생에 연루되는 것으로 알려진 Src 족 키나아제의 신규 표적으로 동정되었다(Emaduddin et al., 2008).
- [0284] APOA1은 혈장 내 고밀도 지질 단백질(HDL)의 주요 단백질 구성요소인 아포지질 단백질 A-I을 암호화한다. 복수 동물 종양 모델에서는, APOA1은 종양 발생에서 강력한 면역조절 역할을 보였으며 선천 및 적응 면역 과정을 지지함으로써 종양 성장 및 전이를 억제하는 것으로 나타났다(Zamanian-Daryoush et al., 2013).
- [0285] APOA2는 췌장암 환자에서 유의하게 감소하는 것으로 나타났다(Honda et al., 2012). 이와 반대로 APOA2의 증가된 발현은 HCC와 연관이 있었다(Liu et al., 2007).
- [0286] 알파-태아단백질-음성 HBV-관련 HCC에서, APOB는 HCC 진행과 연관이 있을 수 있는 14개의 차등적으로 발현되는 단백질 중 하나로 나타남이 있다(He et al., 2014a). 진행 유방암에서 APOB는 환자의 신보강 화학요법에 대한 반응성 및 무재발 생존을 예측할 수 있는 차등적으로 발현된 6가지 단백질 중 하나로 나타났다(Hyung et al., 2011).
- [0287] III기 결장직장암 환자에 의해 및 인간 흑색종 세포에서, AQP9는 화학내성의 증가와 연관이 있었다(Dou et al., 2013; Gao et al., 2012).
- [0288] ARG1은 HCC를 다른 간의 전이성 종양으로부터 구별하는데 있어서 민감하고 특이적인 마커로 나타났다(Sang et al., 2013). ARG1은 NSCLC에서 국소 면역 억제에 기여할 수 있다(Rotondo et al., 2009).
- [0289] 따라서, 인산화되고 보다 활성적인 형태의 ARSB 단백질은 건강한 공여자와 비교하여 만성 골수성 백혈병 환자의 말초 백혈구에서 증가하는 것으로 나타났다(Uehara et al., 1983).
- [0290] 난소암 세포에서, ASNA1의 하향 조절은 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴 및 아세나이트 등의 화학요법 약물에 대한 민감도를 증가시키는 것으로 나타났다(Hemmingsson et al., 2009).
- [0291] ASPH는 다양한 암 및 암 세포주에서 과발현되는 것으로 나타났다(Yang et al., 2010). ASPH 적재된 수지 세포로 면역은 시험관 내에서 담관암종 세포에 대해 세포 독성을 생성했으며 간내 종양 성장과 전이를 유의하게 억제했다(Noda et al., 2012).
- [0292] ATP1A2는 교모세포종에서 유의하게 상향조절된 31가지 단백질에서 발견되었다(Com et al., 2012). 이와 반대로, ATP1A2는 골수 침윤 전이성 신경모세포종에서 하향조절된 것으로 나타났다(Morandi et al., 2012).
- [0293] ATP1A3은 교모세포종에서 유의하게 상향조절된 31가지 단백질에서 발견되었다(Com et al., 2012).
- [0294] ATP6V1C1은 리소좀 V-ATPase 활성의 조절을 통해 유방암 성장 및 뼈 전이를 촉진시킬 수 있다. ATP6V1C1 녹다운(knockdown)은 생쥐 4T1 유선 종양 세포의 이중이식 종양 성장, 전이 및 골용해성 병변을 유의하게 생체 내에서 억제시켰다(Feng et al., 2013). ATP6V1C1은 구강 편평 세포 암종에서 과발현되는 것으로 나타났으며 종양 세포 이동성과 연관되었다(Otero-Rey et al., 2008).
- [0295] ATP7B는 널리 사용되는 항암제인 시스플라틴에 대한 암 내성과 연관된다(Dmitriev, 2011).
- [0296] AXIN2는 Axin(촉 억제) 관련된 단백질 2를 암호화하며, 이는 Wnt 신호전달 경로에서 베타-카테인의 안전성 조절에 있어서 중요한 역할을 수행하는 것으로 추측된다(Salahshor and Woodgett, 2005). 더욱이 AXIN2는 발암유전자 c-MYC의 발현을 억제하는 것으로 나타났다(Rennoll et al., 2014).
- [0297] HCC에서 BAAT의 낮은 발현은 BAAT의 발현이 더 높은 환자에 비해 더 불량한 생존과 연관이 있었다(Furutani et al., 1996).

- [0298] HepG2 세포 및 HCC 샘플에서 BHMT 및 BHMT2의 전사물은 정상 간 조직에 비해 강력하게 감소하는 것으로 나타났다(Pellanda et al., 2012).
- [0299] C12orf44는 자가포식에 필수적이며 Atg13-의존 방식으로 ULK1과 상호작용하는 것으로 나타났다(Mercer et al., 2009). 자가포식은 암에서 이중 역할을 하며, 손상된 단백질과 소기관의 축적을 방지하는 종양 억제인자로서 및 확립된 종양의 성장을 촉진할 수 있는 세포 생존의 기전으로서 작용한다(Yang et al., 2011b).
- [0300] C17orf70은 판코니 빈혈 핵심 복합체의 구성요소이며 복합체 안전성에 필수적이다. 판코니 빈혈 핵심 복합체는 DNA 손상 반응망에서 중심 역할을 수행한다. 판코니 빈혈 핵심 복합체 매개된 DNA 손상 반응에는 유방암 감수성 유전자 생성물인 BRCA1 및 BRCA2가 연루된다(Ling et al., 2007).
- [0301] C19orf80은 간세포 암종 연관 유전자 TD26을 암종화하며, HCC에서 가장 높은 메틸화 수준을 갖는 5개 자리의 하나이며 대조 조직에서는 가장 낮은 것으로 나타났다(Ammerpohl et al., 2012).
- [0302] CCT7은 단백질 하위망의 일부로서 나타났으며, 이는 인간 결장직장암 후기를 유의하게 구별한다(Nibbe et al., 2009).
- [0303] CDK6은 종양 억제인자 단백질인 Rb의 활성을 조절하는 것으로 나타난 바 있다. CDK6은 증식을 강화하고 혈관형성을 자극함으로써 자체의 종양 촉진 기능을 실행할 수 있다(Kollmann et al., 2013). CDK6의 약리학적 억제는 비정상적 백혈병 세포의 성장 분화를 억제하는 것으로 나타났다(Placke et al., 2014).
- [0304] CFH는 피부 편평 세포 암종의 진행에서 역할을 수행할 수 있다(Riihila et al., 2014). CFH는 다양한 암 세포에서 보체-매개 용해의 내성에서 중요한 역할을 수행할 수 있으며, 이는 NSCLC에서 과발현되는 것으로 나타났으며 더 불량한 예후와 연관이 있었다(Cui et al., 2011).
- [0305] CLPTM1의 비활성화 돌연변이가 전립선암 세포에서 발견되었다(Rossi et al., 2005).
- [0306] CMAS는 시티딘 일인산 N-아세틸뉴라민산 합성효소를 암호화하며, 이는 사이알산의 활성화와 시티딘 일인산 디에스테르로의 전환을 촉매한다. 활성화된 사이알산은 세포 분화 동안 보편적인 번역 후 변형에 해당되는 N-글리코실화에 사용된다. 암 세포 표면에서의 사이알산의 발현 증가는 잘 알려진 종양 특성의 하나이다(Bull et al., 2014).
- [0307] TF(트랜스페린)는 가장 널리 사용되는 종양 표적 리간드의 하나인데, 이는 TF 수용체(TFR)가 악성 세포 상에서 과발현되며 TF와의 상호작용을 통해 세포의 철분 섭취에서 중요 역할을 하기 때문이다(Biswas et al., 2013). TFR의 발현 수준은 종양 병기 또는 암 진행과 상관관계가 있는 것으로 시사된 바 있다(Tortorella and Karagiannis, 2014).
- [0308] TH1L은 인간 유방암에서 증식 및 침입의 조절에서 중요한 역할을 할 수 있으며 인간 유방암 치료를 위한 잠재적 표적이 될 수 있다(Zou et al., 2010).
- [0309] THTPA 가수분해는 NdrG-1의 항증식성 효과에 대한 책임이 있을 수 있다. NdrG-1은 유방, 결장, 전립선 및 췌장암의 침입과 전이를 감소시키는 것으로 나타난 바 있다(Kovacevic et al., 2008).
- [0310] SMYD3은 금속단백분해효소인 MMP-9의 후성적 상향조절에 의해 암 침입을 촉진시킨다(Medjkane et al., 2012). SMYD3의 발현은 여러 유형의 정상적 인간 조직에서 검출 불가능하거나 매우 약한 반면, SMYD3의 과발현은 위, 결장직장, 간세포, 전립선 및 유방암의 발생과 진행과 연계된 바 있다(Hamamoto et al., 2006; Liu et al., 2014; Liu et al., 2013a).
- [0311] STAT2와 종양 발생 사이의 연계는 STAT2가 결여되거나(Yue et al., 2015) 또는 뇌에서 IFN- α 를 본질적으로 발현하는(Wang et al., 2003) 유전자 이전 생쥐에서 관찰되었다.
- [0312] TACC3은 난소암, 유방암, 편평 세포 암종 및 림프종 등 다수의 인간 암에서 과발현되었다(Ma et al., 2003; Jacquemier et al., 2005; Lauffart et al., 2005).
- [0313] SPBP는 에스트로겐 수용체 α (ER α)의 전사 활성을 억제하는 것으로 나타났다. SPBP의 과발현은 ER α 의존 유방암 세포주의 증식을 억제했다(Gburcik et al., 2005). 세포 핵에서 SPBP는 상대적으로 낮은 이동성을 발휘하며 크로마틴이 치밀한 영역에서 강화되는데 이는 크로마틴 결합 단백질을 나타낸다(Darvekar et al., 2012). TCF20은 산화 스트레스에 대한 세포 방어 프로그램에 연루된 단백질들의 강화된 유도에 있어서 중요하다(Darvekar et al., 2014).

- [0314] C3은 염증성 종양 미세환경의 뚜렷한 요소(Rutkowski et al., 2010)이고 활성화는 종양 성장 이점을 제공할 수 있다(Markiewski et al., 2008). C3의 효소 분할은 염증성 매개 인자인 아나필락시스 독소인 C3a, 화학유인물질 및 C3b의 생산을 초래한다(Sahu et al., 1998).
- [0315] CLN3은 NT2 뉴런 전구체 세포 및 몇몇 유형의 암에서 항세포사멸 유전자이다(Zhu et al., 2014b). 이는 뉴런 및 비뉴런 세포에서 세포 내 유입 및 조절에 관여되며(Rakheja et al., 2008; Getty and Pearce, 2011) 또한 몇몇 중요한 신호전달 경로에 연루된다(Persaud-Sawin et al., 2002). CLN3 mRNA 및 단백질은 유방, 결장, 음성 흑색종, 전립선, 난소, 신경모세포종 및 다형성 교모세포종 등 다수의 암 세포주에서는 과발현되지만 폐나 췌장 암 세포주에서는 과발현되지 않는다(Rylova et al., 2002).
- [0316] SLC13A5는 7개 CIMP-마커 유전자 중 하나이다. 투명 세포 신장 세포 암종(ccRCC)의 CIMP(CpG 섬 메틸화 표현형)는 CpG 섬에서의 DNA 메틸화 축적 및 보다 불량한 환자의 결과로써 특성 규명된다(Tian et al., 2014; Arai et al., 2012).
- [0317] SLC35B2는 급성 염증 시 사이알산 술폰-Lex 글리칸 생합성의 유도 동안 조화된 전사 조절에 관여하며(Huopaniemi et al., 2004) 또한 인간 결장직장 암종 세포주에서 6-술포락토스아민 에피토프의 황산화에 관여한다(Kamiyama et al., 2006). 결장직장 암종 세포는 물론 인간 결장직장 조직 모두 SLC35B2를 발현한다(Kamiyama et al., 2011).
- [0318] PLOD1 발현은 인간 유방암 진행에 연관된다(Gilkes et al., 2013).
- [0319] PRDX5는 다수의 음성 종양에서 상향조절되며(Urig and Becker, 2006) PRDX5의 억제제는 종양 개시 및 진행을 방지할 수 있으며 이는 PRDX5가 암 요법을 위한 유망한 표적임을 시사한다. 이의 고도의 친핵성 및 접근가능한 셀레노시스테인의 활성 부위가 약물 설계의 기준 표적일 수 있다(Liu et al., 2012).
- [0320] 말초 폐에서 PSMD8의 증가된 발현은 어떤 중대한 세포 모집단이 침습성 암의 발생에 연관되는 지에 대해 유용한 정보가 될 수 있다(Zhou et al., 1996).
- [0321] SNRPD1은 핵심 스플라이시오솜 단백질이며, 이는 악성 종양에서 상향조절된다.
- [0322] SPTBN1의 감소된 발현은 췌장암에서 악화되는 예후와 연관이 있다(Jiang et al., 2010).
- [0323] SQSTM1은 NF- κ B 신호전달, 세포자멸사 및 Nrf2 활성화와 같은 다양한 신호 전달을 위한 신호 전달 허브로서 기능하며, 이의 조절곤란은 뼈 및 종양 형성의 파제트병과 연관이 있다(Komatsu et al., 2012).
- [0324] PCNA 발현은 항문직장 음성 흑색종에서 생존을 예측한다(Ben-Izhak et al., 2002). PCNA의 암 연관 아이소형(caPCNA)은 PCNA 내부의 다수의 글루탐산 및 아스파르트산 잔기에 특이한 메틸 에스테르기의 패턴을 함유한 것으로 파악되었다(Hoelz et al., 2006).
- [0325] 몇몇 종양 세포주에서 SRP54의 고갈은 SRP 구성요소의 안정한 감소를 위해 선택된 세포에서도 성장정지나 사망과 같은 공공연한 세포 표현형을 생산하지 않았다(Ren et al., 2004).
- [0326] 분자 수준에서는 STAT1은 사이클린-의존 키나아제 억제 인자인 p21Cip1을 증가시키거나 c-myc 발현을 감소시키는 이의 능력으로써 IFN- γ 로 치료한 생쥐와 인간에서 종양 세포의 증식을 억제시킨다(Ramana et al., 2000). STAT1의 항종양 활성은 생쥐 모델에서 혈관 형성 및 종양 전이를 억제하는 이의 능력에 의해 더욱 지지한다(Huang et al., 2002). STAT1 mRNA 양 증가는 호르몬 수용체 음성 및 삼중복 음성 유방암 환자의 전이 예측력과 상관된 분자지표로 시사되었다. (Yau et al., 2010).
- [0327] 난포 신생물의 세침 흡인 샘플은 악성 결절이 양성 질병에 비해 STT3A를 과발현한다는 것을 잘 보여주었다(Patel et al., 2011).
- [0328] 메타 분석은 STXBP4/COX11 rs6504950 다형태가 유방암 위험과 유의하게 상관관계가 있음을 보여주었다(Tang et al., 2012).
- [0329] 여기서 지정한 바와 같은 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성되는 펩티드는, 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력이 비변형 펩티드에 비하여 실질적으로 변경되거나 부정적으로 영향받음 없이 하나 또는 2개의 비앵커 아미노산(앵커 모티프에 대해서는 아래 참조)이 교환되도록 할 수 있다. 또 다른 구현에서는, 여기서 지정한 아미노산 서열로써 본질적으로 구성되는 펩티드에 있어서, 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력이 비변형 펩티드에 비하여 상당히 변경되거나 부정적으

로 영향받음 없이 하나 또는 2개의 아미노산이 그에 대한 보존적 교환 파트너(다음을 참조)와 교환될 수 있다.

- [0330] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 다음에 설명된 바와 같이 변형되고/거나 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0331] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 융합 단백질의 일부이며 특히 HLA-DR 항원-연관된 불변쇄(Ii)의 N-말단 아미노산에 융합되거나 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체와 같은 항체에(또는 이의 서열 안으로) 융합 즉, 수지상 세포에 결합된다.
- [0332] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드를 암호화하는 핵산에 관한 것이다. 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0333] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있는, 발현하고/거나 제시하는 벡터에 관한 것이다.
- [0334] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 의약에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0335] 본 발명은 또한 다음에 더욱 설명되는 바와 같은 항체들 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 바람직하게는 본 발명의 펩티드 및/또는 자신의 MHC와 결합 시 본 발명의 펩티드에 대해 특이적인 항체들이다. 바람직한 항체는 단클론성일 수 있다.
- [0336] 본 발명은 또한 T 세포 수용체(TCR), 특히 본 발명에 따른 펩티드를 포함하는 가용성 TCR(sTCR) 및/또는 이의 펩티드 - MHC 복합체, 및 이들의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0337] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드를 표적하는 항체 또는 기타 결합하는 분자 및/또는 이들의 펩티드 - MHC 복합체, 및 이들의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0338] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 포함하는 또는 전에 설명한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 본 발명은 또한 항원-제시 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이며 항원-제시 세포는 수지상 세포이다.
- [0339] 본 발명은 또한 압타머에 관한 것이다. 압타머란(예를 들어 WO 2014/191359 및 여기에 인용된 문헌을 참조) 정의된 삼차원적 구조로 접힐 수 있으며 특이한 표적 구조를 인지할 수 있는 짧은 단일 가닥 핵산 또는 펩티드 분자이다. 이것은 표적 요법의 개발에 필요한 적합한 대안인 것으로 보여진 바 있다. 압타머는 높은 친화성 및 특이성으로 다양한 복합체 표적에 선택적으로 결합하는 것으로 나타난 바 있다.
- [0340] 세포 표면에 위치한 분자를 인지하는 압타머가 지난 십 년 동안 동정된 바 있으며 진단 및 치료 접근 방식을 개발을 위한 수단을 제공한다. 압타머가 독성 및 면역원성을 거의 소유하지 않는 것으로 나타난 바가 있으므로, 이것은 생존의학적 용도를 위한 유력한 후보이다. 실제로 압타머, 예를 들어 전립선 특이적 막-항원을 인지하는 압타머는 표적 요법을 위해 성공적으로 사용되어 왔으며 또한 생체 내 모델에서 이중이식에 기능적인 것으로 나타난 바 있다. 더욱이 특이적 종양 세포주를 인지하는 압타머가 동정된 바 있다.
- [0341] DNA 압타머는 다양한 암 세포 및 특히 고형 종양으로부터 유래하는 것들을 위한 광범위 인지 성질을 드러내도록 선택가능한 반면, 비종양형성 및 원발성 건강한 세포는 인지되지 않는다. 동정된 압타머가 특이적 종양 아형을 인지할 뿐만 아니라 일련의 종양과 상호작용한다면, 이로 인해 압타머는 소위 광범위 진단 및 치료에 적용될 수 있다.
- [0342] 더욱이 유세포 분석을 사용한 세포 결합 거동의 조사에 의하면 압타머는 나노몰 범위에서 매우 양호하고 뚜렷한 친화성을 드러내는 것으로 나타났다.
- [0343] 압타머는 진단 및 치료 목적으로 유용하다. 더욱이 일부 압타머는 종양 세포에 의해 성취되며 따라서, 종양 세포 안으로의 siRNA와 같은 항암제의 표적 인도를 위한 분자 부형제로서 기능이 가능함을 보여줄 수 있다.
- [0344] 압타머는 세포와 조직과 같은 복합체 표적 및 바람직하게는 서열번호 1 내지 서열번호 300 사이의 어느 것에 따른 서열로 구성되며 본 발명에 따른 펩티드와 MHC 분자와의 복합체에 대하여, cell-SELEX(지수적 증식에 의한 리간드의 체계적 진화) 기법을 사용하여 선택가능하다.
- [0345] 여기서 사용된 "골격"이란 용어는 (예를 들어, 항원성) 결정인자에 특이적으로 결합하는 분자를 말한다. 한 구현에서, 골격은 그것이 부착되는 객체를 (예를 들어, (제 2) 항원 결합 모이어티) 표적 부위, 예를 들어 특이한 유형의 종양 세포 또는 항원성 결정인자를 갖는 종양 간질(예를 들어, 당장의 용도에 따른 펩티드의 복합체)로

항하도록 지시할 수 있다. 또 다른 구현에서 골격은 이의 표적 항원, 예를 들어 T 세포 수용체 복합체 항원을 통해 신호전달을 활성화할 수 있다. 골격은 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 이의 단편, 항체의 도메인에 결합하는 항원, 적어도 하나의 양키린 반복 모티프 및 단일 도메인 항원 결합(SDAB) 분자를 포함하는 결합 단백질, 압타머, (가용성) TCR 및 동종이형이나 자가조직 T 세포와 같은 (변형된) 세포를 포함하지만 이로써 제한되지는 않는다.

- [0346] 각 골격은 라벨이 제공하는 신호의 존재나 부재를 결정함으로써 결합된 골격이 검출가능하도록 제공하는 라벨링을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이 골격은 형광 염료나 임의의 다른 해당되는 세포 마커 분자를 사용하여 라벨링이 가능하다. 그러한 마커 분자는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 형광 라벨링은 (예를 들어 형광 염료에 의해 제공되는) 형광이나 레이저 스캐닝 현미경 또는 유세포 분석에 의해 결합된 압타머의 가시화를 제공할 수 있다.
- [0347] 각 골격은 두 번째 활성 분자와 접합될 수 있으며, 이의 예는 IL-21, 항-CD3, 항-CD28이다. 예를 들어, 폴리펩티드 골격은 WO 2014/071978A1의 발명의 배경 부분과 인용된 참조 문헌에 설명되어 있다.
- [0348] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따른 숙주 세포의 배양과 숙주 세포 및/또는 이의 배양 배지로부터 펩티드의 단리를 포함한다.
- [0349] 본 발명은 또한 시험관 내에서 T 세포를 항원-특이적 방식으로 상기 T 세포를 활성화시키기에 충분한 시간 동안 적합한 항원-제시 세포의 표면에 발현된 인간 클래스 I 또는 II MHC 분자가 로딩된 항원과 접촉시키는 것을 포함하는 활성화된 상기 T 세포의 시험관 내 제조 방법에 관한 것으로, 상기 항원은 본 발명에 따른 적어도 하나의 펩티드이다. 본 발명은 또한 방법에 관한 것으로, 충분한 수량의 항원을 항원-제시 세포와 접촉시킴으로써 상기 항원이 적절한 항원-제시 세포의 표면에 발현된 클래스 I 또는 II MHC 분자에 로딩된다.
- [0350] 본 발명은 더욱 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 상기 항원-제시 세포가 서열번호 1 내지 서열번호 300 또는 이의 변이체 아미노산 서열을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.
- [0351] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식하는 본 발명에 따른 방법에 의해 제조된 활성화된 T 세포에 관한 것이다.
- [0352] 본 발명은 또한 표적 세포가 본 발명에 따른 임의의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 환자에서 이의 표적 세포를 죽이는 방법에 관한 것으로, 이의 방법은 본 발명에 따른 효과적인 숫자의 T 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0353] 본 발명은 또한 설명한 임의의 펩티드, 본 발명에 따른 핵산, 본 발명에 따른 발현 벡터, 본 발명에 따른 세포, 또는 본 발명에 따른 활성화된 T 세포를 약제로서 또는 약제의 제조에서의 사용에 관한 것이다.
- [0354] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로, 상기 약제는 백신, 세포, 예를 들어 세포주와 같은 세포 모집단, sTCR 및 단클론성 항체이다.
- [0355] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제가 암에 대해 활성을 갖는다.
- [0356] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 암세포가 HCC의 세포이다.
- [0357] 본 발명은 또한 HCC의 진단 및/또는 예후에 사용할 수 있는 본 발명에 따른 펩티드에 근거한 특이적 마커 단백질 및 바이오마커에 관한 것이다.
- [0358] 더욱, 본 발명은 암 치료를 위해 이러한 신규 표적들의 사용에 관한 것이다.
- [0359] 더욱이 본 발명은 사전선별된 종양 연관 펩티드들의 데이터베이스(여기서는 "참고"로서도 지정됨)를 사용하여 개별 환자를 위한 개별화된 항암 백신의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0360] 면역 반응 자극은 자가 면역 구조가 항원의 존재를 이질적 것으로 인식하는 것에 의존한다. 종양 연관 항원의 존재의 발견은 숙주의 면역 반응이 종양 성장에 개입하는 가능성을 제시했다. 면역계의 체액성 및 세포성 가지를 이용하는 다양한 기전이 현재 암 면역 치료에서 탐색되고 있다.
- [0361] 세포 면역 반응의 특이적 요소들은 종양 세포를 특정하게 인식하고 파괴할 수 있다. T 세포의 종양 침투 세포 집단에서의 또는 말초 혈액에서의 분리는 이런 세포들이 암에 대해 자연 면역 방어로써의 중요한 역할을 할 수 있다는 것을 시사한다. 구조적적합 복합체(MHC)를 가진 보통 8 에서 10의 단백질 또는 시토줄에 자리잡은 결점 리보솜 제품(DRIPS)에서 파생된 아미노산 잔기의 펩티드의 클래스 I 분자를 인식하는 CD8-양성 T 세포는 특히,

이 반응에서 중요한 역할을 한다. 인간의 MHC 분자도 인간 백혈구-항원(HLA)로 지정된다.

- [0362] "펩티드"란 용어는 여기서 알파-아미노와 옆 아미노산의 카보닐 기 사이의 펩티드 결합으로 보통 서로 연결되는 일련의 아미노산 잔기를 지정하기 위해 사용한다. 펩티드는 9개 아미노산의 길이가 바람직하지만 8개 아미노산까지 짧을 수도 있고 10, 11, 12, 13 또는 14개 아미노산까지 길 수도 있으며, MHC 클래스 II 펩티드의 경우 (본 발명의 펩티드의 연관된 변이체) 이의 길이가 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산일 수 있다.
- [0363] 더욱이 "펩티드"라는 용어는 알파-아미노와 옆 아미노산의 카보닐 기 사이의 펩티드 결합으로 보통 서로 연결되는 아미노산 잔기의 서열에 의한 염을 포함한다. 바람직하게는 이 염은 예를 들어 염화물 또는 아세트산염(삼분화 아세트산염)과 같은 약학적으로 허용가능한 펩티드의 염이다. 본 발명에 따른 펩티드의 염은 펩티드가 생체 내에서 염이 아니므로 생체 내 상태(들)의 펩티드와는 실질적으로 다르다는 점을 유의해야 한다.
- [0364] "펩티드"라는 용어는 "올리고펩티드"도 포함한다. 여기에서 "올리고펩티드"라는 용어는 인접 아미노산의 알파-아미노 및 카보닐 기 사이에서 일반적으로 펩티드 결합으로 연결되는, 아미노산 잔기를 지정하는 데 사용된다. 본 발명에서 올리고펩티드의 길이는 정확한 에피토프가 유지되는 이상 중요하지 않다. 올리고펩티드는 일반적으로 30개 아미노산보다 길이가 짧고, 15개 아미노산보다 길다.
- [0365] "본 발명의 펩티드"란 용어는 위에서 정의된 바와 같이 염기 서열 번호 1 내지 염기 서열 번호 300에 따른 펩티드로 구성되거나 이를 포함하는 펩티드들도 포함해야 한다.
- [0366] "폴리펩티드"라는 용어는 인접 아미노산의 알파-아미노 및 카보닐 기 사이에서 일반적으로 펩티드 결합으로 연결되는, 아미노산 잔기를 지정하는 데 사용된다. 본 발명에서 폴리펩티드의 길이는 정확한 에피토프가 유지되는 이상 중요하지 않다. 펩티드 또는 올리고 펩티드와 다르게, 폴리펩티드는 약 30개 아미노산 잔기 이상의 분자를 가지고 있는 것을 말한다.
- [0367] 이런 분자의 펩티드, 올리고펩티드, 단백질, 또는 폴리뉴클레오티드 암호화는 면역 반응을 유도할 수 있으면 "면역성"(따라서 본 발명에서의 "면역원")이다. 본 발명의 경우, 면역성은 T 세포 반응을 유도하는 능력으로 특정하게 정의된다. 그러므로, "면역원"은 면역 반응을 유도할 수 있는 분자이고, 본 발명의 경우, T 세포 반응을 유도할 수 있는 분자이다. 다른 양태에서, 면역원은 펩티드, 펩티드와 MHC의 복합체, 올리고펩티드 및/또는 특이적 항체나 항체에 대한 TCR을 높이는데 사용되는 단백질일 수 있다.
- [0368] 클래스 I T 세포 "에피토프"는 적당한 친화력을 가진 MHC/펩티드 혼합물에 결합하는 T 세포 수용체에 일치하는 T 세포에 의해 인식되는 삼원 혼합물(MHC 클래스 I 알파 쇄, 베타-2-미세글로블린 및 펩티드)을 생성하는 클래스 I 또는 II MHC 수용체에 결합하는 짧은 펩티드를 필요로 한다. MHC 클래스 I 분자에 결합하는 펩티드는 일반적으로 길이가 8 내지 14개 아미노산이며, 가장 일반적으로 길이가 9개 아미노산이다.
- [0369] 인간에는 MHC 클래스 I 분자를 암호화하는 세 개의 유전자 좌가 있다(인간의 MHC-분자는 또한 지정된 인간 백혈구 항원이다(HLA)): HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C. HLA-A*01, HLA-A*02, 및 HLA-A*07은 유전자 좌에서 발현할 수 있는 다른 MHC 클래스 I 대립형질의 예이다.
- [0370] [표 6]
- [0371] HLA-A*02 및 HLA-A*24, 및 가장 빈번한 HLA-DR 혈청형의 발현 빈도. 빈도는 하디-와인버그(Hardy-Weinberg) 공식 $F = 1 - (1 - Gf)^2$ 를 사용하여 모리(Mori) 등으로부터 채택된 미국 인구 내에서의 일배체형 빈도 Gf로부터 유추된다(Mori M, et al. 북미 인구에서 HLA 유전자 및 일배체형 빈도(HLA gene and haplotype frequencies in the North American population): the National Marrow Donor Program Donor Registry. Transplantation. 1997 Oct 15;64(7):1017-27). A*02 또는 A*24와 일부 HLA-DR 대립형질의 조합은 강화되거나 연관 불편형으로 인한 단일 빈도보다 덜 빈번할 수 있다. 자세한 내용은 문헌을 참조한다(S.J. Chanock, et al (2004) HLA-A, -B, -Cw, -DQA1 및 DRB1 베데스다의 미국 흑인 인구 기준(HLA-A, -B, -Cw, -DQA1 and DRB1 in an African American population from Bethesda), USA Human Immunology, 65: 1223-1235).

대립 형질	모집단	대립형질 빈도로부터 계산된 표현형
A*02	백인계 (북미)	49.1%
A*02	미국 흑인 (북미)	34.1%
A*02	아시아계 미국인 (북미)	43.2%
A*02	중남미계 (북미)	48.3%
DR1	백인계 (북미)	19.4%
DR2	백인계 (북미)	28.2%
DR3	백인계 (북미)	20.6%
DR4	백인계 (북미)	30.7%
DR5	백인계 (북미)	23.3%
DR6	백인계 (북미)	26.7%
DR7	백인계 (북미)	24.8%
DR8	백인계 (북미)	5.7%
DR9	백인계 (북미)	2.1%
DR1	미국 흑인 (북미)	13.20%
DR2	미국 흑인 (북미)	29.80%
DR3	미국 흑인 (북미)	24.80%
DR4	미국 흑인 (북미)	11.10%
DR5	미국 흑인 (북미)	31.10%
DR6	미국 흑인 (북미)	33.70%
DR7	미국 흑인 (북미)	19.20%
DR8	미국 흑인 (북미)	12.10%
DR9	미국 흑인 (북미)	5.80%
DR1	아시아계 미국인 (북미)	6.80%
DR2	아시아계 미국인 (북미)	33.80%
DR3	아시아계 미국인 (북미)	9.20%
DR4	아시아계 미국인 (북미)	28.60%
DR5	아시아계 미국인 (북미)	30.00%
DR6	아시아계 미국인 (북미)	25.10%
DR7	아시아계 미국인 (북미)	13.40%
DR8	아시아계 미국인 (북미)	12.70%
DR9	아시아계 미국인 (북미)	18.60%
DR1	중남미계 미국인 (북미)	15.30%
DR2	중남미계 미국인 (북미)	21.20%
DR3	중남미계 미국인 (북미)	15.20%
DR4	중남미계 미국인 (북미)	36.80%
DR5	중남미계 미국인 (북미)	20.00%
DR6	중남미계 미국인 (북미)	31.10%
DR7	중남미계 미국인 (북미)	20.20%

[0372]

대립형질	모집단	대립형질 빈도로부터 계산된 표현형
DR8	중남미계 미국인 (북미)	18.60%
DR9	중남미계 미국인 (북미)	2.10%
A*24	필리핀	65%
A*24	러시아 네네츠인	61%
A*24:02	일본	59%
A*24	말레이시아	58%
A*24:02	필리핀	54%
A*24	인도	47%
A*24	대한민국	40%
A*24	스리랑카	37%
A*24	중국	32%
A*24:02	인도	29%
A*24	호주 서부	22%
A*24	미국	22%
A*24	러시아 사마라인	20%
A*24	남미	20%
A*24	유럽	18%

[0373]

[0374]

본 발명의 펩티드는 바람직하게 여기서 설명한 바와 같이 본 발명의 백신에 포함되는 경우 A*02 또는 A*24에 결합한다. 백신은 범-결합 MHC 클래스 II 펩티드를 포함할 수도 있다. 그러므로 본 발명의 백신은 A*02 양성, A*24 양성 또는 A*02 및 A*24에 양성인 환자의 암을 치료하는데 사용할 수 있는 반면, MHC 클래스 II 동종이인 자형에 대한 선택은 이 펩티드의 범-결합 성격으로 인해 필요하지 않다.

[0375]

예를 들어 한 백신에서 A*02 및 A*24 펩티드의 조합은 MHC 클래스 I 대립형질 하나만을 취급하는 것에 비해 모든 환자 모집단에서 더 높은 비율이 가능하다는 이점을 갖는다. 대부분의 모집단에서 하나의 대립형질만으로는 환자의 50% 미만을 해결할 수 있는 반면, 본 발명의 백신은 임의의 관련있는 모집단에서 적어도 환자의 60% 치료가 가능하다. 구체적으로 환자의 다음 백분율은 다양한 지역에서 적어도 하나의 이러한 대립형질에 대해 양성 이 된다: 미국 61%, 서부 유럽 62%, 중국 75%, 대한민국 77%, 일본 86%(www.allele-frequencies.net의 자료로부터 계산됨).

[0376]

여기에서 사용되는 것처럼, DNA 배열에 대한 참조는 단일 가닥 및 이중 가닥 DNA를 포함한다. 그러므로, 특이적 서열은, 문맥에서 다르게 나타내지 않는 한, 이의 서열의 단일 가닥 DNA, 상보성이 있는 그런 서열의 양면(이중 가닥 DNA) 및 그런 서열의 보안을 말하는 것이다. 용어 "암호화 영역"은 자연적인 계층 환경, 즉, 유전자의 본래의 발현 생성물을 위한 생체 안 영역 암호화에서 유전자의 발현 생성물을 자연스럽게 또는 정상적으로 암호화하는 유전자의 부분을 말한다.

[0377]

암호화 영역은 비돌연변이("정상적")되거나 돌연변이된 또는 개조된 유전자에 있을 수 있거나, 심지어는 DNA 서열, 또는 DNA 합성의 당업자에게 잘 알려진 방법을 사용해서 실험실에서 전적으로 합성된 유전자에 있을 수 있다.

[0378]

한 바람직한 구현에서 "뉴클레오타이드 서열"이란 용어는 디옥시리보뉴클레오타이드의 헤테로중합체를 말한다.

[0379]

특정 펩티드, 올리고펩티드 또는 폴리펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 암호화는 자연적으로 발생하거나 합성 구축될 수도 있다. 일반적으로, 본 발명의 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질질을 암호화하는 DNA 분절은 cDNA 단편들과 짧은 올리고뉴클레오타이드 링커, 또는 올리고뉴클레오타이드의 연속에서 미생물이나 바이러스 오페론에서 유도된 규제 요소를 가진 재조합 전사 단위에서 발현될 수 있는 합성 유전자를 제공하기 위해서 조립된다.

[0380]

여기서 사용되는 "펩티드를 암호화(또는 암호화)하는 뉴클레오타이드"란 용어는 예를 들어, 수지상 세포와 같은 서열을 발현시키는 생물학적 체계 또는 TCR 제조에 유용한 다른 세포 체계와 호환가능한 인공(사람이 만든) 시작 및 정지 코돈을 포함하는 펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 암호화를 지칭한다.

[0381]

용어 "발현 생성물"은 유전자의 자연 번역 생성물인 폴리펩티드 또는 단백질 및 유전적 코드 퇴화로 인해 같은 아미노산을 암호화하는 임의의 핵산 서열 암호화 단량체를 의미한다.

- [0382] 암호화 서열을 말할 때, 용어 "단편"은 발현 생성물이 본질적으로 완전한 암호화 영역의 발현 생성물과 같은 생물학적 기능이나 활동을 유지하는 완전한 암호화 영역보다 적게 포함하는 DNA 부분을 말한다.
- [0383] 용어 "DNA 분절"은 최소한 하나의 실질적으로 순수한 형태, 즉, 내생 오염이 없고 표준 생화학 방법, 예를 들어, 클로닝 벡터를 사용하여 분절 및 이의 구성 요소 뉴클레오타이드 서열의 동정, 조작 및 복구를 가능하게 하는 양 또는 농도로 단리되는 DNA에서 유도된 별도의 단편 형태 또는 큰 DNA 구축물의 구성 요소로써 DNA 중합체를 말한다. 그런 분절은 일반적으로 진핵 생물 유전자에 나타나는 내부 비-번역 서열, 또는 인트론에 의해 방해되지 않는 오픈 리딩 프레임의 형태로 제공된다. 비-번역 DNA의 서열은 같은 것이 암호화 영역의 조작이나 발현을 방해하지 않는 오픈 리딩 프레임의 하단에 존재할 수 있다.
- [0384] 용어 "프라이머"는 하나의 표준 DNA와 짝을 이룰 수 있는 짧은 핵산 서열이며 DNA 폴리머라아제가 디옥시리보뉴클레오타이드 쉼의 합성을 시작하는 자유 3'-OH 말단을 제공한다.
- [0385] 용어 "프로모터"는 전사를 개시하기 위한 RNA 폴리머라아제의 결합에 관련된 DNA의 영역을 뜻한다.
- [0386] 용어 "단리"는 이의 물질이 원래의 환경(예를 들어, 자연적으로 발생하는 경우에는 자연 환경)에서 제거되는 것을 뜻한다. 예를 들어, 자연-발생하는 살아 있는 동물에서 존재하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 단리되지 않지만, 자연계에서 공존하는 물질의 부분 또는 전체에서 분리되는 같은 뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 단리된다. 그런 폴리뉴클레오타이드는 벡터의 부분이고/거나 그런 뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 구축물의 한 부분일 수 있으며, 그런 벡터 또는 구축물이 자연 환경의 한 부분이 아닐 때 여전히 단리될 수 있다.
- [0387] 본 발명에서 밝혀지는 폴리뉴클레오타이드, 및 재조합 또는 면역성의 폴리펩티드는 "정제" 상태일 수도 있다. 용어 "정제"는 완벽한 순도를 필요로 하지 않고 오히려, 그것은 상대적으로 정의되고, 관련된 당업자들이 이해하는 용어으로써 상당히 정제된 제조 또는 부분적으로 정제된 제조를 포함할 수 있다. 예를 들어, cDNA 라이브러리에서 단리된 각각의 클론은 전기 영동 동일성으로 통상적으로 정제된다. 출발 물질 또는 자연 물질의 최소한 하나 이상의 순서의 크기의 정제는, 바람직하게 둘 또는 셋 순서, 및 더 바람직하게는 넷 또는 다섯 순서의 크기로 명시적으로 심사 숙고된다. 또한 바람직하게는 99.999 중량%, 또는 최소한 99.99 중량%, 또는 99.9 중량%; 및 심지어 99 중량%보다 큰 정제도를 가진 제시된 폴리펩티드는 명시적으로 심사 숙고된다.
- [0388] 본 발명에서 밝혀진 핵산과 폴리펩티드 발현 생성물, 그런 핵산 및/또는 그런 폴리펩티드를 가진 발현 벡터는, "강화된 형태"일 수 있다. 여기에서 사용되는 것처럼, 용어 "강화"는 물질의 농도가 그것의 자연적 농도의 (예를 들어) 최소한 약 2, 5, 10, 100, 또는 1000 배 정도이고, 유리하게 0.01 중량%, 바람직하게는 최소한 약 0.1 중량% 정도이다. 약 0.5 중량%, 1 중량%, 5 중량%, 10 중량%, 및 20 중량%의 강화된 제조도 심사 숙고된다. 서열, 구성, 벡터, 클론, 및 본 발명의 다른 물질들은 유리하게 강화된 또는 단리된 형태가 될 수 있다.
- [0389] 용어 "활성 단편"은 예를 들어 토끼, 또는 쥐 및 인간을 포함한 포유류 같은 동물에게 따로 또는 임의적으로 적당한 보조제와 함께 또는 매개체로서 투여했을 때 면역 반응을 생성하고(즉, 면역성 활동이 있고) 면역 반응이 인간과 같은 수용체 동물 내에서 T 세포 반응을 자극하는 형태를 취하는 면역 반응을 나타내는 보통 펩티드, 폴리펩티드 또는 핵산 서열의 단편이다. 다르게는, "활성 단편"은 또한 시험관 내 T 세포 반응을 유도하기 위해서 사용될 수도 있다.
- [0390] 여기에서 사용되는, "부분", "분절", 및 "단편"이라는 용어는, 폴리펩티드와 관련하여 사용될 때, 서열이 더 큰 서열의 하위 집합을 형성하는 아미노산 잔기와 같은 잔기의 지속적인 서열을 말한다. 예를 들어, 폴리펩티드가 트립신이나 키모트립신 같은 일반적인 엔도펩티다아제 중 어떤 치료를 받는다면, 그런 치료로 인해 생기는 올리고펩티드는 출발 폴리펩티드의 부분, 분절 또는 단편을 나타낼 것이다. 폴리뉴클레오타이드에 관련해서 사용될 때, 그런 용어들은 일반적인 엔도뉴클레아제 중 어떤 것과 함께 상기 폴리뉴클레오타이드의 치료에 의해 생성된 생성물을 말한다.
- [0391] 본 발명에 따라, 서열을 말할 때 용어 "백분율 동일성", "백분율 동질성" 또는 "백분율 동일한"은 설명되거나 명시된 서열("기준 서열")에 비교될 서열의 정렬 후("비교 서열") 서열이 명시된 또는 설명된 서열에 비교되는 것을 의미한다. 백분율 동일성은 하기 공식에 따라서 결정된다:
- [0392] 백분율 동일성 = $100 [1 - (C/R)]$
- [0393] 여기서 C는 기준 서열과 비교 서열의 정렬의 길이에 비해 기준 서열과 비교 서열의 차이의 수이되,
- [0394] (i) 비교 서열에서 상응하는 정렬된 염기 또는 아미노산이 없는 기준 서열에 대한 각각의 염기 또는 아미노산,

- [0395] (ii) 기준 서열에 대한 각각의 차이, 및
- [0396] (iii) 비교 서열의 정렬된 염기 또는 아미노산과 다른 기준 서열에 대한 각각의 정렬된 염기 또는 아미노산이 차이를 구성하고,
- [0397] (iv) 정렬은 정렬된 서열의 위치 1에서 시작해야 하고;
- [0398] R은 비교 서열과의 정렬의 길이에 대한 기준 서열 염기 또는 아미노산의 숫자이고 기준 서열에 생긴 공백도 염기 또는 아미노산 개수로 계산된다.
- [0399] 위에서와 같이 계산된 비교 서열과 기준 서열 사이의 백분율 동일성이 특이적 최소 백분율과 같거나 더 크면 위에서 계산된 백분율 동일성이 특이적 백분율 동일성보다 작은 경우에 정렬이 있더라도 비교 서열은 기준 서열에 최소 백분율 동일성이 있다.
- [0400] 여기에서 밝혀진 본래 (변형되지 않은) 펩티드는 달리 언급되지 않는 이상, 펩티드 쇄의 다른 아마도 선택적인 위치에서 하나 또는 이상의 잔기의 치환에 의해 변형될 수 있다. 바람직하게 이러한 치환은 아미노산 쇄의 끝에 위치한다. 그런 치환은, 예를 들어, 소수성의 아미노산이 다른 소수성의 아미노산으로 치환되는 것처럼, 보존적 특징을 가질 수 있고, 이때 하나의 아미노산은 유사한 구조 및 특징의 하나의 아미노산으로 치환된다. 심지어 더 보존적인 것은 류신이 이소류신으로 치환되는 것처럼, 같거나 비슷한 크기와 화학적 특성을 가진 아미노산으로 치환되는 것이다. 자연적으로 발생하는 동종 단백질의 종속에서의 서열 변화의 연구에서, 특이적 아미노산의 치환은 다른 것들보다 더 자주 용납되고 있으며, 이들은 본래의 아미노산과 치환 사이에서 크기, 전하, 극성, 및 소수성이 비슷한 상관관계를 보이며, 이것은 "보존적 치환"을 정의하는데 기본이 된다.
- [0401] 여기서 보존적 치환은 아래의 다섯 개 군 중 하나의 교환으로 정의된다: 군 1 - 작은 지방족, 무극성의 또는 약간 극성의 잔기(Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); 군 2 - 극성의, 음으로 하전된 잔기와 그들의 아미드(Asp, Asn, Glu, Gln); 군 3 - 극성의, 양으로 하전된 잔기(His, Arg, Lys); 군 4 - 큰, 지방족, 무극성 잔기(Met, Leu, Ile, Val, Cys); 및 군 5 - 큰, 방향족 잔기(Phe, Tyr, Trp).
- [0402] 덜 보존적 치환은 알라닌을 이소류신 잔기로 치환하는 것처럼, 하나의 아미노산을 비슷한 성질이지만 크기가 어느 정도 다른 아미노산으로 치환하는 것을 포함한다. 고도로 비-보존적 치환은 산성 아미노산을 극성의, 또는 심지어는 성질이 기본적인 아미노산으로 치환하는 것을 포함할 수도 있다. 이런 "라디칼" 치환은, 그러나, 화학적 작용이 완전히 예측 불가능하고 라디칼 치환은 단순한 화학 원리에서 예측가능하지 않은 뜻밖의 발생이 있을 수 있기 때문에 효과가 없다고 기각할 수는 없다.
- [0403] 물론, 이런 치환은 일반적인 L-아미노산 외 다른 구성을 포함할 수 있다. 그러므로, D-아미노산이 본 발명의 항원 펩티드에서 흔히 발견되지만 여기에서 아직 공개가 되어야하는 L-아미노산을 치환할 수 있다. 또한, 비-표준 R 기를 가지고 있는 아미노산(즉, 자연 단백질의 일반적인 20개 아미노산에서 찾을 수 없는 R 기) 역시 본 발명에 따라 면역성과 면역성 폴리펩티드를 생산하기 위해서 치환될 수 있다.
- [0404] 하나 이상의 위치에서 아래에서 정의된 것과 실질적으로 비슷하거나 더 큰 항원 활동을 가진 치환이 발견되면, 그런 치환의 조합은 조합된 치환이 펩티드의 항원성에 더해지거나 시너지 효과의 결과를 내는지 결정하기 위해 시험된다. 최대, 펩티드에서 네 가지 이상의 위치는 동시에 치환될 수 없다.
- [0405] 본 발명의 펩티드는 4개까지의 아미노산만큼 연장할 수 있는데 즉, 1, 2, 3 및 4개의 아미노산이 4:0과 0:4 사이에서 임의의 조합으로 양쪽 어디로든 추가될 수 있다.
- [0406] 본 발명에 따른 연장의 조합은 표 7로부터 묘사할 수 있다:

[0407] [표 7]

C-말단	N-말단
4	0
3	0 또는 1
2	0 또는 1 또는 2
1	0 또는 1 또는 2 또는 3
0	0 또는 1 또는 2 또는 3 또는 4
N-말단	C-말단
4	0
3	0 또는 1
2	0 또는 1 또는 2
1	0 또는 1 또는 2 또는 3
0	0 또는 1 또는 2 또는 3 또는 4

[0408]

[0409] 연장/신장을 위한 아미노산은 해당 단백질의 원래 서열의 펩티드나 기타 다른 아미노산일 수 있다. 연장은 펩티드의 안정성이나 가용성 강화를 위해 사용될 수 있다.

[0410] 용어 "T 세포 반응"은 특이적 증식과 시험관 내 또는 생체 내에서 유도되는 효과기 기능의 활성화를 뜻하다. MHC 클래스 I 제한 CTL에서, 효과기 기능은 펩티드-펄스, 펩티드-전조 펄스 또는 자연적 펩티드-제시 표적 세포들의 세포 용해, 사이토킨의 분비, 바람직하게는 인터페론-감마, TNF-알파, 또는 펩티드에서 유도되는 IL-2, 효과기 분자의 분비, 바람직하게는 펩티드에서 유도되는 그랜자임 또는 퍼로핀, 또는 탈과립일 수 있다.

[0411] 바람직하게는, 본 발명에 따른 펩티드에 특이적인 T 세포가 치환 펩티드에 대해 시험될 때, 치환 펩티드가 배경에 상대적으로 세포 용해의 최대 증가의 절반을 달성할 때의 펩티드 농도는 약 1 mM 이하, 바람직하게 약 1 μ M 이하, 더 바람직하게 약 1 nM 이하, 여전히 더 바람직하게 약 100 pM 이하, 가장 바람직하게는 약 10 pM 이하이다. 치환 펩티드가 1개 이상, 2개 이상, 보다 바람직하게는 3개의 개별의 T 세포에 의해 인식되는 것 또한 바람직하다.

[0412] 따라서, 본 발명의 에피토프는 자연적으로 발생하는 종양 관련 또는 종양 특이적 에피토프와 동일하거나 실질적으로 동일한 항원 활동을 가지고 있는 한, 참조 펩티드와 비교 시 4개 이하의 다른 잔기를 가지고 있는 에피토프를 포함할 수 있다.

[0413] MHC 클래스 I 분자는 주로 내생 단백질, 시토솔 또는 핵 단백질, DRIP 및 더 큰 펩티드의 단백질 가수분해 분열에 기인한 펩티드가 존재하는 핵을 갖는 대부분의 세포에서 발견될 수 있다. 하지만 엔도솜 구획이나 외인성 출처로부터 유래된 펩티드 또한 MHC 클래스 I 분자에서 종종 발견된다. 이러한 비고전적 방식의 클래스 I 제시를 문헌에서는 교차-제시라고 칭한다.

[0414] CD8 및 CD4에 의존하는 두 유형의 반응이 항종양 효과에 협동 및 상승 작용을 통해 기여하므로, CD8-양성 T 세포(MHC 클래스 I 분자) 또는 CD4-양성 T 세포(MHC 클래스 II 분자)에 의해 인식되는 종양-연관 항원들의 파악 및 특성화는 종양 백신의 개발에 중요하다. 그러므로 본 발명의 목적은 두 가지 클래스의 MHC 복합체에 결합하는 펩티드를 함유하는 펩티드 조성을 제공하는 것이다.

[0415] 암 치료와 관련된 심한 부작용과 비용을 고려할 때 더 나은 예후 및 진단 방법이 절실히 필요하다. 따라서 일반 암, 특히 HCC를 위한 바이오 마커를 제시하는 다른 요인들을 파악할 필요가 있다. 더욱이 일반 암과 특히 HCC의 치료에서 사용할 수 있는 인자들의 파악이 필요하다.

[0416] 본 발명은 본 발명의 펩티드를 과도 또는 배타적으로 제시하는 암/종양, 바람직하게는 HCC의 치료에 유용한 펩티드를 제공한다. 이 펩티드는 질량 분석법에 의해 원발성 인간 HCC 샘플 상에서 HLA 분자에 의해 자연적으로 제시되는 것으로 나타났다.

[0417] 펩티드가 유래하는 소스 유전자/단백질("전장 단백질" 또는 "기저 단백질"로도 지칭됨)은 소스 유전자에 대한 고도의 종양 연관을 표출하는 정상 조직과 비교해서 암에서 주로 과발현되는 것으로 나타났다. 본 발명과 관련하여 "정상 조직"은 건강한 간 세포 또는 기타 정상 조직 세포를 의미한다(실시예 2 참조). 게다가 펩티드 자체는 종양 조직에서 강력히 과다제시된다. 본 발명과 관련하여 "종양 조직"은 정상 조직상의 것이 아니라 HCC를 앓는 환자의 샘플을 의미한다(실시예 1 참조).

- [0418] HLA-결합된 펩티드는 면역계 특히 T 림프구에 의해서 인식된다. T 세포들은 인식되는 HLA/펩티드 복합물을 제시하는 세포, 예를 들어, 유도된 펩티드를 제시하는 HCC 세포를 파괴할 수 있다.
- [0419] 본 발명의 모든 펩티드는 T 세포 반응을 자극할 수 있고/거나 과제시되는 것으로 나타났으므로, 본 발명에 따른 항체 및/또는 TCR, 특히 sTCR의 생산에 사용될 수 있다(실시예 3 참조). 더욱이 각각의 MHC와 복합된 펩티드는 본 발명에 따른 항체 및/또는 TCR, 특히 sTCR의 생산에도 사용될 수 있다. 각각의 방법들은 당업자에게 잘 알려져 있으며 해당 문헌에서도 찾을 수 있다. 그러므로, 본 발명의 펩티드는 환자의 종양 세포를 파괴할 수 있는 면역 반응을 생성하는데 유용하다. 환자의 면역 반응은 설명된 펩티드의 직접적인 투여 또는 면역성을 강화할 수 있는 제제(즉, 보조제)와 섞인 적당한 전구체 물질(예를 들어, 연장된 펩티드, 단백질, 또는 이러한 펩티드를 암호화하는 핵산)을 환자에게 투여하는 것으로 유도될 수 있다.
- [0420] 이런 치료적 백신에서 생긴 면역 반응은 본 발명의 목적 펩티드가 비교가능한 카피수로 정상 조직에서는 나타나지 않고, 환자의 정상 세포에 대한 기피되는 자가 면역 반응의 위험을 배제하기 때문에 종양 세포에 매우 특이적인 것으로 예상될 수 있다.
- [0421] "약학 조성물"이란 바람직하게는 의학적 환경에서 인간에게 투여하는데 적합한 조성물이다. 바람직하게는, 약학 조성물은 무균이며 GMP 지침에 따라 생산된다.
- [0422] 약학 조성물은 자유 형태 또는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 된 펩티드를 포함한다(상기 내용도 참조). 여기서 사용되는 것처럼, "약학적으로 허용가능한 염"은 펩티드가 제제의 산 또는 염기 염을 만들며 변형되는 공개된 펩티드의 유도체를 말한다. 예를 들어, 산 염은 적당한 산과의 반응을 가진 자유 염기(일반적으로 중성 NH₂ 기가 있는 약물의 중성 형태)에서 제조된다. 산 염을 제조할 때 적당한 산은 예를 들어, 염산, 브롬화 수소산, 황산, 질산, 인산과 같은 무기산뿐만 아니라 초산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 수산, 말산, 말론산, 호박산, 말레산, 푸마르산, 주석산, 구연산, 벤조산, 계피산, 멘델릭산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 살리실산 같은 유기산을 포함한다. 반대로, 펩티드에서 나타날 수 있는 산 잔기의 염기 염의 제조는 수산화나트륨, 수산화 칼륨, 수산화 암모늄, 수산화 칼슘, 트리메틸아민과 같은 약학적으로 허용가능한 염기를 사용한다.
- [0423] 특별히 바람직한 약학 조성물의 구현은 초산(아세트산염), 삼불화 초산 또는 염산(염화물)의 염으로의 펩티드를 가진다.
- [0424] 특히 바람직한 것은 서열번호 1, 2, 7, 225, 228, 301, 303 및 312에 따른 서열을 갖는 펩티드 또는 서열번호 1, 2, 7, 225, 228, 301, 303 및 312에 따른 서열을 갖는 펩티드에 대해 반응하는 골격 및 이들과 MHC 분자의 복합체를 포함하는 조성물 및/또는 예를 들어 백신 형태로서 상기 조성물의 사용이다.
- [0425] 암 치료에 유용함에 덧붙여, 본 발명의 펩티드는 진단으로도 유용하다. 펩티드가 HCC 세포에서 생성되고 이런 펩티드가 정상 조직에서는 존재하지 않거나 더 낮은 수준으로 존재한다는 것이 결정되었기 때문에 이런 펩티드는 암의 존재의 진단에 사용될 수 있다.
- [0426] 주장되는 펩티드의 혈액 샘플 내 조직 생체 검사에서의 존재는 암의 진단 시 병리학자를 도울 수 있다. 항체, 질량 분석, 또는 이 분야에 다른 알려진 방법을 통한 특이적 펩티드의 탐지는 조직 샘플이 악성 또는 염증이 있는지 또는 일반적으로 병들어 있는지 또는 HCC의 바이오마커로서 사용가능한지 병리학자에게 알려줄 수 있다. 펩티드의 기의 존재는 병든 조직의 분류 또는 하위 분류를 가능하게 한다.
- [0427] 병든 조직 표본의 펩티드의 탐지는 특히 T 림프구가 작용 이전에 참여하는 것으로 알려져 있거나 기대될 때, 면역계를 포함한 치료의 이익에 대한 결정을 내릴 수 있게 한다. MHC 발현의 손실은 감염된 악성 세포가 면역 감시를 탈출하는 데에서 잘 설명되는 기전이다. 따라서, 펩티드의 존재는 이 기전이 분석된 세포에서 악용되지 않는 것을 보여준다.
- [0428] 본 발명의 펩티드는 펩티드 또는 MHC 분자에 복합된 펩티드에 대한 T 세포 반응 또는 항체 반응 같은 펩티드에 대한 림프구 반응을 분석하는데 사용될 수 있다. 이런 림프구 반응은 추가 치료 단계에서 결정을 내릴 때 전조 마커로 사용될 수 있다. 이런 반응은 또한 림프구 반응을 여러 방법으로, 예를 들어, 단백질 백신, 핵산, 자가 조직 물질, 림프구의 양자 면역 전송을 유도하는 것을 목표로 하는 면역치료의 대리 마커로 사용될 수 있다. 유전자 치료 설정에서, 펩티드에 대한 림프구 반응은 부작용의 평가에서 고려할 수 있다. 림프구 반응의 모니터링은 이식 요법의 후속 시험, 예를 들어, 이식편대숙주 및 숙주편대이식 질병의 검출을 위한 중요한 도구가 될 수도 있다.

- [0429] 본 발명의 펩티드는 MHC/펩티드 복합물에 대한 특이적 항체를 생성하고 개발하는데 사용될 수 있다. 이들은 병든 조직에 독성 또는 방사능 물질을 표적하는 치료에 사용될 수 있다. 이런 항체의 또 다른 사용은 PET 같은 이미징 목적을 위해 병든 조직의 방사성 핵종을 표적할 수도 있다. 이 사용은 작은 전이를 감지하거나 병든 조직의 크기와 정확한 위치를 결정하는데 도움이 될 수 있다.
- [0430] 그러므로 본 발명의 다른 양태는 HLA-제한 항원과 복합되는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II와 특이적으로 결합하는 재조합 항체의 생산 방법을 제공하는 것으로, 이 방법은 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 가용성 형태의 MHC 클래스 I 또는 II 분자로써 상기 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II를 발현하는 세포를 포함하는 유전자 조작된 비인간 포유동물의 면역화; 상기 비인간 포유동물의 세포를 생산하는 항체로부터 mRNA 분자의 단리; 상기 mRNA 분자에 의해 암호화된 단백질 분자를 표시하는 파지 디스플레이 라이브러리의 생산; 및 상기 파지 디스플레이 라이브러리로부터 적어도 하나의 파지의 단리를 포함하며 상기 적어도 하나의 파지는 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 상기 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 클래스 II와 특이적으로 결합하는 상기 항체를 나타낸다.
- [0431] 본 발명의 다른 양태는 HLA 제한 항원과 복합되는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는 것으로, 이 항체는 바람직하게는 다클론성 항체, 단클론성 항체, 이중특이성 항체 및/또는 키메라 항체이다.
- [0432] 본 발명의 또 다른 양태는 HLA-제한 항원과 복합되는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II에 특이적으로 결합하는 상기 항체를 생산하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 가용성 형태의 MHC 클래스 I 또는 II 분자로 상기 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II를 발현하는 세포를 포함하는 유전자 조작된 비인간 포유동물의 면역화; 상기 비인간 포유동물의 세포를 생산하는 항체로부터 mRNA 분자의 단리; 상기 mRNA 분자에 의해 암호화된 단백질 분자를 표시하는 파지 디스플레이 라이브러리의 생산; 및 상기 파지 디스플레이 라이브러리로부터 적어도 하나의 파지의 단리를 포함하며, 상기 적어도 하나의 파지는 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 상기 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II와 특이적으로 결합가능한 상기 항체를 나타낸다. 그러한 항체 및 단일 사슬 클래스 I 주조직적합 복합체의 생산을 위한 각각의 방법들은 물론 이러한 항체의 생산을 위한 다른 도구들은 WO 03/068201, WO 2004/084798, WO 01/72768, WO 03/070752 및 문헌 [Cohen CJ, et al. MHC-제한, 펩티드-특이적, T 세포 수용체-유사 특이성을 가진 재조합 항체: 항원-제시 및 TCR-펩티드-MHC 상호작용을 연구하는 새로운 도구(Recombinant antibodies with MHC-restricted, peptide-specific, T-cell receptor-like specificity: new tools to study antigen presentation and TCR-peptide-MHC interactions). J Mol Recognit. 2003 Sep-Oct;16(5):324-32]; [Denkberg G, et al. 흑색종 분화 항원을 향한 TCR-유사 특이성을 가진 재조합 항체를 사용한 흑색종 및 APC에 대한 선택적 표적(Selective targeting of melanoma and APCs using a recombinant antibody with TCR-like specificity directed toward a melanoma differentiation antigen). J Immunol. 2003 Sep 1;171(5):2197-207]; 및 [Cohen CJ, et al. 인간 MHC 클래스 I 항원-제시의 직접적 표현형 분석: 펩티드-특이적 MHC-제한 인간 재조합 항체를 사용하는 인간 바이러스 에피토프의 가시화, 정량화 및 제자리 검출(Direct phenotypic analysis of human MHC class I antigen presentation: visualization, quantitation, and in situ detection of human viral epitopes using peptide-specific, MHC-restricted human recombinant antibodies). J Immunol. 2003 Apr 15; 170(8):4349-61]에 공개되어 있고, 이들은 본 발명의 목적상 이의 전체가 참조로서 모두 명시적으로 포함된다.
- [0433] 바람직하게는 항체는 20 나노몰 미만, 바람직하게는 10 나노몰 미만의 결합 친화력으로써 복합체와 결합하는데, 이는 본 발명의 문맥상 "특이적"으로 간주된다.
- [0434] 본 발명의 다른 양태는 특이적 펩티드-MHC 복합체를 인식하는 가용성 T 세포 수용체(sTCR)의 생산 방법을 제공하는 것이다. 이러한 가용성 T 세포 수용체는 특이적 T 세포 클론으로부터 생성가능하며, 이의 친화력은 상보성 결정 영역을 표적으로 하는 돌연변이유발성에 의해 증가시킬 수 있다. T 세포 수용체 선택의 목적 상, 파지 디스플레이를 사용할 수 있다(US 2010/0113300, 문헌[Liddy N, et al. 단클론성 TCR-재지시 종양 세포 사멸(Monoclonal TCR-redirected tumor cell killing). Nat Med 2012 Jun;18(6):980-987]). 파지 디스플레이 동안 T 세포 수용체의 안정제 목적 및 약물로서의 실용적인 용도의 경우, 알파 및 베타 쇄로 연결될 수 있으며, 예를 들어 비정상적 이황화 결합, 기타 공유 결합(단일-쇄 T 세포 수용체) 또는 이합체화 도메인에 의해 연결된다(문헌[Boulter JM, Glick M, Todorov PT, Baston E, Sami M, Rizkallah P, et al. 결정체를 위한 안정한 가용성 T 세포 수용체 분자 및 치료(Stable, soluble T-cell receptor molecules for crystallization and therapeutics). Protein Eng 2003 Sep;16(9):707-711]; [Card KF, et al. 가용성 단사슬 T 세포 수용체 IL-2 융합 단백질은 MHC-제한 펩티드의 특이성 및 IL-2 생활성도를 보유한다(A soluble single-chain T-cell

receptor IL-2 fusion protein retains MHC-restricted peptide specificity and IL-2 bioactivity). Cancer Immunol Immunother 2004 Apr;53(4):345-357]; 및 [Willcox BE, et al. 리간드 결합의 생물물리적 분석에 적합한 가용성 알파베타 T 세포 수용체 이질이합체의 생산(Production of soluble alphabeta T-cell receptor heterodimers suitable for biophysical analysis of ligand binding). Protein Sci 1999 Nov; 8(11):2418-2423] 참조). T 세포 수용체는 표적 세포에 대한 특이적 기능의 실행을 목적으로 독소, 약물, 사이토카인(예를 들어, US 2013/0115191 참고), 항-CD3 도메인과 같은 효과기 세포를 모집하는 도메인 등과 연결될 수 있다. 더욱이 이것은 입양 전달에 사용되는 T 세포에서 발견될 수 있다. 추가 정보는 WO 2004/033685A1 및 WO 2004/074322A1에서 찾을 수 있다. sTCR의 조합은 WO 2012/056407A1에 설명되어 있다. 이 생산에 관한 추가 방법들은 WO 2013/057586A1에 공개되어 있다.

[0435] 그 밖에, 본 발명의 펩티드 및/또는 TCR 또는 항체 또는 다른 결합하는 분자는 병리학자에 의한 생검 샘플에 근거하는 암의 진단을 확인하는데 사용이 가능하다.

[0436] 과제시된 펩티드를 선택하기 위해, 중간 샘플 제시는 물론 복제 변이를 보여주는 제시 프로파일 계산된다. 이 프로파일은 관심 대상의 종양 객체 샘플을 정상 조직 샘플의 기준에 병치된다. 다음, 이 프로파일 각각은 선형 혼합 효과 모형의 p-값을 계산하여 과제시 점수에 통합될 수 있으며(문헌[J. Pinheiro, et al. nlme 패키지: 선형 및 비선형 혼합 효과 모형(The nlme Package: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models). 2007]) 틀린 발견 비율에 의해 다중 검정을 조절한다(문헌[Y. Benjamini and Y. Hochberg. 틀린 발견 비율의 통제: 다중 검정에 대한 실효적이고 강력한 접근 방법(Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing). Journal of the Royal Statistical Society. Series B(Methodological), Vol.57(No.1):289-300, 1995]).

[0437] 질량 분석에 의한 HLA 리간드의 동정 및 상대적 정량화를 위해, 충격동결된 조직 샘플에서 얻어진 HLA를 정제하고 HLA-연관 펩티드를 분리했다. 분리된 펩티드는 분리하여 이의 서열을 온라인 나노-전기분무-이온화(nanoESI) 액체 크로마토그래피-질량 분석(LC-MS) 실험에 의해 동정했다. HCC 샘플로부터 기록된 자연적 TUMAP의 단편화 패턴(N = 16, 13개의 A*02:01-양성 샘플을 포함하는 A*02-양성 샘플들, N = 15 A*24-양성 샘플)을 동일한 서열을 가진 상응하는 합성 참조 펩티드의 단편화 패턴과 비교하여, 얻어진 펩티드 서열을 확인했다. 펩티드는 원발성 종양의 HLA 분자의 리간드로서 직접 동정되기 때문에, 이의 결과는 31명의 HCC 환자에서 얻어진 원발 암 조직에 대해 동정된 펩티드의 자연적 처리와 제시에 대한 직접적 증거를 제공한다.

[0438] 발견 파이프라인 XPRESIDENT(등록상표) v2.1(예를 들어 전체가 여기에 포함되는 US 2013-0096016을 참고)은 몇 가지 다른 비암성 조직 및 기관에 비해 암 조직에 대한 HLA-제한 펩티드 수준의 직접적인 상대적 정량화를 기준으로 관련 있는 과제시된 펩티드 백신 후보의 동정과 선택을 허용한다. 이는 서열번호, 스펙트럼 집락화, 이온 계수화, 정제 시간 정렬, 충전 상태 디컨볼루션 및 정상화에 필요한 알고리즘을 조합시킨 독점 데이터 분석 파이프라인에 의해 처리하여 획득한 LC-MS 데이터를 사용한 라벨-프리 차등 정량화의 개발에 의해 성취되었다.

[0439] 펩티드와 샘플 각각에 대한 오류 측정치 등 제시 수준이 확립되었다. 종양 조직에 배타적으로 제시된 펩티드 및 종양에서 과제시된 펩티드 대비 비암성 조직 및 기관이 동정된 바 있다.

[0440] HCC 종양 조직 샘플에서 얻어진 HLA-펩티드 복합체를 분리하며 LC-MS로 분석했다(실시에 참조). 원발성 HCC 종양 샘플에 대한 이러한 접근 방식을 통해 본 출원에 포함된 모든 TUMAP를 동정했으며, 원발성 HCC에 대한 제시가 확인되었다.

[0441] 복수의 HCC 종양 및 정상 조직에 대해 동정된 TUMAP를 라벨-프리 LC-MS 데이터에 대한 이온-계수화를 사용하여 정량화했다. 이 방법은 펩티드의 LC-MS 신호 영역이 샘플에 존재하는 풍부함과 상관관계가 있음을 가정한다. 다양한 LC-MS 실험에서 펩티드의 모든 정량적 신호들을 LC-MS 실험을 중심 경향에 근거하여 정상화하고 샘플당 평균화하여 제시 프로파일이라 부르는 막대 도표에 통합시켰다. 이 제시 프로파일은 단백질 데이터베이스 검색, 스펙트럼 군락화, 충전 상태 디컨볼루션(방전) 및 시간 성격 및 정제 정상화와 같은 다른 분석 방법들을 통합시킨다.

[0442] 본 발명은 서열번호 1 내지 서열번호 300으로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 대해 적어도 90% 상동성인 (바람직하게는 동일한) 이의 변이체 또는 상기 펩티드와 교차 반응하는 T 세포를 유도하는 이의 변이체에 관한 것으로, 상기 펩티드는 기저 전장 폴리펩티드가 아니다.

[0443] 본 발명은 또한 서열번호 1 내지 서열번호 300으로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 대해 적어도 90% 상동성인 (바람직하게는 동일한) 이의 변이체에 관한 것으로,

상기 펩티드 또는 이의 변이체는 전체 길이가 8 내지 100개, 바람직하게는 8 내지 30개, 가장 바람직하게는 8 내지 14개인 아미노산이다.

- [0444] 본 발명은 또한 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력을 갖는 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.
- [0445] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성된다.
- [0446] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 (화학적으로) 변형되고/거나 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0447] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 펩티드는 용합 단백질의 일부이며 특히 HLA-DR 항원-결합 항원-연관된 불변쇄(Ii)에 융합되거나 펩티드는 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체와 같은 항체에(또는 안으로) 융합된다.
- [0448] 본 발명은 또한 본 발명이 따른 펩티드를 암호화하는 핵산에 관한 것으로, 단 펩티드가 완전한 (전부) 인간 단백질은 아니다.
- [0449] 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0450] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0451] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 의약에서 특히 HCC의 치료에서 사용을 위한 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0452] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 또는 전에 설명한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0453] 본 발명은 또한 항원-제시 세포, 바람직하게는 수지상 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0454] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 충분한 수량의 항원을 항원-제시 세포와 접촉시킴으로써 항원이 적합한 항원-제시 세포의 표면에 발현된 클래스 I 또는 II MHC 분자 위에 로딩된다.
- [0455] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 항원-제시 세포가 서열번호 1 내지 서열번호 300을 포함하는 상기 펩티드 또는 상기 변이체 아미노산 서열을 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.
- [0456] 본 발명은 또한 설명한 임의의 펩티드, 본 발명에 따른 핵산, 본 발명에 따른 발현 벡터, 본 발명에 따른 세포, 또는 본 발명에 따른 활성화된 세포 독성 T 림프구를 약제로서 또는 약제의 제조에서의 사용에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제가 암에 대해 활성을 갖는다.
- [0457] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제는 백신이다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제는 암에 대해 활성을 갖는다.
- [0458] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 암 세포는 HCC 세포이거나 췌장암, 뇌암, 신장암, 결장 또는 직장암 또는 백혈병과 같은 다른 고형 또는 혈액 종양 세포이다.
- [0459] 본 발명은 또한 HCC의 진단 및/또는 예후에 사용할 수 있는 여기서 "표적"으로 부르는, 본 발명에 따른 펩티드에 근거한 특이적 마커 단백질 및 바이오마커에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 암 치료를 위해 이러한 신규 표적들의 사용에 관한 것이다.
- [0460] 용어 "항체" 또는 "항체들"은 여기에서 광범위한 의미로 사용되며, 다클론 및 단클론 항체를 둘 다 포함한다. 손상되지 않은 "온전한" 면역글로불린 항체뿐만 아니라, 용어 "항체"에 포함되는 것은 그런 면역글로불린 항체 분자와 본 발명에 따른 임의의 목적한 특성(예를 들어, HCC 마커 폴리펩티드의 특이적 결합, 높아진 수준의 암 마커 유전자를 발현하는 HCC 세포에 독소 전달, 및/또는 HCC 마커 폴리펩티드의 활동 억제)을 보이는 한 인간화된 버전의 면역글로불린 분자들의 단편(예를 들어, CDR, Fv, Fab 및 Fc 단편들) 또는 중합체이다.
- [0461] 가능한 한, 본 발명의 항체는 상용 공급처에서 구입해야 한다. 본 발명의 항체는 잘 알려진 방법을 통해서 만들어질 수도 있다. 이 분야의 기술자는 전장 HCC 마커 폴리펩티드 또는 이의 단편이 본 발명의 항체를 만드는 데 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 항체를 생성하는 데에 사용될 폴리펩티드는 자연적인 원천에서 부분적으로 또는 완전히 정제될 수 있으며, 또는 재조합 DNA 기술을 이용하여 만들어질 수도 있다.
- [0462] 예를 들어, 서열번호 1 내지 서열번호 300에 따른 펩티드와 같은 본 발명에 따른 펩티드를 암호화하는 cDNA 또

는 이의 변이체나 단편은 원핵 세포(예를 들어, 박테리아) 또는 진핵 세포(예를 들어, 효모, 곤충 또는 포유류 세포)에서 발현될 수 있으며, 재조합 단백질은 이의 후 정제되고 본 발명에 따른 항체 생성에 사용되는 HCC 마커 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 단클론 또는 다클론 항체 제조에 사용될 수 있다.

[0463] 당업자는 단클론 또는 다클론 항체의 2개 이상의 다른 설정의 생성이 의도하는 사용(예를 들어, ELISA, 면역조직화학, 생체 내 이미징, 면역 독소 요법)에 요구되는 특이성 및 친화성을 갖는 항체의 획득 가능성을 최대화함을 인식할 것이다. 이 항체들은 이의 항체들이 사용되는 목적에 의거하여 알려진 방법에 의해 바라는 활성도에 대해 시험된다(예를 들어, ELISA, 면역조직화학, 면역요법 등; 항체의 생성과 시험에 관한 추가 지침은 다음을 참고한다(예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, 항체: 실험실 매뉴얼(Antibodies: A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988, new 2nd edition 2013]). 예를 들어, 항체는 ELISA 검정, 웨스턴 블롯, 포르말린 고정 암 면역조직화학 염색 또는 동결 조직 절개에서 시험할 수 있다. 치료 또는 생체 내 진단용을 위한 항체는 초기의 시험관 내 특성화 이후, 알려진 임상 시험 방법에 따라 시험한다.

[0464] "단클론 항체"라는 용어는 여기서 항체의 실질적으로 균일한 개체군에서 획득이 된 것을 말한다. 즉, 이 개체군이 포함하는 각각의 항체는 자연적으로 일어날 수 있는 소수의 변이체를 제외하고는 동일하다. 단클론 항체는 여기서 특히 중쇄 및/또는 경쇄의 한 부분이 특정한 중 또는 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에서 유도된 항체의 서열과 상응하거나 일치하고, 쇠의 나머지 부분은 다른 중 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에서 유도된 항체, 및 이러한 항체의 단편의 서열과 상응하거나 일치하고, 희망하는 상반되는 활성도를 보여주는 "키메라(chimeric)" 항체를 포함한다(미국 특허 4,816,567, 전문이 여기에 포함됨).

[0465] 본 발명의 단클론 항체는 하이브리도마 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법에서는, 생쥐 또는 다른 적당한 숙주 동물이 보통 면역성을 주는 작용제에 의해 면역되어, 면역성을 주는 작용제에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하거나 이를 생산할 수 있는 능력을 가지고 있는 림프구를 유도해 낸다. 다른 방법으로는, 림프구는 시험관 내에서 면역될 수도 있다.

[0466] 단클론 항체는 미국 특허 4,816,567에 설명된 것과 같은 재조합 DNA 방법들에 의해서도 만들어질 수 있다. 본 발명의 단클론 항체를 암호화하는 DNA는 손쉽게 단리되고 전통적인 방법을 사용하여 염기 서열 분석이 가능하다(예를 들어, 마우스 유래 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용).

[0467] 시험관 내 방법은 또한 1가의(monovalent) 항체를 제조하는 데에 적당하다. 이 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 항체를 소화시켜 항체의 단편, 특히 여기서는 Fab 단편을 생산할 수 있다. 예를 들어, 파파인을 사용하여 소화가 이루어질 수 있다. 파파인 소화의 예는 WO 94/29348 및 미국 특허 4,342,566에 설명되어 있다. 항체의 파파인 소화는 보통 각각 하나의 항원 결합 위치 및 남은 Fe 단편을 포함한 Fab 단편의 동일한 2개의 항원 결합 단편을 생산한다. 펩신 처리는 F(ab')₂ 단편 및 pFc' 단편을 생산한다.

[0468] 항체 단편은, 다른 서열과 붙어 있든 그렇지 않든 간에, 특정한 위치의 또는 특정한 아미노산 잔기의 삽입, 삭제, 치환, 또는 다른 선택된 변경을 포함할 수 있고, 단, 단편의 활성이 변경되지 않은 항체 또는 항체 단편과 비교할 시 현저하게 바뀌거나 손상이 되지 않는다. 이러한 변경은 이화화 결합의 능력이 있는 아미노산의 제거/추가, 생물적 생명의 증가, 분비 특징의 변화 등의 추가적인 특성을 제공할 수 있다. 어떤 경우에도, 항체 단편은 결합성, 결합 도메인에서의 결합 조정 등의 생물작용 성질을 소유하고 있어야 한다. 항체의 기능적 또는 활동적 영역은 단백질의 특이적 영역의 돌연변이생성, 이어서 발현 및 발현된 폴리펩티드의 실험에 의해 확인될 수 있다. 이러한 방법은 이 분야의 기술자가 손쉽게 알 수 있는 기술이며 이는 항체 단편을 암호화하는 핵산의 위치-특이적 돌연변이생성을 포함할 수 있다

[0469] 본 발명의 항체는 인간화된 항체 또는 인간 항체를 더욱 포함할 수 있다. 인간화된 형태의 비-인간(예를 들어, 쥐과 동물) 항체는 최소의 비-인간 면역글로불린 항체에서 유도된 서열을 포함하는 키메라 면역글로불린항체, 면역글로불린 쇠 또는 이들의 단편(Fv, Fab, Fab' 또는 다른 항체의 항원 결합의 결과)이다. 인간화된 항체는 상보성 결정 영역(complementary determining region(CDR))의 잔기가 생쥐, 쥐 또는 토끼와 같은 비-인간 종(공여 항체)의 CDR의 잔기로 바뀐 요구되는 특이성, 친화력 및 수용력을 가진 인간 면역글로불린(수용체 항체)이다. 몇몇의 예에서는, 인간 면역글로불린의 Fv 구조(FR) 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 교체된다. 인간화된 항체는 수용체 항체 또는 투여된 CDR 또는 골격 서열의 어디에서도 찾을 수 없는 서열을 포함하기도 한다. 보통, 인간화된 항체는 가변 도메인을 적어도 하나 또는 거의 대부분 2개를 포함하며, 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 면역글로불린의 영역에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불

린 일치 서열의 영역이다. 인간화된 항체는 최적으로 보통 인간 면역글로불린의 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 한 부분을 또한 포함할 것이다.

[0470] 이 분야에서 비-인간 항체를 인간화하는 방법은 잘 알려져 있다. 보통, 인간화된 항체는 하나 또는 이의 이상의 아미노산 잔기가 비-인간 근원에서 이에 도입된다. 이 비-인간 아미노산 잔류들은 종종 "투여" 잔기라고 일컬어지며, 이는 대개 "투여" 가변 도메인에서 출처한다. 인간화는 본질적으로 설치류의 CDR 또는 CDR 서열에 상응하는 인간 항체 서열의 CDR 서열로 교체하는 것으로 실행될 수 있다. 따라서, 그러한 "인간화된" 항체는 키메릭 항체이며(US 4,816,567), 온전한 인간 가변 도메인보다 훨씬 적게 비인간 종으로부터의 상응하는 서열에 의해 대체된다. 실제로, 인간화된 항체는 보통 몇몇의 CDR 잔기 및 가능하게는 몇몇의 FR 잔기가 설치류 항체의 유사한 부위의 잔기와 치환된 인간 항체이다.

[0471] 면역되었을 때, 내생의 면역글로불린 생성이 없는 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있는 유전자 변형 동물(예를 들어, 생쥐)이 사용될 수 있다. 예를 들어, 키메릭 및 생식계열 돌연변이체 생쥐에서 항체의 중쇄 결합 영역 유전자 동형 삭제는 내생 항체 생산의 완전한 억제 결과를 가져온다. 이러한 생식계열 돌연변이체 생쥐로의 인간 생식계열 면역글로불린 유전자 어레이의 전달은 항원이 존재할 때 인간 항체 생산의 결과를 낳을 것이다. 인간 항체는 파지 디스플레이 라이브러리에서도 생산될 수 있다.

[0472] 본 발명의 항체는 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 담체에 의해서 피험자에게 투여된다. 보통, 적당한 양의 약학적으로 허용가능한 염이 제형을 등장 상태로 만들기 위해 제형에 사용된다. 약학적으로 허용가능한 담체의 예로는, 링거 용액(Ringer's solution) 및 포도당 용액이 있다. 이 용액의 pH는 바람직하게는 약 5 내지 약 8 사이이며, 더 바람직하게는 약 7 내지 약 7.5 사이이다. 더 많은 담체는, 항체를 포함하는 세포간질이 막, 리포솜 또는 미세입자와 같은 형태로 되어 있는 고체 소수성 중합체 반투과성의 세포간질과 같은 지속적인 방출 제제를 포함한다. 예를 들어, 투여 방법 및 투여되는 항체의 농도에 따라 어떤 담체가 더 바람직한지는 이 분야의 당업자에게는 명백할 것이다.

[0473] 항체는 피험자, 환자 또는 세포에 주사(예를 들어, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내), 또는 주입과 같은 혈액으로서의 전달이 효율적으로 이루어질 수 있는 다른 방법으로 투여될 수 있다. 항체는 국소뿐만 아니라 전신의 치료 효과를 얻기 위해 종양 내 또는 종괴 주위의 방법으로도 투여될 수도 있다. 국소 또는 정맥내 주사가 바람직하다.

[0474] 항체 투여의 효율적인 용량과 스케줄은 경험적으로 결정될 수 있으며, 이러한 결정을 내리는 것은 이 분야의 기술 중의 하나다. 이 분야의 당업자는 투여되는 항체의 용량이 예를 들어 이 항체를 받는 대상, 투여 방법, 사용되는 특정한 항체의 종류 및 투여되는 다른 약들에 따라 달라진다는 것을 이해할 것이다. 단독으로 사용될 시 전형적인 항체의 일일 용량은 1 µg/kg 내지 100 mg/kg로 다를 수 있으며, 위에 언급된 요인을 고려할 때 이보다 더 높을 수도 있다. 바람직하게는 HCC의 치료를 위한 항체의 투여 후, 이 분야의 기술자들에게 알려진 다양한 방법으로 이 항체의 치료적 효능을 평가할 수 있다. 예를 들어, 치료를 받고 있는 대상의 암의 크기, 숫자, 및/또는 분포 등이 표준 종양 영상 기술을 이용하여 모니터링될 수 있다. 항체의 투여가 없을 경우 일어날 수 있는 질병 과정과 비교하여 종양의 성장을 정지시키고/거나, 종양을 오그라들게 하고/거나, 새로운 종양의 발달을 예방하는 치료의 목적으로 투여된 항체는 폐암의 치료에 효과적인 항체이다.

[0475] 따라서, 본 발명의 위 표에서 언급된 바와 같은 펩티드 및 이의 기저 폴리펩티드들이 HCC에서 주로 발현되고, 또한 정상 세포에서는 상당히 내지 극단적으로 낮은 수준으로 발현되기 때문에, 다음 유전자들의 단백질 생성물로 구성되는 군으로부터 선택된 단백질을 억제한다. 억제를 위해 및 항체 및/또는 TCR에 대해 바람직하기로는 GLUL, GPAM, PLIN2, SLC16A1, SLC9A3R1, PCBD1, SEC16A, AKR1C4, ABCB11, HAL, CYP2E1, C4A, C4B, ALDH1L1, CRP, ACSL4, EEF2, HLTF, FBX022, GALK1, TMC01, TMEM33, ZNF318, IPO9, AMACR, C1QTNF3, CYP4F8, CYP4F3, CYP4F11, CYP4F12, CYP4F2, MOCOS, A1CF, COL18A1, HPR, LBP, C19orf80, CFHR5, ITIH4, TMEM110, LARP4, LMF2, SLC10A5, 및 SLC16A11이며; 억제를 위해 및 항체 및/또는 TCR에 대해 여전히 바람직하기로는 ANKFY1, C12orf44, C16orf58, CPSF1, DCAF8, PEX19, DDX11, DDX12P, DECR2, NME4, DENND5B, DYM, EDC4, ERI3, FAM20A, FNDC3A, GPR107, GYG2, HEATR2, IFT81, KCTD3, SHKBP1, KIAA1324L, KLHL24, MARCH6, MBTPS2, MIR1279, CPSF6, NOC4L, NXF1, PANK2, PCNXL3, PIPSL, PSMD4, PSMD14, SLC35B1, TCP11L2, THNSL2, THOC2, TOMM5, TRAPPC6B, TRIM54, TRIM55, TRIM63, UGGT2, URB1, VPS54, WIZ, ZNF451, RFTN2, SCFD1, SERINC5, CCT7P2, CMAS, ANKS1A, C17orf70, CCT7, CDK5RAP2, CLPTM1이며, 및 억제를 위해 및 항체 및/또는 TCR에 대해 가장 바람직하기로 APOB, FASN, 및/또는 COPA이며; 이 마커들의 또는 이의 활성의 발현은 치료 전략으로 예를 들어 HCC의 치료 또는 예방을 위해 바람직하게 통합될 수 있다.

- [0476] 안티센스 치료의 원리는 유전자 발현(전사 또는 번역을 통한) 서열 특이적 억제제가 세포내 유전자 DNA 또는 mRNA와 상보적 안티센스 종의 혼성화에 의하여 이루어질 수 있다는 가설에 기반을 둔다. 이러한 하이브리드 핵산 듀플렉스의 형성은 표적 종양 항원 암호화 유전자 DNA의 전사, 처리/운반/번역 및/또는 표적 종양 항원 mRNA의 안정성을 방해한다.
- [0477] 안티센스 핵산은 여러 가지 방법으로 전달될 수 있다. 예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 안티센스 RNA는 종양이 섭취할 수 있도록 대상에게 직접 투여(예를 들어, 정맥내 주입)될 수 있다. 다른 방법으로는 바이러스 또는 안티센스 RNA(또는 RNA 단편)를 암호화하는 플라스미드 벡터가 세포 안으로 투여될 수 있다. 안티센스 효과는 센스 서열에 의해서 유도될 수도 있으나, 표현형 변화의 정도의 변수가 높다. 효율적인 안티센스 치료로 유도되는 표현형 변화는 예를 들어 표적 mRNA 수준, 표적 단백질 수준 및/또는 표적 단백질 활동 수준의 변화로 평가가 될 수 있다.
- [0478] 특정한 예로서, 안티센스 유전자 요법에 의한 HCC 표적/마커 기능의 억제는 안티센스 종양 마커 RNA의 직접적인 대상으로의 투여에 의해서 성취될 수 있다. 안티센스 종양 마커 RNA는 어떤 기본적인 방법을 통해 생성되고 분리될 수 있지만, 이는 가장 빠르게 안티센스 종양 마커 cDNA를 이용하여 높은 효율성을 갖는 프로모터 조정 아래에서 시험관 내 전사에 의해 얻어질 수 있다(예를 들어, T7 프로모터). 안티센스 종양 마커 RNA의 세포로의 투여는 하기 직접 핵산 투여의 방법으로 이루어질 수 있다.
- [0479] 상기 언급된 단백질, 가장 바람직하게는 APOB, FASN, 및/또는 COPA로 구성되는 군으로부터 선택된 단백질의 기능 억제를 위한 대체 전략에는 핵산(예를 들어, 암세포나 다른 세포 안으로 이전이 가능하며 세포내 항체 발현 및 분비를 초래하는 siRNA 또는 항단백질 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산), 단백질이나 작은 분자 또는 이 단백질의 발현, 번역 및/또는 생물학적 기능을 표적으로 하는 다른 모든 화합물의 사용이 연관된다.
- [0480] 외인성 DNA의 대상의 세포로의 투여와 흡수를 포함하는 위에 묘사된 방법(즉, 유전자 형질도입과 감염)에서, 본 발명의 핵산은 네이키드 DNA 또는 벡터 형태의 핵산일 수 있으며, 이는 핵산을 세포로 전달하여 HCC 마커 단백질 발현의 억제에 사용된다. 벡터는 아데노바이러스 벡터(퀀텀 바이오테크놀로지스 인코포레이티드(Quantum Biotechnologies, Inc.)(캐나다 퀘벡주 라발 소재)와 같이 상용적으로 구입할 수 있다. 핵산 또는 벡터의 세포로서의 전달은 여러 가지의 기전으로 이루어진다. 하나의 예로서, 이 전달은 리포펙틴(LIPOFECTIN), 리포펙타민(LIPOFECTAMINE)(김코-25 비알엘 인코포레이티드(GIBCO-25 BRL, Inc.)), 미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재), 수퍼펙트(SUPERFECT)(퀴아젠 인코포레이티드(Qiagen, Inc.)), 독일 힐텐 소재) 및 트랜스펙탐(TRANSFECTAM)(프로메가 바이오테크 인코포레이티드(Promega Biotec, Inc.)), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)와 같이 상용적으로 구입가능한 리포솜 제제 또는 이 분야의 기준 방법에 의해서 개발된 다른 리포솜을 사용하여 가능하다. 추가적으로, 본 발명의 핵산 또는 벡터의 생체 내 전달은 제네트로닉스 인코포레이티드(Genetronics, Inc.)), 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)의 기술에 의한 전기 천공은 물론 소노포레이션 장비(이마알렉스 파마슈티칼 코퍼레이션(ImaRx Pharmaceutical Corp.)), 미국 애리조나주 투산 소재)의 수단에 의해 가능하다.
- [0481] 하나의 예로서, 벡터 전달은 레트로바이러스 유전체를 포장할 수 있는 레트로바이러스 벡터 시스템과 같은 바이러스 시스템에 의해서 이루어질 수 있다. 재조합 레트로바이러스는 이의 후 상기 언급된 단백질들로 구성되는 군으로부터 선택된 단백질의 발현을 억제하는 안티센스 핵산을 감염된 세포로 전달하는 데 사용할 수 있다. 변형된 핵산을 표유류로 주입하는 정확한 방법은 물론 레트로 바이러스 벡터의 사용에 국한되지 않는다. 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터(AAV), 렌티바이러스 벡터, 슈도유형 레트로바이러스 벡터 등을 포함한 다른 기술 또한 이러한 절차에 널리 사용된다. 리포솜 전달과 수용체-매개 및 다른 세포이물 흡수 기전을 포함한 물리적인 형질 도입 기술 또한 사용될 수 있다. 본 발명은 이러한 방법들 또는 다른 유전자 전달 방법과 결합하여 사용될 수 있다.
- [0482] 항체는 생체 내의 진단 분석에 사용될 수도 있다. 보통, 항체는 방사성핵종으로 라벨되고(예를 들어, ¹¹¹In, ⁹⁹Tc, ¹⁴C, ¹³¹I, ³H, ³²P 또는 ³⁵S) 면역 섬광 조형술을 사용하여 이의 종양이 국소화될 수 있다. 하나의 구현에서는, 항체 또는 이의 단편은 상기 언급된 단백질들로 구성되는 군으로부터 선택된 단백질에 대한 2개 또는 이의 이상의 표적의 세포외 도메인에 결합을 하고 친화성 값(Kd)은 1 x 10⁻⁶ μM보다 낮다.
- [0483] 진단의 용도로 사용되는 항체는 여러 가지의 영상 방법으로 감지될 수 있는 적당한 프로브로 라벨될 수 있다. 프로브의 감지 방법은 형광, 광학, 공초점 및 전자 현미경, 자기 공명 단층 촬영 영상 및 분광기 형광 투시법, 전산화 단층 촬영과 양전자 방사 단층 촬영기를 포함하지만 이에 국한되지 않는 방법을 들 수 있다. 적당한 프로브는 플루오레세인, 로다민, 에오신과 다른 형광체, 방사성 동위 원소, 금, 가돌리늄과 다른 란타넘계 원소,

상자성체의 이온, 플루오르-18 및 다른 양전자 방출 방사성 핵종 등을 포함하지만, 이에 국한되지 않는다. 또한, 프로브는 2개의 또는 이의 이상의 기능을 가지고 있을 수 있으며, 여기에 나열된 하나 이상의 방법으로 감지될 수 있다. 이러한 항체는 직접적으로 또는 간접적으로 여기에 나열된 프로브로 라벨될 수 있다. 이렇게 항체와 프로브를 연결하는 것으로는 이 분야에서 잘 알려진 것들 중에 프로브의 공유원자 연결, 프로브의 항체로의 편입, 및 프로브의 결합을 위한 킬레이트 화합물의 공유원자 연결 등을 들 수 있다. 면역조직 화학을 위해서, 질병 조직 샘플은 신선하거나 냉동되었거나 파라핀에 포매되어 포르말린과 같은 방부제로 고정되어 있을 수 있다. 고정되었거나 포매되어 있는 샘플을 포함하는 조직 절편은 라벨된 1차 항체와 2차 항체와 접촉되며 여기서 이의 항체는 동일 반응계 단백질 발현의 감지를 위해 사용된다.

[0484] 위에서 언급된 바와 같이, 본 발명은 서열번호 1 내지 서열번호 300으로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열번호 1 내지 서열번호 300에 대해 90% 상동성인 이의 변이체 또는 상기 펩티드와 교차 반응하는 T 세포를 유도하는 이의 변이체를 제공한다. 본 발명의 펩티드는 인간 구조적적합 복합체(MHC) 클래스 I의 분자에 또는 상기 펩티드의 신장된 버전의 클래스 II에 결합하는 능력을 갖는다.

[0485] 본 발명에서, "상동"이라는 용어는 2개의 아미노산 서열, 즉, 펩티드 또는 폴리펩티드 서열 사이의 일치 정도를 일컫는다. 전술한 "상동"은 비교될 2개의 서열에 대한 최적 상태에서 2개의 서열을 나란히 정렬시킴으로서 결정된다. 이러한 서열 상동 관계는 예를 들어 ClustalW 알고리즘을 이용하여 정렬을 만들어 계산할 수 있다. 일반적으로 사용가능한 서열 분석 소프트웨어, 더 구체적으로 벡터 NTI, GENETYX 또는 분석 기구 등은 공용 데이터베이스에서 제공된다.

[0486] 이 분야의 당업자는 특정한 펩티드의 변이체에 의해서 유도된 T 세포가 이의 자신의 펩티드와 상호 반응할 수 있을지를 평가할 수 있을 것이다(문헌[Fong L, et al. 종양 면역요법을 위한 Flt3 리간드 팽창 수지상 세포를 사용한 변형 펩티드 리간드 예방접종(Altered peptide ligand vaccination with Flt3 ligand expanded dendritic cells for tumor immunotherapy). Proc Natl Acad Sci USA. 2001 Jul 17;98(15):8809-14]; [Zaremba S, et al. 인간 암배아 항원으로부터의 인핸서 작용제 세포 독성 T 림프구의 동정(Identification of an enhancer agonist cytotoxic T lymphocyte peptide from human carcinoembryonic antigen). Cancer Res. 1997 Oct 15;57(20):4570-7]; [Colombetti S, et al. 이중상동성 멜란-A 펩티드 면역의 안티-셀프 멜란-A/HLA-A2 T 세포 교차 반응성에 미치는 영향(Impact of orthologous melan-A peptide immunizations on the anti-self melan-A/HLA-A2 T cell cross-reactivity). J Immunol. 2006 Jun 1;176(11):6560-7]; Appay V, et al. 멜란-A 펩티드에 의한 예방접종 후 항원 인식의 감소된 특이적 CD8+ T 세포 교차 반응성(Decreased specific CD8+ T cell cross-reactivity of antigen recognition following vaccination with Melan-A peptide). Eur J Immunol. 2006 Jul;36(7):1805-14]).

[0487] 주어진 아미노산 서열의 "변이체"에 의해, 본 발명자들은 펩티드가 여전히 서열번호 1 내지 서열번호 300의 아미노산 서열로 구성되는 주어진 아미노산 서열로 구성되는 펩티드와 실질적으로 같은 방법으로 HLA 분자와 결합할 수 있도록 예를 들어, 하나 또는 2개의 아미노산 잔기의 측쇄가 변경(예를 들어 그들을 자연적으로 발생하는 다른 아미노산 잔기 또는 다른 측쇄로 교체하여)됨을 의미한다. 예를 들어, 펩티드는 HLA-A*02 또는 -DR과 같은 적당한 MHC 분자의 결합 홈과 상호 작용하고 결합하는 능력이 향상되지 않은 경우 적어도 유지하고, 이에 따라 활성화된 T 세포의 TCR과 결합할 수 있는 능력이 향상되지 않은 경우 적어도 유지하기 위해 변형될 수 있다.

[0488] 이 T 세포는 이의 결과로 본 발명의 한 양태에서 정의된 바 있는 같은 혈종의 펩티드의 자연 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 발현하는 세포와 상호 반응을 하고 이의 세포들을 죽인다. 과학 문헌에서 얻을 수 있듯이(문헌[Godkin A, et al. 펩티드의 인슐린-의존 당뇨병 감수성 대립형질 HLA-DQ8 (DQ 3.2)에 대한 결합 특성 파악을 위한 용출된 펩티드 서열의 사용(Use of eluted peptide sequence data to identify the binding characteristics of peptides to the insulin-dependent diabetes susceptibility allele HLA-DQ8 (DQ 3.2)). Int Immunol. 1997 Jun;9(6):905-11]) 및 데이터베이스(Rammensee H. et al. SYFPEITHI: MHC 리간드 및 펩티드 모티프의 데이터베이스(SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs). Immunogenetics. 1999 Nov; 50(3-4):213-9]), HLA 결합 펩티드의 특정한 위치는 전형적으로 HLA 수용체의 결합 모티프에 맞는 코어 서열을 형성하는 고정 잔기이며 이는 결합 홈을 이루고 있는 폴리펩티드 사슬의 극성, 전기 물리성, 소수성 및 공간적 특성에 의해 정의된다. 따라서 이 분야의 당업자는 알려진 고정 잔기를 유지함으로써 서열번호 1 내지 서열번호 300에 정해진 아미노산 서열을 변형할 수 있고 이러한 변이체가 MHC 클래스 I 또는 II 분자와 결합할 수 있는 능력을 유지할 수 있는지를 결정할 수 있어야 한다. 본 발명의 변이체는 활성화된 T 세포의 TCR과 결합할 수 있는 능력을 유지하고, 이는 이의 결과로 본 발명의 양태에서 같은 혈종의 펩티드라고 정의가 된 자연 아미

노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 발현하는 세포와 상호반응을 하고 이들을 죽일 수 있다.

[0489] T 세포 수용체와 상호작용하는 데에 실질적으로 기여를 하지 않는 아미노산 잔기들은 이와 결합함으로써 T 세포의 반응성에 큰 영향을 주지 않고 관련된 MHC와의 결합을 제거하지 않는 다른 아미노산과의 교체에 의해 변형될 수 있다. 따라서, 주어진 조건 외에도, 본 발명의 펩티드는 아미노산 서열 또는 이의 일부 또는 변이체를 포함하는 임의의 펩티드(본 발명자들은 올리고펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다고 일컫음)일 수도 있다.

[0490] TCR과 상호 작용하는 데에 실질적으로 기여를 하지 않는 아미노산 잔기들은 이와 결합됨으로써 T 세포의 반응성에 큰 영향을 주지 않고 관련된 MHC와의 결합을 제거하지 않는 다른 아미노산과의 교체에 의해 변형될 수 있다. 따라서, 주어진 조건 외에도, 본 발명의 펩티드는 아미노산 서열 또는 이의 일부 또는 변이체를 포함하는 임의의 펩티드(본 발명자들은 올리고펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다고 일컫음)일 수도 있다.

[0491] 서열번호 1, 117 및 246에 따른 펩티드의 변이체 및 모티프

위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9
서열번호 1	V	M	A	P	F	T	M	T	I
변이체									V
									L
									A
		L							V
		L							L
		L							
		L							A
		A							V
		A							L
		A							
		A							A
		V							V
		V							L
		V							
		V							A
		T							V
		T							L
		T							
		T							A
		Q							V
		Q							L
		Q							
		Q							A
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9
서열번호 246	K	L	I	S	S	Y	Y	N	V
변이체		I							L
		I							I
		I							
		I							A
		M							L
		M							I
		M							
		M							A
		A							L
		A							I

[0492]

		A							
		A							A
		V							L
		V							I
		V							
		V							A
		T							L
		T							I
		T							
		T							A
		Q							L
		Q							I
		Q							
		Q							A
		Q							
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9
서열번호 117	Y	A	F	P	K	S	I	T	V
변이체									L
									I
									A
		M							L
		M							I
		M							
		M							A
		L							L
		L							I
		L							
		L							A
		V							L
		V							I
		V							
		V							A
		T							L
		T							I
		T							
		T							A
		Q							L
		Q							I
		Q							
		Q							A

[0493]

[0494]

더 긴 펩티드도 적합할 수 있다. 대개 길이가 8 내지 11개 아미노산이지만, MHC 클래스 I 에피토프는 더 긴 펩티드로부터 처리되는 펩티드 또는 실제 에피토프를 포함하는 단백질에 의해 생성될 가능성도 있다. 실제 에피토프가 양측에 있는 잔기는 처리 동안 실제 에피토프를 노출하는데 필요한 단백질 분해에 의한 분열에 실질적으로 영향을 주지 못하는 잔기이다.

[0495]

따라서, 본 발명은 MHC 클래스 I 에피토프의 펩티드와 변이체를 제공하며 여기서 펩티드 또는 이의 변이체는 전체 길이가 8 내지 100개, 바람직하게는 8 내지 30개, 가장 바람직하게는 8 내지 14개이고, 이는 즉 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14개의 아미노산이다. 연장된 클래스 II 결합 펩티드의 경우 이의 길이는 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 아미노산일 수도 있다.

[0496]

물론, 본 발명에 따른 펩티드 또는 이의 변이체는 인간 구조적 적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력을 갖게 된다. 펩티드 또는 이의 변이체의 MHC 복합체에 대한 결합은 당업계의 방법에 의해 시험할 수 있다.

[0497]

본 발명의 특히 바람직한 구현에서 이의 펩티드는 서열번호 1 내지 서열번호 1 내지 서열번호 300에 따른 아미

노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성된다.

- [0498] "본질적으로 구성되는"이란 서열번호 1 내지 서열번호 300에 따른 서열 또는 이 변이체 외에도 본 발명에 따른 펩티드가 MHC 분자 에피토프로써 기능하는 펩티드의 부분을 형성할 필요 없는 아미노산의 추가적인 N- 및 또는 C-말단에 위치 길이를 포함하는 것을 의미한다.
- [0499] 그럼에도 불구하고, 이 길이의 아미노산은 본 발명에 따르면 세포 안으로의 효율적인 펩티드의 도입에 중요한 역할을 할 수 있다. 본 발명의 하나의 구현에서는, 펩티드는 예를 들어 NCBI, 젠뱅크(GenBank) 수탁번호 X00497에서 유도된 것처럼 HLA-DR 항원-결합 불변 쇄(p33, 다음의 "Ii")의 80개 N-말단 아미노산을 포함하는 융합 단백질의 일부이다. 다른 융합에서는, 본 발명의 펩티드는 항체에 의해 특이적으로 표적될 수 있도록 여기서 설명된 상기 항체나 이의 기능적 일부 특히 항체의 서열에 대해 또는 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체에 대해 또는 이의 안으로 융합될 수 있다.
- [0500] 추가적으로, 펩티드 또는 이의 변이체는 안정성 및/또는 MHC 분자와의 결합성을 높여 더 강한 면역 반응을 일으킬 수 있도록 변형될 수 있다. 펩티드 서열의 최적화를 위한 방법은 이 분야에서 잘 알려져 있으며, 예를 들어 반대 펩티드 결합 또는 비-펩티드 결합을 도입하는 것이 있다.
- [0501] 반대 펩티드 결합에서는 아미노산 잔기가 펩티드(-CO-NH-) 연결기로 결합되어 있지 않으나 펩티드 결합이 반대로 되어있다. 이러한 역-인버스 펩티드 모방형 물질은 이 분야에서 잘 알려진 방법으로 생성될 수 있으며, 이 방법의 예는 이 문헌의 참조 문헌으로 포함된 문헌[Meziere et al(1997) J. Immunol. 159, 3230-3237]에 묘사되어 있는 방법을 들 수 있다. 이 방법은 백본의 변형을 포함하지만, 측쇄의 방향을 바꾸지 않는 유사펩티드를 만드는 것을 포함한다. Meziere 등(1997)은 MHC 결합과 조력 T 세포 반응에서 이 유사 펩티드가 유용하다는 것을 보여준다. CO-NH 대신에 NH-CO 결합을 포함하는 역-인버스 펩티드는 단백질 가수 분해에 대한 저항력이 훨씬 높다.
- [0502] 비-펩티드 결합의 예는 $-CH_2-NH$, $-CH_2S-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH=CH-$, $-COCH_2-$, $-CH(OH)CH_2-$, 및 $-CH_2SO-$ 이다. 미국 특허 4,897,445는 기본 과정을 거쳐 합성된 폴리펩티드와 아미노 알데히드와 아미노산을 $NaCNBH_3$ 존재 하에 반응시켜 생성된 비-펩티드 결합을 포함한 폴리펩티드 쇄의 비-펩티드 결합($-CH_2-NH$)을 위한 고체상 합성의 방법을 제공한다.
- [0503] 위에서 묘사된 서열을 가지고 있는 펩티드는 안정성, 생물가용성, 및/또는 펩티드의 친화성을 증가시키기 위해 추가적인 화학 기를 아미노 및 또는 카복시 말단에 결합시킬 수도 있다. 예를 들어, 카보벤족실, 단실, 또는 t-부틸옥시카보닐 기 등의 수소성 기가 펩티드의 아미노 말단에 추가될 수 있다. 비슷하게, 아세틸 기 또는 9-플루오레닐메톡시-카보닐-기가 펩티드의 아미노 말단에 위치할 수도 있다. 또한, 수소성 기, t-부틸옥시카보닐, 또는 아미도 기 또한 펩티드의 카복시 말단에 추가될 수 있다.
- [0504] 또한, 이 발명의 펩티드는 그들의 입체 배치를 변화시키기 위해 생성될 수도 있다. 예를 들어, 펩티드의 하나 또는 이의 이상의 아미노산 잔기의 D-이성질체가 보통의 L-이성질체 대신에 사용될 수도 있다. 더 나아가서, 발명의 펩티드의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 비-자연적으로 일어나는 아미노산 잔기와 치환될 수도 있다. 이와 같은 변화는 안정성, 생물가용성, 및/또는 본 발명의 펩티드의 결합을 증가시킬 수 있다.
- [0505] 유사하게, 이 발명의 펩티드 또는 이의 변이체는 특정한 아미노산을 펩티드 생성 전 또는 후에 반응시킴으로써 화학적으로 변형될 수 있다. 이러한 변형의 예는 이 분야에서 잘 알려져 있으며 예를 들어 이 문헌의 참조 문헌에 포함되는 문헌[R. Lundblad, Chemical Reagents for Protein Modification, 3rd ed. CRC Press, 2005]에 잘 묘사되어 있다. 아미노산의 화학 변형은 아실화, 아미딘화, 리신의 피리독실화, 환원성 알킬화 반응, 아미노산의 2,4,6-트리니트로벤젠 설포화(TNBS)에 의한 트리니트로벤질화, 카복실 기의 아미드 변형 및 퍼포민산에 의한 설피드릴 변형, 시스틴의 시스테인산으로의 산화, 머큐리얼 유도체 생성, 다른 티올 합성의 다이설피드 생성, 말레이미드와의 반응, 요오드화 아세트산 또는 요오도아세트아미드에 의한 카복시메틸화 및 알칼리성 pH에서 사이안산 염에 의한 카바미화를 포함하지만 이에 국한 되지 않은 변형을 말한다. 이에 관해서, 더 광대한 단백질의 화학 변형에 대한 방법론에 대해서는 당업자는 문헌[Current Protocols In Protein Science, Eds. Coligan et al. (John Wiley & Sons NY 1995-2000)]의 15장을 참조하길 바란다.
- [0506] 간단히 말하면, 예를 들어 단백질의 아르기닌 잔기의 변형은 흔히 페닐글리옥산, 2,3-부탄디온 및 1,2-사이클로헥산디온과 같은 인근의 디카르보닐 화합물과의 반응에 근거하여 부가물을 형성한다. 다른 예는 메틸글리옥살과 아르기닌 잔기와의 반응이다. 시스테인은 리신과 히스티딘과 같은 다른 친핵성 부위의 동시 변형 없이 변형시킬

수 있다. 이의 결과 다수의 시약들이 시스테인 변형에 사용가능하다. 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)와 같은 회사들의 웹사이트(<http://www.sigma-aldrich.com>)에서는 특정한 시약에 관한 정보를 제공하고 있다.

- [0507] 단백질에서 이황화 결합의 선택적 환원 또한 흔하다. 단백질에서 이황화 결합은 생물약제의 열 처리 동안 형성되어 산화될 수 있다. 우드워드의 시약(Woodward's Reagent) K는 특이적 글루탐산 잔기의 변형에 사용될 수 있다. N-(3-디메틸아미노)프로필-N'-에틸카보다이미드를 사용하여 리신 잔기와 글루탐산 잔기 사이의 분자 내 가교를 형성할 수 있다. 예를 들어, 디메틸피로카보네이트는 단백질에서 히스티딘 잔기의 변형을 위한 시약이다. 히스티딘은 4-히드록시-2-노네날을 사용하여 변형시킬 수 있다. 리신 잔기와 다른 α-아미노기의 반응은, 예를 들어, 펩티드의 표면 결합 또는 단백질/펩티드들의 가교에 유용하다. 리신은 폴리(에틸렌)글리콜의 부착 부위이며 단백질의 당화에서 중요 변형 부위이다. 단백질에서 메티오닌 잔기는 예를 들어 요오도아세트아미드, 브로모에틸아민 및 클로르아민 T를 사용하여 변형시킬 수 있다.
- [0508] 테트라니트로메탄 및 N-아세틸이미다졸은 티로실 잔기의 변형에 사용할 수 있다. 디티로신의 형성을 통한 가교 형성은 과산화 수소/구리 이온으로써 성취할 수 있다.
- [0509] 트립토판의 변형에 대한 최근의 연구에서는 N-브로모숙신이미드, 브롬화 2-히드록시-5-니트로벤질 또는 3-브로모-3-메틸-2-(2-니트로페닐메르캅토)-3H-인돌(BPNS-스카톨)이 사용된 바 있다.
- [0510] PEG를 이용한 치료 단백질과 펩티드의 성공적인 변환은 순환 반감기의 증가를 시키는 것과 흔히 관련되어 있는 반면, 단백질을 글루타르알데히드, 폴리에틸렌 글리콜 디아크릴레이트 및 포르말데히드와 교차 결합은 면역 치료를 위한 알레르겐의 화학적 변형은 종종 칼륨 시안산염으로 카바밀화하여 달성된다.
- [0511] 펩티드 또는 이의 변이체(여기에서 펩티드는 변환되었거나 비-펩티드 결합을 포함함)는 본 발명 구현에서 바람직하다. 보통, 펩티드와 변이체(적어도 펩티드 연결기를 아미노산 잔기 사이에 포함하는 것들)는 고체상 펩티드 합성의 Fmoc-폴리아미드 모드에 의해 합성될 수 있으며, 이는 문헌[Lukas et al. 연속흐름 조건 하에서 고상 펩티드 합성(Solid-phase peptide synthesis under continuous-flow conditions). Proc Natl Acad Sci U S A. May 1981; 78(5): 2791-795], 및 여기에 인용된 참조문헌에 공개되어 있다. 일시적인 N-아미노 기 보호는 9-플루오레닐메틸옥시카보닐(Fmoc) 기에 의해 제공된다. 이렇게 주로 염기 불안정한 보호 기의 반복적인 절단은 N,N-디메틸포르미아이드 중 20% 피페리딘을 이용하여 이루어진다. 측쇄 작용기는 부틸 에테르(세린, 트레오닌 및 티로신의 경우), 부틸 에스테르(글루탐산 및 아스파르트산의 경우), 부틸옥시카보닐 유도체(리신과 히스티딘의 경우), 트라이틸 유도체(아르기닌의 경우) 및 4-메톡시-2,3,6-트리메틸벤젠술포닐 유도체(아르기닌의 경우)로서 보호될 수 있다. 글루타민 또는 아스파라긴이 C-말단의 잔기인 경우, 4,4'-디메톡시벤즈히드릴 기가 사용되어 측쇄 아미도 작용기를 보호한다. 고체상 지지체는 디메틸아크릴아미드(백본-단량체), 비스아크릴로일에틸렌 디아민(가교 결합) 및 아크릴로일사르코신 메틸 에스테르(기능 작용제)의 3개의 단량체로 만들어진 폴리디메틸-아크릴아미드 중합체에 기반을 둔다. 펩티드 대 수지 절단가능 연결 작용제로 사용되는 것은 산-불안정 4-히드록시메틸-페녹시아세트산 유도체이다. 모든 아미노산 유도체는 역 N,N-디사이클로헥실-카보다이미드/1-히드록시벤조트리아졸 매개된 커플링 과정에 의해 추가되는 아스파라긴과 글루타민을 제외하여 미리 생성된 대칭의 무수물 유도체로서 추가된다. 모든 커플링과 탈보호 반응은 닌히드린, 트리니트로벤젠 술포산 또는 이소틴 실험 과정에 의해 모니터링된다. 합성 완료 시에, 펩티드는 수지 지지체에서 50% 스캐빈저 믹스를 포함한 95% 트리플루오로아세트산에 의한 측쇄 보호 기 제거와 동시에 절단된다. 일반적으로 사용되는 스캐빈저로는 에탄디올, 페놀, 아니솔 및 물을 포함하고, 정확한 선택은 합성되는 펩티드에 포함되는 아미노산에 따라 결정된다. 펩티드의 합성에 있어서 고체상과 액체상 방법의 조합이 또한 가능하다(예를 들어, 문헌[Bruckdorfer et al. 2004]과 그에 인용된 참조 문헌을 참고).
- [0512] 트리플루오로아세트산은 진공 상태에서 증발 및 이의 이후 디에틸 에테르에 의한 분쇄에 의해 제거되고 조 펩티드를 생성한다. 존재하는 임의의 스캐빈저는 수성상의 냉동건조에 의한 간단한 추출 과정에 의해 제거되며 이는 스캐빈저가 없는 조 펩티드를 생성한다. 펩티드 합성을 위한 시약은 일반적으로 예를 들어 칼바이오캠-노바바이오캠(Calbiochem-Novabiochem)(영국 노팅엄 소재)와 같은 곳에서 제공된다.
- [0513] 정제는 재결정제, 크기 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호 작용 크로마토그래피 및 (보통) 예를 들어 아세토니트릴/물 구배 분리를 사용하는 역상 고성능 액체 크로마토그래피 등의 단일 방법 또는 이의 조합 방법에 의해 시행된다.
- [0514] 펩티드의 분석은 박층 크로마토그래피, 전기영동, 특히 모세관 전기영동, 고체상 추출(CSPE), 역상 고성능 액체 크로마토그래피, 산 가수분해 후 아미노산 분석 및 고속 원자 폭격(FAB) 질량 분광분석, 및 MALDI와 ESI-Q-TOF

질량 분광분석 등에 의해 이루어진다.

- [0515] 본 발명의 다른 양태는 본 발명의 펩티드 또는 펩티드 변이체를 암호화하는 핵산(예를 들어 폴리뉴클레오티드)에 대한 정보를 제공한다. 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, DNA, cDNA, PNA, CNA, RNA 또는 이의 조합일 수 있으며, 단일 가닥 및/또는 이중 가닥으로 되어 있을 수 있고, 또는 본래의 형일 수도 또는 예를 들어 포스포포티오에이트 백본을 가지고 있는 폴리뉴클레오티드의 안정제된 형으로 되어 있을 수도 있으며, 펩티드를 암호화하는 한 인트론을 포함할 수도 또는 그렇지 않을 수도 있다. 물론, 자연적으로 일어나는 펩티드 결합에 의해 결합된 자연적으로 일어나는 아미노산 잔기로 구성되는 펩티드만이 폴리뉴클레오티드에 의해서 암호화될 수 있다. 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명에 따른 폴리펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터에 대한 설명을 제공한다.
- [0516] 특히 DNA와 같은 폴리뉴클레오티드를 예를 들어 상보성 응집 말단을 이용하여 벡터에 연결하는 여러 가지 방법이 개발되었다. 예를 들어, 상보성 동종중합체 트랙트가 DNA 분절에 추가되어 이를 벡터 DNA에 삽입할 수 있다. 이후 벡터와 DNA 분절은 상보성 동종중합체 꼬리 사이에 수소 결합을 이용하여 재조합 DNA 분자를 생성할 수 있다.
- [0517] 하나 또는 이의 이상의 제한 부위를 포함하는 합성된 연결부위는 DNA 분절과 벡터를 결합하는 다른 방법을 제시한다. 여러 가지의 제한 엔도뉴클레아제 부위를 포함하는 합성 연결부위는 상업적으로 인터내셔널 바이오테크놀로지스 인코포레이티드(International Biotechnologies Inc)(미국 캘리포니아주 뉴헤븐 소재)를 비롯한 다수의 공급처에서 구입가능하다.
- [0518] 본 발명의 폴리펩티드를 암호화하는 DNA를 변환하는 바람직한 방법은 다음의 사이키 알케이(Saiki Rk) 등에 의하여 공개된 폴리머라아제 연쇄 반응을 이용한다(효소적으로 증폭된 DNA 및 비방사능 대립형질-특이적 올리고뉴클레오티드 프로브에 의한 겸상적혈구 빈혈 및 베타-지중해 빈혈의 진단(Diagnosis of sickle cell anemia and beta-thalassemia with enzymatically amplified DNA and nonradioactive allele-specific oligonucleotide probes). N Engl J Med. 1988 Sep 1;319(9):537-41). 이 방법은 예를 들어 적당한 제한 부위를 만들어 적당한 벡터로의 DNA 도입 또는 이 분야에서 알려져 있는 다른 유용한 방식으로 DNA를 변환하는 데에 사용될 수도 있다. 바이러스 벡터가 사용된다면, 수두- 또는 아데노바이러스 벡터가 바람직하다.
- [0519] DNA(또는 레트로 바이러스 벡터일 시, RNA)는 이의 후 적당한 숙주에서 발현되며 이는 본 발명의 펩티드 또는 이의 변이체를 가지고 있는 폴리펩티드를 생성한다. 따라서, 본 발명의 펩티드 또는 이의 변이체를 암호화하는 DNA는 (본원에 함유된 교시의 관점에서 적당히 변형된) 알려진 기술에 따라 사용되어 발현 벡터를 구성한 후 본 발명의 폴리펩티드의 발현과 생성을 위해 적당한 숙주 세포로 형질전환을 시키는 데에 사용된다. 이러한 기법은 예를 들어 다음에 공개되어 있다: 미국 특허 4,440,859, 4,530,901, 4,582,800, 4,677,063, 4,678,751, 4,704,362, 4,710,463, 4,757,006, 4,766,075 및 4,810,648.
- [0520] 본 발명의 화합물을 만드는 폴리펩티드를 암호화하는 DNA(또는 레트로바이러스 벡터일 경우, RNA)는 많은 종류의 다른 DNA 서열과 결합되어, 적당한 숙주로의 도입될 수 있다. 동반 DNA는 숙주의 특성, DNA를 숙주로 도입하는 방법, 및 에피소말 유지 또는 통합이 필요한 지에 따라 결정될 것이다.
- [0521] 일반적으로, DNA는 플라스미드와 같은 발현 벡터로 발현을 위한 올바른 방향 및 올바른 리딩 프레임에 맞추어 삽입된다. 필요할 경우, DNA는 바람직한 숙주에 의해 인식되는 적당한 전사 및 번역 규제 제어 뉴클레오티드 서열과 함께 연결될 수도 있지만, 상기 제어는 대부분의 경우 숙주 세포 내에 발현 벡터가 이용가능하다. 벡터는 그 후 기본적인 기술을 통해 숙주로 도입된다. 일반적으로, 모든 숙주가 벡터에 의해 형질전환되지 않는다. 따라서, 형질전환된 숙주 세포를 선택하는 것이 필요할 것이다. 하나의 선택 기술은 발현 벡터 DNA서열을 형질전환된 세포에서 선택가능한 특성, 예를 들어, 항생제 저항력을 암호화하는, 임의의 필요한 제어 요소를 통합시키는 것이다.
- [0522] 다른 방법으로는, 이러한 선택가능한 특성이 다른 벡터에 있을 수도 있으며, 이는 바람직한 숙주 세포를 동시-형질전환하는 데에 사용된다.
- [0523] 본 발명의 재조합 DNA에 의해 형질전환된 숙주 세포는 충분한 시간 동안 적당한 상태에서 당업자에 의해서 배양되고 이는 폴리펩티드의 발현을 가능하게 하며, 이는 후에 회복될 수 있다.
- [0524] 박테리아(예를 들어, 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*)와 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)), 효모(예를 들어 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*)), 사상균류(예를 들어 아스페르길러스 스피시즈(*Aspergillus spec.*)), 식물 세포, 동물 세포 및 곤충 세포 등의 많은 발현 체계가 알려져 있다. 바람직한 체계는, 이의 체계는 ATCC 셀 바이올로지 컬렉션(Cell Biology Collection)에서 구할 수 있는 CHO 세포 등의 포

유류 세포로 구성될 수 있다.

- [0525] 구조성 발현을 위한 전형적인 포유류 세포 벡터 플라스미드는 CMV 또는 SV40 프로모터와 적당한 폴리 A 꼬리 및 네오마이신과 같은 저항 마커를 포함한다. 하나의 예는, 파마시아(Pharmacia)(미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재)에서 구할 수 있는 pSVL이다. 유도가능 포유류 발현 벡터의 예는 pMSG이며 이 또한 파마시아에서 구할 수 있다. 유용한 효소 플라스미드 벡터는 pRS403-406과 pRS413-416이며 이는 대부분 스트라타진 클로닝 시스템(Stratagene Cloning Systems)(미국 캘리포니아주 라호이아 소재)에서 구할 수 있다. 플라스미드 pRS403, pRS404, pRS405 및 pRS406은 효소 통합 플라스미드(YIPs)이며 이는 효소 선택 마커 HIS3, TRP1, LEU2와 URA3를 통합한다. 플라스미드 pRS413-416는 효소 동원체 플라스미드(Ycps)이다. CMV 프로모터 기반 벡터(예를 들어 시그마-알드리치)는 일시적인이거나 안정된 발현, 세포질 발현 또는 분비, 및 FLAG, 3xFLAG, c-myc 또는 MAT 등의 다양한 합성의 N-말단 또는 C-말단 태깅 등을 제공한다. 이러한 융합 단백질은 재조합 단백질의 감지, 정제와 분석을 가능하게 한다. 듀얼-태깅된 융합은 감지의 유연성을 제공한다.
- [0526] 강한 인간 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 규제 지역은 구성적인 단백질 발현 수준을 높게는 COS 세포에서 1 mg/L까지 작동한다. 좀 더 효능이 약한 세포주에서는, 단백질 수준이 전형적으로 약 0.1 mg/L 정도이다. SV40 복제 원점이 있음으로서 SV40, 복제를 가능하게 하는 COS 세포 DNA 복제의 수준이 높은 결과를 낳는다. CMV 벡터는 예를 들어 박테리아 세포에서의 복제를 위해 pMB1(pBR32의 유도체) 원점을 박테리아에서 암피실린 저항 선택을 위해 b-락타마아제 유전자, hGH 폴리A, 및 f1 원점을 가지고 있을 수 있다. 프리-프로-트립신 리더(PPT) 서열을 포함하는 벡터는 FLAG 융합 단백질의 분비를 항-FLAG 항원, 수지, 및 플레이트를 사용하여 정제용 배양 배지로 유도할 수가 있다. 다른 벡터와 발현 체계는 여러 가지의 숙주 세포 사용에 대해 당업계에 널리 알려져 있다.
- [0527] 다른 구현에서는 본 발명의 2개 이상 펩티드나 펩티드 변이체가 암호화 됨으로써 연속적인 순서로 발현된다("줄로 엮은 유리알" 구조와 유사). 그렇게 함으로써 펩티드나 펩티드 변이체는 예를 들어 LLLLLL과 같은 링커 아미노산의 퍼짐에 의해 함께 연결 또는 융합될 수 있거나, 이의 사이에 추가의 펩티드(들) 없이 연결될 수 있다. 이러한 구성들은 암 요법에서도 사용할 수 있으며 MHC I 및 MHC II 모두가 연관되는 면역 반응을 유도할 수 있다.
- [0528] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 벡터 구성에 의해 형질전환된 숙주 세포에 관한 것이다. 숙주 세포는 원핵 세포이거나 진핵 세포일 수 있다. 박테리아 세포가 몇몇의 상황에서 바람직한 원핵 숙주 세포일 수 있으며, 보통 베테스다 리서치 래보라토리스 인코포레이티드(Bethesda Research Laboratories Inc.)(미국 메릴랜드주 베테스다 소재)에서 구할 수 있는 에스케리치아 콜라이 균주 DH5, 및 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection: ATCC)(미국 메릴랜드주 록빌 소재, ATCC 번호 31343)에서 RR1이 입수가 가능하다. 바람직한 진핵 숙주 세포는 효소, 곤충, 포유류 세포를 포함하고, 생쥐, 쥐, 원숭이 또는 인간 섬유아세포와 대장 세포주 등의 척추 동물이 바람직하다. 효모 숙주 세포는 YPH499, YPH500 및 YPH501를 포함하며, 이는 대부분 스트라타진 클로닝 시스템(Stratagene Cloning Systems, 미국 캘리포니아주 라호이아 소재)에서 구입가능하다. 바람직한 포유류 숙주 세포는 ATCC에서 구입가능한 CCL61로 알려져 있는 중국 햄스터 난소 세포, ATCC에서 CRL 1658로 알려져 있는 스위스 생쥐 배아 세포 NIH/3T3, ATCC에서 CRL 1650 세포로 알려져 있는 원숭이 신장-유도 COS-1 세포와 293 세포로 알려져 있는 인간 배아 신장 세포를 들 수 있다. 바람직한 곤충 세포는 Sf9 세포이며 이는 배칼로바이러스 발현 벡터에 의해 세포로 감염될 수 있다. 발현을 위한 적당한 숙주 세포의 선택에 대한 개관은 예를 들어 문헌[Paulina Balbas and Argelia Lorence "Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols," Part One, Second Edition, ISBN 978-1-58829-262-9] 및 당해 분야의 숙련자에게 공지된 문헌에서 찾을 수 있다.
- [0529] 적당한 세포 숙주를 본 발명의 DNA 구축물로 형질전환하는 것은 보통 사용되는 벡터의 유형이 따라 결정되는 잘 알려진 방법으로 완성된다. 원핵 숙주 세포의 형질전환에 대해서는 예를 들어 문헌[Cohen et al(1972) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69, 2110], 및 [Sambrook et al(1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY]을 참조한다. 효소 세포의 형질전환은 문헌[Sherman et al(1986) Methods In Yeast Genetics, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY]에 묘사되어 있다. 문헌[Beggs(1978) Nature 275, 104-109]에 나와 있는 방법도 유용하다. 척추 동물 세포에 대해서는, 이러한 세포를 감염시키는 시약, 예를 들면 칼슘 인산염과 DEAE-덱스트란 또는 리포솜 공식에 대한 내용은 스트라타진 클로닝 시스템스, 또는 라이프 테크놀로지즈 인코포레이티드(Life Technologies Inc.)(미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재)에 나와 있다. 전기 천공법 역시 형질전환 또는/및 세포를 감염시키는 데에 유용하며 이는 효소 세포, 박

테리아 세포, 곤충세포 및 척추동물 세포 형질전환에 잘 알려져 있다.

- [0530] 성공적으로 형질전환이 된 세포는, 즉 본 발명의 DNA 구성을 가지고 있는 세포는, 잘 알려진 PCR과 같은 기술로 동정된다. 다른 방법으로는, 상정액에 존재하는 단백질은 항생제를 사용함으로써 감지될 수 있다.
- [0531] 본 발명의 특정한 숙주 세포, 예를 들어 박테리아, 효소 및 곤충 세포와 같은 세포는 본 발명의 펩티드의 제조에 유용하다는 것을 알 수 있을 것이다. 하지만, 다른 숙주 세포 또한 특정한 치료 방법에 유용할 수도 있다. 예를 들어, 수지상 세포와 같은 항원-제시 세포는 적당한 MHC 분자에 로딩될 수 있도록 하는 본 발명의 펩티드를 발현하는 데 유용하게 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 핵산 또는 발명에 따른 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0532] 바람직한 구현에서, 숙주 세포는 항원-제시 세포이며, 특히 수지상 세포 또는 항원-제시 세포이다. 전립선암 인산효소(PAP)를 함유하는 재조합 융합 단백질로 로딩된 APC는 무증상 또는 최소한의 증상 전이성 HRPC(Sipuleucel-T)의 치료에 대해 미국 식품의약국(FDA)에서 2010년 4월 29일에 승인된 바 있다(문헌[Small EJ, et al. 전이성 무증상 호르몬 불응성 전립선암 환자에서 sipuleucel-T(APC8015)을 사용한 면역학적 요법의 위약 통제 제 III상 시험(Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer). J Clin Oncol. 2006 Jul 1;24(19):3089-94] 및 문헌[Rini et al. 전립선암의 혈청학적 진행 환자에서 최적의 국소 요법 이후 전립선암 인산효소 펄스화 항원-제시 세포(프로벤지) 및 베바시주맙에 의한 병용 면역요법(Combination immunotherapy with prostatic acid phosphatase pulsed antigen-presenting cells (provenge) plus bevacizumab in patients with serologic progression of prostate cancer after definitive local therapy). Cancer. 2006 Jul 1;107(1):67-74]).
- [0533] 본 발명의 다른 양태는 펩티드 또는 그의 변이체의 숙주 세포를 배양하고 펩티드를 숙주 세포 또는 그의 배양 배지에서 단리하는 것을 포함한 생산 방법을 제공한다.
- [0534] 펩티드에 대한 다른 구현에서는, 핵산 또는 발명의 벡터 발현이 의약에서 사용된다. 예를 들어, 펩티드 또는 그의 변이체는 정맥 내(i.v.) 투여, 피부 하(s.c.) 투여, 피부 내(i.d.) 투여, 복강 내(i.p.) 투여, 근육 내(i.m.) 투여를 포함한다. 펩티드 투여의 바람직한 방법은 s.c., i.d., i.p., i.m., 및 i.v. 투여를 포함한다. DNA 투여의 바람직한 방법은 i.d., i.m., s.c., i.p. 및 i.v.투여를 포함한다. 펩티드 또는 DNA의 50 μ g 및 1.5 mg, 바람직하게는 125 μ g 내지 500 μ g 사이의 용량이 각각의 펩티드 또는 DNA에 따라서 투여될 수 있다. 이러한 범위의 용량이 이전의 임상시험에서 성공적으로 사용된 바 있다(Walter et al Nature Medicine 18, 1254-261(2012)).
- [0535] 본 발명의 다른 양태는 활성화된 T 세포와 항원 적재된 적당한 항원-제시 세포의 표면에서 T 세포를 항원이 본 발명의 펩티드라고 할 때 항원 특이적 방식으로 활성화시키는 데 충분한 시간 동안에 발현되는 인간 클래스 I 또는 II MHC 분자의 접촉을 포함하는 시험관 내의 방법으로 생성하는 방법을 포함한다. 바람직하게는, 충분한 양의 항원이 항원-제시 세포와 함께 사용된다.
- [0536] 바람직하게는, 포유류 세포는 TAP 펩티드 수송체가 결핍되어 있거나, 감소된 수준 또는 기능을 가지고 있다. TAP 펩티드 수송체가 결핍되어 있는 적당한 세포로는 T2, RMA-S 및 초파리 세포를 들 수 있다. TAP이란 항원 처리에 관련된 수송체를 일컫는다.
- [0537] 인간 펩티드 적재 결핍 세포주 T2는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(미국 메릴랜드주 록빌 소재)의 카탈로그 번호 CRL 1992로서 구입가능하고; 초파리 세포주 Schneider 2는 ATCC의 카탈로그 번호 CRL 19863로서 구입가능하며; 생쥐 RMA-S 세포주는 칼(Karre) 등의 문헌에 의해 묘사된 바 있다(Ljunggren, H.-G., and K. Karre. 1985. J. Exp. Med. 162:1745).
- [0538] 바람직하게는, 숙주 세포는 감염 전에 실질적으로 MHC 클래스 I 분자를 발현하지 않는다. 자극기 세포는 B7.1, B7.2, ICAM-1 및 LFA 3과 같은 T 세포를 위한 공동-자극 신호의 제공에 중요한 분자를 발현하는 것 또한 바람직하다. 다수의 MHC 클래스 II 분자의 핵산 서열 및 동시자극 분자의 서열은 진뱅크와 EMBL 데이터베이스에서 공개적으로 제공된다.
- [0539] MHC 클래스 I 에피토프가 항원으로 사용되는 경우, T 세포는 CD8-양성 CTL이다.
- [0540] 항원-제시 세포가 이러한 에피토프를 발현하도록 감염되었다면, 바람직하게는 이의 세포는 서열번호 1 내지 서열번호 65 및 서열번호 76 내지 서열번호 84 및 서열번호 92 또는 이의 변이체 아미노산 서열을 포함하는 펩티

트를 발현할 수 있는 서열번호 1 내지 서열번호 300 또는 이의 변이체 아미노산 서열을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.

- [0541] T 세포를 시험관 내에서 생성하는 몇몇의 다른 방법도 사용될 수 있다. 예를 들어, 자가 종양-침윤 림프구를 CTL 생성에 사용할 수 있다. 문헌[Plebanski et al. 인간 말초 혈액으로부터 펩티드-특이적 일차 세포 독성 T 림프구 반응의 유도(Induction of peptide-specific primary cytotoxic T lymphocyte responses from human peripheral blood). Eur J Immunol. 1995 Jun;25(6):1783-7]은 자가 말초 혈액의 림프구(PLB)를 T 세포의 제조 시 사용한다. 또한, 수지성 세포를 펩티드 또는 폴리펩티드로 펄스시키거나, 재조합 바이러스에 의한 감염에 의해 자가조직 T 세포의 생산이 가능하다. 또한, B 세포는 자가조직 T 세포의 생산에서 사용할 수 있다. 또한, 펩티드 또는 폴리펩티드로 펄스된 또는 재조합된 바이러스에 의해 감염된 대식세포가 자가조직 T 세포의 제조 시 사용될 수 있다. 문헌[S. Walter et al. 첨단: 보정된 MHC/항-CD28-코팅된 미세구 상에 팽창된 인간 CD8 T 세포의 사전결정된 결합력(Cutting edge: predetermined avidity of human CD8 T cells expanded on calibrated MHC/anti-CD28-coated microspheres). J Immunol. 2003 Nov 15;171(10):4974-8]은 인공 항원-제시 세포(aAPC)를 사용하는 시험관 내 T 세포의 초회감작을 묘사하며, 이는 역시 선택된 펩티드에 대해 T 세포를 생성하는 적절한 방법일 수 있다. 본 발명에서, aAPC는 미리 생성된 MHC:펩티드 복합체를 폴리스티렌 입자(마이크로 비드)의 표면과 커플링을 시키고 바이오틴-스트렙타비딘 생화학을 이용함으로써 생성되었다. 이 체계는 aAPC의 정확한 MHC 밀도를 제어할 수 있도록 허용하며, 이는 항원-특이적 T 세포 반응을 혈액 샘플에서 높은 효율성으로 고- 또는 저-결합력을 선택적으로 유도해낼 수 있게 한다. MHC:펩티드 복합체를 제외하고, aAPC는 그들의 표면에 커플된 항-CD28 항원과 같은 동시-자극 활동을 가지고 다른 단백질을 운반해야 한다. 더욱이 이러한 aAPC-기반 체계는 종종 예를 들어, 인터루킨-12와 같은 사이토카인 등 적당한 용해 요소의 첨가를 요구한다.
- [0542] 동종이계 세포는 T 세포의 제조에 역시 사용될 수 있으며 방법은 WO 97/26328에 더 자세하게 묘사되어 있으며, 여기에 참조 문헌으로 포함된다. 예를 들어, 초파리 세포와 T2 세포에 추가적으로, CHO 세포, 배콜로바이러스-감염 곤충 세포, 박테리아, 효소, 백시니아-감염된 표적 세포 등과 같은 다른 세포들도 항원을 제시하는 데에 사용될 수 있다. 추가적으로 식물 바이러스가 사용될 수도 있고(예를 들어, 문헌[Porta et al., 외부 펩티드의 제시를 위한 카우피 모자이크바이러스의 높은 수확 체계로서의 개발(Development of cowpea mosaic virus as a high-yielding system for the presentation of foreign peptides). Virology. 1994 Aug 1;202(2):949-55]), 이는 외부 펩티드의 제시를 위한 카우피 모자이크바이러스의 높은 수확 체계로서 개발에 대해 묘사한다.
- [0543] 이 실험의 펩티드에 대해 활성화된 T 세포는 치료에서 유용하다. 따라서, 본 발명의 더 나아간 양태는 앞서 말한 발명의 방법으로 획득할 수 있는 활성화된 T 세포에 대한 내용을 제공한다.
- [0544] 위에서 말한 방법으로 생성된 활성화된 T 세포는 서열번호 1 내지 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식한다.
- [0545] 바람직하게는, T 세포는 그의 TCR을 통해 HLA/펩티드-복합체(예를 들어, 결합)와 상호작용하여 이런 세포를 인식한다. 이 T 세포는 환자에게 효율적인 활성화된 T 세포의 숫자가 투입되었을 시 본 발명의 아미노산 서열을 가지고 있는 폴리펩티드를 이상 발현하는 환자의 표적 세포를 죽이는 방법에 유용하다. 환자에게 투입된 T 세포는 위에서 묘사된 바와 같이 환자로부터 유도되고 활성화된다(즉, 이는 자가조직 T 세포이다). 다른 방법으로는, T 세포는 환자로부터 유도되지 않지만, 다른 개인에서 유도된다. 물론, 이 개인이 건강한 개인인 것이 바람직하다. 본 발명자들이 말하는 "건강한 개인"이라고 함은 개인이 전체적으로 좋은 건강을 가지고 있으며, 바람직하게는 충분한 면역 체계를 가지고 있으며, 더 바람직하게는, 손쉽게 실험되고 감지될 수 있는 어떤 질병도 겪고 있지 않다는 것이다.
- [0546] 생체 안에서, 본 발명에 따른 CD8-양성 T 세포의 표적 세포는 종양 세포(이들은 가끔 MHC 클래스 II를 발현하기도 한다)이고/거나 종양을 감싸고 있는 간질성 세포(종양 세포)(이는 가끔 MHC 클래스 II를 또한 발현하기도 한다(Dengjel et al., 2006)).
- [0547] 본 발명의 T 세포는 치료 조성물의 활성 성분으로 사용될 수도 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 아미노산 서열을 가지고 있는 폴리펩티드를 이상 발현하는 환자의 표적 세포를 죽이고 환자에게 위에 정의된 바처럼 효율적인 T 세포의 숫자를 투입하는 방법을 제공한다.
- [0548] 본 발명자들은 "이상 발현되는"이라는 구절에 의해, 폴리펩티드가 정상 수준의 발현과 비교했을 때 과발현되거나 유전자가 종양이 유도된 조직에서는 침묵적이지만(silent) 종양에서는 발현되는 것도 의미한다. 본 발명자들은 "과발현"이라는 구절에 의해, 폴리펩티드가 정상 조직에서 존재하는 수준의 적어도 1.2배 이상으로 존재하는

것을 말하고, 바람직하게는 적어도 2배, 더 바람직하게는 적어도 5배 또는 10배로 존재하는 것을 의미한다.

- [0549] T 세포는 예를 들어 위에서 묘사된 바와 같은 당업계에 공지된 방법으로 얻어질 수 있다.
- [0550] 소위 T 세포의 입양 전송이라고 불리는 것에 대한 프로토콜은 이 업계에서 잘 알려져 있다. 리뷰는 다음에서 찾을 수 있다: 문헌[Gattinoni L, et al. 암의 차용 면역요법: 성공 위에 구축하기(Adoptive immunotherapy for cancer: building on success). *Nat Rev Immunol.* 2006 May;6(5):383-93] 및 [Morgan RA, et al. 유전자 변형 림프구의 이전 후 환자에서 암 진행(Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes). *Science.* 2006 Oct 6;314(5796):126-9)].
- [0551] 본 발명의 모든 분자(즉, 펩티드, 핵산, 항체, 발현 벡터, 세포, 활성화된 T 세포, T 세포 수용체 또는 이를 암호화하는 핵산)는 병을 고치는 데에 있어서 면역 반응을 피할 수 있는 성질을 가진 세포에 포함되는 것은 중요하다. 따라서 본 발명에 포함되는 어떤 분자든지 약제로 사용되거나 약제를 만드는 데에 사용될 수 있다. 이 분자는 단독으로 사용될 수도 있고, 어떤 알려진 분자와 함께 결합하여 사용될 수도 있다.
- [0552] 바람직하게는, 본 발명의 약제는 백신이다. 이는 환자의 영향을 받은 기관에 직접적으로 투여될 수 있거나 i.d., i.m., s.c., i.p. 및 i.v.로서 전신으로 투여되거나 환자에게서 또는 나중에 환자에게 투여될 인간 세포주에 생체 외로 적용될 수도 있거나 나중에 환자에게 다시 투여될 선택된 면역 세포의 부분 집단에 시험관 내로 사용될 수도 있다. 핵산이 시험관 내에서 세포에 투여 되면, 인터루킨-2와 같은 면역 자극 사이토카인과 함께 발현되도록 이의 세포가 형질감염되는 것이 유용할 수 있다. 펩티드는 상당히 순도가 높을 수도 있고, 또는 면역-자극 보조제(아래 참조)와 조합되어 있거나 면역-자극 사이토카인과 함께 조합하여 사용되거나, 리포솜과 같은 적당한 전달 체계와 함께 투여될 수도 있다. 이 펩티드는 또한 키홀 림펫 헤모사이아닌(keyhole limpet haemocyanin: KLH) 또는 만난(mannan)(예를 들어 WO 95/18145 참조)과 같은 적당한 담체에 결합될 수도 있다. 펩티드는 태깅될 수도 있거나 융합 단백질일 수 있거나 하이브리드 분자일 수 있다. 본 발명에서 이의 서열이 제공된 펩티드는 CD4 또는 CD8 T 세포를 자극할 것으로 기대된다. 하지만 CD8 세포의 자극은 CD4 T-조력자 세포에 의해 제공되는 도움이 존재할 때 더 효율적이다. 그러므로 CD8 T 세포를 자극하는 MHC 클래스 I 에피토프의 경우, 융합 짝 또는 하이브리드 분자의 섹션은 CD4-양성 T 세포를 자극하는 에피토프를 적절하게 제공한다. CD4-와 CD8-유도 에피토프는 이 분야에서 잘 알려졌고 본 발명에서 동정된 것들을 포함한다.
- [0553] 한 양태에서, 이 백신은 서열번호 1 내지 서열번호 300을 명시하는 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나의 펩티드 및 적어도 하나의 추가적인 펩티드, 바람직하게는 2개 내지 50개, 더 바람직하게는 2개 내지 25개, 보다 더 바람직하게는 2개 내지 20개, 가장 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개의 펩티드를 포함한다. 펩티드(들)는 하나 또는 이의 이상의 특정한 TAA에서 유도되었고 이는 MHC 클래스 I 분자에 결합할 수 있다.
- [0554] 다른 양태에서, 이 백신은 서열번호 1 내지 서열번호 300을 명시하는 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나의 펩티드 및 적어도 하나의 추가적인 펩티드, 바람직하게는 2개 내지 50개, 더 바람직하게는 2개 내지 25개, 보다 더 바람직하게는 2개 내지 20개, 가장 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개의 펩티드를 포함한다. 펩티드(들)는 하나 또는 이의 이상의 특정한 TAA에서 유도되었고 이는 MHC 클래스 I 분자에 결합할 수 있다.
- [0555] 폴리뉴클레오티드는 상당히 순도가 높을 수 있고, 또는 적당한 벡터 또는 전달 체계에 포함될 수 있다. 핵산은 DNA, cDNA, PNA, CNA, RNA 또는 이들의 조합일 수 있다. 이러한 핵산을 설계하고 도입하는 방법은 이 업계에 잘 알려져 있다. 개요는 예를 들어 다음에서 제공된다(문헌[Pascolo et al., 전령 RNA로써 감염된 인간 말초혈 단핵 세포는 항원-특이적 세포 독성 T-림프구를 시험관 내에서 자극한다(Human peripheral blood mononuclear cells transfected with messenger RNA stimulate antigen-specific cytotoxic T-lymphocytes in vitro). *Cell Mol Life Sci.* 2005 Aug;62(15):1755-62]). 폴리뉴클레오티드 백신은 만들기가 쉽지만, 이들 벡터의 면역 반응을 유도하는 동작 모드는 완전히 이해가 되지 않았다. 적당한 벡터와 전달 체계는 아데노바이러스, 백신 바이러스, 레트로바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노-결합 바이러스 또는 한 개 초과 바이러스를 포함하는 하이브리드에 기초한 체계와 같은 바이러스 DNA 및/또는 RNA를 포함한다. 비-바이러스 전달 체계는 양이온 지질과 양이온 중합체를 포함하고 이는 이 DNA 전달 분야에서 잘 알려져 있다. "유전자-총"을 통한 것과 같은 물리적 전달 또한 사용될 수 있다. 펩티드 또는 핵산에 의해 암호화된 펩티드는 융합 단백질이 될 수도 있고, 예로서는 위에서 언급한 각각의 반대 CDR을 위한 T 세포를 자극하는 에피토프를 들 수 있다.
- [0556] 이 발명의 약제는 하나 또는 이의 이상의 보조제를 포함할 수 있다. 보조제는 면역 반응을 비-특이적으로 향상

시키거나 강력하게 하는 물질을 말한다(예를 들어, 항원에 대한 CD8-양성 T 세포 및 조력 T(TH) 세포에 의해서 매개된 면역 반응). 따라서 본 발명에서 이는 유용한 약제 구성이라고 할 수 있다. 적당한 보조제는 다음을 포함하지만 이에 국한되지 않는다: 1018 ISS, 알루미늄 염, 암플리박스(Amplivax: 등록상표), AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, 플라젤린 또는 플라젤린에서 유도된 TLR5 리간드, FLT3 리간드, GM-CSF, IC30, IC31, 이미퀴모드(알다라(ALDARA: 등록상표)), 레스퀴미드, ImuFact IMP321, IL-2, IL-13, IL-21과 같은 인터루킨, 인터페론-알파 또는 -베타, 또는 이들의 폐길화된 유도체, IS 패치, ISS, 이스코매트릭스(ISCOMATRIX), 이스콤(ISCOM), 주브이문(JuvImmune), 리포백(LipoVac), MALP2, MF59, 모노포스포릴 지질 A, 몬타나이드 IMS 1312, 몬타나이드 ISA 206, 몬타나이드 ISA 50V, 몬타나이드 ISA-51, 유중수와 수중유 에멀전, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, 온택(ONTAK), OspA, 펩텔(PepTel: 등록상표) 벡터 시스템, PLG와 텍스트란 극미립자, 탈락토펜, SRL172, 비로숨(Virosomes) 및 다른 바이러스-유사 입자, YF-17D, VEGF 트랩, R848, 베타글루칸, Pam3Cys, 사포닌에서 유도된 아킬라스 QS21 스틸물론, 마이코박테리아 추출물과 합성 세균의 세포 벽 모방제, 및 다른 리비의 데톡스(Ribi's Detox), 쿼일(Quil), 또는 슈퍼포스(Superfos)와 같은 독점 보조제 등이 있다. 프루이드(Freund's) 또는 GM-CSF와 같은 보조제가 바람직하다. 몇몇의 면역적 보조제(예를 들어, MF59)는 수지상 세포에 특정하고 및 그들의 제조 방법은 이전에 묘사된 바 있다(문헌[Allison and Krummel, 1995 The Yin and Yang of T cell costimulation. Science. 1995 Nov 10;270(5238):932-3]). 또한, 사이토카인도 사용될 수 있다. 몇몇의 사이토카인은 수지상 세포의 림포이드 조직으로의 이동과 직접적으로 연관된 바 있으며(예를 들어, TNF- γ), 이는 수지상 세포의 더 효율적인 T-림프구에 대한 항원-제시 세포로의 성장을 가속시키고(예를 들어, GM-CSF, IL-1 및 IL-4)(미국 특허 5,849,589, 여기에 이의 전문이 참조 문헌으로 포함됨) 면역보조제의 역할을 한다(예를 들어, IL-12, IL-15, IL-23, IL-7, IFN-알파, IFN-베타)(문헌[Gabrilovich, 인간 종양에 의한 혈관 내피 성장 인자의 생성은 수지상 세포의 기능적 성숙을 억제한다(Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells). Nat Med. 1996 Oct;2(10):1096-103]).

[0557] CpG 면역자극 올리고뉴클레오타이드는 백신 설정시 보조제의 효율성을 높이는 것으로 나타났다. 이 이론에 국한하지 않고, CpG 올리고뉴클레오타이드는 톨-유사 수용체(TLR), 특히 TLR9를 통해 선천적(비-적응) 면역 체계를 활성화시킨다. CpG에 의해 유도된 TLR9의 활성화는 펩티드 또는 단백질 항원, 살아 있거나 죽은 바이러스, 수지상 세포 백신, 자가 세포 백신 및 예방적 및 치료적 백신의 다당류 접합체를 포함한 넓은 종류의 항원에 대한 항원-특성 면역성 및 세포성 반응을 향상시킨다. 더 중요하게 이는 수지상 세포의 성숙 및 차별화를 향상시키고 이는 TH1 세포의 활성화를 향상시키며 강한 세포 독성 T-림프구(CTL) 생성을 CD4 T 세포의 도움이 없을 때에도 향상시킨다. TLR9 자극에 의해 일어난 TH1 바이어스는 보통 TH2 바이어스(bias)를 촉진시키는 alum 또는 비완성된 플루이드 보조제(Freund's adjuvant: IFA) 백신 보조제가 존재할 때도 유지된다. CpG 올리고뉴클레오타이드는 다른 보조제와 함께 제조되거나 함께 투여될 시 또는 특히 항원이 상대적으로 약할 때 강한 반응을 얻어내기 위해 필요한 미세입자, 나노입자, 지질 에멀전 또는 비슷한 제약으로 되어 있을 경우 더 큰 보조제 활동을 보인다. 그들은 또한 면역 반응을 가속화시키고, 몇몇의 실험에서 보인바 있듯이 CpG가 없을 때 전체 복용량이 일으키는 항체 반응 정도를 일으키기 위한 항원의 복용량을 약 두 배 정도 줄일 수 있도록 한다(Krieg, 2006). 미국 특허 6,406,705 B1은 CpG 올리고뉴클레오타이드, 비-핵산 보조제 및 항원-특이적 면역 반응을 일으키는 항원의 결합 사용에 대해 묘사한다. CpG TLR9 길항제는 몰로겐(Mologen, 독일 베를린 소재)에 의해 만들어진 dSLIM(이중 줄기 루프 면역조절제)이며 이는 본 발명의 제약 조성의 바람직한 성분이다. RNA 결합 TLR 7, TLR 8 및/또는 TLR 9 등의 다른 TLR 결합 분자 또한 사용이 가능하다.

[0558] 다른 유용한 보조제의 예는 다음을 포함하지만 이에 국한되지 않는다. 화학적으로 변형된 CpG(예를 들어, CpR, 이데라(Idera)), 폴리(I:C)와 같은 dsRNA 유사체 및 암플리젠(AmpliGen), 면역활성적인 작은 분자 및 비-CpG 박테리아 DNA 또는 RNA 및 사이클로포스아미드, 수니티닙, 베바시주맙, 셀레브렉스, NCX-4016, 실테나필, 타달라필, 바르테나필, 소라페닙, 테모졸로마이드, 템시롤리무스, XL-999, CP-547632, 파조파닙, VEGF 트랩, ZD2171, AZD2171, 항-CTLA4 및 SC58175와 같은 항원을 들 수 있으며 이는 치료적으로 또는 보조제의 역할을 할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 보조제와 첨가제의 양과 농도는 특별히 다른 실험할 필요 없이 당업자에 의해서 쉽게 결정될 수 있다.

[0559] 바람직한 보조제들은 이미퀴모드, 레스퀴모드, GM-CSF, 사이클로포스파마이드, 수니티닙, 베바시주맙, 인터페론-알파, CpG 올리고뉴클레오타이드 및 유도체, 폴리-(I:C) 및 유도체, RNA, 실테나필, 및 PLG 또는 비로숨과의 입자 제형이다.

[0560] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그래nul로사이트 마크로파지 콜로니-자극 인자

(GMCSF, 사르가라모스틴), 사이클로포스파미드, 이미퀴모드, 레시퀴모드 및 인테페론-알파같은 콜로니-자극 인자로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0561] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그라눌로사이트 마크로파지 콜로니-자극 인자 (GMCSF, 사르가라모스틴), 사이클로포스파미드, 이미퀴모드 및 레시퀴모드로 구성되는 군으로부터 선택된다. 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 사이클로포스파미드, 이미퀴모드 또는 레시퀴모드이다. 훨씬 더 바람직한 보조제는 몬타니드(Montanide) IMS 1312, 몬타니드 ISA 206, 몬타니드 ISA 50V, 몬타니드 ISA-51, 폴리-ICLC(힐토놀(Hiltonol: 등록상표) 및 항-CD40 mAB 또는 이들의 조합들이다.

[0562] 이 조성물은 피하, 피부내, 근육내 비경구 투약 또는 경구 투약에 사용된다. 이를 위해, 펩티드 및 임의적으로 다른 분자들이 약학적으로 허용가능한, 바람직하게는 수용성 운반체에 용해 또는 현탁된다. 추가로, 이 조성물은 완충제, 결합제, 발파제, 희석제, 향미료, 윤활제 등과 같은 부형제를 함유할 수 있다. 또한 펩티드는 사이토카인 같은 면역 자극 물질과 같이 투여될 수도 있다. 이런 조성물에서 사용될 수 있는 부형제의 광범위한 목록은 예를 들어 문헌[A. Kibbe, 제약 부형제의 안내서(Handbook of Pharmaceutical Excipients), 3rd Ed. 2000, American Pharmaceutical Association and pharmaceutical press]에서 찾을 수 있다. 이러한 조성물은 선종성 또는 암 질병의 예방, 방지 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 예시적 제형은 예를 들어 EP2113253에서 찾을 수 있다.

[0563] 본 발명은 암, 특히 HCC 및 다른 악성 종양의 치료에 유용한 약제를 제공한다.

[0564] 본 발명은 다음을 포함한 키트(kit)를 포함한다:

[0565] (a) 위에 묘사된 바와 같은 약학 조성물을 용액 또는 동결건조된 형태로 포함하는 용기;

[0566] (b) 임의적으로 희석제 또는 동결건조된 제형을 위한 재구성 용액을 포함하는 제 2 용기; 및

[0567] (c) 임의적으로 (i) 용액의 사용, 또는 (ii) 동결건조된 제형의 재구성 및/또는 사용을 위한 지시.

[0568] 이 키트는 (iii) 완충액, (iv) 희석제, (v) 필터, (vi) 주사바늘 또는 (vii) 주사기 중 하나 이상을 더욱 포함할 수 있다. 이의 용기는 바람직하게 병, 바이알, 주사기 또는 시험관이며; 다용도 용기일 수 있다. 약학 조성물은 바람직하게는 동결건조된다.

[0569] 본 발명에 사용되는 키트는 바람직하게는 동결건조되어 있는 약제를 적당한 용기와 이들의 재구성 및/또는 사용에 관한 지침서를 함께 포함한다 적당한 용기는 예를 들어, 병, 바이알(예를 들어, 듀얼 챔버 바이알), 주사기(듀얼 챔버 주사기 등) 및 시험관을 포함한다. 용기는 유리나 플라스틱과 같은 다양한 재료로서 형성할 수 있다. 바람직하게는 키트 및/또는 용기는 재구성 및/또는 사용에 대한 사용법을 표시하는 지시 내용을 이의 용기 상에 또는 그와 연관하여 포함한다. 예를 들어, 라벨 상에서 동결건조된 제형을 상기 펩티드 농도로 재구성해야 한다고 지시할 수 있다. 라벨은 또한 약제가 피하투여가 가능한지 아니면 유용한지를 보여줄 수도 있다.

[0570] 제형을 포함한 용기는 재구성되는 약제의 반복된 투여를 가능하게 하는 다용도 바이알일 수 있다(예를 들어, 약 2 내지 6회의 투여). 키트는 또한 적당한 희석제(예를 들어, 중탄산 용액)를 포함하는 제 2 용기를 포함할 수도 있다.

[0571] 희석제와 동결건조된 약제를 섞었을 때, 재구성되는 제형의 최종 펩티드 농도가 바람직하게는 적어도 0.15 mg/mL/펩티드(= 75 μ g)이며 바람직하게는 3 mg/mL/펩티드(= 1500 μ g)를 넘지 않아야 한다. 키트는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 주사기, 및 패키지 삽입 및 사용 설명서 등의 사용자의 입장에서 필요한 것을 더 추가로 포함할 수도 있다.

[0572] 본 발명의 키트는 본 발명에 따른 약학 조성물을 포함하는 하나의 용기를 다른 제품과 함께 또는 단독으로 포함하거나(예를 들어, 다른 화합물들 또는 이 다른 화합물들의 약학 조성물) 각각의 조성물을 각자 다른 용기에 포함할 수 있다.

[0573] 바람직하게는, 본 발명의 키트는 다음과 같은 제 2 화합물 또는 그들의 약학 조성물과 함께 투여될 수 있는 약학 조성물을 포함한다: 보조제(예를 들어, GM-CSF), 화학요법제, 자연 생산품, 호르몬 또는 길항제, 항-혈관신생 제제 또는 억제제, 괴사유도제 또는 킬레이터. 키트의 조성물은 미리 혼합되어 있을 수도 있고 또는 각각의 조성물이 각각 따로 용기에 담겨 있을 수도 있다. 키트의 조성물은 하나 또는 이의 이상의 액체 용액에 제공될 수도 있고, 바람직하게는 수용액, 더욱 바람직하게는 무균 수용액에 제공된다. 키트의 조성물은 적당한 용해제를 첨가함으로써 액체로 바뀔 수 있는 고체로 제공될 수도 있고, 바람직하게는 이는 다른 용기에 담겨

제공된다.

- [0574] 치료 키트의 용기는 바이알, 실험관, 플라스크, 병, 주사기 또는 고체나 액체를 담을 수 있는 다른 어떤 용기일 수 있다. 보통, 하나 이상의 구성물이 있을 경우, 키트는 제 2 물약병 또는 다른 용기를 포함하고, 이는 각각의 복용을 가능하게 한다. 키트는 약학적으로 허용가능한 액체를 포함하는 용기를 포함할 수도 있다. 바람직하게는, 치료 키트는 현재 키트의 조성물인 발명의 제제를 투여할 수 있는 기구를 포함한다(예를 들어, 하나 또는 이의 이상의 바늘, 주사기, 안약 투입제, 피펫 등).
- [0575] 본 발명의 제형은 구강(경구), 비강, 안약 형태의, 피하의, 피내, 근육내, 혈관내 또는 경피 등 어떠한 투여 형태로든 펩티드 투여에 적당한 약제이다. 바람직하게는, 이의 투여는 s.c.이며, 가장 바람직하게 i.d. 투여는 주입 펌프에 의할 수 있다.
- [0576] 본 발명의 펩티드가 HCC로부터 분리되었기 때문에, 본 발명의 약제는 바람직하게는 HCC의 치료에 사용된다.
- [0577] 본 발명은 또한 사전선별된 TUMAP의 창고에서 선택된 적어도 하나의 펩티드로 구성되는 약학 조성물의 제조를 포함하는 개별 환자를 위한 개인화 약학 조성물의 생산 방법을 포함하는데, 이의 약학 조성물에 사용되는 상기 적어도 하나의 펩티드는 개별 환자의 적합성을 위해 선택된다. 한 구현에서 이 약학 조성물은 백신이다. 이 방법은 TCR 분리와 같은 하류 용도를 위한 T 세포 클론의 생산 또는 가용성 항체 및 다른 치료 옵션에도 적용할 수 있다.
- [0578] "개인화 약학"이란, 활성적으로 개인화된 암 백신 및 자가 환자 조직을 사용하는 적응적 세포 세포 요법을 포함하는 한 명의 개별 환자의 치료를 위해서만 사용되는 그러한 개별 환자를 위해 구체적으로 맞춤화된 요법을 의미해야 한다.
- [0579] 여기에서 사용되는 용어 "창고"란 특정한 종양 유형에서 면역원성 및/또는 과다제시에 대해 사전선별된 펩티드의 군을 지칭해야 한다. 용어 "창고"는 백신에 포함된 특이적 펩티드가 사전 제조되어 물리적 시설에 보관되었음을 함축하는 의도가 아니다(하지만 그러한 가능성은 고려된다). 생산된 각 개인화된 백신을 위해 펩티드들이 새로 제조될 수 있거나 사전 제조되어 저장될 수 있음이 명백히 고려된다. 창고(예를 들어, 데이터베이스의 형태로)는 다양한 HLA-A HLA-B 및 HLA-C 대립형질을 갖는 HCC 환자들의 종양 조직에서 주로 과발현된 종양-연관된 펩티드들로 구성된다. 이는 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 펩티드 또는 신장된 MHC 클래스 I 펩티드를 포함할 수 있다. 창고는 몇몇 HCC 조직들로부터 수집된 종양 연관 펩티드 외에도, HLA-A*02 및 HLA-A*24 마커 펩티드를 포함할 수 있다. 이 펩티드들은 TUMAP에 의해 유도된 T 세포 면역성의 크기에 대한 정량적인 비교를 허용하므로 백신의 항종양 반응을 이끌어내는 용량에 관한 중요한 결론을 도출할 수 있다. 제 2, 어떤 환자에서 "자가" 항원으로 유래한 TUMAP에 대한 인체의 백신-유도 T 세포 반응이 관찰되지 않는 경우, 이것은 "비-자가" 항원으로부터 유래한 중요한 양성 대조군 펩티드로서 기능한다. 및 셋째로, 이것은 환자의 면역능력에 대한 결론의 도출을 가능케 한다.
- [0580] 창고용 TUMAP는 유전자 발현 분석, 질량 분석 및 T 세포 면역학(엑스프레지던트(XPresident: 등록상표))이 조합된 통합 기능적 유전체 접근 방식을 사용하여 동정된다. 이 접근 방식은 정상 조직에서 발현되지 않거나 최소한으로만 발현되는 것이 아닌 고비용의 종양에서 진정하게 존재하는 TUMAP만을 추가 분석을 위해 선택하도록 보증한다. 초기 펩티드 선택을 위하여, 환자로부터의 HCC 샘플 및 건강한 공여자의 혈액을 단계적 접근 방식으로 분석했다:
- [0581] 1. 악성 물질의 HLA 리간드를 질량 분석에 의해 동정했다.
- [0582] 2. 유전체-전체의 전령 리보핵산(mRNA) 발현 분석을 사용하여, 정상 기관과 조직들의 범위와 비교하여 악성 조직(HCC)에서 과발현된 유전자들을 동정했다.
- [0583] 3. 동정된 HLA 리간드들을 유전자 발현 데이터와 비교했다. 2 단계에서 감지된 종양 조직 상에 과다제시되거나 선택적으로 제시된 바람직하게는 선택적으로 발현되거나 과발현된 유전자들에 의해 암호화된 펩티드들은 멀티-펩티드 백신의 적절한 TUMAP 후보로서 간주되었다.
- [0584] 4. TUMAP로서 동정된 펩티드의 관련성을 지지하는 추가의 증거를 파악하기 위해 문헌 연구를 수행했다.
- [0585] 5. mRNA 수준에서의 과발현의 타당성은 3단계에서 종양 조직으로부터 선택된 TUMAP의 재검출 및 건강한 조직에 대한 검출의 결여(낮은 빈도)에 의해 확인되었다.
- [0586] 6. 선택된 펩티드에 의한 생체 내 T 세포 반응의 유도가 가능한지 여부를 평가하기 위해, 건강한 공여자는 물론

HCC 환자의 인간 T 세포를 사용하여 시험관 내 면역원성 검사를 수행했다.

- [0587] 본 발명에 따른 백신에 의해 일어나는 면역 반응이 다른 세포 단계 및 다른 개발 단계에서 암을 공격한다는 것을 인지하는 것이 중요하다. 더욱이 암과 연관된 다른 신종전달 경로가 공격을 받는다. 이것은 단 하나 또는 몇몇 표적만을 다루며 종양으로 하여금 공격에 쉽게 적용하도록 유발할 수 있는(종양 탈출) 백신에 비해 이점이다. 더욱이, 모든 개별 종양들이 같은 항원의 패턴을 발현하는 것은 아니다. 그러므로 몇몇 종양-연관된 펩티드들의 조합은 모든 개별 종양이 적어도 표적의 일부를 갖도록 보장한다. 이 조성물은 각 HLA-A*02 및/또는 HLA-A*24-양성 종양이 몇 개의 항원을 발현하도록 기대되며 또한 종양 성장 및 유지에 필요한 몇 개의 독립적 경로를 다루도록 구체적으로 설계되었다. 2개의 HLA 클래스 I 대립형질(A*02 및 A*24)에 특이적인 각각의 펩티드 하위조합에 대해, 이것은 기저 실험적 분석에 근거하여 독립적으로 보장된다. 따라서, 백신은 보다 큰 환자 모집단을 위해 "기성품으로" 쉽게 사용이 가능하다. 이는 백신으로 치료할 환자의 사전 선택을 HLA 형질적으로 제약될 수 있고, 항원 발현을 위해 어떠한 추가의 바이오마커 평가를 요구하지 않음을 의미하지만, 효능에 중요한, 몇몇 표적들이 유도된 면역 반응에 의해 동시에 공격되도록 여전히 보장한다(Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012).
- [0588] 한 측면에서는, 펩티드들이 창고에 포함되기 전에 면역원성에 대해 사전선별된다. 제한이 아니라 한 예로서, 펩티드/MHC 복합체 및 항-CD28 항체가 로딩된 인공 항원-제시 세포를 가진 건강한 공여자의 CD8+ T 세포를 반복적으로 자극하는 시험관 내 T 세포 초회감작을 포함하는 방법을 사용하여 창고에 포함된 펩티드의 면역원성을 결정한다.
- [0589] 이 방법은 희귀한 암과 드문 발현 프로필을 갖는 환자에 대해 선호된다. 현재 개발되고 있는 고정된 성분을 갖는 멀티-펩티드 각테일과 대비할 때, 창고는 종양에서 항원의 실제 발현과 백신과의 훨씬 더 높은 정합을 허용한다. 선택된 하나의 또는 몇몇 "재고" 펩티드들의 조합을 다중표적 접근 방식으로 각 환자에 대해 사용한다. 이론상으로, 예를 들어 50개 라이브러리로부터 선택된 5개의 다른 항원 펩티드 선택에 근거한 접근방법은 이미 약 17백만 가지의 가능한 약품(DP) 성분을 초래할 것이다.
- [0590] 한 양태에서, 이 펩티드는 여기서 또는 다음에 설명된 본 발명에 따른 방법에 근거하여 백신의 포함 여부가 선택된다.
- [0591] HLA 표현형, 전사체학 및 펩티도믹스 데이터는 환자의 종양 물질과 혈액 샘플로부터 수집하여 "창고"와 환자 고유의(즉 돌연변이된) TUMAP를 포함하는 각 환자에 대해 가장 적절한 펩티드를 동정한다. 환자 종양에서 선택적으로 발현되거나 과발현되는 펩티드를 선택하게 되며, 이는 가능한 경우 환자의 개별 PBMC로써 시험했을 때 강한 시험관 내 면역원성을 나타낸다.
- [0592] 바람직하게는 백신에 포함된 펩티드는, (a) 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드들(TUMAP)의 동정; (b) (a)에서 동정된 펩티드를 위에 설명된 펩티드들의 창고(데이터베이스)와 비교; 및 (c) 이의 환자에서 동정된 종양-연관 펩티드와 상관관계가 있는 창고(데이터베이스)로부터 적어도 하나의 펩티드 선택을 포함하는 방법에 의해 동정된다. 예를 들어, 종양 샘플에 의해 제시된 TUMAP는 다음에 의해 동정된다: (a1) 종양 샘플에서 과발현되거나 이상 발현된 단백질을 파악하기 위해 종양 샘플의 발현 데이터와 종양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직의 샘플에서 얻은 발현 데이터의 비교; 및 (a2) 종양에 의해 과발현되거나 이상 발현된 단백질로부터 유래한 MHC 리간드를 파악하기 위해, 발현 데이터와 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합된 MHC 리간드의 서열의 상관관계 결정. 바람직하게는 종양 샘플로부터 단리된 MHC 분자의 결합된 펩티드를 용출시키고 용출된 리간드의 서열결정에 의해 MHC 리간드의 서열을 파악한다. 바람직하게는 종양 샘플과 정상 조직은 같은 환자로부터 얻는다.
- [0593] 창고(데이터베이스) 모델을 사용하는 펩티드의 선택 외에 또는 이의 대안으로서, TUMAP를 새 환자에서 동정한 다음 백신에 포함시킬 수 있다. 한 예로서, 후보 TUMAP 환자에서, (a1) 종양 샘플에서 과발현되거나 이상 발현된 단백질의 파악을 위해 종양 샘플의 발현 데이터를 종양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직의 샘플에서 얻은 발현 데이터와 비교; 및 (a2) 종양에 의해 과발현되거나 이상 발현된 단백질로부터 유래한 MHC 리간드를 파악하기 위해, 발현 데이터와 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합된 MHC 리간드의 서열의 상관관계를 결정하여 동정할 수 있다. 다른 예로서, 개별 환자의 조직에 상응하는 정상 샘플에 대해 종양 샘플에 독특한 돌연변이를 포함하는 단백질을 동정할 수 있으며, 돌연변이를 특이적으로 표적하는 TUMAP를 동정할 수 있다. 예를 들어, 종양 및 상응하는 정상 조직의 유전체에 대한 염기서열은 전체 유전체의 염기서열결정에 의해 결정할 수 있다. 유전자의 단백질-암호화 영역에서 비슷하지 않은 돌연변이의 발견을 위해, 유전체 DNA 및 RNA를 종양 조직으로부터 추출하고, 정상의 돌연변이 되지 않은 유전체의 생식계 DNA는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 추

출한다. 이러한 응용 NGS 접근방법은 단백질 암호화 영역의 염기서열 재결정으로 제약된다(신유전체 염기서열 재결정). 이 목적을 위해, 업체가 공급하는 표적 강화 키트를 사용한 다음 예를 들어 HiSeq2000(일루미나(Illumina))에 의해 염기서열결정에 의해 인간 샘플의 엑손 DNA를 포획한다. 이외에, 유전자 발현의 직접 정량화 및 돌연변이된 유전자가 환자의 종양에서 발현된다는 검증을 위해 종양 mRNA에 대한 염기 서열을 결정한다. 그에 따른 수백만의 서열 판독값은 소프트웨어 알고리즘을 통해 처리된다. 이의 출력 목록에는 돌연변이와 유전자 발현이 포함된다. 종양-특이적 체세포 돌연변이는 PBMC-유래 생식계의 변종과 비교하여 결정한다. 다음 우선순위화 된다. 다음에는 새로 동정된 펩티드를 위에 설명한 창고의 번역원성에 대해 시험할 수 있으며, 적절한 번역원성을 소유하는 후보 TUMAP를 선택하여 백신에 포함시킨다.

[0594] 하나의 예시적 구현에서, 백신에 포함되는 펩티드는 다음에 의해 동정된다: (a) 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드들(TUMAP)을 위에 설명한 방법으로 동정한다; (b) 상응하는 정상 조직과 비교하여 종양에서 번역원성과 과제시에 대해 사전선별된 펩티드들의 창고를 이용하여 상기 (a)에서 동정된 펩티드와 비교한다; (c) 환자에서 동정된 종양-연관 펩티드와 상관관계가 있는 적어도 하나의 펩티드를 창고에서 선택한다; 및 (d) 임의적으로 (a)에서 새로 동정된 적어도 하나의 펩티드를 선택하고 이의 번역원성을 확인한다.

[0595] 하나의 예시적 구현에서, 백신에 포함되는 펩티드는 다음에 의해 동정된다: (a) 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드들(TUMAP)을 위에 설명하는 방법으로 동정한다; 및 (b) 상기 (a)에서 새로 동정된 적어도 하나의 펩티드를 선택하고 이의 번역원성을 확인한다.

[0596] 개인화된 펩티드 기반 백신을 위한 펩티드들이 선택되면, 백신이 생산된다. 백신은 바람직하게는 33% DMSO에 용해된 개별 펩티드들로 구성되는 액체 제형이다.

[0597] 제품에 포함되는 펩티드는 각각 DMSO에 용해한다. 단일 펩티드 용액의 농도는 제품에 포함시킬 펩티드의 숫자에 따라 선택해야 한다. 단일 펩티드-DMSO 용액들을 동등한 비율로 혼합하여 제품에 포함시킬 모든 펩티드가 포함된 용액을 만드는데 이의 농도는 펩티드 당 약 2.5 mg/ml이다. 다음, 혼합된 용액을 1:3의 비율로 물로 희석하여 주사제를 만드는데 성취된 농도는 33% DMSO에서 펩티드 당 0.826 mg/ml이다. 희석시킨 용액을 0.22 μ m 멸균 필터를 통해 여과시킨다. 최종 벌크 용액을 얻는다.

[0598] 최종 벌크 용액을 바이알에 채워 사용 시까지 -20°C에서 보관한다. 1개의 바이알에는 각 펩티드를 0.578 mg씩 포함하는 700 μ l의 용액이 들어 있다. 여기서 500 μ l(펩티드 당 약 400 μ g)를 피내 주사로 투여하게 된다.

[0599] 이제 본 발명은 이의 바람직한 구현을 설명하는 다음의 실시예에서 묘사될 것이나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 목적상, 여기에 인용된 모든 참조 문헌들은 이의 전문이 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0600] 도 1은 정상 조직(진한 회색) 및 HCC(연한 회색)에서 다양한 펩티드의 과다 제시를 보여준다. 도 1a) APOB, 펩티드: ALVDTLKFV(A*02)(서열번호 7), 왼쪽에서 오른쪽으로 조직들: 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 4 식도, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 16 신장, 4 백혈구 샘플, 45 폐, 1 림프절, 1 난소, 7 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 1 장막, 3 피부, 4 지라, 7 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥 및 20 간; 도 1b) ALDH1L1, 펩티드: KLQAGTVFV(A*02)(서열번호 2), 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 4 식도, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 16 신장, 4 백혈구 샘플, 45 폐, 1 림프절, 1 난소, 7 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 1 장막, 3 피부, 4 지라, 7 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥 및 20 간; 도 1c) C8B, 펩티드: AYLLQPSQF(A*24)(서열번호 200), 왼쪽에서 오른쪽으로 조직들: 2 부신, 1 동맥, 4 뇌, 1 유방, 5 결장, 1 심장, 13 신장, 9 폐, 3 췌장, 2 직장, 3 피부, 1 지라, 12 위, 1 흉선, 2 자궁 및 9 을 포함; 도 1d) RAD23B 펩티드: KIDEKNFVV(서열번호 63) 1 장막, 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 12 신장, 4 백혈구, 19 간, 43 폐, 1 림프절, 1 난소, 6 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 3 피부, 4 췌장, 5 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥, 4 식도; 도 1e) RAD23B 펩티드: KIDEKNFVV(서열번호 63), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 5 세포주, 1 정상 세포(1 부신), 16 암 조직(2 뇌암, 4 간암, 5 폐암, 1 직장암, 1 방광암, 3 자궁암)(왼쪽에서 오른쪽으로; 도 1f) RFNG RLPPDTLLQQV(서열번호 92), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 1 장막, 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 12 신장, 4 백혈구, 19 간, 43 폐, 1 림프절, 1 난소, 6 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 3 피부, 4 췌장, 5 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥, 4 식도; 도 1g)

RFNG 펩티드: RLPPDTLLQV(서열번호 92), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 2 세포주, 2 정상 세포 (2 부신), 17 암 조직(1 뇌암, 1 유방암, 1 식도암, 5 간암, 4 폐암, 1 난소암, 1 전립선암, 2 방광암, 1 자궁암)(왼쪽에서 오른쪽으로; 도 1h) FLVCR1 펩티드: SVWFGPKKEV(서열번호 104) 1 장막, 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 12 신장, 4 백혈구, 19 간, 43 폐, 1 림프절, 1 난소, 6 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 3 피부, 4 췌장, 5 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥, 4 식도: 도 1i) FLVCR1 펩티드: SVWFGPKKEV(서열번호 104), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 9 세포주, 1 정상 세포(1 소장), 16 암 조직(1 뇌암, 1 유방암, 5 간암, 5 폐암, 1 피부암, 1 위암, 1 방광암, 1 자궁암)(왼쪽에서 오른쪽으로; 도 1j) IKBKAP 펩티드: LLFPHPVNQV(서열번호 156) 1 장막, 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 12 신장, 4 백혈구, 19 간, 43 폐, 1 림프절, 1 난소, 6 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 3 피부, 4 췌장, 5 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥, 4 식도: 도 1k) IKBKAP 펩티드: LLFPHPVNQV(서열번호 156), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 7 세포주, 2 일차 배양, 1 정상 세포(1 결장), 34 암 조직(1 골수암, 1 유방암, 1 결장암, 2 식도암, 2 백혈구성 백혈병 암, 4 간암, 11 폐암, 3 림프절암, 5 난소암, 4 방광암)(왼쪽에서 오른쪽으로; 도 1l) NKD1 펩티드: FLDTPIAKV(서열번호 47), 1 장막, 1 지방 조직, 3 부신, 2 동맥, 2 골수, 7 뇌, 3 유방, 13 결장, 2 담낭, 3 GI 관, 3 심장, 12 신장, 4 백혈구, 19 간, 43 폐, 1 림프절, 1 난소, 6 췌장, 1 말초 신경, 1 뇌하수체, 3 흉막, 1 전립선, 6 직장, 3 골격근, 3 피부, 4 췌장, 5 위, 1 고환, 2 흉선, 3 갑상선, 2 자궁, 2 정맥, 4 식도: 도 1m) NKD1 펩티드: FLDTPIAKV(서열번호 47), 펩티드가 제시된 샘플만이 도면에 나와 있다: 1 기타 질병(뇌류), 2 정상 조직(1 폐, 1 지라), 35 암 조직(5 뇌암, 6 결장암, 1 식도암, 6 간암, 9 폐암, 1 난소암, 1 전립선암, 4 직장암, 2 위암)(왼쪽에서 오른쪽으로).

도 2는 정상 조직(진한 회색) 패널 및 12개 HCC 샘플(회색)에서 HCC로 주로 과발현되거나 배타적으로 발현된 본 발명의 근원 유전자들의 예시적 발현 프로파일(정상 신장에 비한 상대적 발현)을 보여준다. 도 2a) APOB, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥; 도 2b) AMACR, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥; 도 2c) ALDH1L1, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥; 도 2d) FGG, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥; 도 2e) C8B, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥; 및 도 2f) HSD17B6, 왼쪽부터 오른쪽으로 조직들: 1 부신, 1 동맥, 1 골수, 1 뇌(전체), 1 유방, 1 결장, 1 식도, 1 심장, 3 신장, 1 백혈구 샘플, 1 간, 1 폐, 1 림프절, 1 난소, 1 췌장, 1 태반, 1 전립선, 1 침샘, 1 골격근, 1 피부, 1 소장, 1 지라, 1 위, 1 고환, 1 흉선, 1 갑상선, 1 방광, 1 자궁 경부, 1 자궁, 1 정맥을 포함.

도 3은 펩티드-특이적 다합체 염색 이후 예시적 유세포 측정 결과를 보여준다. 추가의 설명은 실시예 4를 참고한다.

도 4는 펩티드-특이적 다합체 염색 이후 예시적 유세포 측정 결과를 보여준다. 추가의 설명은 실시예 4를 참고한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예

실시예 1: 세포 표면에 제시된 중앙 연관 펩티드의 동정 및 정량화

[0603] 조직 샘플

[0604] 환자의 종양 조직들은 다음으로부터 얻었다: 유니베르시타스클링크 푸르 알제메인, 비스젤랄- 운트 트랜스플랜 테이션쉬뤼기(Universitätsklinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie, 독일 튀빙겐 소 재); 이스티투토 나지오날 투모리 "파스칼" 분자생물학 바이올로지 앤드 바이랄 온콜로지 유니트, 비아 마리아노 (Istituto Nazionale Tumori "Pascali". Molecular Biology and Viral Oncology Unit, Via Mariano, 이탈리아 나폴리 소재); 바이오-옵티스 인코포레이티드(Bio-Options Inc., 미국 캘리포니아주 브레아 소재); 프로테오제 넥스 인코포레이티드(ProteoGenex Inc., 미국 캘리포니아주 컬버시티 소재); 아스테란드 유럽(Asterand Europe, 영국 로이스톤 허즈 소재). 모든 환자의 고지에 의한 동의서가 수술 전에 제출되었다. 조직은 수술 직후 충격 동결되었으며 TUMAP의 분리까지 -70℃ 이하에서 보관되었다.

[0605] 조직 샘플에서 HLA 펩티드의 분리

[0606] 약간 변형된 프로토콜에 따르면, 충격 냉동된 조직 샘플의 HLA 펩티드 공동 출자는 단단한 조직의 면역 촉진에 의해 HLA-A*02-특이 항체 BB7.2 또는 HLA-A, -B, -C-특정 항체 W6/32, CNBr-활성화 된 세파로오스, 산성치료를 한외 여과를 이용해 취득되었다(Falk, K. et al 1991; Seeger, F.H. et al. T 1999).

[0607] 질량 분광분석법의 분석

[0608] 얻어진 HLA 펩티드 풀은 그들의 소수성에 의해 역상 크로마토그래피를 이용하여 분리되었고(나오악퀴티 UPLC 시스템(nanoAcquity UPLC system)(워터스)) 용출된 펩티드는 ESI 소스를 갖춘 LTQ-벨로스 및 융합 하이브리드 질량분광분석기(ThermoElectron)에 의해 분석되었다. 펩티드 풀은 분당 400 nL의 유량을 적용하여 1.7 μ m C18 역상 물질(워터스)로 충전된 합성-실리카 마이크로-모세관 칼럼(75 μ m i.d. x 250 mm)에 바로 로딩된다. 이어서, 펩티드는 2-단계 180분, 10% 내지 33%의 이진 구배를 이용하여 분리되고, 여기서 유량은 분당 300 nL이다. 구배는 용매 A(물의 0.1% 포름산)와 용매 B(아세트니트릴의 0.1% 포름산)로 이루어져 있다. 금이 입혀진 유리 모세관(피코팁(PicoTip), 뉴 옵젝티브(New Objective))이 미세-ESI 소스로의 도입에 사용되었다. LTQ-오비트랩(Orbitrap) 질량분석기가 TOP5 전략을 이용한 데이터-의존 모드에서 작동되었다. 간략하게, 스캔 사이클은 오비트랩의 높은 질량 정확도(R = 30,000)의 전스캔으로 시작되고, 이후 5개의 가장 많은 이전에 선택한 이온의 동적 배제에 의한 전조 이온에 대한 오비트랩(R = 7500)의 MS/MS 스캔이 이어진다. 탠덤 질량 스펙트럼은 SEQUEST와 추가적인 수동 컨트롤에 의해 해석된다. 동정된 펩티드 서열은 생성된 자연 펩티드 분절 패턴과 합성을 서열-일치 참고 펩티드와의 비교를 통해 보증되었다.

[0609] 비표지 상대적 LC-MS 정량화는 이온 계측 즉, LC-MS 특징의 추출 및 분석에 의해 수행했다(Mueller et al. 2007a). 이 방법은 펩티드의 LC-MS 신호 영역이 샘플 내의 풍부함과 상관관계가 있음을 가정으로 한다. 추출된 특징은 전하 상태 디컨볼루션 및 정제 시간 정렬에 의해 더욱 처리되었다(Mueller et al. 2007b; Sturm et al. 2008). 마지막으로 모든 LC-MS 특징은 서열 확인 결과와 상호 참조하여 다른 샘플과 조직의 정량 데이터를 펩티드 제시 프로필에 합쳤다. 이 정량 데이터를 중심 경향성에 따라 2단 형태로 정상화함으로써 기술적인 생물학적 복제 내에서의 변동을 고려했다. 따라서, 동정된 펩티드를 하나씩 정량 데이터와 연관시키며 샘플과 조직 사이의 상대적 정량화를 허용할 수 있다. 이의 밖에 펩티드 후보로부터 얻어진 모든 정량 데이터를 수동으로 검사하여 데이터 일관성을 보증하고 자동화 분석의 정확성을 확인했다. 펩티드마다 평균 샘플 제시는 물론 복사 변이를 보여주는 제시 프로필을 계산했다. 이 프로필은 HCC 샘플을 정상 조직 샘플의 기준선에 병치한다.

[0610] 예시적인 과다제시된 펩티드의 제시 프로필이 도 1에 나와 있다. 예시적 펩티드의 제시 점수가 표 8에 나와 있다.

[0611] [표 8]

[0612] 제시 점수. 이 표는 정상 조직의 패널과 비교하여 종양에서 매우 고도로 과다제시된 펩티드(+++), 정상조직의 패널과 비교하여 종양에서 고도로 과다제시된 펩티드(++) 또는 정상 조직의 패널과 비교하여 종양에서 과다제시된 펩티드(+)를 나열한다. S* = 포스포세린.

서열번호	서열	펩티드 제시
1	VMAPFTMTI	+++
2	KLQAGTVFV	+++
4	KLQDFSDQL	+++
5	ALVEQGFTV	+++
6	KLSPTVVGL	+++
7	ALVDTLKFV	+++
8	KLLEEATISV	+
9	ALANQKLYSV	+
10	SLLEEFDFHV	+++
11	SLSQELVGV	+
12	FLAELAYDL	+++
14	ALADLTGTVV	+++
15	LLYGHTVTV	+
16	SLLGGNIRL	++
17	RVAS*PTSGV	+
19	FLEETKATV	+++
20	KLSNVLQQV	+++
21	QLIEVSSPITL	+++
22	RIAGIRGIQGV	+++
23	RLYDPASGTISL	+
24	SLAEEKLQASV	+++
25	SLDGKAALTEL	+++
26	SLLHTIYEV	+++
27	TLPDFRLPEI	+++
28	TLQDHLNSL	+++
29	YIQDEINTI	+++
30	YLGEGRMV	++
31	YQMDIQQEL	++
32	ALNAVRLLV	+++
33	LLHGHIVEL	+
34	SLAEGTATV	+++
38	ALADVVEHA	+
39	ALDPKANFST	+++
40	ALLAEGITWV	+
42	ALLGGNVRMML	+++
44	ALQDAIRQL	+

[0613]

47	FLDTPIAKV	+
49	FLYPEKDEPT	+++
51	GLAEELVRA	+
52	GLFNAELLEA	+
53	GLIHLEGDTV	+++
54	GLLDPNVKSIFV	+++
55	GLYGRTIEL	+
56	GVLPGLVGV	+
57	HLTEAIQYV	++
58	ILADLNLSV	+
59	ILADTFIGV	++
60	ILSPLSVAL	+
61	KIADFELPTI	+++
62	KIAGTNAEV	++
66	KLHEEIDRV	++
67	KLKETIQKL	+++
70	KLLDLETERILL	++
71	KLLDNWDSV	+++
72	KLSEAVTSV	+
75	KQMEPLHAV	+
76	LLADIGGDPFAA	+++
77	LLHEENFSV	+
79	LLSTGYEA	+++
81	NLASFIEQVAV	++
82	NVFDGLVRV	+
83	QLHDFVMSL	+++
84	QLTPVLVSV	++
85	RILPKVLEV	+
86	RLAAFYSQV	+++
88	RLIDRIKTV	+++
89	RLIEEIKNV	+++
91	RLPDIPLRQV	+
93	RLYTMDGITV	+++
94	RMSDVVKGV	+++
96	SLLEPNVIRV	++
97	SLLPQLIEV	++
98	SLLSPEHLQYL	++
99	SLSAFLPSL	+++
101	SLWEGGVRGV	+++
103	SMGDHLWVA	+++
107	TLGQFYQEV	+++

[0614]

108	TLLKKISEA	+++
109	TLYALSHAV	+
111	TVMDIDTSGTFNV	+
113	VLMDKLVEL	++
114	VLSQVYSKV	+++
116	WVIPAISAV	+++
117	YAFPKSITV	+++
119	YLDKNLTVSV	+
120	YLGEYVKA	+++
121	YLITGNLEKL	+
122	YLSQAADGAKVL	+++
123	YLWDLDHGFAGV	++
124	LLIDVVTYL	+++
126	TLLDSPIKV	++
127	VLIGSNHSL	+
128	GLAFSLNGV	+
129	SQADVIPA	+
130	ALDAGAVYTL	++
131	ALDSGAFQSV	++
132	ALHEEVVGV	+
133	ALLEMDARL	+
134	ALLETNPYLL	++
135	ALLGKIEKV	+
137	ALPTVLVGV	++
139	ALSSKPAEV	+
142	AVIGGLIYV	++
144	FIQLITGV	+
146	FLWTEQAHTV	+
147	GLAPGGLAVV	+
148	GLFAPLVFL	+++
151	HLAKVTAEV	+
154	KLTDHLKYV	+
161	RLLDEQFAV	+
162	RLMSALTQV	++
163	RLTESVLYL	++
164	RMLIKLLEV	+
167	SLAESSFDV	++
168	SLAVLVPIV	+
169	SLFEWFHPL	+
170	SLHNGVIQL	+
171	SLIPAVLTV	+

[0615]

172	SLLNFLQHL	+
173	SLTSEIHFL	+
174	TLAELGAVQV	+
176	TLGQIWDV	+
177	VLDEPYEKV	+
179	YIHNILYEV	++
180	YLGPFIASVTL	++
181	YLLEKFFVAV	+
184	VVLDGGQIVTV	+
185	ALFPALRPGGFQA	++
186	VLLAQIIQV	+
187	SYPTFFPRF	+
188	RYSAGWDAKF	+
189	AFSPDSHYLLF	+++
190	RYNEKCFKL	+++
191	KYPDIIISRI	++
192	SYTKPEKW	+
193	IYPGAFVDL	+++
194	QYASRFVQL	+++
195	RYAPPPSFSEF	+++
196	AYLKWISQI	+++
197	RWPKKSAEF	+
198	LYWSHPRKF	+
200	AYLLQPSQF	+++
201	AYVNTFHNI	+++
202	AYGTYRSNF	+++
203	YYGILQEKI	+++
204	KYRLTYAYF	++
205	VYGLQRNLL	+
206	KWPETPLLL	+++
208	SYNPAENAVLL	++
210	AYPAIRYLL	++
211	IYIPSYFDF	++
212	VYGDVISNI	+++
213	YYNKVSTVF	+
214	IYVTSIEQI	+++
217	DYIPYVFKL	+++
218	VYQGAIHQI	+
219	GVMAGDIYSV	+
220	SLLEKELESV	++
221	ALCEENMRGV	+

[0616]

224	ALASVIKEL	+
225	KMDPVAYRV	+
226	AVLGPLGLQEV	+
227	ALLKVNQEL	+
228	YLITSVELL	++
229	KMFESFIESV	++
230	VLTEFTREV	+
231	RLFNDPVAMV	++
233	ALLGKLDAI	+
234	YLEPYLKEV	+
236	ALADKELLPSV	++
237	ALRGEIETV	+++
238	AMPPPPPPQGV	++
239	FLLGFIPAKA	+
240	FLWERPTLLV	+++
241	FVLPLLGLHEA	++
242	GLFAPVHKV	+
243	GLLDNPRLRV	+++
244	KIAELLENV	+
245	KLGAVERNQV	+
248	KLNDLIQRL	+
249	LLLGERVAL	+++
250	NLAEVVERV	++
251	RLFADILNDV	++
252	RTIEYLEEV	+
253	RVPPPPQSV	+
255	SLFGQDVKAV	+++
256	SLFQGVFHYV	+
257	SLLEKAGPEL	+++
258	SLMGPVVHEV	+
260	TLMDMRLSQV	++
261	VLFEALWHV	++
263	VLYPSLKEI	+
264	VMQDPEFLQSV	++
265	WLIEDGKVVTV	++
266	SLLESNKDLLL	+
267	ALNENINQV	+
268	KLYQEVEIASV	+
269	YLMEGSYNKV	+
270	SVLDQKILL	++
271	LLLDKLILL	+

[0617]

272	QQLDSKFLEQV	+
273	AILETAPKEV	++
274	ALAEALKEV	+
275	ALIEGAGILL	++
276	ALLEADVNIKL	+
277	ALLEENSTPQL	+
278	ALTSVVVTL	+
279	ALWTGMHTI	+
281	GLLAGDRLVEV	+
282	GQFPSYLETV	++
283	ILSGIGVSQV	+
284	KLDAFVEGV	+
286	KVLDKVFRA	+
288	LLDDSLVSI	+
289	LLLEEGGLVQV	++
290	NLIDLDDLYV	++
292	RIPAYFVTV	+
293	FLASESLIKQI	++
295	SLFSSPPEI	++
297	TLFYSLREV	+
298	TMAKESSIIGV	++
299	ALLRVTPFI	+
301	VLADFGARV	+++
302	KIQEILTQV	+++
303	GVYDGEHSV	+
304	SLIDQFFGV	+++
305	GVLENIFGV	+
308	ALLRTVVSV	+
309	GLIEISNA	+
310	SLWGGDVVL	+
311	FLIPIYHQV	+
312	RLGIKPESV	+++
313	LTAPPEALLMV	+
314	YLAPFLRNV	+
315	KVLDGSPIEV	+
316	LLREKVEFL	+
317	KLPEKWESV	++
318	KLNEINEKI	+
319	KLFNEFIQL	+
320	GLADNTVIAKV	+
322	ILYDIPDIRL	+

[0618]

324	RLFETKITQV	++
326	ALSDGVHKL	++
327	GLNEEIARV	++
328	RLEEDDGDVAM	+
329	SLIEDLILL	+++
330	SMSADVPLV	++
332	AMLAVLHTV	+
334	SILTIEDGIFEV	+
335	SLLPVDIRQYL	++
336	YLPTFFLTV	+
337	TLLAAEFLKQV	+
338	KLFDSDPITVTV	+++
340	KVFDEVIEV	+
342	AMSSKFFLV	+
343	LLLPDYLV	+
345	SYNPLWLRI (A*24)	+++
346	LYQILQGIVF (A*24)	+++
347	ALNPADITV	+

[0619]

[0620]

실시예 2

[0621]

본 발명의 펩티드를 암호화하는 유전자의 발현 프로파일

[0622]

정상 세포와 비교한 종양 세포 상의 펩티드의 과다 제시 또는 특이적 제시는 면역요법에서의 이의 유용성에 충분하며 일부 펩티드는 정상 조직에서도 발생하는 이의 소스 단백질에도 불구하고 종양-특이적이다. 여전히 mRNA 발현 프로파일의 결정은 면역요법을 위한 펩티드 표적의 선택에서 추가의 안정성 수준을 추가한다. 특히 친화성-성숙된 TCR과 같은 안정성 위험이 높은 치료적 옵션의 경우에는, 이상적 표적 펩티드는 종양에 고유하며 정상 조직에서는 없는 단백질로부터 유래될 것이다.

[0623]

RNA 공급원 및 제조

[0624]

외과적으로 제거된 조직 샘플은 위에서 지정한 바와 같이 각 환자로부터 서면 동의서를 받은 후 제공되었다(실시예 1 참조). 종양 조직 표본은 수술 직후 스냅-냉동되었고 절구와 유봉을 이용하여 액체 질소 환경 아래에서 균질화되었다. 총 RNA는 TRIzol(인비트로젠)을 이용하여 샘플로부터 제조되었고 이는 RNeasy(키아젠)에 의해 정제되고; 이 2개의 모든 방법은 제조업체의 설명서에 따라 실행되었다.

[0625]

건강한 인간 조직의 총 RNA는 상업적으로 얻어졌다: 암비온(Ambion, 영국 헌팅톤 소재); 클론테크(Clontech, 독일 하이델베르크 소재); 스트라타진(네덜란드 암스테르담 소재); 바이오체인(BioChain, 미국 캘리포니아주 헤이워드 소재). 여러 개인에서 얻어진 RNA(2에서 123명의 개인)는 각각의 개인에게 균등 가중치를 두어 섞여졌다.

[0626]

RNA 샘플의 양과 질은 아질런트(Agilent) 2100 바이오애널리라이저(Bioanalyzer)(아질런트(Agilent), 독일 발트브론 소재)에 의해 RNA 6000 피코 랩칩 키트(Pico LabChip Kit)(아질런트)를 사용하여 분석되었다.

[0627]

마이크로어레이 실험

[0628]

모든 암과 정상 조직 RNA 샘플의 유전자 발현 분석은 어피메트릭스 휴먼 게놈(Affymetrix Human Genome)(HG) U133A 또는 HG-U133 플러스 2.0 올리고뉴클레오타이드 마이크로어레이(어피메트릭스, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재)에 의해 실행되었다. 모든 단계는 어피메트릭스의 사용설명서에 따라 실행되었다. 간단히, 두 줄기 cDNA는 슈퍼스크립트(SuperScript) RTII(인비트로젠)와 올리고-dT-T7 프라이머(엠티블유쥐 바이오테크(WG Biotech), 독일 에베르스베르크 소재)를 사용하여 사용설명서에 따라 총 RNA 5 내지 8 μ g으로부터 합성되었다. 시험관 내 전사는 U133A 어레이를 위한 바이오어레이 고수율 RNA 전사 라벨링 키트(BioArray High Yield RNA Transcript Labelling Kit)(엔조 디아그노스틱스 인코퍼레이티드(ENZO Diagnostics, Inc.), 미국 뉴욕주 파밍데일 소재) 또는 U133 플러스 2.0 어레이를 위한 유전자칩 IVT 라벨링 키트(GeneChip IVT Labelling Kit)(어피메트릭스)를 사용하여 실행되었다. 이는 cRNA 단편내기, 교배 및 스트렙타비딘-피코에리트린 및 비오틴화된 항-스트렙타비딘 항체로의 염색으로 이어졌다(몰레큘라 프로브스(Molecular Probes), 네덜란드 레이덴 소

제). 이미지는 아질런트 2500A 유전자어레이 스캐너(GeneArray Scanner)(U133A) 또는 어피매트릭스 유전자-칩 스캐너 3000(U133 플러스 2.0)을 이용하여 스캔되었고, 데이터는 기본 세팅을 이용하여 GCOS 소프트웨어(어피매트릭스)를 통해 분석되었다. 정상화를 위해, 어피매트릭스에 의해 제공된 100개의 가사 유전자가 사용되었다. 상대적인 발현 값은 시그널 로그 비율을 통해 계산되었고 정상 샘플의 값은 임의로 1.0으로 정해졌다. 본 발명의 HCC에서 주로 과발현 또는 배타적으로 발현되는 소스 유전자의 예시적 발현 프로필이 도 2에 나와 있다. 추가의 예시적 유전자에 대한 발현 점수는 표 9에 나열된다.

[표 9]

발현 점수. 이 표는 정상 조직의 패널과 비교하여 종양에서 매우 고도로 과다제시된 펩티드(+++), 정상조직의 패널과 비교하여 종양에서 고도로 과다제시된 펩티드(++) 또는 정상 조직의 패널과 비교하여 종양에서 과다제시된 펩티드(+)를 나열한다.

서열번호	서열	유전자 발현
1	VMAPFTMTI	+++
2	KLQAGTVFV	++
3	ILDDNMQKL	+
4	KLQDFSDQL	+++
5	ALVEQGFTV	+++
7	ALVDTLKfV	+++
10	SLLEEFDFHV	+
13	GLIDTETAMKAV	+++
19	FLEETKATV	+++
20	KLSNVLQQV	+++
21	QLIEVSSPITL	+++
25	SLDGKAALTEL	+++
27	TLPDFRLPEI	+++
28	TLQDHLNSL	+++
29	YIQDEINTI	+++
31	YQMDIQQEL	+++
38	ALADVVEHA	+
39	ALDPKANFST	+
41	ALLELDEPLVL	+++
42	ALLGGNVRMML	+
44	ALQDAIRQL	+
45	ALQDQLVLV	++
46	AMAEMKVVL	++
48	FLLEQPEIQV	+

49	FLYPEKDEPT	+++
50	FTIPKLYQL	+++
52	GLFNAELLEA	+++
53	GLIHLEGDTV	+++
55	GLYGRTIEL	+++
60	ILSPLSVAL	+
61	KIADFELPTI	+++
62	KIAGTNAEV	+
66	KLHEEIDRV	+++
67	KLKETIQKL	+++
68	KLLAATVLLL	+++
73	KLTLVIISV	+++
74	KLYDLELIV	+++
76	LLADIGGDPFAA	+
81	NLASFIEQVAV	+
82	NVFDGLVRV	+++
83	QLHDFVMSL	+++
84	QLTPVLVSV	++
85	RILPKVLEV	++
87	RLFEENDVNL	+++
90	RLLDVLAPLV	+
93	RLYTMDGITV	+++
94	RMSDVVKGV	+
95	SICNGVPMV	++
97	SLLPQLIEV	+++
100	SLVGDIGNVNM	+++
103	SMGDHLWVA	+
105	SVYDGKLLI	+
106	TLAAIIHGA	++
107	TLGQFYQEV	+++
109	TLYALSHAV	+++
110	TVGGSEILFEV	+++
113	VLMDKLVEL	+++
114	VLSQVYSKV	+++
116	WVIPAISAV	++
117	YAFPKSITV	+
119	YLDKNLTVSV	++
120	YLGEYVKA	+++
124	LLIDVVTYL	+++
126	TLLDSPIKV	+++

[0632]

129	SQADVIPAV	++
130	ALDAGAVYTL	++
132	ALHEEVVGV	++
141	AMGEKSFSV	+
142	AVIGGLIYV	+++
145	FLIAEYFEHV	++
146	FLWTEQAHTV	++
148	GLFAPLVFL	+
149	GLLSGLDIMEV	+++
154	KLTDHLKYV	+++
157	QLLPNLRVAV	+
158	RIISGLVKV	++
160	RLLAKIICL	+++
163	RLTESVLYL	++
165	RVIEHVEQV	++
168	SLAVLVPIV	+++
172	SLLNFLQHL	+
173	SLTSEIHFL	+
175	TLFEHLPHI	++
177	VLDEPYEKV	++
182	YLLHFPMAL	+++
183	YLYNNEEQVGL	+++
187	SYPTFFPRF	+
188	RYSAGWDAKF	+++
192	SYITKPEKW	+
193	IYPGAFVDL	+
200	AYLLQPSQF	+++
204	KYRLTYAYF	+++
206	KWPETPLLL	+
215	IYTGNISF	+++
217	DYIPYVFKL	+++
218	VYQGAIRQI	+++
228	YLITSVELL	+
233	ALLGKLDAI	+
249	LLLGERVAL	+
255	SLFGQDVKAV	+
259	TLITDGMRSV	+
263	VLYP SLKEI	+
273	AILETAPKEV	+
275	ALIEGAGILL	+

[0633]

286	KVLDKVFRA	+
296	SLLSGRISTL	+
298	TMAKESSIIGV	+
301	VLADFGARV	++
302	KIQEILTQV	+
315	KVLDGSPIEV	++
318	KLNEINEKI	+++
320	GLADNTVIAKV	+
324	RLFETKITQV	++
327	GLNEEIARV	+
336	YLPTFFLTV	+
341	YLAIGIHEL	++
345	SYNPLWLRI (A*24)	++

[0634]

[0635] 실시예 3

[0636] UV-리간드 교환/펩티드의 HLA-A*02 및 HLA-A*24에 대한 결합

[0637] 본 발명에 따른 T 세포 기반 요법의 후보 펩티드를 이의 MHC 결합 능력(친화성)에 대해 더욱 시행했다. 개별 펩티드-MHC 복합체는 UV-리간드 교환에 의해 만들었으며, UV에 민감한 펩티드가 UV 조사 후 분할된 다음 분석된 관심 대상의 펩티드로 교환되었다. 펩티드 수용성 MHC 분자를 효과적으로 결합하고 안정제시킬 수 있는 펩티드 후보만이 MHC 복합체의 해리를 막는다. 이 교환작용의 수율을 결정하기 위해, 안정제된 MHC 복합체의 경쇄(β 2m) 검출에 근거하여 ELISA를 수행했다. 이 검정은 로덴코(Rodenko) 등의 문헌에서 일반적으로 설명된 대로 수행했다(문헌[Rodenko B, Toebe M, Hadrup SR, van Esch WJ, Molenaar AM, Schumacher TN, Ovaa H. UV-매개 리간드 교환을 통한 펩티드-MHC 클래스 I 복합체의 생성(Generation of peptide-MHC class I complexes through UV-mediated ligand exchange). Nat Protoc. 2006;1(3):1120-32.]).

[0638] 96웰 MAXISorp 플레이트(NUNC)를 PBS에서 2ug/ml 스트렙타비딘으로 밤새 코팅하고 4회 세척한 다음 블로킹 완충제를 함유하는 2% BSA에서 37℃ 및 30분 동안 블로킹을 진행했다. 되접기된 HLA-A*0201/MLA-001 단량체가 표준의 역할을 했으며, 이의 범위는 15 내지 500 ng/ml였다. UV-교환 반응을 위한 펩티드-MHC 단량체는 블로킹 완충액으로 100배 희석되었다. 샘플은 37℃에서 1시간 배양 후 4회 세척하고 2 μ g/ml HRP 접합된 항- β 2으로 37℃에서 1시간 배양한 다음 NH_2SO_4 로 정지시킨 TMB 용액으로 검출했다. 흡광은 450 nm에서 측정했다. 높은 교환 수율(바람직하게는 50% 초과, 가장 바람직하게는 75% 초과)을 보이는 후보 펩티드가 일반적으로 항체나 이의 단편 및/또는 T 세포 수용체나 이의 단편의 생성 및 생성을 위해 선호되는데, 이는 MHC 분자에 대한 충분한 결합성을 보이며 MHC 복합체의 해리를 막기 때문이다.

[0639] [표 10A]

[0640] MHC 클래스 I 결합 점수

[0641] <20% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 70% = +++; ≥ 70% = ++++.

서열번호	펩티드 번호	펩티드 교환
12	GPC3-001	++++
5	APOB-001	++++
7	APOB-002	++++
1	APOB-003	++++
13	HSD11B1-001	++++
227	SAMM-001	++++
4	APOB-004	++++
232	MAPKAPK5-001	++++
10	USO-001	++++
304	USP14-001	++++
219	ADF-012	++++
223	IDI1-001	++++
224	IFT81-001	++++
14	NCST-001	++++
228	ACSL4-001	++++
230	IPO9-001	++++
15	SLC35B2-001	++++
16	ACSL3-001	++++
303	MAGEB2-001	+++
226	THT-001	+++
8	DYM-001	+++
6	AXIN2-001	+++
225	QAR-001	+++
2	ALDH1L1-001	+++
221	EEF2-001	+++
220	DRG2-001	+++
301	C1QTNF3-001	+++
11	ZNF318-001	+++

[0642]

[0643] [표 10B]

[0644] MHC 클래스 I 결합 점수

[0645] 펩티드 서열에 의존하여 HLA-A*02 또는 HLA-A*24에 대한 HLA-클래스 I 제한된 펩티드의 결합을 펩티드 교환 수에 의해 분류했다: ≥10% = +; ≥20% = ++; ≥50 = +++; ≥ 75% = ++++. S* = 포스포세린.

서열번호	서열	펩티드 교환
1	VMAPFTMTI	" + + + + "
2	KLQAGTVFV	" + + + "
3	ILDDNMQKL	" + + + "
4	KLQDFSDQL	" + + + + "
5	ALVEQGFTV	" + + + + "
6	KLSPTVVGL	" + + + "
7	ALVDTLKfV	" + + + + "
8	KLLEEATISV	" + + + "
9	ALANQKLYSV	" + + + "
10	SLLEEFDFHV	" + + + + "
11	SLSQELVGV	" + + + "
12	FLAELAYDL	" + + + + "
13	GLIDTETAMKAV	" + + + + "
14	ALADLTGTVV	" + + + + "
15	LLYGHTVTV	" + + + + "
16	SLLGGNIRL	" + + + + "
17	RVAS*PTSGV	" + + + "
18	ALYGKTEVV	" + + + "
19	FLEETKATV	" + + + "
20	KLSNVLQQV	" + + + + "
21	QLIEVSSPITL	" + + + + "
22	RIAGIRGIQGV	" + + + + "
23	RLYDPASGTISL	" + + + "
24	SLAEEKLQASV	" + + + "
25	SLDGKAALTEL	" + + + "
26	SLLHTIYEV	" + + + "
27	TLPDFRLPEI	" + + + + "
28	TLQDHLNSL	" + + + "
29	YIQDEINTI	" + + + "
30	YLGEGRPMV	" + + + "
31	YQMDIQQEL	" + + + "
32	ALNAVRLLV	" + + + + "

[0646]

서열번호	서열	펩티드 교환
33	LLHGHIVEL	" + + + "
34	SLAEGTATV	" + + + "
35	SLQESILAQV	" + + + "
36	ILNVDGLIGV	" + + + "
37	LLLPLLPPLSP	" + + + "
38	ALADVVEHA	" + + + "
39	ALDPKANFST	" + + + "
40	ALLAEGITWV	" + + + "
41	ALLELDEPLVL	" + + + + "
42	ALLGGNVRMML	" + + + + "
43	ALLGVWTSV	" + + "
44	ALQDAIRQL	" + + + + "
45	ALQDQLVLV	" + + + + "
46	AMAEMKVVL	" + + + + "
47	FLDTPIAKV	" + + "
48	FLLEQPEIQV	" + + + + "
49	FLYPEKDEPT	" + + "
50	FTIPKLYQL	" + + "
51	GLAEELVRA	" + + "
52	GLFNAELLEA	" + + + + "
53	GLIHLEGDTV	" + + + + "
54	GLLDPNVKSIFV	" + + + + "
55	GLYGRTIEL	" + + + + "
56	GVLPGLVGV	" + + + + "
57	HLTEAIQYV	" + + + + "
58	ILADLNLSV	" + + + + + "
59	ILADTFIGV	" + + + + "
60	ILSPLSVAL	" + + + + + "
61	KIADFELPTI	" + + + + + "
62	KIAGTNAEV	" + + + "
63	KIDEKNFVV	" + + + + "
64	KILEETLYV	" + + + + "
65	KLFSGDELLEV	" + + + + "
66	KLHEEIDRV	" + + + + "
67	KLKETIQKL	" + + + + "
68	KLLAATVLLL	" + + + "
69	KLLDEVTYLEA	" + + + + + "
70	KLLDLETERILL	" + + + + + "

[0647]

서열번호	서열	펩티드 교환
71	KLLDNWDSV	"++++"
72	KLSEAVTSV	"+++ "
74	KLYDLELIV	"+++ "
75	KQMEPLHAV	"++ "
76	LLADIGGDPFAA	"+++ "
77	LLHEENFSV	"+++ "
78	LLIDDEYKV	"+++ "
80	LLYEGKLT	"++++ "
81	NLASFIEQVAV	"+++ "
82	NVFDGLVRV	"+++ "
83	QLHDFVMSL	"++++ "
84	QLTPVLVSV	"+++ "
85	RILPKVLEV	"+++ "
86	RLAAFYSQV	"+++ "
87	RLFEENDVNL	"+++ "
88	RLIDRIKTV	"++ "
89	RLIEEIKNV	"++ "
90	RLLDVLAPLV	"+++ "
91	RLPDIPLRQV	"+++ "
92	RLPPDTLLQQV	"+++ "
93	RLYTMDGITV	"++ "
94	RMSDVVKGV	"+++ "
95	SICNGVPMV	"+++ "
96	SLLEPNVIRV	"++++ "
97	SLLPQLIEV	"++++ "
98	SLLSPEHLQYL	"+++ "
99	SLSAFLPSL	"++++ "
100	SLVGDIGNVNM	"++ "
101	SLWEGGVRGV	"+++ "
102	SLWSVARGV	"+++ "
103	SMGDHLWVA	"+++ "
104	SVWFGPKEV	"+++ "
105	SVYDGKLLI	"++++ "
106	TLAAIIHGA	"+++ "
107	TLGQFYQEV	"++++ "
108	TLLKKISEA	"+++ "
109	TLYALSHAV	"+++ "
110	TVGGSEILFEV	"++++ "

[0648]

서열번호	서열	펩티드 교환
111	TVMDIDTSGTFNV	" + + + "
112	VLGEVKVGV	" + + + + "
113	VLMDKLVEL	" + + + + "
114	VLSQVYSKV	" + + + + "
115	VVLDDKDYFL	" + + + + "
116	WVIPAISAV	" + + + + "
117	YAFPKSITV	" + + + + "
118	YLDDEKNWGL	" + + + + "
119	YLDKNLTVSV	" + + + + "
120	YLGEYYVKA	" + + + "
121	YLITGNLEKL	" + + + + "
122	YLSQAADGAKVL	" + + + "
123	YLWDLDHGFAGV	" + + + + "
124	LLIDVVTYL	" + + + + + "
125	ALYGRLEV	" + + + + + "
126	TLLDSPIKV	" + + + + "
127	VLIGSNHSL	" + + + + + "
128	GLAFSLNGV	" + + + + + "
129	SQADVIPA	" + + + + "
130	ALDAGAVYTL	" + + + + + "
131	ALDSGAFQSV	" + + + + "
132	ALHEEVGV	" + + + + "
133	ALLEMDARL	" + + + + "
134	ALLETNPYLL	" + + + + + "
135	ALLGKIEKV	" + + + + "
136	ALLNQHYQV	" + + + + "
137	ALPTVLVGV	" + + + + + "
138	ALSQVTLLL	" + + + + + "
139	ALSSKPAEV	" + + + + "
140	ALTSISAGV	" + + + + + "
141	AMGEKSFSV	" + + + + + "
142	AVIGGLIYV	" + + + + + "
145	FLIAEYFEHV	" + + + "
146	FLWTEQAHTV	" + + + "
147	GLAPGGLAVV	" + + + + "
148	GLFAPLVFL	" + + + + + "
149	GLLSGLDIMEV	" + + + + + "
150	GLSNLGIKSI	" + + + + + "

[0649]

서열번호	서열	펩티드 교환
151	HLAKVTAEV	" + + + "
152	KLDNNLDSV	" + + + "
154	KLTDHLKYV	" + + + "
156	LLFPHPVNQV	" + + + + "
157	QLLPNLRVAV	" + + + "
158	RIISGLVKV	" + + "
159	RLFPDGIIVTV	" + + + "
160	RLLAKIICL	" + + "
161	RLLDEQFAV	" + + + "
162	RLMSALTQV-	" + + "
163	RLTESVLYL	" + + + "
164	RMLIKLLEV	" + + + "
165	RVIEHVEQV	" + + + + "
166	SILDIVTKV	" + + + "
167	SLAESSFDV	" + + + "
168	SLAVLVPIV	" + + + "
169	SLFEWFHPL	" + + + "
170	SLHNGVIQL	" + + + "
171	SLIPAVLTV	" + + + "
172	SLLNFLQHL	" + + + "
173	SLTSEIHFL	" + + + "
174	TLAELGAVQV	" + + + "
175	TLFEHLPHI	" + + + "
176	TLGQIWDV	" + + + + "
177	VLDEPYEKV	" + + + "
178	YIFTTPKSV	" + + + "
179	YIHNILYEV	" + + + + "
180	YLGPHIASVTL	" + + + "
181	YLLEKFVAV	" + + + "
182	YLLHFPMAL	" + + + "
183	YLYNNEEQVGL	" + + "
184	VVLDGGQIVTV	" + + + "
185	ALFPALRPGGFQA	" + + + "
186	VLLAQIIQV	" + + + "
187	SYPTFFPRF	" + + + + "
188	RYSAGWDAKF	" + + + + "
189	AFSPDSHYLLF	" + + + "
190	RYNEKCFKL	" + + + + "

[0650]

서열번호	서열	펩티드 교환
191	KYPDIIISRI	"++++"
192	SYITKPEKW	"++++"
193	IYPGAFVDL	"++++"
195	RYAPPPSFSEF	"++++"
196	AYLKWISQI	"++++"
197	RWPKKSAEF	"++++"
198	LYWSHPRKF	"++++"
199	KFVTVQATF	"++++"
200	AYLLQPSQF	"++++"
201	AYVNTFHNI	"++++"
202	AYGTYRSNF	"++++"
203	YYGILQEKI	"++++"
205	VYGLQRNLL	"++++"
206	KWPETPLLL	"++++"
207	IYLERFPIF	"++++"
208	SYNPAENAVLL	"++++"
209	VFHPRQELI	"+++"
210	AYPAIRYLL	"++++"
211	IYIPSYFDF	"++++"
212	VYGDVISNI	"++++"
213	YYNKVSTVF	"++++"
214	IYVTSIEQI	"++++"
215	IYTGNISF	"++++"
216	IYADVGEF	"++++"
217	DYIPYVFKL	"++++"
218	VYQGAIHQI	"++++"
219	GVMAGDIYSV	"++++"
220	SLLEKELESV	"+++"
221	ALCEENMRGV	"+++"
222	LTDITKGV	"++"
223	FLFNTENKLLL	"++++"
224	ALASVIKEL	"+++"
225	KMDPVAYRV	"+++"
226	AVLGPLGLQEV	"+++"
227	ALLKVNQEL	"++++"
228	YLITSVELL	"++++"
229	KMFESFIESV	"+++"
230	VLTEFTREV	"++++"

[0651]

서열번호	서열	헵티드 교환
231	RLFNDPVAMV	"++++"
232	KLAEIVKQV	"++++"
233	ALLGKLDI	"++++"
234	YLEPYLKEV	"++++"
235	KLFEEREI	"++++"
236	ALADKELLPSV	"+++"
237	ALRGEIETV	"+++"
238	AMPPPPQGV	"++"
239	FLLGFIPAKA	"+++"
240	FLWERPTLLV	"+++"
241	FVLPLLGLHEA	"++"
242	GLFAPVHKV	"+++"
243	GLLDNPELRV	"+++"
244	KIAELLENV	"++++"
245	KLGAVERNQV	"++++"
246	KLISSYYNV	"+++"
247	KLLDTMVDTFI	"++++"
248	KLNDLIQRL	"+++"
249	LLLGERVAL	"++++"
250	NLAEVVERV	"++++"
251	RLFADILNDV	"++++"
252	RTIEYLEEV	"+++"
253	RVPPPPQSV	"++"
254	RVQEAIIEV	"+++"
255	SLFGQDVKAV	"+++"
256	SLFQGVEFHVV	"+++"
257	SLLEKAGPEL	"+++"
258	SLMGPVVHEV	"+++"
259	TLITDGMRSV-	"++"
260	TLMDMRLSQV	"+++"
261	VLFEALWHV	"+++"
262	VLPNFLPYNV	"+++"
263	VLYPSLKEI	"+++"
264	VMQDPEFLQSV	"++++"
265	WLIEDGKVVTV	"++++"
266	SLLESNKDLLL	"+++"
267	ALNENINQV	"+++"
268	KLYQEVEIASV	"++++"

[0652]

서열번호	서열	펩티드 교환
269	YLMEGSYNKV	" + + + "
270	SVLDQKILL	" + + + "
271	LLLDKILLL	" + + + + "
272	QQLDSEFLEQV	" + + + "
273	AILETAPKEV	" + + + "
274	ALAEALKEV	" + + + + "
275	ALIEGAGILL	" + + + "
276	ALLEADVNIKL	" + + + + "
277	ALLEENSTPQL	" + + + "
278	ALTSVVVTL	" + + + + "
279	ALWTGMHTI	" + + + "
280	ATLNIIHSV	" + + + "
281	GLLAGDRLVEV	" + + + "
282	GQFPSYLETV	" + + + "
283	ILSGIGVSQV	" + + + "
284	KLDAFVEGV	" + + + "
285	KLLDLSDSTSV	" + + + "
286	KVLDKVFRA	" + + + + "
287	LIGEFLEKV	" + + + + "
288	LLDDSLVSI	" + + + "
290	NLIDLDDLYV	" + + + + "
291	QLIDYERQL	" + + + "
292	RIPAYFVTV	" + + "
293	FLASESLIKQI	" + + "
294	RLIDLHTNV	" + + + + "
295	SLFSSPPEI	" + + + "
296	SLLSGRISTL	" + + + "
297	TLFYSLREV	" + + + "
298	TMAKESSIIGV	" + + "
299	ALLRVTPFI	" + + + "
300	TLAQQTAV	" + + "
302	KIQEILTQV	" + + + + "

[0653]

[0654]

실시예 4

[0655]

MHC 클래스 I 제시 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0656]

본 발명의 TUMAP의 면역원성에 대한 정보를 얻기 위해, 펩티드/MHC 복합체 및 항-CD28 항체가 로딩된 인공 항원-제시 세포(aAPC)를 갖는 CD8+ T 세포의 반복된 자극을 근거로 *시험관 내* 초회감작 검사를 사용하여 조사를 수행했다. 이 방법으로 본 발명자들은 지금까지 22개의 HLA-A*0201 제한된 본 발명의 TUMAP의 면역원성을 보여줄 수 있었으며, 이것은 이 펩티드들이 인간에 존재하는 CD8+ 전조 T 세포에 대한 T 세포 에피토프라는 것을 보여주었다(표 11).

[0657]

CD8+ T 세포의 시험관 내 초회감작

[0658]

펩티드-MHC 복합체(pMHC) 및 항-CD28 항체가 로딩된 인공 항원-제시 세포에 의한 *시험관 내* 자극을 수행하기 위해, 독일 소재의 유니버시티 클리닉스 만하임(University clinics Mannheim)에서 동의서를 받은 건강한 공여자로부터의 CD8 마이크로비드(밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec), 독일 베르기쉬-글라드바흐 소재)를 사용한 양성 선택을 통해 신선한 HLA-A*02 백혈구 성분 채집 산물로부터 CD8+ T 세포를 먼저 분리했다.

[0659]

PBMC 및 단리된 CD8+ 림프구는 10% 열 비활성화된 인간 AB 혈청(판-바이오텍(PAN-Biotech), 독일 아이텐바크 소재), 100 U/ml 페니실린/100 µg/ml 스트렙토마이신(캄브렉스(Cambrex), 독일 콜론 소재), 1 mM 피루브산 나트륨(씨씨 프로(CC Pro), 독일 오베르돌라 소재), 20 µg/ml 젠타마이신(캄브렉스)으로 보충된 RPMI-글루타맥스(인비트로젠)을 포함하는 T 세포 배지(TCM)에서 사용할 때까지 배양했다. 이 단계에서 2.5 ng/ml IL-7(프로모셀(PromoCell), 독일 하이델베르크 소재) 및 10 U/ml IL-2(노바티스 파마(Novartis Pharma), 독일 뉘베르크 소재) 또한 TCM에 추가했다.

[0660]

pMHC/항-CD28 코팅된 비드의 생성, T 세포 자극 및 관독은 고도로 정의된 시험관 내 체계에서 수행했으며, 자극

조건 당 4가지 다른 pMHC 분자 및 판독 조건 당 8가지 다른 pMHC 분자를 각각 사용했다.

- [0661] 정제된 공동-자극 쥐 IgG2a 항인체 CD28 Ab 9.3(Jung et al., 1987)은 제조사가 권장하는 술폰-N-히드록시숙신 이미도비오틴을 사용하여 화학적으로 비오틴닐화 했다(페리바이오(Perbio), 독일 본 소재). 사용된 비드는 스트렙티비딘으로 코팅된 직경 5.6 μm 의 폴리스티렌 입자였다(방스 레보라토리스(Bangs Laboratories), 미국 일리노이주 소재).
- [0662] 양성과 음성 대조군으로 사용되는 pMHC는 각각 A*0201/MLA-001(변형된 멜란-A/MART-1의 펩티드 E μ LAGIGILTV)과 A*0201/DDX5-001(DDX5의 YLLPAIVHI) 또는 A*0201/HBV-001(FLPSDFFPSV)이었다.
- [0663] 800,000 비드/200 μl 를 4 x 12.5 ng 비오틴-pMHC 존재 하에 96-웰 플레이트에서 코팅하고 세척한 다음 600 ng 비오틴 항-CD28를 첨가하여 200 μl 의 부피로 만들었다. 1×10^6 CD8+ T 세포와 2×10^5 의 세척하고 코팅한 비드를 5 ng/ml IL-12 (프로모셀)로 보충한 200 μl TCM에서 및 37°C에서 3일 동안 배양함으로써 96-웰 플레이트에서의 자극을 개시했다. 매질의 반은 80 U/ml IL-2로 추가된 새로운 TCM에 의해 교환되고 배양은 37°C에서 4 일간 계속되었다. 이 자극 주기는 총 세 번 수행되고 조건당 8가지 다른 pMHC(분자를 사용하는 pMHC 다합체의 판독을 위해, 이미 설명된 바와 같이(Andersen et al., 2012) 2차원 조합대수적 코팅 접근 방식을 사용했으며, 5가지 다른 형광색소와의 결합을 허용하는 약간의 변형이 있었다. 마지막으로 다합체 분석은 라이브/데드(Live/dead) 근 IR 염료(인비트로젠), CD8-FITC 항체 클론 SK1(비디(BD), 독일 하이델베르크 소재) 및 형광 pMHC 다합체로써 세포를 염색하여 수행했다. 분석에는 적절한 레이저 및 필터가 장착된 BD LSRII SORP 세포측정기를 사용했다. 펩티드 특이적 세포는 총 CD8+ T 세포의 백분율로 계산되었다. 다합체 분석의 평가는 FCS 익스프레스 소프트웨어(드노보 소프트웨어)를 사용하여 수행되었다. 특이적 다합체 + CD8+ 림프구의 시험관 내 감작은 적절한 통문과 음성 대조군 자극과 비교함으로써 감지되었다. 주어진 항원의 면역성은 건강한 기증자의 최소한 하나의 시험관 내 자극된 평가가능한 웰이 시험관 내 자극 후 CD8+ T 세포주를 보이면 발견되었다(예를 들어, 이 웰은 CD8+ T 세포 중 최소한 1%의 특이적 테트라머+를 가졌으며 특이적 테트라머+ 세포의 백분율은 최소한 음성 대조군 자극의 매질보다 10배여야 한다).
- [0664] **HCC 펩티드의 시험관 내 면역원성**
- [0665] 실험된 HLA 클래스 I 펩티드에서, 시험관 내 면역원성은 펩티드 특이적 T 세포주의 형성에 의해 입증될 수 있었다. 본 발명의 세 개의 펩티드에 대한 TUMAP-특이적 다합체 염색 이후 예시적 유세포 측정 결과 및 반응하는 음성 대조군이 도 3 및 도 4에 나와 있다. 본 발명의 22개의 펩티드에 대한 결과는 표 11A에 요약되어 있다.
- [0666] [표 11A]
- [0667] 본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 시험관 내 면역원성
- [0668] 본 발명의 출원자가 실행한 펩티드에 대한 시험관 내 면역원성 실험의 예시적 결과. <20% = +; 20% 내지 49% = ++; 50% 내지 69% = +++; \geq 70% = ++++.

서열번호	펩티드 ID	웰	공여자
225	QAR-001	+++	++++
1	APOB-003	++	++++
2	ALDH1L1-001	++	++++
301	C1QTNF3-001	++	++++
15	SLC35B2-001	++	++++
16	ACSL3-001	++	++++
12	GPC3-001	+	++++
7	APOB-002	+	++++
303	MAGEB2-001	+	++
227	SAMM-001	+	+++
4	APOB-004	+	++++
226	THT-001	+	++++
6	AXIN2-001	+	++
232	MAPKAPK5-001	+	+++
10	USO-001	+	++
304	USP14-001	+	++++
219	ADF-012	+	++++
224	IFT81-001	+	+++
11	ZNF318-001	+	++
14	NCST-001	+	++
228	ACSL4-001	+	++
230	IPO9-001	+	++++

[0669]

[0670]

[표 11B]

[0671]

본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0672]

본 발명의 출원자가 HLA-A*24 제한된 펩티드에 대해 실행한 시험관 내 면역원성 실험의 예시적 결과. 시험관 내 면역원성 실험의 결과가 표시된다. 양성 웰 및 공여자의 (평가가능한 합계)에 대한 백분율이 다음과 같이 요약된다: 1 내지 20% = +; 20% 내지 49% = ++; 50% 내지 69% = +++; \geq 70% = ++++.

서열번호	서열	웰 양성 [%]	공여자 양성 [%]
187	SYPTFFPRF	" + "	" + + + + "
189	AFSPDSHYLLF	" + "	" + + "
190	RYNEKCFKL	" + "	" + + "
191	KYPDIIISRI	" + "	" + + + + "
192	SYITKPEKW	" + "	" + + + "
193	IYPGAFVDL	" + "	" + + + "
194	QYASRFVQL	" + "	" + + + "
196	AYLKWISQI	" + "	" + + + "
197	RWPKKSAEF	" + "	" + + "
198	LYWSHPRKF	" + "	" + + "
199	KFVTVQATF	" + "	" + + "
201	AYVNTFHN	" + + "	" + + + + "
202	AYGTYSNF	" + "	" + + + + "
203	YYGILQEKI	" + "	" + + + "
205	VYGLQRNLL	" + "	" + + + "
207	IYLERFPIF	" + + "	" + + + + "
208	SYNPAENAVLL	" + "	" + + + "
209	VFHPRQELI	" + + "	" + + + + "
210	AYPAIRYLL	" + "	" + + + + "
211	IYPSYFDF	" + + "	" + + + + "
212	VYGDVISNI	" + "	" + + + + "
215	IYTGNISSF	" + "	" + + "
216	IYADVGEFF	" + "	" + + "
217	DYIPYVFKL	" + + + "	" + + + + "
218	VYQGAIRQI	" + "	" + + + "

[0673]

[0674] **건강한 HLA-A*02+ 공여자의 펩티드-특이적 시험관 내 CD8+ T 세포 반응에 대한 예시적 결과(도 3)**

[0675] IMA-APOB-002(서열번호 7) 펩티드(A, 오른쪽 패널) 또는 IMA-APOB-003(B, 오른쪽 패널, 서열번호 1) 또는 IMA-ALDH1L1-001(C, 오른쪽 패널, 서열번호 2)과의 복합체에서 항-CD28 mAb 및 HLA-A*02로써 코팅된 인공 APC를 사용하여 CD8+ T 세포를 초회감작시켰다. 3주기의 자극 후, A*02/APOB-002(A) 또는 A*02/APOB-003(B) 또는 A*02/ALDH1L1-001로써 염색되는 2D 다합체를 사용하여 펩티드-반응적 세포의 검출을 수행했다. 왼쪽 패널들(A, B, C)은 관련이 없는 A*02/펩티드 복합체로써 자극한 세포의 대조 염색을 보여준다. 생존가능한 단일 세포를 CD8+ 림프구에 대해 가두었다. 본 게이트는 다른 펩티드에 대해 특이적인 다합체로써 검출된 허위 양성 사건의 배제에 도움이 되었다. CD8+ 림프구 가운데 특이적 다합체+ 세포의 빈도가 표시된다.

[0676] **건강한 HLA-A*24+ 공여자의 펩티드-특이적 시험관 내 CD8+ T 세포 반응에 대한 예시적 결과(도 4)**

[0677] IMA-KLHL24-001(서열번호 190) 펩티드(A, 오른쪽 패널) 또는 IMA-APOB-006(B, 오른쪽 패널, 서열번호 218)과의 복합체에서 항-CD28 mAb 및 HLA-A*24로써 코팅된 인공 APC를 사용하여 CD8+ T 세포를 초회감작시켰다. 3주기의 자극 후, A*24/KLHL24-001(A) 또는 A*24/APOB-006(B)로써 염색되는 2D 다합체를 사용하여 펩티드-반응적 세포의 검출을 수행했다. 왼쪽 패널들(A 및 B)은 관련이 없는 A*24/펩티드 복합체로써 자극한 세포의 대조 염색을 보여준다. 생존가능한 단일 세포를 CD8+ 림프구에 대해 가두었다. 본 게이트는 다른 펩티드에 대해 특이적인 다합체로써 검출된 허위 양성 사건의 배제에 도움이 되었다. CD8+ 림프구 가운데 특이적 다합체+ 세포의 빈도가 표시된다.

[0678] **실시예 5**

[0679] **펩티드 합성**

[0680] 모든 펩티드는 Fmoc-전략을 사용하여 표준 및 확립된 고체상 펩티드 합성으로써 합성되었다. 각 개별 펩티드의 정제와 순도는 질량 분석법과 분석용 RP-HPLC에 의해 결정했다. 펩티드는 백색 내지 황백색 동결건조 배양물(삼불화아세트산 염) 및 50% 이상의 순도로서 얻어졌다. 모든 TUMAP는 바람직하게는 삼불화아세트산 염 또는 아세트산 염으로 투여되지만, 다른 염의 형태 또한 가능하다.

- [0681] 참조문헌 목록
- [0682] Adler, A. S. et al., Genes Dev. **28** (2014)
- [0683] Ahn, Y. H. et al., J Proteomics. **106** (2014)
- [0684] Akiyama, H. et al., Oncol Rep. **21** (2009)
- [0685] Alam, S. M. et al., Endocr.Relat Cancer **16** (2009)
- [0686] Aleman, G. et al., Am J Physiol Endocrinol.Metab **289** (2005)
- [0687] Alexanian, A. et al., Cancer Genomics Proteomics. **9** (2012)
- [0688] Altenhofer, S. et al., J Biol.Chem. **285** (2010)
- [0689] Alvarez, C. et al., J Biol.Chem. **276** (2001)
- [0690] Ammerpohl, O. et al., Int.J Cancer **130** (2012)
- [0691] Andersen, R. S. et al., Nat.Protoc. **7** (2012)
- [0692] Arai, E. et al., Carcinogenesis **33** (2012)
- [0693] Araki, T. et al., J Biol.Chem. **286** (2011)
- [0694] Arlt, A. et al., Oncogene **28** (2009)
- [0695] Arndt, S. et al., Oncol Rep. **18** (2007)
- [0696] Arner, E. S. et al., Eur.J Biochem. **267** (2000)
- [0697] Atienza, J. M. et al., Mol Cancer Ther **4** (2005)
- [0698] Avery-Kiejda, K. A. et al., BMC.Cancer **14** (2014)
- [0699] Bachmann, S. B. et al., Mol Cancer **13** (2014)
- [0700] Balogh, K. et al., Oncogene **31** (2012)
- [0701] Bani, M. R. et al., Mol Cancer Ther **3** (2004)
- [0702] Bansal, N. et al., PLoS.One. **6** (2011)
- [0703] Barbarulo, A. et al., Oncogene **32** (2013)
- [0704] Bell, J. C. et al., Drug Metab Dispos. **40** (2012)
- [0705] Ben-Izhak, O. et al., Histopathology **41** (2002)
- [0706] Bergada, L. et al., Lab Invest **94** (2014)
- [0707] Bergeron, M. J. et al., Mol Aspects Med. **34** (2013)
- [0708] Bhattacharya, C. et al., Mol Cancer **11** (2012)
- [0709] Bhogaraju, S. et al., Science **341** (2013)
- [0710] Bidkhor, G. et al., PLoS.One. **8** (2013)
- [0711] Bieche, I. et al., Breast Cancer Res **6** (2004)
- [0712] Biswas, S. et al., Biochim.Biophys.Acta **1832** (2013)
- [0713] Blanke, K. L. et al., Cancer Causes Control **25** (2014)
- [0714] Bodine, S. C. et al., Science **294** (2001)
- [0715] Boehringer, J. et al., Biochem.J **448** (2012)
- [0716] Bojjireddy, N. et al., J Cell Sci. (2014)

- [0717] Booth, D. G. et al., EMBO J **30** (2011)
- [0718] Bouquet, C. et al., Mol Ther **14** (2006)
- [0719] Boylan, K. L. et al., Proteome.Sci. **8** (2010)
- [0720] Braumuller, H. et al., Nature (2013)
- [0721] Brockmoller, S. F. et al., J Proteome.Res **11** (2012)
- [0722] Buch, S. C. et al., Mol Carcinog. **51 Suppl 1** (2012)
- [0723] Bull, C. et al., Cancer Res **74** (2014)
- [0724] Burrell, R. A. et al., Nature **494** (2013)
- [0725] Butterfield, L. H. et al., Clin Cancer Res **12** (2006)
- [0726] Butterfield, L. H. et al., Clin.Cancer Res. **9** (2003)
- [0727] Byrne, A. et al., Exp.Cell Res **316** (2010)
- [0728] Cadenas, C. et al., Cell Cycle **13** (2014)
- [0729] Cadoret, A. et al., Oncogene **21** (2002)
- [0730] Cao, H. et al., Biochemistry **41** (2002)
- [0731] Cao, Y. et al., Cancer Research **61** (2001)
- [0732] Cao-Ehlker, X. et al., J Biol.Chem. **288** (2013)
- [0733] Carroll, M. et al., J Interferon Cytokine Res **33** (2013)
- [0734] Carrouel, F. et al., J Dent.Res **87** (2008)
- [0735] Castro, M. et al., J Transl.Med. **8** (2010)
- [0736] Chae, Y. S. et al., Med.Oncol **28** (2011)
- [0737] Chang, L. O. et al., Cancer Res **33** (1973)
- [0738] Chang, Y. S. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. **59** (2007)
- [0739] Chapiro, J. et al., Radiol.Med. **119** (2014)
- [0740] Charbonneau, B. et al., Am J Hematol. **87** (2012)
- [0741] Chatterjee, M. et al., Haematologica **98** (2013)
- [0742] Chen, J. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **420** (2012a)
- [0743] Chen, M. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **108** (2011a)
- [0744] Chen, R. et al., World J Gastroenterol. **17** (2011b)
- [0745] Chen, X. et al., J Dig.Dis. **12** (2011c)
- [0746] Chen, X. Q. et al., Med.Oncol **29** (2012b)
- [0747] Cheng, L. et al., Genomics **102** (2013)
- [0748] Choi, Y. W. et al., Int.J Gynecol.Cancer **17** (2007)
- [0749] Christa, L. et al., Gastroenterology **106** (1994)
- [0750] Clark, A. G. et al., Cytoskeleton (Hoboken.) **69** (2012)
- [0751] Claro da, Silva T. et al., Mol.Aspects Med. **34** (2013)
- [0752] Cohen, L. et al., Nature **395** (1998)

- [0753] Collins, C. L. et al., Surgery **122** (1997)
- [0754] Com, E. et al., J Proteomics. **75** (2012)
- [0755] Copps, K. D. et al., Diabetologia **55** (2012)
- [0756] Cornen, S. et al., PLoS.ONE. **9** (2014)
- [0757] Cornez, I. et al., Biochem.Pharmacol. **75** (2008)
- [0758] Cowling, V. H., Oncogene **29** (2010)
- [0759] Cui, T. et al., Int.J Oncol **39** (2011)
- [0760] da Silva, M. G. et al., Exp.Clin Cardiol. **17** (2012)
- [0761] Dadkhah, E. et al., Arch.Iran Med. **16** (2013)
- [0762] Darmanis, S. et al., PLoS.One. **8** (2013)
- [0763] Darvekar, S. et al., Biochem.J **442** (2012)
- [0764] Darvekar, S. R. et al., PLoS.One. **9** (2014)
- [0765] Datta, K. et al., J Biol.Chem. **284** (2009)
- [0766] David, S. et al., Front Biosci.(Elite.Ed) **5** (2013)
- [0767] de Almagro, M. C. et al., Biochem.Pharmacol. **81** (2011)
- [0768] de Groot, J. F. et al., Cancer Res **65** (2005)
- [0769] Deb, S. et al., Br.J Cancer **110** (2014)
- [0770] Debaue, G. et al., Cell Mol Life Sci. **65** (2008)
- [0771] Decker, T. et al., J Clin Invest **109** (2002)
- [0772] Decock, A. et al., Genome Biol. **13** (2012)
- [0773] Del Campo, E. M. et al., Mol Phylogenet.Evol. **66** (2013)
- [0774] Delaval, B. et al., J Cell Biol. **188** (2010)
- [0775] Deng, X. D. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **15** (2014)
- [0776] Di, Gregorio E. et al., J Med.Genet. **50** (2013)
- [0777] Diggle, C. P. et al., PLoS.Genet. **10** (2014)
- [0778] Dimitrov, A. et al., Hum.Mol Genet. **18** (2009)
- [0779] Dmitriev, O. Y., Biochem.Cell Biol. **89** (2011)
- [0780] Doherty, J. A. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **20** (2011)
- [0781] Dong, Z. et al., Crit Rev.Oncol Hematol. **59** (2006)
- [0782] Dou, R. et al., Cancer Lett. **336** (2013)
- [0783] Drazkowska, K. et al., Nucleic Acids Res **41** (2013)
- [0784] Edavana, V. K. et al., Drug Metab Dispos. **41** (2013)
- [0785] Edwards, P. A. et al., Breast Cancer Res **14** (2012)
- [0786] Elvenes, J. et al., PLoS.One. **6** (2011)
- [0787] Emaduddin, M. et al., Cell Commun.Signal. **6** (2008)
- [0788] Enguita-German, M. et al., World J Hepatol. **6** (2014)

- [0789] Epelbaum, R. et al., Pathol.Oncol Res **4** (1998)
- [0790] Fan, T. W. et al., Mol Cancer **8** (2009)
- [0791] Fang, Z. Q. et al., Genet.Mol Res **12** (2013)
- [0792] Fassas, A. B. et al., Leuk.Lymphoma **45** (2004)
- [0793] Feferman, L. et al., Prostate Cancer Prostatic.Dis. **16** (2013)
- [0794] Fei, F. et al., J Cancer Res Clin Oncol (2014a)
- [0795] Fei, F. et al., Ann Surg.Oncol **21** (2014b)
- [0796] Feigelson, H. S. et al., Breast Cancer Res **10** (2008)
- [0797] Feng, L. et al., Cell Biochem.Funct. **29** (2011)
- [0798] Feng, M. et al., J Clin Invest **124** (2014a)
- [0799] Feng, S. et al., Int.J Biol.Sci. **9** (2013)
- [0800] Feng, Y. et al., J Biol.Chem. **289** (2014b)
- [0801] Feng, Y. et al., Free Radic.Res **46** (2012)
- [0802] Fernandes, C. F. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **361** (2007)
- [0803] Ferre, S. et al., J Am Soc Nephrol. **25** (2014)
- [0804] Ferrer-Ferrer, M. et al., Arch.Med.Res **44** (2013)
- [0805] Filmus, J. et al., FEBS J **280** (2013)
- [0806] Fiorito, V. et al., Biochim.Biophys.Acta **1839** (2014)
- [0807] Fojo, A. T. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **84** (1987)
- [0808] Fonseca, A. L. et al., Genes Chromosomes.Cancer **51** (2012)
- [0809] Fossdal, G. et al., ScientificWorldJournal. **2012** (2012)
- [0810] Fournier, T. et al., Biochim.Biophys.Acta **1482** (2000)
- [0811] Fu, W. et al., J Cell Sci. **123** (2010)
- [0812] Fujitomo, T. et al., Cancer Res **72** (2012)
- [0813] Furukawa, T. et al., Sci.Rep. **1** (2011)
- [0814] Furutani, M. et al., Hepatology **24** (1996)
- [0815] Gadd, S. et al., Lab Invest **90** (2010)
- [0816] Gailani, D., Trends Cardiovasc.Med. **10** (2000)
- [0817] Galamb, O. et al., Helicobacter. **13** (2008)
- [0818] Galazis, N. et al., Gynecol.Endocrinol. **29** (2013)
- [0819] Gandhi, A. V. et al., Ann Surg.Oncol **20 Suppl 3** (2013)
- [0820] Gao, L. et al., Mol Oncol **6** (2012)
- [0821] Garcia-Baquero, R. et al., Tumour.Biol. **35** (2014)
- [0822] Gardner-Stephen, D. A. et al., Drug Metab Dispos. **35** (2007)
- [0823] Garg, M. et al., Cancer **116** (2010a)
- [0824] Garg, M. et al., Eur.J Cancer **46** (2010b)

- [0825] Gburcik, V. et al., Mol Cell Biol. **25** (2005)
- [0826] Gergely, F. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **97** (2000)
- [0827] Gervasini, G. et al., Cancer **107** (2006)
- [0828] Getty, A. L. et al., Cell Mol Life Sci. **68** (2011)
- [0829] Gilabert, M. et al., J Cell Physiol **228** (2013)
- [0830] Gilkes, D. M. et al., Mol Cancer Res **11** (2013)
- [0831] Giovannetti, E. et al., J Natl.Cancer Inst. **106** (2014)
- [0832] Gokmen-Polar, Y. et al., Mod.Pathol. (2014)
- [0833] Goldstein, I. et al., Carcinogenesis **34** (2013)
- [0834] Gong, Y. et al., Genet.Mol Res **12** (2013)
- [0835] Goode, E. L. et al., Clin Cancer Res **16** (2010)
- [0836] Gordon, E. M. et al., Am.J Pediatr.Hematol.Oncol **15** (1993)
- [0837] Gotzmann, J. et al., Crit Rev.Eukaryot.Gene Expr. **9** (1999)
- [0838] Gray, L. R. et al., Cell Mol Life Sci. **71** (2014)
- [0839] Gregory, P. A. et al., J Biol.Chem. **278** (2003)
- [0840] Greif, P. A. et al., Leukemia **25** (2011)
- [0841] Gu, W. et al., PLoS.One. **7** (2012)
- [0842] Guo, L. et al., Cancer Sci. **103** (2012)
- [0843] Halon, A. et al., Arch.Gynecol.Obstet. **287** (2013)
- [0844] Hamamoto, R. et al., Cancer Sci. **97** (2006)
- [0845] Hamilton, S. R. et al., Glycobiology **15** (2005)
- [0846] Hamm, A. et al., BMC.Cancer **8** (2008)
- [0847] Hanioka, N. et al., Basic Clin Pharmacol.Toxicol. **110** (2012)
- [0848] Harris, M. et al., Pharmacogenet.Genomics **24** (2014)
- [0849] Hatakeyama, H. et al., Proteomics. **6** (2006)
- [0850] Havens, M. A. et al., PLoS.Genet. **10** (2014)
- [0851] He, P. et al., Hum.Pathol. **35** (2004)
- [0852] He, X. et al., Neoplasma **61** (2014a)
- [0853] He, Y. et al., Mol Carcinog. (2014b)
- [0854] Hellwinkel, O. J. et al., Prostate Cancer Prostatic.Dis. **14** (2011)
- [0855] Hemmingsson, O. et al., Oncol Rep. **22** (2009)
- [0856] Hidalgo-Curtis, C. et al., Br.J Haematol. **148** (2010)
- [0857] Hider, J. L. et al., BMC.Evol.Biol. **13** (2013)
- [0858] Hinsch, N. et al., BMC.Cancer **9** (2009)
- [0859] Hirota, Y. et al., Nucleic Acids Res **28** (2000)
- [0860] Hlavata, I. et al., Mutagenesis **27** (2012)

- [0861] Hoelz, D. J. et al., Proteomics. **6** (2006)
- [0862] Holden, H. M. et al., Cell Mol Life Sci. **61** (2004)
- [0863] Honda, K. et al., PLoS.One. **7** (2012)
- [0864] Hong, Y. et al., J Biol.Chem. **274** (1999)
- [0865] Hood, F. E. et al., Bioarchitecture. **1** (2011)
- [0866] Hood, F. E. et al., J Cell Biol. **202** (2013)
- [0867] Hopfer, O. et al., Br.J Cancer **93** (2005)
- [0868] Horani, A. et al., Am J Hum.Genet. **91** (2012)
- [0869] Hou, M. et al., Int.J Mol Med. **33** (2014)
- [0870] Hu, D. G. et al., Drug Metab Rev. **46** (2014)
- [0871] Hua, D. et al., Int.J Mol Med. **30** (2012a)
- [0872] Hua, T. et al., J Biol.Chem. **287** (2012b)
- [0873] Huang, O. et al., Jpn.J Clin Oncol **43** (2013)
- [0874] Huang, S. et al., Oncogene **21** (2002)
- [0875] Huang, Y. et al., Oncotarget. **5** (2014)
- [0876] Hughes, H. et al., J Cell Sci. **123** (2010)
- [0877] Hunecke, D. et al., J Pathol. **228** (2012)
- [0878] Huopaniemi, L. et al., Glycobiology **14** (2004)
- [0879] Hyung, S. W. et al., Mol Cell Proteomics. **10** (2011)
- [0880] Iannitti, T. et al., Mar.Drugs **8** (2010)
- [0881] Ichida, K. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **282** (2001)
- [0882] Ignatova, I. D. et al., Am J Physiol Endocrinol.Metab **296** (2009)
- [0883] Ikeda, R. et al., Int.J Oncol **38** (2011)
- [0884] Inuzuka, M. et al., J Biol.Chem. **280** (2005)
- [0885] Ishiguro, H. et al., Oncogene **21** (2002)
- [0886] Ishizaki, F. et al., Sci.Rep. **3** (2013)
- [0887] Ivashchenko, A. T. et al., Biomed.Res Int. **2013** (2013)
- [0888] Jacquemier, J. et al., Cancer Res **65** (2005)
- [0889] Jacques, C. et al., Br.J Cancer **101** (2009)
- [0890] Jaffe, E. K. et al., Arch.Biochem.Biophys. **530** (2013)
- [0891] Jakobsson, A. et al., Prog.Lipid Res **45** (2006)
- [0892] Jamroziak, K. et al., Eur.J Haematol. **72** (2004)
- [0893] Jeung, H. C. et al., Oncologist. **12** (2007)
- [0894] Jia, Y. et al., Br.J Cancer **110** (2014)
- [0895] Jiang, J. G. et al., Cancer Res **65** (2005)
- [0896] Jiang, X. et al., Histol.Histopathol. **25** (2010)

- [0897] Jiang, X. et al., Mol Carcinog. (2014)
- [0898] Jin, Z. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014)
- [0899] Jockusch, H. et al., Proteomics. **14** (2014)
- [0900] Johnson, M. A. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. **1012** (2004)
- [0901] Jose-Eneriz, E. S. et al., Br.J Haematol. **142** (2008)
- [0902] Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A **84** (1987)
- [0903] Jung, H. J. et al., J Mol Med.(Berl) **91** (2013)
- [0904] Kaira, K. et al., Hepatobiliary.Pancreat.Dis.Int. **13** (2014)
- [0905] Kalsotra, A. et al., Toxicol.Appl.Pharmacol. **199** (2004)
- [0906] Kalthoff, S. et al., J Biol.Chem. **285** (2010)
- [0907] Kamiyama, S. et al., Glycobiology **21** (2011)
- [0908] Kamiyama, S. et al., J Biol.Chem. **281** (2006)
- [0909] Kandil, D. H. et al., Adv.Anat.Pathol. **16** (2009)
- [0910] Kandimalla, R. et al., Nat Rev.Urol. **10** (2013)
- [0911] Karvonen, U. et al., J Mol Biol. **382** (2008)
- [0912] Kelleher, D. J. et al., Glycobiology **16** (2006)
- [0913] Khan, A. P. et al., Neoplasia. **15** (2013)
- [0914] Kim, Y. et al., Hum.Pathol. **46** (2015)
- [0915] Kim, Y. W. et al., PLoS.One. **7** (2012)
- [0916] Klein, C. J. et al., Neurology **82** (2014)
- [0917] Kobayashi, T. et al., Biochem.J **400** (2006)
- [0918] Kollmann, K. et al., Cancer Cell **24** (2013)
- [0919] Komatsu, M. et al., Pharmacol.Res **66** (2012)
- [0920] Kong, S. Y. et al., Cancer Sci. **99** (2008)
- [0921] Kovacevic, Z. et al., Biochim.Biophys.Acta **1783** (2008)
- [0922] Kracmarova, A. et al., Leuk.Lymphoma **49** (2008)
- [0923] Kraemer, N. et al., Cell Mol Life Sci. **68** (2011)
- [0924] Kress, T. R. et al., Mol Cell **41** (2011)
- [0925] Krohn, A. et al., J Pathol. **231** (2013)
- [0926] Krupenko, S. A. et al., Cell Growth Differ. **13** (2002)
- [0927] Kubota, H. et al., Cell Stress.Chaperones. **15** (2010)
- [0928] Kummel, D. et al., EMBO Rep. **6** (2005)
- [0929] Kunutsor, S. K. et al., Int.J Cancer (2014)
- [0930] Kuriyama, H. et al., Gene **253** (2000)
- [0931] Laezza, F. et al., Mol Cell Neurosci. **34** (2007)
- [0932] Lahiri, S. et al., PLoS.Biol. **12** (2014)

- [0933] Lando, M. et al., J Pathol. **230** (2013)
- [0934] Lapucci, A. et al., FASEB J **24** (2010)
- [0935] Lascorz, J. et al., BMC.Med.Genet. **13** (2012)
- [0936] Lauffart, B. et al., BMC.Womens Health **5** (2005)
- [0937] Laverdiere, I. et al., Endocr.Relat Cancer (2014)
- [0938] Leasure, C. D. et al., Plant Physiol **150** (2009)
- [0939] Lee, C. H. et al., Hum.Reprod. **24** (2009)
- [0940] Lee, K. W. et al., J Biol.Chem. **288** (2013)
- [0941] Lee, S. J. et al., Toxicol.Lett. (2014)
- [0942] Lee, W. C. et al., J Immunother. **28** (2005)
- [0943] Lee, Y. C. et al., Int.J Cancer **122** (2008)
- [0944] Lekva, T. et al., PLoS.One. **8** (2013)
- [0945] LeRoy, P. J. et al., Cancer Res **67** (2007)
- [0946] Leung, T. et al., Breast Cancer Res **15** (2013)
- [0947] Levenson, V. V. et al., Somat.Cell Mol Genet. **25** (1999)
- [0948] Levi, S. et al., Front Pharmacol. **5** (2014)
- [0949] Li, D. et al., Protein Cell **5** (2014a)
- [0950] Li, N. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **455** (2014)
- [0951] Li, X. et al., Med.Oncol **31** (2014b)
- [0952] Li, Y. et al., Mol Cell Biol. **29** (2009)
- [0953] Li, Y. H. et al., World J Gastroenterol. **18** (2012)
- [0954] Liang, J. et al., PLoS.One. **3** (2008)
- [0955] Lillig, C. H. et al., Antioxid.Redox.Signal. **9** (2007)
- [0956] Lin, C. H. et al., J Cell Biol. **189** (2010)
- [0957] Lin, M. C. et al., Oral Oncol **50** (2014)
- [0958] Lin, S. H. et al., Oncogene **23** (2004)
- [0959] Lin, Z. et al., Cell Rep. **5** (2013)
- [0960] Linderoth, J. et al., Br.J Haematol. **141** (2008)
- [0961] Line, A. et al., Cancer Immunol Immunother. **51** (2002)
- [0962] Ling, C. et al., EMBO J **26** (2007)
- [0963] Linge, A. et al., J Proteome.Res **13** (2014)
- [0964] Lioutas, A. et al., EMBO Rep. **14** (2013)
- [0965] Liu, C. et al., Nat Med. **20** (2014)
- [0966] Liu, C. et al., J Natl.Cancer Inst. **105** (2013a)
- [0967] Liu, H. et al., Carcinogenesis **34** (2013b)
- [0968] Liu, T. W. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **106** (2009a)

- [0969] Liu, W. et al., J Biol.Chem. **279** (2004)
- [0970] Liu, Y. et al., Curr.Drug Targets. **13** (2012)
- [0971] Liu, Y. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **18** (2009b)
- [0972] Liu, Y. et al., Oncol Rep. **18** (2007)
- [0973] Ljungberg, B., Curr.Opin.Urol. **17** (2007)
- [0974] Llovet, J. M. et al., N.Engl.J Med. **359** (2008)
- [0975] Lo Re, A. E. et al., J Biol.Chem. **287** (2012)
- [0976] Lo, W. Y. et al., J Proteome.Res **6** (2007)
- [0977] Lombardo, Y. et al., Breast Cancer Res **16** (2014)
- [0978] Lourenco, G. J. et al., Breast Cancer Res Treat. **100** (2006)
- [0979] Lovelace, L. L. et al., J Biol.Chem. **286** (2011)
- [0980] Lung, H. L. et al., Int J Cancer **127** (2010)
- [0981] Lutcke, H., Eur.J Biochem. **228** (1995)
- [0982] Ma, X. J. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **100** (2003)
- [0983] Mackiewicz, A. et al., Glycoconj.J **12** (1995)
- [0984] Mahajan, K. et al., Cancer Lett. **338** (2013)
- [0985] Mamtani, M. et al., BMC.Res Notes **5** (2012)
- [0986] Mariani, L. et al., Clin Cancer Res **7** (2001)
- [0987] Marina, M. et al., Front Biosci.(Landmark.Ed) **19** (2014)
- [0988] Markiewski, M. M. et al., Nat Immunol **9** (2008)
- [0989] Martin, T. A. et al., Eur.J Cancer **40** (2004)
- [0990] Martinez, H. D. et al., Genes Cancer **2** (2011)
- [0991] Mathison, J. et al., Pathobiology **59** (1991)
- [0992] Matsubara, J. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **20** (2011)
- [0993] Matusiak, D. et al., J Histochem.Cytochem. **55** (2007)
- [0994] McGuire, T. A., Md Med.J **40** (1991)
- [0995] Medjkane, S. et al., Cell Cycle **11** (2012)
- [0996] Meijers, J. C. et al., Br.J Haematol. **108** (2000)
- [0997] Mercer, C. A. et al., Autophagy. **5** (2009)
- [0998] Mercurio, F. A. et al., Biochemistry **51** (2012)
- [0999] Midorikawa, Y. et al., Jpn.J Cancer Res. **93** (2002)
- [1000] Miled, C. et al., Cancer Res **65** (2005)
- [1001] Milkereit, P. et al., J Biol.Chem. **278** (2003)
- [1002] Miller, J. C. et al., Mol Carcinog. **48** (2009)
- [1003] Mohelnikova-Duchonova, B. et al., Pancreas **42** (2013)
- [1004] Monaco, M. E. et al., Transl.Oncol **3** (2010)

- [1005] Morandi, F. et al., PLoS.One. **7** (2012)
- [1006] Morrissey, J. J. et al., Urology **83** (2014)
- [1007] Mu, J. et al., J Biol.Chem. **272** (1997)
- [1008] Murray, D. W. et al., Br.J Cancer **110** (2014)
- [1009] Murray, J. I. et al., Mol Biol.Cell **15** (2004)
- [1010] Murrin, L. C. et al., J Neuroimmune.Pharmacol. **2** (2007)
- [1011] Murthy, K. G. et al., Genes Dev. **9** (1995)
- [1012] Mydlikova, Z. et al., Neoplasma **57** (2010)
- [1013] Narita, T. et al., Mol Cell Biol. **23** (2003)
- [1014] Narjoz, C. et al., PLoS.One. **9** (2014)
- [1015] Nelson, E. R. et al., Science **342** (2013)
- [1016] Ngeow, J. et al., Cancer Discov. **4** (2014)
- [1017] Nibbe, R. K. et al., Mol.Cell Proteomics. **8** (2009)
- [1018] Nielsen, M. J. et al., Blood **108** (2006)
- [1019] Noda, T. et al., Hepatology **55** (2012)
- [1020] Noh, C. K. et al., Clin Biochem. **47** (2014)
- [1021] Ntikoudi, E. et al., Cancer Treat.Rev. **40** (2014)
- [1022] Nwosu, V. et al., Hum.Mol Genet. **10** (2001)
- [1023] Obholz, K. L. et al., Dev.Biol. **298** (2006)
- [1024] Oeffner, F. et al., Am J Hum.Genet. **84** (2009)
- [1025] Ofman, R. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **281** (2001)
- [1026] Ohshima, K. et al., Mol Biol.Evol. **27** (2010)
- [1027] Oiso, S. et al., Oncol Rep. **31** (2014)
- [1028] Oji, Y. et al., Int.J Oncol **44** (2014)
- [1029] Osada, H. et al., Int.J Cancer **112** (2004)
- [1030] Otero-Rey, E. M. et al., Oral Oncol **44** (2008)
- [1031] Palmer, D. H. et al., Hepatology **49** (2009)
- [1032] Panico, F. et al., Adv.Cancer Res **105** (2009)
- [1033] Park, B. L. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **363** (2007)
- [1034] Patel, M. R. et al., Laryngoscope **121** (2011)
- [1035] Patel, S. A. et al., Br.J Cancer (2014)
- [1036] Pattani, K. M. et al., PLoS.ONE. **7** (2012)
- [1037] Pavelec, D. M. et al., Genetics **183** (2009)
- [1038] Pawlowska, M. et al., Drug Metab Dispos. **41** (2013)
- [1039] Pehlivan, D. et al., Eur.J Hum.Genet. **22** (2014)
- [1040] Pei, Z. et al., PLoS.One. **8** (2013)

- [1041] Pellanda, H. et al., *Int.J Biochem.Cell Biol.* **44** (2012)
- [1042] Peng, R. et al., *J Cell Biol.* **157** (2002)
- [1043] Perera, S. et al., *J Muscle Res Cell Motil.* **33** (2012)
- [1044] Persaud-Sawin, D. A. et al., *Hum.Mol Genet.* **11** (2002)
- [1045] Peters, D. G. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **14** (2005)
- [1046] Pizon, V. et al., *J Cell Sci.* **115** (2002)
- [1047] Placke, T. et al., *Blood* **124** (2014)
- [1048] Plebani, R. et al., *Neoplasia.* **14** (2012)
- [1049] Poh, W. et al., *Mol Cancer* **11** (2012)
- [1050] Porkka, K. P. et al., *Genes Chromosomes.Cancer* **39** (2004)
- [1051] Pylypenko, O. et al., *Mol Cell* **11** (2003)
- [1052] Qi, L. et al., *Cancer Res* **74** (2014)
- [1053] Qin, Y. et al., *Pigment Cell Melanoma Res* **26** (2013)
- [1054] Quayle, S. N. et al., *Neuro Oncol* **14** (2012)
- [1055] Quek, H. H. et al., *DNA Cell Biol.* **16** (1997)
- [1056] Quidville, V. et al., *Cancer Res* **73** (2013)
- [1057] Rajadhyaksha, A. M. et al., *Am.J Hum.Genet.* **87** (2010)
- [1058] Rajasekaran, A. K. et al., *Nucleic Acids Res* **23** (1995)
- [1059] Rajendran, M. et al., *Cancer Metastasis Rev.* **29** (2010)
- [1060] Rakheja, D. et al., *Mol Genet.Metab* **93** (2008)
- [1061] Ramana, C. V. et al., *EMBO J* **19** (2000)
- [1062] Rashad, N. M. et al., *Cytokine* **68** (2014)
- [1063] Rath, N. et al., *EMBO Rep.* **13** (2012)
- [1064] Recupero, D. et al., *Rom.J Morphol.Embryol.* **51** (2010)
- [1065] Reinisch, W. et al., *J Immunother.* **25** (2002)
- [1066] Rekdal, C. et al., *J Biol.Chem.* **275** (2000)
- [1067] Ren, Y. G. et al., *Mol Biol.Cell* **15** (2004)
- [1068] Rennoll, S. A. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **443** (2014)
- [1069] Rifas, L. et al., *Arthritis Rheum.* **60** (2009)
- [1070] Riihila, P. M. et al., *J Invest Dermatol.* **134** (2014)
- [1071] Rodriguez, F. J. et al., *J Neuropathol.Exp.Neurol.* **67** (2008)
- [1072] Rogov, V. et al., *Mol Cell* **53** (2014)
- [1073] Romanuik, T. L. et al., *BMC.Genomics* **10** (2009)
- [1074] Roodman, G. D., *Ann N.Y.Acad.Sci.* **1192** (2010)
- [1075] Rosado, I. V. et al., *RNA.* **10** (2004)
- [1076] Rose, A. E. et al., *Cancer Res* **71** (2011)

- [1077] Ross, H. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **136** (2012)
- [1078] Rossi, M. R. et al., Cancer Genet.Cytogenet. **161** (2005)
- [1079] Rotondo, R. et al., Int.J Cancer **125** (2009)
- [1080] Rucksaken, R. et al., Cancer Biomark. **12** (2012)
- [1081] Ruiz, F. X. et al., Biochem.J **440** (2011)
- [1082] Ruiz, F. X. et al., Front Pharmacol. **3** (2012)
- [1083] Rutkowski, M. J. et al., Mol Cancer Res **8** (2010)
- [1084] Rylova, S. N. et al., Cancer Res **62** (2002)
- [1085] Sahm, F. et al., Cancer Res **73** (2013)
- [1086] Sahu, A. et al., Immunol Res **17** (1998)
- [1087] Saito, T. et al., J Biol.Chem. **278** (2003)
- [1088] Salahshor, S. et al., J Clin Pathol. **58** (2005)
- [1089] Sang, W. et al., Zhonghua Bing.Li Xue.Za Zhi. **42** (2013)
- [1090] Sangro, B. et al., J Clin Oncol **22** (2004)
- [1091] Sanz, L. et al., Mol Cell Biol. **15** (1995)
- [1092] Saponaro, C. et al., Cancer Biomark. **14** (2014)
- [1093] Sarajlic, A. et al., Breast Cancer Res Treat. **143** (2014)
- [1094] Sasahira, T. et al., Eur.J Cancer **50** (2014)
- [1095] Schneider, E. et al., Clin Chim.Acta **374** (2006)
- [1096] Schofield, A. V. et al., Crit Rev.Biochem.Mol Biol. **48** (2013)
- [1097] Schulz, E. G. et al., Immunity. **30** (2009)
- [1098] Seifert, M. et al., J Pathol. **205** (2005)
- [1099] Senchenko, V. et al., Oncogene **22** (2003)
- [1100] Shaughnessy, J. D., Jr. et al., Blood **118** (2011)
- [1101] Shen, F. et al., J Cell Biochem. **112** (2011)
- [1102] Shi, M. et al., World J Gastroenterol. **10** (2004a)
- [1103] Shi, Y. et al., Exp.Cell Res **296** (2004b)
- [1104] Shi, Z. Z. et al., Clin Transl.Oncol **16** (2014)
- [1105] Shinji, S. et al., Oncol Rep. **15** (2006)
- [1106] Shodeinde, A. et al., J Mol Biochem. **2** (2013)
- [1107] Shubbar, E. et al., BMC.Cancer **13** (2013)
- [1108] Shurbaji, M. S. et al., Am J Clin Pathol. **96** (1991)
- [1109] Sillars-Hardebol, A. H. et al., Gut **61** (2012)
- [1110] Singh, S. et al., Tumour.Biol. (2014)
- [1111] Smith, P. et al., Clin Cancer Res **13** (2007)
- [1112] Song, C. et al., J Biol.Chem. **288** (2013)

- [1113] Srivenugopal, K. S. et al., Cancer Lett. **117** (1997)
- [1114] Staal-van den Brekel AJ et al., Br.J Cancer **76** (1997)
- [1115] Steen, H. C. et al., J Interferon Cytokine Res. **32** (2012)
- [1116] Stefanska, B. et al., Clin Cancer Res **20** (2014)
- [1117] Strassburg, C. P. et al., J Biol.Chem. **273** (1998)
- [1118] Strassburg, C. P. et al., Mol Pharmacol. **52** (1997)
- [1119] Sudo, H. et al., Genomics **95** (2010)
- [1120] Sugihara, T. et al., J Biol.Chem. **276** (2001)
- [1121] Sun, C. et al., Pathol.Res Pract. **210** (2014)
- [1122] Sun, X. et al., J Pathol. **226** (2012)
- [1123] Sun, X. et al., Protein Cell **4** (2013)
- [1124] Sun, X. J. et al., Zhonghua Yi.Xue.Yi.Chuan Xue.Za Zhi. **22** (2005)
- [1125] Supernat, A. et al., Oncol Lett. **4** (2012)
- [1126] Surmacz, E., J Mammary.Gland.Biol.Neoplasia. **18** (2013)
- [1127] Suzuki, K. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **368** (2008)
- [1128] Swallow, C. J. et al., Oncogene **24** (2005)
- [1129] Tabuchi, K. et al., J Neurosci. **22** (2002)
- [1130] Taguchi, O. et al., Clin Chim.Acta **244** (1996)
- [1131] Takayama, T. et al., Cancer **68** (1991)
- [1132] Takayama, T. et al., Lancet **356** (2000)
- [1133] Takeda, Y. et al., Glycobiology **24** (2014)
- [1134] Takemasa, I. et al., Int.J Oncol **40** (2012)
- [1135] Takeuchi, A. et al., Mol Cell Endocrinol. **384** (2014)
- [1136] Tan, L. Z. et al., Am J Pathol. **183** (2013)
- [1137] Tan, M. K. et al., Mol Cell Biol. **31** (2011)
- [1138] Tanahashi, N. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **243** (1998)
- [1139] Tanaka, M. et al., Mol Med.Rep. **7** (2013)
- [1140] Tang, L. et al., Arch.Med.Res **43** (2012)
- [1141] Tang, X. H. et al., Annu.Rev.Pathol. **6** (2011)
- [1142] Tao, J. et al., Sci.Transl.Med. **3** (2011)
- [1143] Tao, R. H. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **341** (2006)
- [1144] Tao, T. et al., Cell Res **23** (2013)
- [1145] Tarao, K. et al., Cancer **86** (1999)
- [1146] Tarao, K. et al., Cancer **79** (1997)
- [1147] Tasker, P. N. et al., Osteoporos.Int. **17** (2006)
- [1148] Telikicherla, D. et al., Clin Proteomics. **9** (2012)

- [1149] Tian, T. et al., Eur.J Cancer **48** (2012)
- [1150] Tian, Y. et al., BMC.Cancer **14** (2014)
- [1151] Tomiyama, K. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **107** (2010)
- [1152] Tomoda, T. et al., J Gastroenterol.Hepatol. **27** (2012)
- [1153] Tong, J. et al., PLoS.One. **8** (2013)
- [1154] Tortorella, S. et al., J Membr.Biol. **247** (2014)
- [1155] Tran, E. et al., Science **344** (2014)
- [1156] Trougakos, I. P., Gerontology **59** (2013)
- [1157] Tsai, H. Y. et al., Oncogene **32** (2013)
- [1158] Uddin, S. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **4** (2011)
- [1159] Uehara, Y. et al., Cancer Res **43** (1983)
- [1160] Urig, S. et al., Semin.Cancer Biol. **16** (2006)
- [1161] Vainio, P. et al., Am.J Pathol. **178** (2011)
- [1162] van der Spek, P. J. et al., Genomics **31** (1996)
- [1163] van Zuylen, W. J. et al., PLoS.Pathog. **8** (2012)
- [1164] van, den Broek, I et al., Proteomics.Clin Appl. **4** (2010)
- [1165] van, Duin M. et al., Haematologica **96** (2011)
- [1166] Vejda, S. et al., Mol Cell Proteomics. **1** (2002)
- [1167] Vincent, F. et al., Cancer Res **69** (2009)
- [1168] Wang, B. S. et al., Cell Stress.Chaperones. **18** (2013a)
- [1169] Wang, D. et al., J Biol.Chem. **277** (2002)
- [1170] Wang, J. et al., Eur.J Cancer Prev. **22** (2013b)
- [1171] Wang, J. et al., J Clin Invest **112** (2003)
- [1172] Wang, J. et al., Cancer Prev.Res (Phila) **6** (2013c)
- [1173] Wang, J. C. et al., Oncology **81** (2011)
- [1174] Wang, M. et al., Chin J Physiol **55** (2012)
- [1175] Wang, S. K. et al., PLoS.Genet. **9** (2013d)
- [1176] Wang, S. S. et al., PLoS.One. **5** (2010)
- [1177] Wang, X. et al., Urol.Int. **92** (2014)
- [1178] Wang, Y. et al., J Biol.Chem. **274** (1999)
- [1179] Wang, Y. et al., Med.Oncol **32** (2015)
- [1180] Wazir, U. et al., Cell Mol Biol.Lett. **18** (2013)
- [1181] Wazir, U. et al., Anticancer Res **32** (2012)
- [1182] Weiss, J. et al., Int.J Antimicrob.Agents **41** (2013)
- [1183] Welsh, M. M. et al., Carcinogenesis **29** (2008)
- [1184] Wieser, R., Leuk.Lymphoma **43** (2002)

- [1185] Wilhelm, S. M. et al., Cancer Res. **64** (2004)
- [1186] Williams, A. L. et al., Nature **506** (2014)
- [1187] Witte, I. et al., Cell Death.Dis. **2** (2011)
- [1188] Wong, K. K. et al., Leukemia **28** (2014)
- [1189] Wong, N. et al., J Hepatol. **38** (2003)
- [1190] Wu, L. et al., Ann Hematol. **91** (2012)
- [1191] Wu, N. et al., Int.J Mol Sci. **14** (2013a)
- [1192] Wu, W. et al., Sci.China Life Sci. **56** (2013b)
- [1193] Wu, X. et al., Am.J Clin Exp.Urol. **2** (2014)
- [1194] Wu, Y. M. et al., Cancer Res **71** (2011)
- [1195] Xiao, J. et al., J Biol.Chem. **276** (2001)
- [1196] Xie, F. W. et al., Neoplasma **61** (2014)
- [1197] Xu, H. et al., Cell Rep. **9** (2014)
- [1198] Xu, X. et al., Proteomics. **10** (2010)
- [1199] Yan, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **98** (2001)
- [1200] Yang, C. et al., Virchows Arch. **463** (2013)
- [1201] Yang, C. Y. et al., J Immunol **192** (2014a)
- [1202] Yang, H. et al., Oncol Rep. **24** (2010)
- [1203] Yang, H. W. et al., Oncogene **0** (2014b)
- [1204] Yang, R. et al., Mol Cell Biol. **31** (2011a)
- [1205] Yang, Z. J. et al., Mol Cancer Ther **10** (2011b)
- [1206] Yau, C. et al., Breast Cancer Res **12** (2010)
- [1207] Ye, X. H. et al., Mol Genet.Genomics (2014)
- [1208] Yoon, J. K. et al., J Transl.Med. **12** (2014)
- [1209] Yoshimura, S. et al., J Cell Biol. **191** (2010)
- [1210] Yoshizuka, N. et al., Mol Cancer Res **10** (2012)
- [1211] Yosten, G. L. et al., Am J Physiol Regul.Integr.Comp Physiol **303** (2012)
- [1212] Yu, J. H. et al., RNA. **11** (2005)
- [1213] Yu, K. et al., PLoS.Genet. **4** (2008)
- [1214] Yue, C. et al., Int.J Cancer **136** (2015)
- [1215] Zamanian-Daryoush, M. et al., J Biol.Chem. **288** (2013)
- [1216] Zarling, A. L. et al., Cancer Res **74** (2014)
- [1217] Zekri, A. R. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **13** (2012)
- [1218] Zelcer, N. et al., Mol Cell Biol. **34** (2014)
- [1219] Zhang, D. et al., Pak.J Med.Sci. **29** (2013a)
- [1220] Zhang, H. et al., Oncotarget. **4** (2013b)

- [1221] Zhang, H. T. et al., Biochim.Biophys.Acta **1839** (2014a)
- [1222] Zhang, J. et al., Drug Metab Dispos. **34** (2006)
- [1223] Zhang, S. et al., BMC.Cancer **11** (2011)
- [1224] Zhang, X. et al., PLoS.One. **7** (2012)
- [1225] Zhang, X. D. et al., Int.J Clin Exp.Med. **7** (2014b)
- [1226] Zhao, Y. et al., Cell Death.Dis. **4** (2013)
- [1227] Zhou, B. et al., Cancer Biol.Ther **13** (2012)
- [1228] Zhou, D. et al., PLoS.One. **8** (2013a)
- [1229] Zhou, J. et al., Oncol Rep. **30** (2013b)
- [1230] Zhou, J. et al., Lung Cancer **14** (1996)
- [1231] Zhu, H. et al., Cell Stress.Chaperones. (2014a)
- [1232] Zhu, W. L. et al., Anticancer Res **29** (2009)
- [1233] Zhu, X. et al., Biomed.Pharmacother. **68** (2014b)
- [1234] Zhuang, Z. et al., J Neurosurg. **115** (2011)
- [1235] Zietek, Z. et al., Pol.Tyg.Lek. **51** (1996)
- [1236] Zou, W. et al., Cancer Sci. **101** (2010)
- [1237] Zu, X. et al., Molecules. **18** (2013)
- [1238] Zu, X. Y. et al., Recent Pat Anticancer Drug Discov. **7** (2012)
- [1239] Zynda, E. R. et al., Cell Cycle **13** (2014)

도면

도면1a

펩티드: ALVDTLK FV (A*02)



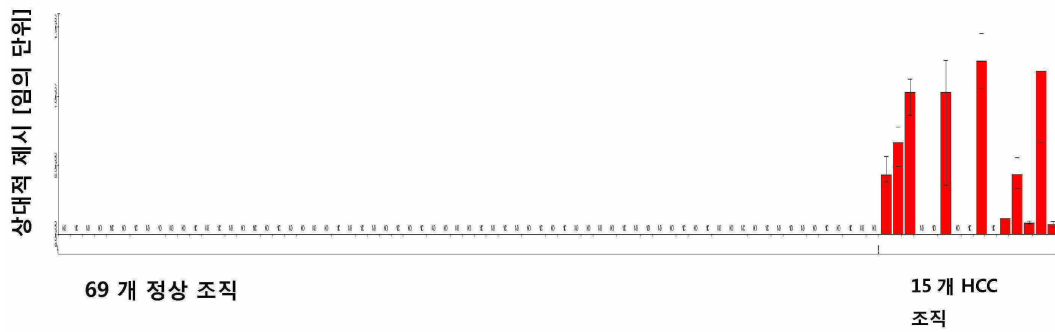
도면1b

펩티드: KLQAGTVFV (A*02)



도면1c

펩티드: AYLLQPSQF (A*24)



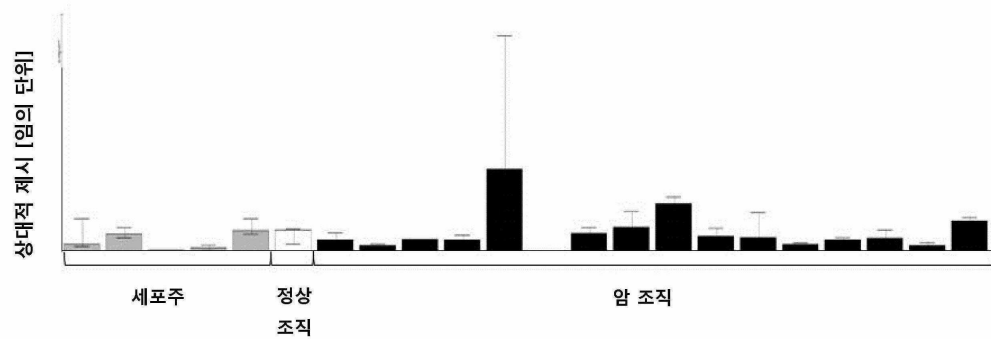
도면1d

펩티드: KIDEKNFVV (A*02)
서열번호 63



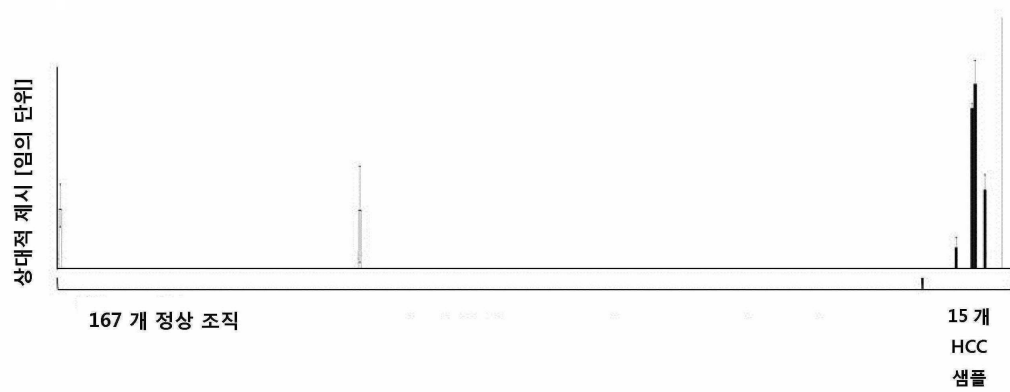
도면1e

펩티드: KIDEKNFVV (A*02)
서열번호 63



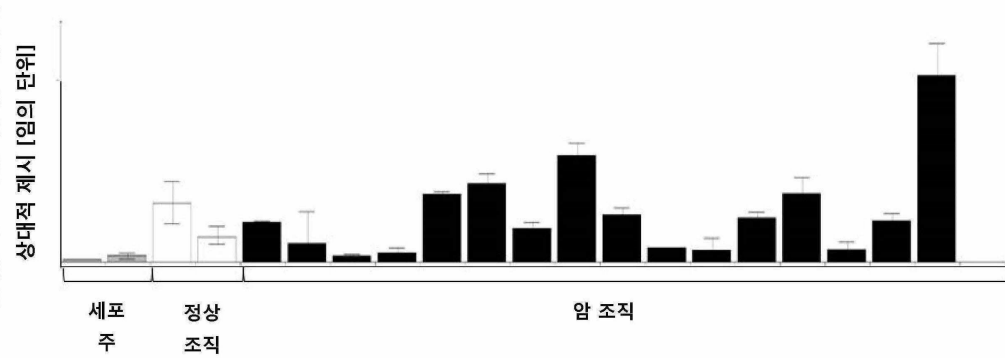
도면1f

펩티드: RLPPDTLLQQV (A*02)
서열번호 92



도면1g

펩티드: RLPPDTLLQQV (A*02)
서열번호 92



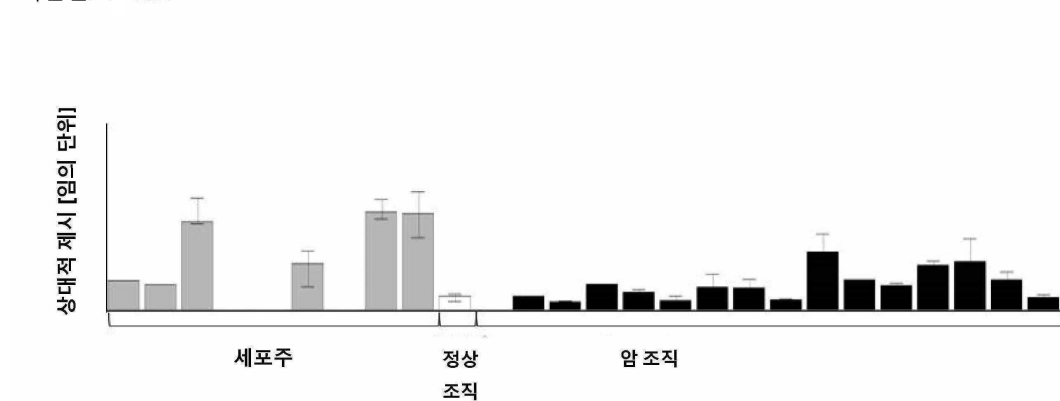
도면1h

펩티드: SVWFGPKEV (A*02)
서열번호 104



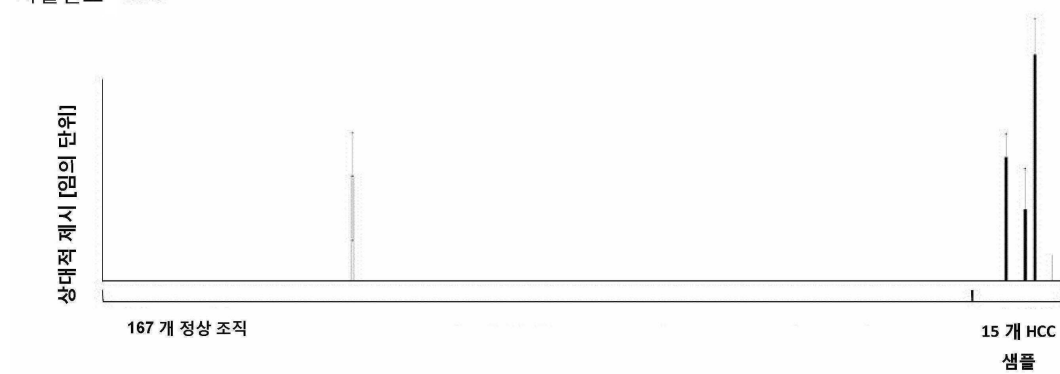
도면1i

펩티드: SVWFGPKEV (A*02)
서열번호 104



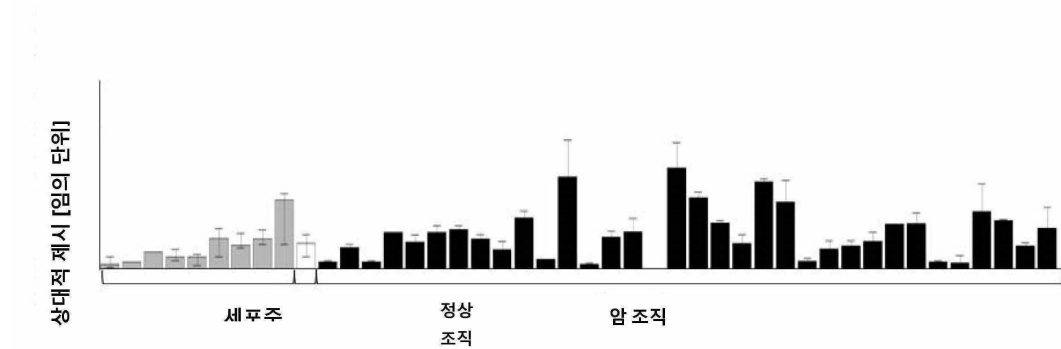
도면1j

펩티드: LLFPHPVNQV (A*02)
서열번호 156



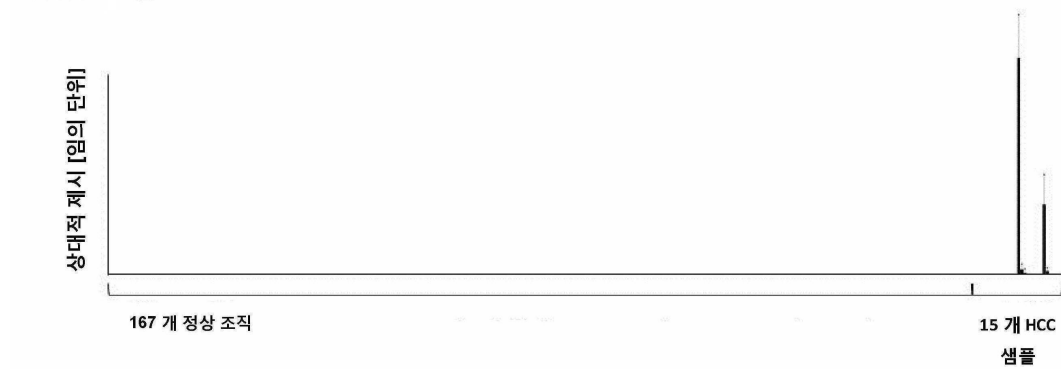
도면1k

펩티드: LLFHPVNQV (A*02)
서열번호 156



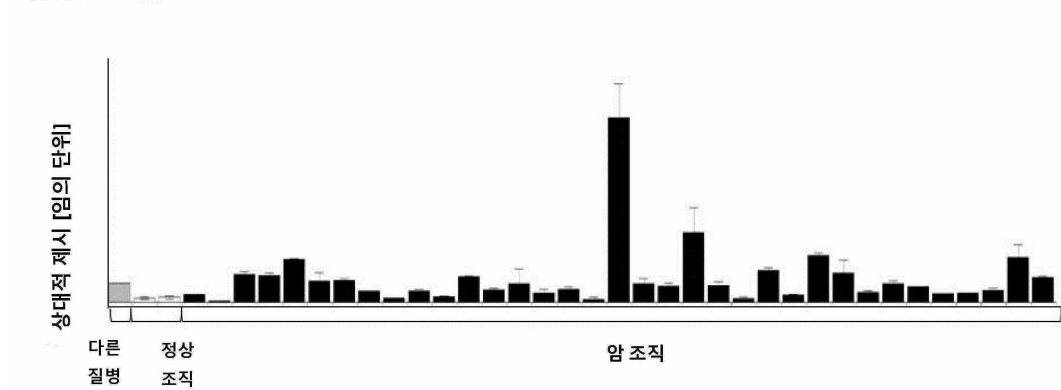
도면1l

펩티드: FLDTPIAKV (A*02)
서열번호 47

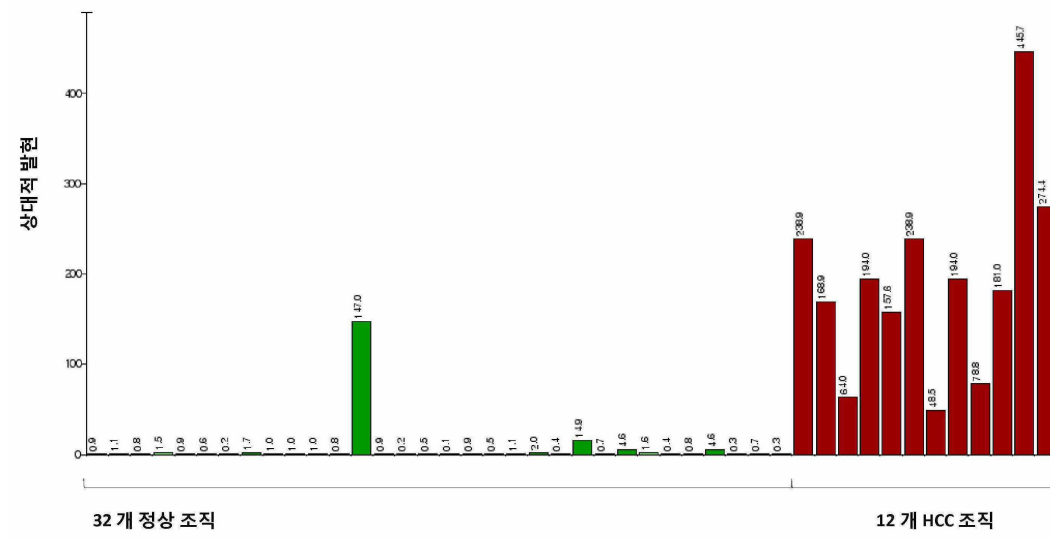


도면1m

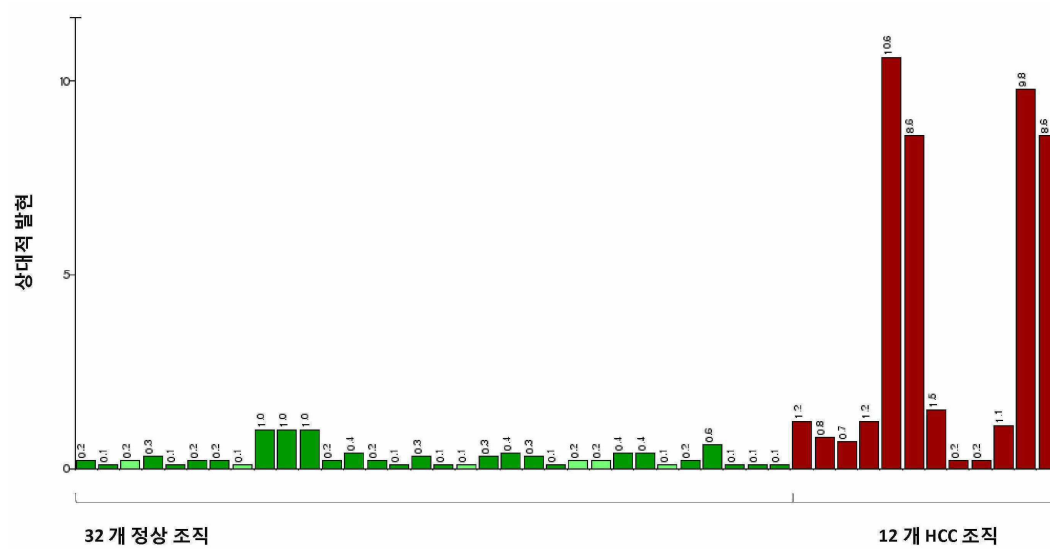
펩티드: FLDTPIAKV (A*02)
서열번호 47



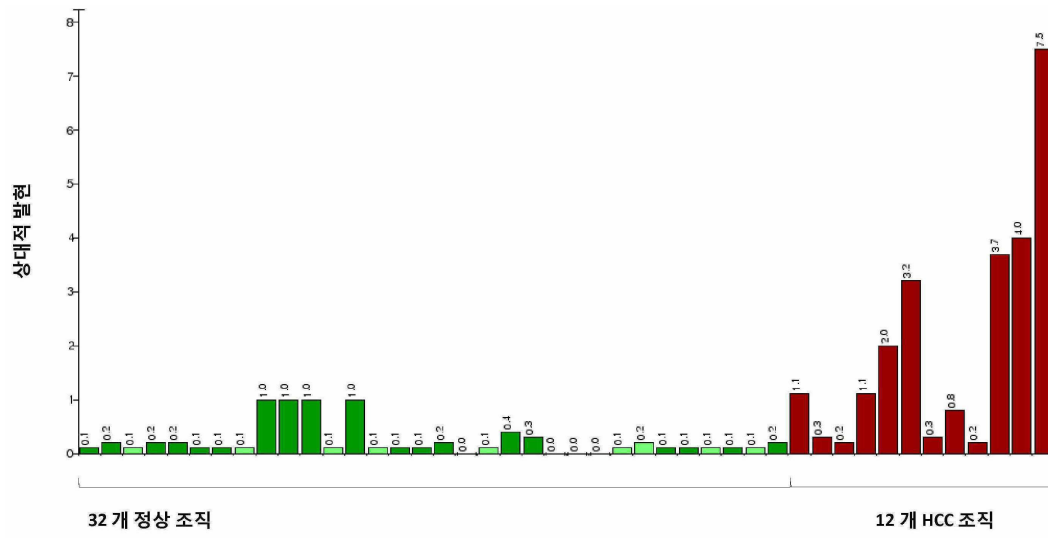
도면2a



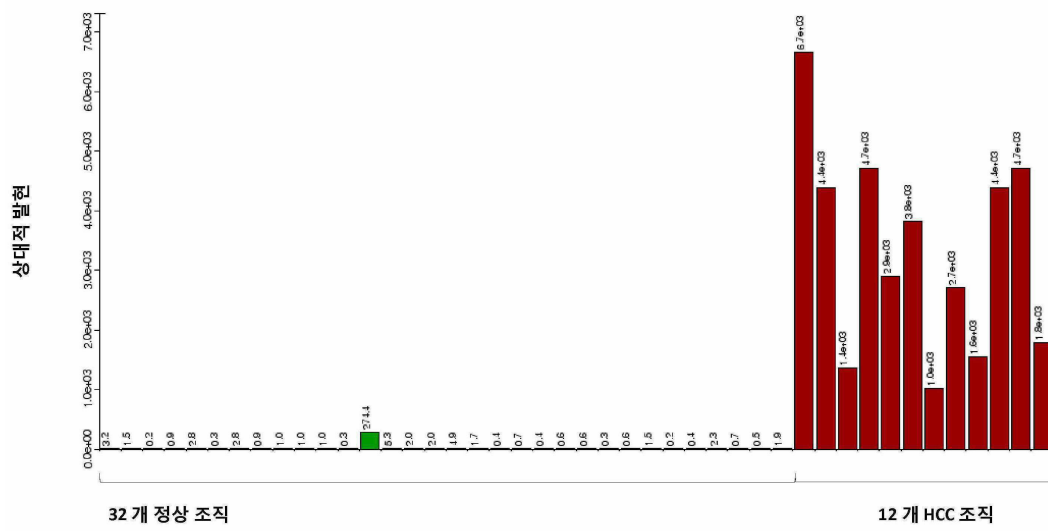
도면2b



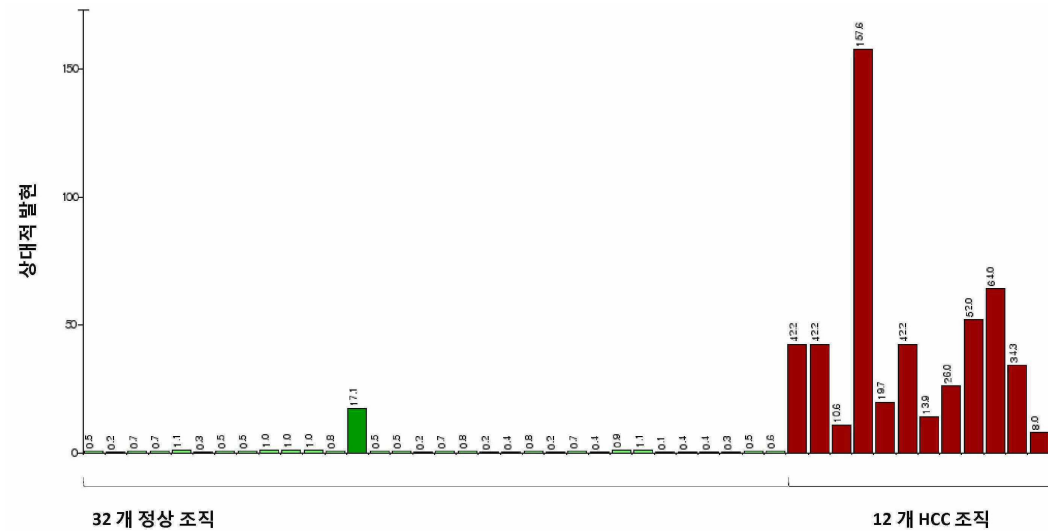
도면2c



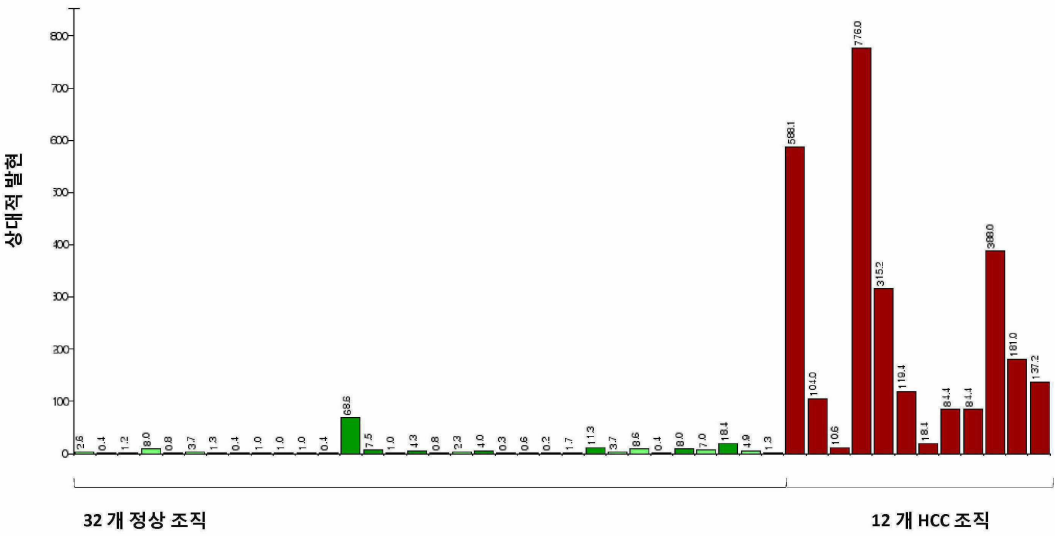
도면2d



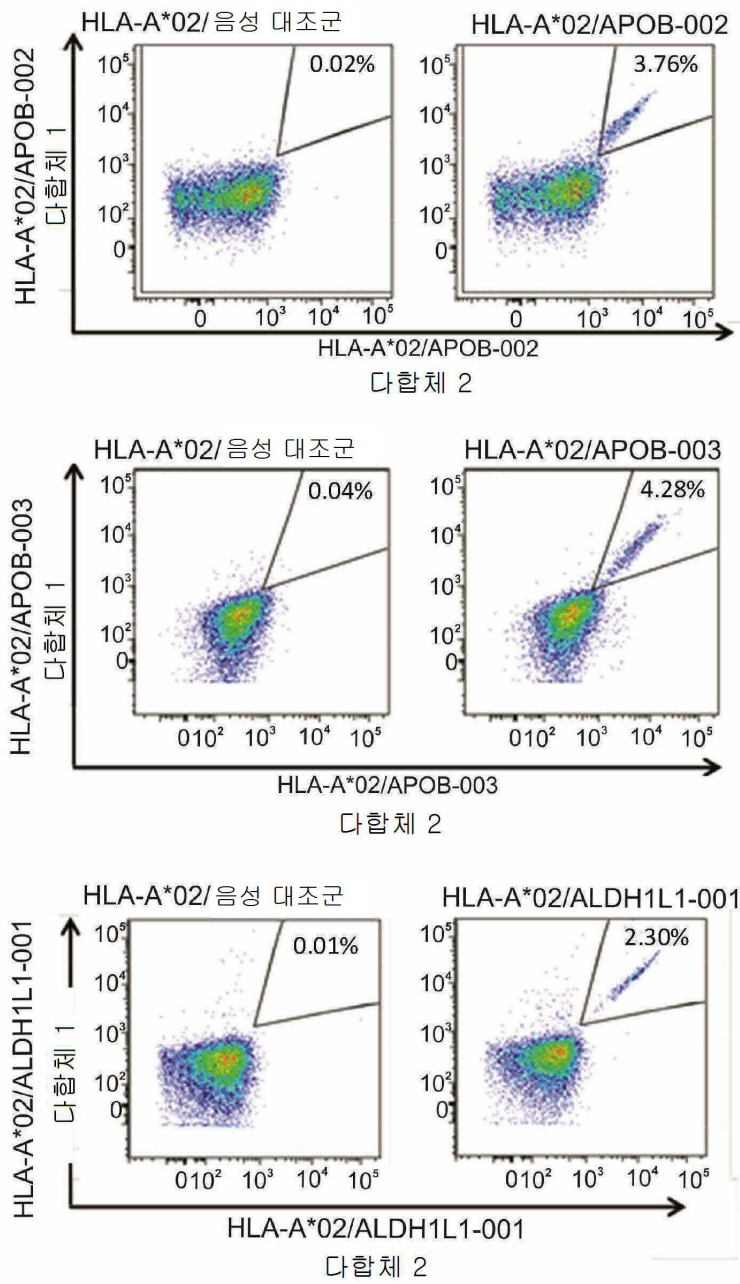
도면2e



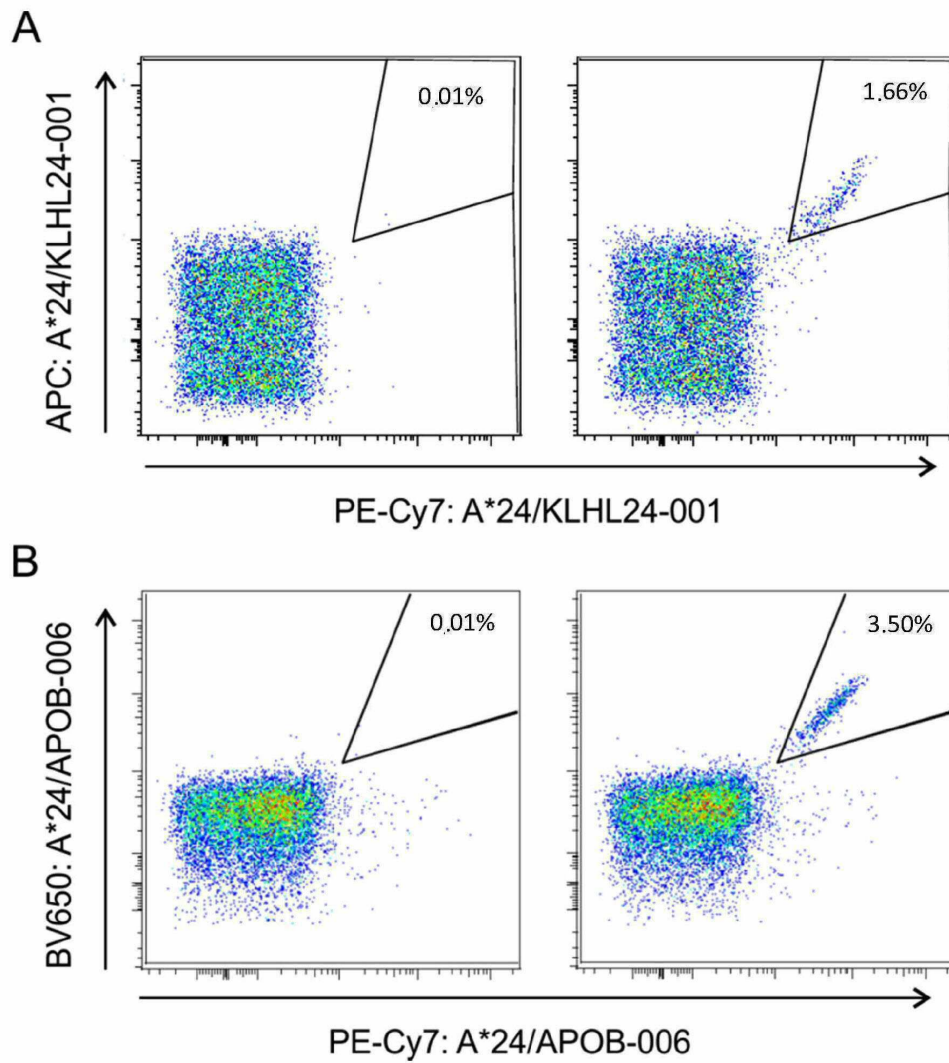
도면2f



도면3



도면4



서열 목록

<110> immatics biotechnologies GmbH

<120> Novel peptides and combination of peptides for use in immunotherapy against Hepatocellular carcinoma (HCC) and other cancers

<130> I32728W0

<140> PCT/EP2015/080018

<141> 2015-12-16

<150> GB 1423016.3

<151> 2014-12-23

<150> US 62/096,165

<151> 2014-12-23

<150> GB 1501017.6

<151> 2015-01-21

<160> 348
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Val Met Ala Pro Phe Thr Met Thr Ile

1 5
 <210> 2
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Lys Leu Gln Ala Gly Thr Val Phe Val

1 5
 <210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Ile Leu Asp Asp Asn Met Gln Lys Leu

1 5
 <210> 4
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Lys Leu Gln Asp Phe Ser Asp Gln Leu

1 5
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213>

```

> Homo sapiens
<400> 5
Ala Leu Val Glu Gln Gly Phe Thr Val
1          5
<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 6
Lys Leu Ser Pro Thr Val Val Gly Leu
1          5
<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7
Ala Leu Val Asp Thr Leu Lys Phe Val
1          5
<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 8
Lys Leu Leu Glu Glu Ala Thr Ile Ser Val
1          5          10
<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9
Ala Leu Ala Asn Gln Lys Leu Tyr Ser Val
1          5          10
<210> 10
<211> 10

```


<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 10
 Ser Leu Leu Glu Glu Phe Asp Phe His Val
 1 5 10

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ser Leu Ser Gln Glu Leu Val Gly Val

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Gly Leu Ile Asp Thr Glu Thr Ala Met Lys Ala Val

1 5 10

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Leu Ala Asp Leu Thr Gly Thr Val Val

1 5 10

<210> 15

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 15
 Leu Leu Tyr Gly His Thr Val Thr Val

1 5
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 Ser Leu Leu Gly Gly Asn Ile Arg Leu

1 5
 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 Arg Val Ala Ser Pro Thr Ser Gly Val

1 5
 <210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Ala Leu Tyr Gly Lys Thr Glu Val Val

1 5
 <210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <
 213> Homo sapiens
 <400> 19
 Phe Leu Glu Glu Thr Lys Ala Thr Val

1 5
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 20
 Lys Leu Ser Asn Val Leu Gln Gln Val

1 5
 <210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 21
 Gln Leu Ile Glu Val Ser Ser Pro Ile Thr Leu

1 5 10
 <210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22
 Arg Ile Ala Gly Ile Arg Gly Ile Gln Gly Val

1 5 10
 <210> 23
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 23
 Arg Leu Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Thr Ile Ser Leu

1 5 10
 <210> 24
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 24

Ser Leu Ala Glu Glu Lys Leu Gln Ala Ser Val

1 5 10

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ser Leu Asp Gly Lys Ala Ala Leu Thr Glu Leu

1 5 10

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ser Leu Leu His Thr Ile Tyr Glu Val

1 5

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Thr Leu Pro Asp Phe Arg Leu Pro Glu Ile

1 5 10

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Thr Leu Gln Asp His Leu Asn Ser Leu

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

29

Tyr Ile Gln Asp Glu Ile Asn Thr Ile

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Tyr Leu Gly Glu Gly Pro Arg Met Val

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Tyr Gln Met Asp Ile Gln Gln Glu Leu

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Ala Leu Asn Ala Val Arg Leu Leu Val

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Leu Leu His Gly His Ile Val Glu Leu

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Ser Leu Ala Glu Gly Thr Ala Thr Val

1 5

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Ser Leu Gln Glu Ser Ile Leu Ala Gln Val

1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 36

Ile Leu Asn Val Asp Gly Leu Ile Gly Val

1 5 10

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Leu Leu Leu Pro Leu Leu Pro Pro Leu Ser Pro

1 5 10

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Ala Leu Ala Asp Val Val His Glu Ala

1 5

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Ala Leu Asp Pro Lys Ala Asn Phe Ser Thr

1 5 10

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Ala Leu Leu Ala Glu Gly Ile Thr Trp Val

1 5 10

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Ala Leu Leu Glu Leu Asp Glu Pro Leu Val Leu

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Ala Leu Leu Gly Gly Asn Val Arg Met Met Leu

1 5 10

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Ala Leu Leu Gly Val Trp Thr Ser Val

1 5
 <210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 44
 Ala Leu Gln Asp Ala Ile Arg Gln Leu

1 5
 <210> 45
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 45
 Ala Leu Gln Asp Gln Leu Val Leu Val

1 5
 <210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 46
 Ala Met Ala Glu Met Lys Val Val Leu

1 5
 <210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 47
 Phe Leu Asp Thr Pro Ile Ala Lys Val

1 5
 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 48

Phe Leu Leu Glu Gln Pro Glu Ile Gln Val

1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Phe Leu Tyr Pro Glu Lys Asp Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 50

<211>

> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Phe Thr Ile Pro Lys Leu Tyr Gln Leu

1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Gly Leu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ala

1 5

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gly Leu Phe Asn Ala Glu Leu Leu Glu Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gly Leu Ile His Leu Glu Gly Asp Thr Val

1 5 10

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gly Leu Leu Asp Pro Asn Val Lys Ser Ile Phe Val

1 5 10

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly Leu Tyr Gly Arg Thr Ile Glu Leu

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Gly Val Leu Pro Gly Leu Val Gly Val

1 5

<210

> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

His Leu Thr Glu Ala Ile Gln Tyr Val

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Ile Leu Ala Asp Leu Asn Leu Ser Val

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Ile Leu Ala Asp Thr Phe Ile Gly Val

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ile Leu Ser Pro Leu Ser Val Ala Leu

1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Lys Ile Ala Asp Phe Glu Leu Pro Thr Ile

1 5 10

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Lys Ile Ala Gly Thr Asn Ala Glu Val

1 5

<210> 63

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 63
 Lys Ile Asp Glu Lys Asn Phe Val Val
 1 5
 <210> 64
 <211> 9
 <
 212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 64
 Lys Ile Leu Glu Glu Thr Leu Tyr Val
 1 5
 <210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 65
 Lys Leu Phe Ser Gly Asp Glu Leu Leu Glu Val
 1 5 10
 <210> 66
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 66
 Lys Leu His Glu Glu Ile Asp Arg Val
 1 5
 <210> 67
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 67
 Lys Leu Lys Glu Thr Ile Gln Lys Leu

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Lys Leu Leu Ala Ala Thr Val Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Lys Leu Leu Asp Glu Val Thr Tyr Leu Glu Ala

1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Lys Leu Leu Asp Leu Glu Thr Glu Arg Ile Leu Leu

1 5 10

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Lys Leu Leu Asp Asn Trp Asp Ser Val

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Lys Leu Ser Glu Ala Val Thr Ser Val

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Lys Leu Thr Leu Val Ile Ile Ser Val

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Lys Leu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Val

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Lys Gln Met Glu Pro Leu His Ala Val

1 5

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Leu Leu Ala Asp Ile Gly Gly Asp Pro Phe Ala Ala

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Leu Leu His Glu Glu Asn Phe Ser Val

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Leu Leu Ile Asp Asp Glu Tyr Lys Val

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Leu Leu Leu Ser Thr Gly Tyr Glu Ala

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Leu Leu Tyr Glu Gly Lys Leu Thr Leu

1 5

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Asn Leu Ala Ser Phe Ile Glu Gln Val Ala Val

1 5 10

<210> 82

<211> 9

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 82
 Asn Val Phe Asp Gly Leu Val Arg Val
 1 5
 <210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 83
 Gln Leu His Asp Phe Val Met Ser Leu
 1 5
 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 84
 Gln Leu Thr Pro Val Leu Val Ser Val
 1 5
 <210> 85
 <211> 9
 <212>
 > PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 85
 Arg Ile Leu Pro Lys Val Leu Glu Val
 1 5
 <210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 86
 Arg Leu Ala Ala Phe Tyr Ser Gln Val
 1 5
 <210> 87

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 87

Arg Leu Phe Glu Glu Asn Asp Val Asn Leu

1 5 10

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Arg Leu Ile Asp Arg Ile Lys Thr Val

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Arg Leu Ile Glu Glu Ile Lys Asn Val

1 5

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Arg Leu Leu Asp Val Leu Ala Pro Leu Val

1 5 10

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Arg Leu Pro Asp Ile Pro Leu Arg Gln Val

1 5 10

<210> 92

<211>

> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Arg Leu Pro Pro Asp Thr Leu Leu Gln Gln Val

1 5 10

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Arg Leu Tyr Thr Met Asp Gly Ile Thr Val

1 5 10

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Arg Met Ser Asp Val Val Lys Gly Val

1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 95

Ser Ile Cys Asn Gly Val Pro Met Val

1 5

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Ser Leu Leu Glu Glu Pro Asn Val Ile Arg Val

1 5 10

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Ser Leu Leu Pro Gln Leu Ile Glu Val

1 5

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Ser Leu Leu Ser Pro Glu His Leu Gln Tyr Leu

1 5 10

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Ser Leu Ser Ala Phe Leu Pro Ser Leu

1 5

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Ser Leu Val Gly Asp Ile Gly Asn Val Asn Met

1 5 10

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Ser Leu Trp Glu Gly Gly Val Arg Gly Val

1 5 10

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Ser Leu Trp Ser Val Ala Arg Gly Val

1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Ser Met Gly Asp His Leu Trp Val Ala

1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Ser Val Trp Phe Gly Pro Lys Glu Val

1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Ser Val Tyr Asp Gly Lys Leu Leu Ile

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Thr Leu Ala Ala Ile Ile His Gly Ala

1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Thr Leu Gly Gln Phe Tyr Gln Glu Val

1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Thr Leu Leu Lys Lys Ile Ser Glu Ala

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Thr Leu Tyr Ala Leu Ser His Ala Val

1 5

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Thr Val Gly Gly Ser Glu Ile Leu Phe Glu Val

1 5 10

<210> 111

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 111
 Thr Val Met Asp Ile Asp Thr Ser Gly Thr Phe Asn Val
 1 5 10

<210> 112

<211>

> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Val Leu Gly Glu Val Lys Val Gly Val

1 5

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Val Leu Met Asp Lys Leu Val Glu Leu

1 5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Val Leu Ser Gln Val Tyr Ser Lys Val

1 5

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Val Val Leu Asp Asp Lys Asp Tyr Phe Leu

1 5 10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Trp Val Ile Pro Ala Ile Ser Ala Val

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Tyr Ala Phe Pro Lys Ser Ile Thr Val

1 5

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Tyr Leu Asp Asp Glu Lys Asn Trp Gly Leu

1 5 10

<210> 119

<

211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Tyr Leu Asp Lys Asn Leu Thr Val Ser Val

1 5 10

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val Lys Ala

1 5

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Tyr Leu Ile Thr Gly Asn Leu Glu Lys Leu

1 5 10

<210> 122

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 122

Tyr Leu Ser Gln Ala Ala Asp Gly Ala Lys Val Leu

1 5 10

<210> 123

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Tyr Leu Trp Asp Leu Asp His Gly Phe Ala Gly Val

1 5 10

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Leu Leu Ile Asp Val Val Thr Tyr Leu

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Ala Leu Tyr Gly Arg Leu Glu Val Val

1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Thr Leu Leu Asp Ser Pro Ile Lys Val

1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Val Leu Ile Gly Ser Asn His Ser Leu

1 5

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Gly Leu Ala Phe Ser Leu Asn Gly Val

1 5

<210> 129

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Ser Gln Ala Asp Val Ile Pro Ala Val

1 5

<210> 130

<211> 10

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 130

Ala Leu Asp Ala Gly Ala Val Tyr Thr Leu
 1 5 10

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Ala Leu Asp Ser Gly Ala Phe Gln Ser Val
 1 5 10

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Ala Leu His Glu Glu Val Val Gly Val

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Ala Leu Leu Glu Met Asp Ala Arg Leu

1 5

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Ala Leu Leu Glu Thr Asn Pro Tyr Leu Leu

1 5 10

<210> 135

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 135
 Ala Leu Leu Gly Lys Ile Glu Lys Val
 1 5
 <210> 136
 <211>
 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 136
 Ala Leu Leu Asn Gln His Tyr Gln Val
 1 5
 <210> 137
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 137
 Ala Leu Pro Thr Val Leu Val Gly Val
 1 5
 <210> 138
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 138
 Ala Leu Ser Gln Val Thr Leu Leu Leu
 1 5
 <210> 139
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 139
 Ala Leu Ser Ser Lys Pro Ala Glu Val

1 5

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Ala Leu Thr Ser Ile Ser Ala Gly Val

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

Ala Met Gly Glu Lys Ser Phe Ser Val

1 5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

Ala Val Ile Gly Gly Leu Ile Tyr Val

1 5

<210> 143

<211> 12

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Phe Ile Leu Pro Asp Ser Leu Pro Leu Asp Thr Leu

1 5 10

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

Phe Ile Gln Leu Ile Thr Gly Val

1 5

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Phe Leu Ile Ala Glu Tyr Phe Glu His Val

1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

Phe Leu Trp Thr Glu Gln Ala His Thr Val

1 5 10

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Gly Leu Ala Pro Gly Gly Leu Ala Val Val

1 5 10

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Gly Leu Phe Ala Pro Leu Val Phe Leu

1 5

<210> 149

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Gly Leu Leu Ser Gly Leu Asp Ile Met Glu Val

1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

Gly Leu Ser Asn Leu Gly Ile Lys Ser Ile

1 5 10

<210> 151

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

His Leu Ala Lys Val Thr Ala Glu Val

1 5

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Lys Leu Asp Asn Asn Leu Asp Ser Val

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Lys Leu Ile Glu Val Asn Glu Glu Leu

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Lys Leu Thr Asp His Leu Lys Tyr Val

1 5

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Leu Leu Glu Pro Tyr Lys Pro Pro Ser Ala Gln

1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Leu Leu Phe Pro His Pro Val Asn Gln Val

1 5 10

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Gln Leu Leu Pro Asn Leu Arg Ala Val

1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Arg Ile Ile Ser Gly Leu Val Lys Val

1 5

<210> 159

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 159
 Arg Leu Phe Pro Asp Gly Ile Val Thr Val
 1 5 10
 <210> 160
 <
 211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 160
 Arg Leu Leu Ala Lys Ile Ile Cys Leu
 1 5
 <210> 161
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 161
 Arg Leu Leu Asp Glu Gln Phe Ala Val
 1 5
 <210> 162
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 162
 Arg Leu Met Ser Ala Leu Thr Gln Val
 1 5
 <210> 163
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 163
 Arg Leu Thr Glu Ser Val Leu Tyr Leu

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Arg Met Leu Ile Lys Leu Leu Glu Val

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Arg Val Ile Glu His Val Glu Gln Val

1 5

<210> 166

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Ser Ile Leu Asp Ile Val Thr Lys Val

1 5

<210> 167

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Ser Leu Ala Glu Ser Ser Phe Asp Val

1 5

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Ser Leu Ala Val Leu Val Pro Ile Val

1 5

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Ser Leu Phe Glu Trp Phe His Pro Leu

1 5

<210> 170

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Ser Leu His Asn Gly Val Ile Gln Leu

1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Ser Leu Ile Pro Ala Val Leu Thr Val

1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Ser Leu Leu Asn Phe Leu Gln His Leu

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Ser Leu Thr Ser Glu Ile His Phe Leu

1 5

<210> 174

<211> 10

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Thr Leu Ala Glu Leu Gly Ala Val Gln Val

1 5 10

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Thr Leu Phe Glu His Leu Pro His Ile

1 5

<210> 176

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Thr Leu Gly Gln Ile Trp Asp Val

1 5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Val Leu Asp Glu Pro Tyr Glu Lys Val

1 5

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Tyr Ile Phe Thr Thr Pro Lys Ser Val

1 5

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Tyr Ile His Asn Ile Leu Tyr Glu Val

1 5

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Tyr Leu Gly Pro His Ile Ala Ser Val Thr Leu

1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Tyr Leu Leu Glu Lys Phe Val Ala Val

1 5

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Tyr Leu Leu His Phe Pro Met Ala Leu

1 5

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Tyr Leu Tyr Asn Asn Glu Glu Gln Val Gly Leu

1 5 10

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 184

Val Val Leu Asp Gly Gly Gln Ile Val Thr Val

1 5 10

<210> 185

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Ala Leu Phe Pro Ala Leu Arg Pro Gly Gly Phe Gln Ala

1 5 10

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Val Leu Leu Ala Gln Ile Ile Gln Val

1 5

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Ser Tyr Pro Thr Phe Phe Pro Arg Phe

1 5

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Arg Tyr Ser Ala Gly Trp Asp Ala Lys Phe

1 5 10

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Ala Phe Ser Pro Asp Ser His Tyr Leu Leu Phe

1 5 10

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Arg Tyr Asn Glu Lys Cys Phe Lys Leu

1 5

<

210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Lys Tyr Pro Asp Ile Ile Ser Arg Ile

1 5

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Ser Tyr Ile Thr Lys Pro Glu Lys Trp

1 5

<210> 193

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Ile Tyr Pro Gly Ala Phe Val Asp Leu

1 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Gln Tyr Ala Ser Arg Phe Val Gln Leu

1 5

<210> 195

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Arg Tyr Ala Pro Pro Pro Ser Phe Ser Glu Phe

1 5 10

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Ala Tyr Leu Lys Trp Ile Ser Gln Ile

1 5

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Arg Trp Pro Lys Lys Ser Ala Glu Phe

1 5

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Leu Tyr Trp Ser His Pro Arg Lys Phe

1 5

<210> 199

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe

1 5

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Ala Tyr Leu Leu Gln Pro Ser Gln Phe

1 5

<210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Ala Tyr Val Asn Thr Phe His Asn Ile

1 5

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Ala Tyr Gly Thr Tyr Arg Ser Asn Phe

1 5

<210> 203

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Tyr Tyr Gly Ile Leu Gln Glu Lys Ile

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Lys Tyr Arg Leu Thr Tyr Ala Tyr Phe

1 5

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Val Tyr Gly Leu Gln Arg Asn Leu Leu

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Lys Trp Pro Glu Thr Pro Leu Leu Leu

1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Ile Tyr Leu Glu Arg Phe Pro Ile Phe

1 5

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 208

Ser Tyr Asn Pro Ala Glu Asn Ala Val Leu Leu

1 5 10

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Val Phe His Pro Arg Gln Glu Leu Ile

1 5

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 210

Ala Tyr Pro Ala Ile Arg Tyr Leu Leu

1 5

<210> 211

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 211

Ile Tyr Ile Pro Ser Tyr Phe Asp Phe

1 5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

Val Tyr Gly Asp Val Ile Ser Asn Ile

1 5

<210> 213

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Tyr Tyr Asn Lys Val Ser Thr Val Phe

1 5

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Ile Tyr Val Thr Ser Ile Glu Gln Ile

1 5

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Ile Tyr Thr Gly Asn Ile Ser Ser Phe

1 5

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Ile Tyr Ala Asp Val Gly Glu Glu Phe

1 5

<210> 217

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Asp Tyr Ile Pro Tyr Val Phe Lys Leu

1 5

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Val Tyr Gln Gly Ala Ile Arg Gln Ile

1 5

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Gly Val Met Ala Gly Asp Ile Tyr Ser Val

1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Ser Leu Leu Glu Lys Glu Leu Glu Ser Val

1 5 10

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

```

<213> Homo sapiens
<400> 221
Ala Leu Cys Glu Glu Asn Met Arg Gly Val
1          5          10
<210> 222
<211> 8
<212> PRT
<213>
> Homo sapiens
<400> 222
Leu Thr Asp Ile Thr Lys Gly Val
1          5
<210> 223
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 223
Phe Leu Phe Asn Thr Glu Asn Lys Leu Leu Leu
1          5          10
<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 224
Ala Leu Ala Ser Val Ile Lys Glu Leu
1          5
<210> 225
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 225
Lys Met Asp Pro Val Ala Tyr Arg Val
1          5
<210> 226

```

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 226

Ala Val Leu Gly Pro Leu Gly Leu Gln Glu Val

1 5 10

<210> 227

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 227

Ala Leu Leu Lys Val Asn Gln Glu Leu

1 5

<210> 228

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 228

Tyr Leu Ile Thr Ser Val Glu Leu Leu

1 5

<210> 229

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Lys Met Phe Glu Ser Phe Ile Glu Ser Val

1 5 10

<210> 230

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 230

Val Leu Thr Glu Phe Thr Arg Glu Val

1 5

<210> 231
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 231
 Arg Leu Phe Asn Asp Pro Val Ala Met Val
 1 5 10
 <210> 232
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 232
 Lys Leu Ala Glu Ile Val Lys Gln Val
 1 5
 <210> 233
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 233
 Ala Leu Leu Gly Lys Leu Asp Ala Ile
 1 5
 <210> 234
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 234
 Tyr Leu Glu Pro Tyr Leu Lys Glu Val
 1 5
 <210> 235
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 235
 Lys Leu Phe Glu Glu Ile Arg Glu Ile

1 5

<210> 236

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Ala Leu Ala Asp Lys Glu Leu Leu Pro Ser Val

1 5 10

<210> 237

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

Ala Leu Arg Gly Glu Ile Glu Thr Val

1 5

<210> 238

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 238

Ala Met Pro Pro Pro Pro Pro Gln Gly Val

1 5 10

<210> 239

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 239

Phe Leu Leu Gly Phe Ile Pro Ala Lys Ala

1 5 10

<210> 240

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Phe Leu Trp Glu Arg Pro Thr Leu Leu Val

1 5 10

<210> 241

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Phe Val Leu Pro Leu Leu Gly Leu His Glu Ala

1 5 10

<210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Gly Leu Phe Ala Pro Val His Lys Val

1 5

<210> 243

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

Gly Leu Leu Asp Asn Pro Glu Leu Arg Val

1 5 10

<210> 244

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 244

Lys Ile Ala Glu Leu Leu Glu Asn Val

1 5

<210> 245

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 245

Lys Leu Gly Ala Val Phe Asn Gln Val

1 5

<210> 246

<211>

9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 246

Lys Leu Ile Ser Ser Tyr Tyr Asn Val

1 5

<210> 247

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 247

Lys Leu Leu Asp Thr Met Val Asp Thr Phe Leu

1 5 10

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 248

Lys Leu Asn Asp Leu Ile Gln Arg Leu

1 5

<210> 249

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 249

Leu Leu Leu Gly Glu Arg Val Ala Leu

1 5

<210> 250

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

Asn Leu Ala Glu Val Val Glu Arg Val

1 5

<210> 251

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

Arg Leu Phe Ala Asp Ile Leu Asn Asp Val

1 5 10

<210> 252

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Arg Thr Ile Glu Tyr Leu Glu Glu Val

1 5

<210> 253

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Arg Val Pro Pro Pro Pro Gln Ser Val

1 5

<210> 254

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 254

Arg Val Gln Glu Ala Ile Ala Glu Val

1 5

<210> 255
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 255

Ser Leu Phe Gly Gln Asp Val Lys Ala Val
 1 5 10

<210> 256
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 256
 Ser Leu Phe Gln Gly Val Glu Phe His Tyr Val
 1 5 10

<210> 257
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 257

Ser Leu Leu Glu Lys Ala Gly Pro Glu Leu
 1 5 10

<210> 258
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 258

Ser Leu Met Gly Pro Val Val His Glu Val
 1 5 10

<210> 259
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 259

Thr Leu Ile Thr Asp Gly Met Arg Ser Val

1 5 10

<210> 260

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 260

Thr Leu Met Asp Met Arg Leu Ser Gln Val

1 5 10

<210> 261

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 261

Val Leu Phe Gln Glu Ala Leu Trp His Val

1 5 10

<210> 262

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 262

Val Leu Pro Asn Phe Leu Pro Tyr Asn Val

1 5 10

<210> 263

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 263

Val Leu Tyr Pro Ser Leu Lys Glu Ile

1 5

<210> 264

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 264

Val Met Gln Asp Pro Glu Phe Leu Gln Ser Val

1 5 10

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 265

Trp Leu Ile Glu Asp Gly Lys Val Val Thr Val

1 5 10

<210> 266

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 266

Ser Leu Leu Glu Ser Asn Lys Asp Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 267

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 267

Ala Leu Asn Glu Asn Ile Asn Gln Val

1 5

<210> 268

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 268

Lys Leu Tyr Gln Glu Val Glu Ile Ala Ser Val

1 5 10

<210> 269

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

Tyr Leu Met Glu Gly Ser Tyr Asn Lys Val

1 5 10

<210> 270

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 270

Ser Val Leu Asp Gln Lys Ile Leu Leu

1 5

<210> 271

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 271

Leu Leu Leu Asp Lys Leu Ile Leu Leu

1 5

<210> 272

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 272

Gln Gln Leu Asp Ser Lys Phe Leu Glu Gln Val

1 5 10

<210> 273

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 273

Ala Ile Leu Glu Thr Ala Pro Lys Glu Val

1 5 10

<210> 274

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 274

Ala Leu Ala Glu Ala Leu Lys Glu Val

1 5

<210> 275

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 275

Ala Leu Ile Glu Gly Ala Gly Ile Leu Leu

1 5 10

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 276

Ala Leu Leu Glu Ala Asp Val Asn Ile Lys Leu

1 5 10

<210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 277

Ala Leu Leu Glu Glu Asn Ser Thr Pro Gln Leu

1 5 10

<210> 278

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 278

Ala Leu Thr Ser Val Val Val Thr Leu

1 5
 <210> 279
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 279
 Ala Leu Trp Thr Gly Met His Thr Ile

1 5
 <210> 280
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 280
 Ala Thr Leu Asn Ile Ile His Ser Val

1 5
 <210> 281
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 281
 Gly Leu Leu Ala Gly Asp Arg Leu Val Glu Val

1 5 10
 <210> 282
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 282
 Gly Gln Phe Pro Ser Tyr Leu Glu Thr Val

1 5 10
 <
 210> 283
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 283

Ile Leu Ser Gly Ile Gly Val Ser Gln Val

1 5 10

<210> 284

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Lys Leu Asp Ala Phe Val Glu Gly Val

1 5

<210> 285

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 285

Lys Leu Leu Asp Leu Ser Asp Ser Thr Ser Val

1 5 10

<210> 286

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 286

Lys Val Leu Asp Lys Val Phe Arg Ala

1 5

<210> 287

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 287

Leu Ile Gly Glu Phe Leu Glu Lys Val

1 5

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Leu Leu Asp Asp Ser Leu Val Ser Ile

1 5

<210> 289

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

Leu Leu Leu Glu Glu Gly Gly Leu Val Gln Val

1 5 10

<210> 290

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 290

Asn Leu Ile Asp Leu Asp Asp Leu Tyr Val

1 5 10

<210> 291

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

Gln Leu Ile Asp Tyr Glu Arg Gln Leu

1 5

<210> 292

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 292

Arg Ile Pro Ala Tyr Phe Val Thr Val

1 5

<210> 293

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 293
 Phe Leu Ala Ser Glu Ser Leu Ile Lys Gln Ile
 1 5 10
 <210> 294
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 294
 Arg Leu Ile Asp Leu His Thr Asn Val
 1 5
 <210> 295
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 295
 Ser Leu Phe Ser Ser Pro Pro Glu Ile
 1 5
 <210> 296
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 296
 Ser Leu Leu Ser Gly Arg Ile Ser Thr Leu
 1 5 10
 <210> 297
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 297
 Thr Leu Phe Tyr Ser Leu Arg Glu Val
 1 5

<210> 298
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 298
 Thr Met Ala Lys Glu Ser Ser Ile Ile Gly Val
 1 5 10

<210> 299
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 299

Ala Leu Leu Arg Val Thr Pro Phe Ile

1 5

<210> 300
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 300

Thr Leu Ala Gln Gln Pro Thr Ala Val

1 5

<210> 301
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 301

Val Leu Ala Asp Phe Gly Ala Arg Val

1 5

<210> 302
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 302

Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val

1 5

<210> 303

<211> 10

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 303

Gly Val Tyr Asp Gly Glu Glu His Ser Val

1 5 10

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 304

Ser Leu Ile Asp Gln Phe Phe Gly Val

1 5

<210> 305

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 305

Gly Val Leu Glu Asn Ile Phe Gly Val

1 5

<210> 306

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 306

Lys Leu Val Glu Phe Asp Phe Leu Gly Ala

1 5 10

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 307

Ala Val Val Glu Phe Leu Thr Ser Val

1 5

<210> 308

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 308

Ala Leu Leu Arg Thr Val Val Ser Val

1 5

<210> 309

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 309

Gly Leu Ile Glu Ile Ile Ser Asn Ala

1 5

<210> 310

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 310

Ser Leu Trp Gly Gly Asp Val Val Leu

1 5

<210> 311

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

Phe Leu Ile Pro Ile Tyr His Gln Val

1 5

<210> 312

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 312

Arg Leu Gly Ile Lys Pro Glu Ser Val

1 5

<210> 313

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 313

Leu Thr Ala Pro Pro Glu Ala Leu Leu Met Val

1 5 10

<210> 314

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 314

Tyr Leu Ala Pro Phe Leu Arg Asn Val

1 5

<210> 315

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 315

Lys Val Leu Asp Gly Ser Pro Ile Glu Val

1 5 10

<210> 316

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 316

Leu Leu Arg Glu Lys Val Glu Phe Leu

1 5

<210> 317

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 317

Lys Leu Pro Glu Lys Trp Glu Ser Val

1 5

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 318

Lys Leu Asn Glu Ile Asn Glu Lys Ile

1 5

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 319

Lys Leu Phe Asn Glu Phe Ile Gln Leu

1 5

<210> 320

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 320

Gly Leu Ala Asp Asn Thr Val Ile Ala Lys Val

1 5 10

<210> 321

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 321

Gly Val Ile Ala Glu Ile Leu Arg Gly Val

1 5 10

<210> 322
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 322
 Ile Leu Tyr Asp Ile Pro Asp Ile Arg Leu
 1 5 10

<210> 323
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 323
 Lys Ile Ile Asp Glu Asp Gly Leu Leu Asn Leu
 1 5 10

<210> 324
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 324
 Arg Leu Phe Glu Thr Lys Ile Thr Gln Val
 1 5 10

<210> 325
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 325

Arg Leu Ser Glu Ala Ile Val Thr Val
 1 5

<210> 326
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 326

Ala Leu Ser Asp Gly Val His Lys Ile

1 5

<210> 327

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 327

Gly Leu Asn Glu Glu Ile Ala Arg Val

1 5

<210> 328

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 328

Arg Leu Glu Glu Asp Asp Gly Asp Val Ala Met

1 5 10

<210> 329

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 329

Ser Leu Ile Glu Asp Leu Ile Leu Leu

1 5

<210> 330

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 330

Ser Met Ser Ala Asp Val Pro Leu Val

1 5

<210> 331

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 331

Ser Leu Leu Ala Gln Asn Thr Ser Trp Leu Leu

1 5 10

<210> 332

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 332

Ala Met Leu Ala Val Leu His Thr Val

1 5

<210> 333

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 333

Gly Leu Ala Glu Asp Ile Asp Lys Gly Glu Val

1 5 10

<210> 334

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 334

Ser Ile Leu Thr Ile Glu Asp Gly Ile Phe Glu Val

1 5 10

<210> 335

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 335

Ser Leu Leu Pro Val Asp Ile Arg Gln Tyr Leu

1 5 10

<210> 336

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 336

Tyr Leu Pro Thr Phe Phe Leu Thr Val

1 5

<210> 337

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 337

Thr Leu Leu Ala Ala Glu Phe Leu Lys Gln Val

1 5 10

<210> 338

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 338

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

1 5 10

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 339

Arg Leu Ile Ser Lys Phe Asp Thr Val

1 5

<210> 340

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 340

Lys Val Phe Asp Glu Val Ile Glu Val

1 5

<210> 341

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 341
 Tyr Leu Ala Ile Gly Ile His Glu Leu
 1 5
 <210> 342
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 342
 Ala Met Ser Ser Lys Phe Phe Leu Val
 1 5
 <210> 343
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 343
 Leu Leu Leu Pro Asp Tyr Tyr Leu Val
 1 5
 <210> 344
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 344
 Val Tyr Ile Ser Ser Leu Ala Leu Leu
 1 5
 <210> 345
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 345
 Ser Tyr Asn Pro Leu Trp Leu Arg Ile
 1 5

<210> 346

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 346

Leu Tyr Gln Ile Leu Gln Gly Ile Val Phe

1 5 10

<210> 347

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

Ala Leu Asn Pro Ala Asp Ile Thr Val

1 5

<210> 348

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 348

Ala Tyr Lys Pro Gly Ala Leu Thr Phe

1 5