



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0061340
(43) 공개일자 2021년05월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/74 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/70539 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7006532
- (22) 출원일자(국제) 2019년09월17일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년03월03일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2019/074898
- (87) 국제공개번호 WO 2020/058285
국제공개일자 2020년03월26일
- (30) 우선권주장
10 2018 122 623.3 2018년09월17일 독일(DE)
62/732,300 2018년09월17일 미국(US)
- (71) 출원인
이매텍스 바이오테크놀로지스 게엠베하
독일 72076 튀빙겐 파울-울리히-스트라쎄 15
- (72) 발명자
송 콜레트
독일, 73760 오스트필덴, 빌리-바우마이스터-베그 21
슈스터 하이코
독일, 72074 튀빙겐, 도פק커슈트라쎄 22
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 암에 대한 면역요법용 B*44 제약 펩티드 및 관련 방법들

(57) 요약

본 발명은 면역요법 방법에서 사용을 위한 펩티드, 단백질, 핵산 및 세포에 관한 것이다. 특히 본 발명은 암의 면역요법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 단독 또는 예를 들어 백신 조성물의 활성 약학적 성분으로 역할 가능한 기타 종양 연관 펩티드들과 병용하여 항종양 면역 반응을 촉진하거나 혹은 세포를 생체 외 촉진하여 환자로 이전 하기 위한 종양 연관 T세포 에피톱에 관한 것이다. 주조직적합 복합체(MHC)의 분자에 결합된 펩티드 또는 그러한 펩티드는 항체, 용해성 T세포 수용체 및 기타 결합하는 분자의 표적이 될 수도 있다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/4748 (2013.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 16/18 (2013.01)
C07K 7/08 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
C07K 2319/00 (2013.01)
C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

코발르스키 다니엘

독일, 72138 키르첸텔린스푸르트, 페테르-임호프-슈트라쎈 1

슈어 올리버

독일, 72074 튀빙겐, 아이치할텐슈트라쎈 19

프리체 젠스

독일, 72144 더슬링겐, 래첸베그 11

바인센크 토니

독일, 73773 아이치발드, 임 모겐라인 15

싱 하프릿

독일, 80804 뮌헨, 헤세슈트라쎈 25에이

명세서

청구범위

청구항 1

서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 그리고 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 서열을 포함하며 상기 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에서 하나 또는 두 개의 보수적 아미노산 치환을 포함하는 변이체 펩티드, 이때 상기 변이체 펩티드는 주조직 적합 복합체(MHC)의 분자(들)에 결합하여/하거나 상기 변이체 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하며; 그리고 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것으로, 상기 펩티드는 최대 전장이 16개인 펩티드.

청구항 2

제1항에 따른 펩티드에 있어서, 상기 펩티드는 MHC 클래스 I에 결합하는 능력을 보유하며, 또한 상기 펩티드는 상기 MHC와 결합 시 CD8 T세포에 의해 인식될 수 있는 펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 상기 펩티드 또는 그 변이체가 갖는 전장은 8 ~ 16 개의 아미노산, 그리고 가장 바람직하게는 펩티드가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 어느 하나에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 실질적으로 구성되는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 4

제1항부터 제3항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 상기 펩티드가 변형되며/거나 비펩티드 결합을 포함하는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 5

제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 상기 펩티드는 융합 단백질의 일부이며 특히 HLA-DR 항원 연관 불변사슬(Ii)의 N-말단 아미노산을 포함하는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 6

제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체, 바람직하게는 MHC 분자에 결합 시 제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체를 특이적으로 인식하는 항체로 특히 가용성 혹은 막결합 항체, 바람직하게는 단클론 항체나 이의 단편.

청구항 7

HLA 리간드와 반응성인 바람직하게는 가용성이나 막결합된 T세포 수용체 또는 이의 단편에서, 상기 리간드가 제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체, 바람직하게는 MHC 분자에 결합 시 제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체인 T세포 수용체.

청구항 8

제7항에 따른 T세포 수용체에서 상기 리간드 아미노산 서열이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 어느 하나에서 하나 또는 두 개의 보수적 아미노산 치환을 포함하거나, 또는 상기 리간드 아미노산 서열이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 어느 하나로 구성된 T세포 수용체.

청구항 9

제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체로서, 상기 T세포 수용체가 용해성 분자로서 제공되며, 선택적으로 면역 자극 도메인이나 독소와 같은 추가 작용기 기능을 더욱 지니는 T세포 수용체.

청구항 10

제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 바람직하게는 MHC 분자에 결합한 제1항부터 제4항의 어느 한 항

에 따른 펩티드나 이의 변이체를 특이적으로 인식하는 압타머.

청구항 11

제1항~제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드나 그 변이체를 인코딩하는 핵산, 제6항에 따른 항체나 이의 단편에서, 선택적으로 이중 촉진자 서열에 연계된 제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편 또는 상기 핵산을 발현하는 발현 벡터.

청구항 12

제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 또는 제11항에 따른 핵산이나 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포에서, 상기 숙주 세포가 바람직하게는 수지 세포, T세포 또는 NK 세포와 같은 항원 제시 세포로부터 선택되는 재조합 숙주 세포.

청구항 13

활성화 T림프구를 생산하는 시험관 내 방법에 있어서, 상기 방법이 T세포를 적절한 항원-제시 세포의 표면에 발현된 항원 로딩된 인간 클래스 I 또는 II MHC 분자 또는 항원-제시 세포를 모방하는 인공 구성과 상기 T세포를 항원 특이적 방식으로 활성화하는 데 충분한 시간 동안 시험관 내에서 접촉시키는 것을 포함하며, 상기 항원은 제1항부터 제3항의 어느 한 항에 따른 펩티드인 방법.

청구항 14

제1항~제3항의 어느 한 항에서 주어진 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 제시하는 세포를 선택적으로 인식하는, 제13항에 따른 방법에 의해 생산되는 활성화 T림프구.

청구항 15

제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제10항에 따른 압타머, 제11항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제12항에 따른 숙주 세포, 또는 제14항에 따른 활성화 T 림프구, 또는 집합되거나 표지된 활성 성분, 그리고 약학적으로 허용 가능한 운반체, 그리고 선택적으로 약학적으로 허용 가능한 부형제 및/또는 안정화제로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 활성 성분을 포함하는 약학적 성분.

청구항 16

제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드나 이의 변이체, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 또는 제7항에서 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편을 생산하는 방법에서, 상기 방법은 제12항에 따른 숙주 세포의 배양 그리고 펩티드나 이의 변이체, 항체나 이의 단편 또는 T세포 수용체나 이의 단편의 상기 숙주 세포 및/또는 그 배양 배지로부터의 분리를 포함하는 방법.

청구항 17

의학에서의 사용을 위한 제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제10항에 따른 압타머, 제11항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제12항에 따른 숙주 세포 또는 제14항에 따른 활성화 T림프구.

청구항 18

제1항~제3항의 어느 한 항에 주어진 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 제시하는 세포를 표적으로 하는 환자 체내에서 표적 세포를 괴사시키는 방법으로, 제14항에 정의된 효과적인 수의 활성화 T세포의 상기 환자에 대한 투여를 포함하는 방법.

청구항 19

암의 진단 및/또는 치료에서의 사용을 위한 또는 암에 대한 약제의 제조에서의 사용을 위한, 제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제10항에 따른 압타머, 제11항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제12항에 따른 숙주 세포 또는 제14항에 따른 활성화

화 T 림프구.

청구항 20

제21항에 따른 사용에 있어서, 상기 암이 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암 (비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암, 그리고 펩티드 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로부터 유래하는 단백질의 과발현을 나타내는 다른 종양들의 군으로부터 선택되는 사용.

청구항 21

키트에 있어서,

(a) 제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드(들)이나 변이체, 제6항에 따른 항체나 이의 단편, 제7항이나 제8항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제10항에 따른 압타머, 제11항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제12항에 따른 숙주 세포 또는 제14항에 따른 활성화 T 림프구를 용액이나 동결건조된 형태로 포함하는 약학적 성분으로 이루어진 용기;

(b) 선택적으로, 희석제 또는 동결건조된 제형을 위한 재구성 용액을 포함하는 두 번째 용기;

(c) 선택적으로, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 추가적인 펩티드, 및

(d) 선택적으로 (i) 용액의 사용 혹은 (ii) 동결건조된 배합의 재구성 및/또는 사용을 위한 설명을 포함하는 키트.

청구항 22

제21항에 따른 키트에 있어서, 하나 이상의 (iii) 완충액, (iv) 희석제, (v) 필터, (vi) 주사바늘 또는 (v) 주사기를 추가로 포함하는 키트.

청구항 23

개인화 항암 백신 또는 개별 환자를 위한 화합물 기반 및/또는 세포 요법의 생산 방법에 있어서,

a) 상기 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양 연관 펩티드(TUMAP)의 동정;

b) 정상 조직과 비교하여 종양에서 면역원성 및/또는 과다 제시에 대해 사전선별된 펩티드들의 웨어하우스를 이용하여 a)에서 동정된 펩티드와의 비교;

c) 환자에서 동정된 TUMAP와 일치하는 적어도 하나의 펩티드를 웨어하우스로부터 선택;

d) 그리고 c) 단계에 근거한 개인화 백신의 생산 및/또는 화합물 기반의 또는 세포 요법 생산 및/또는 제형을 포함하는 방법.

청구항 24

제23항에 따른 방법에 있어서, 상기 TUMAP가:

a1) 종양 샘플에서 과발현되거나 이상 발현된 단백질의 식별을 위해 종양 샘플의 발현 데이터를 종양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직의 샘플에서 얻은 발현 데이터와 비교; 그리고

a2) 종양에 의해 과발현되거나 이상 발현된 단백질로부터 유래한 MHC 리간드를 식별하기 위해, 발현 데이터와 MHC 클래스 I분자에 결합된 MHC 리간드의 서열과의 상관관계 결정에 의해 동정되는 방법.

청구항 25

제23항이나 제24항에 따른 방법에 있어서, 종양 샘플로부터 분리된 MHC 분자로부터 결합된 펩티드를 용출시키고 용출된 리간드의 서열결정에 의해 MHC 리간드의 서열을 결정하는 방법.

청구항 26

제23항부터 제25항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 종양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직을 동일한 환자로부터 얻는 방법.

청구항 27

제23항부터 제26항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 참고에 포함된 펩티드들이 다음 단계들에 근거하여 동정되는 방법:

- aa. 정상 조직이나 조직들과 비교하여 악성 조직에서 과발현된 유전자의 식별을 포함하는, 마이크로어레이 또는 서열 결정 기반의 발현 프로파일링과 같은 고도의 병렬 방법에 의한 게놈 전체 전령 리보핵산(mRNA) 발현 분석의 수행;
- ab. aa 단계에서 검출된 선택적으로 발현되거나 과발현된 유전자에 의해 인코딩된 펩티드의 선택, 그리고
- ac. 건강한 공여자나 상기 환자의 인간 T세포를 사용하는 *시험관 내* 면역 원성 분석을 포함하는 선택된 펩티드에 의한 *생체 내* T세포 반응의 유도 측정, 또는
- ba. 질량 분광분석법을 사용하여 상기 종양 샘플로부터 HLA 리간드의 확인,
- bb. 정상 조직이나 조직들과 비교하여 악성 조직에서 과발현된 유전자의 식별을 포함하는, 마이크로어레이 또는 서열 결정 기반의 발현 프로파일링과 같은 고도의 병렬 방법에 의한 게놈 전체 전령 리보핵산(mRNA) 발현 분석의 수행;
- bc. 식별된 HLA 리간드와 상기 유전자 발현 데이터의 비교;
- bd. bc 단계에서 검출된 선택적으로 발현되거나 과발현된 유전자에 의해 인코딩된 펩티드의 선택;
- be. bd 단계로부터 종양 조직 상에서 선택된 TMAP의 재검출 그리고 건강한 조직 상에서 결여되거나 덜 빈번한 검출 그리고 mRNA 수준에서 과발현의 관련성의 확인; 그리고
- bf. 건강한 공여자나 상기 환자의 인간 T세포를 사용하는 *시험관 내* 면역원성 분석을 포함하는 선택된 펩티드에 의한 *생체 내* T세포 유도 측정.

청구항 28

제23항부터 제27항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 참고에 포함된 펩티드의 면역원성을, *시험관 내* 면역원성 측정, 개별 HLA 결합에 대한 환자 면역 모니터링, MHC 다합체 염색, ELISPOT 분석 및/또는 세포내 사이토킨 염색을 포함하는 방법으로 측정하는 방법.

청구항 29

제23항~제28항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 상기 웨어하우스가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성되는 군으로부터 선택된 복수의 펩티드를 포함하는 방법.

청구항 30

제23항부터 제29항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 정상의 상응하는 조직에 대해 종양 샘플에 고유한 적어도 하나의 돌연변이를 개별 환자로부터의 식별, 그리고 그 돌연변이와 상관관계가 있는 백신에 포함시키거나 세포 요법의 생성을 위한 펩티드의 선택을 추가로 포함하는 방법.

청구항 31

제30항의 방법에 있어서, 상기 적어도 하나의 돌연변이가 전체 유전체 서열 결정에 의해 식별되는 방법.

청구항 32

제1항 ~ 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드를 발현하는 환자에서 암 세포를 살해하는 활성화 T세포의 모집단을 포함하는 조성물의 상기 환자에 대한 투여를 포함하는 암 환자의 치료 방법에 있어서, 상기 암이 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암으로부터 선택되는

방법.

청구항 33

제1항 ~ 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드를 이상 발현하는 환자에서 암 세포를 살해하는 활성화 T세포의 모집단을 포함하는 조성물의 상기 환자에 대한 투여를 포함하는 상기 암 환자에서 면역 반응을 야기하는 방법에 있어서, 상기 암이 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암, 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암으로부터 선택되는 방법.

청구항 34

제32항 또는 제33항의 방법에 있어서, 상기 T세포가 환자에 대해 자가 세포인 방법.

청구항 35

제32항 또는 제33항의 방법에 있어서, 상기 T세포를 건강한 공여자로부터 얻는 방법.

청구항 36

제32항 또는 제33항의 방법에 있어서, 상기 T세포가 종양 침윤 림프구나 말초 혈액 단핵 세포로부터 유래하는 방법.

청구항 37

제32항 ~ 제36항의 어느 한 항의 방법에 있어서, 항원 제시 세포 표면 상의 MHC 클래스 I 분자와의 복합체에서 펩티드를 발현하는 항원 제시 세포를 상기 T세포의 활성화에 충분한 시간 동안 T세포와 시험관 내에서 접촉시켜 활성화 T세포를 생산하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 면역요법 방법에서 사용을 위한 펩티드, 단백질, 핵산 및 세포에 관한 것이다. 특히 본 발명은 암의 면역요법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 단독 또는 예를 들어 백신 조성물의 활성 약학적 성분으로 역할 가능한 기타 종양 연관 펩티드들과 병용하여 항종양 면역 반응을 촉진하거나 혹은 세포를 생체 외 촉진하여 환자로 이전하기 위한 종양 연관 T세포 에피토프에 관한 것이다. 구조적 복합체(MHC)의 분자에 결합된 펩티드 또는 그러한 펩티드는 항체, 용해성 T세포 수용체 및 기타 결합하는 분자의 표적이 될 수도 있다.

[0002] 본 발명은 항종양 면역 반응을 이끌어내는 백신 조성물에서 또는 약학적/면역학적 활성 화합물 및 세포의 개발을 위한 표적으로 사용할 수 있는 인간 종양 세포의 HLA 클래스 I 분자로부터 유래하는 여러 신규 펩티드 서열 및 이들의 변이체에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 발명의 배경

[0004] 세계보건기구(WHO)에 따르면, 2012년 암은 세계적으로 4가지 주요 비전염성 치명적 질병에 속했다. 같은 해 동안, 고소득 국가들에서 결장직장암, 유방암 및 호흡기도 암들이 10대 사망 원인에 포함되었다.

[0005] 역학

[0006] 2012년, 세계적으로 1410만 건의 신규 암, 암을 앓는 3260만 명의 환자(진단 후 5년 이내) 그리고 820만 건의 암 사망이 추정되었다(Bray et al., 2013; Ferlay et al., 2013).

[0007] 뇌암, 백혈병 및 폐암의 군 내에서, 본 발명은 아교모세포종(GBM), 만성 림프구성 백혈병(CLL) 및 급성 골수성 백혈병(AML), 비소세포 및 소세포 폐암(NSCLC 및 SCLC)에 대해 각각 구체적으로 초점을 둔다.

[0008] GBM은 가장 흔한 중추신경계 악성종양으로서 미국내 연령 조절 발생률은 거주자 100,000명 중 3.19명이다. GBM

은 예후가 매우 불량하며 1년 생존율이 35% 및 5년 생존율은 5% 미만이다. 남성, 높은 연령 및 민족이 GBM의 위험 인자인 것으로 보인다(Thakkar et al., 2014).

- [0009] CLL은 서구 세계에서 가장 흔한 백혈병이며 모든 백혈병의 약 3분의 1을 차지한다. 발생률은 미국과 유럽에서 유사하며 연간 신규 건수는 16,000건으로 추정된다. CLL은 아프리카인보다 백인에서 더 흔하며 히스패닉과 미국 원주민에서는 더 드물고 아시아인에서는 거의 없다. 아시아계의 경우 CLL 발생률은 백인보다 3배 더 낮다 (Gunawardana et al., 2008). CLL 환자의 5년 전체 생존율은 약 79%이다.
- [0010] AML은 성인과 아동 모두에서 진단되는 두 번째로 흔한 유형의 백혈병이다. 미국에서 추정된 신규 사례는 1년에 약 21,000건이다. AML 환자의 5년 생존율은 약 25%이다.
- [0011] 폐암은 세계적으로 가장 흔한 유형의 암이며 다수 국가에서 첫 번째 사망 원인이다. 폐암은 소세포 폐암과 비소 세포 폐암으로 세분화된다. NSCLC에는 선암종, 편평 세포 암종 및 대세포 암종의 조직학적 유형들이 포함되며 미국의 모든 폐암의 85%를 차지한다. NSCLC의 발생률은 현재 및 과거 흡연자 등의 흡연율과 밀접한 상관관계가 있으며 5년 생존율은 15%로 보고되었다(Molina et al., 2008; World Cancer Report, 2014).
- [0012] 암 치료를 위한 일반적인 전략과 관련 있는 중증의 부작용과 비용을 고려할 때, 일반적인 암, 그리고 특히 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에 사용할 수 있는 요인들을 확인할 필요가 있다. 또한 더 나은 진단과 예후의 평가 및 치료 성공의 예측을 유도하는 일반적인 암, 그리고 특히 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장 직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비 소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암에 대한 바이오마커를 대표하는 요인들을 확인할 필요가 있다.
- [0013] 암의 면역요법은 부작용을 최소화시키는 반면 암 세포에 대한 특이적 표적화의 옵션을 나타낸다. 암 면역요법은 종양 관련 항원의 존재를 이용한다.
- [0014] 종양 관련 항원(TAA)의 현재 분류는 다음과 같은 주요 그룹을 포함한다:
- [0015] a) 암-고환 항원: 제일 처음으로 T세포에 의해 인식 된 TAA는 이 종류에 속하며, 이는 그 멤버들의 발현이 조직 학적으로 인간 종양과 다르며, 정상 조직 중, 고환의 정소 세포/정원 세포에서만 있으며, 때로는 태반에서도 있기 때문에 암-고환(CT)라고 최초로 불려졌다. 고환의 세포들이 클래스 I 또는 II HLA 분자를 발현하지 않기 때문에, 이 항원들은 정상 세포에 있는 T세포에 의해 인식될 수 없으며 면역학적으로 종양-특정이라고 간주될 수 있다. CT 항원의 잘 알려진 예로는 MAGE 계열 구성원들 및 NY-ESO-1이 있다.
- [0016] b) 분화 항원들: 이 TAA는 종양과 그 종양이 발생한 정상 조직 사이에 공유된다. 대부분의 알려진 분화 항원들은 흑색종과 정상 멜라닌 세포에서 발견된다. 이러한 멜라닌 세포 혈통 관련 단백질의 다수는 멜라닌의 생합성에 관련되어 있으며 그러므로 종양 특이적이 아니지만 암 면역요법에 널리 사용된다. 예로는, 티로시나아제 및 흑색종을 위한 멜란-A/MART-1 또는 전립선암을 위한 PSA가 포함되지만 이로 국한되지 않는다.
- [0017] c) 과발현된 TAA: 일반적으로 낮은 발현 수준이 있는 많은 정상 조직뿐만 아니라 조직학적으로 다른 유형의 종양에서 유전자 인코딩에서 널리 발현된 TAA가 발견된다. 정상 조직에 의해 처리되고 잠재적으로 제시되는 많은 에피토프가 T세포 인식의 임계치 수준보다 낮을 수 있고, T세포의 종양 세포에서의 과발현은 이전에 확립된 내성을 중단시켜 항암 반응을 개시할 수 있다. 이 클래스 TAA의 두드러진 예로는 Her-2/neu, 서바이빈, 텔로머라제 또는 WT1가 있다.
- [0018] d) 종양 특이적 항원: 이러한 독특한 TAA는 정상 유전자의 변이로써 발생한다(β -카네틴, CDK4 등). 이러한 분자 변경의 일부는 종양 변이 및/또는 진행과 관련되어 있다. 종양 특이적 항원은 일반적으로 강한 면역 반응을 정상 조직에 대한 자기 면역 반응에 대한 위험성 없이 유도할 수 있다. 반면에, 대부분의 경우 TAA는 발견되어 일반적으로 많은 개별 종양에서 대개 공유되지 않은 해당 종양에만 적절하다. 종양 특이적(연관된) 아형을 갖는 단백질의 경우 펩티드가 종양(관련) 엑손으로부터 비롯된다면 펩티드의 종양 특이성(또는 연관성) 또한 발생할 수 있다.
- [0019] e) 비정상 번역 후 변형에서 발생하는 TAA: 이러한 TAA는 특이적이 아니고 과발현되지도 않는 단백질에서 발생할 수 있지만 종양에서 주로 활동적인 번역 후 과정에 의해 종양과 관련된다. 이 클래스의 예는 종양 특이적일

수도 있고 아닐 수도 있는 분해 과정 동안 단백질 스플라이싱과 같은 이벤트 또는 MUC1의 경우 종양의 새로운 에피토프로 이끄는 변화된 당화 패턴에서 발생한다.

- [0020] f) 종양 바이러스 단백질: 이러한 TAA는 종양발생 과정에서 중요한 역할을 할 수 있는 바이러스 단백질이며, 그들이 이질적이기 때문에(인간 태생이 아닌), T세포 반응을 일으킬 수 있다. 이런 단백질의 예로는 인간 유두종 타입 16 바이러스 단백질 및 경부 암종에서 발현하는 E6와 E7이 있다.
- [0021] T세포 기반의 면역요법은 종양 관련 혹은 종양 특정 단백질로부터 유래된 펩티드 에피토프를 표적으로 하며, 이는 구조적 적합 복합체(MHC)의 분자에 의해 제시된다. 종양특이적 세포 독성 T림프구에 의해 인식되는 항원, 즉 그들의 에피토프는, 발현되고, 같은 원조의 변형없는 세포들에 비해서, 각각의 종양의 대개 상향조절된 세포인 효소, 수용체, 전사 인자 등과 같은 모든 단백질 클래스에서 유도된 분자일 수 있다.
- [0022] MHC 분자에는 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II의 두 클래스가 있다. MHC 클래스 I 분자는 알파 중사슬과 베타-2-마이크로글로불린으로 구성되어 있고, MHC 클래스 II 분자는 알파와 베타 사슬로 구성되어 있다. 이들의 3차원 형태는 결합 홈을 형성하며, 이는 펩티드와의 비공유결합에 사용된다.
- [0023] MHC 클래스 I 분자는 대부분의 유핵 세포에서 찾을 수 있다. 이는 대부분 내인성 단백질, 결손 리보솜 생성물(DRIP)과 보다 큰 펩티드의 단백질분해성 절단으로 인해 생성된 펩티드를 제시한다. 하지만 엔도솜 구획이나 외생 출처로부터 유래된 펩티드 또한 MHC 클래스 I 분자에서 발견된다. 이러한 비고전적 방식의 클래스 I 제시는 문헌에서는 교차 제시라고 칭한다(Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990). MHC 클래스 II 분자는 대부분 전문적인 항원 제시 세포(APC)에서 찾아볼 수 있으며, 이들은 주로 APC에 의해 섭취된 외인성 또는 막횡단 단백질의 펩티드를 제시하며(예: 세포내이입 동안), 이는 차후에 처리된다.
- [0024] 펩티드와 MHC 클래스 I 분자의 복합체는 적절한 T세포 수용체(TCR)를 갖는 CD8 양성 T세포에 의해서 인식되는 반면, 펩티드와 MHC 클래스 II 분자의 복합체는 적절한 TCR을 갖는 CD4 양성 조력 T세포에 의해 인식된다. TCR, 펩티드 및 MHC가 이로써 1:1:1의 화학량적 반응량으로 존재한다는 사실은 잘 알려져 있다.
- [0025] CD4-양성 보조 T세포는 CD8-양성 세포독성 T세포에 의한 효과적인 반응을 유도하고 지속하는데 중요한 역할을 한다. 종양 연관 항원(TAA)에서 유도된 CD4 양성 T세포 에피토프의 동정은 항종양 면역 반응을 일으키기 위한 의약품의 개발에 아주 중요하다(Gnjatic et al., 2003). 종양 부위에서, 보조 T세포는, 세포독성 T세포(CTL) 친화적 시토카인 주위 환경을 지원하고(Mortara et al., 2006) 효과기 세포, 예를 들면 CTL, 자연 살해(NK) 세포, 대식 세포, 과립구를 유치한다(Hwang et al., 2007).
- [0026] 염증이 없는 경우, MHC 클래스 II 분자의 발현은 주로 면역계의 세포, 특히 전문적 항원 제시는 세포(APC)로 제한된다, 예를 들면, 단핵 세포, 단핵 세포-유도된 세포, 대식 세포, 수지상 세포. 암 환자에서, 종양의 세포는 MHC 클래스 II를 발현하는 것으로 밝혀졌다(Dengjel et al., 2006).
- [0027] 본 발명의 연장된(더 기다란) 펩티드는 MHC 클래스 II 활성 에피토프로 작용할 수 있다.
- [0028] MHC 클래스 II에 의해 활성화된 보조 T 세포는 항종양 면역에서 CTL 작용기 기능을 조절하는데 중요한 역할을 한다. CD8 양성 킬러 T세포의 TH1 유형 지원 효과기 기능의 조력 T세포 반응을 일으키는 조력 T세포 에피토프는, 세포 표면에 종양 관련 펩티드/MHC 복합체를 보이는 종양 세포에 대한 세포 독성 기능을 포함한다. 이런 식으로 종양 관련 보조 T 세포 펩티드 에피토프는, 따로 또는 다른 종양 관련 펩티드와 함께, 항종양 면역 반응을 자극하는 백신 조성의 활성 약학 원료로 사용될 수 있다.
- [0029] 예를 들면, 생쥐 같은 포유류 동물 모델에서는 심지어 CD8 양성 T림프구의 부재하에서도, CD4 양성 T세포가 인터페론-감마($IFN\gamma$)의 분비에 의한 혈관신생의 저해를 통해 종양 발현을 억제하는 데 충분한 것으로 나타났다(Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999). CD4 T세포가 직접적 항종양 작용기라는 증거가 있다(Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014).
- [0030] 이전에는 HLA 클래스 II 분자의 구성적 발현이 일반적으로 면역 세포로 제한되기 때문에, 클래스 II 펩티드를 원발성 종양에서 직접 분리하는 것은 가능하지 않다고 간주되었다. 그러나, Dengjel 등은 MHC 클래스 II 에피토프를 종양에서 직접적으로 식별하는데 성공했다(WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1).

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0031] CD8 및 CD4에 의존하는 두 유형의 반응이 함께 상승작용에 의해 항종양 효과에 기여하므로, CD8+ T세포(리간드:MHC 클래스 I 분자 + 펩티드 에피토프) 또는 CD4 양성 조력 T세포(리간드:MHC 클래스 II 분자 + 펩티드 에피토프)에 의해 인식되는 종양 관련 항원의 식별 및 특성화가 종양 백신의 개발에 중요하다.
- [0032] MHC 클래스 I 펩티드가 세포 면역 반응을 촉발(유도)하려면 MHC 분자에도 결합해야 한다. 이 과정은 MHC 분자의 대립형질 그리고 그 펩티드의 아미노산 서열의 특정적 다형성에 의존한다. MHC 클래스 I 결합 펩티드는 대개 길이가 8-12개의 아미노산 잔기이며 또한 대개 그 서열 내에 MHC 분자의 상응하는 결합 홈과 상호작용하는 두 개의 유지되는 잔기("고정부")를 포함하고 있다. 이렇게 함으로써 각 MHC 대립형질은 어떤 펩티드가 결합 홈에 특정적으로 결합할 수 있는지 결정하는 "결합 모티프"를 갖는다.
- [0033] MHC 클래스 I 의존 면역 반응에서, 펩티드는 종양 세포에 의해 발현되는 특정 MHC 클래스 I 분자와 결합할 수 있어야 하며 또한 추후 특정한 T세포 수용체(TCR)를 갖는 T세포에 의해 인식될 수 있어야 한다.
- [0034] 종양 특이 또는 연관 항원으로서 T림프구에 의해 단백질이 인식되고, 치료에 사용된다면, 특정한 전제 조건이 충족되어야 한다. 항원은 주로 종양 세포에 의해 발현되어야 하며 비교적 소량일지라도 건강한 정상 조직에 의해서 발현되어서는 안 된다. 바람직한 구현에서, 펩티드는 건강한 정상 조직과 비교하여 종양 세포에 의해 과다 제시되어야 한다. 더 바람직하게는, 각각의 항원이 하나의 유형의 종양에서뿐만 아니라 높은 농도로 나타나는 것이다(즉 세포 마다 펩티드의 각각의 사본 번호). 종양 특이 및 종양 관련 항원은 흔히 기능(예: 세포 주기 조절 또는 세포자멸사의 억제) 때문에 정상 세포를 종양 세포로 전환하는 것과 직접 관련된 단백질에서 유도된다. 또한, 변환을 직접적으로 일으키는 단백질의 하류 표적은 상향조절될 수 있으며 따라서 간접적으로 종양과 연관될 수 있다. 이러한 간접적 종양 관련 항원은 백신 접근법의 표적이 될 수도 있다(Singh-Jasuja et al., 2004). 종양 관련 항원에서 유도된 그러한 펩티드("면역성 펩티드")가 *시험관 내* 또는 *생체 내* T세포 반응을 유도하도록 하기 위해서 에피토프가 항원의 아미노산 서열에 나타나는 것이 필수적이다.
- [0035] 기본적으로, MHC 분자에 결합할 수 있는 모든 펩티드는 T세포 에피토프로서 기능할 수 있다. *시험관 내* 또는 *생체 내* T세포 반응의 유도의 전제 조건은 상응하는 TCR이 있는 T세포의 존재와 이 특정 에피토프에 대한 면역성 내성의 부재이다.
- [0036] 그러므로, TAA는 종양 백신으로 제한되지 않지만 이를 포함하는 T세포 기반 요법의 개발에 있어서 시작점이 된다. TAA의 식별과 특성화의 방법은 대개 환자 또는 건강한 대상에서 분리될 수 있는 CTL의 사용에 기반하거나, 또는 다른 전송 프로파일 또는 종양과 정상 조직 사이의 차등 전사 프로파일이나 차등 펩티드 발현 패턴의 생성에 기반한다. 그러나, 종양 조직 또는 인간 종양 세포주에서 과발현되거나 그런 조직 또는 세포주에서 선택적으로 발현되는 유전자의 식별은 면역 요법에서 이런 유전자에서 전사된 항원의 이용에 대한 정밀한 정보를 제공하지 않는다. 이것은 상응하는 TCR이 있는 T세포가 나타나야 하고 이 특정 에피토프에 대한 면역 내성이 없거나 최소화되어야 하므로 이러한 항원의 에피토프의 개개의 하위집단만이 그런 응용에 적합하기 때문이다. 따라서 본 발명의 매우 바람직한 구현에서, 기능성 T세포가 있는 MHC 분자와 관련이 있게 나타나는 과다 발현된 그런 펩티드 또는 선택적으로 발현된 단백질만 선택하는 것은 중요하다. 그런 기능성 T세포는 특정 항원에 의해 자극되었을 때 클론적으로 확대되고 효과기 기능("효과기 T세포")을 실행할 수 있는 T세포로 정의된다.
- [0037] 본 설명에 따른 특정 TCR(예: 용해성 TCR) 및 항체 혹은 다른 결합 분자(글릭)에 의해 펩티드-MHC를 표적화하는 경우, 기저 펩티드의 면역원성은 이차적인 것이다. 이러한 경우 그 제시가 결정 요인이다.

과제의 해결 수단

- [0038] 발명의 요약
- [0039] 본 발명의 제 1 양태에서, 본 발명은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 그리고 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 서열을 포함하며 상기 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에서 하나 또는 두 개의 보수적 아미노산 치환을 포함하는 변이체 펩티드, 이때 상기 변이체 펩티드는 구조적 적합 복합체(MHC)의 분자(들)에 결합하여/하거나 상기 변이체 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하며; 그리고 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것으로, 상기 펩티드는 최대 전장이 16 개의 아미노산을 갖는다.
- [0040] 본 발명은 또한 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 대해 적어도 77%, 바람직하게는 적어도 88% 상동성인 (바람직하게는 적어도 77% 또는 적어도 88% 동일한) 이의변이체 서열로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서

열을 포함하는 펩티드에 관한 것으로 여기서 상기 변이체는 MHC에 결합하며/하거나 상기 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하며 또는 그 약학적으로 허용되는 염에 관한 것으로, 상기 펩티드는 기저 전장 폴리펩티드가 아니다.

[0041] 본 발명은 또한 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 대해 적어도 77%, 바람직하게는 적어도 88% 상동성인(바람직하게는 적어도 77% 또는 적어도 88% 동일한) 이의 변이체 서열로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드나 그 변이체가 갖는 전체 길이는 8 ~ 100개, 바람직하게는 8 ~ 30개 그리고 가장 바람직하게는 8 ~ 14개의 아미노산이다.

[0042] 다음 표에는 본 발명에 따른 펩티드들과 각각의 서열 식별 번호 그리고 이 펩티드들의 장래의 출처(기저) 유전자들이 나와 있다. 표 1에서, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 417의 펩티드는 HLA-B*44에 결합한다. 표 2의 펩티드는 공개되었지만, 과거에는 암과 연관된 점은 전혀 없었다. 표 2에서, 서열 식별 번호 418 ~ 서열 식별 번호 456의 펩티드는 HLA-B*44에 결합한다. 표 3의 펩티드는 특히 본 발명에 따른 펩티드와의 병용에서 유용할 수 있는 추가의 펩티드이다. 표 3에서, 서열 식별 번호 457 ~ 서열 식별 번호 518의 펩티드는 HLA-B*44에 결합한다.

[0043] [표 1]

[0044] 본 발명에 따른 펩티드.

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
1	KEVDPASNTYTL	MAGEA4	B*44
2	EEFLRPRSL	KLK2	B*44
3	DEIFTNDRRW	TRPM8	B*44
4	AEALGAAKKL	ALPP, ALPPL2	B*44
5	VEFLLLKY	MAGEC2	B*44
6	AELVGPIVQDW	ACPP	B*44
7	SESDLVNFI	TRPM8	B*44
8	ELMEVDPIGHLY	MAGEA3	B*44/A*26
9	MEVDPIGHLYIF	MAGEA3	B*44
10	SEYPTKNYV	CLDN6	B*44
11	EENIVAIGI	TRPM8	B*44
12	KEVDPTGHSF	MAGEA10	B*44
13	VEAQDRETW	SLC6A3	B*44
14	EMPGGPVW	MMP12	B*44
15	MEAEVRRRI	CTAG2	B*44

[0045]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
16	NESDRLVYF	NLRP4	B*44
17	SEIYQPRGF	NLRP4	B*44
18	QEAPRPASSL	MMP11	B*44
19	MEHSDENIQFW	RGS13	B*44
20	LEALLSDF	SLC45A3	B*44
21	SEAKEIKSQL	ANKRD30A, ANKRD30B, ANKRD30BP1	B*44
22	TEEITEGVW	FLT3	B*44
23	REYNLHRVA	MMP1	B*44
24	EELALRIGL	OTP	B*44
25	SEKEPGQQY	RHOXF2, RHOXF2B	B*44
26	EESSPVDEY	MAGEC1	B*44
27	GETCVRITY	ITIH6	B*44
28	QEPPAHS	ZBTB32	B*44
29	TENPKKFKI	PAEP	B*44
30	EEFCFSVRF	FLT3	B*44
31	MESAKETRY	ESR1	B*44
32	REYEYDLKW	FLT3	B*44
33	IEYENQKRL	FLT3	B*44
34	AEPPILYSEY	ESR1	B*44
35	RELVHMINW	ESR1	B*44
36	LEQASRIWSW	TYR, TYRL	B*44
37	IEQGRVVLW	CXorf49, CXorf49B, LOC101059915	B*44
38	DEVRFKGNKY	MMP1	B*44
39	AEAMGKFKQCF	SCGB2A1	B*44
40	REVDPPDSYVF	MAGEC1	B*44
41	EENTGKTYF	MMP1	B*44
42	SEENTGKTYF	MMP1	B*44
43	SEKIVYVY	SSX3, SSX4, SSX4B	B*44
44	SEFGAPRW	ACSM1	B*44
45	EEINELNRMI	KRT121P, KRT81, KRT83, KRT85, KRT86	B*44
46	SELGLPKEV	MMP13	B*44
47	TEVHSSPAQRW	SIGLEC15	B*44
48	DEVRALIF	ANKRD28	B*44
49	SEYVHSSF	COL10A1	B*44
50	SEYVHSSFSGF	COL10A1	B*44

[0046]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
51	VEMTGKHKQL	DNTT	B*44
52	EDNPSGHTY	MAGEB1	B*44
53	KEDNPSGHTY	MAGEB1	B*44
54	QEISARTEF	TFEC	B*44
55	TEFHMQFSY	TFEC	B*44
56	ALEEGGGYIF	SRMS	B*44
57	SEATHIITI	COL24A1	B*44
58	KEMDPSRQSY	MAGEB17	B*44
59	AEIEADRSYQ	LAMC2	B*44
60	EEAVRSVAF	EML6	B*44
61	AEYSVHKI	LAMC2	B*44
62	AEYSVHKITSTF	LAMC2	B*44
63	YEQVLFGF	PAK1IP1	B*44
64	EEYQDSFERY	DNAH17	B*44
65	SESMVESKF	ITIH6	B*44
66	AEVTLNNTI	FCRL5	B*44
67	TEGAVEVKY	LOXL4	B*44
68	NEIDIHSIYF	HEPHL1	B*44
69	DENIQKFIW	HEPHL1	B*44
70	AEAEEMKRL	LAMC2	B*44
71	AEVGDIHKV	F5	B*44
72	AEVGDIHKVHF	F5	B*44
73	GEGTLRLSW	ITIH6	B*44
74	AELEGALQKA	KRT121P, KRT81, KRT83, KRT85, KRT86	B*44
75	LETSCGSSTAY	KRTAP26-1	B*44
76	RLNEHPSNNW	LAMC2	B*44
77	QETLAESTW	GTSF1	B*44
78	TEFSNHINL	GREB1, GREB1L	B*44
79	TEAQRDCW	PMEL	B*44
80	TEQSLYYRQW	GREB1	B*44
81	GEKATMQNL	KRT13, KRT17	B*44
82	AVFDESKSW	F5	B*44/A*25
83	TEGGTQKTF	F5	B*44
84	AETSYVKVLEY	MAGEA1	B*44
85	SEIDEKVTDL	MAGEA10	B*44
86	QTLKAMVQAW	PRAME	B*44/B*57

[0047]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
87	GEARGDQVDW	CSAG1	B*44
88	KEFTVSGNIL	CTAG1A, CTAG1B	B*44
89	KEFYVPKEF	CYP4Z1	B*44
90	EESLLSSW	MAGEB2	B*44
91	EESLLSSWDF	MAGEB2	B*44
92	KEPSQSCIAQY	RNASE10	B*44
93	SEAGLTANQY	NLRP11	B*44
94	SLAELIAKDW	NLRP11	B*44/A*25
95	AAFEDAQGHIW	MMP11	B*44
96	MDELEEGESY	DCX	B*44/B*18
97	ELVHMINW	ESR1	B*44
98	SEESAGPLL	PGR	B*44
99	SECVKSLSF	ABCC11	B*44
100	QGDVVDYSFY	CXorf49, CXorf49B	B*44
101	SEENTGKTY	MMP1	B*44
102	TELADLDAAW	SMC1B	B*44
103	AELFLTKSF	MMP13	B*44
104	EVHSSPAQRW	SIGLEC15	B*44/A*25
105	EEIFKTLNY	COL24A1	B*44
106	SVISDSPRSW	FCRL5	B*44/A*25
107	YQENPRAAW	SEMA5B	B*44/A*32
108	QETNKVETY	PTHLH	B*44
109	AFSPAAGNTW	ROBO3	B*44
110	EVEVGEVKSW	RFPL4B	B*44
111	QEIDQKRLEF	SMC1B	B*44
112	AEIEADRSYQH	LAMC2	B*44
113	MEFKTLNKN	SEMA5B	B*44/C*06
114	VEVNGVPRW	LOXL4	B*44
115	QEPFTRPVL	FCRL5	B*44
116	AEANPRDLGASW	DDX53	B*44
117	SEVPVDSHY	LOXL4	B*44
118	SEVPVDSHY	LOXL4	B*44
119	VEVKYEGHW	LOXL4	B*44
120	VTEGAVEVKY	LOXL4	B*44
121	YENIPVDKV	EPYC	B*44
122	GESVSWHLF	HEPHL1	B*44
123	DEINHQSL	FAM111B	B*44

[0048]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동공이형
124	NENLDYAIL	FAM111B	B*44
125	LEV LHQGQW	LOXL4	B*44
126	SEASQSPQY	PGR	B*44
127	RYFDENIQKFIW	HEPHL1	B*44
128	TELTEARVQVW	ALX1	B*44
129	EEAMKRLSY	LAMC2	B*44
130	REYQEV MN SKL	KRT121P, KRT81, KRT83, KRT86	B*44
131	RESHLTEIRQY	GREB1	B*44
132	AESFTSGRHYW	TRIML2	B*44
133	IEAPKLMVV	HMCN1	B*44
134	IEIKDRLQL	TCL1A	B*44
135	QEIDRGQYI	HMCN1	B*44
136	EEMPEEHL	DNAH17	B*44
137	EKGLISAF	ADAMTS20	B*44
138	KEAPNIVTL	GREB1	B*44
139	AESDFSNNML	LOXL4	B*44
140	TEHSGIYSC	FCRL5	B*44
141	SEKWFRMGF	DNTT	B*44
142	QELFLHPVL	FCRL3	B*44
143	HEIIRSHW	NOTUM	B*44
144	IEAYLERIGY	NAT1, NAT2	B*44
145	EELRMLSF	CLEC17A	B*44
146	MEELRMLSF	CLEC17A	B*44
147	RMLSFQQMTW	CLEC17A	B*44/A*32
148	KESDAGRY	FCRL3	B*44
149	AETEPERHLG	NKX3-1	B*44
150	SEVFHVSEA	PTPRZ1	B*44
151	TELQIPSF	PTPRZ1	B*44
152	HENLIEDF	F5	B*44
153	IEILLSGSL	SMC1B	B*44
154	NEAGEMIKHY	HMCN1	B*44
155	TEDARHPESW	ELL3	B*44
156	DAIPPPTLTW	HMCN1	B*44/A*25
157	SQDVAGTTF	SLC24A5	B*44/C*05
158	VEEERYTGQW	IL9R	B*44
159	EEVQDGKVI	JUP, KRT13, KRT17	B*44
160	AEIATTGQLY	BCAN	B*44

[0049]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
161	GESSEVKAVL	DNTT	B*44
162	EAYDIELNKW	KBTBD8	B*44/A*25
163	AEDEDGKIVGY	NAA11	B*44
164	DEDGKIVGY	NAA11	B*44
165	EEIEAHIAL	MEX3B	B*44
166	EEQDFINNRY	BCAN	B*44
167	AETENRYCV	JUP, KRT13, KRT17	B*44
168	EEGPSVPKIY	BEND4	B*44
169	KEHNSSVPWSS	TCHHL1	B*44
170	REMFVFKDQW	MMP16	B*44
171	WEVVHTVF	HMCN1	B*44
172	RENPGMPSW	PAX3, PAX7	B*44
173	SEHSLEGQKF	PTPRZ1	B*44
174	DENDAGNLITF	STK31	B*44
175	NLKSPIPLW	STK31	B*44/B*57
176	GETQQHIQL	HMCN1	B*44
177	LEEPMPFFY	LY6K	B*44
178	MEGAALLKIF	APOL4	B*44
179	EEHIFSAF	MIXL1	B*44
180	EEHSSKLQTSL	SEMG2	B*44
181	HEVAQDDHL	SEMG2	B*44
182	EELHAALSEW	TRIM31	B*44
183	KEMQVTISQQL	ONECUT3	B*44
184	EEQLLQKVM	DNTT	B*44
185	TEANVQALF	KBTBD8	B*44
186	EEIFAHLGL	DNTT	B*44
187	TEQALRLSV	JUP, KRT13, KRT17	B*44
188	AEFVPKADLL	FMN1, LOC101059984	B*44
189	ALNGDIYVW	EML5, EML6	B*44
190	NEAGEVSKHF	HMCN1	B*44
191	AEHDMKSVL	PHEX	B*44
192	LEIMTNLVTL	ABCC11	B*44
193	RELRLPLFDRQW	COL19A1	B*44
194	TEGDVLNYIF	COL19A1	B*44
195	MEIKGTVTEF	TDRD1	B*44
196	TELEVKIRDW	KRT13, KRT17	B*44
197	NEILTIHF	F5	B*44

[0050]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
198	REEEANVVL	AGRN	B*44
199	AELPENLKALF	DNAH17	B*44
200	KELSVFKKF	FCRL2	B*44
201	MEILWKTLT	ADAMTS6	B*44
202	RELPLVLLA	GRF	B*44
203	REILHAQTL	RALGPS2	B*44
204	YERPTLVEL	BEND4	B*44
205	MEIEGAGNFL	ADAMTS12	B*44/B*40
206	SEDPEKYYL	ADAMTS12	B*44
207	LEGGGRGGEF	IRF4	B*44
208	SEFLLRIF	CAPN6	B*44
209	AEGEPPPAL	SIGLEC15	B*44
210	AEGEPPPALAW	SIGLEC15	B*44
211	LEMLDAHRL	ESR1	B*44
212	SEASVYLFRF	SIGLEC15	B*44
213	DEDLFHKL	FERMT1	B*44
214	SVNPIIYGF	NPFFR2	B*44/A*32
215	SAMWIQLLY	GPR143	B*44/A*29
216	AGSPVMRKW	ESM1	B*44/B*57
217	EVEVGDRTDW	BTN1A1	B*44/A*25
218	REAEKEAQL	KIAA1407	B*44
219	WEVEVGDRTDW	BTN1A1	B*44
220	EEEVFSGMKL	VCAN	B*44
221	KEAFGPQAL	VCAN	B*44
222	SEDTIHTHL	VCAN	B*44
223	SEVEGLAFV	VCAN	B*44
224	TETDIDREY	VCAN	B*44
225	VEAATVSKW	VCAN	B*44
226	AEDNMVTSY	TRPS1	B*44
227	ALTEDSDDTF	EGFR	B*44
228	LEYEAPKLY	DNMT3B	B*44
229	AEDLEKKYA	CAPN6	B*44
230	AEALVDGKW	BTBD16	B*44
231	AEALVDGKWQEF	BTBD16	B*44
232	YEIRAEAL	BTBD16	B*44
233	QEDKATQTL	BMF	B*44
234	TEEPQRLFY	BMF	B*44

[0051]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
235	SESLPRAPL	NTN3	B*44
236	LEDQLKPMLEW	DNMT3B	B*44
237	QEIGQKTSV	ROS1	B*44
238	VEDDNYKLSL	RALGPS1, RALGPS2	B*44
239	DEDYTYLIL	APOB	B*44
240	MELQVSSGF	FCER2	B*44
241	QELLDIANYL	APOB	B*44
242	CDAQIQYSY	DNAH17	B*44
243	VEQINISQDW	FERMT1	B*44
244	VESSQAFTW	DNAH17	B*44
245	MEFQGPM PAGM	LAMB3	B*44
246	HEHGLFNLY	GREB1	B*44
247	KESMLK TTL	APOB	B*44
248	KESQLPTVMDF	APOB	B*44
249	YEMAIYKKY	GREB1	B*44
250	AELDHLASL	AHRR, PDCD6	B*44
251	DESADSEPHKY	PRDM15	B*44
252	EEFIGKIGI	PRDM15	B*44
253	QEILHGAVRF	EGFR	B*44
254	QEVAGYVLI	EGFR	B*44
255	KQWEYNEKLAF	MED12L	B*44
256	RLLPGKV VVW	CAPN6	B*44/A*32
257	HAIDGTNNW	LAMA1	B*44
258	IEVSSPITL	APOB	B*44
259	IEVSSPITLQAL	APOB	B*44
260	VELMFPLL	RDH11	B*44
261	QEWDPQKTEKY	CAPN6	B*44
262	YENILNAI	LAMA3	B*44
263	AEQLRGFNA	LAMB3	B*44
264	RELIKAIGL	PGR	B*44
265	EDNLIHKF	NLRP2	B*44
266	EEEDRDGHTW	NLRP2	B*44
267	VELEVPQL	APOB	B*44
268	EDLAVHLY	RALGPS2	B*44/B*18
269	SEDLAVHL	RALGPS2	B*44
270	VL RPPGSSW	C6orf15	B*44
271	REDLVGPEV	RALGPS2	B*44

[0052]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
272	SEQNIQRANLF	APOB	B*44
273	TEFELLHQV	TRIM31	B*44
274	DEIDKLTY	PDE11A	B*44
275	GEQPPEGQW	BMF	B*44
276	SEYQDGKEF	DNMT3B	B*44
277	VEFPATRSL	DNMT3B	B*44
278	DQVTVFLHF	ABCC4	B*44/A*25
279	GEPVTQPGSL	BMF	B*44
280	AAEPLVGQRW	GDF7	B*44
281	HEIPQESL	NBPF4, NBPF6	B*44
282	KEFGIGDLVW	DNMT3B	B*44
283	VEEEISRHY	TRPS1	B*44
284	SQYPHTHTF	ROR1	B*44
285	AEHPDFSPCSF	HOXA10, HOXA9	B*44
286	DELSVGRY	HOXA9	B*44
287	REVSVDIL	UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5	B*44
288	TEHFLKKFF	UGT1A3	B*44
289	NRYINIVAY	PTPRZ1	B*44
290	AECILSKRL	CBX2	B*44
291	DEQLLLRF	FERMT1	B*44
292	HELALRQTV	KRT16, KRT16P2	B*44
293	QEDEQLLLRF	FERMT1	B*44
294	EEWEWIKL	ANKFN1	B*44
295	QELEQEVISL	BEND4	B*44
296	AETIFIVRL	HTR3A	B*44
297	DEYLIPQQGFF	EGFR	B*44
298	KEVASNSEL	KRT16	B*44
299	AEVQIARKL	BMF	B*44
300	KQTEATMTF	APOB	B*44
301	AERIMFSDL	TDRD1	B*44
302	EGEDAHLTQY	JUP, KRT13, KRT17	B*44
303	GEDAHLTQY	JUP, KRT13, KRT17	B*44
304	RELGFTEATGW	LOXL3	B*44
305	AEKNRRDAETW	KRT16	B*44
306	RRHPSFKRF	C6orf222	B*44/B*27
307	YEQLLKVVVTW	IL4I1	B*44
308	EEPKIDFRVY	TRPS1	B*44

[0053]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
309	SDDLNRNVTW	TRPS1	B*44
310	FELECPVKY	BTLA	B*44
311	REKDLPNYNW	KISS1	B*44
312	KEWEREKAVSL	MROH2A	B*44
313	EEINQGGRKY	L1TD1	B*44
314	EMREERKF	L1TD1	B*44
315	MEQQSQEY	KRT13, KRT16	B*44
316	RLWPEPENW	SPOCD1	B*44
317	TEFQQIINL	L1TD1	B*44
318	SESSSFLKV	KIF26B	B*44
319	YEWEPFAEV	THSD4	B*44
320	AENPLNIFY	PCDHGB2	B*44
321	AENPLNIFYI	PCDHGB2	B*44
322	REESDWHYL	GREB1	B*44
323	SETAVVNVTY	IGF2BP1, IGF2BP3	B*44
324	QELSSIRQF	HTR3A	B*44
325	AEQEIMKKV	IGF2BP1	B*44
326	RELLDFSSW	ASCL2	B*44
327	SEQHSLPVF	ROS1	B*44
328	HENGVLTKF	ROS1	B*44
329	SEPQITVNF	SLAMF9	B*44
330	SEHLFGTSY	TEX15	B*44
331	KELEATKQYL	KIF26B	B*44
332	SEADWLRFW	TRPS1	B*44
333	SEGTLPYSY	PCDHGB1, PCDHGB2, PCDHGB4, PCDHGB6	B*44
334	LEWQNSSSM	FGD6	B*44
335	SETPTLQGL	ABCC4	B*44
336	QEVNISLHY	TNFSF4	B*44
337	VEVIPEGAML	CDKAL1	B*44
338	AEMKFYVVI	HTR3A	B*44
339	NEVKEIKGY	TGM7	B*44
340	GELAPSHGL	ABCC4	B*44
341	HELESENKKW	KLHL6	B*44
342	SENKKWVEF	KLHL6	B*44
343	SEFDLEQVW	KIF26B	B*44
344	DEIRVFGY	KLB	B*44

[0054]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
345	AEYQAAILHL	FMN1	B*44
346	EEIENLQAQF	FMN1	B*44
347	LENPHVQSV	VWDE	B*44
348	SEVLLTSISTF	MET	B*44
349	LEWQHPSSW	MPL	B*44
350	EEMLENVSL	APOB	B*44
351	EEGRVYVY	ITGAE	B*44
352	QEDELVKIRKY	FMN1	B*44
353	AETEEGIYW	KREMEN2	B*44
354	TEIMEKTTL	LAMA1	B*44
355	SETSTGTSV	KIF26B	B*44
356	TEAVLNRY	KIF26B	B*44
357	AELMDKPLTF	VASH2	B*44
358	TEFHGGLHY	LOC100124692	B*44
359	NEFRRKLTF	IL3	B*44
360	DEMENLLTY	SERHL, SERHL2	B*44
361	EDASLMGLY	C1orf127	B*44
362	SEVEYINKY	TDRD9	B*44
363	EECDKAPHF	ZNF761, ZNF765	B*44
364	EECDKAYSF	ZNF761, ZNF765	B*44
365	NESGKAFNY	ZNF761, ZNF765, ZNF813, ZNF845	B*44
366	EECGKAPKKF	ZNF736	B*44
367	TEFAVKLKI	MET	B*44
368	KEKVPGITI	CDKAL1	B*44
369	KELEERMLHW	FGD6	B*44
370	EEVLLANALW	TBC1D9	B*44
371	NEIGQELTGQEW	TLR3	B*44
372	EEYKFPSLF	CDKAL1	B*44
373	REDPIVYEI	MET	B*44
374	NEAEWQEIL	SFMBT1	B*44
375	HEATFGEKRF	RASSF9	B*44
376	SESDGIEQL	RASSF9	B*44
377	AEDARGWTA	ANKRD65	B*44
378	QELFLQEVRL	TOMM20L	B*44
379	AENRVGKMEA	ROBO2	B*44
380	EECGKAFRVF	ZNF92	B*44
381	QELMAFSFAGL	FRAS1	B*44

[0055]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
382	SELNPLALY	TDRD5	B*44
383	EEMERDLDMY	DNMBP	B*44
384	LDGIPTAGW	DNMBP	B*44
385	LEHPFLVNLW	STK32A, STK32B	B*44
386	EESDYITHY	NAALADL2	B*44
387	GEVQENYKL	ZNF827	B*44
388	VEIVTIFSL	DNMBP	B*44
389	DEQRRQNVAY	IQGAP3	B*44
390	GEYNKHAQLW	RXFP1	B*44
391	TESIGAQIY	RXFP1	B*44
392	TEVSVLLTTF	RXFP1	B*44
393	SETILAVGL	NUP155	B*44
394	SEILRVTLY	FAM124B	B*44
395	AEDFVWAQW	PION	B*44
396	MELLFLDTF	KIAA1429	B*44
397	EECGKAFSVF	ZNF273, ZNF708, ZNF738, ZNF92	B*44
398	AEIIRYIF	HPGDS	B*44
399	IEQADWPEI	HPGDS	B*44
400	TELGLFGVW	PCDHB13, PCDHB6	B*44
401	VENIFHNF	DCSTAMP	B*44
402	IETSSEYFNF	GDPD4	B*44
403	QESVHVASY	PLD4	B*44
404	AEREQVIKL	STON2	B*44
405	YEHAFNSIVW	STON2	B*44
406	GETVVLKMN	TNR	B*44
407	MEFQNTQSY	FARP2	B*44
408	AFSLLSAAFY	IL20	B*44
409	QEAKPRATW	RTP4	B*44
410	RELEEEFYSL	PHF16	B*44
411	AERDLNVTI	GALNT5	B*44
412	EESFDSKFY	CDKAL1	B*44
413	TELEPGLTY	TNR	B*44
414	AEGYLDLDGI	EYS	B*44
415	EEAGFPLAY	GCNT2	B*44
416	DELMRKESQW	CEP250	B*44
417	EESFRCLPEW	RAB30	B*44

[0056]

[0057]

[표 2]

[0058]

본 발명에 따른 추가의 펩티드

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
418	GEPRKLLTQDW	MAGEA10, MAGEA4, MAGEA9, MAGEA9B	B*44
419	SESLLSLY	ACPP	B*44
420	MEVDPIGHVY	MAGEA3, MAGEA6	B*44
421	TEDYSKQAL	LAMC2	B*44
422	EEAQWVRKYF	FAM111B	B*44
423	KEAINLLKNY	FAM111B	B*44

[0059]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
424	EEHVYESIIRW	KBTBD8	B*44
425	KEVDPASNTY	MAGEA4	B*44
426	AESLFREAL	MAGEA4	B*44
427	AEMLGSVVGNW	MAGEA3, MAGEA6	B*44
428	AEKAAVTSL	HBE1	B*44
429	RETEDYSKQAL	LAMC2	B*44
430	RELARVVTL	C17orf104	B*44
431	QELLDFTNW	ASCL1	B*44
432	TEENGFWYL	NAT1	B*44
433	AEEGPSVPKIY	BEND4	B*44
434	AEQQQQQMY	PRDM15	B*44
435	FETEALRL	JUP, KRT13, KRT17	B*44
436	AEADLSYTWDF	PMEL	B*44
437	HEDPSGSLHL	SLITRK6	B*44
438	AELDSKILAL	TRPS1	B*44
439	VEVGDRTDW	BTN1A1	B*44
440	QEVAQVASA	LAMB3	B*44
441	QEVAQVASAIL	LAMB3	B*44
442	KESDAGKYY	FCRL2	B*44
443	EEYAGQITL	RALGPS2	B*44
444	SESALQTVI	LAMA3	B*44
445	QEVGEITNL	LAMB3	B*44
446	AENIKKFLY	FOLH1, FOLH1B	B*44
447	KEFGLDSVEL	FOLH1	B*44
448	ALSPVPSHW	CD79B	B*44
449	RENDFEPKF	LITD1	B*44
450	REIENGNSF	MACC1	B*44
451	REYEDGPLSL	E2F7	B*44
452	NEVDGEYRY	PRDM15	B*44
453	SESKVFQLL	FGD6	B*44
454	SESSAFQF	FARP2	B*44
455	QESVHVASYW	PLD4	B*44
456	SESPRISV	NRG1	B*44

[0060]

[0061]

[표 3]

[0062] 예를 들어 개인화 암 요법에 유용한 본 발명에 따른 펩티드.

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
457	AEMLERVIKNY	MAGEA4	B*44
458	AEMLESVIKNY	MAGEA1, MAGEA8, MAGEA9, MAGEA9B	B*44
459	KEVDPAGHSY	MAGEA8, MAGEA9, MAGEA9B	B*44
460	SEFMQVIF	MAGEA9, MAGEA9B	B*44
461	MEVDFIGHVYIF	MAGEA3, MAGEA6	B*44
462	SESDTIRSI	KLK4	B*44
463	QEMQHFLGL	MMP12	B*44
464	REMPGGPVW	MMP12	B*44
465	YEIEARNQVF	MMP12	B*44
466	KEVDPTSHSY	MAGEA11	B*44
467	FEYDFLLQRI	MMP12	B*44
468	QEQDVDLVQKY	MMP1	B*44
469	SEAFPSRAL	KISS1R	B*44
470	EDAQGHIW	MMP11	B*44
471	FEDAQGHIW	MMP11	B*44
472	HEFGHVLGL	MMP11	B*44
473	SELKMMTQL	FLT3	B*44
474	AEEEEIMKKI	IGF2BP3	B*44
475	TDSIHAWTF	SLC35D3	B*44
476	MEHPGKLLF	ESR1	B*44
477	VYEKNGYIYF	MMP13	B*44
478	AEIEADRSY	LAMC2	B*44
479	QENSYSQSL	LAMC2	B*44
480	SEIEQEIGSL	LAMC2	B*44
481	EEAQWVRKY	FAM111B	B*44
482	NEAIMHQY	FAM111B	B*44
483	KESPTSVGF	CBX2	B*44
484	GEAVTDHPDRLW	TCL1A	B*44
485	NEHPSNNW	LAMC2	B*44
486	EEESLLTSF	PTPRZ1	B*44
487	LEMPHYSTF	PTPRZ1	B*44
488	SENPETITY	PTPRZ1	B*44
489	SEYADTHYF	CLNK	B*44
490	TENRYCVQL	JUP, KRT13, KRT17	B*44
491	YEVDTVLRV	BCAN	B*44
492	AEHNFVAKA	CLEC17A	B*44
493	ALNPYQYQY	DLX5	B*44

[0063]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 등종이형
494	KEITGFLLI	EGFR	B*44
495	RENQVLGSGW	FCRL2	B*44
496	AEIGEGAYGKVF	CDK6	B*44
497	GEGAYGKVF	CDK6	B*44
498	REAGFQVKAY	FCRLA	B*44
499	VTEEPQRLFY	BMF	B*44
500	QEVLLQTFL	APOB	B*44
501	KEGDLGGKQW	ADAMTS12	B*44
502	MEVPVIKI	ECT2	B*44
503	ASSSGPMRWW	LAMB3	B*44
504	KESQLPTVM	APOB	B*44
505	AEDNLIHKF	NLRP2	B*44
506	QESDLRLFL	NLRP2, NLRP7	B*44
507	QQFLTALFY	NLRP2, NLRP7	B*44
508	AESEDLAVHL	RALGPS2	B*44
509	AESEDLAVHLY	RALGPS2	B*44
510	SEDLAVHLY	RALGPS2	B*44
511	AEAVLKTQL	APOB	B*44
512	AEPLVGQRW	GDF7	B*44
513	AEKDGKLTDY	PTPRZ1	B*44
514	EENKPGIVY	BTLA	B*44
515	AEGGKVPIKW	EGFR	B*44
516	DEYLIPQQGF	EGFR	B*44
517	TEATMTFKY	APOB	B*44
518	FELPTGAGL	APOB	B*44

[0064]

[0065]

본 발명은 또한 일반적으로 증식성 질병, 예를 들어, 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.

[0066]

특히 바람직하기로는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 군으로부터 선택된 본 발명에 따른 펩티드들의 단일 또는 그 조합이다. 더 바람직하기로는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 48로 구성된 군으로부터 (표 1 참조) 선택된 단일 혹은 조합의 펩티드들, 그리고 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 포함등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 그리고 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 면역요법에서의 이들의 사용이다.

[0067]

그러므로 본 발명의 다른 양태는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 군으로부터 선택된 증식성 질병의 바람직하게는 병용 치료를 위한 본 발명에 따른 펩티드의 사용에 관한 것이다.

[0068]

본 발명은 또한 인간 주조직 적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 길이 변이체와 같은 연장된 형태의 MHC 클래스 II의 분자와 결합하는 능력을 가진 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.

[0069]

본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 (각각) 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호

호 518에 따른 아미노산으로 구성되거나 실질적으로 구성된다.

- [0070] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 변형되며/거나 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0071] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드는 융합 단백질의 일부이며 특히 HLA-DR 항원-결합 항원-연관된 불변쇄(Ii)에 융합되거나 또는 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체와 같은 항체에(또는 그 서열 안으로) 융합된다.
- [0072] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드를 인코딩하는 핵산에 관한 것이다. 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0073] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있으며/거나 발현하는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0074] 본 발명은 질병의 치료 및 의학 특히 암의 치료에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0075] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드 또는 본 설명에 따른 상기 펩티드와 MHC의 복합체에 대해 특이적인 항체 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0076] 본 발명은 또한 T세포 수용체(TCR), 특히 용해성 TCR(sTCR) 및 자가조직이나 동종이형 T세포 안으로 조작된 클론된 TCR 그리고 이들은 물론 NK 세포나 상기 TCR을 포함하거나 상기 TCR과 교차반응하는 다른 세포들을 만드는 방법에 관한 것이다.
- [0077] 항체 및 TCR은 현재 본 발명에 따른 펩티드의 면역요법 사용에 대한 추가적 실시예이다.
- [0078] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산 또는 이전에 기술한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 본 발명은 또한 항원 제시 세포이며 바람직하게는 수지상 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0079] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드 제조 방법에 관한 것으로, 그 방법은 본 발명에 따른 숙주 세포의 배양과 숙주 세포 또는 그 배양 배지로부터 펩티드의 분리를 포함한다.
- [0080] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 상기 방법에 관한 것으로, 충분한 수량의 항원을 항원 제시 세포와 접촉시킴으로써 항원이 적합한 항원 제시 세포 혹은 인공 항원 제시 세포의 표면에 발현된 클래스 I 또는 II MHC 분자 위에 로딩된다.
- [0081] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 그 항원 제시 세포가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518을 포함하는, 바람직하게는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 48을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있거나 또는 발현하는 발현 벡터 또는 변이체 아미노산 서열을 포함한다.
- [0082] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 의해 생산된 활성화 T세포에 관한 것으로, 상기 T세포는 본 발명에 따른 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 발현하는 세포를 선택적으로 인식한다.
- [0083] 한 양태에 있어서, 활성화 T세포를 적절한 항원-제시 세포의 표면에 발현된 항원 로딩된 인간 클래스 I 또는 II MHC 분자 또는 항원-제시 세포를 모방하는 인공 구조체와 상기 T세포를 활성화하는 데 충분한 시간 동안 시험관 내에 접촉시켜 생산할 수 있다.
- [0084] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 임의의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 표적 세포가 이상 발현하는 환자에서 표적 세포를 살해하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따라 생산되는 효과적인 수의 T세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0085] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 일체의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암 세포가 이상 발현하는 암 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따라 생산되는 효과적인 수의 T세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0086] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 일체의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암 세포가 이상 발현하는 암 환자에서 면역 세포를 유발시키는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따라 생산되는 효과적인 수의 T세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0087] 한 양태에서, 이 T세포는 환자에게 자가 세포일 수 있다. 다른 양태에서, 이 T세포는 환자에게 동종이형 세포일 수 있다.

- [0088] 다른 양태에서, 이 T세포를 건강한 공여자로부터 얻을 수 있다.
- [0089] 다른 양태에서, 이 T세포가 종양 침윤 림프구나 말초 혈액 단핵 세포로부터 유래할 수 있다.
- [0090] 다른 양태에서, 면역 반응은 세포독성 T세포 반응을 포함할 수 있다. 본 발명은 또한 약제로서 또는 약제의 제조에 있어서, 설명된 일체의 펩티드, 본 설명에 따른 핵산, 본 설명에 따른 발현 벡터, 본 설명에 따른 세포, 본 설명에 따른 활성화 T 림프구, T세포 수용체 또는 기타 펩티드 및/또는 펩티드 MHC 결합 분자의 사용에 관한 것이다. 바람직하게는 상기 약제가 암에 대해 활성이다.
- [0091] 바람직하게는 상기 약제가 세포 요법, 백신 또는 용해성 TCR 혹은 항체에 근거한 단백질이다.
- [0092] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로, 상기 암 세포가 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 위식도 접합부 암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포이고, 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 위식도 접합부 암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포이다.
- [0093] 본 발명은 또한 암, 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 진단에 사용될 수 있는, 여기서 "표적"이라 불리는, 본 발명에 따른 펩티드에 기반한 바이오마커에 관한 것이다. 이 표지자는 펩티드(들) 자체의 과다제시 또는 상응하는 유전자(들)의 과발현일 수 있다. 이 표지자는 또한 치료, 바람직하게는 면역요법, 가장 바람직하게는 바이오마커에 의해 확인된 동일한 표적을 표적화하는 면역요법의 성공의 확률을 예측하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체 혹은 용해성 TCR은 관심 대상의 MHC와 복합체인 펩티드의 존재 검출을 위해 종양의 일부를 염색하는데 사용할 수 있다.
- [0094] 선택적으로, 항체는 면역 자극 도메인 또는 독소와 같은 추가의 작용기 기능을 보유한다.
- [0095] 본 설명은 또한 암 치료의 환경에서 이러한 신규 표적들의 사용에 관한 것이다.
- [0096] 면역 반응 자극은 숙주 면역계가 외부 물질로 인식하는 항원의 존재에 의존한다. 종양 연관 항원의 발견은 숙주의 면역계를 종양 성장에 개입하는 데 사용할 가능성을 제기했다. 면역계의 체액성 그리고 세포성 지류를 이용하는 다양한 기전이 현재 암 면역 치료에서 탐색되고 있다.
- [0097] 세포 면역 반응의 특정 요소는 종양 세포를 특정하게 인식하고 파괴하는 능력이 있다. 종양 침윤 세포 모집단 혹은 말초 혈액으로부터 T세포의 분리는 그러한 세포가 암에 대한 자연 면역 방어에서 중요한 역할을 수행함을 시사한다. 특히 CD8-양성 T세포는 세포질에 위치한 단백질이나 결손 리보솜 산물들(DRIPS)로부터 유래된 보통 8에서 10개의 주 조직적합 복합체(MHC)-포함 펩티드의 클래스 I 분자를 인지하며, 이 반응에서 중요한 역할을 한다. 인간의 MHC 분자는 또한 인간 백혈구 항원(HLA)으로 지정된다.
- [0098] 별도로 설명되지 않은 이상 여기에서 사용되는 모든 용어는 아래와 같이 정의된다.
- [0099] "T세포 반응"이란 용어는 특이적 증식과 시험관 내 또는 생체 내에서 유도되는 작용기 기능의 활성화를 의미한다. MHC 클래스 I 제한 세포 독성 T세포의 경우, 효과기 기능이 펩티드 펄스, 펩티드 전구세포 펄스 또는 자연적 펩티드 제시 표적 세포들의 용해, 시토카인의 분비, 바람직하게는 펩티드에서 유도되는 인터페론-감마, TNF-알파, 또는 IL-2, 효과기 분자의 분비, 바람직하게는 펩티드에서 유도되는 그랜자임 또는 퍼로린 또는 탈과립일 수 있다.
- [0100] "펩티드"란 용어는 여기서 이웃 아미노산의 알파 아미노와 카보닐기 사이에 펩티드 결합으로 보통 서로 연결되는 일련의 아미노산 잔기를 지정하기 위해 사용한다. 펩티드는 아미노산 9개의 길이가 바람직하지만 짧게는 아미노산 8개일 수도 있고 길게는 10, 11 또는 12개 이상일 수도 있으며, MHC 클래스 II 펩티드의 경우(본 설명의 펩티드의 연장된 변이) 그 길이가 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산일 수 있다.
- [0101] 더욱이 "펩티드"라는 용어는 알파 아미노기와 이웃 아미노산의 카보닐기 사이의 펩티드 결합으로 보통 서로 연

결되는 아미노산 잔기의 서열에 의한 염을 포함한다. 바람직하게는 그 염은 예를 들어 염화물 또는 아세트산(트리플루오로아세트산)염과 같은 약학적으로 허용가능한 펩티드의 염이다. 본 발명에 따른 펩티드의 염은 펩티드가 생체 내에서 염이 아니므로 생체 내 상태의 펩티드와는 실질적으로 다르다는 점을 유의해야 한다.

[0102] "펩티드"라는 용어는 "올리고펩티드"도 포함한다. 여기에서 "올리고펩티드"라는 용어는 인접 아미노산의 알파 아미노기 및 카보닐기 사이에서 일반적으로 펩티드 결합으로 연결되는, 아미노산 잔기를 지정하는 데 사용된다. 본 발명에서 올리고펩티드의 길이는 정확한 에피토프 또는 에피토프들이 유지되는 이상 중요하지 않다. 올리고펩티드는 일반적으로 약 30개 아미노산 잔기 보다 길이가 짧고, 15개 아미노산 보다 길다.

[0103] "폴리펩티드"라는 용어는 인접 아미노산의 알파 아미노기 및 카보닐기 사이에서 일반적으로 펩티드 결합으로 연결되는, 일련의 아미노산 잔기를 지정하는 데 사용된다. 본 발명에서 폴리펩티드의 길이는 정확한 에피토프들이 유지되는 이상 중요하지 않다. 펩티드 또는 올리고 펩티드와 다르게, 폴리펩티드는 약 30개 아미노산 잔기 이상의 분자를 가지고 있는 것을 지칭한다.

[0104] 이런 분자의 펩티드, 올리고펩티드, 단백질, 또는 폴리뉴클레오티드 코딩은 면역 반응을 유도할 수 있으면 "면역성"(따라서 본 발명에서의 "면역원")이다. 본 발명의 경우, 면역성은 T세포 반응을 유도하는 능력으로 특정하게 정의된다. 그러므로, "면역원"은 면역 반응을 유도할 수 있는 분자이고, 본 발명의 경우, T세포 반응을 유도할 수 있는 분자이다. 다른 양태에서, 면역원은 펩티드, 펩티드와 MHC의 복합체, 올리고펩티드 및/또는 특정 항체나 항체에 대한 TCR을 높이는데 사용되는 단백질일 수 있다.

[0105] 클래스 I T세포 "에피토프"은 적당한 친화력을 가진 MHC/펩티드 혼합물에 결합하는 T세포 수용체에 일치하는 T세포에 의해 인식되는 삼항 혼합물(MHC 클래스 I 알파 사슬, 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 ~ 14개 아미노산이며, 가장 일반적으로 길이가 9개 아미노산이다. 인간에는 MHC 클래스 I 분자를 인코딩하는 세 개의 유전자 자리가 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 이러한 유전자 좌에서 발현할 수 있는 다른 MHC 클래스 I 대립형질의 예이다.

[0106] [표 4]

[0107] HLA-A*02, HLA-A*01, HLA-A*03, HLA-A*24, HLA-B*07, HLA-B*08 및 HLA-B*44 혈청형의 발현 빈도 F. 일배체형 빈도 Gf는 미국에서 650만 명이 넘는 자원 공여자의 레지스트리로부터 얻은 HLA형 결정 데이터를 사용한 연구에서 유래한다(Gragert et al., 2013). 일배체형 빈도란 개별 염색체 상의 뚜렷한 대립유전자의 빈도를 말한다. 포유동물 세포 내의 이배수 염색체 조합으로 인해, 이 대립유전자의 유전형 발생 빈도가 더 높으며 하디-와인버그 원칙($F = 1 - (1-Gf)^2$)을 사용하여 계산할 수 있다.

대립유전자	집단	대립유전자 빈도로부터 계산된 표현형(F)
A*02	아프리카인(N=28557)	32.3%
	유럽 백인(N=1242890)	49.3%
	일본인(N=24582)	42.7%
	히스패닉, 남미 + 중미 (N=146714)	46.1%
	동남 아시아인 (N=27978)	30.4%
A*01	아프리카인(N=28557)	10.2%
	유럽 백인(N=1242890)	30.2%
	일본인(N=24582)	1.8%
	히스패닉, 남미 + 중미 (N=146714)	14.0%
	동남 아시아인 (N=27978)	21.0%
A*03	아프리카인(N=28557)	14.8%
	유럽 백인(N=1242890)	26.4%

[0108]

	일본인(N=24582)	1.8%
	히스패닉, 남미 + 중미(N=146714)	14.4%
	동남 아시아인 (N=27978)	10.6%
A*24	아프리카인(N=28557)	2.0%
	유럽 백인(N=1242890)	8.6%
	일본인(N=24582)	35.5%
	히스패닉, 남미 + 중미(N=146714)	13.6%
	동남 아시아인 (N=27978)	16.9%
B*07	아프리카인(N=28557)	14.7%
	유럽 백인(N=1242890)	25.0%
	일본인(N=24582)	11.4%
	히스패닉, 남미 + 중미(N=146714)	12.2%
	동남 아시아인 (N=27978)	10.4%
B*08	아프리카인(N=28557)	6.0%
	유럽 백인(N=1242890)	21.6%
	일본인(N=24582)	1.0%
	히스패닉, 남미 + 중미(N=146714)	7.6%
	동남 아시아인 (N=27978)	6.2%
B*44	아프리카인(N=28557)	10.6%
	유럽 백인(N=1242890)	26.9%
	일본인(N=24582)	13.0%
	히스패닉, 남미 + 중미(N=146714)	18.2%
	동남 아시아인 (N=27978)	13.1%

[0109]

[0110]

본 발명의 펩티드는 바람직하게 본 발명의 백신에 포함되면 여기서 설명된 바와 같이 B*44에 결합한다. 백신은 또한 범결합 MHC 클래스 II 펩티드를 포함할 수 있다. 그러므로 본 발명의 백신은 B*44 양성인 환자에서 암의 치료에 사용할 수 있는 반면, 이러한 펩티드의 범결합 성격으로 인해 MHC 클래스 II 동종이형에 대한 선택이 필요하지 않다.

[0111]

본 발명의 A*02 펩티드가 다른 대립유전자, 예를 들어 A*24에 결합하는 펩티드와 합쳐지면, MHC 클래스 I 대립자만을 해결하는 것에 비해 더 높은 비율의 환자 모집단을 치료할 수 있다. 하나의 대립 유전자로는 대부분의 모집단에서 50% 미만의 환자를 해결할 수 있는 반면, HLA-A*24 및 HLA-A*02 에피토프를 포함하는 백신은 모든 관련된 모집단에서 60% 이상의 환자를 치료할 수 있다. 구체적으로 다양한 지역에서 이러한 대립유전자의 적어도 하나에 양성인 환자의 비율은 다음과 같다: 미국 61%, 서유럽 62%, 중국 75%, 대한민국 77%, 일본 86%(www.allele frequencies.net 으로부터 계산했음).

[0112]

[표 5]

[0113] 유럽 백인 인구에서 HLA 대립유전자의 범위(계산 출처:(Gragert et al., 2013)).

	범위(적어도 하나의 A-대립유전자)	B*07 와 조합	B*44 와 조합	B*07 및 B*44 와 조합
A*02 / A*01	70%	78%	78%	84%
A*02 / A*03	68%	76%	76%	83%
A*02 / A*24	61%	71%	71%	80%
A*01 / A*03	52%	64%	65%	75%
A*01 / A*24	44%	58%	59%	71%
A*03 / A*24	40%	55%	56%	69%
A*02 / A*01 / A*03	84%	88%	88%	91%
A*02 / A*01 / A*24	79%	84%	84%	89%
A*02 / A*03 / A*24	77%	82%	83%	88%
A*01 / A*03 / A*24	63%	72%	73%	81%
A*02 / A*01 / A*03 / A*24	90%	92%	93%	95%

[0114]

[0115] 한 바람직한 구현에서 "뉴클레오타이드 서열"이란 용어는 디옥시리보뉴클레오타이드의 이중중합체를 말한다.

[0116] 특정 펩티드, 올리고펩티드 또는 폴리펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 코딩은 자연적으로 발생하거나 합성 구축될 수도 있다. 일반적으로, 본 발명의 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질을 인코딩하는 DNA 세그먼트는 cDNA 조각들과 짧은 올리고 뉴클레오타이드 링커, 또는 올리고 뉴클레오타이드의 연속에서 미생물이나 바이러스 오페론에서 유도된 규제 요소를 가진 재조합 모사 단위에서 발현될 수 있는 합성 유전자를 제공하기 위해서 조립된다.

[0117] 여기서 사용되는 용어 "펩티드를 코딩(또는 인코딩)하는 뉴클레오타이드"는 예를 들어, 수지상 세포 또는 TCR 제조에 유용한 다른 세포계에 의해 서열이 발현되는 생물학적 체계와 호환가능한 인공(사람이 만든) 시작 및 정지 코돈을 포함하는 펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 코딩을 지칭한다.

[0118] 여기서 사용되는 핵산 서열에 대한 지칭에는 한 가닥 및 두 가닥 핵산 모두가 포함된다. 그러므로, 예를 들어 DNA의 경우 특정 서열이란 환경에서 대안적으로 나타내지 않는 한, 이러한 서열의 한 가닥 DNA, 보완이 있는 이러한 서열의 중복(두 가닥 DNA) 및 이러한 서열의 보완을 지칭한다.

[0119] 용어 "코딩 영역"은 자연적인 계놈 환경에서 유전자의 발현 생성물에 대해 자연스럽게 또는 정상적으로 코딩하는 유전자의 부분을 지칭한다(즉, 유전자 본래의 발현 생성물에 대한 생체 내 영역 코딩).

[0120] 코딩 영역은 비변이("정상")이거나 변이 또는 개조된 유전자로부터 유래할 수 있거나, 또는 심지어 DNA 서열, 또는 실험실에서 DNA 합성의 담당자에게 잘 알려진 방법을 사용해서 실험실에서 전적으로 합성된 유전자로부터 유래할 수 있다.

[0121] 용어 "발현 생성물"은 유전자의 자연 번역 제품인 폴리펩티드 또는 단백질 또는 유전적 코딩 퇴화로 인해 결과된 어떤 핵산 서열 코딩과 상응하며 그러므로 같은 아미노산을 코딩한다.

[0122] 코딩 서열을 말할 때, 용어 "단편"은 발현 제품이 완전한 코딩 영역의 발현 생성물과 같은 생물학적 기능이나 활동을 유지하는 완전한 코딩 영역보다 적은 부분의 DNA를 지칭한다.

[0123] 용어 "DNA 세그먼트"는 최소한 하나의 상당히 순수한 형태로 분리되는 DNA 에서 유도된 별도의 조각 또는 큰 DNA 구성의 구성 요소로서의 형태의 DNA 중합체를 말한다, 예를 들면, 내인성 오염이 없고 세그먼트의 식별, 조각 및 복구를 가능하게 하는 양 또는 농도이며 그 의 표준 생화학 방법에 따른 구성 요소 뉴클레오타이드 서열은, 예를 들면, 복제 벡터이다. 이러한 세그먼트는 일반적으로 진핵 생물 유전자에 존재하는 내부 비번역 서열, 또는 인트론에 의해 방해되지 않는 오픈 리딩 프레임의 형태로 제공된다. 비번역 DNA 서열은 동일 서열이 코딩 영역의 조각이나 발현을 방해하지 않는 오픈 리딩 프레임의 하단에 나타날 수 있다.

[0124] 용어 "프라이머"는 하나의 표준 DNA와 짝을 이룰 수 있는 짧은 핵산 서열을 의미하며 DNA 폴리머라아제가 디옥

시리보 뉴클레오티드 사슬 합성을 시작하는 유리 3'-OH 말단을 제공한다.

- [0125] 용어 "프로모터"는 전사를 시작하기 위한 RNA 폴리머라아제의 결합에 관여하는 DNA 영역을 뜻한다.
- [0126] 용어 "분리"는 물질이 원래의 환경(예: 자연적으로 발생하는 경우에는 자연 환경)에서 제거되는 것을 뜻한다. 예를 들면, 자연 발생하는 살아 있는 동물에 존재하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 분리되지 않지만, 자연계에서 공존하는 물질의 부분 또는 전체에서 분리되는 같은 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 제거된다. 그런 폴리뉴클레오티드는 벡터의 부분이며 또는 그런 뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 구성의 한 부분일 수 있으며, 그런 벡터 또는 구성이 자연 환경의 한 부분이 아닐 때 여전히 격리될 수 있다.
- [0127] 본 발명에서 밝혀지는 폴리뉴클레오티드 및 재조합 또는 면역성의 폴리펩티드는 "정화" 상태 일수도 있다. 용어 "정제"는 절대적인 순도를 필요로 하지 않는다. 오히려, 그것은 상대적인 정의를 의도하며, 관련된 당업자들이 이해하는 용어으로써 상당히 정제된 제조 또는 부분적으로 정제된 제조를 포함할 수 있다. 예를 들면, cDNA 라이브리에서 분리된 각각의 클론은 전기 영동 동일성으로 통상적으로 정제된다. 시작 물질 또는 자연 물질의 최소한 하나 이상의 순서, 바람직하게는 2~3개 순서 및 더 바람직하게는 4~5개 순서의 크기로 정제가 명시적으로 심사숙고된다. 또한 바람직하게는 중량으로 99.999%, 또는 최소한 99.99% 또는 99.9%; 및 심지어는 바람직하게는 99%보다 큰 순도를 가진 특허청구범위에 기재된 폴리펩티드는 명시적으로 심사숙고된다.
- [0128] 본 발명에서 밝혀진 핵산과 폴리펩티드 발현 생성물은, 그런 핵산 및/또는 그런 폴리펩티드를 가진 발현 벡터뿐만 아니라, "강화된 형태"일 수 있다. 여기에서 사용되는 것처럼, 용어 "강화"는 물질의 농도가 최소한 그것의 자연적 농도(예를 들면)의 최소한 2, 5, 10, 100, 또는 1000배 정도이고, 유리하게는 0.01 중량%, 바람직하게는 최소한 약 0.1 중량% 정도임을 의미한다. 중량으로 약 0.5%, 1%, 5%, 10% 및 20% 강화된 제조 또한 계획한다. 서열, 구성, 벡터, 클론 및 본 발명의 다른 물질들은 유리하게 강화된 또는 격리된 형태가 될 수 있다. 용어 "활성 단편"은 예를 들면 토끼 또는 쥐 및 인간을 포함한 포유류 같은 동물에게 따로 또는 선택적으로 적당한 보조제와 함께 또는 매개체로서 투여했을 때 면역 반응(즉, 면역성 활동이 있는)을 생성하고 인간과 같은 받는 동물 내에서 T세포 반응을 자극하는 형태로 면역 반응을 나타내는 펩티드, 폴리펩티드 또는 핵산 서열의 단편을 의미한다. 그렇지 않으면, "활성 단편"은 또한 시험관 내 T세포 반응을 유도하기 위해서 사용될 수도 있다.
- [0129] 여기에서 사용되는, "부분", "분절" 및 "단편" 이라는 용어는, 폴리펩티드와 관련하여 사용될 때, 서열이 더 큰 서열의 하위 집합을 형성하는 경우 아미노산 잔기와 같은 잔기의 지속적인 서열을 언급한다. 예를 들면, 만약에 폴리펩티드가 트립신이나 키모트립신 같은 일반적인 엔도펩티다아제 치료를 받는다면, 그런 치료로 인해 생기는 올리고펩티드는 폴리펩티드의 시작 부분, 분절 또는 단편을 나타낼 것이다. 폴리뉴클레오티드와 관련하여 사용될 때, 이러한 용어들은 일반적인 엔도뉴클레아제 중 어떤 것과 함께 상기 폴리뉴클레오티드의 치료에 의해 생성된 생성물을 지칭한다.
- [0130] 본 발명에 따라, 서열을 말할 때 용어 "백분율 동일성" 또는 "백분율 동등한"은 설명되거나 명시된 서열("기준 서열")에 비교될 서열의 정렬 후("비교 서열") 서열이 명시된 또는 설명된 서열에 비교되는 것을 말한다. 백분율 동일성은 하기 공식에 따라서 결정된다:
- [0131] 백분율 동일성 = $100 [1 - (C/R)]$
- [0132] 여기서 C는 기준 서열과 비교 서열의 정렬의 길이에 비해 기준 서열과 비교 서열의 차이의 개수이다. 또한,
- [0133] (i) 비교 서열에서 상응하는 정렬된 염기 또는 아미노산이 없는 기준 서열에 각 염기 또는 아미노산 및
- [0134] (ii) 기준 서열의 각 차이 및
- [0135] (iii) 비교 서열의 정렬된 기초 또는 아미노산과 다른 기준 서열에서 각 정렬된 염기 또는 아미노산은 차이를 구성하며,
- [0136] (iiii) 정렬은 정렬된 서열의 위치 1에서 시작해야 한다;
- [0137] 그리고 R은 비교 서열과의 정렬의 길이에 대한 기준 서열 염기 또는 아미노산의 수이고 기준 서열에 생긴 공백도 염기 또는 아미노산 개수로 계산된다.
- [0138] 만약에 위에서와 같이 계산된 비교 서열과 기준 서열 사이의 백분율 동일성이 특정 최소 백분율과 같거나 더 크면 위에서 계산된 백분율 동일성이 특정 백분율 동일성보다 작은 경우에 정렬이 있더라도 비교 서열은 기준 서열에 대해 특정한 최소 백분율 동일성이 있다.

- [0139] 위에서 언급된 바와 같이, 본 발명은 이와 같이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 대해 88% 상동성인 그 변이체 또는 상기 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하는 그 변이체를 제공한다. 본 설명의 펩티드는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I의 분자에 결합하는 능력 또는 연장된 버전의 상기 펩티드가 클래스 II에 결합하는 능력을 갖는다.
- [0140] 본 발명에서, "상동"이라는 용어는 두 개의 아미노산 서열, 즉, 펩티드 또는 폴리펩티드 서열 사이의 일치 정도를 일컫는다. 전술한 "상동"은 비교될 두 개의 서열을 최적 상태에서 나란히 정렬하여 비교하여 결정된다. 이러한 서열 상동 관계는 예를 들면 ClustalW 알고리즘을 이용하여 정렬을 만들어 계산할 수 있다. 일반적으로 사용이 가능한 서열 분석 소프트웨어, 더 구체적으로 벡터 NTI, GENETYX 또는 다른 도구들은 공용 데이터베이스에서 제공된다.
- [0141] 이 분야의 당업자는 특정 펩티드의 변이체에 의해서 유도된 T세포가 그 펩티드 자체와 교차 반응할 수 있을지를 평가할 수 있을 것이다(Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997).
- [0142] 주어진 아미노산 서열의 "변이체"란 발명자들이 예를 들면, 하나 또는 두 개의 아미노산 잔기의 측사슬이 변경되어(예를 들면 자연적으로 발생하는 다른 아미노산 잔기의 측사슬 또는 다른 측사슬로 교체) 그 펩티드가 여전히 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 아미노산 서열로 구성된 펩티드와 실질적으로 같은 방법으로 HLA 분자와 결합할 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 펩티드는 HLA-A*02 또는 -DR과 같은 적절한 MHC 분자의 결합 홈(binding groove)에 상호작용결합하는 능력을 개선하지 않더라도 적어도 유지시키도록 변형될 수 있다.
- [0143] 이 T세포들은 그 결과로 본 발명의 한 양태에서 정의가 된 바 있는 같은 혈족의 펩티드의 자연 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 발현하는 세포와 상호 반응을 하고 그 세포들을 죽인다. 과학 문헌 및 데이터 베이스(Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997)에서 얻을 수 있듯이, HLA 결합 펩티드의 특정 위치는 전형적으로 HLA 수용체의 결합 모티프에 맞는 핵심 서열을 형성하는 고정 잔기이며 이는 결합 홈을 이루고 있는 폴리펩티드 사슬의 극성, 전기물리성, 소수성 및 공간적 특성에 의해 정의된다. 이에 따라 당업자는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 명시된 아미노산 서열을, 알려진 앵커 잔기를 유지함으로써 변형시킬 수 있을 것이며 또한 그러한 변이체가 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합하는 능력의 유지 여부를 결정할 수 있을 것이다. 이 본 발명의 변이체는 활성화된 T세포의 TCR과 결합할 수 있는 능력을 유지하고, 이는 그 결과로 본 발명의 양태에서 같은 혈족의 펩티드라고 정의가 된 자연 아미노산 서열을 포함하고 있는 폴리펩티드를 발현하는 세포와 상호 반응을 하고 이들을 죽인다.
- [0144] 여기에서 밝혀진 본래 (변형되지 않은) 펩티드는 달리 언급되지 않는 이상 다른, 아마도 선택적인, 펩티드 사슬의 사이트의 하나 이상의 잔기의 치환에 의해 변형될 수 있다. 바람직하게 이러한 치환은 아미노산 사슬의 끝에 위치한다. 그런 치환은, 예를 들면, 소수성의 아미노산이 다른 소수성의 아미노산으로 치환되는 것처럼, 한 아미노산이 구조 및 특성이 유사한 아미노산에 의해 치환됨으로써 그 성격이 보존적일 수 있다. 심지어 더 보수적인 것은 류신이 이소류신으로 치환되는 것 같이, 같거나 비슷한 크기와 화학적 특성을 가진 아미노산으로 치환되는 것이다. 자연적으로 발생하는 동종 단백질의 종속에서의 서열 변화의 연구에서, 특정 아미노산의 치환은 다른 것들보다 더 자주 용납되고 있으며, 이들은 본래의 아미노산과 치환 사이에서 크기, 전하, 극성 및 소수성이 비슷한 상관관계를 보이며, 이것은 "보수적 치환"을 정의하는데 기본이 된다.
- [0145] 여기서 보수적 치환은 아래의 다섯 개 그룹 중 하나의 교환으로 정의된다: 그룹 1- 작은 지방족, 비극성 또는 약간 극성의 잔기(Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); 그룹 2- 극성, 음전하를 가진 잔기와 그 아미드(Asp, Asn, Glu, Gln); 그룹 3- 극성, 양전하를 가진 잔기(His, Arg, Lys); 그룹 4- 큰, 지방족, 비극성 잔기(Met, Leu, Ile, Val, Cys); 및 그룹 5- 큰, 방향족 잔기(Phe, Tyr, Trp).
- [0146] 한 양태에서, 보수적 치환은 그 전체 내용이 참조문헌으로 포함되는 "The Atlas of Protein Sequence and Structure. Vol. 5", *Natl. Biomedical Research*에서 Dayhoff가 기술하는 치환들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 한 양태에서, 다음 군의 하나에 속하는 아미노산들은 서로 교환될 수 있으므로 보수적 교환이 된다: 1군: 알라닌(A), 프롤린(P), 글리신(G), 아스파라긴(N), 세린(S), 트레오닌(T); 2군: 시스테인(C), 세린(S), 티로신(Y), 트레오닌(T); 3군: 발린(V), 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 알라닌(A), 페닐알라닌(F); 4군: 리신(K), 아르기닌(R), 히스티딘(H); 5군: 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W), 히스티딘(H) 및 6군: 아스파르트산(D), 글루탐산(E). 한 양태에서, 보수적 아미노산 치환은 다음으로부터 선택될 수 있다: T→A, G→A, A→I,

T→V, A→M, T→I, A→V, T→G 및/또는 T→S.

[0147] 한 양태에서, 보수적 아미노산 치환은 한 이미노산의 동급의 다른 아미노산에 의한 치환을 포함할 수 있으며, 예를 들어 다음과 같다: (1) 비극성:Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp; (2) 비전하 극성: Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln; (3) 산성: Asp, Glu; 및 (4) 염기성: Lys, Arg, His. 기타 보수적 아미노산 치환은 다음과 같이 이루어질 수 있다: (1) 방향성: Phe, Tyr, His; (2) 양성자 주개: Asn, Gln, Lys, Arg, His, Trp; 및 (3) 양성자 받개: Glu, Asp, Thr, Ser, Tyr, Asn, Gln (예를 들어 미국특허번호 10,106,805를 참고하며, 그 전문이 참조문헌으로 여기에 포함된다).

[0148] 다른 양태에서, 보수적 치환은 표 A에 따라 이루어질 수 있다. 단백질 변형에 대한 내성의 예측 방법은 예를 들어, Guo et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 101(25):9205-9210 (2004)에서 찾을 수 있으며, 그 전문이 참조문헌으로 여기에 포함된다.

[0149] [표 A]

보존적 아미노산 치환	
아미노산	치환(다른 치환은 당업계에 알려져 있음)
Ala	Ser, Gly, Cys
Arg	Lys, Gln, His
Asn	Gln, His, Glu, Asp
Asp	Glu, Asn, Gln
Cys	Ser, Met, Thr
Gln	Asn, Lys, Glu, Asp, Arg
Glu	Asp, Asn, Gln
Gly	Pro, Ala, Ser
His	Asn, Gln, Lys
Ile	Leu, Val, Met, Ala
Leu	Ile, Val, Met, Ala
Lys	Arg, Gln, His
Met	Leu, Ile, Val, Ala, Phe
Phe	Met, Leu, Tyr, Trp, His
Ser	Thr, Cys, Ala
Thr	Ser, Val, Ala
Trp	Tyr, Phe
Tyr	Trp, Phe, His
Val	Ile, Leu, Met, Ala, Thr

[0150]

[0151] 다른 양태에서, 보수적 치환은 표 B에서 "보수적 치환"이란 제목 하에 있는 것들을 포함할 수 있다. 그러한 치환이 생물학적 활성도의 변형을 초래하는 경우, 표 B에서 "예시적 치환"으로 분류된 보다 실질적인 변형이 개입될 수 있으며 필요에 따라 그 생성물이 선별될 수 있다.

[0152] [표 B]

아미노산 치환		
원래 잔기(자연발생적 아미노산)	보수적 치환	예시적 치환
Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu	Glu; Asn
Cys (C)	Ser	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
Glu (E)	Asp	Asp; Gln
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucine
Leu (L)	Ile	Norleucine; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucine

[0153]

[0154] 덜 보존적 치환은 알라닌을 이소류신 잔기로 치환하는 것처럼, 비슷한 성질이지만 크기가 어느 정도 다른 아미노산으로 치환하는 것을 포함한다. 아주 비보수적인 치환은 산성 아미노산을 극성, 또는 심지어 염기성 아미노산으로 치환하는 것을 포함할 수도 있다. 그러나 이러한 "급진적" 치환은 화학적 작용이 완전히 예측 불가능하고 급진적 치환은 단순한 화학 원리에서 예측 가능하지 않은 뜻밖의 발생이 있을 수 있기 때문에 효과가 없다고 기각할 수는 없다.

[0155] 물론, 이런 치환은 일반적인 L-아미노산 외 다른 구조를 포함할 수 있다. 그러므로, D-아미노산이 본 발명의 항원 펩티드에서 흔히 발견되지만 여기에서 아직 공개가 되어야하는 L-아미노산을 치환할 수 있다. 또한, 비표준 아미노산(즉, 흔히 자연적으로 발생하는 단백질성 아미노산이 아닌) 역시 본 발명에 따라 면역원과 면역원성 폴리펩티드를 생산하기 위해서 치환 목적으로 사용될 수 있다.

[0156] 아래에서 정의된 것과 상당히 동일하거나 더 큰 항원 활성이 있는 펩티드의 하나 이상의 위치에서 치환이 발견되면, 이러한 치환의 조합은 조합된 치환이 펩티드의 항원성에 추가적 효과 또는 시너지 효과의 결과를 내는지 결정하기 위해 테스트된다. 최대한으로, 펩티드의 4개가 넘는 위치에서 동시에 치환될 수 없을 것이다.

[0157] 여기서 명시한 바와 같이 아미노산 서열로 실질적으로 구성된 펩티드는, 인간 주조직 적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 클래스 II의 분자에 결합하는 능력이 비변형 펩티드에 비하여 상당히 변경되거나 또는 부정적으로 영향 받지 않고, 하나 또는 두 개의 비앵커 아미노산(앵커 모티프에 대해서는 아래 참조)이 교환될 수 있다. 또 다른 구현에서, 여기서 명시한 바와 같이 아미노산 서열로 실질적으로 구성되는 펩티드에 있어서, 비변형 펩티드에 비해 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스-I 또는 클래스 II의 분자에 결합하는 능력이 상당히 변경되거나 부정적으로 영향을 받지 않고, 하나 또는 두 개의 아미노산이 해당되는 보수적 교환 파트너들(아래 참조)과 교환될 수 있다.

[0158] T세포 수용체와의 상호작용에 상당히 기여를 하지 않는 아미노산 잔기들은, 이와 결합됨으로써 T세포의 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 그 한 부분 또는 주어진 변이체를 포함하는(발명자들이 올리고펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다고 일컫는) 어떠한 펩티드가 될 수도 있다.

[0159] [표 6]

[0160] 서열 식별 번호5, 40, 52 및 101에 따른 펩티드의 변이체 및 모티프

위치	1	2	3	4	5	6	7	8			
서열 식별 번호 5	V	E	F	L	L	L	K	Y			
변이체								F			
								W			
								L			
		D						F			
		D						W			
		D									
		D						L			
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
서열 식별 번호 40	R	E	V	D	P	D	D	S	Y	V	F
변이체											W
											Y
											L
		D									
		D									W
		D									Y
		D									L
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
서열 식별 번호 52	E	D	N	P	S	G	H	T	Y		
변이체		E							F		
		E							W		
		E									
		E							L		
									F		
									W		
									L		
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
서열 식별 번호 101	S	E	E	N	T	G	K	T	Y		
변이체									F		
									W		
									L		
		D							F		
		D							W		
		D									
		D							L		

[0161] 

[0162] 더 긴(연장된) 펩티드도 적합할 수 있다. 또한 대개 길이가 8-11개의 아미노산이지만, MHC 클래스 I 에피톱이 더 긴 펩티드로부터 처리되는 펩티드 또는 실제 에피톱을 포함하는 단백질에 의해 생성될 가능성도 있다. 실제 에피톱이 양측에 있는 장기는 처리 동안 실제 에피톱을 노출하는데 필요한 단백질 분해에 의한 분할에 상당한 영향을 주지 못하는 잔기이다.

[0163] 본 발명의 펩티드는 4개까지의 아미노산만큼 연장할 수 있는데 즉, 1, 2, 3 및 4개의 아미노산이 4:0과 0:4 사이에서 일체의 조합으로 양쪽 어디로든 추가될 수 있다. 본 발명에 따른 연장의 조합은 표 7에서 찾아볼 수 있다:

[0164] [표 7]

[0165] 본 발명의 펩티드 연장의 조합

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

[0166]

[0167] 연장/확장을 위한 아미노산은 해당 단백질의 원래 서열의 펩티드나 기타 모든 아미노산일 수 있다. 연장은 펩티드의 안정성이나 용해성 강화를 위해 사용될 수 있다.

[0168] 따라서, 본 발명의 에피토프는 자연적으로 발생하는 종양 관련 또는 종양 특정 에피토프와 동일하거나 또는 실질상 동등한 항원적 활성력을 가지고 있는 한, 참조 펩티드와 비교 시 4개 이하의 다른 잔기를 가지고 있는 에피토프를 포함한다.

[0169] 다른 구현에 있어서 펩티드는 한쪽 혹은 양쪽에서 4개가 넘는 아미노산으로 연장되며, 바람직하게는 최대 30개의 아미노산 길이로 연장된다. 이는 MHC 클래스 II 결합 펩티드로 이어질 수 있다. MHC 클래스 II에 대한 결합은 당업계에서 알려진 방법으로 시험할 수 있다.

[0170] 따라서, 본 발명은 MHC 클래스 I 에피토프의 펩티드와 변이체를 제공하며 여기서 펩티드 또는 변이체는 전체 길이가 8 ~ 100 사이이며, 바람직하게는 8 ~ 30 사이이며, 가장 바람직하게는 8 ~ 14 사이이며, 이는 즉 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14개의 아미노산이다. 연장된 클래스 II 결합 펩티드의 경우 그 길이는 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 아미노산일 수도 있다.

[0171] 물론, 본 발명에 따른 펩티드 또는 변이체는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력을 갖게 된다. 펩티드 또는 변이체의 MHC 복합체에 대한 결합은 당업계의 방법에 의해 시험할 수 있다.

[0172] 바람직하게는, 본 발명에 따른 펩티드 특정 T세포가 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 및 가장 바람직하게는 약 10 pM 이하이다. 치환 펩티드가 1명 이상, 최소 2명 및 더 바람직하게는 3명의 개인으로부터의 T세포에 의해 인식되는 것 또한 바람직하다.

[0173] 본 발명의 특히 바람직한 구현에서 그 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성된다.

[0174] "본질적으로 구성됨"은 본 발명에 따른 펩티드가, 일체의 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 따른 서열 또는 그 변이체 외에도 MHC 분자 에피토프를 위한 에피토프로서 기능하는 펩티드의 일부를 반드시 형성할 필요가 없는 추가의 아미노산의 N- 및/또는 C-말단에 위치하는 스트레치를 포함하는 것을 의미해야 한다.

[0175] 그럼에도 불구하고, 이 길이의 아미노산은 본 발명에 따르면 세포 안으로의 효율적인 펩티드의 도입에 중요한 역할을 할 수 있다. 본 발명의 하나의 구현에서는, 펩티드는 예를 들면 NCBI, GenBank Accession-number X00497에서 유도된 것처럼 HLA-DR 항원-결합 불변 사슬(p33, 다음의 "Ii")의 80개 N-말단 아미노산을 포함하고 있는 융합 단백질의 일부이다. 다른 융합에서는, 본 발명의 펩티드는 항체에 의해 특이적으로 표적이 될 수 있도록 여기서 설명된 상기 항체나 그 기능적 일부 특히 항체의 서열에 대해 또는 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체에 대해 혹은 그 안으로 융합될 수 있다.

[0176] 추가적으로, 펩티드 또는 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 들면 반대 펩티드 결합 또는 비-펩티드 결합을 도입하는 것이 있다.

- [0177] 반대 펩티드 결합에서는 아미노산 잔기가 펩티드($-\text{CO}-\text{NH}-$) 연결로 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 Meziere 등(1997)(Meziere et al., 1997)이다. 이 방법은 백본의 변경을 포함하지만, 측사슬의 방향을 바꾸지 않는 유사펩티드를 만드는 것을 포함한다. Meziere 등(Meziere et al., 1997)은 MHC 결합과 T 조력 세포 반응에서 이 유사 펩티드가 유용하다는 것을 보여준다. $\text{CO}-\text{NH}$ 대신에 $\text{NH}-\text{CO}$ 결합을 포함하고 있는 역-인버스 펩티드는 단백질 가수 분해에 대한 저항력이 훨씬 높다.
- [0178] 비-펩티드 결합의 예는 $-\text{CH}_2-\text{NH}$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 이다. 미국 특허 번호 4,897,445는 기본 과정을 거쳐 합성된 폴리펩티드와 아미노 알데히드와 아미노산을 NaCNBH_3 존재 하에 반응시켜 생성된 비-펩티드 결합을 포함한 폴리펩티드 사슬의 비-펩티드 결합($-\text{CH}_2-\text{NH}$) 고체상 합성의 방법을 제공한다.
- [0179] 위에서 기술된 서열을 가지고 있는 펩티드는 안정성, 생물용해성 및/또는 펩티드의 결합을 증가 시키기 위해 추가적인 화학 그룹을 아미노 및 또는 카복시 말단에 결합할 수도 있다. 예를 들면, 카보벤족실, 단실, 또는 t-부틸옥시카보닐 그룹 등의 수소성 그룹이 펩티드의 아미노 말단에 추가될 수 있다. 비슷하게, 아세틸 그룹 또는 9-플루오레닐메톡시-카보닐-그룹이 펩티드의 아미노 말단에 위치할 수도 있다. 또한, 수소성 그룹, t-부틸옥시카보닐, 또는 아미도 그룹 또한 펩티드의 카복시 말단에 추가될 수 있다.
- [0180] 또한, 이 발명의 펩티드는 그들의 입체 배치를 변화시키기 위해 생성될 수도 있다. 예를 들면, 펩티드의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기의 D-이성질체가 보통의 L-이성질체 대신에 사용될 수도 있다. 또한, 발명의 펩티드의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 자연적으로 발생하지 않는 아미노산 잔기와 치환될 수도 있다. 이와 같은 변화는 안정성, 생물용해성 및/또는 본 발명의 펩티드의 결합을 증가시킬 수 있다.
- [0181] 유사하게, 이 발명의 펩티드 또는 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 포함되어 있는 R. Lundblad, Chemical Reagents for Protein Modification, 3rd ed. CRC Press, 2004(Lundblad, 2004)에 잘 묘사되어 있다. 아미노산의 화학 변형은 아실화, 아미딘화, 리신의 피리독실화, 환원성 알킬화 반응, 아미노산의 2,4,6-트리니트로벤젠 설포화(TNBS)에 의한 트라이 니트로 벤질화, 카복실 그룹의 아미드 변형 및 퍼포민산에 의한 설피드릴 변형, 시스틴의 시스테릭산으로의 산화, 머큐리얼 유도체 생성, 다른 티올 합성의 다이설피드 생성, 말레이미드와의 반응, 요오드화 아세트산 또는 요오드 아세트 아미드에 의한 카복시메틸레이션 및 사이안산 염에 알칼리성 산도에서의 의한 카바밀화를 포함하지만 이에 국한 되지 않은 변형을 말한다. 이에 관해서, 당업자는 더 광대한 단백질의 화학 변형에 대한 방법론에 대해서는 Current Protocols In Protein Science, Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000)(Coligan et al., 1995)의 15장을 참조하길 바란다.
- [0182] 간단히 말하면, 예를 들어 단백질의 아르기닌 잔기는 흔히 페닐글리옥산, 2,3-부탄디온 및 1,2-사이클로헥산디온과 같은 조처의 디카르보닐 화합물과의 반응에 근거하여 부가물을 형성한다. 다른 예는 메틸글로옥살과 아르기닌 잔기와의 반응이다. 시스테인은 리신과 히스티딘과 같은 다른 친핵성 좌의 동시 변형 없이 변형시킬 수 있다. 그 결과 다수의 시약들이 시스테인 변형에 사용 가능하다. Sigma-Aldrich(<http://www.sigma-aldrich.com>)와 같은 회사들의 웹사이트에서는 특정한 시약에 관한 정보를 제공하고 있다.
- [0183] 단백질에서 이황화 결합의 선택적 환원 또한 흔하다. 단백질에서 이황화 결합은 생물약제의 열 처리 동안 형성되어 산화될 수 있다. 우드워드와 시약 K는 특정 글루탐산 잔기의 변형에 사용될 수 있다. N-(3디메틸아미노)프로필-1-N'-에틸카르보디이미드를 사용하여 리신 잔기와 글루탐산 잔기 사이의 분자 내 가교를 형성할 수 있다. 예를 들어 디메틸카보네이트는 단백질에서 히스티딘 잔기의 변형을 위한 시약이다. 히스티딘은 4-히드록시-2-노네날을 사용하여 변형시킬 수 있다. 리신 잔기와 다른 α -아미노기의 작용은, 예를 들어, 펩티드의 표현 결합 또는 단백질/펩티드들의 가교에 유용하다. 리신은 폴리(에틸렌)글리콜의 부착의 부위이며 단백질의 당화에서 중요 변형 부위이다. 단백질에서 메티오닌 잔기는 예를 들어 이오도아세트아미드, 브로모에틸아민 및 클로르아민 T를 사용하여 변형시킬 수 있다.
- [0184] 테트라니트로메탄 및 N-아세틸이미다졸은 티로신 잔기의 변형에 사용할 수 있다. 디티로신의 형성을 통한 가교형성은 과산화 수소/구리 이온으로써 성취할 수 있다.
- [0185] 트립토판의 변형에 대한 최근의 연구에서는 N-브로모숙신이미드, 브롬화 2-키드록시-5-니트로벤질 또는 3-브로

모-3-메틸-2-(2-니트로페닐메르 캡토)-3H-인돌(BPNS-스카톨)이 사용된 바 있다.

[0186] PEG를 이용한 치료용 단백질과 펩티드의 성공적인 변형은 흔히 동시 순환 반감기의 증가를 시키는 것과 연관되어 있는 반면, 단백질과 글루타르알데히드, 폴리에틸렌글리콜 디아크릴레이트 및 포르말데히드와 교차 결합이 히드로겔의 준비에 사용된다. 면역 치료를 위한 알레르겐의 화학적 변형은 종종 칼륨 시안산염의 카바밀화와 관련이 있다.

[0187] 펩티드 또는 변이체, 여기에서 펩티드는 변환되었거나 또는 비-펩티드 결합을 포함하는 것이 본 발명 구현에서 바람직하다.

[0188] 본 발명의 또 다른 구현은 비자연적으로 발생하는 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성되며 약학적으로 허용 가능한 염으로 합성적으로 생산되었다(예: 합성되었다). 펩티드를 합성적으로 생성하는 방법들은 당업계에서 잘 알려져 있다. 본 발명에 따른 펩티드의 염은 생체 내 상태(들)에서의 펩티드와 실질적으로 다르며, 이는 생체 내에서 생성된 펩티드는 염이 아니기 때문이다. 펩티드의 비자연적 염 형태는 특히 예를 들어 여기서 공개된 펩티드 백신과 같이 펩티드를 포함하는 약학적 조성물의 맥락에서 상기 펩티드의 용해도를 매개한다. 치료할 시험대상자에게 펩티드를 효율적으로 제공하기 위해서는 충분하며 적어도 실질적인 펩티드(들)의 용해도가 요구된다. 바람직하게, 상기 염은 펩티드의 약학적으로 허용가능한 염이다. 본 발명에 따른 이러한 염에는 음이온으로 PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_4^- , I^- , SCN^- , 그리고 양이온으로 NH_4^+ , Rb^+ , K^+ , Na^+ , Cs^+ , Li^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} 및 Ba^{2+} 를 포함하는 호프마이스터 계열의 염과 같은 알칼리 금속 및 알칼리 토금속 염이 포함된다. 특히 염은 $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, NH_4Cl , NH_4Br , NH_4NO_3 , NH_4ClO_4 , NH_4I , NH_4SCN , Rb_3PO_4 , Rb_2HPO_4 , RbH_2PO_4 , Rb_2SO_4 , $\text{Rb}_4\text{CH}_3\text{COO}$, Rb_4Cl , Rb_4Br , Rb_4NO_3 , Rb_4ClO_4 , Rb_4I , Rb_4SCN , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 , KCH_3COO , KCl , KBr , KNO_3 , KClO_4 , KI , KSCN , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , Na_2SO_4 , NaCH_3COO , NaCl , NaBr , NaNO_3 , NaClO_4 , NaI , NaSCN , ZnCl_2 , Cs_3PO_4 , Cs_2HPO_4 , CsH_2PO_4 , Cs_2SO_4 , CsCH_3COO , CsCl , CsBr , CsNO_3 , CsClO_4 , CsI , CsSCN , Li_3PO_4 , Li_2HPO_4 , LiH_2PO_4 , Li_2SO_4 , LiCH_3COO , LiCl , LiBr , LiNO_3 , LiClO_4 , LiI , LiSCN , Cu_2SO_4 , $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, Mg_2HPO_4 , $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, Mg_2SO_4 , $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, MgCl_2 , MgBr_2 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, MgI_2 , $\text{Mg}(\text{SCN})_2$, MnCl_2 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Ca_2HPO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaSO_4 , $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CaCl_2 , CaBr_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$, CaI_2 , $\text{Ca}(\text{SCN})_2$, $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$, Ba_2HPO_4 , $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, BaSO_4 , $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, BaCl_2 , BaBr_2 , $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$, BaI_2 및 $\text{Ba}(\text{SCN})_2$ 로부터 선택된다. 특히 바람직하기로는 예를 들어 염화물 또는 아세트산(트리플루오로아세트산) 염과 같은 NH 아세테이트, MgCl_2 , KH_2PO_4 , Na_2SO_4 , KCl , NaCl 및 CaCl_2 이다.

[0189] 보통, 펩티드와 변이체(적어도 펩티드 링크를 아미노산 잔기 사이에 포함하는 것들)는 Lukas 등(Lukas et al., 1981) 및 그 문헌의 참조 자료에서 묘사된 바처럼 고체상 펩티드 생성의 Fmoc-폴리아미드 모드에서 합성될 수 있다. 일시적인 N-아미노기 보호는 9-플루오레닐메틸옥시카보닐(Fmoc)에 의해 제공된다. 이렇게 염기 불안정한 보호기의 반복적인 절단은 N, N-디메틸포르미아미드의 20% 피페리딘을 이용하여 이루어진다. 측사슬 기능은 부틸 에테르(세린, 트레오닌 및 티로신의 경우), 부틸 에스테르(글루탐산 및 아스파르트산의 경우), 부틸옥시카보닐 변이체(리신과 히스티딘의 경우), 트라이틸 변이체(아르기닌의 경우) 그리고 4-메톡시-2,3,6-트리메틸벤젠술포닐 유도체(아르기닌의 경우)로서 보호될 수 있다. 글루타민 또는 아스파라긴이 C-말단의 잔기인 경우, 4,4'-디메톡시벤조히드라이드 사용되어 측사슬 아미도 기능을 보호한다. 고체상 보호는 디메틸아크릴아미드(백본-모노머), 비스아크릴로일에틸렌 디아민(가교 결합) 및 아크릴로일사르코신 메틸 에스테르(기능 작용제)의 3개의 모노머로 만들어진 폴리디메틸-아크릴아미드 중합체에 기반을 둔다. 펩티드 대 레진 절단 가능 연결 작용제로 사용되는 것은 산-불안정 4-히드록시메틸-페녹시아세트산 유도체이다. 모든 아미노산 유도체는 역 N, N-디사이클로헥실-카보다이이미드/1-히드록시벤조트리아졸에 의한 커플링 과정에 의해 추가되는 아스파라긴과 글루타민을 제외하여 미리 생성된 대칭의 무수물 유도체로서 추가된다. 모든 커플링과 탈보호 반응은 닌히드린, 트리니트로벤젠 술폰산 또는 이소틴 실험 과정에 의해 모니터링된다. 합성 완성 시에, 펩티드는 레진 기반에서 50% 스캐빈저 믹스를 포함한 95% 트리플루오로아세트산에 의한 측사슬 보호기 제거와 동시에 절단된다. 일반적으로 사용되는 스캐빈저에는 에탄디티올, 페놀, 아니솔 및 물이 포함되며, 정확한 선택은 합성되는 펩티드를 구성하는 아미노산에 따라 달라진다. 또한 펩티드의 합성에서 고체상 및 용액상의 조합 방식도 가능하다(예를 들어, (Bruckdorfer et al., 2004) 및 여기에 인용된 참조 문헌 참고).

- [0190] 트리플루오로아세트산은 진공하 증발에 의해 제거되며 그 이후 디에틸 에테르에 의한 분사슬로 조 펩티드를 얻는다. 존재하는 일체의 스캐빈저는 수성상의 냉동건조로써 스캐빈저가 없는 조 펩티드를 생성하는 간단한 추출 과정에 의해 제거된다. 펩티드 합성 시약들은 일반적으로 예를 들어 Calbiochem-Novabiochem(Nottingham, 영국)으로부터 얻을 수 있다.
- [0191] 정제는 재결정화, 크기 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피 및 예를 들어 아세토니트릴/물 기울기 분리를 사용하는 (대개) 액상 고성능 액체 크로마토그래피와 같은 기법의 하나 또는 그 조합에 의해 수행할 수 있다.
- [0192] 펩티드의 분석은 박막 크로마토그래피, 전기 이동, 특히 모세관 전기 이동, 고체상 추출(CSPE), 역상 고성능 액체 크로마토그래피, 산 가수분해 후 아미노산 분석 및 고속 원자 폭격 질량 분광분석 및 MALDI와 ESI-QTOF 질량 분광분석 등에 의해 이루어진다.
- [0193] 과도 제시된 펩티드를 선택하기 위해, 중간값 샘플 제시는 물론 복제 변이를 보여주는 제시 프로필이 계산된다. 이 프로필은 관심 대상의 중앙 객체 샘플을 정상 조직 샘플의 기준에 병치된다. 다음은 선형 혼합 효과 모형 (Pinheiro et al., 2015)의 P값을 계산하되 위발견율(Benjamini and Hochberg, 1995)에 의해 다중 검증에 대해 조절함으로써 이러한 프로필을 하나씩 과다제시 점수로 강화시킬 수 있다(비교: 실시예 1, 제1도).
- [0194] 질량 분석에 의한 HLA 리간드의 식별 및 상대적 정량화를 위해, 충격 동결된 조직 샘플에서 얻어진 HLA를 정제화하고 HLA-연관 펩티드를 분리했다. 격리된 펩티드는 분리하여 그 서열을 온라인 나노-전기분무-이온화 (nanoESI) 액체 크로마토그래피-질량 분석(LC-MS) 실험으로 식별했다. 얻어진 펩티드 서열을 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 샘플(N = 159 샘플)로부터 기록된 자연적 중앙 관련 펩티드(TUMAP)의 단편화 패턴과 동일한 서열을 갖는 상응하는 합성 참조 펩티드의 단편화 패턴과 비교하여 확인했다. 이 펩티드들은 원발성 중앙의 HLA 분자의 리간드로 직접 식별되었으므로, 이 결과는 159명의 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 환자들로부터 얻어진 원발성 암 조직 상에서 식별된 펩티드의 자연적 처리 및 제시에 대한 직접적 증거를 제공하는 것이다.
- [0195] 발견 파이프라인 XPRESIDENT® 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 과도-제시된 펩티드 백신 후보의 식별과 선택을 허용한다. 이는 서열 식별, 스펙트럼 집락화, 전화 이온 계수화, 정제 시간 정렬, 상태 디컨볼루션 및 정상화에 필요한 알고리즘을 조합시킨 독점 데이터 분석 파이프라인에 의해 처리하여 획득한 LC-MS 데이터를 사용한 label-free 차등 정량화의 개발에 의해 성취되었다.
- [0196] 펩티드와 샘플 각각에 대한 오류 측정치 등 제시 수준이 확립되었다. 중앙 조직에 배타적으로 제시된 펩티드 그리고 중앙에서 과도-제시된 펩티드 대비 비암성 조직 및 기관이 식별된 바 있다.
- [0197] 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 조직의 샘플에서 얻은 HLA-펩티드 복합체를 정제하고 HLA 관련 펩티드를 분리한 다음 LC-MS로 분석했다(실시예 1 참조). 본 출원서에 포함된 모든 TUMAP를 이 접근방식을 이용하여 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 샘플에 대해 식별하여, 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암에 대한 제시가 확인되었다.
- [0198] 복수의 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암,

아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 그리고 정상 조직에서 식별된 TMAP를 무표지 LC-MS 데이터의 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 LS-MS 실험을 중심 경향에 근거하여 정상화하고 샘플 당 평균화하여 제시프로필이라 부르는 막대 도표에 통합시켰다. 이 제시 프로파일은 단백질 데이터베이스 검색, 스펙트럼 군락화, 충전 상태 디컨벌루션(방전) 및 시간 성격 및 정체 정상화와 같은 다른 분석 방법들을 통합시킨다.

[0199] 펩티드의 과다제시 외에도, 기저 유전자의 mRNA 발현을 시험했다. 정상 조직 및 암 조직의 RNASeq 분석을 통해 mRNA 데이터를 획득했다(비교: 실시예 2, 제2도). 코딩 mRNA가 암 조직에서 고도로 발현되지만 필수 정상 조직에서는 매우 낮거나 부재하는 단백질들로부터 유래된 펩티드는 본 발명에 바람직하게 포함되었다.

[0200] 본 발명은 본 발명의 펩티드를 과다 또는 배타적으로 제시하는 암/종양, 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에 유용한 펩티드를 제공한다. 이 펩티드들은 질량분석법에서 원발성 인간 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 샘플에서 HLA 분자에 의해 자연적으로 제시되는 것으로 나타났다.

[0201] 펩티드가 유래한 근원 유전자/단백질("전장 단백질"이나 "기저 단백질"로도 지정됨)의 다수는 정상 조직에 비해 암에서 고도로 과발현되는 것으로 나타났다 - 본 발명과 관련하여 "정상 조직"이란 건강한 혈액 세포, 혈관, 뇌, 심장, 간, 폐, 지방 조직, 부신, 담관, 방광, 골수, 식도, 눈, 담낭, 두경부, 대장, 소장, 신장, 림프절, 말초 신경, 췌장, 부갑상선, 복막, 뇌하수체, 흉막, 근골격, 피부, 척수, 비장, 위, 갑상선, 기관, 요관 세포 또는 기타 정상 조직 세포를 의미하며 근원 유전자와 높은 정도의 종양 연관을 보여준다(실시예 2 참조). 더욱이 이 펩티드 자체가 종양 조직에서 강력히 과다제시된다 - 본 발명과 관련하여 "종양 조직"은 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암을 앓고 있는 환자의 샘플을 의미하며, 정상 조직에서는 과다제시되지 않는다(실시예 1 참조).

[0202] HLA 결합된 펩티드는 면역계 특히 T 림프구에 의해서 인식될 수 있다. T세포는 인식된 HLA/펩티드 복합체를 제시하는 세포를 파괴할 수 있으며, 예를 들어 유래된 펩티드를 제시하는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포이다.

[0203] 본 발명의 펩티드는 T 세포 반응을 자극할 수 있으며/거나 과다제시되는 것으로 나타났으므로, 본 발명에 따른 항체 및/또는 TCR 특히 sTCR의 생산에 사용될 수 있다(실시예 3 및 제 4도 참조). 더욱이 해당되는 MHC와 복합된 펩티드는 본 발명에 따른 항체 및/또는 TCR 특히 sTCR의 생산에도 사용될 수 있다. 해당 방법들은 당업자에게 잘 알려져 있으며 해당 문헌에서도 찾을 수 있다(다음 참조). 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 적절한 전구 물질(예를 들면, 연장된 펩티드, 단백질, 또는 이러한 펩티드를 인코딩하는 핵산)을 환자에게 투여하는 것으로 유도될 수 있다. 이런 치료적 백신에서 생긴 면역 반응은 본 발명의 목적 펩티드가 비교가능한 복사수로 정상 조직에서는 나타나지 않고, 환자의 정상 세포에 대한 기피되는 자기 면역 반응의 위험을 배제하기 때문에 종양 세포에 아주 특정할 수 있다.

[0204] 본 설명은 알파 사슬 및 베타 사슬("알파/베타 TCR")을 포함하는 T세포 수용체(TCR)에 관한 것이다. 또한 MHC 분자에 의해 제시되는 경우 TCR 및 항체에 결합할 수 있는 펩티드가 제공된다.

[0205] 본 설명은 또한 HLA 분자에 의해 제시될 때 본 발명에 따른 펩티드 항원에 결합할 수 있는 본 발명에 따른 TCR의 단편들에 관한 것이다. 이 용어는 특히 예를 들어 막형단 부분 및/또는 불변 부위가 누락된 TCR과 같은 융형성 TCR 단편, 단일 사슬 TCR 및 예를 들어 Ig와 같은 이에 대한 융합에 관한 것이다.

- [0206] 본 설명은 또한 본 설명의 TCR 및 펩티드를 발현하는 핵산, 벡터 및 숙주 세포; 그리고 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.
- [0207] 용어 "T세포 수용체"(약자로 TCR)는 알파 폴리펩티드 사슬(알파 사슬) 및 베타 폴리펩티드 사슬(베타 사슬)을 포함하는 이질이합체 분자를 지칭하며, 여기서 이질이합체 수용체는 HLA 분자에 의해 제시된 펩티드 항원에 결합하는 능력이 있다. 이 용어는 소위 감마/델타 TCR 또한 포함한다.
- [0208] 한 구현에서, 본 설명은 여기서 기술된 대로 TCR의 생산 방법을 제공하며, 이 방법은 TCR의 발현 촉진에 적합한 조건 하에서 TCR을 발현시킬 수 있는 숙주 세포의 배양을 포함한다.
- [0209] 본 설명은 다른 양태에서 본 설명에 따른 방법에 관한 것으로, 충분한 수량의 항원을 항원 제시 세포와 접촉시킴으로써 그 항원이 적합한 항원 제시 세포 혹은 인공 항원 제시 세포의 표면에 발현된 클래스 I 또는 II MHC 분자 위에 로딩되거나 항원/클래스 I 또는 II MHC 복합체 단량체의 사량체화에 의해 그 항원이 클래스 I 또는 II MHC 사합체 위에 로딩된다.
- [0210] 알파/베타 TCR의 알파 및 베타 사슬 그리고 감마/델타 TCR의 감마 및 델타 사슬은 일반적으로 각각 2개의 "도메인" 즉, 가변 및 불변 도메인을 갖는 것으로 간주된다. 가변 도메인은 가변 영역(V) 및 결합 영역(J)의 연사슬로 구성된다. 가변 도메인은 리더 영역(L) 또한 포함할 수 있다. 베타 및 델타 사슬 또한 다양성 영역(D)을 포함할 수 있다. 알파 및 베�타 불변 도메인은 또한 알파 및 베타 사슬을 세포막에 고정시키는 C-말단 막횡단(TM) 도메인을 포함할 수 있다.
- [0211] 감마/델타 TCR에 대하여, 여기서 사용된 용어 "TCR 감마 가변 도메인"은 리더 영역(L)이 없는 TCR 감마 V(TRGV) 영역과 TCR 감마 J (TRGJ) 영역의 연계를 지칭하며, 또한 용어 TCR 감마 불변 도메인은 세포외 TRGC 영역이나 C-말단 절단된 TRGC 서열을 지칭한다. 마찬가지로 용어 "TCR 델타 가변 도메인"은 리더 영역(L)이 없는 TCR 델타 V(TRDV) 영역과 TCR 델타 D/J(TRDD/TRDJ) 영역의 연계를 지칭하며, 용어 "TCR 델타 불변 도메인"은 세포외 TRDC 영역이나 C-말단 절단된 TRDC 서열을 지칭한다.
- [0212] 본 설명의 TCR은 바람직하게는 결합 친화도(KD)가 약 100 μM 이하, 약 50 μM 이하, 약 25 μM 이하 혹은 약 10 μM 이하인 펩티드-HLA 분자 복합체에 결합한다. 더욱 바람직하게는, 결합 친화도가 약 1 μM 이하, 약 100 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 25 nM 이하를 갖는 고친화도 TCR이다. 본 발명의 TCR은 바람직한 결합 친화도 범위에 대한 제한되지 않는 예에는 약 1 nM ~ 약 10 nM, 약 10 nM ~ 약 20 nM, 약 20 nM ~ 약 30 nM, 약 30 nM ~ 약 40 nM, 약 40 nM ~ 약 50 nM, 약 50 nM ~ 약 60 nM, 약 60 nM ~ 약 70 nM, 약 70 nM ~ 약 80 nM, 약 80 nM ~ 약 90 nM 및 약 90 nM ~ 약 100 nM가 포함된다.
- [0213] 본 설명의 TCR와 관련하여 여기서 사용되는, "특이적 결합" 및 그 문법적 변형어는 100 μM 이하의 펩티드-HLA 분자 복합체에 대한 결합 친화도(KD)를 갖는 TCR을 의미하는 것으로 사용된다.
- [0214] 본 설명의 알파/베타 이질이합체 TCR은 그 불변 도메인 사이에 도입된 이황화 결합을 가질 수 있다. 이러한 유형의 바람직한 TCR에는 TRAC 불변 도메인 서열 및 TRBC1이나 TRBC2 불변 도메인 서열을 갖는 것들이 포함되는데, 단 TRAC의 Thr 48 및 TRBC1이나 TRBC2의 Ser 57이 시스테인 잔기로 교체는 경우는 예외로, 상기 시스테인은 TCR의 TRAC 불변 도메인 서열과 TRBC1이나 TRBC2 불변 도메인 사이에 이황화 결합을 형성한다.
- [0215] 위에서 언급한 도입된 사슬간 결합의 유무에 관계 없이, 본 설명의 알파/베타 이질이합체 TCR은 TRAC 불변 도메인 서열 및 TRBC1이나 TRBC2 불변 도메인 서열을 가질 수 있으며, TCR의 TRAC 불변 도메인 서열 및 TRBC1이나 TRBC2 불변 도메인 서열은 TRAC의 엑손 2의 Cys4와 TRBC1이나 TRBC2의 엑손 2의 Cys2 사이에 있는 자연 이황화 결합에 의해 연계될 수 있다.
- [0216] 본 설명의 TCR은 방사성핵종, 형광단 및 비오틴으로 구성된 군으로부터 선택된 검출가능한 라벨을 포함할 수 있다. 본 설명의 TCR은 방사성핵종, 화학요법제, 독소와 같은 활성 치료제에 접합될 수 있다.
- [0217] 한 구현에서, 알파 사슬에 적어도 1개의 돌연변이를 가지며/갖거나 베타 사슬에 적어도 1개의 돌연변이를 갖는 본 설명의 TCR은 돌연변이되지 않은 TCR에 비해 변형된 당화를 갖는다.
- [0218] 한 구현에서, TCR 알파 사슬에 적어도 1개의 돌연변이를 가지며/갖거나 TCR 베타 사슬에 적어도 1개의 돌연변이를 갖는 TCR은 펩티드-HLA 분자 복합체에 대해 결합 친화도 및/또는 결합 반감기를 가지며, 이는 비돌연변이 TCR 알파 사슬 및/또는 비돌연변이 TCR 베타 사슬을 포함하는 TCR의 그것에 대해 적어도 2배이다. 종양 특이적 TCR의 친화도 강화 및 그 이용은 최적의 TCR 친화도에 대한 범위의 존재에 의존한다. 그러한 창 존재는, HLA-B44 제한 병원체에 특이적인 TCR의 KD 값이 HLA-B44 제한 종양 관련 자가 항원에 특이적인 TCR에 대해 일반적으

로 약 10배 낮다는 관찰에 근거한다. 현재 종양은 개인 자체의 세포로부터 발생하기 때문에 종양 항원이 면역성 일 수 있음에도 불구하고, 돌연변이된 단백질이나 변형된 번역 처리를 가진 단백질만이 면역계에 의해 이물질로 보이게 된다. 상향조절되거나 과발현되는 항원(소위 자가 항원)이 반드시 종양에 대한 기능적 면역 반응을 유도 하지는 않을 것이다: 이러한 항원에 고도로 반응성인 TCR을 발현하는 T세포는 중추 관용으로 알려진 과정에서 흉선 내부로부터 음적으로 선택되었을 것이며, 자가 항원에 대해 낮은 친화도 TCR을 갖는 T세포만 남는다는 것 을 의미한다. 그러므로 본 설명의 TCR이나 변이체에 대한 친화도는 다음에 설명된 바와 같이 당업계에서 잘 알 려진 방법들로 강화되어 왔다.

[0219] 본 설명은 또한 본 설명에 따른 TCR의 식별 및 분리 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 HLA-A*44 음성의 건강한 공여자로부터의 PBMC를 A2/펩티드 단량체와 함께 배양, PBMC를 사합체-피코에리트린(PE)으로 배양 그리고 형광 활성화 세포 분류(FACS)-캘리버 분석에 의한 고결합성 T세포의 분리를 포함한다.

[0220] 본 설명은 또한 본 설명에 따른 TCR의 식별 및 분리 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 T세포가 마우스 TCR 결핍 을 보상하는 방대한 TCR 레퍼토리를 발현하는 전체 인간 TCR α 유전자 자리(1.1 및 0.7 Mb)를 이용한 유전자 이전 마우스의 획득, 펩티드에 의한 마우스의 면역접종, 유전자전이 마우스로부터 얻어진 PBMC의 사합체-피코에 리트린(PE)으로 배양, 그리고 형광 활성화 세포 분류(FACS)-캘리버 분석에 의한 고결합성 T세포의 분리를 포함 한다.

[0221] 한 양태에서, 본 설명의 TCR을 발현하는 T세포를 얻기 위해, 본 설명의 TCR-알파 및/또는 TCR-베타 사슬을 인코 딩하는 핵산을 감마 레트로바이러스 또는 렌티바이러스와 같은 발현 벡터로 클로닝한다. 재조합 바이러스를 생 성한 다음 항원 특이성 및 기능적 결합성과 같은 기능성에 대해 시험했다. 다음에는 최종 생성물의 분취물을 사 용하여 표적 T세포 모집단(일반적으로 환자 PBMC로부터 정제된)을 형질도입하며, 모집단은 환자에 주입하기 전 에 팽창시킨다.

[0222] 또 다른 양태에서, 본 설명의 TCR을 발현하는 T세포를 얻기 위해, 당업계에서 알려진 기법(예: 시험관 내 전사 시스템)으로 TCR RNA를 합성한다. 다음에는 시험관 내에서 합성된 TCR RNA를 종양 특이적 TCR-알파 및/또는 TCR-베타 사슬의 재발현을 위하여, 전기천공에 의해 건강한 공여자로부터 얻은 일차 CD8+ T세포 내로 도입시킨 다.

[0223] 이러한 발현을 증가시키려면, 본 설명의 TCR을 인코딩하는 핵산을 레트로바이러스 긴 말단 반복(LTR), 거대세포 바이러스(CMV), 쥐 줄기세포 바이러스(MSCV) U3, 포스포글리세레이트 키나제(PGK), β -액틴, 유비퀴틴 및 원송 이 바이러스 40 (SV40)/CD43 복합 촉진자, 연장 인자 (EF)-1a, 비장 포커스-형성 바이러스(SFFV) 촉진자와 같은 강력한 촉진자에 작동하도록 연계시킬 수 있다. 바람직한 한 구현에서, 이 촉진자는 발현되고 있는 핵산에 대해 이종이다.

[0224] 강력한 촉진자 외에도, 본 설명의 TCR 발현 카세트가 도입 유전자 발현을 강화시킬 수 있는 추가의 요소를 포함 할 수 있으며, 여기에는 렌티바이러스 구조체(Follenzi et al., 2000)의 핵 전위를 촉진시키는 중추 폴리퓨린 관(cPPT), 그리고 RNA 안정성의 증가로 도입 유전자 발현을 증가시키는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절요소 (wPRE) (Zufferey et al., 1999)가 포함된다.

[0225] 본 발명의 TCR의 알파 및 베타 사슬은 별개의 벡터에 위치한 핵산에 의해 인코딩될 수 있거나 동일한 벡터에 위 치한 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩될 수 있다.

[0226] 높은 수준의 TCR 표면 발현을 성취하려면 도입된 TCR의 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬이 높은 수준으로 전사되는 것이 요구된다. 이를 위해서, 본 설명의 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬을 단일 벡터에서 바이시스트로닉 (bicistronic) 구성으로 클로닝할 수 있으며, 이는 이러한 장애를 극복할 수 있는 것으로 나타났다. TCR-알파 TCR-베타 사슬 사이의 바이러스성 내재 리보솜 진입 부위(IRES)의 사용은 두 사슬의 조율된 발현을 초래하며, 이는 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬이 번역 도중 단일 전사체로부터 생성되어 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬의 동등한 물비의 생산을 보장하기 때문이다(Schmitt et al., 2009).

[0227] 본 설명의 TCR을 인코딩하는 핵산은 코돈 최적화에 의해 숙주 세균의 발현을 증가시킬 수 있다. 유전자 코드의 반복성은 하나를 초과하는 코돈에 의해 일부의 아미노산 인코딩을 허용하지만, 일부 코돈은 다른 코돈에 비해 "최적" 미만이며 이것은 일치하는 tRNA 그리고 다른 요인들의 상대적 용해성 때문이다(Gustafsson et al., 2004). 각 아미노산이 포유류 유전자 발현을 위한 최적의 코돈에 의해 인코딩되도록 TCR-알파 및 TCR-베타 유전 자 서열의 변경 그리고 mRNA 불안정성이나 잠재 스플라이스 부위의 제거는 TCR-알파 및 TCR-베타 유전자 발현을

유의하게 강화시키는 것으로 나타났다(Scholten et al., 2006).

- [0228] 더욱이, 도입된 TCR 및 내인성 TCR 사슬 사이의 틀린 짝짓기는 자가면역성에 대해 유의한 위험을 제기하는 특이성의 획득을 초래할 수 있다. 예를 들어, 혼합된 TCR 이합체의 형성은 적절하게 짝지어진 TCR 복합체의 형성에 이용할 수 있는 CD3 분자의 수를 감소시킬 수 있으므로, 도입된 TCR을 발현하는 세포의 기능적 결합성을 유의하게 감소시킬 수 있다(Kuball et al., 2007).
- [0229] 틀린 짝짓기를 감소하기 위해, 도입된 사슬의 내인성 TCR과의 짝짓기 능력은 감소시키면서 사슬간 친화도를 촉진시키기 위해 본 설명의 도입된 TCR 사슬의 C-말단 도메인을 변형시킬 수 있다. 이러한 전략에는 인간 TCR-알파 및 TCR-베타 C-말단 도메인을 이의 쥐 상대물(쥐 C-말단 도메인)로 교체, 두 번째 시스틴 잔기를 도입된 TCR의 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬로 도입하여(시스틴 변형) C-말단 도메인의 두 번째 사슬간 이황화 결합의 생성, TCR-사슬 및 TCR-베타 사슬의 C-말단 도메인(' knob-in-hole(knob-in-hole)')에서 상호작용하는 잔기의 교환, 그리고 TCR-알파 및 TCR-베타 사슬의 가변 도메인을 CD3 ζ 에 직접 융합(CD3 ζ 융합) 등이 포함될 수 있다(Schmitt et al., 2009).
- [0230] 한 구현에서, 숙주 세포는 본 설명의 TCR을 발현하도록 공학제조된다. 바람직한 한 구현에서, 숙주 세포는 인간 T세포나 T세포 전구세포이다. 일부 구현에서, 이 T세포나 T세포 전구세포는 암 환자로부터 얻는다. 다른 구현에서, 이 T세포나 T세포 전구세포는 건강한 공여자로부터 얻는다. 본 설명의 숙주 세포는 치료할 환자에 대해 동종 또는 자가 세포이다. 한 구현에서, 숙주는 알파/베타 TCR을 발현하도록 형질전환된 감마/델타 T세포이다.
- [0231] "약학적 조성물"이란 의학적 환경에서 인간에서 투여하기에 적합한 조성물이다. 바람직하게, 약학적 조성물은 무균 상태이며 GMP 지침에 따라 생산된다.
- [0232] 약학 조성물은 유리 형태 또는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 된 펩티드를 포함한다(위의 내용 참조). 여기서 사용되는 것처럼, "약학적으로 허용가능한 염"은 펩티드가 산 또는 염기의 염기 염을 만들며 변형되는 공개된 펩티드의 유도체를 말한다. 예를 들면, 산 염은 적당한 산과의 반응을 가진 자유 기반(일반적으로 중성 -NH₂ 그룹이 있는 약물의 중성 형태)에서 준비된다. 산 염을 준비할 때 적당한 산은 예를 들면, 초산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 수산, 말산, 말론산, 호박산, 말레산, 푸마르산, 주석산, 구연산, 벤조산, 계피산, 멘텔릭산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 살리실산같은 유기산뿐만 아니라 염산, 브롬화 수소산, 황산, 질산 인산과 같은 같은 무기산을 포함한다. 반대로, 펩티드에서 나타날 수 있는 산성 모이어티의 염기 염의 제조는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 트리메틸아민과 같은 약학적으로 허용 가능한 염기를 사용한다.
- [0233] 특별히 바람직한 약학 조성물의 구현은 아세트산(아세트산염), 트리플루오로아세트산 또는 염산(염화물)의 염으로의 펩티드를 가진다.
- [0234] 바람직하게는, 본 발명의 약제는 백신과 같은 면역치료제이다. 이는 환자의 영향을 받은 기관에 직접적으로 투여될 수 있거나 i.d., i.m., s.c., i.p. 및 i.v.로서 전신에 투여되거나 또는 환자에게서 또는 나중에 환자에게 투여될 인간 세포주에 생체 외로 적용될 수도 있거나 또는 나중에 환자에게 다시 투여될 환자로부터 유래하는 면역 세포의 부분 집단에 시험관 내로 사용될 수도 있다. 만약 핵산이 시험관 내에서 세포에 투여 되면, 인터루킨-2와 같은 면역 유도 사이토카인과 함께 발현되도록 세포가 형질주입되는 것이 유용할 수도 있다. 펩티드는 상당히 순도가 높을 수도 있고, 또는 면역 유도 보조제(아래 참조)와 합성되어 있거나 또는 면역 유도 시토카인과 함께 합성체로 사용되거나, 또는 예를 들어 리포솜과 같은 적절한 전달 체계와 함께 투여될 수도 있다. 펩티드는 또한 keyhole limpet haemocyanin(KLH) 또는 mannan(WO 95/18145 및 (Longenecker et al., 1993)) 참조)과 같은 적절한 담체와 함께 복합될 수도 있다. 펩티드는 또한 꼬리표를 달거나, 융합 단백질이거나 혼성 분자일 수도 있다. 본 발명에 서열이 주어진 이 펩티드들은 CD4 또는 CD8 T세포를 자극할 것으로 기대한다. 하지만 CD8 T세포의 자극은 CD4 T 조력 세포에 의해 제공되는 조력의 존재에 더 효율적이다. 그러므로 CD8 CTL을 자극하는 MHC 클래스 I 에피토프의 경우, 융합 펩 또는 하이브리드 분자의 섹션은 CD4-양성 T세포를 자극한다. CD4-와 CD8-자극유도 에피토프는 이 분야에서 잘 알려졌고 본 발명에서 식별된 것들을 포함한다.
- [0235] 한 양태에서, 이 백신은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518을 명시하는 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나의 펩티드 그리고 적어도 하나의 추가적인 펩티드 바람직하게는 2개 ~ 50개이고, 더 바람직하게는 2개 ~ 25개이며, 보다 더 바람직하게는 2개 ~ 20개이고 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 그 이상의 특정한 TAA에서 유도되었고 이는 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합할 수 있다.

- [0236] 본 발명의 다른 양태는 본 발명의 펩티드 또는 펩티드 변이체를 인코딩하는 핵산(예를 들면 폴리뉴클레오타이드)에 대한 정보를 제공한다. 폴리뉴클레오타이드는 예를 들면, DNA, cDNA, PNA, CNA, RNA 또는 이의 조합일 수 있으며, 한 가닥 및/또는 이중 사슬로 되어 있을 수 있고, 또는 본래의 형일 수도 또는 예를 들면 포스포로티오에이트 백본을 가지고 있는 폴리뉴클레오타이드의 안정화된 형태로 되어 있을 수도 있으며, 펩티드를 코딩하는 한 인트론을 포함할 수도 또는 그렇지 않을 수도 있다. 물론, 자연적으로 발생하는 펩티드 결합에 의해 결합이 된 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드만이 폴리뉴클레오타이드에 의해서 인코딩될 수 있다. 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명에 따른 폴리펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터에 대한 설명을 제공한다.
- [0237] 특히 DNA와 같은 폴리뉴클레오타이드를 예를 들면 보완 응집성 말단을 이용하여 연결하는 여러 가지 방법이 개발되었다. 예를 들면, 보완 동종중합체 트랙트가 벡터 DNA에 삽입될 DNA 세그먼트에 추가될 수 있다. 벡터와 DNA 세그먼트는 이후 보완 동종중합체 꼬리와 함께 수소 결합을 이용하여 재조합 DNA 분자를 형성할 수 있다.
- [0238] 하나 또는 그 이상의 제한 부위를 포함하는 합성된 링커는 DNA 세그먼트와 벡터를 결합하는 다른 방법을 제시한다. 여러 가지의 제한 엔도뉴클레아제 부위를 포함하는 합성 링커는 상업적으로 International Biotechnologies Inc.(New Haven, CN, 미국)를 비롯한 곳에서 구입이 가능하다.
- [0239] 본 발명에서 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA를 변형시키는 바람직한 방법은 Saiki, et al에 의해 공개된 바 있는 폴리머라아제 연사슬 반응을 이용한다(Saiki et al., 1988). 이 방법은 예를 들면 적당한 제한 부위를 만들어 적당한 벡터로의 DNA 도입 또는 이 분야에서 알려져 있는 DNA를 다른 용도를 위해 변환하는 데에 사용될 수도 있다. 만약 바이러스 벡터가 사용된다면, 수두 또는 아데노바이러스 벡터가 바람직하다.
- [0240] DNA(또는 레트로 바이러스 벡터일 시, RNA)는 그 후 적당한 숙주에서 발현되며 이는 본 발명의 펩티드 또는 변이체를 가지고 있는 폴리펩티드를 생성한다. 따라서, 본 발명의 펩티드 또는 변이체를 인코딩하는 DNA는 알려진 기술과 여기에서 배울 수 있는 것과 함께 적당히 사용되어 적당한 숙주 세포를 본 발명의 폴리펩티드를 발현하고 생성하는 것으로 형질전환을 시키는 데에 사용된다. 이러한 기법은 예를 들어 다음에 공개되어 있다: 미국 특허 번호 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.
- [0241] 본 발명의 합성물을 만드는 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA(또는 레트로바이러스 벡터일 경우, RNA)는 많은 종류의 다른 DNA 서열과 결합되어, 적당한 숙주로의 도입을 유도할 수 있다. 동반 DNA는 숙주의 특성, DNA를 숙주로 도입하는 방법 및 에피소말 유지 또는 통합이 필요한지에 따라 결정될 것이다.
- [0242] 일반적으로, DNA는 플라스미드와 같은 발현 벡터로 발현을 위한 적합한 방향 및 올바른 리딩 프레임에 맞추어 삽입된다. 필요할 경우, DNA는 바람직한 숙주에 의해 인식되는 적당한 전사 및 번역 조절 제어 뉴클레오타이드 서열(하지만, 이 제어는 대부분의 경우 발현 벡터 내에 이미 존재한다)과 함께 연결될 수도 있다. 벡터는 그 후 숙주로 기본적인 기술을 통해 도입된다. 보통, 모든 숙주가 벡터에 의해 형질전환되지 않는다. 따라서, 형질전환된 세포를 선택하는 것이 필요할 것이다. 하나의 선택 기술은 발현 벡터에 필요한 형질전환된 세포에서 선택이 가능한 예를 들면, 항생제 저항력과 같은, 제어 요소를 통합시키는 것이다.
- [0243] 다른 방법으로는, 이러한 선택이 가능한 특성이 다른 벡터에 있을 수도 있으며, 이는 바람직한 숙주 세포를 동시에 형질전환하는 데에 사용된다.
- [0244] 발명의 재조합 DNA에 의해 형질전환된 숙주 세포는 충분한 시간 동안 적당한 상태에서 당업자에 의해서 배양되고 이는 폴리펩티드의 발현을 가능하게 하며, 이는 후에 회복된다.
- [0245] 박테리아(예: 대장균(*E. coli*)과 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)), 효모(예를 들면 사카로마이세스 레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)), 사상균류(예를 들면 아스페르길스 스피시스(*Aspergillus spec.*)), 식물 세포, 동물 세포 및 곤충 세포 등의 많은 발현 체계가 알려져 있다. 바람직하게는, 그 체계는 ATCC Cell Biology Collection에서 구할 수 있는 CHO 세포와 같은 포유류 세포일 수 있다.
- [0246] 구조성 발현을 위한 전형적인 포유류 세포 벡터 플라스미드는 CMV 또는 SV40 촉진제와 적당한 폴리 A 꼬리 및 네오마이신과 같은 저항 표지자를 포함한다. 하나의 예는, Pharmacia(미국 뉴저지주 Piscataway)에서 구할 수 있는 pSVL이다. 유도가능 포유류 발현 벡터의 예는 pMSG이며 이 또한 Pharmacia에서 구할 수 있다. 유용한 효소 플라스미드 벡터는 pRS403-406과 pRS413-416이며 이는 대부분 Stratagene Cloning Systems(미국 캘리포니아주 La Jolla 92037)에서 구할 수 있다. 플라스미드 pRS403, pRS404, pRS405 및 pRS406은 효소 통합 플라스미드(YIps)이며 이는 효소 선택 표지자 HIS3, TRP1, LEU2와 URA3를 통합한다. 플라스미드 pRS413-416는 효모 동원

체 플라스미드(Ycps)이다. (예를 들면 Sigma-Aldrich로부터 입수한), CMV 프로모터 기반 벡터는 일시적인 또는 안정된 발현, 세포질 발현 또는 분비 및 FLAG, 3xFLAG, c-myc 또는 MAT 등의 다양한 조합으로 N-말단 또는 C-말단 표지 등을 제공한다. 이러한 융합 단백질은 재조합 단백질의 검출, 정제와 분석을 가능하게 한다. 듀얼-태깅된 융합은 검출의 유연성을 제공한다.

[0247] 강한 인간 사이토메갈로 바이러스(CMV) 촉진자 조절 영역은 구성적인 단백질 발현 수준을 높이는 COS 세포에서 1mg/L까지 구동시킨다. 좀 더 효능이 약한 세포주에서는, 단백질 수준이 전형적으로 약 0.1mg/L 정도이다. SV40 복제 원점이 있음으로서 SV40, 복제를 가능하게 하는 COS 세포 DNA 복제의 수준이 높은 결과를 낳는다. CMV 벡터는 예를 들면 세균 세포에서의 복제를 위한 pMB1(pBR322의 유도체) 기원, 즉, 세균, hGH polyA 및 f1 원천에서 암피실린 내성 선택에 필요한 b-락타마아제를 포함할 수 있다. 프리-프로-트립신 리더(PPT) 서열을 포함하는 벡터는 FLAG 융합 단백질을 ANTI-FLAG 항체, 수지 및 플레이트를 사용하여 정제하기 위한 배양 배지로 분비하도록 방향을 정할 수가 있다. 다른 벡터와 발현 체계는 여러 가지의 숙주 세포 사용에 대해 널리 알려져 있다.

[0248] 다른 구현에서는 본 발명의 2개 이상 펩티드나 펩티드 변이체가 인코딩 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 있으며 또한 그 사이에 추가의 펩티드 없이 연결될 수 있다. 이러한 구조체들은 암 요법에서도 사용할 수 있으며 MHC I 및 MHC II 모두가 연관되는 면역 반응을 유도할 수 있다.

[0249] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오티드 벡터 구성에 의해 형질전환된 숙주 세포에 관한 것이다. 숙주 세포는 원핵 세포이거나 진핵 세포일 수 있다. 세균 세포가 일부의 상황에서 바람직한 원핵 숙주 세포일 수 있으며, 보통 예를 들면 Bethesda Research Laboratories Inc.(미국 메릴랜드주 Bethesda)에서 구할 수 있는 *E. coli* 균주 DH5, 그리고 American Type Culture Collection(ATCC)(미국 메릴랜드주 Rockville, No ATCC 31343)의 RR1과 같은 *E. coli* 균주이다. 바람직한 진핵 숙주 세포는 효모, 곤충, 포유류 세포를 포함하고, 생쥐, 쥐, 원숭이 또는 인간 섬유아세포와 대장 세포주 등의 척추 동물 세포가 바람직하다. 효모 숙주 세포는 YPH499, YPH500 및 YPH501를 포함하며, 이는 대부분 Stratagene Cloning Systems(미국 캘리포니아주 La Jolla, 92037)에서 구입이 가능하다. 바람직한 포유류 숙주 세포는 ATCC에서 구입이 가능한 CCL61로 알려져 있는 중국 햄스터 난소 세포, CRL 1658로 알려져 있는 스위스 생쥐 배아 세포 NIH/3T3, 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 배콜로바이러스 발현 벡터로 형질주입될 수 있다. 발현을 위한 적당한 숙주 세포의 선택에 대한 개관은 예를 들면 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.

[0250] 적당한 세포 숙주를 본 발명의 DNA 구성으로 형질전환하는 것은 보통 사용되는 벡터의 유형이 따라 결정되는 잘 알려진 방법으로 완성된다. 원핵 숙주 세포의 형질전환에 대해서는 예를 들면 Cohen 등(Cohen et al., 1972) 및 (Green and Sambrook, 2012)을 참조한다. 효모 세포의 형질 전환은 Sherman 등(Sherman et al., 1986)에 나와 있다. Beggs의 방법 또한 유용하다(Beggs, 1978). 척추 동물 세포에 대해서는, 이러한 세포의 형질주입에 유용한 시약, 예를 들면 칼슘 인산염과 DEAE-덱스트란 또는 리포좀 공식에 대한 내용은 Stratagene Cloning Systems, 또는 Life Technologies Inc.(미국 메릴랜드주 Gaithersburg 20877)에 나와 있다. 전기 천공법 역시 세포를 형질전환 또는/및 형질주입하는 데에 유용하며 이는 효소 세포, 박테리아 세포, 곤충세포 및 척추동물 세포 형질전환에 잘 알려져 있다.

[0251] 성공적으로 형질전환이 된 세포는, 즉 본 발명의 DNA 구성을 가지고 있는 세포는, 잘 알려진 PCR과 같은 기술로 식별된다. 다른 방법으로는, 상청액에 존재하는 단백질은 항생제를 사용함으로써 검출될 수 있다.

[0252] 본 발명의 특정한 숙주 세포, 예를 들면 박테리아, 효소 및 곤충 세포와 같은 세포는 본 발명의 펩티드의 준비에 유용하다는 것을 알 수 있을 것이다. 하지만, 다른 숙주 세포 또한 특정한 치료 방법에 유용할 수도 있다. 예를 들면, 수지상 세포와 같은 항원-제시 세포는 적당한 MHC 분자에 적재가 되도록 하는 본 발명의 펩티드를 발현하는 데 유용하게 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 핵산 또는 발명에 따른 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0253] 바람직한 구현에서, 숙주 세포는 항원 제시 세포이며, 특히 수지상 세포 또는 항원 제시 세포이다. 전립선암 인산효소(PAP)를 포함하는 재조합 융합 단백질로써 적재된 APC가 무증상이나 최소 증상의 전이성 HRP(Sipuleucel-T)의 치료를 위해 2010년 4월 29일 미국 식품의약품청(FDA)에 의해 승인되었다(Rini et al.,

2006; Small et al., 2006).

- [0254] 본 발명의 다른 양태는 펩티드 또는 그의 변이체의 숙주 세포를 배양하고 펩티드를 숙주 세포 또는 배지에서 격리하는 것을 포함한 생산 방법을 제공한다.
- [0255] 다른 구현에서는, 본 발명의 펩티드, 핵산 또는 발현 벡터가 의학에서 사용된다. 예를 들어, 펩티드나 그 변이체는 정맥내(i.v.) 주사, 피하(s.c.) 주사, 피내(i.d.) 주사, 복강내(i.p.) 주사, 근육내(i.m.) 주사용으로 제조될 수 있다. 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 µg 및 1.5 mg, 바람직하게는 125 µg ~ 500 µg 사이의 용량이 각각의 펩티드 또는 DNA에 따라서 투여될 수 있다. 이러한 범위의 용량이 이전의 임상시험에서 성공적으로 사용된 바 있다(Walter et al., 2012).
- [0256] 면역 접종에 사용된 폴리뉴클레오티드는 상당히 순도가 높거나 적당한 벡터 또는 전달 체계에 포함되어 있을 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, Teufel 등에 제공되어 있다(Teufel et al., 2005). 폴리뉴클레오티드 백신은 만들기 쉽지만, 이들 벡터의 면역 반응을 유도하는 동작 모드는 완전히 이해가 되지 않았다. 적당한 벡터와 전달 체계는 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 레트로바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노 연관 바이러스 또는 한 개 이상의 바이러스를 포함하는 혼성체 등의 바이러스 DNA 및/또는 RNA를 포함한다. 비-바이러스 전달 체계는 양이온 지질과 양이온 중합체를 포함하고 있으며 DNA 전달 분야에서 잘 알려져 있다. "유전자 총"과 같은 물리적 전달 또한 사용될 수 있다. 펩티드 또는 핵산에 의해 인코딩 된 펩티드는 융합 단백질이 될 수도 있고, 예로서는 위에서 언급한 각각의 반대 CDR을 위한 T세포를 유도하는 에피토프를 들 수 있다.
- [0257] 이 발명의 약제는 하나 또는 그 이상의 보조제를 포함할 수 있다. 보조제는 면역 반응을 비특이적으로 향상시키거나 강력하게 하는 물질이다(예: 항원에 대한 CD8-양성 T세포 및 조력 T(TH) 세포에 의해서 중재된 면역 반응). 따라서 본 설명에서 보조제는 유용한 약제 구성이라고 간주할 수 있다. 적당한 보조제는 다음을 포함하지만 이에 국한되지 않는다: 1018 ISS, 알루미늄 염, 암플리박스(), AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, 플라젤린 또는 플라젤린에서 유도된 TLR5 리간드, FLT3 리간드, GM-CSF, IC30, IC31, 이미퀴모드(ALDARA®), 레스퀴미드, ImuFact IMP321, IL-2, IL-13, IL-21과 같은 인터루킨, 인터페론 알파 또는 베타, 또는 이들의 폐결화된 유도체, IS 패치, ISS, ISCOMATRIX, ISCOMs, 주브이문(JuvImmune), LipoVac, MALP2, MF59, 모노포스포릴 지질 A, 몬타나이드 IMS 1312, 몬타나이드 ISA 206, 몬타나이드 ISA 50V, 몬타나이드 ISA-51, 유중수형과 수중유형 에멀전, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, OspA, PepTel® 벡터 시스템, PLG와 텍스트란 극미립자, 탈락토펜, SRL172, 비로솜(Virosomes) 및 다른 바이러스-유사 입자, YF-17D, VEGF 트랩, R848, 베타글루칸, Pam3Cys, 사포닌에서 유도된 아킬라스 QS21 스틸물론, 마이코박테리아 추출물과 합성 세균의 세포벽 모방제 및 다른 리비의 데톡스(Ribi's Detox), 쿠일(Quil), 또는 슈퍼포스(Superfos)와 같은 독점 보조제 등이 있다. Freund's 또는 GM-CSF와 같은 보조제가 바람직하다. 여러 면역적 보조제(예: MF59)는 수지상 세포에 특이적이고, 그 제조 방법은 이전에 설명된 바 있다(Allison and Krummel, 1995). 또한, 시토카인도 사용될 수 있다. 여러 시토카인은 수지상 세포의 림프 조직으로의 이동에 영향을 주는데 직접적으로 연관된 바 있으며(예: TNF-), 이는 수지상 세포의 더 효율적인 T림프구에 대한 항원 제시 세포로의 성장을 가속시키고(예: GM-CSF, IL-1 및 IL-4) (미국 특허 번호 5,849,589, 구체적으로 여기에 그 전문이 참조 문헌으로 포함됨) 면역보조제의 역할을 한다(예: IL-12, IL-15, IL-23, IL-7, IFN-알파, IFN-베타)(Gabrilovich et al., 1996).
- [0258] CpG 면역자극 올리고뉴클레오티드는 백신 환경에서 보조제의 효율성을 높이는 것으로 나타났다. 이 이론에 국한하지 않고, CpG 올리고뉴클레오티드는 톨-유사 수용체(TLR), 특히 TLR9를 통해 친성(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 특이적 체액성 및 세포성 반응을 향상시킨다. 더 중요하게 이는 수지상 세포의 성숙 및 차별화를 향상시키고 이는 TH1 세포의 활성화를 향상시키며 강한 세포독성 T-림프구(CTL) 생성을 CD4 T세포의 도움이 없을 때에도 향상시킨다. TLR9 자극에 의해 일어난 TH1 바이러스는 보통 TH2 바이러스를 촉진시키는 alum 또는 비완성된 프로인트 보조제(Freund's adjuvant(IFA))와 같은 백신 보조제가 존재할 때도 유지된다. CpG 올리고뉴클레오티드는 다른 보조제와 함께 제조되거나 함께 투여될 시 또는 특히 항원이 상대적으로 약할 때 강한 반응을 얻어 내기 위해 필요한 미세입자, 나노입자, 지질 에멀전 또는 비슷한 제약으로 되어 있을 경우 더 큰 보조제 활동을 보인다. 그들은 또한 면역 반응을 가속화시키고, 여러 연구에서 보여진 바 있듯이 CpG가 없을 때 백신 전체 용량이 일으키는 항체 반응 수준으로 항원의 용량을 약 두 배 정도 줄일 수 있도록 한다(Krieg, 2006). 미국 특허 번호 6,406,705 B1은 CpG 올리고뉴클레오티드, 비핵산 보조제 및 항원 특정 면역 반응을 일으키는 항원의 병용

에 대해 설명한다. CpG TLR9 길항제는 Mologen(Berlin, 독일)에 의해 만들어진 dSLIM(double Stem Loop Immunomodulator)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.

[0259] 다른 유용한 보조제의 예는 다음을 포함하지만 이에 국한되지 않는다. 화학적으로 변형된 CpGs(예: CpR, Idera), Poly(I:C)와 같은 dsRNA 유사체 및 그 유도체(예: AmpliGen®, Hiltonol®, poly-(ICLC), poly(IC-R), poly(I:C12U)) 및 면역활성적인 작은 분자 및 비-CpG 박테리아 DNA 또는 RNA 및 사이클로포스아미드, 수니티닙, 베바시주맙, 셀레브렉스, NCX-4016, 실테나필, 타달라필, 바르데나필, 소라페닙, 테모졸로마이드, 템시롤리무스, XL-999, CP-547632, 파조파닙, VEGF 트랩, ZD2171, AZD2171, 안티-CTLA4 면역계의 주요 구조를 표적으로 하는 기타 항체들(예: 안티-CD40, 안티-TGFbeta, 안티-TNFalpha 수용체) 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 기술이 뛰어난 개인에 의해서 쉽게 결정될 수 있다.

[0260] 바람직한 보조제들은 항-CD40, 이미퀴모드, 레시퀴모드, GM-CSF, 사이클로포스파마이드, 수니티닙, 베바시주맙, 인터페론-알파, CpG 올리고뉴클레오타이드 및 유도체, poly-(I:C) 및 유도체, RNA, 실테나필, 폴리(락타이드 코글리콜라이드) (PLG)의 미립자 제제, 비로솜, 아테졸리주맙, 인터루킨 (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 및 IL-23이다.

[0261] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그레놀로사이트 마크로파지 콜로니-자극 인자(GM-CSF, 사르가라모스틴), 사이클로포스파미드, 이미퀴모드, 레시퀴모드 및 인터페론-알파같은 콜로니-자극 인자로 구성된 군에서 선택된다.

[0262] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그레놀로사이트 마크로파지 콜로니-자극 인자(GM-CSF, 사르가라모스틴), 사이클로포스파미드, 이미퀴모드 및 레시퀴모드와 같은 콜로니-자극 인자로 구성된 군에서 선택된다. 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 사이클로포스파미드, 이미퀴모드 또는 레시퀴모드이다. 훨씬 더 바람직한 보조제는 Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, poly-ICLC(Hiltonol®) 및 anti-CD40 mAB 또는 이들의 조합들이다.

[0263] 이 조성물은 피하, 피부내, 근육내와 같은 비경구 투약 또는 경구 투약에 사용된다. 이를 위해, 펩티드 그리고 선택적으로 다른 분자들을 약학적으로 허용되는, 바람직하게는 수용성 운반체에 용해 또는 현탁한다. 추가로, 이 조성물은 완충제, 결합제, 발파제, 희석제, 향미료, 윤활제 등의 부형제를 포함할 수 있다. 또한 펩티드는 시토킨 같은 면역 자극 물질과 함께 투여될 수 있다. 이러한 성분에 사용될 수 있는 방대한 부형제 목록은 예를 들어 A. Kibbe, 약학적 부형제 핸드북(Kibbe, 2000)에서 확인할 수 있다. 이러한 조성물은 선종성 또는 암성 질병의 방지, 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 예시적 제제는 예를 들어 EP2112253에서 찾아볼 수 있다.

[0264] 본 발명에 따른 백신에 의해 일어나는 면역 반응이 다른 세포 단계 및 다른 개발 단계에서는 암을 공격한다는 것을 인지하는 것이 중요하다. 더욱이, 암과 연관된 다른 신호전달 경로가 공격을 받는다. 이것은 단 하나 또는 여러 표적만을 다루는 백신에 비해 이점이며, 이로 인해 종양이 공격에 쉽게 적응(종양 탈출)하도록 유발할 수 있다. 더욱이, 모든 개별 종양들이 같은 패턴의 항원을 발현하는 것은 아니다. 그러므로 종양 연관된 여러 펩티드들의 조합은 모든 개별 종양이 적어도 표적의 일부를 갖도록 보장한다. 이 조성물은 각 종양이 여러 항원을 발현하도록 예상되며 또한 종양 성장 및 유지에 필요한 여러 독립적 경로를 다루도록 설계되었다. 그리하여 백신은 보다 큰 환자 모집단을 위해 "기성품으로" 쉽게 사용이 가능하다. 이는 백신으로 치료할 환자의 사전 선택을 HLA 형질정도로 제한할 수 있고, 항원 발현을 위해 어떠한 추가의 바이오마커 평가를 요구하지 않음을 의미하지만, 효능에 중요한 여러 표적들이 유도된 면역 반응에 의해 동시에 공격됨을 여전히 보장한다(Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012).

[0265] 여기서 사용된 "골격"이란 용어는 (예: 항원성) 결정인자에 특이적으로 결합하는 분자를 말한다. 한 구현에서, 골격은 그것이 부착되는 객체를 (예: (두 번째) 항원 결합 모이어티) 표적 부위, 예를 들어 특정 유형의 종양 세포 또는 항원성 결정인자를 갖는 종양 기질(예: 현재 용도에 따른 MHC와 펩티드의 복합체)로 향하도록 지시할 수 있다. 또 다른 구현에서 골격은 그 표적 항원, 예를 들어 T세포 수용체 복합체 항원을 통해 신호전달을 활성화할 수 있다. 골격은 항체 및 그 조각, 항체 중사슬 변수 영역 및 항체 경사슬 변수 영역을 포함하는 항체의 도메인에 결합하는 항원, 적어도 하나의 안키린 반복 모티프 및 단일 도메인 항원 결합(SDAB) 분자를 포함하는 결합 단백질, 압타머, (용해성) TCR 그리고 동종 또는 자가 T세포와 같은 (변형된) 세포를 포함하지만 이로써 제한되지는 않는다. 어떤 분자가 표적에 결합하는 골격인지 평가하기 위해, 결합 분석을 수행할 수 있다.

- [0266] "특이적" 결합이란 그 골격이 다른 자연적으로 발생하는 펩티드-MHC 복합체보다 관심 대상의 펩티드-MHC 복합체에 더 잘 결합하며, 그 정도는 특정 표적이 포함된 세포를 줄일 수 있는 활성 분자로 무장한 골격이 특정 표적이 없는 다른 세포는 죽일 수 없으며 다른 펩티드-MHC 복합체를 제시하는 것을 의미한다. 교차반응성 펩티드-MHC의 펩티드가 자연적으로 발생하지 않는다면, 즉, 인간 HLA-펩티드으로부터 유래되지 않는다면, 다른 펩티드-MHC 복합체에 대한 결합은 관련이 없다. 표적 세포 살해를 평가하는 검사는 당업계에 잘 알려져 있다. 이 검사는 변경되지 않는 펩티드-MHC 제시를 가진 표적 세포(일차 세포 혹은 세포주) 또는 자연적으로 발생하는 펩티드-MHC 수준이 도달되는 정도로 펩티드가 포함된 세포를 사용하여 수행해야 한다.
- [0267] 각 골격은 라벨이 제공하는 신호의 존재나 부재를 판단함으로써 결합된 골격이 검출 가능하도록 제공하는 라벨링을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이 골격은 형광 염료나 임의의 다른 해당되는 세포 표지자 분자를 사용하여 라벨링이 가능하다. 그러한 표지자 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.
- [0268] 각 골격은 IL-21, 항-CD3, 항-CD28과와 같은 두 번째 활성 분자와 결합될 수 있다.
- [0269] 폴리펩티드 골격에 대한 추가 정보는 예를 들어 WO 2014/071978A1의 배경 부분과 거기에 인용된 참조문헌을 참고한다.
- [0270] 본 발명은 또한 압타머에 관한 것이다. 압타머란(예는 WO 2014/191359 및 여기에 인용된 문헌을 참조) 정의된 삼차원적 구조로 접힐 수 있으며 특정 표적 구조를 인식할 수 있는 짧은 단일 핵산 분자이다. 이것은 표적 요법의 개발에 필요한 적합한 대안인 것으로 보여진 바 있다. 압타머는 높은 친화도 및 특이성으로 다양한 복합체 표적에 선택적으로 결합하는 것으로 나타난 바 있다.
- [0271] 세포 표면에 위치한 분자를 인식하는 압타머들이 지난 십 년 동안 식별되었으며 진단 및 치료 접근 방식을 개발하기 위한 수단을 제공한다. 압타머가 독성 및 면역원성을 거의 보유하지 않는 것으로 나타났으므로, 생의학적 용도를 위한 유력한 후보이다. 실제로 압타머, 예를 들어 전립선 특이적 막-항원을 인식하는 압타머는 표적 대상의 요법을 위해 성공적으로 사용되어 왔으며 또한 생체 내 모델에서의 이중이식에 기능적인 것으로 나타난 바 있다. 더욱이, 특이적 종양 세포주를 인식하는 압타머가 식별된 바 있다.
- [0272] DNA 압타머는 다양한 암 세포 그리고 특히 고형 종양으로부터 유래하는 것들을 위한 광범위 인식 성질을 밝히기 위해 선택 가능한 반면에, 비종양형성의 그리고 원발성의 건강한 세포는 인식되지 않는다. 식별된 압타머가 특이적 종양 아형을 인식할 뿐만 아니라 일련의 종양과 상호작용한다면, 이로 인해 압타머는 소위 광범위 진단 및 치료에 적용될 수 있다.
- [0273] 더욱이, 유세포 분석을 사용한 세포 결합 거동의 조사에 의하면 압타머는 나노몰 범위에서 매우 양호하고 뚜렷한 친화성을 드러내는 것으로 나타났다.
- [0274] 압타머는 진단 및 치료 목적으로 유용하다. 더욱이, 일부 압타머를 종양 세포가 취하며 그리하여 종양 세포 안으로의 siRNA와 같은 항암제의 표적 인도를 위한 분자 부형제로서 기능이 가능할 수 있다.
- [0275] 압타머는 세포와 조직 그리고 바람직하게는 현재 본 설명에 따른 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 어떤 것에 따른 서열로 구성되며 이를 포함하는 펩티드나 TCR과 MHC 분자와의 복합체에 대하여, 세포 SELEX(Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment) 기법을 사용하여 선택이 가능하다.
- [0276] 본 발명의 펩티드는 MHC/펩티드 합성물에 대한 특정 항체를 생성하고 개발하는데 사용될 수 있다. 이들은 병변 조직에 치료, 독성 물질 표적화 또는 방사능 물질로 사용될 수 있다. 이런 항체의 또 다른 사용은 PET 같은 이미징 목적을 위해 병변 조직의 방사성 핵종을 표적화 할 수도 있다. 이 사용은 작은 전이를 감지하거나 병든 조직의 크기와 정확한 위치를 결정하는데 도움이 될 수 있다.
- [0277] 그러므로 본 발명의 다른 양태는 HLA-제한 항원과 복합되는 인간 주 조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II와 특이적으로 결합하는 재조합 항체의 생산 방법을 제공하는 것으로, 이 방법은 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 용해성 형태의 MHC 클래스 I 또는 II 분자로서 상기 인간 주 조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II를 발현하는 세포를 포함하는 유전자 조작된 비인간 포유동물의 면역화; 상기 비인간 포유동물의 세포를 생산하는 항체로부터 mRNA 분자의 분리; 상기 mRNA 분자에 의해 인코딩된 단백질을 분자를 표시하는 파지 디스플레이 라이브러리의 생산; 및 상기 파지 디스플레이 라이브러리로부터 적어도 하나의 파지의 분리를 포함하며 상기 적어도 하나의 파지는 상기 HLA-제한 항원과 복합되는 상기 인간 주 조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 클래스 II와 특이

적으로 결합하는 상기 항체를 나타낸다.

- [0278] 본 발명의 다른 양태는 HLA 제한 항원과 복합되는 인간 구조적 적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는 것으로 이 항체는 바람직하게는 다클론 항체, 단클론 항체, 양특이성 항체 및/또는 키메라 항체이다.
- [0279] 그러한 항체 및 단일 사슬 클래스 I 구조적 적합 복합체의 생산을 위한 해당 방법들 그리고 이러한 항체의 생산을 위한 다른 도구들은 WO 03/068201, WO 2004/084798, WO 01/72768, WO 03/070752 및 출판물((Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003)에 공개되어 있으며, 이들은 본 설명의 목적을 위해 그 전문이 참조 문헌에 명백히 포함되어 있다.
- [0280] 바람직하게는 항체는 20 나노몰 미만의 바람직하게는 10 나노몰 미만의 결합 친화력으로써 복합체와 결합하는데, 이는 본 발명의 문맥 상 "특이적"으로 간주된다.
- [0281] 본 발명은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 대해 적어도 88% 상동성인(바람직하게는 동등한) 이의 변이체 또는 상기 펩티드와 T 세포 교차반응을 유도하는 이의 변이체를 포함하는 펩티드에 관한 것으로, 상기 펩티드는 전장 폴리펩티드가 아니다.
- [0282] 본 발명은 또한 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 대해 적어도 88% 상동성인(바람직하게는 동등한) 이의 변이체에 관한 것으로, 상기 펩티드나 변이체가 갖는 전체 길이는 8 ~ 100개, 바람직하게는 8 ~ 30개 그리고 가장 바람직하게는 8 ~ 14개의 아미노산이다.
- [0283] 본 발명은 또한 인간 구조적 적합, 복합체(MHC) 클래스-I 또는 -II의 분자에 결합하는 능력을 갖는 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.
- [0284] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 실질적으로 구성된다.
- [0285] 본 발명은 또한 본 발명에 의한 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 (화학적으로) 변형되거나/며 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0286] 본 발명은 또한 본 발명에 의한 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 특히 HLA-DR 항원 연관된 불변 사슬(Ii)의 N-말단을 포함하는 융합 단백질의 일부이거나 또는 예를 들어 수지상 세포에 특이적인 항체와 같은 항체에(또는 안으로) 융합된다.
- [0287] 본 발명은 또한 본 발명이 따른 펩티드를 인코딩하는 핵산에 관한 것으로, 단 펩티드가 완전한(전체) 인간 단백질은 아니다.
- [0288] 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0289] 본 발명은 더욱 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0290] 본 발명은 또한 의학에서, 특히 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0291] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 또는 전에 설명한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0292] 본 발명은 또한 항원 제시 세포, 바람직하게는 수지상 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0293] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드를 생산하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따른 숙주 세포의 배양 및 상기 숙주 세포나 그 배양 배지로부터 펩티드의 분리를 포함한다.
- [0294] 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.
- [0295] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 항원 제시 세포가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518

또는 상기 변이체 아미노산 서열을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.

- [0296] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식하는, 본 발명에 따른 방법에 의해 생산된 활성화 T세포에 관한 것이다.
- [0297] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 임의의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 표적 세포가 이상 발현하는 환자에서 표적 세포를 살해하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따라 생산되는 효과적인 수의 T세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0298] 본 발명은 또한 설명한 일체의 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.
- [0299] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제가 백신이다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로 상기 약제가 암에 대해 활성을 갖는다.
- [0300] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 사용에 관한 것으로, 상기 암 세포가 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포이거나 또는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암과 같은 기타 고형이나 혈액 종양의 세포이다.
- [0301] 본 발명은 또한 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 진단 및/또는 예후에 사용 가능한 여기서 "표적"이라 불리는 본 발명에 따른 펩티드에 근거한 특정 표지 단백질 및 바이오마커에 관한 것이다. 본 발명은 또한 암 치료를 위해 이러한 신규 표적의 사용에 관한 것이다.
- [0302] 용어 "항체" 또는 "항체들"은 여기에서 광범위한 의미로 사용되며, 다클론 및 단클론 항체를 둘 다 포함한다. 무손상 즉 "온전한" 면역글로불린 분자뿐만 아니라, 용어 "항체들"에는 그런 면역글로불린 분자와 인간화된 버전의 면역글로불린 분자의 단편(예: CDR, Fv, Fab 및 Fc 단편) 또는 중합체가 포함되며, 이 단편은 본 발명에 따른 바람직한 특성중 어느 것이라도(예를 들면, 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 표지자 (폴리)펩티드의 특이적 결합, 높아진 수준으로 암 표지자를 발현하는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포로의 독소 전달, 그리고/또는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 표지 펩티드의 활성화 억제)를 나타내면 된다.
- [0304] 가능한 한, 본 발명의 항체는 상용 공급원에서 구입해야 한다. 본 발명의 항체는 잘 알려진 방법을 통해서 만들어 질 수도 있다. 당업자는 전장의 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 표지 폴리펩티드 또는 그 단편이 본 발명의 항체를 생성하는데 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 본 발명의 항체를 생성하는 데 사용될 폴리펩티드는 자연적인 원천에서 부분적으로 또는 완전히 정제될 수 있으며, 또는 재조합 DNA 기법을 이용하여 만들어 질 수도 있다.

- [0305] 예를 들어, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518 또는 이의 변이체나 단편에 따른 펩티드와 같은 본 발명에 따른 펩티드를 인코딩하는 cDNA는 원핵 세포(예: 세균) 또는 진핵 세포(예: 효모, 곤충 또는 포유동물의 세포)에서 발현될 수 있으며, 그 다음 재조합 단백질을 정제하여, 본 발명에 따른 항체의 생성에 사용되는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암에 특이적으로 결합하는 단클론성 또는 다클론성 항체 제제를 생성하는 데 사용할 수 있다.
- [0306] 당업자는 두 개 이상의 다른 단클론 또는 다클론 항체의 조합의 생성을 의도하는 사용(예: ELISA, 면역조직화학, 생체 내이미징, 면역 독소 요법)에 요구되는 특이성 및 친화성을 갖는 항체의 획득 가능성을 최대화함을 인식할 것이다. 이 항체들은 그 항체들이 사용되는 목적에 의거하여 알려진 방법에 의해 바람직한 활성도에 대해 시험된다(예: ELISA, 면역조직화학, 면역요법 등; 항체의 생성과 시험에 관한 추가 지침은 예를 들어 Greenfield, 2014를 참고한다(Greenfield, 2014)). 예를 들어, 항체는 포르말린 고정 폐암이나 동결된 조직 절편의 ELISA 분석법, 웨스턴 블롯, 면역조직화학 염색으로 시험할 수 있다. 치료 또는 생체 내 진단용을 위한 항체는 초기의 시험관 내 특성화 이후, 알려진 임상 시험 방법에 따라 시험한다.
- [0307] "단클론 항체"라는 용어는 여기서 상당한 균등질 항체 개체군에서 획득이 된 것을 말한다. 즉, 이 개체군이 포함하는 각각의 항체는 자연적으로 발생하는 소수의 돌연변이체를 제외하고는 동일하다. 단클론 항체는 여기서 특히 중사슬 및/또는 경사슬의 한 부분이 특정한 중 또는 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에서 유도된 항체의 서열과 상응하거나 일치하고, 사슬의 나머지 부분은 다른 중 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에서 유도된 항체 및 이러한 항체의 조각의 서열과 상응하거나 일치하고, 희망하는 상반되는 활동성을 보여주는 "키메라(chimeric)" 항체를 포함한다(미국 특허 번호 4,816,567, 여기에 그 전문이 참조 문헌으로 포함됨).
- [0308] 본 발명의 단클론 항체는 하이브리도마 방법을 사용하여 준비될 수 있다. 하이브리도마 방법에서는, 생쥐 또는 다른 적당한 숙주 동물이 보통 면역성을 주는 작용제에 의해 면역되어, 면역성을 주는 작용제에 특정적으로 결합하는 항체를 생산하거나 이를 생산할 수 있는 능력을 가지고 있는 림프구를 유도해 낸다. 다른 방법으로는, 림프구는 시험관 내에서 면역될 수도 있다.
- [0309] 단클론 항체는 또한 미국 특허 번호 4,816,567에서 설명된 바와 같은 재조합 DNA 방법에 의해 만들어질 수 있다. 본 발명의 단클론 항체를 인코딩하는 DNA는 손쉽게 격리되고 전통적인 방법을 사용하여 염기 서열 분석이 가능하다(예, 마우스 유래 항체의 중사슬 및 경사슬을 인코딩하는 유전자에 특정하게 결합할 수 있는 능력이 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용).
- [0310] 시험관 내 방법 또한 1가의(monovalent) 항체를 준비하는 데에 적당하다. 이 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 항체를 절편화시켜 항체의 조각을 특히 여기서는 Fab 조각을 생산할 수 있다. 예를 들면, 파파인을 사용하여 소화가 이루어질 수 있다. 파파인 소화는 예는 WO 94/29348 및 미국 특허 번호 4,342,566에 설명되어 있다. 항체의 파파인 소화는 보통 각각 하나의 항원 결합 위치 및 남은 Fe 조각을 포함한 Fab 조각이라 부르는 동등한 두 개의 항원 결합 조각을 생산한다. 펩신 처리는 하나의 F(ab')₂ 조각과 하나의 pFc' 조각을 제공한다.
- [0311] 항체 조각도, 이가 다른 서열과 붙어 있는 그렇지 않은 간에, 이 조각의 활동력이 변경되지 않은 항체 또는 항체 조각에 비교할 시, 현저하게 바뀌거나 또는 손상이 되지 않는 한, 삽입, 삭제, 치환, 또는 특정한 위치의 또는 특정한 아미노산 잔기의 다른 선택된 변경을 포함할 수 있다. 이러한 변경은 이항화물 결합의 능력이 있는 아미노산의 제거/추가, 생체물 수명의 증가, 분비 특징의 변화 등의 추가적인 특성을 제공할 수 있다. 어떤 경우에도, 항체 조각은 결합 활성, 결합 도메인에서의 결합 조절 등의 생활성물 성질을 소유하고 있어야 한다. 항체의 기능 또는 활동 범위는 단백질의 특정한 지역의 돌연변이 생성, 발현 및 이 발현된 폴리펩티드의 실험에 의해 확인될 수 있다. 이러한 방법은 이 분야의 기술자가 손쉽게 알 수 있는 기술이며 이는 항체 조각을 인코딩하는 핵산의 위치 특이적 돌연변이 생성을 포함할 수 있다.
- [0312] 본 발명의 항체는 인간화된 항체 또는 인간 항체를 더욱 포함할 수 있다. 인간화된 형태의 비-인간(예, 쥐과 동물) 항체는 최소의 비-인간 면역글로불린 항체에서 유도된 서열을 포함하는 키메라 면역글로불린항체, 면역글로불린 사슬 또는 이들의 조각(Fv, Fab, Fab' 또는 다른 항체의 항원 결합의 결과)이다. 인간화된 항체는 보완 결정 영역(complementary determining region(CDR))의 잔기가 생쥐, 쥐 또는 토끼와 같은 비인간 종(공여 항체)의 CDR의 잔유물로 바뀐 요구되는 특이성, 친화도 및 수용력을 가진 인간 면역글로불린(수납 항체)이다. 일부 예에서는, 인간 면역글로불린의 Fv 구조(FR) 잔기가 상응하는 비인간 잔기로 교체된다. 인간화된 항체는 수납 항체 또는 수입된 CDR 또는 구조 서열의 어디에서도 찾을 수 없는 서열을 포함하기도 한다. 보통, 인간 항체는

변이성 도메인을 적어도 하나 또는 거의 대부분 두 개를 포함하며, 모든 또는 실질상 모든 CDR 범위는 비-인간 면역글로불린에 상응하고 모든 또는 실질상 모든 구조 범위는 인간 면역글로불린 일치 서열이다. 인간화된 항체는 이상적으로 적어도 보통 인간 면역 글로불린의 면역글로불린 불변 범위(Fc)의 한 부분 또한 포함할 것이다.

[0313] 이 분야에서 비인간 항체를 인간화하는 방법은 잘 알려져 있다. 보통, 인간화된 항체는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 비인간 근원에서 이에 도입된다. 이 비인간 아미노산 잔류들은 종종 "수입" 잔기이라고 일컬어지며, 이는 대개 "수입" 변수 도메인에서 출처한다. 인간화는 실질적으로 설치류의 CDR 또는 상응하는 인간 항체 서열의 CDR 서열을 인간의 것으로 교체하는 것으로 실행될 수 있다. 따라서, 그러한 "인간화" 항체는 키메릭 항체(미국 번호 4,816,567)이며, 이 때 상당히 온전하지 않은 인간 변수 도메인이 비인간 종의 해당 서열로 치환되었다. 실제적으로, 인간화된 항체는 보통 여러 CDR 잔기 및 가능하게는 여러 구조 잔기가 이 설치류의 유사한 영역의 잔기와 치환된 인간 항체이다.

[0314] 면역되었을 때, 내인성의 면역글로불린 생성이 없는 중에 전체 인간 항체를 생산할 수 있는 유전자 변형 동물(예, 생쥐)이 사용될 수 있다. 예를 들면, 키메릭 배선 돌연변이 생쥐의 항체의 중사슬 결합 영역 유전자 동형삭제는 내인성 항체 생산의 완전한 억제 결과를 가져온다. 이러한 배선 돌연변이 생쥐로의 인간 배선 면역글로불린 유전자 정렬 이입은 항원이 존재할 때 인간 항체 생산의 결과를 낳을 것이다. 인간 항체는 파지 디스플레이 이 라이브러리에서도 생산될 수 있다.

[0315] 발명의 항체는 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 담체에 의해서 피험자에게 투여된다. 보통, 적당한 약학적으로 허용 가능한 염이 제형을 등장 상태로 만들기 위해 제형에 사용된다. 약학적으로 허용 가능한 운반의 예로는, 링거 용액(Ringer's solution) 및 포도당 용액이 있다. 이 용액의 pH는 바람직하게는 약 5 ~ 약 8 사이이며, 더 바람직하게는 약 7 ~ 약 7.5 사이이다. 더 많은 담체는 항체를 포함하는 세포간질이 막, 리포솜 또는 미세입자와 같은 형태로 되어 있는 고체 소수성 중합체 반투성의 세포간질과 같은 지속적인 방출 준비를 포함한다. 예를 들어, 투여 방법 및 투여되는 항체의 농도에 따라 어떤 담체가 더 바람직한지는 이 분야의 당업자에게는 명백할 것이다.

[0316] 항체는 피험자, 환자 또는 세포에 주사(예, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내), 또는 주입과 같은 혈액으로서의 전달이 효율적으로 이루어 질 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.

[0317] 항체 투여의 효율적인 용량과 일정은 경험적으로 결정될 수 있으며, 이러한 결정을 내리는 것은 이 분야의 기술 중의 하나다. 이 분야의 당업자는 투여되는 항체의 용량은 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 ~ 100 mg/kg로 다를 수 있으며, 위에 언급된 요인을 고려할 때 이보다 더 높을 수도 있다. 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료를 위한 항체 투여 후, 그 치료용 항체의 효능을 당업자에게 잘 알려진 다양한 방법으로 평가할 수 있다. 예를 들면, 치료를 받고 있는 시험대상자에서 암의 크기, 수 및/또는 분포 등이 종양 영상 기술을 이용하여 모니터링될 수 있다. 항체의 투여가 없을 경우 발생할 질병 경과에 비교하여, 종양의 성장을 정지하고, 종양을 오그라들게 하고, 그리고/또는 새로운 종양의 성장을 예방하는 치료의 목적으로 투여된 항체는 효과있는 폐암의 치료라고 할 수 있다.

[0318] 본 발명의 다른 양태는 특이적 펩티드-MHC 복합체를 인지하는 용해성 T세포 수용체의 생산 방법을 제공하는 것이다. 이러한 용해성 T세포 수용체는 특이적 T세포 클론으로부터 생성 가능하며, 그 친화력은 보편결정 부위를 표적으로 하는 돌연변이유발성에 의해 증가시킬 수 있다. T세포 수용체 선택의 목적 상, 파지 디스플레이를 사용할 수 있다(US 2010/0113300, (Liddy et al., 2012)). 파지 디스플레이 동안 T세포 수용체의 안정화 목적상 그리고 약물로서의 실용적인 용도의 경우, 알파 및 베타 사슬은 연계될 수 있으며, 예를 들어, 비선천적 이황화 결합, 기타 공유 결합(단일 사슬 T세포 수용체) 또는 이합체화 도메인에 의해 연결된다(Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999). T세포 수용체는 표적 세포에 대한 특정 기능의 실행을 목적으로 독소, 약물, 시토카인(예를 들어 미국 2013/0115191 참고), 항-CD3 도메인 등과 같은 작용기 세포를 모집하는 도메인과 연결될 수 있다. 더욱이 이것은 입양 전달에 사용되는 T세포에서 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.

[0319] 그 밖에, 본 발명의 펩티드 및/또는 TCR 또는 항체 또는 다른 결합하는 분자는 생검 샘플에 근거한 병리학자의 암 진단을 확인하는 데 사용이 가능하다.

[0320] 항체 또는 TCR은 생체 내의 진단 분석에 사용될 수도 있다. 일반적으로, 항체는 방사성핵종으로 라벨링 되고(예, ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^3H , ^{32}P 또는 ^{35}S) 면역섬광계수법(immunosciintigraphy)을 사용하여 종양의 위치가 결정될 수 있다. 한 구현에서는, 항체 또는 그 조각은 위에 언급된 언급된 단백질로 구성된 군으로부터 선택한 두 개 또는 그 이상의 단백질 표적의 세포외 도메인에 결합을 하고 친화도 값(Kd)은 $1 \times 10^{-6} \mu\text{M}$ 미만이다.

[0321] 진단의 용도로 사용되는 항체는 여러가지의 영상 방법으로 감지될 수 있는 적당한 프로브로 라벨링 될 수 있다. 프로브의 검출 방법은 형광, 광학, 공초점 및 전자 현미경, 자기 공명 단층 촬영 영상 및 분광기 형광 투시법, 전산화 단층 촬영과 양전자 방사 단층 촬영법을 포함하지만 이에 국한되지 않는다. 적당한 프로브는 플루오레세 인, 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 두개의 또는 그 이상의 기능을 가지고 있을 수 있으며, 여기에 나열된 하나 이상의 방법으로 검출할 수 있다. 이러한 항체는 직접적으로 또는 간접적으로 여기에 나열된 프로브로 라벨이 될 수 있다. 이렇게 항체와 프로브를 연결 하는 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 또는 파라핀에 포매되어 포르말린과 같은 방부제로 고정되어 있을 수 있다. 고정되었거나 포매되어 있는 샘플을 포함하고 있는 조직 절편은 라벨링된 1차 항체 및 2차 항체와 접촉되며 여기서 항체는 제자리 단백질 발현의 검출에 사용된다.

[0322] 본 발명의 다른 양태는 활성화된 T세포와 항원 적재된 적당한 항원-제시 세포의 표면에서 시험관 내 T세포를 항 원이 본 발명의 펩티드라고 할 때 항원 특정 방식으로서 활성화시키는 데 충분한 시간 동안에 발현되는 인간 클 래스 I 또는 MHC 분자의 접촉을 포함하는 시험관 내의 방법으로 생성하는 방법을 포함한다. 바람직하게는, 충 분한 양의 항원이 항원-제시 세포와 함께 사용된다.

[0323] 바람직하게는, 포유류 세포는 TAP 펩티드 트랜스포터가 결핍되어 있거나, 감소된 수준 또는 기능을 가지고 있다. TAP 펩티드 트랜스포터가 결핍되어 있는 적당한 세포로는 T2, RMA-S 및 초파리 세포를 들 수 있다. TAP이 란 항원 처리에 관련된 트랜스포터를 일컫는다.

[0324] 인간 펩티드 적재 결핍 세포주 T2는 Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, USA의 카탈로그 번호 CRL 1992에서 구입이 가능하고, 초파리 세포주 Schneider 2는 ATCC의 카탈로그 번 호 CRL 19863에서 구입이 가능하며, 생쥐 RMA-S 세포주는 Ljunggren 등에서 묘사가 된 바 있다(Ljunggren and Karre, 1985).

[0325] 바람직하게는, 숙주 세포는 형질주입 전에 대부분 MHC 클래스 I 분자를 발현하지 않는다. 또한 촉진자 세포가 B7.1, B7.2, ICAM-1 및 LFA 3과 같은 T세포에 대한 공동자극 신호를 제공하는 데 중요한 분자를 발현하는 것이 바람직하다. 다수의 MHC 클래스 II 분자의 핵산 서열 및 동시자극 분자의 서열은 GenBank와 EMBL 데이터베이스 에서 공개적으로 제공된다.

[0326] MHC 클래스 I 에피토프이 항원으로 사용되는 경우, T세포는 CD8-양성 T세포이다.

[0327] 항원-제시 세포가 형질주입되어 그러한 에피토프를 발현하는 경우, 바람직하게는 그 세포는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518을 포함하는 펩티드, 또는 이의 변이체의 아미노산 서열을 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함 한다.

[0328] T세포를 시험관 내에서 생성하는 여러 다른 방법도 사용될 수 있다. 예를 들어, 자가 조직 종양-침윤 림프구는 CTL의 생성에 사용이 가능하다. Plebanski et al. Plebanski 등(Plebanski et al., 1995)은 자가 조직 말초의 혈액(PLB)을 T세포의 준비 시 사용한다. 더욱이 수지상 세포를 펩티드 또는 폴리펩티드로 펄스시키거나, 또는 재조합 바이러스에 의한 감염에 의해 자가조직 T세포의 생산도 가능하다. 또한 자가조직 T세포의 생산에서 B 세 포도 사용할 수 있다. 또한, 펩티드 또는 폴리펩티드로 펄스된 또는 재조합된 바이러스에 의해 감염된 대식세포 가 자가조직 T세포의 준비 시 사용될 수 있다. S. Walter 등(Walter et al., 2003)은 인공 항원 제시 세포

(aAPCs)를 사용하는 시험관 내 T세포의 초회감작을 기술하며, 이는 역시 선택된 펩티드에 대한 펩티드에 대해 T 세포를 생성하는 데에도 사용될 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-특정 T세포 반응을 혈액 샘플에서 높은 효율성으로 고결합력 또는 저결합력을 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 들면, 인터루킨-12와 같은 사이토카인 등 적당한 용해 요소의 추가를 요구한다.

[0329] 동종이계 세포는 T세포의 준비에 역시 사용될 수 있으며 방법은 WO 97/26328에 더 자세하게 기술되어 있으며, 여기에 참조 문헌으로 포함되어 있다. 예를 들어, 초파리 세포와 T2 세포에 추가적으로, CHO 세포, 배콜로바이라스-감염 곤충 세포, 박테리아, 효소, 백시니아-감염된 표적 세포 등과 같은 다른 세포들도 항원을 제시하는 데에 사용될 수 있다. 또한 식물성 바이러스를 사용할 수 있다(예를 들어, Porta 등(Porta et al., 1994)을 참조). 이는 외부 펩티드의 제시를 위한 카우피 모자이크 바이러스의 높은 수확 체계로서의 개발을 기술한다.

[0330] 이 실험의 펩티드에 대해 활성화된 T세포는 치료에서 유용하다. 따라서, 본 발명의 더 나아간 양태는 앞서 말한 발명의 방법으로 획득할 수 있는 활성화된 T세포에 대한 내용을 제공한다.

[0331] 위에서 말한 방법으로 생성된 활성화된 T 세포는, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 518의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식할 것이다.

[0332] 바람직하게는, T세포는 그의 TCR을 HLA/펩티드-합성체(예, 결합)와 상호작용을 함으로서 이런 세포를 인식한다. 이 T세포는 효율적인 활성화된 T세포의 수가 투여되었을 시 발명의 아미노산 서열을 가지고 있는 폴리펩티드를 비정상적으로 발현하는 환자의 표적 세포를 죽이는 데 유용하다. 환자에게 투여된 T세포는 위에서 기술된 바와 같이 환자에게 유도되고 활성화된다(즉, 이는 자가 조직 T세포이다). 다른 방법으로는, T세포는 환자에게 유도가 안 되고, 다른 개인에서 유도된다. 물론, 이 개인이 건강한 개인인 것이 바람직하다. 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.

[0333] 생체 안에서, 본 발명에 따른 CD8-양성 T세포는 종양 세포(이들은 가끔 MHC 클래스 II를 발현하기도 한다)이거나 또는 종양을 감싸고 있는 간질성 세포(종양 세포)(이는 가끔 MHC 클래스 II를 또한 발현하기도 한다(Dengjel et al., 2006)).

[0334] 본 발명의 T세포는 활성적인 치료 구성의 성분으로 사용될 수도 있다. 따라서, 발명은 본 발명의 아미노산 서열을 가지고 있는 폴리펩티드를 비정상적으로 발현하는 환자의 표적 세포를 죽이고 환자에게 위에 정의된 바처럼 효율적인 T세포의 수를 투여하는 방법을 제공한다.

[0335] 본 발명자는 "비정상적으로 발현되는"이라는 구절에 의해, 폴리펩티드가 정상 수준에 비교했을 때 과다 발현되거나 또는 유전자가 종양이 유도된 조직에서는 침묵적이지만(silent) 종양에서는 발현되는 것 또한 의미한다. 본 발명자는 "과다 발현"이라는 구절에 의해, 폴리 펩티드가 정상 조직에서 존재하는 수준의 적어도 1.2배 이상으로 존재하는 것을 말하고, 바람직하게는 적어도 2배, 더 바람직하게는 적어도 5배 또는 10배로 존재하는 것을 의미한다.

[0336] T세포는 예를 들면 위에서 기술된 바와 같은 방법으로 얻어질 수 있다.

[0337] 흔히 T세포의 입양 전송이라고 불리우는 것에 대한 프로토콜은 이 업계에서 잘 알려져 있다. 그 리뷰는 다음에서 찾을 수 있다: Gattioni 등 및 Morgan 등(Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006).

[0338] 본 발명의 다른 양태에는 핵산이 클로닝되며 숙주 세포 바람직하게는 T세포에 개입되는 T세포 수용체를 생성하는 데 있어서 MHC와 복합된 펩티드의 사용이다. 다음 이 유전자 조합된 T세포는 암의 요법을 위해 환자로 이전시킬 수 있다.

[0339] 본 발명의 모든 분자(즉, 펩티드, 핵산, 항체, 발현 벡터, 세포, 활성화된 T세포, T세포, T세포 수용체 또는 이를 인코딩하는 핵산)가 병을 고치는 데에 있어서 면역 반응을 피할 수 있는 성질을 가진 세포에 포함되어 있는 것이 중요하다. 따라서 본 발명에 포함되어 있는 어떤 분자든지 약제로 사용되거나 약제를 만드는 데에 사용될 수 있다. 이 분자는 단독으로 사용될 수도 있고, 어떤 알려진 분자와 함께 결합하여 사용될 수도 있다.

- [0340] 본 발명은 다음을 포함한 키트(kit)를 포함한다:
- [0341] (a) 위에 기술된 바와 같은 약학 조성물을 용액 또는 동결건조된 형태로 포함하고 있는 용기;
- [0342] (b) 선택적으로 희석제 또는 동결건조된 배합을 위한 재구성 용액을 포함하는 둘째 용기; 및
- [0343] (c) 선택적으로(i) 용액의 사용 혹은(ii) 동결건조된 배합의 재구성 및/또는 사용을 위한 지시.
- [0344] 이 키트는 하나 이상의(iii) 완충액,(iv) 희석제,(v) 필터,(vi) 주사바늘 또는(v) 주사기를 더욱 포함할 수 있다. 용기는 바람직하게는 병, 바이알, 주사기 또는 시험관이며 또한 반복사용 용기일 수 있다. 약학적 성분은 바람직하게는 동결건조된다.
- [0345] 본 발명에 사용되는 키트는 바람직하게는 동결건조되어 있는 약제를 적당한 용기와 이들의 재구성 및/또는 사용에 관한 지침서를 함께 포함한다. 적당한 용기는 예를 들면, 병, 바이알(예: 듀얼 챔버 바이알), 주사기(듀얼 챔버 주사기 등) 및 시험관을 포함한다. 용기는 유리나 플라스틱과 같은 다양한 물질로 형성할 수 있다. 바람직하게는 키트 및/또는 용기에는 재구성 및/또는 사용에 필요한 지시사항을 나타내는 지침이 포함된다. 예를 들어, 라벨 상에서 동결건조된 배합을 상기 펩티드 농도로 재구성해야 한다고 지시할 수 있다. 라벨은 또한 약제가 피하투여가 가능한지 아니면 유용한지를 보여줄 수도 있다.
- [0346] 배합을 포함한 용기는 재구성된 약제의 반복된 투여를 가능하게 하는 다용도 바이알일 수 있다(예: 약 2 ~ 6회의 투여). 키트는 또한 적당한 희석제(예: 중탄산 용액)를 포함하는 두 번째의 용기를 포함할 수도 있다.
- [0347] 희석제와 동결건조된 약제를 섞을 때는, 재구성된 약제의 최종 펩티드 농도가 바람직하게는 적어도 0.15 mg/mL/펩티드(=75 μg)이고 바람직하게는 3 mg/mL/펩티드(=1500 μg)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.
- [0348] 본 발명의 키트는 본 발명에 따른 약학 조성물을 포함하는 하나의 용기를 다른 제품과 함께 또는 단독으로 포함하거나(예: 다른 화합물들 또는 이 다른 화합물들의 약학 조성물) 각각의 조성물을 각자 다른 용기에 포함할 수 있다.
- [0349] 바람직하게는, 본 발명의 키트는 다음과 같은 두 번째의 화합물 또는 그들의 조성물과 함께 투여될 수 있는 약학 조성물을 포함한다. 보조제(예: GM-CSF), 화학요법제, 자연 생산품, 호르몬 또는 길항제, 항-혈관신생 제제 또는 억제제, 피사유도제 또는 길레이터. 키트의 조성물은 미리 혼합되어 있을 수도 있고 또는 각각의 조성물이 각각 따로 환자에 투여하기 전에 용기에 담겨 있을 수도 있다. 키트의 조성물은 하나 또는 그 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.
- [0350] 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 두 번째의 물약병 또는 다른 용기를 포함하고, 이는 각각의 복용을 가능하게 한다. 키트는 약학적으로 허용가능한 액체를 포함하고 있는 용기를 포함할 수도 있다. 바람직하게는, 치료 키트는 현재 키트의 조성물인 발명의 제제를 투여할 수 있는 기구를 포함한다(예: 하나 또는 그 이상의 바늘, 주사기, 안약 투입제, 피펫 등).
- [0351] 본 배합은 구강(경구), 비강, 안약 형태의, 피하의, 피내, 근육내, 혈관내 또는 경피 등 어떠한 투여 형태로든 펩티드 투여에 적당한 약제이다. 바람직하게는 투여는 피하(s.c.)이며, 가장 바람직하게는 주입 펌프에 의한 피내(i.d.)일 수 있다.
- [0352] 본 발명의 펩티드가 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암으로부터 분리되었으므로, 본 발명의 약제는 바람직하게는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에 사용된다.
- [0353] 본 발명은 또한 사전선별된 TUMAP의 웨어하우스로부터 선택된 적어도 하나의 펩티드가 포함된 약학 조성물의 제

조를 포함하는 개별 환자의 개인화 약학 조성물의 생산 방법을 포함하며, 여기서 약학 조성물에 사용되는 적어도 하나의 펩티드는 개별 환자의 적합성을 위해 선택된다. 한 구현에서, 약학적 성분은 백신이다. 이 방법은 TCR 분리 또는 용해성 항체 그리고 다른 치료 옵션과 같은 하류 용도를 위해 T세포 클론의 생산에도 적응시킬 수 있다.

[0354] "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.

[0355] 여기에서 사용되는 용어 "웨어하우스"란 특정한 종양 유형에서 면역원성 및/또는 과다제시에 대해 사전선별된 펩티드의 군을 지칭해야 한다. "웨어하우스"란 용어는 백신에 포함된 특정한 펩티드가 물리적 시설에서 사전제조되어 보관되는 백신에 포함된다는 것을 내포함을 의도하지 않지만 그 가능성은 심사숙고된다. 이 펩티드는 생산된 개인화 백신마다 새로 제조될 수 있거나 사전제조되어 보관될 수 있음이 명시적으로 심사숙고된다. 웨어하우스(예를 들어, 데이터베이스의 형태)는 다양한 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C 대립유전자를 가진 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 환자의 종양 조직에서 고도로 과발현된 종양 연관 펩티드로 구성된다. 웨어하우스는 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 펩티드나 연장된 MHC 클래스 I 펩티드를 포함할 수 있다. 여러 개의 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 조직으로부터 수집된 종양 연관 펩티드뿐만 아니라, 웨어하우스는 HLA-A*02, HLA-A*01, HLA-A*03, HLA-A*24, HLA-B*07, HLA-B*08 및 HLA-B*44 표지 펩티드를 포함할 수 있다. 이 펩티드들은 TUMAPs에 의해 유도된 T세포 면역성의 크기 비교를 허용하며 그에 따라 항종양 반응을 유발하는 백신의 용량에 대해 중요한 결정을 내리도록 허용한다. 둘째로, 이들은 환자에서 "자가" 항원으로부터 유래된 TUMAP에 대한 일체의 백신 유도된 T세포 반응이 관찰되지 않는 경우 "비자가" 항원으로부터 유래된 중요한 양성 대조 펩티드로 기능한다. 그리고 세째로, 환자의 면역적격의 상태에 대한 결론을 내리도록 허용할 수 있다.

[0356] 웨어하우스용 TUMAP는 유전자 발현 분석, 질량 분석 및 T세포 면역학(XPresident®)이 조합된 통합 기능적 유전체 접근방식을 사용하여 동정된다. 이 접근 방식은 정상 조직에서는 발현되지 않거나 최소한으로만 발현되지만 고비율의 종양에서는 진정하게 존재하는 TUMAPs만을 추가 분석을 위해 선택하도록 보증한다. 초기 펩티드 선택을 위해, 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 환자의 샘플과 건강한 공여자의 혈액을 단계적 접근 방식으로 분석했다.

[0357] 1. 악성 종양 물질로부터의 HLA 리간드는 질량 분석에 의해 파악되었다

[0358] 2. 광범위한 정상 기관 및 조직과 비교하여, 악성 종양 조직(급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암)에서 과발현되는 유전자를 식별하기 위해 게놈 전체 전령 리보핵산(mRNA) 발현 분석을 사용했다.

[0359] 3. 확인된 HLA 리간드를 유전자 발현 데이터와 비교했다. 종양 조직 상에서 과다제시되거나 선택적으로 제시된 펩티드들, 바람직하게는 2단계에서 검출된 선택적으로 발현되거나 과발현된 유전자에 의해 인코딩된 펩티드들은 다중-펩티드 백신용으로 적절한 TUMAP 후보로 간주했다.

[0360] 4. TUMAP로서 동정된 펩티드의 관련성을 지지하는 추가의 증거를 파악하기 위해 문헌 연구를 수행했다

[0361] 5. mRNA 수준에서의 과다 발현의 타당성은 3단계에서 종양 조직으로부터 선택된 TUMAPs의 재검출 그리고 건강한 조직에 대한 검출의 부재(또는 낮은 빈도)에 의해 확인되었다.

[0362] 6. 선택된 펩티드에 의한 생체 내 T세포 반응 유도가 가능할 수 있는지 평가하기 위해, 건강한 공여자 그리고 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암,

간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암 환자로부터 얻은 인간 T세포를 사용하여 시험관 내 면역원성 분석을 수행했다.

[0363] 한 양태에서, 펩티드를 웨어하우스에 포함시키기 전에 면역원성에 대해 사전선별한다. 제한이 아니라 한 예로서, 펩티드/MHC 복합체와 항-CD28 항체가 적재된 인공 항원 제시 세포를 가진 건강한 공여자의 CD8+ T세포를 반복적으로 자극하는 시험관 내 T세포 초회감작을 포함하는 방법을 사용하여 웨어하우스에 포함된 펩티드의 면역원성을 결정한다.

[0364] 이 방법은 희귀한 암과 드문 발현 프로필을 가진 환자에서 바람직하다. 현재 개발되고 있는 고정 성분을 가진 다중펩티드 카테일과는 대조적으로, 웨어하우스는 종양의 항원이 실제 발현과 백신과 유의하게 더 높은 일치율을 허용한다. 다중표적 접근 방식에서는 단일 펩티드 또는 "재고" 펩티드들의 조합을 각 환자에 대해 사용한다. 이론상으로, 예를 들어 50개 라이브러리로부터 선택된 5개의 다른 항원 펩티드에 근거한 접근 방식은 이미 약 1700만 가지의 가능한 약품(DP) 성분을 초래할 것이다.

[0365] 한 양태에서 여기 그리고 다음에 설명되는 본 발명에 따른 방법에 근거하여, 이 펩티드들은 개별 환자를 위한 적합성에 근거하여 백신에 포함되도록 선택된다.

[0366] HLA 표현형, 전사체학 및 펩티도믹스 데이터는 환자의 종양 물질과 혈액 샘플로부터 수집하여 웨어하우스(데이터베이스)와 환자 고유(즉 돌연변이된) TUMAP를 포함하는 각 환자에 대해 가장 적절한 펩티드를 동정한다. 환자 종양에서 선택적으로 발현되거나 과다 발현되는 펩티드를 선택하게 되며, 이는 가능한 경우 환자의 개별 PBMC로써 시험했을 때 강한 시험관 내 면역원성을 나타냈다.

[0367] 바람직하게는 백신에 포함되는 펩티드는 다음으로 구성되는 방법에 의해 확인된다: (a) 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드들(TUMAPs)의 동정; (b) (a)에서 동정된 펩티드를 위에 설명된 펩티드들의 웨어하우스(데이터베이스)와 비교; 및 (c) 그 환자에서 동정된 종양-연관 펩티드와 상관관계가 있는 웨어하우스(데이터베이스)로부터 적어도 하나의 펩티드 선택을 포함하는 방법에 의해 확인된다. 예를 들어, 종양 샘플에 의해 제시되는 TUMAP는 다음에 의해 확인된다: (a1) 종양 샘플에서 과다 발현되거나 이상 발현된 단백질의 파악을 위해 종양 샘플의 발현 데이터를 모양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직의 샘플에서 얻은 발현 데이터와 비교; 그리고 (a2) 종양에 의해 과다 발현되거나 이상 발현된 단백질로부터 유래한 MHC 리간드를 파악하기 위해, 발현 데이터를 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합된 MHC 리간드의 서열과 상관관계 결정. 바람직하게는, MHC 리간드의 서열은 종양 샘플로부터 분리된 MHC 분자로부터 결합된 펩티드를 용출시키고 용출된 리간드의 서열결정에 의해 확인된다. 바람직하게는, 종양 샘플과 정상 조직을 같은 환자로부터 얻는다.

[0368] 웨어하우스(데이터베이스) 모델을 사용한 펩티드의 선택 외에도 또는 이에 대한 대안으로, TUMAP가 환자에서 새로 확인된 다음 백신에 포함될 수 있다. 한 예로서, 후보 TUMAPs 환자에서, (a1) 종양 샘플에서 과다 발현되거나 이상 발현된 단백질의 파악을 위해 종양 샘플의 발현 데이터를 모양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직의 샘플에서 얻은 발현 데이터와 비교; 그리고 (a2) 종양에 의해 과다 발현되거나 이상 발현된 단백질로부터 유래한 MHC 리간드를 파악하기 위해, 발현 데이터를 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합된 MHC 리간드의 서열과 상관관계의 결정에 의해 동정할 수 있다. 다른 예로서, 개별 환자로부터의 정상의 상응하는 조직과 비교해서 종양 샘플에 대해 고유한 돌연변이를 포함하는 단백질을 확인할 수 있으며 그 돌연변이를 특이적으로 표적화하는 TUMAP의 파악이 가능하다. 예를 들어, 종양 및 상응하는 정상 조직의 유전체는 전체 유전체의 서열 결정에 의해 서열을 결정할 수 있다: 유전자의 단백질 코딩 영역에서 비동의 돌연변이 발견을 위해, 종양 조직으로부터 유전체의 DNA 및 RNA를 추출하고 비돌연변이 유전체의 배자계역은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 추출한다. 응용 NGS 접근방식은 단백질 코딩 영역의 재배열결정으로 제약된다(엑손 재배열결정). 이 목적을 위해, 인간 샘플로부터 엑손 DNA를 업체가 공급한 표적 강화 키트를 사용한 다음 예를 들어 HiSeq2000(Illumina)로써 서열을 결정하여 포획한다. 추가적으로 유전자 발현의 직접적 정량화 그리고 돌연변이된 유전자가 환자의 종양에서 발현된다는 검증을 위해 종양 mRNA의 서열을 결정한다. 그에 따른 수백만의 서열 리드는 소프트웨어 알고리즘을 통해 처리된다. 출력 목록에는 돌연변이와 유전자 발현이 포함된다. 종양 특이적 체세포 돌연변이는 PBMC 유래된 종가계 변이와 비교하여 결정한 다음 우선순위화한다. 다음에는 새로 동정된 펩티드를 위에 설명한 웨어하우스의 면역원성에 대해 시험할 수 있으며, 적절한 면역원성을 소유하는 후보 TUMAP를 선택하여 백신에 포함시킨다.

[0369] 한 예시적 구현에서, 백신에 포함된 펩티드는 다음에 의해 확인된다: (a) 개별 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드들(TUMAP)을 위에 설명한 방법으로 동정한다; (b) 상응하는 정상 조직과 비교하여 종양에서 면역

역원성과 과제시에 대해 사전선별된 펩티드들의 웨어하우스를 이용하여 (a)에서 동정된 펩티드와 비교한다; (c) 환자에서 동정된 종양-연관 펩티드와 상관관계가 있는 적어도 하나의 펩티드를 웨어하우스(데이터베이스)에서 선택한다; 그리고 (d) 선택적으로 (a)에서 새로 동정된 적어도 하나의 펩티드를 선택하고 그 면역원성을 확인한다.

[0370] 한 예시적 구현에서, 백신에 포함된 펩티드는 다음에 의해 확인된다: (a) 개인 환자의 종양 샘플에 의해 제시된 종양-연관 펩티드(TUMAP)를 동정한다; 그리고 (b) (a)에서 새로 동정된 적어도 하나의 펩티드를 선택하고 그 면역원성을 확인한다.

[0371] 개인화 펩티드 기반 백신에 대한 펩티드를 선택하면, 백신이 생산된다. 백신은 바람직하게는 20-40% DMSO, 바람직하게는 약 30-35% DMSO(약 33% DMSO 등)에 용해된 개별 펩티드들로 구성된 액체 배합이다.

[0372] 제품에 포함되어야 할 펩티드는 각각 DMSO에 용해한다. 단일 펩티드 용액의 농도는 제품에 포함시킬 펩티드의 수에 의존하여 선택해야 한다. 단일 펩티드-DMSO 용액은 동등하게 혼합하여 제품에 포함되는 모든 펩티드를 포함하는 용액이 펩티드 당 ~2.5 mg/ml의 농도를 갖도록 한다. 다음 혼합된 용액을 주사 용수와 1:3의 비율로 희석하여 33% DMSO에서 펩티드 당 0.826 mg/ml의 농도를 달성한다. 희석된 용액을 0.22마이크론 무균 필터를 통해 여과시킨다. 최종 벌크 용액을 얻는다.

[0373] 최종 벌크 용액을 바이알에 채운 다음 사용 때까지 -20° C에서 보관한다. 바이알 하나에는 700 µL의 용액을 함유하고 각 펩티드를 0.578 mg개씩 함유한다. 이 가운데 500 µL(펩티드 당 약 400 µg)는 피내 주사에 응용한다.

발명의 효과

[0374] 암 치료에 유용함에 추가하여, 본 발명의 펩티드는 진단에 유용하다. 펩티드가 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 세포로부터 생성되었고 이러한 펩티드는 정상 조직에서 존재하지 않거나 낮은 수준으로 존재하므로, 이러한 펩티드를 사용하여 암의 존재를 진단할 수 있다.

[0375] 혈액 샘플 내 조직 생검물에서 주장된 펩티드의 존재는 암의 진단 시 병리학자를 도울 수 있다. 항체, 질량 분석 또는 당업계에 알려진 기타 방법의 수단에 의한 특정 펩티드의 검출은 조직 샘플이 악성이나 염증이 있거나 혹은 일반적으로 질병 상태에 있음을 조직학자에게 알려줄 수 있거나 또는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 바이오마커로 사용될 수 있다. 펩티드의 그룹의 존재는 병든 조직의 분류 또는 하위 분류를 가능하게 한다.

[0376] 병든 조직 표본의 펩티드의 탐지는 특히 만약 T 림프구가 작용 이전에 참여하는 것으로 알려져 있거나 기대할 때, 면역계를 포함한 치료의 이익에 대한 결정을 내릴 수 있게 한다. MHC 발현의 손실은 감염된 악성 세포가 면역 감시를 탈출하는 데에서 잘 설명되는 기전이다. 펩티드의 존재는 이 기전이 분석된 세포에서 악용되지 않는 것을 보여준다.

[0377] 본 발명의 펩티드는 펩티드 또는 MHC 분자에 합성된 펩티드에 대한 T세포 반응 또는 항체 반응 같은 펩티드에 대한 림프구 반응을 분석하는데 사용될 수 있다. 이런 림프구 반응은 추가 치료 단계에서 결정을 내릴 때 전조 표지자로 사용될 수 있다. 이런 반응은 또한 림프구 반응을 여러 방법으로, 예를 들면, 단백질 백신, 핵산, 자가 조직 물질, 림프구의 양자 전송을 유도하는 것을 목표로 하는 면역치료 접근방식의 대리 반응 표지자로 사용될 수 있다. 유전자 치료 설정에서, 펩티드에 대한 림프구 반응은 부작용의 평가에서 고려할 수 있다. 림프구 반응의 모니터링은 이식 요법의 후속 시험을 위한 중요한 도구가 될 수도 있다, 예를 들면, 융합의 감지 대 숙주 및 숙주 대 융합 질병.

[0378] 본 발명을 그 바람직한 구현을 설명하는 다음 실시예를 통해 그리고 동반되는 그림을 참조하여 하되 이로써 제한됨이 없이 설명한다. 본 발명의 목적 상, 여기서 인용된 모든 참조문헌은 전문이 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0379]

제1A도 - 제1M도는 상이한 암 조직(검은 점)에서 다양한 펩티드의 과다제시를 보여준다. 상부: 기술적인 반복 측정치의 MS 신호 강도 중간값이 단일 HLA-B*44 양성 정상(회색 점, 그림의 좌측) 그리고 펩티드가 검출된 종양 샘플(검은 점, 그림의 우측)에 대해 점으로 표시되어 있다. 상자는 정규화 신호 강도의 중간값, 25번째와 75번째 백분위수를 표시하는 반면, 수염은 여전히 더 낮은 사분위의 1.5 사분위간 범위(IQR)에 있는 가장 낮은 데이터 점 및 여전히 더 높은 사분위의 1.5 IQR 내에 있는 가장 높은 데이터 점으로 연장된다. 정상 기관은 위험 범주에 따라 순서가 매겨진다(혈액 세포, 혈관, 뇌, 간, 폐: 고위험, 회색 점; 생식 기관, 유방, 전립선: 저위험, 회색 점; 다른 모든 기관들: 중간 위험; 회색 점). 하부: 각 기관에서 상대적 펩티드 검출 빈도가 막대 도표로 표시되어 있다. 패널 아래의 수는 각 기관에 대해 분석한 샘플의 합계 가운데 펩티드가 검출된 샘플 수를 나타낸다(정상 샘플 N = 124, 종양 샘플 N = 159). 한 샘플에서 펩티드가 검출되었지만 기술적인 이유로 정량화할 수 없었다면, 그 샘플은 검출 빈도의 제시에 포함되지만 도면의 상부에는 점으로 표시되지 않는다. 조직(왼쪽에서 오른쪽으로): 정상 샘플: 혈액 세포; bloodvess(혈관); 뇌; 심장; 간; 폐; adrenal gl(부신); 담관; 방광; 골수; esoph(식도); gall bl(담낭); intest. la(대장); intest. sm(소장); 신장; 림프절; nerve cent(중추 세포); nerve periph(말초 신경); 췌장; pituit(뇌하수체); 피부; 척수; 비장; 위; 갑상선; 기관; 종양 샘플: AML(급성 골수성 백혈병); BRCA(유방암); CCC(담관세포 암종); CLL(만성 림프구성 백혈병); CRC(결장직장암); GBC(담낭암); GBM(아교모세포종); GC(위암); HCC(간세포 암종); HNSCC(두경부 편평세포 암종); MEL(흑색종); NHL(비호지킨 림프종); NSCLCadeno(비소세포 폐암 선암종); NSCLCother(NSCLCadeno이나 NSCLCsquam으로 분명히 지정될 수 없는 NSCLC 샘플); NSCLCsquam(편평세포 비소세포 폐암); OC(난소암); OSCAR(식도암); PACA(췌장암); PRCA(전립선암); RCC(신세포 암종); SCLC(소세포 폐암); UBC(방광 암종); UEC(자궁 및 자궁내막 암). 제1A도: 유전자 부호: KRT13, KRT17, 펩티드: TELEVKIRDW (서열 식별 번호: 196), 제1B도: 유전자 부호: VCAN, 펩티드: VEAATVSKW (서열 식별 번호: 225), 제1C도: 유전자 부호: EGFR, 펩티드: QEILHGAVRF (서열 식별 번호: 253), 제1D도: 유전자 부호: TRPS1, 펩티드: VEEISRHY (서열 식별 번호: 283), 제1E도: 유전자 부호: KRT16, 펩티드: AEKNRRDAETW (서열 식별 번호: 305), 제1F도: 유전자 부호: ZNF761, ZNF765, 펩티드: EEC DKAYSF (서열 식별 번호: 364), 제1G도: 유전자 부호: RTP4, 펩티드: QEAKPRATW (서열 식별 번호: 409), 제1H도: 유전자 부호: PRDM15, 펩티드: NEVDGEYRY (서열 식별 번호: 452), 제1I도: 유전자 부호: FGD6, 펩티드: SESKVFQLL (서열 식별 번호: 453), 제1J도: 유전자 부호: TRPM8, 펩티드: DEIFTNDRRW (서열 식별 번호: 3), 제1K도: 유전자 부호: ALPP, ALPL2, 펩티드: AEALGAACKL (서열 식별 번호: 4), 제1L도: 유전자 부호: NLRP4, 펩티드: NESDRLVYF (서열 식별 번호: 16) 및 제1M도: 유전자 부호: RGS13, 펩티드: MEHSDENIQFW (서열 식별 번호: 19).

제2A도-제2U도는 여러 암 샘플에서 과발현된 본 발명의 출처 유전자에 대한 예시적 발현 프로파일을 보여준다. 종양(검은 색 점) 및 정상(회색 점) 샘플은 원발 장기에 따라 그룹화되어 있다. 상자 수염 도표는 FPKM 중간값, 25번째와 75번째 백분위수(상자) 그리고 여전히 더 낮은 사분위의 1.5 사분위간 범위(IQR)에 있는 가장 낮은 데이터 점 및 여전히 더 높은 사분위의 1.5 IQR 내에 있는 가장 높은 데이터 점으로 연장되는 수염들을 나타낸다. 정상 기관은 위험 범주에 따라 순서대로 나와 있다. FPKM: 킬로베이스 당 및 매핑된 리드 백만개당 단편. 정상 샘플: 혈액 세포; bloodvess(혈관); 뇌; 심장; 간; 폐; adipose(지방 조직); adrenal gl(부신); 담관; 방광; 골수; esoph(식도); 눈; gall bl(담낭); 두경부; intest. la(대장); intest. sm(소장); 신장; 림프절; nerve perith(말초 신경); 췌장; parathy(부갑상선); perit(복막); pituit(뇌하수체); 흉막; skel. mus(골격근); 피부; 비장; 위; 갑상선; 기관; 요관; 유방; 난소; 태반; 전립선; 고환; 흉선; 자궁. 종양 샘플: AML(급성 골수성 백혈병); BRCA(유방암); CCC(담관세포 암종); CLL(만성 림프구성 백혈병); CRC(결장직장암); GBC(담낭암); GBM(아교모세포종); GC(위암); HCC(간세포 암종); HNSCC(두경부 편평세포 암종); MEL(흑색종); NHL(비호지킨 림프종); NSCLCadeno(비소세포 폐암 선암종); NSCLCother(NSCLCadeno이나 NSCLCsquam으로 분명히 지정될 수 없는 NSCLC 샘플); NSCLCsquam(편평세포 비소세포 폐암); OC(난소암); OSCAR(식도암); PACA(췌장암); PRCA(전립선암); RCC(신세포 암종); SCLC(소세포 폐암); UBC(방광 암종); UEC(자궁 및 자궁내막 암). 제2A도: 유전자 부호: MAGEA4, 펩티드: KEVDPASNTYTL (서열 식별 번호: 1), 제2B도: 유전자 부호: KLK2, 펩티드: EEFLRPSL (서열 식별 번호: 2), 제2C도: 유전자 부호: MAGEA3, 펩티드: ELMEVDPIGHLY (서열 식별 번호: 8), 제2D도: 유전자 부호: MMP12, 펩티드: EMPGGPVW (서열 식별 번호: 14), 제2E도: 유전자 부호: ESR1, Peptide: AEPPILYSEY (서열 식별 번호: 34), 제2F도: 유전자 부호: MAGEA1, Peptide: AETSYVKVLEY (서열 식별 번호: 84), 제2G도: 유전자 부호: PRAME, Peptide: QTLKAMVQAW (서열 식별 번호: 86), 제2H도: 유전자 부호: CTAG1A, CTAG1B, Peptide: KEFTVSGNIL (서열 식별 번호: 88), 제2I도: 유전자 부호: MAGEB2, Peptide: EESLLSSWDF (서열 식별 번호: 91), 제2J도: 유전자 부호: MAGEA10, MAGEA4, MAGEA9, MAGEA9B, Peptide: GEPRKLLTQDW (서열 식별 번호: 418), 제2K도: 유전자 부호: MAGEC2, 펩티드: VEFLLLY (서열 식별 번호: 5), 제2L도: 유전자 부호: ACP, 펩티드: AELVGPVPIQDW (서열 식별 번호: 6), 제2M도: 유전자 부호: MAGEA10, 펩티드:

드: KEVDPTGHSF (서열 식별 번호: 12), 제2N도: 유전자 부호: CTAG2, 펩티드: MEAELVRRI (서열 식별 번호: 15), 제20도: 유전자 부호: MMP1, 펩티드: REYNLHRVA (서열 식별 번호: 23), 제2P도: 유전자 부호: FLT3, 펩티드: REYEYDLKW (서열 식별 번호: 32), 제2Q도: 유전자 부호: SSX3, SSX4, SSX4B, 펩티드: SEKIVYVY (서열 식별 번호: 43), 제2R도: 유전자 부호: ANKRD28, 펩티드: DEVRALIF (서열 식별 번호: 48), 제2S도: 유전자 부호: MAGEB1, 펩티드: EDNPSGHTY (서열 식별 번호: 52), 제2T도: 유전자 부호: PAK1IP1, 펩티드: YEQVLFGF (서열 식별 번호: 63) 및 제2U도: 유전자 부호: DNAH17, 펩티드: EEYQDSFERY (서열 식별 번호: 64).

제3도는 건강한 HLA-B*44+ 공여자에서 펩티드 특이적 시험관 내 CD8+ T세포 반응의 예시적 결과를 보여준다. 서열 식별 번호 469 펩티드(SEAFPSRAL)(A, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 512 펩티드(AEPLVGQRW)(B, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 9 펩티드(MEVDPIGHLYIF)(C, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 11 펩티드(EENIVAIGI)(D, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 17 펩티드(SEIYQPRGF)(E, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 35 펩티드(FTSDTGLEY)(F, 왼쪽 패널) 또는 서열 식별 번호: 41 펩티드(EENTGKTYF)(G, 왼쪽 패널)와의 복합체에서 항-CD28 mAb 및 HLA-B*44로 싸 코팅된 인공 APC를 사용하여 CD8+ T세포를 초회감작시켰다. 세 주기의 자극 후, B*44/ 서열 식별 번호: 469 (A), B*44/ 서열 식별 번호: 512 (B), B*44/ 서열 식별 번호: 9 (C), B*44/ 서열 식별 번호: 11 (D), B*44/ 서열 식별 번호: 17 (E), B*44/ 서열 식별 번호: 35 (F) or B*44/ 서열 식별 번호: 41 (G)을 사용한 2D 다합체 염색에 의해 펩티드 반응성 세포의 검출을 수행했다. 오른쪽 패널(A - G)은 관련이 없는B*44/펩티드 복합체로 자극한 세포의 대조 염색을 보여준다.. 생존 가능한 단일 유리(singlet) 세포를 CD8+ 림프구에 대해 가두었다. 부울 게이트는 다른 펩티드에 대해 특이적인 다합체로 검출된 허위 양성 사건의 배제에 도움이 되었다. CD8+ 림프구 가운데 특이적 다합체+ 세포의 빈도가 표시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0380]

실시에

[0381]

실시에 1

[0382]

세포 표면에 제시한 중양 연관 펩티드의 동정 및 정량화

[0383]

조직 샘플

[0384]

환자의 중양 조직은 다음으로부터 얻었다: Asterand (Detroit, MI, 미국 & Royston, Herts, 영국), Bio-Options Inc. (Brea, CA, 미국), BioServe (Beltsville, MD, 미국), Conversant Bio (Huntsville, AL, 미국), Geneticist Inc. (Glendale, CA, 미국), Kyoto Prefectural University of Medicine (KPUM) (Kyoto, 일본), Osaka City University (OCU) (Osaka, 일본), University Hospital Heidelberg (Heidelberg, 독일), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 미국), Stanford Cancer Center (Stanford, CA, 미국), Tissue Solutions Ltd (Glasgow, 영국), University Hospital Bonn (Bonn, 독일), University Hospital Geneva (Geneva, 스위스), 및 University Hospital Tübingen (Tübingen, 독일)

[0385]

정상 조직은 다음으로부터 얻었다: Asterand (Detroit, MI, 미국 & Royston, Herts, 영국), BioServe (Beltsville, MD, 미국), Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, 미국), Centre for Clinical Transfusion Medicine Tübingen (Tübingen, 독일), Geneticist Inc. (Glendale, CA, 미국), University Hospital Heidelberg (Heidelberg, 독일), Kyoto Prefectural University of Medicine (KPUM) (Kyoto, 일본), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 미국), Tissue Solutions Ltd (Glasgow, 영국), 및 University Hospital Tübingen (Tübingen, 독일)

[0386]

수술이나 부검 전에 모든 환자의 동의서가 제출되었다. 조직은 절제 후 즉시 충격동결한 다음 TUMAP의 분리까지 -70° C 이하에서 보관했다.

[0387]

조직 샘플에서 HLA 펩티드의 분리

[0388]

충격 냉동된 조직 샘플의 HLA 펩티드 풀은 약간 변형된 프로토콜(Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999)에 따라 고정 조직의 면역 침전에 의해 HLA-A*02-특이 항체 BB7.2, HLA-A, -B, -C-특정 항체 W6/32, HLA-DR 특이 항체 L243 및 HLA DP 특이 항체 B7/21, CNBr 활성화 세파로오스, 산 처리 및 한외 여과를 이용해 취득되었다.

[0389] 질량분광 분석

[0390] 얻어진 HLA 펩티드 풀은 그들의 소수성에 의해 역상 크로마토그래피를 이용하여 분리되었고(nanoAcquity UPLC system, Waters) 녹여서 분리하는 펩티드는 ESI 소스를 갖춘 LTQ-velos 및 융합 하이브리드 질량 분석기(ThermoElectron)에 의해 분석되었다. 펩티드 풀은 분당 400nL의 유량을 적용하여 1.7 μ m C18 역상 물질(Waters)로 충전된 합성-실리카 마이크로-모세관 칼럼(75 μ m i.d. x 250 mm)에 바로 로딩된다. 이어서, 펩티드는 2단계 180분-10% ~ 33%의 이진 기울기를 이용하여 분리되고, 여기서 유량은 분당 300nL이다. 기울기는 용매 A(물의 0.1% 포름산)와 용매 B(아세트오니트릴의 0.1% 포름산)로 이루어져 있다. 금이 입혀진 유리 모세관(PicoTip, New Objective)이 미세-ESI 소스로의 도입에 사용되었다. LTQ-Orbitrap 질량 분석기가 TOP5 전략을 이용한 데이터-의존 모드에서 작동되었다. 간략하게, 스캔 사이클은 오비트랩(orbitrap)의 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. 랜덤 질량 스펙트럼은 고정된 위발견율($q \leq 0.05$) 및 추가의 수동 제어로 SEQUEST에 의해 해석했다. 동정된 펩티드 서열이 불확실한 경우, 그것은 서열이 동일한 합성 표준 펩티드의 조각화 패턴과 생성된 천연 펩티드의 조각화 패턴과 비교하여 이를 추가로 검증하였다.

[0391] 비표지 상대적 LC-MS 정량화는 이온 계측 즉, LC-MS 특징들의 추출 및 분석으로 수행했다(Mueller et al., 2007). 이 방법은 펩티드의 LC-MS 신호 영역이 샘플 내의 풍부함과 상관관계가 있음을 가정으로 한다. 추출된 특징들은 전하 상태 디킨볼루션 및 정제 시간 정렬로 추가 처리되었다(Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008). 마지막으로 모든 LC-MS 특징들은 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. 그리하여 동정된 펩티드는 하나씩 정량 데이터와 연관시키며 샘플과 조직 사이의 상대적 정량화를 허용할 수 있다. 그 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 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 샘플을 정상 조직 샘플의 기준선에 병치한다.

[0392] 예시적인 과다제시된 펩티드의 제시 프로필이 제1도에 나와있다. .

[0393] 표 8은 선택된 펩티드에 대한 다양한 암 객체 상의 제시, 그리고 표시된 암의 진단 및/또는 치료에 대해 언급된 펩티드의 특별한 관련성을 보여준다(예:전립선암(PRCA)은 펩티드 서열 식별 번호 2, 담낭암(GBC), 흑색종(MEL), 비호지킨 림프종(NHL)은 서열 식별 번호 16).

[0394] [표 8]

[0395] 객체에 걸쳐 본 발명의 선택된 중앙연관 펩티드 제시의 개요.

[0396] AML: 급성 골수성 백혈병; BRCA: 유방암; CCC: 담관세포 암종; CLL: 만성 림프구성 백혈병; CRC: 결장직장암; GBC: 담낭암; GBM: 아교모세포종; GC: 위암; HCC: 간세포 암종; HNSCC: 두경부 편평세포 암종; MEL: 흑색종; NHL: 비호지킨 림프종; NSCLCadeno: 비소세포 폐암 선암종; NSCLCother: NSCLCadeno 또는 NSCLCsquam으로 분명히 지정될 수 없는 NSCLC 샘플; NSCLCsquam: 편평세포 비소세포 폐암; OC: 난소암; OSCAR: 식도암; PACA: 췌장암; PRCA: 전립선암; RCC: 신세포 암종; SCLC: 소세포 폐암; UBC: 방광 암종; UEC: 자궁 및 자궁내막암.

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
1	KEVDPASNTYTL	NSCLCsquam
2	EEFLRPRSL	PRCA
3	DEIFTNDRRW	PRCA
4	AEALGAARKL	UEC
5	VEFLLLY	HCC
6	AELVGFVIPQDW	PRCA
7	SESDLVNFI	PRCA
8	ELMEVDPIGHL	OSCAR
9	MEVDPIGHL	GBC, HCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR
10	SEYPTKNYV	NSCLCaden
11	EENIVAIGI	PRCA
12	KEVDPTGHSF	GBC, MEL
13	VEAQDRETW	RCC
14	EMPGGPFVW	CRC, UBC
15	MEAEVLRRI	MEL
16	NESDRLVYF	GBC, MEL, NHL
17	SEIYQPRGF	NHL
18	QEAPRPASSL	NSCLCsquam
19	MEHSDENIQFW	NHL
20	LEALLSDF	BRCA, CRC, GC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, UBC, UEC
21	SEAKEIKSQL	BRCA
22	TEEITEGVW	AML, CLL, HNSCC, NSCLCaden
23	REYNLHRVA	HNSCC
24	EELALRIGL	CCC
25	SEKEPGQQY	HCC
26	EESSSPVDEY	GBC, RCC
27	GETCVRITY	MEL
28	QEFPAHSL	CLL

[0397]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
29	TENPKKFKI	MEL
30	EEFCFSVRF	AML
31	MESAKETRY	BRCA, UEC
32	REYEYDLKW	AML
33	IEYENQKRL	AML
34	AEPILYSEY	UEC
35	RELVHMINW	BRCA, UEC
36	LEQASRIWSW	MEL
37	IEQGRVVLW	GBC, NHL
38	DEVRFKGNKY	OSCAR
39	AEAMGKFKQCF	UEC
40	REVDPDSDYVF	MEL
41	EENTGKTYF	HNSCC, OSCAR
42	SEENTGKTYF	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR
43	SEKIVYVY	HCC
44	SEFGAPRW	CCC
46	SELGLPKEV	HNSCC
47	TEVHSSPAQRW	NHL, UBC
48	DEVRALIF	HCC
49	SEYVHSSF	BRCA
50	SEYVHSSFSGF	NSCLCadenoc
51	VENTGKHQL	AML
52	EDNPSGHTY	GBC, NHL
53	KEDNPSGHTY	NHL
54	QEISAHRTF	CLL
55	TEPHMQFSY	CLL
56	ALEGGGYIF	HCC
57	SEATHITI	AML, FACA
58	KEMDPSRQSY	HCC
59	AEIEADRSYQ	HNSCC
60	EEAVRSVAF	CLL, NHL
61	AEYSVHKI	FACA
62	AEYSVHKITSTF	HNSCC
63	YEQVLFGF	CLL
64	EEYQDSFERY	HNSCC, OSCAR
65	SESMVESKF	MEL, NSCLCadenoc
66	AEVTLNNTI	NSCLCadenoc

[0398]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
67	TEGAVEVKY	HCC
68	NEIDIHSIYF	OSCAR
69	DENIQKFIW	HNSCC, UBC
70	AEAEEMKRL	HNSCC
71	AEVGDIHKV	NSCLCadenos, PACA
72	AEVGDIHKVHF	HCC
73	GEGTLRLSW	MEL
76	LETSCGSSTAY	NSCLCadenos
76	RLNEHPSNNW	PACA
77	QETLAESTW	NHL
78	TEFSNHINL	BRCA
79	TEAQRDCW	MEL
80	TEQSLYYRQW	MEL
81	GEKATMQNL	NSCLCsquam, UBC
82	AVFDESKSW	HCC, OSCAR
83	TEGGTQKTF	CCC, HCC, NHL, OSCAR
84	AETSYVKVLEY	GBC
89	KEFYPVKEF	OC
92	KEFSQSCIAQY	OSCAR
93	SEAGLTANQY	NHL
94	SLAELIAKDW	CCC, HCC, UBC, UEC
96	AAFEDAQGHIW	PACA
96	MDELEEGESY	NHL
97	ELVHMINW	BRCA
98	SEESAGPLL	BRCA
99	SECVKSLSF	BRCA
100	QGDVVDYSFY	AML
101	SEENTGKTY	OSCAR
102	TELADLDAAW	OC
103	AELFLTKSF	HNSCC, NSCLCsquam
104	EVHSSPAQRW	UBC
106	SVISDSPRSW	OSCAR
107	YQENPRAAW	MEL, PACA
108	QETNKVETY	OSCAR
109	AFSPAAGNTW	CCC
110	EVEVGEVKSW	HCC
112	AEIEADRSYQH	HNSCC, OSCAR

[0399]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
113	MEFKTLNKN	MEL
115	QEPFTRPVL	NSCLCsquam
118	SEVPVDSHY	GBC
120	VTEGAVEVKY	AML, BRCA, CRC, NSCLCaden, OC
121	YENIPVDKV	MEL
122	GESVSWHLF	HNSCC
123	DEINHQS	NHL
126	SEASQSPQY	UEC
128	TELTEARVQVW	MEL
129	EEAMKRLSY	HNSCC, OSCAR
131	RESHLTEIRQY	BRCA, PRCA
133	IEAPKLMVV	HNSCC, MEL, NSCLCaden
134	IEIKDRLQL	CLL
135	QEIDRGQYI	MEL
136	EEMPEEHL	HNSCC, OSCAR
137	EKGLISAF	SCLC
138	KEAPNIVTL	BRCA
139	AESDFSNNML	MEL
141	SEKWFRMGF	AML
142	QELFLHPVL	NHL
143	HEIRSHW	CRC, HCC, UEC
144	IEAYLERIGY	BRCA
145	EELRMLSF	CLL
146	MEELRMLSF	CLL
147	RMLSFQMTW	NHL
148	KESDAGRY	CLL, NHL
149	AETEPERHLG	CLL
151	TELQPSF	RCC
152	HENLIEDF	HCC, OSCAR
153	IEILLSGSL	PACA
155	TEDARHPESW	CLL, NHL
156	DAIPPTLTW	UBC
158	VEEERYTGQW	UBC
159	EEVQDGKVI	CCC, HNSCC, NSCLCaden, OSCAR, PACA
160	AEIATTGQLY	GBM, MEL
161	GESSEVKAVL	AML
162	EAYDIELNKW	OSCAR, UBC

[0400]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
164	DEDGKIVGY	HCC
165	EEIEAHIAL	AML, CCC
166	EEQDFINNRY	GBM
167	AETENRYCV	PACA
168	EEGFSVPKIY	CLL, NHL
169	KEHNSSVPWSS	RCC
171	WEVVHTVF	GC, NSCLCsquam, OSCAR
172	RENFGMFSW	MEL
174	DENDAGNLITF	OSCAR
175	NLKSPIPLW	GBM, MEL, PACA, UBC
176	GETQQHIQL	NSCLCsquam
177	LEEPMFFFY	OSCAR
178	MEGAALLKIF	PACA
179	EEHIFSAF	NHL, NSCLCsquam, OSCAR
180	EEHSSKLQTSI	UBC
181	HEVAQDDHL	UBC
182	EELHAALSEW	CRC, GBC, GC
183	KEMQVTISQQL	NSCLCaden
184	EEQLLQKVM	AML
185	TEANVQALF	CLL, NHL
186	EEIFAHGL	AML
187	TEQALRLSV	PACA
188	AEFVFKADLL	NSCLCsquam
191	AEHDMKSVL	NHL
192	LEIMTNLVTL	BRCA
195	MEIKGTVTEF	GBC
196	TELEVKIRDW	BRCA, GBC, HNSCC, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC
197	NEILTIHF	BRCA, GC, HCC, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR
198	REEEANVVL	CCC, HCC, NSCLCsquam, UBC
199	AELPENLKALF	HNSCC
200	KELSVFKKF	CLL, NHL
203	REILHAQTL	CLL, NHL
204	YERPTLVEL	AML, CLL
206	SEDPEKYYL	CCC, NSCLCsquam
207	LEGGGRGGEF	BRCA, OSCAR
208	SEFLLRIF	BRCA

[0401]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 체시
209	AEGEPPPAL	UBC
210	AEGEPPPALAW	NHL, UBC
211	LEMLDAHRL	BRCA
213	DEDLFHKL	OSCAR
215	SAMWIQLLY	MEL
216	AGSPVMRKW	NSCLCsquam
217	EVEVGDRTDW	UEC
218	REAREKEAQL	CLL
219	WEVEVGDRTDW	CLL, MEL, NHL, NSCLCaden, RCC
221	KEAFGPQAL	NSCLCsquam
223	SEVEGLAFV	NSCLCaden, PACA
225	VEAATVSKW	BRCA, CCC, CRC, GBC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, OC, OSCAR, RCC, SCLC, UEC
227	ALTEDSIDDTF	GBM
229	AEDLEKKYA	CCC, CLL, MEL, PACA, UEC
230	AEALVDGKW	UBC
231	AEALVDGRWQEF	UBC
232	YEIRAEAL	UBC
233	QEDKATQTL	CLL
234	TEEFQRLFY	BRCA, HCC, MEL, NSCLCaden, OC, OSCAR, RCC
236	LEDQLKPMLEW	MEL
237	QEIGQKTSV	MEL
238	VEDDNYKLSL	BRCA, CLL
239	DEDYTYLIL	CCC
240	MELQVSSGF	CLL
241	QELLDIANYL	CCC, HCC
242	CDAQIQYSY	AML
243	VEQINISQDW	CRC, HNSCC
244	VESSQAFTW	HNSCC
245	MEFQGPMPAGM	NSCLCsquam
246	HEHGLFNLY	MEL
247	KESMLKTTL	HCC
248	KESQLPTVMDF	HCC
249	YEMAIYKKY	MEL, PRCA
251	DESADSEPHKY	NHL
252	EEFIGKIGI	AML, BRCA, CCC, CLL, CRC, GBC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR,

[0402]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
		PACA, PRCA, RCC, SCLC, UBC, UEC
253	QEILHGAVRF	CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, PRCA, RCC, UBC
254	QEVAGYVLI	NSCLCadenos
255	KQWEYNEKLAF	GBM
256	RLLPKGKVVW	PACA
258	IEVSSPITL	CCC, HCC, NSCLCadenos
259	IEVSSPITLQAL	CCC, NSCLCadenos, OC
260	VELMFPPLL	BRCA
261	QEWDPQKTEKY	CCC, UEC
262	YENILNAI	GC
264	RELIKAIGL	BRCA
265	EDNLIHKF	GBC, HNSCC, OC, PACA
266	EEEDRDGHTW	GBC, UBC
267	VELEVPQL	GC, HCC
268	EDLAVHLY	CLL
269	SEDLAVHL	CLL
270	VLRPPGSSW	UBC
271	REDLVGPEV	CLL
272	SEQNIQRANLF	CCC, HCC
273	TEFELLHQV	GC
274	DEIDKLTGY	GC, HCC, PRCA
275	GEQPPEGQW	CLL
277	VEFPATRSI	AML
278	DQVTVFLHF	UBC
279	GEFVTQPGSLI	CLL
280	AAEPLVGQRW	RCC
281	HEIPQESL	NSCLCsquam, OSCAR
282	KEFGIGDLVW	AML, HNSCC, OSCAR
283	VEEEISRHY	BRCA, CCC, CLL, CRC, GBC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UBC, UEC
284	SQYPHTHTF	CLL
286	DELSVGRY	CRC, OSCAR, PRCA
287	REVSVDIL	HCC
288	TEHFLKKFF	HCC

[0403]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
289	NRVTNVAY	GBM
290	AECILSKRL	BRCA, HNSCC
291	DEQLLLRF	CRC, OSCAR
292	HELALRQTV	OSCAR
293	QEDELQLLRF	CRC, OSCAR
294	EEWEWIQKL	GBM, HCC, PACA, UEC
295	QELEQEVISL	CLL
296	AETIFIVRL	OC
297	DEYLIPQQGFF	GC, HCC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR
298	KEVASNSEL	NSCLCsquam
299	AEVQIARKL	CLL, CRC, GBC, HCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, OC, OSCAR, RCC, UEC
300	KQTEATMTF	CCC
301	AERIMFSDL	OSCAR
302	EGEDAHLTQY	NSCLCsquam
303	GEDAHLTQY	HNSCC, NSCLCsquam
304	RELGFTEATGW	CCC, CRC, GBC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, RCC, UBC, UEC
305	AEKNRRDAETW	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC
306	RRHPSFKRF	GBC
307	YEQLLKVVVTW	CRC, NHL, UBC, UEC
308	EEPKIDFRVY	BRCA, CCC, CRC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC
309	SDDLNRVTW	BRCA, NSCLCadenos
310	FELECPVKY	CLL, NSCLCsquam
312	KEWEREKAVSL	UBC
313	EEINQGGRKY	CLL, CRC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam
314	EMREERKF	NSCLCadenos, NSCLCsquam
315	MEQQSQEY	OSCAR
316	RLWPEPENW	GBM
317	TEFQQIINL	CLL
318	SESSSFLKV	PACA
319	YEWEPFAEV	NSCLCadenos
320	AENPLNIFY	CCC, GBM, NHL, NSCLCsquam
321	AENPLNIFYI	AML, NHL, NSCLCsquam
322	REESDWHYL	BRCA

[0404]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
323	SETAVVNVTV	GBC, NSCLCadenos
324	QELSSIRQF	NHL
325	AEQEIMKKV	GBC
326	RELLDFSSW	CRC, MEL, UBC, UEC
327	SEQHSLPVF	NSCLCsquam
328	HENGVLTKF	NSCLCadenos, NSCLCsquam
329	SEPQITVNF	BRCA, GBC
330	SEHLFGTSY	GC
331	KELEATKQYL	NSCLCsquam, OSCAR
332	SEADWLRFW	AML, BRCA, CCC, CLL, CRC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UBC, UEC
333	SEGTLPYSY	GC, NSCLCsquam, OSCAR
334	LEWQNSSSM	NHL
335	SETPTLQGL	HCC
336	QEVNLSLHY	BRCA, CRC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR
337	VEVIPEGAML	CLL
338	AEMKFYVVI	NHL, OC
339	NEVKEIKGY	OC
340	GELAPSHGL	PRCA
341	HELESENKKW	AML, NHL, NSCLCsquam, OSCAR
342	SENKKWVEF	CLL, CRC, NHL, NSCLCsquam
343	SEFDLEQVW	HNSCC, NHL, NSCLCsquam
344	DEIRVFGY	HCC
345	AEYQAAILHL	MEL
346	EEHENLQAQF	MEL
347	LENPHVQSV	AML
348	SEVLLTSISTF	NSCLCadenos
349	LEWQHPSSW	AML
350	EEMLENVSL	CCC, HCC
351	EEGRVYVY	GC, NSCLCsquam, OSCAR, PRCA
352	QEDELVKIRKY	BRCA, CCC, CRC, HCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, SCLC, UEC
353	AETEEGIYW	HNSCC
354	TEIMEKTTL	CCC
355	SETSTGTSTV	NSCLCadenos, PACA

[0405]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
356	TEAVLNRY	GC, NSCLCsquam, OSCAR
357	AELMDKPLTF	CRC, NSCLCaden
358	TEFHGGLHY	BRCA, CRC, GC, HCC, HNSCC
359	NEFRRLTF	SCLC
360	DEMENLLTY	BRCA, CLL, HCC, NHL, NSCLCsquam, OSCAR, PRCA, UEC
361	EDASLMGLY	GBM
362	SEVEYINKY	OC
363	EECDKAFHF	BRCA, CCC, CLL, CRC, GC, HNSCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, UBC
364	EECDKAYSF	BRCA, CCC, CLL, CRC, GC, HCC, HNSCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UBC, UEC
365	NESGKAFNY	BRCA, CCC, CLL, CRC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UBC, UEC
366	EECGKAFKKF	CLL
367	TEFAVKLKI	NSCLCaden
368	KEKVPGITI	AML, MEL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA
369	KELEERMLHW	HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden
370	EEVLLANALW	CLL, CRC, HCC, NHL, UBC
371	NEIGQELTGQEW	BRCA, CCC, CRC, GBM, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC
372	EEYKFPSLF	BRCA, CLL, CRC, OC
373	REDPIVYEI	MEL, NSCLCaden, UBC
374	NEAEWQEIL	CLL
375	HEATFGEKRF	CCC, GBC, HNSCC, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, UEC
378	QELFLQEV RM	BRCA, CRC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PRCA
379	AENRVGKMEA	CLL
380	EECGKAFRVF	CLL, CRC, NHL
381	QELMAFSFAGL	OSCAR
382	SELNPLALY	HNSCC

[0406]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
383	EEMERDLDMY	CLL, MEL, NHL, NSCLCsquam, UEC
384	LDGIPTAGW	CLL, NHL
385	LEHPFLVNLW	CLL, RCC
387	GEVQENYKL	NSCLCsquam
388	VEIVTIPSL	CLL, UEC
389	DEQRRQNVAY	CRC, MEL, OSCAR
390	GEYNKHAQLW	OC
391	TESIGAQIY	OC
392	TEVSVLLTTF	OC
393	SETILAVGL	BRCA, CLL, HCC, NSCLCsquam
394	SEILRVTLY	AML, CRC, HCC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, PAPA
395	AEDFVWAQW	CLL, CRC, HCC, NHL, NSCLCsquam
396	MELLFLDTF	CLL, NHL
397	EECGKAFSVF	CLL
398	AEIIRYIF	AML
399	IEQADWPEI	NSCLCadenos
400	TEGLFGVW	HNSCC, NSCLCadenos
401	VENIFHNF	BRCA, GC, HCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR
402	IETSSEYFNF	BRCA, CRC, HNSCC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, PAPA, UBC, UEC
403	QESVHVASY	AML, BRCA, CLL, GBM, NHL, PAPA, UEC
404	AEREQVIKL	AML
405	YEHAFNSIVW	RCC
407	MEFQNTQSY	BRCA, CLL, GC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR
408	AFSLLSAIFY	NSCLCsquam
409	QEAKPRATW	BRCA, CCC, CLL, CRC, GBC, GC, HCC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, PRCA, UBC
410	RELEEFYSL	CLL
411	AERDLNVTI	NSCLCadenos, PAPA
412	EESFDSKFY	CLL, CRC, HNSCC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, PAPA
414	AEGYLDLDGI	NSCLCadenos
415	EEAGFPLAY	HNSCC
416	DELMRKESQW	CLL, CRC, MEL, NHL, NSCLCsquam, UBC, UEC

[0407]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
417	EESFRCLPEW	NHL
418	GEPRKLLTQDW	HNSCC, NSCLCaden
419	SELSLLSLY	PRCA
420	MEVDFIGHVY	NSCLCsquam
421	TEDYSKQAL	CCC, NSCLCsquam, UBC
422	EEAQWVRKYF	CLL, CRC, NHL, UBC
423	KEANLLKKNY	BRCA, CLL, HNSCC, NHL
424	EEHVYESIIRW	CLL, CRC, NHL
425	KEVDPASNTY	OSCAR
426	AESLFREAL	HNSCC, NSCLCsquam
427	AEMLGSVVGNW	NSCLCaden
429	RETEDYSKQAL	CCC, NSCLCsquam
430	RELARVVTI	SCLC
431	QELLDFTNW	SCLC
432	TEENGFWYL	BRCA
433	AEEGPSVPKIY	CLL, NHL
434	AEQQQQQMY	NHL
435	FETEQALRL	NSCLCaden, NSCLCsquam, PACA, UBC
436	AEADLSYTWDF	MEL
437	HEDPSGSLHL	BRCA, UBC
438	AELDSKILAL	BRCA, NSCLCsquam, OC
439	VEVGDRTDW	NHL
440	QEVAQVASA	HNSCC
441	QEVAQVASAIL	CCC, NSCLCsquam, UBC
442	KESDAGKYY	CLL
443	EEYAGQITL	CLL
444	SESALQTVI	CCC, NSCLCaden, UBC
445	QEVGEITNL	CCC, NSCLCsquam, UBC
446	AENIKKFLY	CRC, HCC, MEL, NSCLCsquam, PRCA, RCC
447	KEFGLDSVEL	CCC, HCC
448	ALSPVPSHW	CLL, NHL
449	RENDFEPKF	NHL
450	REIENGNSF	AML, CRC, GBC, HNSCC, NSCLCaden, NSCLCsquam, PACA
452	NEVDGEYRY	BRCA, CCC, CRC, GBC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UBC, UEC

[0408]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
453	SESKVFQLL	BRCA, CCC, CRC, HCC, HNSCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA
454	SESSAFQF	MEL, NHL
455	QESVHVASYW	CLL, UBC, UEC
456	SESPIRISV	NSCLCsquam, OSCAR, PACA

[0409]

[0410]

실시예 2

[0411]

본 발명의 펩티드를 인코딩하는 유전자의 발현 프로파일

[0412]

정상 세포와 비교한 종양 세포 상의 펩티드의 과다 제시 또는 특이적 제시는 면역요법에서의 그 유용성에 대해 충분하며 일부 펩티드는 정상 조직에서도 발생하는 그 근원 단백질에도 불구하고 종양 특이적이다. 여전히 mRNA 발현 양상 분석은 면역요법을 위한 펩티드 표적의 선택에서 추가적 안정성 수준을 추가한다. 특히 친화도 성숙 TCR과 같은 안정성 위험이 높은 치료적 옵션의 경우에는, 이상적 표적 펩티드는 종양에 고유하며 정상 조직에는 없는 단백질로부터 유래될 것이다.

[0413]

RNA 원천 및 준비

[0414]

수술로 제거된 조직 검체는 위에서 나타낸 바와 같이(실시예 1 참조) 각각의 환자로부터 동의서를 얻은 다음 제공되었다. 종양 조직 검체는 수술 직후 스냅-냉동되었고 절구와 유봉을 이용하여 액체 질소 환경 아래에서 균질화되었다. 총 RNA는 TRI 시약(Invitrogen, Karlsruhe, 독일)을 이용하여 샘플로부터 만들었으며, 이는 RNeasy(QIAGEN, Hilden, 독일)에 의해 청소되었다; 이 두 가지 방법은 모두 제조업체의 설명서에 따라 실행되었다.

[0415]

RNASeq 실험을 위한 건강한 인체 조직의 총 RNA는 다음으로부터 얻었다. Asterand(Detroit, MI, 미국 &

Royston, Herts, 영국); Bio-Options Inc.(Brea, CA, 미국); Geneticist Inc.(Glendale, CA, 미국); ProteoGenex Inc.(Culver City, CA, 미국); Tissue Solutions Ltd(Glasgow, 영국). RNASeq 실험을 위한 종양 조직의 총 RNA는 다음으로부터 얻었다: Asterand(Detroit, MI, 미국 & Royston, Herts, 영국); BioCat GmbH(Heidelberg, 독일); BioServe(Beltsville, MD, 미국); Geneticist Inc.(Glendale, CA, 미국); Istituto Nazionale Tumori "Pascale"(Naples, 이탈리아); ProteoGenex Inc.(Culver City, CA, 미국); University Hospital Heidelberg(Heidelberg, 독일).

[0416] RNA 샘플의 양과 질은 Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent, Waldbronn, 독일)에 의해 RNA 6000 Pico LabChip Kit(Agilent)를 사용하여 분석되었다.

[0417] RNAseq 실험

[0418] 종양 및 정상 조직 RNA 샘플의 유전자 발현 분석은 CeGaT(Tübingen, 독일)사의 차세대 시퀀싱(RNAseq)으로 수행하였다. 간단히 말하면, 시퀀싱 라이브러리는 제공사의 프로토콜(Illumina Inc., San Diego, CA, 미국)에 따라 Illumina HiSeq v4 시약 키트를 사용하여 준비하며, 여기에는 RNA 분절, cDNA 변환 및 시퀀싱 어댑터 추가가 포함된다. 복수의 샘플에서 유래한 라이브러리들은 동일한 물로 혼합한 다음, Illumina HiSeq 2500 시퀀서에서 그 제조사의 설명에 따라 서열을 결정함으로써 50 bp의 싱글 엔드 리드(single end read)를 생성한다. 처리된 리드는 STAR 소프트웨어를 사용하여 인간 게놈(GRCh38)에 대해 매핑한다. 발현 데이터는 RPKM(백만개 매핑된 리드당 킬로베이스당 리드, Cufflinks 소프트웨어에 의해 생성)으로 전사물 수준 상 그리고 엑손 수준 상(총 리드, Bedtools 소프트웨어에 의해 생성)에서 제공되며, 앙상블 서열 데이터베이스(Ensembl77)의 주석에 기반한다. 엑손 리드는 엑손 길이 및 정렬 크기에 대해 정규화하여 RPKM 수치를 얻는다.

[0419] 제 2 도에는 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암에서 고도로 과발현되거나 배타적으로 발현되는 본 발명의 출처 유전자의 예시적 발현 프로파일 이 나와있다. 추가의 예시적 유전자의 발현 점수가 표 9에 나와 있다.

[0420] [표 9]

[0421] 발현 점수. 이 표는 정상 조직의 패널에 비해 종양에서 매우 고도로 과발현된 유전자로부터의 펩티드들(+++), 정상 조직의 패널에 비해 종양에서 고도로 과발현된 유전자로부터의 펩티드들(++) 또는 정상 조직의 패널에 비해 종양에서 과발현된 유전자로부터의 펩티드들(+)을 나열한다. 이 점수의 베이스라인은 다음의 관련성 있는 정상 조직의 측정치로부터 계산했다: 지방조직, 부신, 담관, 혈액 세포, 혈관, 골수, 뇌, 식도, 눈, 담낭, 심장, 두경부, 신장, 대장, 간, 폐, 림프절, 신경, 부갑상선, 췌장, 뇌하수체, 골격근, 피부, 소장, 비장, 위, 갑상선, 기관, 방광. 동일한 조직 유형에 대해 여러 샘플의 발현 데이터가 있는 경우, 모든 해당 샘플의 산술 평균을 그 계산에 사용했다.

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
1	KEVDPASNTYTL	BRCA, CRC, GC, UEC	HCC, NSCLCadeno	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
2	EEFLRFRSL	CLL		PRCA
3	DEIFTNDRRW	UEC	GBM, MEL, SCLC	PRCA
4	AEALGAARKL	GBC, NSCLCadeno, OSCAR	OC	UEC
5	VEFLLKY	BRCA, GBC, NSCLCadeno, NSCLCsquam, SCLC		HCC, MEL
6	AELVGVPVQDW			PRCA
7	SESDLVNFI		GBM, MEL	PRCA
8	ELMEVDPIGHLY	CRC, NHL, OC, PACA	GBC, NSCLCadeno, UEC	GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC

[0422]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
9	MEVDPIGHLIYIF	CRC, NHL, OC, PACA	GBC, NSCLCadenoc, UEC	GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
10	SEYPTKINYV	HCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UEC	CCC, GC, NSCLCadenoc	GBC, NSCLCother, OC
11	EENIVAIGI	MEL	GBM	PRCA
12	KEVDPTGHSF	HCC, UEC	GBC, GC, HNSCC, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	MEL, UBC
13	VEAQDRETW	NSCLCadenoc, NSCLCsquam, SCLC		RCC
14	EMPGGPVW	HCC, RCC	CCC, GBC, GC, MEL, NHL, NSCLCadenoc, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CRC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, SCLC
15	MEAEVRRRI	GC, HNSCC, NSCLCsquam, OC, UBC	HCC, MEL, SCLC	GBC
16	NESDRLVYF	GBC, GBM, MEL, OC, UBC	CLL	NHL
17	SEIYQPRGF	GBC, GBM, MEL, OC, UBC	CLL	NHL
18	QEAPRPASSL	HCC, MEL, NSCLCother, RCC, SCLC	CRC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC, UEC	BRCA, CCC, PACA
19	MEHSDENIQFW	PACA		NHL
20	LEALLSDLF			PRCA
21	SEAKEIKSQL			BRCA
22	TEEITEGVW			AML

[0423]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
23	REYNLHRVA	CRC, GC, MEL, NSCLCaden, PACA	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
24	EELALRIGL	NSCLCother	GBM, SCLC	
25	SEKEPGQY	GBC	HCC	
26	EESSSPVDEY	BRCA, GBC, SCLC	HCC, MEL	
27	GETCVRTY		MEL	
28	QEPPAHS	NHL	CLL	
29	TENPKKFKI	HCC, OC	CCC, NSCLCaden	
30	EEFCFSVRF		AML	
31	MESAKETRY		BRCA, OC, UEC	
32	REYEYDLKW		AML	
33	IEYENQKRL		AML	
34	AEFFILYSEY		BRCA, OC, UEC	
35	RELVHMNTW		BRCA, OC, UEC	
36	LEQASRIWSW		MEL	
37	IEQGRVVLW	HCC, OSCAR, UBC	GBC, SCLC	
38	DEVRFPGKNGY	CRC, GC, NSCLCaden, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
39	AEAMGKPKQCF		OC, UEC	
40	REVDPPDSYVF	SCLC	HCC, MEL	
41	EENTGKTYF	CRC, GC, NSCLCaden, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
42	SEENTGKTYF	CRC, GC, NSCLCaden, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
43	SEKIVYVY	GBC, OC, SCLC, UBC	HCC, MEL, NHL	
44	SEFGAPRW		HCC, PRCA	
45	EEINELNRM	HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, SCLC	BRCA, GBC, MEL, NSCLCaden, OC, UBC	
46	SELGLPKEV	NSCLCaden, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	

[0424]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
47	TEVHSSPAQRW	AML, CCC, GC, HCC, NHL, OC, PACA, UEC	UBC	
48	DEVRLIF	MEL	AML	
49	SEVHSSF	CRC, NSCLCsquam, OC, UBC, UEC	BRCA, CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadenoc, OSCAR, PACA	
50	SEVHSSFSGF	CRC, NSCLCsquam, OC, UBC, UEC	BRCA, CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadenoc, OSCAR, PACA	
51	VENTGKHQL		AML	
52	EDNPSGHTY	BRCA, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, SCLC	GBC, HCC, NHL	
53	KEDNPSGHTY	BRCA, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, SCLC	GBC, HCC, NHL	
54	QEISAHRTF	NHL	CLL	
55	TEFHMQFSY	NHL	CLL	
56	ALEEGGYIF	BRCA, GBC, GBM, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCother, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CRC, OC	
57	SEATHITI		AML	
58	KEMDPSRQSY		HCC	
59	AEIEADRSYQ	GBC, GC, NSCLCadenoc, NSCLCother, PACA	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
60	EEAVRSVAF	CLL	NHL	

[0425]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
61	AEYSVHKI	GBC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UEC	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
62	AEYSVHKITSTF	GBC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UEC	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
63	YEQVLFGE	UEC	PRCA	
64	EEYQDSFERY	GBC, MEL, SCLC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
65	SESMVESKF		MEL	
66	AEVTLNNTI	NHL	CLL	
67	TEGAVEVKY	CCC	MEL	
68	NEIDIHSIYF	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
69	DENIQKFIW	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
70	AEAEEMKRL	CCC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
71	AEVGDIKV	CCC	HCC	
72	AEVGDIKVHF	CCC	HCC	
73	GEGTLRLSW		MEL	
74	AELEGALQKA	BRCA, GBC, MEL, NSCLCsquam, OC, SCLC	NSCLCaden, UBC	
75	LETSCGSSTAY		MEL	
76	RLNEHPSNNW	GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UBC	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
77	QETLAESTW	AML, HNSCC, NSCLCsquam	HCC, NHL	
78	TEFSNHNL	HCC, OC, SCLC, UEC	BRCA, PRCA	
79	TEAQLDCW		MEL	

[0426]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
80	TEQSLYYRQW	BRCA, HCC, MEL, OC, SCLC, UEC	PRCA	
81	GEKATMQNL	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
82	AVFDESKSW	CCC	HCC	
83	TEGGTQKTF	CCC	HCC	
84	AETSYVKVLEY	BRCA, CCC, OC, UBC	GBC, GC, HNSCC, NHL, NSCLCadenoc, SCLC	HCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR
85	SEIDEKVTDL	HCC, NSCLCadenoc	GBC, GC, HNSCC, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	MEL, UBC
86	QTLKAMVQAW	AML, BRCA, GC, HCC, NHL, OSCAR, UBC	GBC, HNSCC, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, RCC	MEL, OC, SCLC, UEC
87	GEARGDQVDW	CCC, GBC, GBM, NHL, OC, PACA	GC, HNSCC, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	HCC, MEL, SCLC
88	KEFTVSGNIL	GC, HNSCC, NHL, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, UEC	HCC, OC, UBC	GBC, MEL, SCLC
89	KEFYTVKEF	OC		BRCA
90	EESLLSSW	GC, NSCLCadenoc, SCLC	HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCother, OSCAR, PACA	GBC, NSCLCsquam
91	EESLLSSWDF	GC, NSCLCadenoc, SCLC	HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCother, OSCAR, PACA	GBC, NSCLCsquam
92	KEPSQSCIAQY	GBM, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, RCC, UBC, UEC	HNSCC, OSCAR	
93	SEAGLTANQY	CRC, GBM, MEL, NSCLCadenoc, RCC, SCLC	HCC, NHL	

[0427]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
94	SLAELIAKDW	CRC, GBM, MEL, NSCLCaden, RCC, SCLC	HCC, NHL	
95	AAFEDAQGHIV	HCC, OC, RCC, SCLC	BRCA, CCC, CRC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC, UEC	
96	MDELEEGESY		GBM, SCLC	
97	ELVHMDNW		BRCA, OC, UEC	
98	SEESAGPLL	BRCA	UEC	
99	SECVKSLSF	UEC	BRCA, PRCA	
100	QGDVVDYSFY	HCC, OSCAR, UBC	GBC, SCLC	
101	SEENTGKTY	CRC, GC, NSCLCaden, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
102	TELADLDAAW	AML, CCC, HNSCC, NHL, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC, UEC	BRCA, GBC, HCC, MEL, NSCLCaden, OC, SCLC	
103	AELFLTKSF	NSCLCaden, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
104	EVHSSPAQRW	AML, CCC, GC, HCC, NHL, OC, PACA, UEC	UBC	
105	EEIFKTLNY		AML	
106	SVISDSFRSW	NHL	CLL	
107	YQENPRAAW	SCLC	GBM, RCC	
108	QETNKVETY	CCC, NSCLCother, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, RCC	
109	AFSPAAGNTW		GBM	
110	EVEVGEVKS	SCLC	HCC	

[0428]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
111	QEIDQKRLEF	AML, BRCA, GBC, HCC, MEL, NSCLCaden	OC, SCLC	
112	AEIEADRSYQH	GBC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
113	MEFKTLNKN	GBM	RCC	
114	VEVNGVPRW	CCC, OSCAR	MEL	
115	QEPFTRPVL	NHL	CLL	
116	AEANPRDLGASW	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, SCLC	HCC	
117	SEVPVD SHY	CCC	MEL	
118	SEVPVD SHYY	CCC	MEL	
119	VEVKYEGHW	CCC	MEL	
120	VTEGAVEVKY	CCC	MEL	
121	YENIPVDKV	CRC, GBC, NHL, UBC, UEC	BRCA, GC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA	
122	GESVSWHLF	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
123	DEINHQSL	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	

[0429]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
124	NENLDYAIL	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenoc, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	
125	LEV LHQGQW	CCC	MEL	
126	SEASQSPQY		UEC	
127	RYPDENIQKFIW	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
128	TELTEARVQVW		MEL	
129	EEAMKRLSY	CCC, GC, NSCLCadenoc, NSCLCother, PACA, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
130	REYQEV MN SKL	BRCA, GBC, MEL, NSCLCsquam, OC, SCLC	NSCLCadenoc, UBC	
131	RESHLTEIRQY	BRCA, HCC, OC, SCLC, UEC	PRCA	
132	AESPTSGRHYW	BRCA, CCC, GBC, GBM, MEL, NSCLCsquam, OC, RCC, UBC	HNSCC, OSCAR, PACA	
133	IEAPKLMVV		MEL	
134	IEIKDRLQL		CLL, NHL	
135	QEIDRGQYI		MEL	
136	EEMPEEHL	NSCLCother, NSCLCsquam	HNSCC, OSCAR	
137	EKGLISAF	BRCA, CRC, GBC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC	SCLC	
138	KEAPNIVTL	HCC, OC, UEC	BRCA, PRCA	
139	AESDFSNNML		MEL	

[0430]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
140	TEHSGIYSC	NHL	CLL	
141	SEKWFRMGF		AML	
142	QELFLHPVL		CLL, NHL	
143	HEIIRSHW		HCC	
144	IEAYLERIGY		BRCA	
145	EELRMLSF		CLL, NHL	
146	MEELRMLSF		CLL, NHL	
147	RMLSPQQMTW		CLL, NHL	
148	KESDAGRY		CLL, NHL	
149	AETEPERHLG		PRCA	
150	SEVPHVSEA		GBM	
151	TELQIPSF		GBM	
152	HENLIEDF	CCC	HCC	
153	IEILLSGSL	BRCA, HCC, MEL, NSCLCaden, UBC	GBC, OC, SCLC	
154	NEAGEMIKHY	NSCLCaden	MEL	
155	TEDARHPESW		NHL	
156	DAIPPTLTW		MEL	
157	SQDVAGTTF		MEL	
158	VEERYTGQW	AML	UBC	
159	EEVQDGKVI	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
160	AEIATGQLY		GBM	
161	GESSEVKAVL		AML	
162	EAYDIELNKW	NHL	CLL	
163	AEDEDGKIVGY	GBC, MEL	HCC	
164	DEGDKIVGY	GBC, MEL	HCC	
165	EEIEAHIAL	GBM, SCLC	AML	
166	EEQDFNNRY		GBM	
167	AETENRYCV	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
168	EEGFSVPKIY	AML, CLL	NHL, PRCA	
169	KEHNSSVPWSS	NHL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	HNSCC, MEL	
170	REMFVFKDQW	BRCA	GBM, MEL	
171	WEVVHTVF		MEL	

[0431]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
172	RENPGMFSW		MEL	
173	SEHSLEGQKF		GBM	
174	DENDAGNLITF	GC, HNSCC, MEL, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC	CRC, GBC, NSCLCaden	
175	NLKSPIPLW	GC, HNSCC, MEL, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC	CRC, GBC, NSCLCaden	
176	GETQQHIQL		MEL	
177	LEEPMPFFY	MEL, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC	GBC, HNSCC	
178	MEGAALLKIF	NSCLCsquam, PRCA, UEC	UBC	
179	EEHIFSAF	NSCLCsquam	NHL	
180	EEHSSKLQTS		PRCA	
181	HEVAQDDHL		PRCA	
182	EELHAALSEW	CCC, GBC, GC	CRC	
183	KEMQVTISQQL	CCC, GC	PACA	
184	EEQLLQKVM		AML	
185	TEANVQALF	AML	CLL, NHL	
186	EEIFAHGL		AML	
187	TEQALRLSV	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
188	AEFVPKADLL		MEL	
189	ALNGDIYVW		NHL	
190	NEAGEVSKHF		MEL	
191	AEHDMKSVL	NHL	CLL	
192	LEIMTNLVTL	PRCA	BRCA	
193	RELRLPLFDRQW	NHL	CLL	
194	TEGDVLNYIF	NHL	CLL	
195	MEIKGTVTEP	CCC, GC, NSCLCsquam	BRCA, PRCA	

[0432]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
196	TELEVKIRDW	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
197	NEILTIHF	CCC	HCC	
198	REEEANVVL	GBC, OC, OSCAR, PACA, UBC	CCC	
199	AELPENLKALF	MEL, NSCLCsquam	HNSCC, OSCAR	
200	KELSVFKKF	NHL	CLL	
201	MEILWKTLT		CLL	
202	RELPLVLLA		SCLC	
203	REILHAQTL		CLL	
204	YERPTLVEL	AML, CLL, NHL	PRCA	
205	MEIEGAGNFL	BRCA, CRC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC	CCC, GBC	
206	SEDFEKYYL	BRCA, CRC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC	CCC, GBC	
207	LEGGGRGGEF	MEL	NHL	
208	SEFLLRIF	GC	UEC	
209	AEGEPFPAL	HCC, MEL, NHL, OC, PACA, UEC	UBC	
210	AEGEPFPALAW	HCC, MEL, NHL, OC, PACA, UEC	UBC	
211	LEMLDAHRL	OC	BRCA, UEC	
212	SEASVYLFRF	HCC, MEL, NHL, OC, PACA, UEC	UBC	
213	DEDLFHKL	GC, HNSCC, OSCAR, UBC	CRC	
214	SVNPIYGF	GBC	HCC	
215	SAMWIQLLY		MEL	

[0433]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
216	AGSPVMRKW		RCC	
217	EVEVGDRTDW		NHL	
218	REAEKEAQL		CLL	
219	WEVEVGDRTDW		NHL	
220	EEEVFSGMKL		GBM	
221	KEAFGPQAL		GBM	
222	SEDTIHTHL		GBM	
223	SEVEGLAFV		GBM	
224	TETDIDREY		GBM	
225	VEAATVSKW		GBM	
226	AEDNMVTSY		BRCA	
227	ALTEDSDDTF		GBM	
228	LEYEAPKLY		AML	
229	AEDLEKKYA	GC	UEC	
230	AEALVDGKW		UBC	
231	AEALVDGKWQEF		UBC	
232	YEIRAEAL		UBC	
233	QEDKATQTL	AML, NHL	CLL	
234	TEEPQRLFY	AML, NHL	CLL	
235	SESLPRAPL	GBM, OC	SCLC	
236	LEDQLKPMLEW		AML	
237	QEIGQKTSV	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCaden	
238	VEDDNYKLSL		CLL	
239	DEDYTYLIL		HCC	
240	MELQVSSGF	NHL	CLL	
241	QELLDIANYL		HCC	
242	CDAQIQYSY	NSCLCsquam	HNSCC, OSCAR	
243	VEQINISQDW	GC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	CRC	
244	VESSQAPTW	NSCLCsquam	HNSCC, OSCAR	
245	MEFQGPMFAGM	CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	

[0434]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
246	HEHGLPNLY	BRCA, MEL, OC	PRCA	
247	KESMLKTTT		HCC	
248	KESQLFTVMDF		HCC	
249	YEMAIYKKY	BRCA, MEL, OC	PRCA	
250	AELDHLASL		NSCLCother	
251	DESADSEPHKY		NHL	
252	EEFIGIGI		NHL	
253	QEILHGAVRF		GBM	
254	QEVAGYVLI		GBM	
255	KQWEYNEKLAF		AML	
256	RLLPQKVVW		UEC	
257	HAIDGTNNW	MEL, NSCLCsquam, RCC, SCLC	OC, UEC	
258	IEVSSPITL		HCC	
259	IEVSSPITLQAL		HCC	
260	VELMPFLLL		PRCA	
261	QEWDPQKTEKY		UEC	
262	YENILNAI	CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
263	AEQLRGFNA	CCC, GC, HNSCC, NSCLCaden. NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
264	RELIKAIGL	BRCA	UEC	
265	EDNLIHKF	BRCA, CCC, NHL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC, UEC	GBC	
266	EEEDRDGHTW	BRCA, CCC, NHL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC, UEC	GBC	
267	VELEVFPQL		HCC	
268	EDLAVHLY	NHL	CLL	
269	SEDLAVHL	NHL	CLL	

[0435]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
270	VLRPPGSSW	NSCLCsqum, OSCAR	HNSCC	
271	REDLVGPEV	NHL	CLL	
272	SEQNIQRANLF		HCC	
273	TEPELLHQV	GBC, GC	CRC	
274	DEIDKLTGY		PRCA	
275	GEQPPEGQW	AML, NHL	CLL	
276	SEYQDGKEF		AML	
277	VEFPATRSI		AML	
278	DQVTVFLHF		PRCA	
279	GEFVTQPGSL	AML, NHL	CLL	
280	AAEPLVGQRW		CLL	
281	HEIPQESL	MEL	BRCA	
282	KEFGIGDLVW		AML	
283	VEEESRHY		BRCA	
284	SQYPHTHTF		CLL	
285	AEHPDFSPCSF	UEC	AML	
286	DELSVGRY	UEC	AML	
287	REVSVDIL		HCC	
288	TEHFLKKFF		HCC	
289	NRVINTVAY		GBM	
290	AECILSKRL	AML, BRCA, GBC, GBM, HNSCC, MEL, NSCLCother, NSCLCsqum, OC, OSCAR, UEC	SCLC	
291	DEQLLRF	GC, HNSCC, NSCLCsqum, OSCAR, UBC	CRC	
292	HELALRQTV		HNSCC	
293	QEDEQLLRF	GC, HNSCC, NSCLCsqum, OSCAR, UBC	CRC	
294	EEWEWIKL	GBM	HCC	
295	QELEQEVISL	AML, NHL, PRCA	CLL	
296	AETIFIVRL	OC	NHL	
297	DEYLIPQGGFF		GBM	
298	KEVASNSEI	OSCAR	HNSCC	

[0436]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
299	AEVQIARKL	AML, NHL	CLL	
300	KQTEATMTF		HCC	
301	AERIMFSDL	BRCA	PRCA	
302	EGEDAHLTQY	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
303	GEDAHLTQY	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
304	RELGPTEATGW		MEL	
305	AEKINRRDAETW		HNSCC	
306	RRHPSFKRF	CCC, GC, PACA	CRC	
307	YEQLLKVVTV	GBC, OC, UEC	NHL	
308	EEPHIDFRVY		BRCA	
309	SDDLNVTV		BRCA	
310	FELECPVKY	NHL	CLL	
311	REKDLFNVTV		NSCLCother	
312	KEWEREKAVSL		UBC	
313	EEINQGGGRKY	CLL, NHL	CRC	
314	EMREERKF	CLL, NHL	CRC	
315	MEQQSQEY	OSCAR	HNSCC	
316	RLWPEPENW	UBC	GBM	
317	TEFQQIINL	CLL, NHL	CRC	
318	SESSSFLKV	BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HNSCC, MEL, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC, UEC	NSCLCaden	
319	YEWEPFAEV		BRCA	
320	AENPLNIFY		GBM	
321	AENPLNIFYI		GBM	
322	REESDWHYL	BRCA, MEL, OC	PRCA	
323	SETAVVNVTV	GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	GBC	
324	QELSSIRQF	NHL, OC		

[0437]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
825	AEQEIMKKV	GBC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsqum		
826	RELLDFSSW	CRC		
827	SEQHSLPVF	NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsqum		
828	HENGVLTKF	NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsqum		
829	SEFQITVNF	MEL, NSCLCaden, NSCLCsqum, OSCAR		
830	SEHLPGTSY	CCC, GBC, MEL, OC, RCC, SCLC, UEC		
831	KELEATKQYL	BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsqum, OSCAR, PACA, SCLC, UBC, UEC		
832	SEADWLRFW	BRCA		
833	SEGTLPYSY	GBM		
834	LEWQNSSSM	CCC, GC, HNSCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCsqum, OSCAR, PACA		
835	SETPTLQGL	PRCA		
836	QEVNLSLHY	AML, CCC, PACA, UEC		
837	VEVIPEGAML	SCLC		
838	AEMKFYVVI	NHL, OC		
839	NEVKEIKGY	UEC		
840	GELAPSHGL	PRCA		

[0438]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
341	HELESENKKW	NHL		
342	SENKKWVEF	NHL		
343	SEFDLEQVW	BRCA, CCC, GBC, GC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC, UEC		
344	DEIRVFGY	HCC		
345	AEYQAAILHL	MEL		
346	EEIENLQAQF	MEL		
347	LENPHVQSV	CCC, NSCLCaden, NSCLCsquam, OC, SCLC		
348	SEVLLTSISTF	CCC, GBC, NSCLCaden, RCC		
349	LEWQHPSSW	AML		
350	EEMLENVSL	HCC		
351	EEGRVYVY	AML, GC, NSCLCother		
352	QEDELVKIRKY	MEL		
353	AETEEGIYW	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR		
354	TEIMEKTTL	MEL, NSCLCsquam, OC, SCLC, UEC		
355	SETSTGTSV	BRCA, CCC, CRC, GBC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCaden, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC, UEC		

[0439]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
366	TEAVLNRY	BRCA, CCC, CRC, GBC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadeno, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC, UEC		
367	AELMDKPLTF	BRCA, NHL, SCLC		
368	TEFHGGLHY	GBC, GC, PACA		
369	NEFRKLTTF	AML		
360	DEMEILLTY	BRCA, PRCA		
361	EDASLMGLY	SCLC		
362	SEVEYINKY	MEL		
363	EECDKAFHF	PRCA		
364	EECDKAYSF	PRCA		
365	NESGKAFNY	PRCA		
366	EECGKAFKKF	CLL		
367	TEFAVKLKI	CCC, GBC, RCC		
368	KEKVPGITI	SCLC		
369	KELEERMLHW	CCC, NHL, NSCLCadeno, PACA		
370	EEVLLANALW	BRCA		
371	NEIGQELTGQEW	RCC		
372	EEVKFPSLF	SCLC		
373	REDPIVYEI	CCC, GBC, RCC		
374	NEAEWQEL	CLL		
375	HEATFGEKRF	HNSCC, NSCLCsquam		
376	SESDGIEQL	HNSCC, NSCLCsquam		
377	AEDARGWTA	OC, UBC		
378	QELFLQEVFM	CLL		
379	AENRVGKMEA	GBM		
380	EECGKAFRVF	CLL		
381	QELMAFSFAGL	SCLC		
382	SELNPLALY	BRCA, HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
383	EEMERDLDMY	CLL		

[0440]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
384	LDGIPTAGW	CLL		
385	LEHPFLVNLW	MEL		
386	EESDYITHY	BRCA, OC, PRCA		
387	GEVQENYKL	PRCA		
388	VEIVTIPSL	CLL		
389	DEQRRQNVAY	OC, PACA, SCLC		
390	GEYNKHAQLW	UEC		
391	TESIGAQIY	UEC		
392	TEVSVLLLTF	UEC		
393	SETILAVGL	NSCLCother, SCLC		
394	SEILRVTLTY	AML		
395	AEDFVWAQW	CLL		
396	MELLFLDTF	BRCA, CLL, MEL, OC		
397	EECGKAFSVP	CLL		
398	AEHRYIF	AML		
399	IEQADWPEI	AML		
400	TELGFGVW	GBM, MEL, RCC		
401	VENIFHNF	MEL, NSCLCaden		
402	IETSSEYFNF	OC		
403	QESVHVASY	AML		
404	AEREQVIKL	HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
405	YEHAFNSIVW	HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
406	GETVVLKNM	GBM		
407	MEFQNTQSY	MEL		
408	AFSLLSAAFY	BRCA		
409	QEAQPRATW	HNSCC, OC		
410	RELEEFYSL	CLL		
411	AERDLNVTI	CRC, GC, NSCLCaden, PACA		
412	EESFDSKPY	SCLC		
413	TELEPGLTY	GBM		

[0441]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
414	AEGYLDLDGI	HCC, NSCLCaden		
415	EEAGFPLAY	PRCA		
416	DELMRKESQW	SCLC		
417	EESFRCLPEW	BRCA, CLL		
418	GEPRKLLTQDW	CRC, PACA	BRCA, GC, HCC, NHL, NSCLCaden, UEC	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
419	SESLLSLY			PRCA
420	MEVDPIGHVY	CCC, CRC, NHL, PACA	GBC, NSCLCaden, UEC	GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
421	TEDYSKQAL	CCC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UEC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
422	EEAQWVRKYF	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	
423	KEAINLLKNY	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	
424	EEHVYESIRW	AML	CLL, NHL	

[0442]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
425	KEVDPASNTY	BRCA, CRC, GC, UEC	HCC, NSCLCaden	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
426	AESLFREAL	BRCA, CRC, GC, UEC	HCC, NSCLCaden	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
427	AEMLGSVVGW	CCC, CRC, NHL, OC, PACA	GBC, NSCLCaden, UEC	GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
428	AEEKAAVTS	AML, HNSCC, NHL, NSCLCaden, NSCLCother, OSCAR, PACA	GBC, HCC, MEL	
429	RETEDYSKQAL	CCC, GC, NSCLCaden, NSCLCother, PACA, UEC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
430	RELARVVT	GBC, NSCLCaden, NSCLCsquam, UEC	NSCLCother, SCLC	
431	QELDFTNW		SCLC	
432	TEENGFWYL		BRCA	
433	AEEGPSVPIY	AML, CLL	NHL, PRCA	
434	AEQQQQQMY		NHL	
435	FETEALRL	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
436	AEADLSYTWDF		MEL	
437	HEDPSGSLHL	BRCA	UBC	
438	AELDSKILAL		BRCA	
439	VEVGDRTDW		NHL	

[0443]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
440	QEVAQVASA	CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
441	QEVAQVASAIL	CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
442	KESDAGKYY	NHL	CLL	
443	EEYAGQITL	NHL	CLL	
444	SESALQTVI	CCC, GC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
445	QEVGEITNL	CCC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, UBC	OSCAR	
446	AENIKKFLY		PRCA	
447	KEFGDLSVEL		PRCA	
448	ALSPVPSHW	CLL	NHL	
449	RENDPEPKF	CLL, NHL	CRC	
450	REIENGNSF	CRC, GC, NSCLCadeno, PACA, RCC		
451	REYEDGPLSL	NSCLCsquam, SCLC, UBC		
452	NEVDGEYRY	NHL		
453	SESKVFQLL	CCC, NSCLCadeno, PACA		
454	SESSSAFQF	MEL		
455	QESVHVASYTW	AML		
456	SESPIRISV	HNSCC		

[0444]

[0445]

실시예 3

[0446]

MHC 클래스 I 제시 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0447]

본 발명의 TUMAP의 면역원성에 대한 정보를 얻기 위해, 본 발명자는 펩티드/MHC 복합체 및 항-CD28 항체가 적재된 인공 항원 제시 세포(aAPC)를 갖는 CD8+ T세포의 반복된 자극을 근거로 시험관 내 T세포 초회 감작 분석을 사용하여 조사를 수행했다. 이 방법으로 본 발명자는 지금까지 HLA-B*44 제한된 TUMAP의 면역원성을 보여줄 수 있었으며, 이것은 이 펩티드들이 인간에 존재하는 CD8+ 전조 T세포에 대한 T세포 에피톱이라는 것을 보여주었다 (표 10a 및 10b).

[0448]

CD8+ T세포의 시험관 내 초회감작

[0449]

펩티드-MHC 복합체(pMHC) 및 항-CD28 항체가 적재된 인공 항원 제시 세포에 의한 시험관 내 자극을 수행하기 위해, 본 발명자는 독일 소재 University clinics Mannheim에서 동의서를 받은 건강한 공여자로부터의 CD8 마이크로비드(Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, 독일)를 사용한 양성 선택을 통해 신선한 HLA-A*02 백혈구 성분 채집 산물로부터 CD8+ T세포를 먼저 분리했다.

[0450]

PBMC 및 분리된 CD8+ 림프구는 10% 열 비활성화된 인간 AB 혈청(PAN-Biotech, Aidenbach, 독일), 100 U/ml 페니실린 / 100 µg/ml 스트렙토마이신(Cambrex, Cologne, 독일), 1 mM 피루브산 나트륨(CC Pro, Oberdorla, 독일), 20 µg/ml 젠타마이신(Cambrex)으로 보충된 RPMI-Glutamax(Invitrogen, Karlsruhe, 독일)을 포함하는 T세포 배지(TCM)에서 사용할 때까지 배양했다. 이 단계에서 2.5 ng/ml IL-7(PromoCell, Heidelberg, 독일) 및 10 U/ml IL-2(Novartis Pharma, Nürnberg, 독일) 또한 TCM에 추가했다.

[0451]

pMHC/항-CD28 코팅된 비드의 생성, T세포 자극 및 관독은 고도로 정의된 시험관 내 체계에서 수행했으며, 자극 조건 당 4가지 다른 pMHC 분자 그리고 관독 조건 당 8가지 다른 pMHC 분자를 각각 사용했다.

[0452]

정화된 공동-자극 쥐 IgG2a 항인체 CD28 Ab 9.3(Jung et al., 1987)은 제조사가 권장하는 술포-N-히드록시숙신

이미도비오틴을 사용하여 화학적으로 비오틴닐화 했다(Perbio, Bonn, 독일). 사용된 비드는 스트렙티비딘으로 코팅된 직경 5.6 μm 의 폴리스티렌 입자였다(Bangs Laboratories, Illinois, 미국).

[0453] 양성과 음성 대조 자극으로 사용되는 pMHC는 각각 A*0201/MLA-001(변형된 Melan-A/MART-1의 펩티드 ELAGIGILT(서열 식별 번호 519))와 A*0201/DDX5-001(DDX5의 YLLPAIVHI, 서열 식별 번호 520)였다.

[0454] 800,000 비드 / 200 μl 는 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. 자극은 1×10^6 CD8+ T세포를 5 ng/ml IL-12(PromoCell)로 보충된 200 μl TCM에서 37° C 및 3일 동안 세척하고 코팅된 2×10^5 비드와 함께 96-웰 플레이트에서 공동배양함으로써 자극을 개시했다. 매체의 반은 80 U/ml IL-2로 추가된 새로운 TCM에 의해 교환되고 배양은 37°C에서 4일간 계속되었다. 이 자극 주기는 총 세 번 수행되었다. 조건 당 8가지 다른 pMHC(분자를 사용하는 pMHC 멀티머의 판독을 위해, 이미 설명된 바와 같이(Andersen et al., 2012) 2차원 조합대수적 코딩 접근 방식을 사용했으며, 5가지 다른 형광색소와의 결합을 허용하는 약간의 변형이 있었다. 마지막으로 다합체 분석은 Live/dead 근 IR 염료(Invitrogen, Karlsruhe, 독일), CD8-FITC 항체 클론 SK1(BD, Heidelberg, 독일) 및 형광 pMHC 다합체로써 세포를 염색하여 수행했다. 분석에는 적절한 레이저 및 필터가 장착된 BD LSRII SORP 세포측정기를 사용했다. 펩티드 특이 세포는 총 CD8+ T세포의 백분율로 계산되었다. 다합체 분석의 평가는 FCS Express 소프트웨어(De Novo Software) 사용하여 수행되었다. 특정 다합체 + CD8+ 림프구의 시험관 내 초회감작은 음성 대조군 자극과 비교함으로써 감지되었다. 주어진 항원의 면역성은 건강한 기증자의 최소한 하나의 시험관 내 자극된 평가 가능한 웰이 시험관 내 자극 후 CD8+ T세포주를 보이면서 발견되었다(예를 들면, 이 웰은 CD8+ T세포 중 최소한 1%의 특정 다합체+를 가졌으며 특정 테트라머+ 세포의 백분율은 최소한 음성 대조군 자극의 매체보다 10배여야 한다).

[0455]

[0456] 급성 골수성 백혈병, 유방암, 담관세포 암종, 만성 림프구성 백혈병, 결장직장암, 담낭암, 아교모세포종, 위암, 간세포 암종, 두경부 편평세포 암종, 흑색종, 비호지킨 림프종, 폐암(비소세포 폐암 선암종, 편평세포 비소세포 폐암 및 소세포 폐암 등), 난소암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 펩티드에 대한 시험관 내 면역원성을 검사했다. 실험된 HLA 클래스 I 펩티드에서, 시험관 내 면역원성은 펩티드 특정 T세포주의 형성에 의해 입증될 수 있었다. 본 발명의 7 개의 펩티드에 대한 TUMAP-특이 다합체 염색의 예시적 유세포측정법의 결과 및 상응하는 음성 대조가 제3A-3G도에 나와있다. 본 발명의 36개의 펩티드에 대한 결과는 표 10a에 그리고 본 발명의 추가의 56개의 펩티드에 대한 결과는 표 10b에 각각 요약되어 있다.

[0457] [표 10a]

[0458] 본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0459] 본 발명의 펩티드 출원자 실행한 시험관 내 면역원성 실험의 예시적 결과. <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 69 % = +++; >= 70 % = ++++

서열 식별 번호	서열	엘 양성[%]
459	KEVDPAGHSY	++
460	SEFMQVIF	+
461	MEVDPIGHVYIF	+
463	QEMQHFLGL	+
467	FEYDFLLQRI	+
468	QEQDVDLVQKY	+
469	SEAFPSRAL	+++
470	EDAQGHIW	++
474	AEEEIMKKI	+
476	MEHPGKLLF	+
477	VYEKNGYIYF	++++
479	QENSYQSRL	+
485	NEHPSNNW	+
487	LEMPHYSTF	+++
488	SENPETITY	++
489	SEYADTHYF	+++
490	TENRYCVQL	++
491	YEVDTVLRY	+
492	AEHNFVAKA	+
494	KEITGFLLI	++
495	RENQVLGSGW	+++
496	AEIGEGAYGKVF	++
497	GEGAYGKVF	+++
500	QEVLLQTFL	+
501	KEGDLGGKQW	+
504	KESQLPTVM	++
506	QESDLRLFL	+
508	AESEDLAVHL	+
509	AESEDLAVHLY	+
510	SEDLAVHLY	++++
511	AEAVLKTLQEL	+
512	AEPLVGQRW	++++
513	AEKDGLTDY	+
515	AEGGKVPIKW	++
516	DEYLIPQQGF	+
518	FELPTGAGL	++

[0460]

[0461] [표 10b]

[0462] 본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0463] 본 발명의 펩티드 출원자 실행한 시험관 내 면역원성 실험의 예시적 결과. <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 69 % = +++; >= 70 % = ++++

서열 식별 번호	서열	웰 양성[%]
4	AEALGAAKKL	+
6	AELVGPVIPQDW	++
7	SESDLVNFI	+
9	MEVDPIGHLIYF	+++
11	EENIVAIGI	+++
12	KEVDPTGHSF	+
13	VEAQDRETW	++
15	MEAELVRI	+
16	NESDRLVYF	++
17	SEIYQPRGF	++++
18	QEAPRPASSL	+
19	MEHSDENIQFW	++
20	LEALLSDLF	++
22	TEEITEGVW	+
24	EELALRIGL	++++
25	SEKEPGQQY	++
28	QEPPAHS	+
29	TENPKFKI	++++
30	EEFCFSVRF	+
31	MESAKETRY	+
32	REYEDLKW	+
33	IEYENQKRL	++
35	RELVHMINW	++
36	LEQASRIWSW	++++
37	IEQGRVVLW	++++
39	AEAMGKFKQCF	+
40	REVDPPDSYVF	+
41	EENTGKTYF	++
42	SEENTGKTYF	++
44	SEFGAPRW	++++
45	EEINELNRMI	+++
47	TEVHSSPAQRW	+++
49	SEYVHSSF	+

[0464]

서열 식별 번호	서열	웰 양성[%]
51	VEMTGKHQL	++
53	KEDNPSGHTY	++
54	QEISahrTEF	+
56	ALEEGGGYIF	+
57	SEATHIITI	++++
59	AEIEADRSYQ	+
60	EEAVRSVAF	++
61	AEYSVHKI	+
62	AEYSVHKITSTF	+
66	AEVTLNNTI	+
68	NEIDIHSIYF	++
69	DENIQKFIW	++
70	AEAEEMKRL	++
71	AEVGDIHKV	++
72	AEVGDIHKVHF	++
73	GEGTLRLSW	++
78	TEFSNHINL	++
79	TEAQRLLDCW	+
80	TEQSLYYRQW	++++
83	TEGGTQKTF	++++
420	MEVDPIGHVY	+
421	TEDYSKQAL	+
422	EEAQWVRKYF	++++

[0465]

[0466]

실시예 4

[0467]

펩티드의 합성

[0468]

모든 펩티드는 Fmoc-전략을 사용하여 표준 및 확립된 고체상 펩티드 합성으로써 합성되었다. 각 개별 펩티드의 정제와 순도로 질량 분석법과 분석 RP-HPLC에 의해 결정했다. 펩티드는 순도가 >50%인 흰색에서 황백색의 동결 건조물(트리플루오로아세트산염)로 얻어졌다. 모든 TUMAP는 바람직하게는 트리플루오로아세트산염 혹은 아세트산염으로 투여되지만, 다른 염의 형태 또한 가능하다.

[0469]

실시예 5

[0470]

MHC 결합 분석

[0471]

본 발명에 따른 T세포 기반 요법의 후보 펩티드를 MHC 결합 능력(친화도)에 대해 더 실험했다. 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 안정화시킬 수 있는 펩티드 후보만이 MHC 복합체의 해리를 막는다. 이 교환작용의 수율을 결정하기 위해, 안정화된 MHC 복합체의 경사슬(α_2m) 검출에 근거하여 ELISA를 수행했다. 이 분석은 Rodenko 등에서 일반적으로 설명된대로 수행했다. (Rodenko et al., 2006)

[0472]

96 웰 MAXISorp 플레이트(NUNC)를 실온 그리고 PBS에서 2ug/ml 스트렙타비딘으로 밤새 코팅하고 4회 세척한 다음 블로킹 완충액을 함유하는 2% BSA와 37° C에서 1시간 동안 블로킹을 진행했다. 되접기된 HLA-A*02:01/MLA-001 단량체가 표준의 역할을 했으며, 그 범위는 15-500ng/ml였다. UV-교환 반응을 위한 펩티드-MHC 단량체는 블로킹 완충액으로 100배 희석되었다. 샘플은 37° C에서 1시간 배양 후 4회 세척하고 2ug/ml HRP 접합된 항- α_2m 으로 37° C에서 1시간 배양한 다음 NH_4SO_4 로 정지시킨 TMB 용액으로 검출했다. 흡광은 450nm에서 측정했다. 높은 교환 수율(바람직하게는 50% 초과, 그리고 가장 바람직하게는 75% 초과)을 보이는 후보 펩티드가 일반적으로 항체나 그 조각 및/또는 T세포 수용체나 그 조각의 생성 및 생산을 위해 선호되는데, 이는 MHC 분자에 대한 충분한 결합성을 보이며 MHC 복합체의 해리를 막기 때문이다.

[0473]

본 발명의 439개 펩티드에 대한 MHC:펩티드 결합 결과는 표 11에 요약되어 있다.

[0474] [표 11]

[0475] MHC 클래스 I 결합 점수. HLA 클래스 I 제한 펩티드의 HLA-B*44:05에 대한 결합 범위는 펩티드 교환 수율에 의해 정해졌다: >10% = +; >20% = ++; >50 = +++; > 75% = ++++

서열 식별	서열	펩티드 교환
1	KEVDPASNTYTL	++
2	EEFLRPRSL	++
3	DEIFTNDRRW	++
4	AEALGAACKL	++
6	AELVGPPVIPQDW	+++
7	SESDLVNFI	+++
9	MEVDPIGHLYIF	++++
10	SEYPTKNYV	++
11	EENIVAIGI	+++
12	KEVDPTGHSF	+++
13	VEAQDRETW	++
14	EMPGGPVW	+++
15	MEAEIVRRI	+++
16	NESDRLVYF	+++
17	SEIYQPRGF	+++
18	QEAPRPASSL	+++
19	MEHSDENIQFW	++
20	LEALLSDLF	+++
21	SEAKEIKSQL	+++
22	TEEITEGVW	++++
24	EELALRIGL	+++
25	SEKEPGQQY	++
26	EESSPVDEY	++
27	GETCVRITY	+++
28	QEPPAHSL	+++
29	TENPKKFKI	+++
30	EEFCFSVRF	+++
31	MESAKETRY	+++
32	REYEYDLKW	++++
33	IEYENQKRL	++
34	AEPPILYSEY	++
35	RELVHMINW	++++
36	LEQASRIWSW	++++
37	IEQGRVVLW	++++
38	DEVRFKGNKY	++
39	AEAMGKFKQCF	+++
40	REVDPPDSYVF	+++
41	EENTGKTYF	+++

[0476]

서열 식별	서열	펩티드 교환
42	SEENTGKTYF	+++
44	SEFGAPRW	+++
45	EEINELNRMI	+++
46	SELGLPKEV	++
47	TEVHSSPAQRW	+++
49	SEYVHSSF	++
50	SEYVHSSFSGF	+++
51	VENTGKHQL	++
52	EDNPSGHTY	++
53	KEDNPSGHTY	+++
54	QEISAH RTEF	+++
55	TEFHM QFSY	++++
56	ALEEGGGYIF	+
57	SEATHIITI	+++
58	KEMDPSRQSY	+++
59	AEIEADRSYQ	++
60	EEAVRSVAF	+++
61	AEYSVHKI	+++
62	AEYSVHKITSTF	++++
64	EEYQDSFERY	++
65	SESMVESKF	++
66	AEVTLNNTI	+++
67	TEGAVEVKY	++
68	NEIDIHSIYF	++++
69	DENIQKFIW	+++
70	AEAE EAMKRL	+++
71	AEVGDIK V	++
72	AEVGDIK VHF	+++
73	GEGTLRLSW	++++
74	AELEGALQKA	++
75	LETSCGSSTAY	+
76	RLNEHPSNNW	++
77	QETLAESTW	+++
78	TEFSNHINL	+++
79	TEAQRLDCW	+++
80	TEQSLYYRQW	+++
81	GEKATMQNL	++
83	TEGGTQKTF	+++

[0477]

서열 식별	서열	펩티드 교환
84	AETSYVKVLEY	+++
85	SEIDEKVTDL	+++
86	QTLKAMVQAW	+++
87	GEARGDQVDW	++++
88	KEFTVSGNIL	++++
89	KEFYPPVKEF	++
90	EESLLSSW	+++
91	EESLLSSWDF	+++
92	KEPSQSCIAQY	+
93	SEAGLTANQY	+++
94	SLAELIAKDW	++
95	AAFEDAQGHIW	++++
96	MDELEEGESY	+
97	ELVHMINW	++
98	SEESAGPLL	+++
99	SECVKSLSF	++++
101	SEENTGKTY	+++
102	TELADLDAAW	++++
103	AELFLTKSF	++++
105	EEIFKTLNY	+++
106	SVISDSPRSW	+++
107	YQENPRAAW	++
108	QETNKVETY	+++
110	EVEVGEVKSW	+
111	QEIDQKRLEF	++
112	AEIEADRSYQH	+++
113	MEFKTLNKN	++
114	VEVNGVPRW	++++
115	QEPFTRPVL	+++
116	AEANPRDLGASW	+++
117	SEVPVD SHY	+++
118	SEVPVD SHYY	+++
119	VEVKYEGHW	++++
120	VTEGAVEVKY	+
121	YENIPVDKV	+++
122	GESVSWHLF	+++
123	DEINHQSL	++
124	NENLDYAIL	++++

[0478]

서열 식별	서열	펩티드 교환
125	LEVLHQGGW	+++
126	SEASQSPQY	+++
127	RYFDENIQKFIW	+++
128	TELTEARVQVW	+++
129	EEAMKRLSY	++
130	REYQEVMSKSL	+++
131	RESHLTEIRQY	++
132	AESFTSGRHYW	++++
133	IEAPKLMVV	+
134	IEIKDRLQL	+++
135	QEIDRGQYI	++++
136	EEMPEEHL	+++
137	EKGLISAF	++
138	KEAPNIVTL	++++
139	AESDFSNNML	+++
140	TEHSGIYSC	++
141	SEKWFRMGF	+++
142	QELFLHPVL	++++
143	HEIIRSHW	+++
144	IEAYLERIGY	+++
145	EELRMLSF	++
146	MEELRMLSF	+++
147	RMLSFQQMTW	++
148	KESDAGRY	+++
149	AETEPERHLG	++
150	SEVFHVSEA	++
151	TELQIPSF	++
152	HENLIEDF	+++
153	IEILLSGSL	++++
154	NEAGEMIKHY	++
155	TEDARHPESW	++++
157	SQDVAGTTF	++
158	VEEERYTGQW	+++
159	EEVQDGKVI	++
160	AEIATTGQLY	+++
161	GESSEVKAVL	+++
162	EAYDIELNKW	+++
163	AEDEDGKIVGY	++

[0479]

서열 식별	서열	펩티드 교환
164	DEDGKIVGY	++
165	EEIEAHIAL	+++
166	EEQDFINNRY	++++
167	AETENRYCV	+++
168	EEGPSVPKIY	++
169	KEHNSSVPWSS	++++
170	REMFVFKDQW	++++
171	WEVVHTVF	++
172	RENPGMFSW	+++
173	SEHSLEGQKF	+++
174	DENDAGNLITF	+++
176	GETQQHIQL	+++
177	LEPMPPFY	+
178	MEGAALLKIF	+++
179	EEHIFSAF	++
180	EEHSSKLQTSL	++++
181	HEVAQDDHL	++
182	EELHAALSEW	++++
183	KEMQVTISQQL	++++
184	EEQLLQKVM	++++
185	TEANVQALF	++++
186	EEIFAHGL	+++
187	TEQALRLSV	++++
188	AEFVPKADLL	+++
189	ALNGDIYVW	++++
190	NEAGEVSKHF	+++
191	AEHDMKSVL	+++
192	LEIMTNLVTL	++++
193	RELRLPFDQW	+++
194	TEGDVLNYIF	+++
195	MEIKGTVTEF	+++
196	TELEVKIRDW	++++
197	NEILTIHF	++
198	REEEANVVL	+++
199	AELPENLKALF	+++
200	KELSVFKKF	+++
201	MEILWKTLT	++++
202	RELPLVLLA	++

[0480]

서열 식별	서열	펩티드 교환
203	REILHAQTL	+++
204	YERPTLVEL	+++
205	MEIEGAGNFL	++++
206	SEDPEKYYL	+++
207	LEGGGRGGEF	++
208	SEFLLRIF	++
209	AEGEPFPAL	+++
210	AEGEPFPALAW	+++
211	LEMLDAHRL	+++
212	SEASVYLF RF	+++
213	DEDLFHKL	++
214	SVNPIYGF	++
216	AGSPV MRKW	++
217	EVEVGDR TDW	++
218	REAEKEAQL	+++
219	WEVEVGDR TDW	+++
220	EEVFSGMKL	++++
221	KEAFGPQAL	++++
222	SEDTIHTL	+++
223	SEVEGLAFV	+++
224	TETDIDREY	++
225	VEAATVSKW	+++
226	AEDNMVTSY	+++
227	ALTEDSIDD TF	+
228	LEYEAPKLY	++
229	AEDLEKKYA	++
230	AEALVDGKW	+++
231	AEALVDGKWQEF	+++
232	YEIRAEAL	++
233	QEDKATQTL	++++
234	TEEPQRLFY	+
235	SESLPRAPL	+++
236	LEDQLKPMLEW	+++
237	QEIGQKTSV	+++
238	VEDDNYKLSL	+++
239	DEDYTYLIL	++
240	MELQVSSGF	+++
241	QELLDIANYL	++++

[0481]

서열 식별	서열	펩티드 교환
242	CDAQIQYSY	+++
243	VEQINISQDW	++++
244	VESSQAFTW	+++
245	MEFQGPMFAGM	+++
246	HEHGLFNLY	+++
247	KESMLKTTL	+++
248	KESQLPTVMDF	+++
249	YEMAIYKKY	++++
250	AELDHLASL	+++
251	DESADSEPHKY	+
252	EEFIGKIGI	++
253	QEILHGAVRF	+++
254	QEVAGYVLI	+++
255	KQWEYNEKLAF	+
256	RLPGKVVVW	++
258	IEVSSPITL	++++
259	IEVSSPITLQAL	++
260	VELMFPLL	+++
261	QEWDPQKTEKY	+++
262	YENILNAI	++
263	AEQLRGFNA	+++
264	RELIKAIGL	+++
265	EDNLIHKF	++
266	EEEDRDGHTW	+++
267	VELEVPQL	++
268	EDLAVHLY	+
269	SEDLAVHL	++++
271	REDLVGPEV	+++
272	SEQNIQRANLF	+++
273	TEFELLHQV	+++
274	DEIDKLTGY	++
275	GEQPPEGQW	+++
276	SEYQDGKEF	++
277	VEFPATRS�	+++
278	DQVTVFLHF	+
279	GEPVTQPGSLL	+++
280	AAEPLVGQRW	++
281	HEIPQESL	+

[0482]

서열 식별	서열	펩티드 교환
282	KEFGIGDLVW	++++
283	VEEEISRHY	++
284	SQYPHTHTF	+++
285	AEHPDFSPCSF	+++
286	DELSVGRY	++
287	REVSVDIL	++++
288	TEHFLKKFF	+++
290	AECILSKRL	+++
291	DEQLLLRF	++
292	HELALRQTV	++++
293	QEDEQLLLRF	+++
294	EEWEWIQKL	++++
295	QELEQEVISL	+++
296	AETIFIVRL	++
297	DEYLIPQQGFF	++
298	KEVASNSEL	+++
299	AEVQIARKL	+++
300	KQTEATMTF	++
301	AERIMFSDL	++++
302	EGEDAHLTQY	++
303	GEDAHLTQY	++
304	RELGFTEATGW	++++
305	AEKNRRDAETW	++++
306	RRHPSFKRF	+
307	YEQLLKVVW	++++
308	EEPKIDFRVY	+++
309	SDDLNRVTW	++++
310	FELECPVKY	+++
311	REKDLPNYNW	++++
312	KEWEREKAVSL	+++
313	EEINQGGRKY	+++
314	EMREERKF	++
315	MEQQSQEY	+++
316	RLWPEPENW	++
317	TEFQQIINL	++++
318	SESSSFLKV	+++
319	YEWEPFAEV	+
320	AENPLNIFY	++++

[0483]

서열 식별	서열	펩티드 교환
321	AENPLNIFYI	+++
322	REESDWHYL	+++
323	SETAVVNVTY	++++
324	QELSSIRQF	+++
325	AEQEIMKKV	++++
326	RELLDFSSW	++++
327	SEQHSLPVF	+++
328	HENGVLTKF	++
329	SEPQITVNF	+++
330	SEHLFGTSY	+++
331	KELEATKQYL	+++
332	SEADWLRFW	++++
333	SEGTLPSY	++
334	LEWQNSSSM	+++
335	SETPTLQGL	+++
336	QEVNISLHY	++++
337	VEVIPEGAML	+++
338	AEMKIFYVVI	+++
339	NEVKEIKGY	+++
340	GELAPSHGL	+++
341	HELESENKKW	+++
342	SENKKWVEF	++
343	SEFDLEQVW	++++
344	DEIRVFGY	++
345	AEYQAAILHL	+++
346	EEIENLQAQF	++
347	LENPHVQSV	+++
348	SEVLLTSISTF	++++
349	LEWQHPSSW	++++
350	EEMLENVSL	+++
351	EEGRVYVY	++
352	QEDELVKIRKY	+++
353	AETEEGIYW	++++
354	TEIMEKTTL	+++
355	SETSTGTSV	++
356	TEAVLNRY	++
357	AELMDKPLTF	+++
358	TEFHGGLHY	+++

[0484]

서열 식별	서열	펩티드 교환
359	NEFRRKLTF	+++
360	DEMENLLTY	++++
361	EDASLMGLY	++
362	SEVEYINKY	+++
363	EECDKAFHF	+++
364	EECDKAYSF	++
365	NESGKAFNY	++++
366	EECGKAFKKF	+++
367	TEFAVKLKI	+++
368	KEKVPGITI	+++
369	KELEERMLHW	++++
370	EEVLLANALW	+++
371	NEIGQELTGQEW	++++
372	EEYKFPPLF	+++
373	REDPIVYEI	++
374	NEAEWQEIL	+++
375	HEATFGEKRF	+++
376	SESDGIEQL	+++
377	AEDARGWTA	++
378	QELFLQEVRL	+++
379	AENRVGKMEA	++
380	EECGKAFRVF	+++
381	QELMAFSFAGL	++++
382	SELNPLALY	+++
383	EEMERDLDMY	+++
384	LDGIPTAGW	+++
385	LEHPFLVNLW	++++
386	EESDYITHY	+++
387	GEVQENYKL	+++
388	VEIVTIPSL	+++
389	DEQRRQNVAY	++
390	GEYNKHAQLW	++++
391	TESIGAQIY	+++
392	TEVSVLLLTF	+++
393	SETILAVGL	+++
394	SEILRVTLY	+++
395	AEDFVWAQW	++++
396	MELLFLDTF	++

[0485]

서열 식별	서열	펩티드 교환
397	EECGKAFSVF	+++
398	AEIIRYIF	+
399	IEQADWPEI	++
400	TELGLFGVW	++++
401	VENIFHNF	++
402	IETSSEYFNF	+++
403	QESVHVASV	++++
404	AEREQVIKL	++++
405	YEHAFNSIVW	++++
406	GETVV LKNM	+++
407	MEFQNTQSY	+++
409	QEAKPRATW	+++
410	RELEEEFYSL	+++
411	AERDLNVTI	+++
412	EESFDSKFY	+++
413	TELEPGLTY	+++
414	AEGYLDLDGI	++
415	EEAGFPLAY	+++
416	DELMRKESQW	+++
417	EESFRCLPEW	++++
418	GEPRKLLTQDW	+++
419	SELSLLSLY	+++
420	MEVDPIGHVY	+++
421	TEDYSKQAL	+++
422	EEAQWVRKYF	+++
423	KEAINLLKNY	+++
424	EEHVYESIIRW	+++
425	KEVDPASNTY	+++
426	AESLFREAL	+++
427	AEMLGSVVGNW	+++
428	AEEKAAVTSL	+++
429	RETEDYSKQAL	++
430	RELARVVTL	++++
431	QELLDFTNW	++++
432	TEENGFWYL	++++
433	AEEGPSVPKIY	+++
434	AEQQQQQMY	+++
435	FETEQALRL	+++

[0486]

서열 식별	서열	펩티드 교환
436	AEADLSYTWDF	+++
437	HEDPSGSLHL	+++
438	AELDSKILAL	+++
439	VEVGDRTDW	+++
440	QEVAQVASA	++
441	QEVAQVASAIL	++++
442	KESDAGKYY	+++
443	EEYAGQITL	+++
444	SESALQTVI	+++
445	QEVGEITNL	+++
446	AENIKKFLY	+++
447	KEFGLDSVEL	+++
448	ALSPVPSHW	+++
449	RENDFEPKF	+++
450	REIENGNSF	+++
451	REYEDGPLSL	+++
452	NEVDGEYRY	+++
453	SESKVFQLL	+++
454	SESSAFQF	+++
455	QESVHVASYW	++++
456	SESPIRISV	+++

[0487]

[0488] 참조 문헌 목록

- Alcoser, S. Y. et al., BMC Biotechnol. **11** (2011): 124
 Allison, J. P. et al., Science. **270** (1995): 932-933
 Andersen, R. S. et al., Nat Protoc. **7** (2012): 891-902
 Anderson, N. L. et al., J Proteome Res. **11** (2012): 1868-1878
 Appay, V. et al., Eur J Immunol. **36** (2006): 1805-1814
 Banchereau, J. et al., Cell. **106** (2001): 271-274
 Beatty, G. et al., J Immunol. **166** (2001): 2276-2282
 Beggs, J. D., Nature. **275** (1978): 104-109
 Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological),. Vol.57 (1995): 289-300
 Boulter, J. M. et al., Protein Eng. **16** (2003): 707-711

[0489]

- Braumuller, H. et al., Nature.(2013)
 Bray, F. et al., Int J Cancer. **132** (2013): 1133-1145
 Brossart, P. et al., Blood. **90** (1997): 1594-1599
 Bruckdorfer, T. et al., Curr Pharm Biotechnol. **5** (2004): 29-43
 Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 345-357
 Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. **16** (2003a): 324-332
 Cohen, C. J. et al., J Immunol. **170** (2003b): 4349-4361
 Cohen, S. N. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **69** (1972): 2110-2114
 Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science.(1995)
 Colombetti, S. et al., J Immunol. **176** (2006): 2730-2738
 Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 4163-4170
 Denkberg, G. et al., J Immunol. **171** (2003): 2197-2207
 Falk, K. et al., Nature. **351** (1991): 290-296
 Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1 0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No 11 [Internet] (2013), <http://globocan.iarc.fr>
 Follenzi, A. et al., Nat Genet. **25** (2000): 217-222
 Fong, L. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **98** (2001): 8809-8814
 Forsey, R. W. et al., Biotechnol Lett. **31** (2009): 819-823
 Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. **2** (1996): 1096-1103
 Gattinoni, L. et al., Nat Rev Immunol. **6** (2006): 383-393
 Gnjatic, S. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **100** (2003): 8862-8867
 Godkin, A. et al., Int Immunol. **9** (1997): 905-911
 Gragert, L. et al., Hum Immunol. **74** (2013): 1313-1320
 Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual. **4th** (2012)
 Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual. **2nd** (2014)
 Gunawardana, C. et al., Br J Haematol. **142** (2008): 606-609
 Gustafsson, C. et al., Trends Biotechnol. **22** (2004): 346-353
 Hwang, M. L. et al., J Immunol. **179** (2007): 5829-5838
 Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **84** (1987): 4611-4615
 Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients. **rd** (2000)
 Krieg, A. M., Nat Rev Drug Discov. **5** (2006): 471-484

[0490]

- Kuball, J. et al., *Blood*. **109** (2007): 2331-2338
- Liddy, N. et al., *Nat Med*. **18** (2012): 980-987
- Ljunggren, H. G. et al., *J Exp Med*. **162** (1985): 1745-1759
- Longenecker, B. M. et al., *Ann N Y Acad Sci*. **690** (1993): 276-291
- Lonsdale, J., *Nat Genet*. **45** (2013): 580-585
- Lukas, T. J. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. **78** (1981): 2791-2795
- Lundblad, R. L., *Chemical Reagents for Protein Modification*. 3rd (2004)
- Meziere, C. et al., *J Immunol*. **159** (1997): 3230-3237
- Molina, J. R. et al., *Mayo Clin Proc*. **83** (2008): 584-594
- Morgan, R. A. et al., *Science*. **314** (2006): 126-129
- Mortara, L. et al., *Clin Cancer Res*. **12** (2006): 3435-3443
- Mueller, L. N. et al., *J Proteome Res*. **7** (2008): 51-61
- Mueller, L. N. et al., *Proteomics*. **7** (2007): 3470-3480
- Mumberg, D. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. **96** (1999): 8633-8638
- Pinheiro, J. et al., *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models* (<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>) (2015)
- Plebanski, M. et al., *Eur J Immunol*. **25** (1995): 1783-1787
- Porta, C. et al., *Virology*. **202** (1994): 949-955
- Rammensee, H. et al., *Immunogenetics*. **50** (1999): 213-219
- Rini, B. I. et al., *Cancer*. **107** (2006): 67-74
- Rock, K. L. et al., *Science*. **249** (1990): 918-921
- Rodenko, B. et al., *Nat Protoc*. **1** (2006): 1120-1132
- Saiki, R. K. et al., *Science*. **239** (1988): 487-491
- Schmitt, T. M. et al., *Hum Gene Ther*. **20** (2009): 1240-1248
- Scholten, K. B. et al., *Clin Immunol*. **119** (2006): 135-145
- Seeger, F. H. et al., *Immunogenetics*. **49** (1999): 571-576
- Sherman, F. et al., *Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics*. (1986)
- Silva, L. P. et al., *Anal Chem*. **85** (2013): 9536-9542
- Singh-Jasuja, H. et al., *Cancer Immunol Immunother*. **53** (2004): 187-195
- Small, E. J. et al., *J Clin Oncol*. **24** (2006): 3089-3094
- Sturm, M. et al., *BMC Bioinformatics*. **9** (2008): 163

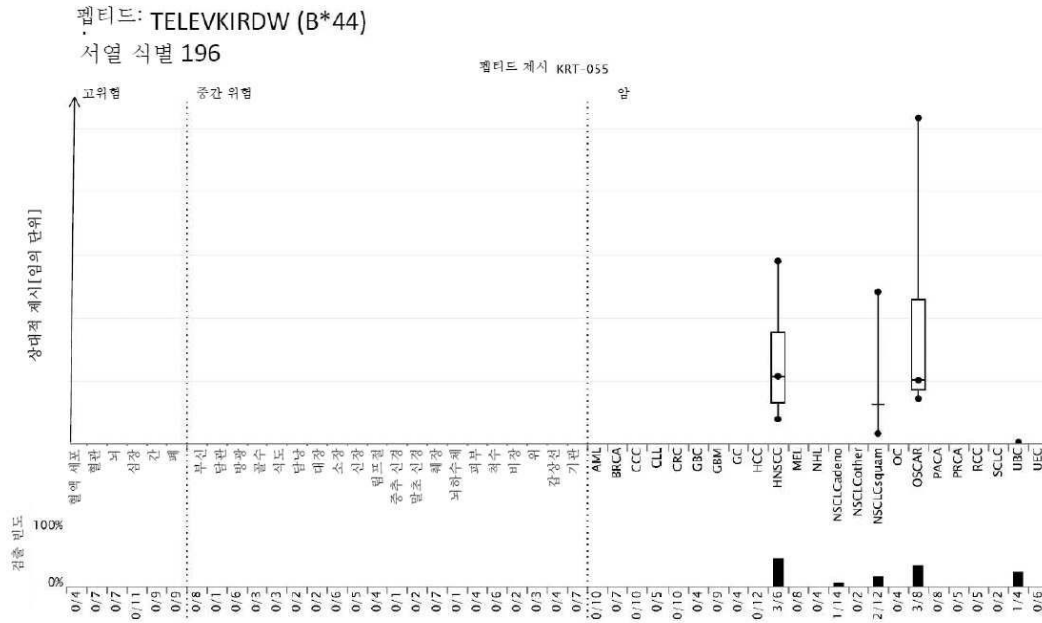
[0491]

- Teufel, R. et al., *Cell Mol Life Sci*. **62** (2005): 1755-1762
- Thakkar, J. P. et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. **23** (2014): 1985-1996
- Tran, T. T. et al., *Photochem Photobiol*. **90** (2014): 1136-1143
- Walter, S. et al., *J Immunol*. **171** (2003): 4974-4978
- Walter, S. et al., *Nat Med*. **18** (2012): 1254-1261
- Willcox, B. E. et al., *Protein Sci*. **8** (1999): 2418-2423
- World Cancer Report (2014)
- Zaremba, S. et al., *Cancer Res*. **57** (1997): 4570-4577
- Zufferey, R. et al., *J Virol*. **73** (1999): 2886-2892

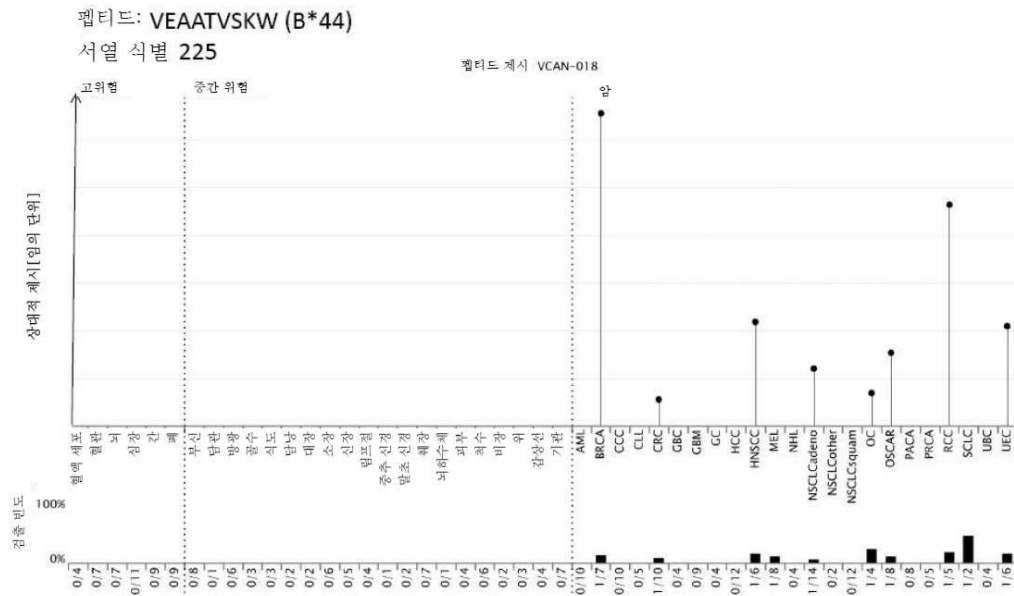
[0492]

도면

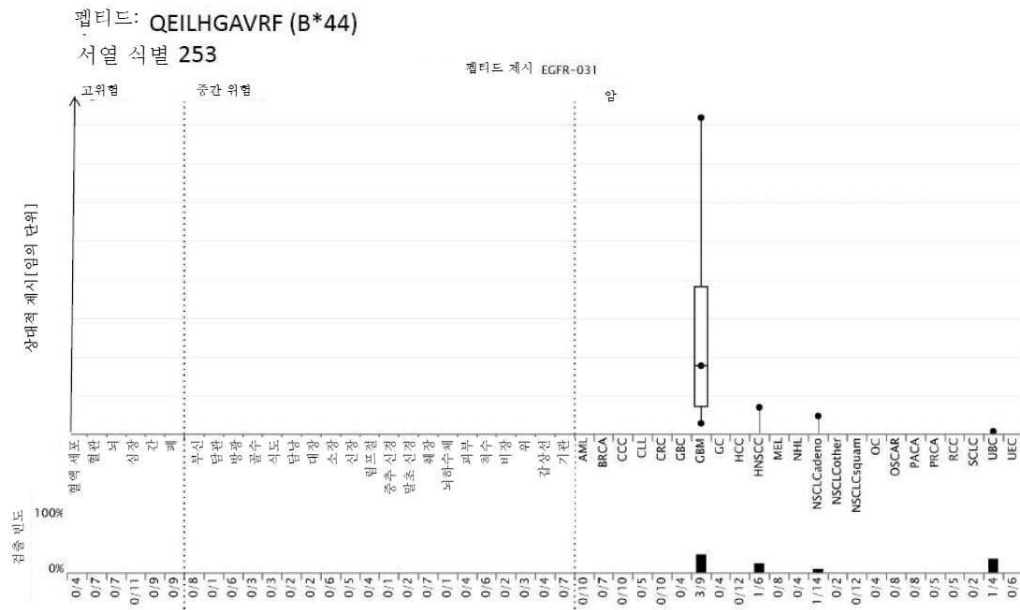
도면1a



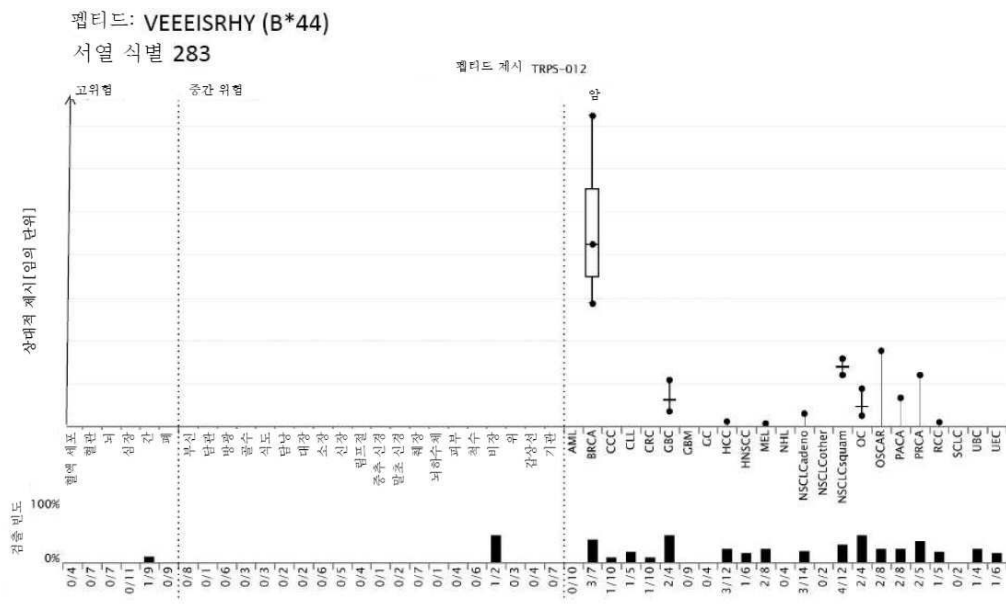
도면1b



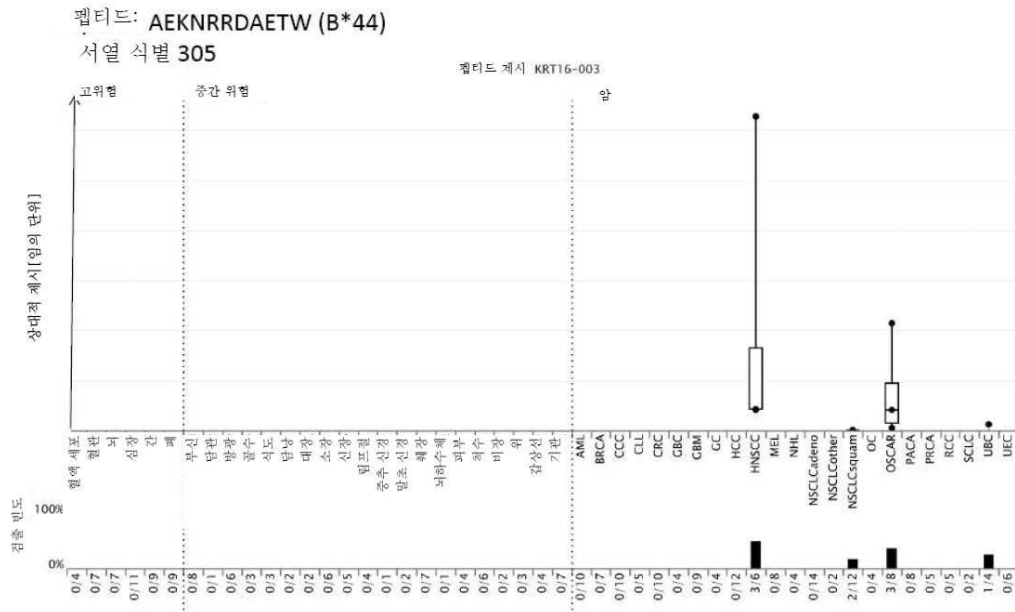
도면1c



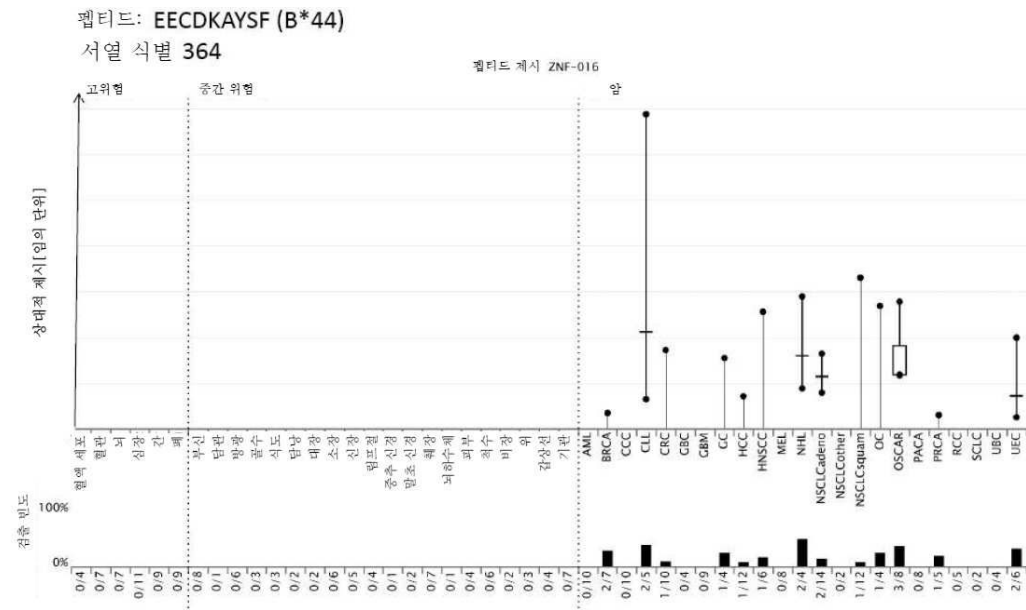
도면1d



도면1e

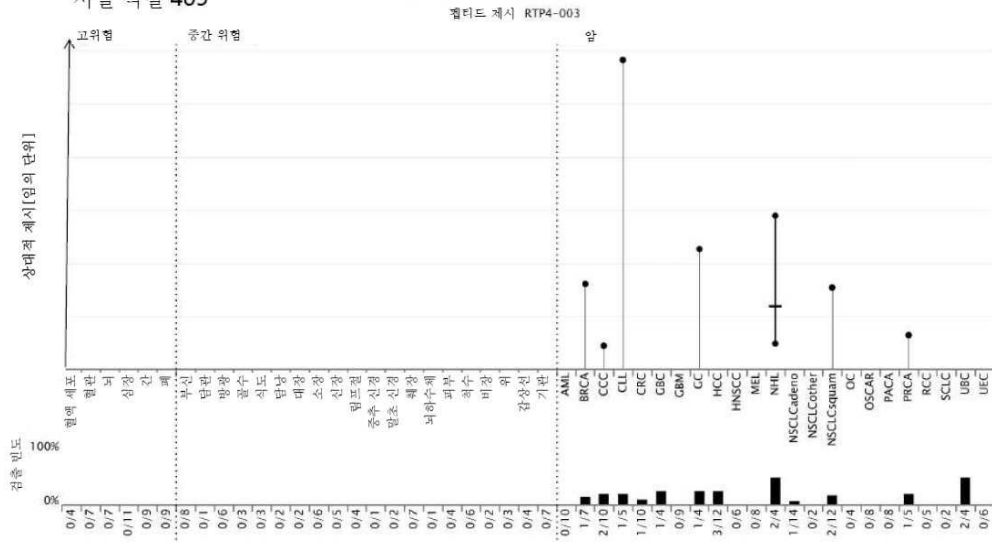


도면1f



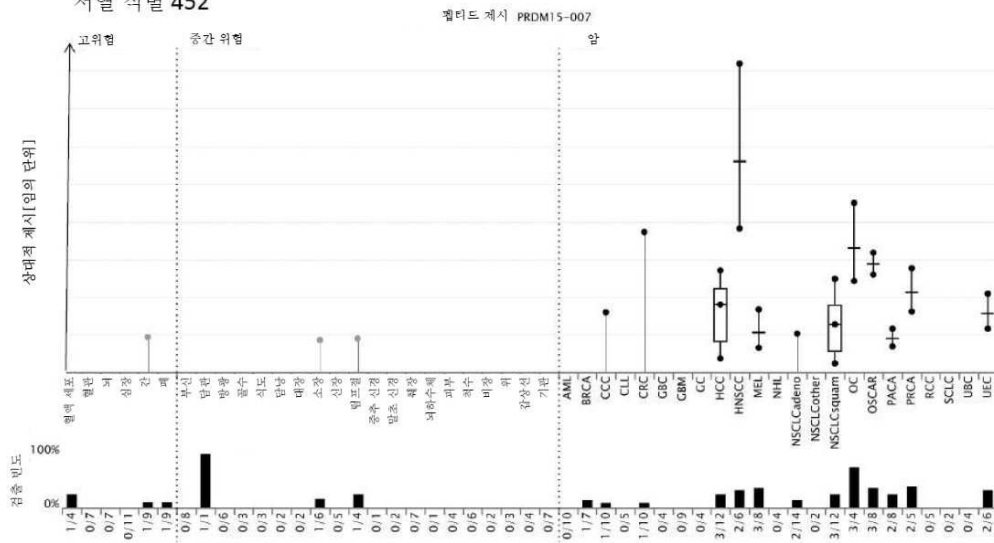
도면 1g

펩티드: QEAKPRATW (B*44)
서열 식별 409

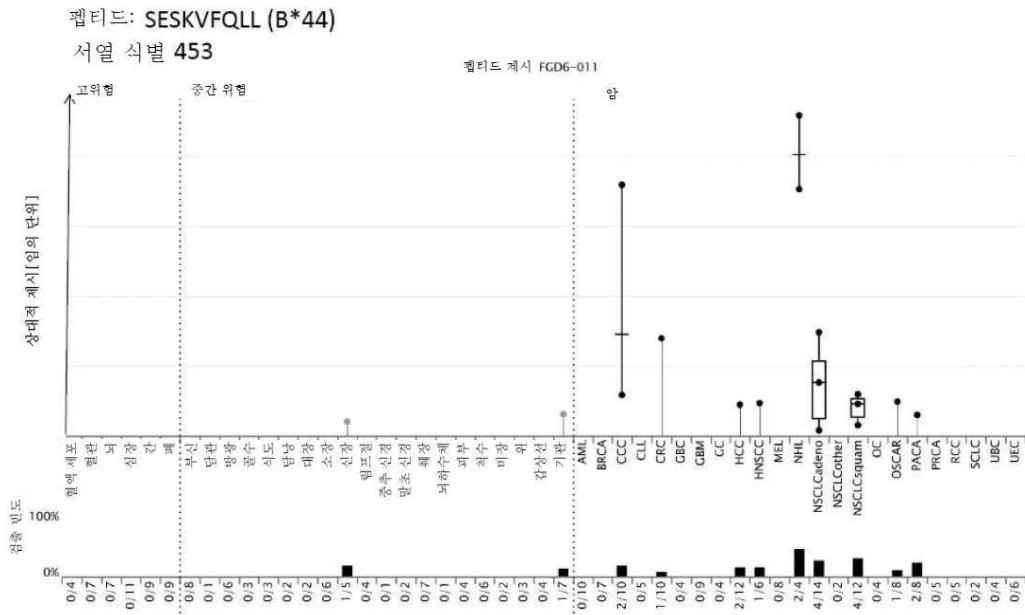


도면 1h

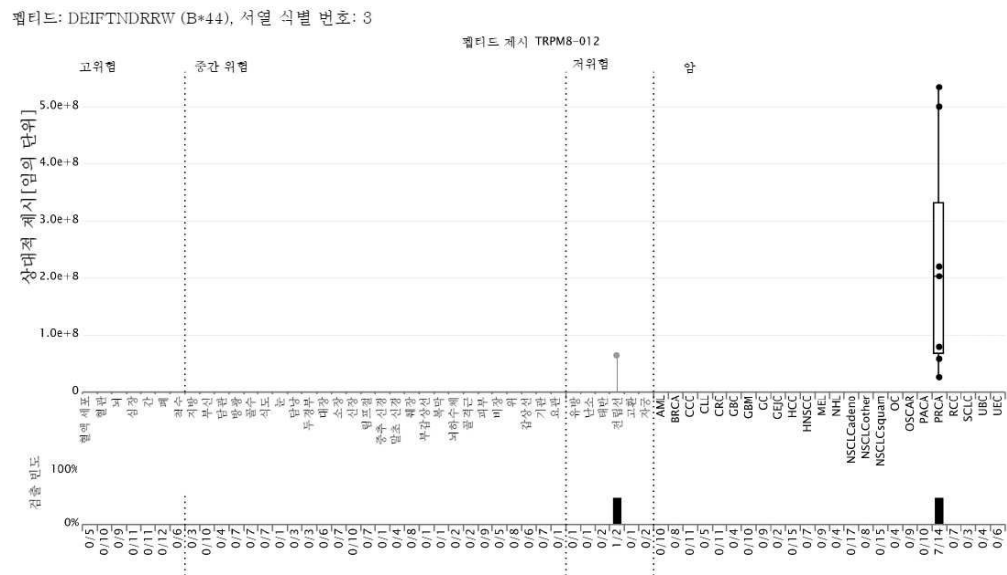
펩티드: NEVDGEYRY (B*44)
서열 식별 452



도면1i

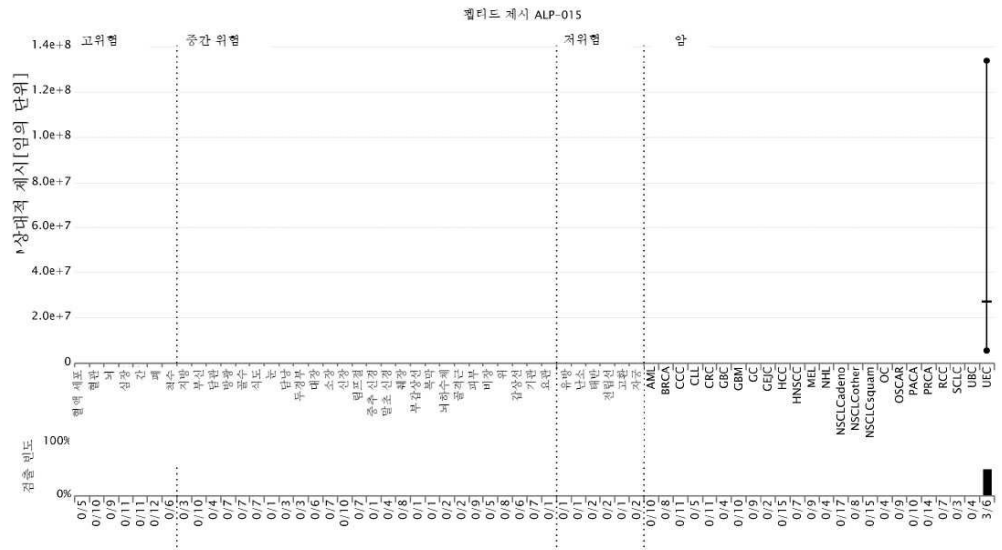


도면1j



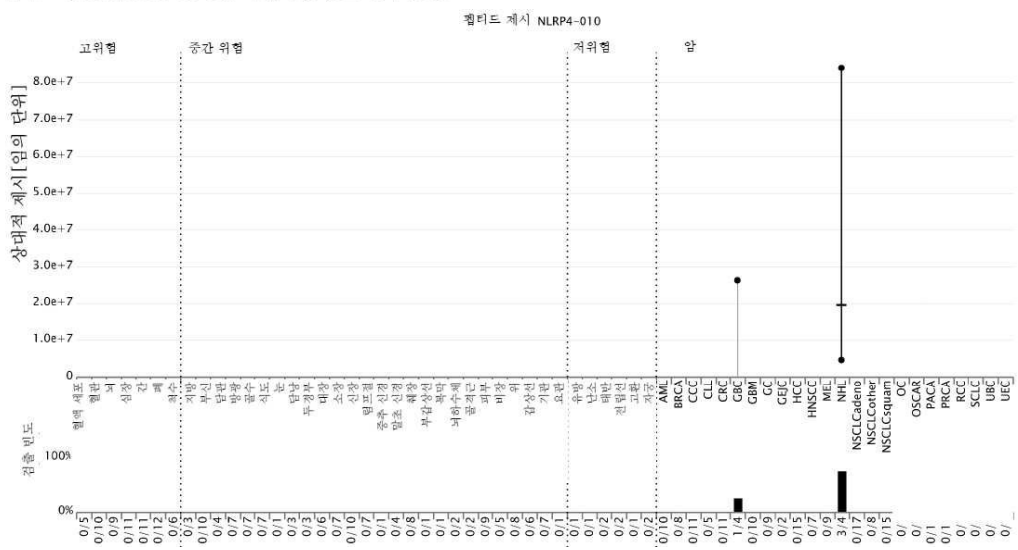
도면1k

펩티드: AEALGAALKL (B*44), 서열 식별 번호: 4

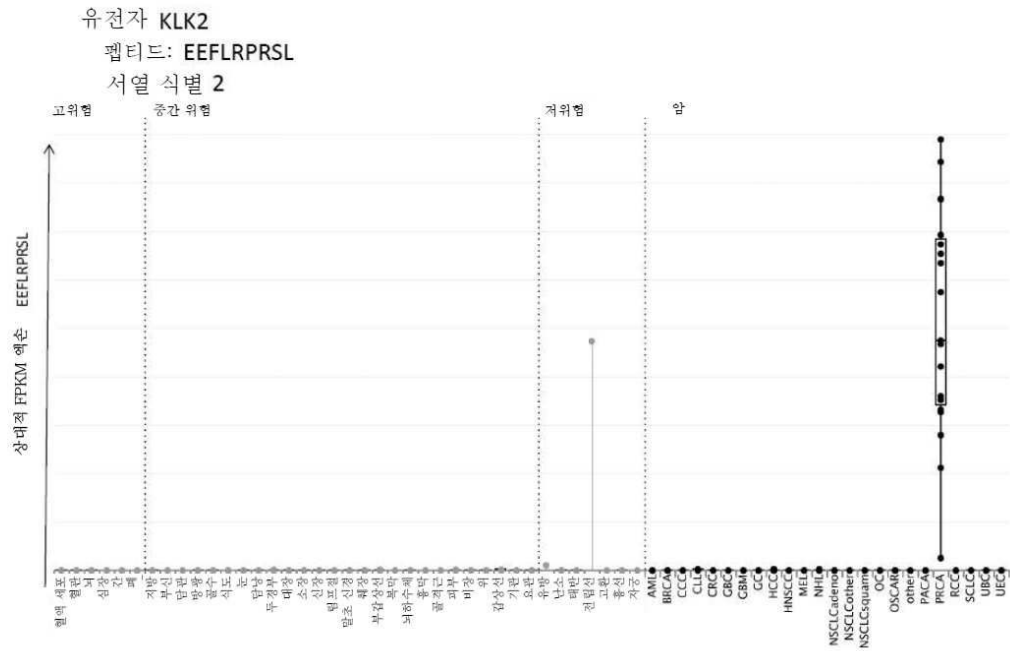


도면1l

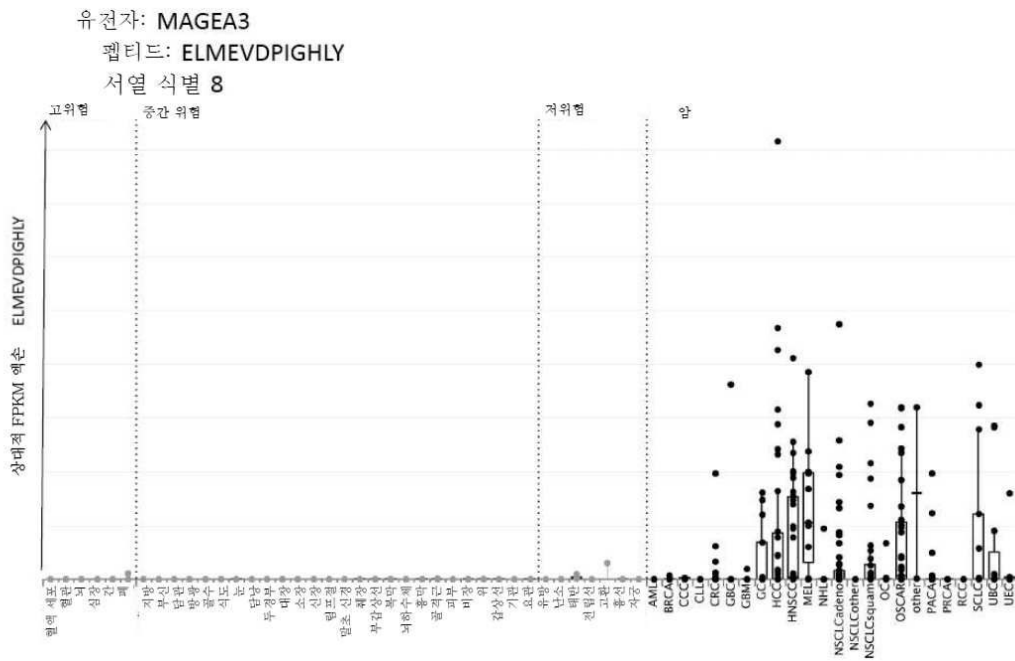
펩티드: NESDRLVYF (B*44), 서열 식별 번호: 청구항 16.



도면2b



도면2c

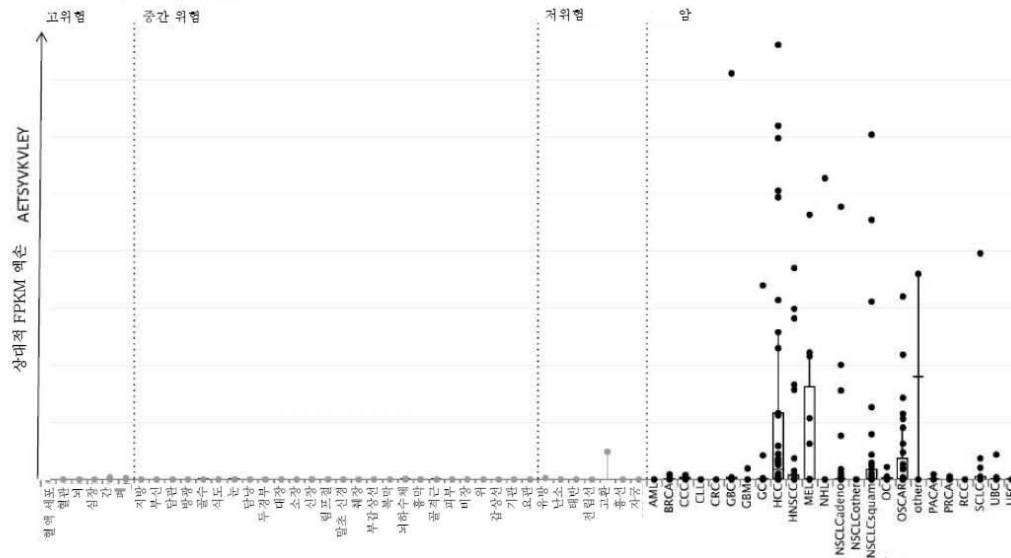


도면 $2f$

유전자: MAGEA1

펩티드: AETSYVKVLEY

서열 식별 84

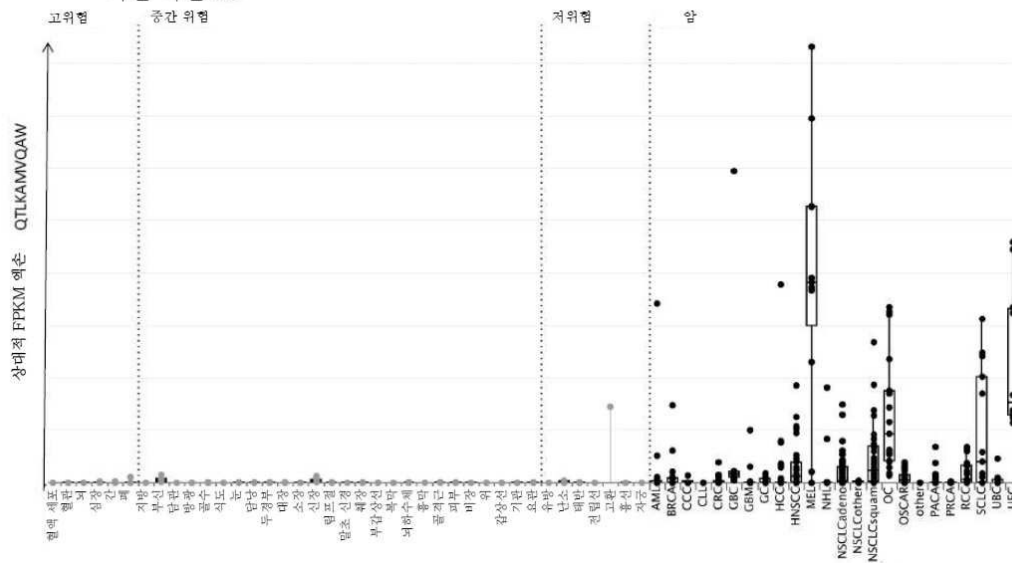


도면2g

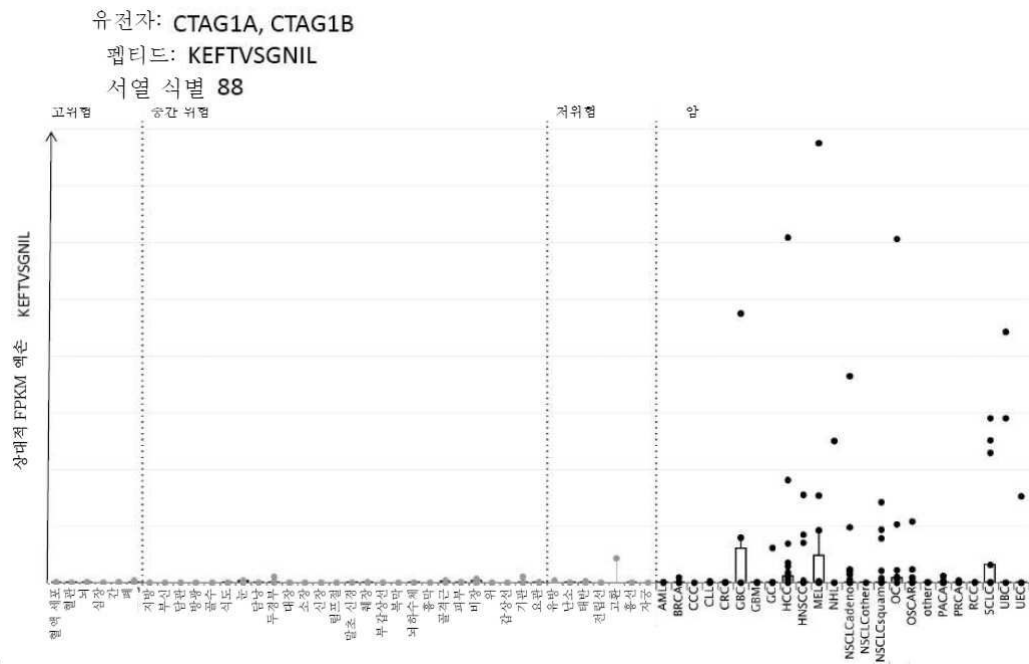
유전자: PRAME

펩티드: QTLKAMVQAW

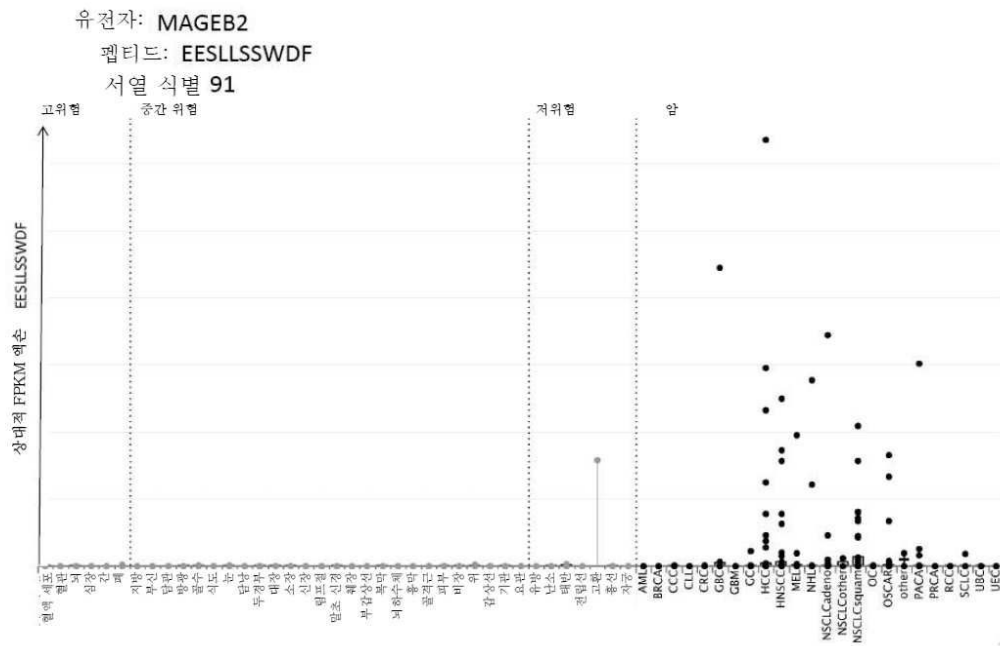
서열 식별 86



도면2h

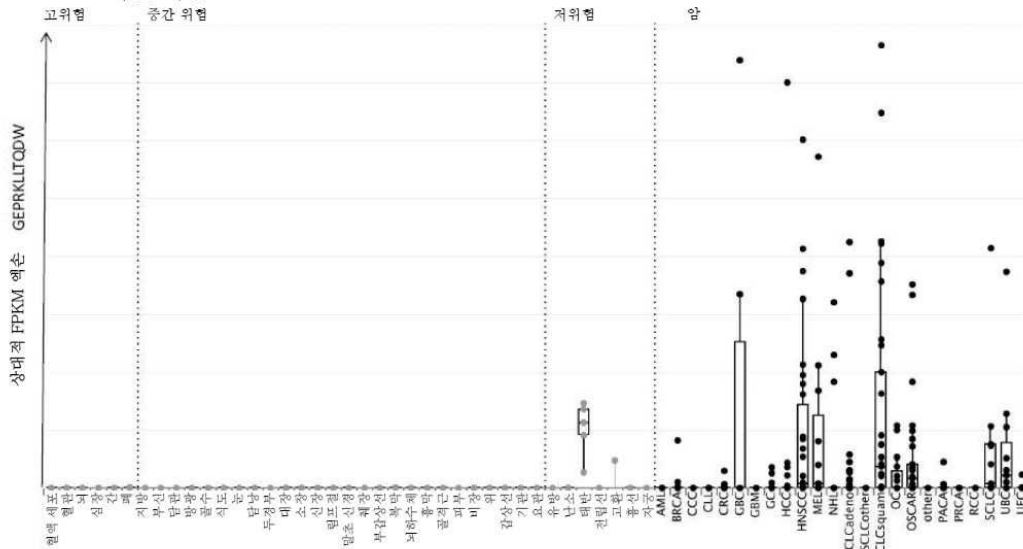


도면2i



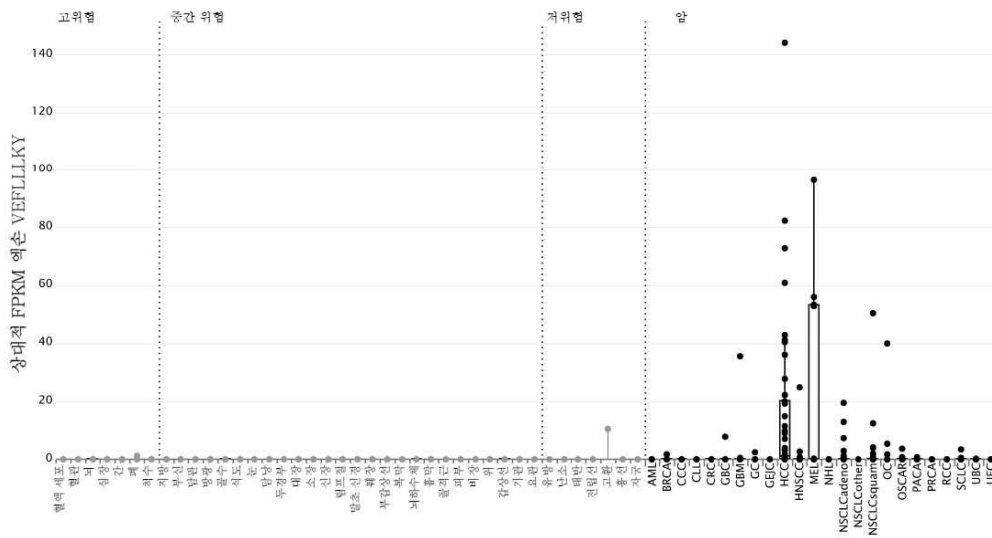
도면2j

유전자: MAGEA10, MAGEA4, MAGEA9, MAGEA9B
펩티드: GEPRKLTQDW
서열 식별 418



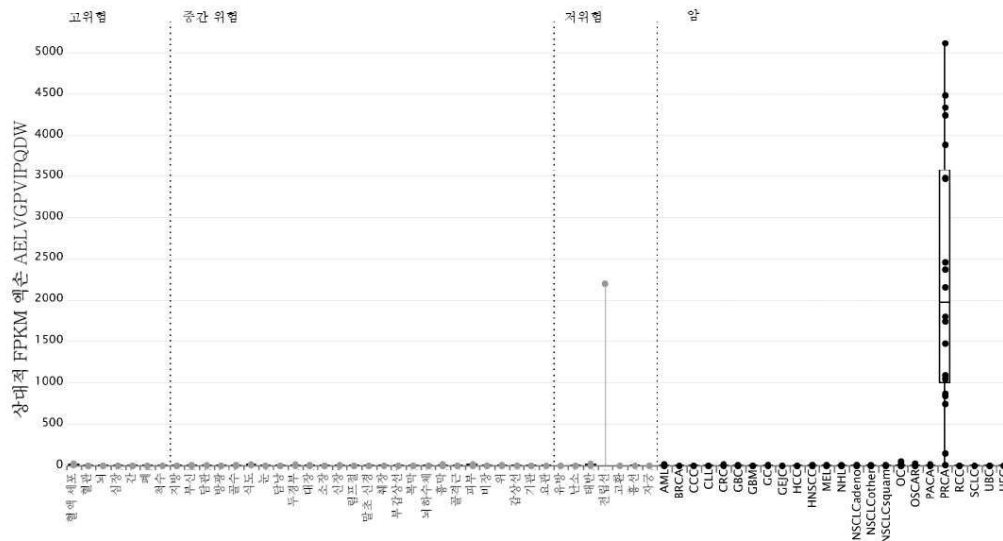
도면2k

유전자: MAGEC2, 펩티드: VEFLLLY, 서열 식별 번호: 5



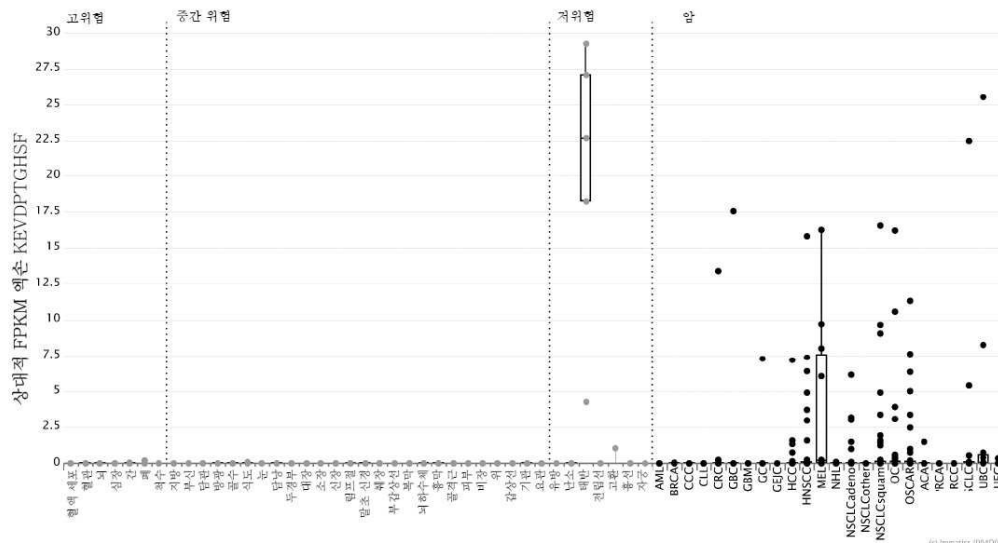
도면21

유전자: ACPF, 펩티드: AELVGPVVPQDW, 서열 식별 번호: 6



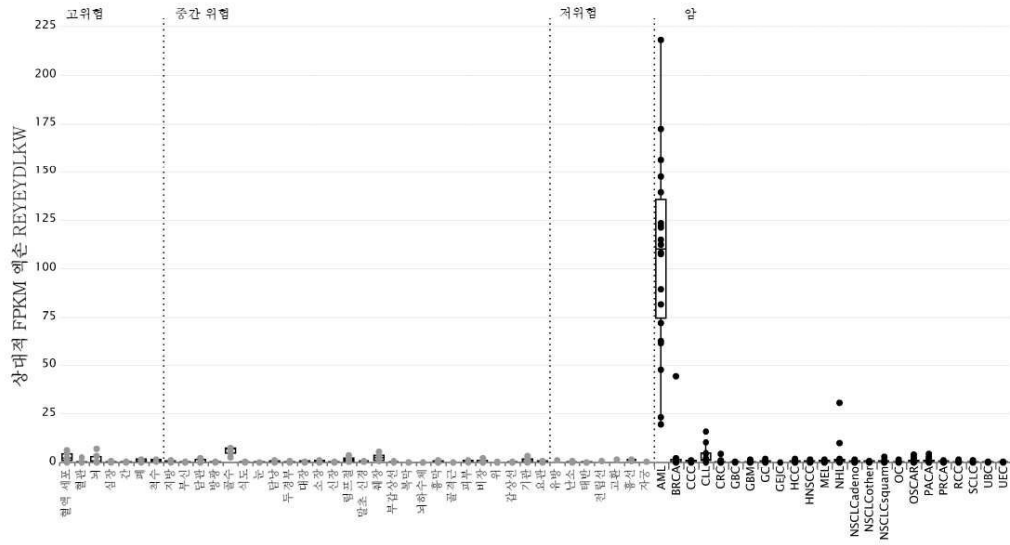
도면2m

유전자: MAGEA10, 펩티드: KEVDPTGHSE, 서열 식별 번호: 12



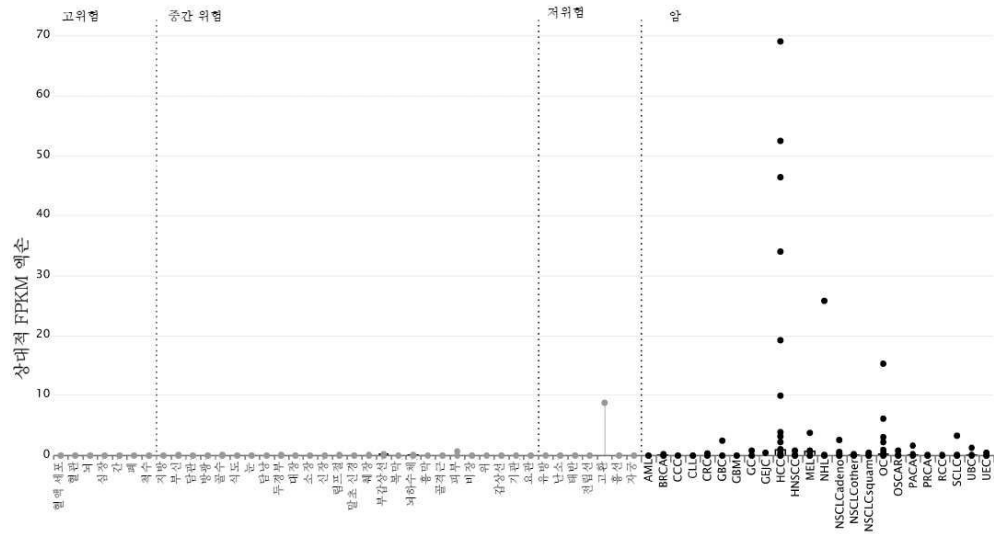
도면2p

유전자: FLT3, 펩티드: REYEYDLKW, 서열 식별 번호: 32



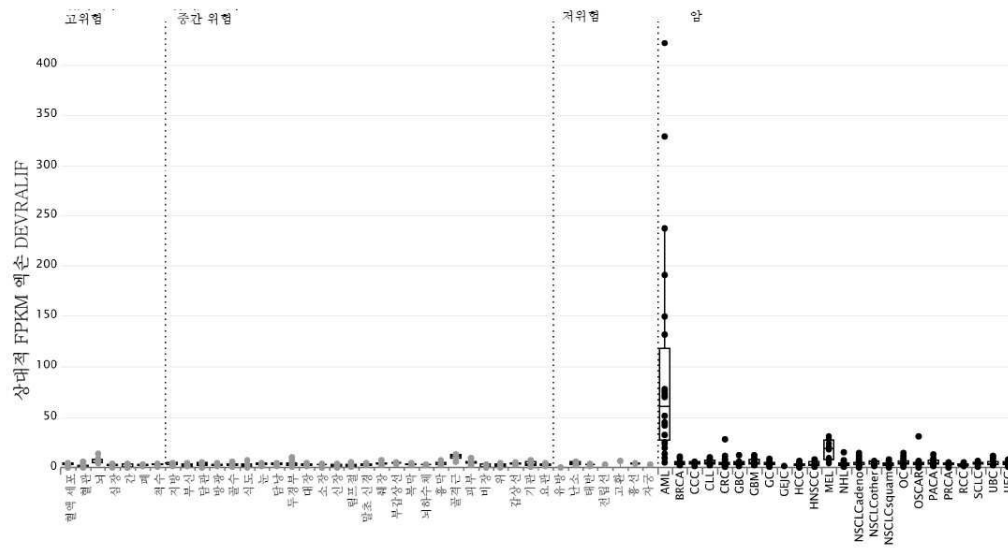
도면2q

유전자: SSX3, SSX4, SSX4B, 펩티드: SEKIVVYVY, 서열 식별 번호: 43



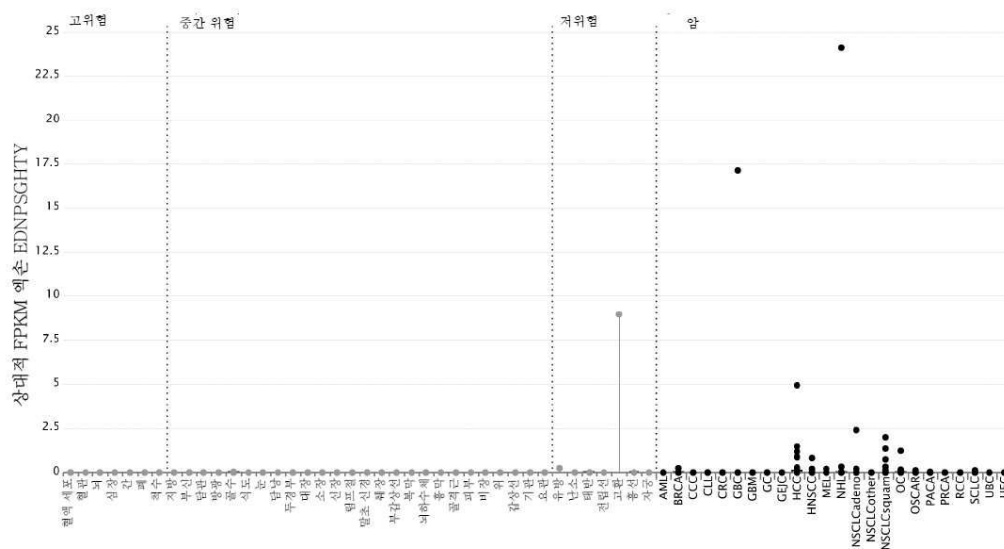
도면2r

유전자: ANKRD28, 펩티드: DEVRALIF, 서열 식별 번호: 48



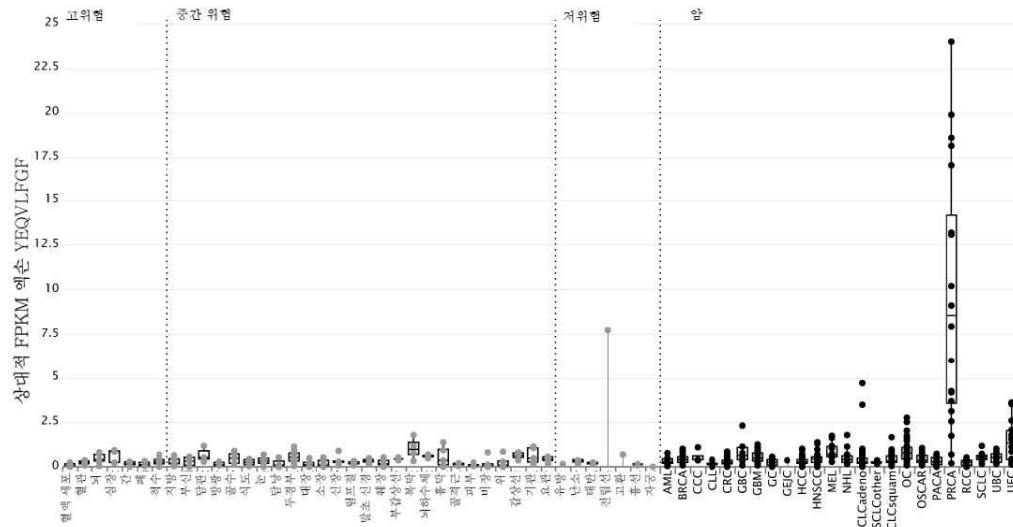
도면2s

유전자: MAGEB1, 펩티드: EDNPSGHTY, 서열 식별 번호: 52



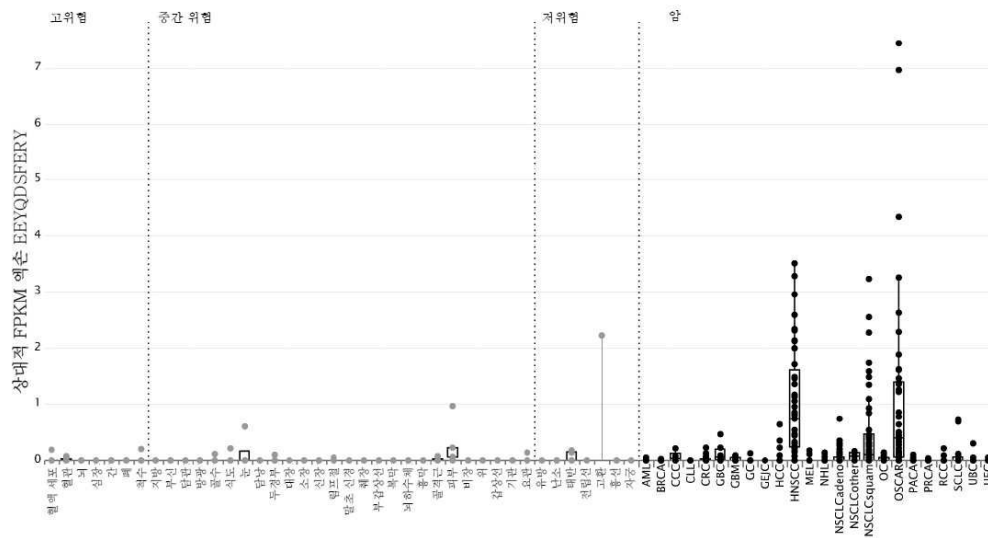
도면 2t

유전자: PAK1IP1, 펩티드: YEQVLFGF, 서열 식별 번호: 63

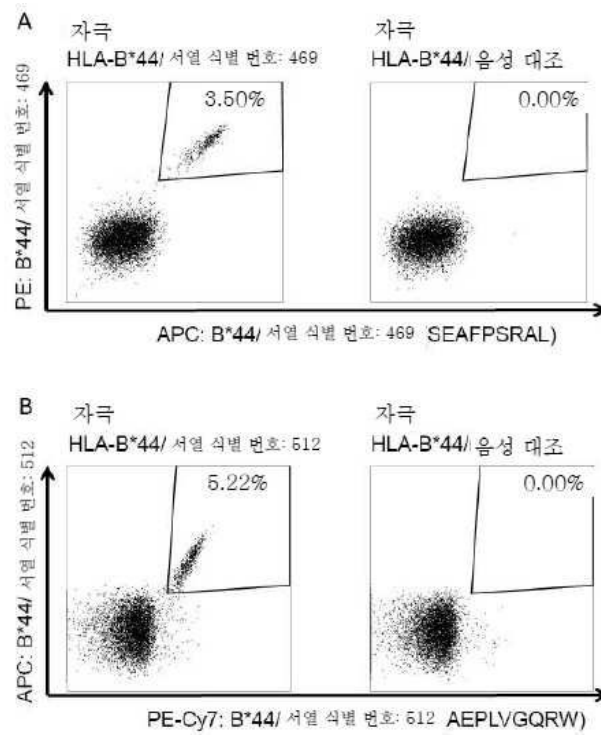


도면 2u

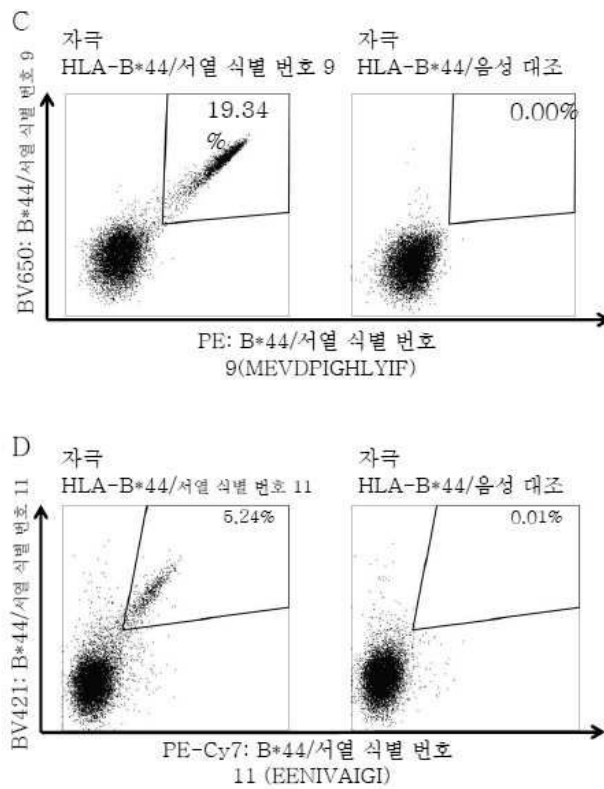
유전자: DNAH17, 펩티드: EEYQDSFERY, 서열 식별 번호: 64



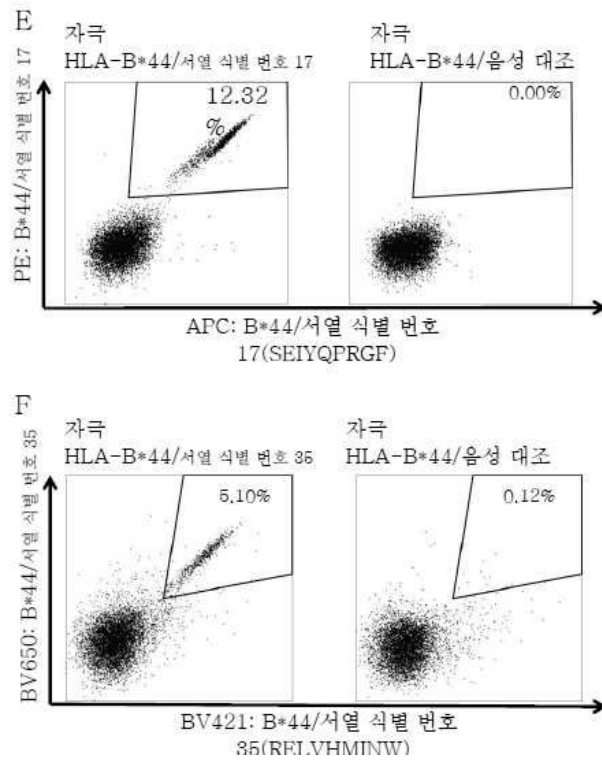
도면3ab



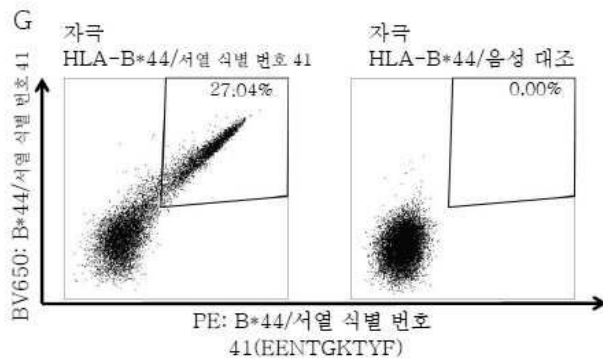
도면3cd



도면3ef



도면3g



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Immatics Biotechnologies GmbH

<120> B*44 restricted peptides for use in immunotherapy against cancers
and related methods

<130> I33243W0

<150> DE 10 2018 122623.3

<151> 2018-09-17

<150> US 62/732,300

<151> 2018-09-17

<160> 520

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Glu Glu Phe Leu Arg Pro Arg Ser Leu

1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Asp Glu Ile Phe Thr Asn Asp Arg Arg Trp

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu

1 5 10

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Val Glu Phe Leu Leu Leu Lys Tyr

1 5

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Glu Leu Val Gly Pro Val Ile Pro Gln Asp Trp

1 5 10

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ser Glu Ser Asp Leu Val Asn Phe Ile

1 5

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr Ile Phe

1 5 10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 10
 Ser Glu Tyr Pro Thr Lys Asn Tyr Val
 1 5
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 11
 Glu Glu Asn Ile Val Ala Ile Gly Ile
 1 5
 <210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Lys Glu Val Asp Pro Thr Gly His Ser Phe
 1 5 10
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13
 Val Glu Ala Gln Asp Arg Glu Thr Trp
 1 5
 <210> 14
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14
 Glu Met Pro Gly Gly Pro Val Trp
 1 5
 <210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Glu Ala Glu Leu Val Arg Arg Ile

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Asn Glu Ser Asp Arg Leu Val Tyr Phe

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Ser Glu Ile Tyr Gln Pro Arg Gly Phe

1 5

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Gln Glu Ala Pro Arg Pro Ala Ser Ser Leu

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 19

Met Glu His Ser Asp Glu Asn Ile Gln Phe Trp

1 5 10

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Leu Glu Ala Leu Leu Ser Asp Leu Phe

1 5

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Ser Glu Ala Lys Glu Ile Lys Ser Gln Leu

1 5 10

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Thr Glu Glu Ile Thr Glu Gly Val Trp

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Arg Glu Tyr Asn Leu His Arg Val Ala

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Glu Glu Leu Ala Leu Arg Ile Gly Leu

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ser Glu Lys Glu Pro Gly Gln Gln Tyr

1 5

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Glu Glu Ser Ser Ser Pro Val Asp Glu Tyr

1 5 10

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Gly Glu Thr Cys Val Arg Ile Thr Tyr

1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Gln Glu Phe Pro Ala His Ser Leu

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Thr Glu Asn Pro Lys Lys Phe Lys Ile

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<

<213> Homo sapiens

<400> 30

Glu Glu Phe Cys Phe Ser Val Arg Phe

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Glu Ser Ala Lys Glu Thr Arg Tyr

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Arg Glu Tyr Glu Tyr Asp Leu Lys Trp

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Ile Glu Tyr Glu Asn Gln Lys Arg Leu

1 5

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Ala Glu Pro Pro Ile Leu Tyr Ser Glu Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Arg Glu Leu Val His Met Ile Asn Trp

1 5

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Leu Glu Gln Ala Ser Arg Ile Trp Ser Trp

1 5 10

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Ile Glu Gln Gly Arg Val Val Leu Trp

1 5

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Asp Glu Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr

1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Ala Glu Ala Met Gly Lys Phe Lys Gln Cys Phe

1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Arg Glu Val Asp Pro Asp Asp Ser Tyr Val Phe

1 5 10

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Glu Glu Asn Thr Gly Lys Thr Tyr Phe

1 5

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Ser Glu Glu Asn Thr Gly Lys Thr Tyr Phe

1 5 10

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Ser Glu Lys Ile Val Tyr Val Tyr

1 5

<210> 44

<211> 8

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Ser Glu Phe Gly Ala Pro Arg Trp

1 5

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Glu Glu Ile Asn Glu Leu Asn Arg Met Ile

1 5 10

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Ser Glu Leu Gly Leu Pro Lys Glu Val

1 5

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Thr Glu Val His Ser Ser Pro Ala Gln Arg Trp

1 5 10

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Asp Glu Val Arg Ala Leu Ile Phe

1 5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Ser Glu Tyr Val His Ser Ser Phe

1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Ser Glu Tyr Val His Ser Ser Phe Ser Gly Phe

1 5 10

<210> 51

<211> 9

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Val Glu Met Thr Gly Lys His Gln Leu

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Glu Asp Asn Pro Ser Gly His Thr Tyr

1 5

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Lys Glu Asp Asn Pro Ser Gly His Thr Tyr

1 5 10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gln Glu Ile Ser Ala His Arg Thr Glu Phe

1 5 10

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Thr Glu Phe His Met Gln Phe Ser Tyr

1 5

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Ala Leu Glu Glu Gly Gly Gly Tyr Ile Phe

1 5 10

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Ser Glu Ala Thr His Ile Ile Thr Ile

1 5

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Lys Glu Met Asp Pro Ser Arg Gln Ser Tyr

1 5 10

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Ala Glu Ile Glu Ala Asp Arg Ser Tyr Gln

1 5 10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Glu Glu Ala Val Arg Ser Val Ala Phe

1 5

<210> 61

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Ala Glu Tyr Ser Val His Lys Ile

1 5

<210> 62

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Ala Glu Tyr Ser Val His Lys Ile Thr Ser Thr Phe

1 5 10

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Tyr Glu Gln Val Leu Phe Gly Phe

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Glu Glu Tyr Gln Asp Ser Phe Glu Arg Tyr

1 5 10

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Ser Glu Ser Met Val Glu Ser Lys Phe

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Ala Glu Val Thr Leu Asn Asn Thr Ile

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Thr Glu Gly Ala Val Glu Val Lys Tyr

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Asn Glu Ile Asp Ile His Ser Ile Tyr Phe

1 5 10

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Asp Glu Asn Ile Gln Lys Phe Ile Trp

1 5

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Ala Glu Ala Glu Glu Ala Met Lys Arg Leu

1 5 10

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Ala Glu Val Gly Asp Ile Ile Lys Val

1 5

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Ala Glu Val Gly Asp Ile Ile Lys Val His Phe

1 5 10

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Gly Glu Gly Thr Leu Arg Leu Ser Trp

1 5

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Ala Glu Leu Glu Gly Ala Leu Gln Lys Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Leu Glu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Thr Ala Tyr

1 5 10

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Arg Leu Asn Glu His Pro Ser Asn Asn Trp

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Gln Glu Thr Leu Ala Glu Ser Thr Trp

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Thr Glu Phe Ser Asn His Ile Asn Leu

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp

1 5

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Thr Glu Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg Gln Trp

1 5 10

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Gly Glu Lys Ala Thr Met Gln Asn Leu

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

82

Ala Val Phe Asp Glu Ser Lys Ser Trp

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Thr Glu Gly Gly Thr Gln Lys Thr Phe

1 5

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Ala Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Ser Glu Ile Asp Glu Lys Val Thr Asp Leu

1 5 10

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Gln Thr Leu Lys Ala Met Val Gln Ala Trp

1 5 10

<210> 87

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 87
 Gly Glu Ala Arg Gly Asp Gln Val Asp Trp
 1 5 10
 <210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 88
 Lys Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn Ile Leu
 1 5 10
 <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 89
 Lys Glu Phe Tyr Pro Val Lys Glu Phe
 1 5
 <210> 90
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 90
 Glu Glu Ser Leu Leu Ser Ser Trp
 1 5
 <210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 91
 Glu Glu Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Phe
 1 5 10

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Lys Glu Pro Ser Gln Ser Cys Ile Ala Gln Tyr

1 5 10

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Ser Glu Ala Gly Leu Thr Ala Asn Gln Tyr

1 5 10

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Ser Leu Ala Glu Leu Ile Ala Lys Asp Trp

1 5 10

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Ala Ala Phe Glu Asp Ala Gln Gly His Ile Trp

1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Met Asp Glu Leu Glu Glu Gly Glu Ser Tyr

1 5 10

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Glu Leu Val His Met Ile Asn Trp

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Ser Glu Glu Ser Ala Gly Pro Leu Leu

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Ser Glu Cys Val Lys Ser Leu Ser Phe

1 5

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Gln Gly Asp Val Val Asp Tyr Ser Phe Tyr

1 5 10

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Ser Glu Glu Asn Thr Gly Lys Thr Tyr

1 5

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Thr Glu Leu Ala Asp Leu Asp Ala Ala Trp

1 5 10

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Ala Glu Leu Phe Leu Thr Lys Ser Phe

1 5

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Glu Val His Ser Ser Pro Ala Gln Arg Trp

1 5 10

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Glu Glu Ile Phe Lys Thr Leu Asn Tyr

1 5

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Ser Val Ile Ser Asp Ser Pro Arg Ser Trp

1 5 10

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Tyr Gln Glu Asn Pro Arg Ala Ala Trp

1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Gln Glu Thr Asn Lys Val Glu Thr Tyr

1 5

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Ala Phe Ser Pro Ala Ala Gly Asn Thr Trp

1 5 10

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Glu Val Glu Val Gly Glu Val Lys Ser Trp

1 5 10

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Gln Glu Ile Asp Gln Lys Arg Leu Glu Phe

1 5 10

<210> 112

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Ala Glu Ile Glu Ala Asp Arg Ser Tyr Gln His

1 5 10

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Met Glu Phe Lys Thr Leu Asn Lys Asn

1 5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Val Glu Val Asn Gly Val Pro Arg Trp

1 5

<210> 115

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Gln Glu Pro Phe Thr Arg Pro Val Leu

1 5

<210> 116

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Ala Glu Ala Asn Pro Arg Asp Leu Gly Ala Ser Trp

1 5 10

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Ser Glu Val Pro Val Asp Ser His Tyr

1 5

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Ser Glu Val Pro Val Asp Ser His Tyr Tyr

1 5 10

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Val Glu Val Lys Tyr Glu Gly His Trp

1 5

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Val Thr Glu Gly Ala Val Glu Val Lys Tyr

1 5 10

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Tyr Glu Asn Ile Pro Val Asp Lys Val

1 5

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Gly Glu Ser Val Ser Trp His Leu Phe

1 5

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Asp Glu Ile Asn His Gln Ser Leu

1 5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Asn Glu Asn Leu Asp Tyr Ala Ile Leu

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Leu Glu Val Leu His Gln Gly Gln Trp

1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Ser Glu Ala Ser Gln Ser Pro Gln Tyr

1 5

<210> 127

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Arg Tyr Phe Asp Glu Asn Ile Gln Lys Phe Ile Trp

1 5 10

<210> 128

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Thr Glu Leu Thr Glu Ala Arg Val Gln Val Trp

1 5 10

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Glu Glu Ala Met Lys Arg Leu Ser Tyr

1 5

<210> 130

<211> 11

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 130
 Arg Glu Tyr Gln Glu Val Met Asn Ser Lys Leu
 1 5 10

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Arg Glu Ser His Leu Thr Glu Ile Arg Gln Tyr
 1 5 10

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Ala Glu Ser Phe Thr Ser Gly Arg His Tyr Trp
 1 5 10

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 133

Ile Glu Ala Pro Lys Leu Met Val Val
 1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Ile Glu Ile Lys Asp Arg Leu Gln Leu
 1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Gln Glu Ile Asp Arg Gly Gln Tyr Ile

1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Glu Glu Met Pro Glu Glu Ile His Leu

1 5

<210> 137

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Glu Lys Gly Leu Ile Ser Ala Phe

1 5

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Lys Glu Ala Pro Asn Ile Val Thr Leu

1 5

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

Ala Glu Ser Asp Phe Ser Asn Asn Met Leu

1 5 10

<210> 140
 <211> 9
 <212
 > PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 140
 Thr Glu His Ser Gly Ile Tyr Ser Cys
 1 5
 <210> 141
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 141
 Ser Glu Lys Trp Phe Arg Met Gly Phe
 1 5
 <210> 142
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 142
 Gln Glu Leu Phe Leu His Pro Val Leu
 1 5
 <210> 143
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 143
 His Glu Ile Ile Ile Arg Ser His Trp
 1 5
 <210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 144

Ile Glu Ala Tyr Leu Glu Arg Ile Gly Tyr

1 5 10

<210> 145

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Glu Glu Leu Arg Met Leu Ser Phe

1 5

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

Met Glu Glu Leu Arg Met Leu Ser Phe

1 5

<210> 147

<211> 10

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Arg Met Leu Ser Phe Gln Gln Met Thr Trp

1 5 10

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Lys Glu Ser Asp Ala Gly Arg Tyr Tyr

1 5

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Ala Glu Thr Glu Pro Glu Arg His Leu Gly

1 5 10

<210> 150

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

Ser Glu Val Phe His Val Ser Glu Ala

1 5

<210> 151

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Thr Glu Leu Gln Ile Pro Ser Phe

1 5

<210> 152

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

His Glu Asn Leu Ile Glu Asp Phe

1 5

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Ile Glu Ile Ile Leu Leu Ser Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Asn Glu Ala Gly Glu Met Ile Lys His Tyr

1 5 10

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Thr Glu Asp Ala Arg His Pro Glu Ser Trp

1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Asp Ala Ile Pro Pro Pro Thr Leu Thr Trp

1 5 10

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Ser Gln Asp Val Ala Gly Thr Thr Phe

1 5

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Val Glu Glu Glu Arg Tyr Thr Gly Gln Trp

1 5 10

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Glu Glu Val Gln Asp Gly Lys Val Ile

1 5

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Ala Glu Ile Ala Thr Thr Gly Gln Leu Tyr

1 5 10

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Gly Glu Ser Ser Glu Val Lys Ala Val Leu

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Glu Ala Tyr Asp Ile Glu Leu Asn Lys Trp

1 5 10

<210> 163

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

Ala Glu Asp Glu Asp Gly Lys Ile Val Gly Tyr

1 5 10

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Asp Glu Asp Gly Lys Ile Val Gly Tyr

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Glu Glu Ile Glu Ala His Ile Ala Leu

1 5

<210> 166

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Glu Glu Gln Asp Phe Ile Asn Asn Arg Tyr

1 5 10

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Ala Glu Thr Glu Asn Arg Tyr Cys Val

1 5

<210> 168

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Glu Glu Gly Pro Ser Val Pro Lys Ile Tyr

1 5 10

<210> 169

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Lys Glu His Asn Ser Ser Val Pro Trp Ser Ser

1 5 10

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Arg Glu Met Phe Val Phe Lys Asp Gln Trp

1 5 10

<210> 171

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Trp Glu Val Val His Thr Val Phe

1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Arg Glu Asn Pro Gly Met Phe Ser Trp

1 5

<210> 173

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Ser Glu His Ser Leu Glu Gly Gln Lys Phe

1 5 10

<210> 174

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Asp Glu Asn Asp Ala Gly Asn Leu Ile Thr Phe

1 5 10

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Asn Leu Lys Ser Pro Ile Pro Leu Trp

1 5

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Gly Glu Thr Gln Gln His Ile Gln Leu

1 5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Leu Glu Glu Pro Met Pro Phe Phe Tyr

1 5

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Lys Ile Phe

1 5 10

<210> 179

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Glu Glu His Ile Phe Ser Ala Phe

1 5

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Glu Glu His Ser Ser Lys Leu Gln Thr Ser Leu

1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

His Glu Val Ala Gln Asp Asp His Leu

1 5

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Glu Glu Leu His Ala Ala Leu Ser Glu Trp

1 5 10

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Lys Glu Met Gln Val Thr Ile Ser Gln Gln Leu

1 5 10

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Glu Glu Gln Leu Leu Gln Lys Val Met

1 5

<

210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Thr Glu Ala Asn Val Gln Ala Leu Phe

1 5

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Glu Glu Ile Phe Ala His Leu Gly Leu

1 5

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Thr Glu Gln Ala Leu Arg Leu Ser Val

1 5

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Ala Glu Phe Val Pro Lys Ala Asp Leu Leu

1 5 10

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Ala Leu Asn Gly Asp Ile Tyr Val Trp

1 5

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Asn Glu Ala Gly Glu Val Ser Lys His Phe

1 5 10

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Ala Glu His Asp Met Lys Ser Val Leu

1 5

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Leu Glu Ile Met Thr Asn Leu Val Thr Leu

1 5 10

<210> 193

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Arg Glu Leu Arg Pro Leu Phe Asp Arg Gln Trp

1 5 10

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Thr Glu Gly Asp Val Leu Asn Tyr Ile Phe

1 5 10

<210> 195

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Met Glu Ile Lys Gly Thr Val Thr Glu Phe

1 5 10

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Thr Glu Leu Glu Val Lys Ile Arg Asp Trp

1 5 10

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Asn Glu Ile Leu Thr Ile His Phe

1 5

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Arg Glu Glu Glu Ala Asn Val Val Leu

1 5

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Ala Glu Leu Pro Glu Asn Leu Lys Ala Leu Phe

1 5 10

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Lys Glu Leu Ser Val Phe Lys Lys Phe

1 5

<210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Met Glu Ile Leu Trp Lys Thr Leu Thr

1 5

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Arg Glu Leu Pro Leu Val Leu Leu Ala

1 5

<210> 203

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Arg Glu Ile Leu His Ala Gln Thr Leu

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Tyr Glu Arg Pro Thr Leu Val Glu Leu

1 5

<210> 205

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Met Glu Ile Glu Gly Ala Gly Asn Phe Leu

1 5 10

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Ser Glu Asp Pro Glu Lys Tyr Tyr Leu

1 5

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Leu Glu Gly Gly Gly Arg Gly Gly Glu Phe

1 5 10

<210> 208

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 208

Ser Glu Phe Leu Leu Arg Ile Phe

1 5

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Ala Glu Gly Glu Pro Pro Pro Ala Leu

1 5

<210> 210

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 210

Ala Glu Gly Glu Pro Pro Pro Ala Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 211

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 211

Leu Glu Met Leu Asp Ala His Arg Leu

1 5

<210> 212

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

Ser Glu Ala Ser Val Tyr Leu Phe Arg Phe

1 5 10

<210> 213

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Asp Glu Asp Leu Phe His Lys Leu

1 5

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Ser Val Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Phe

1 5

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Ser Ala Met Trp Ile Gln Leu Leu Tyr

1 5

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Ala Gly Ser Pro Val Met Arg Lys Trp

1 5

<210> 217

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Glu Val Glu Val Gly Asp Arg Thr Asp Trp

1 5 10

<210> 218

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Arg Glu Ala Glu Glu Lys Glu Ala Gln Leu

1 5 10

<210> 219

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg Thr Asp Trp

1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Glu Glu Glu Val Phe Ser Gly Met Lys Leu

1 5 10

<210> 221

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 221

Lys Glu Ala Phe Gly Pro Gln Ala Leu

1 5

<210> 222

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 222

Ser Glu Asp Thr Ile His Thr His Leu

1 5

<210> 223

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 223

Ser Glu Val Glu Gly Leu Ala Phe Val

1 5

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 224

Thr Glu Thr Asp Ile Asp Arg Glu Tyr

1 5

<210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 225

Val Glu Ala Ala Thr Val Ser Lys Trp

1 5

<210> 226

<211> 9

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 226

Ala Glu Asp Asn Met Val Thr Ser Tyr

1 5

<210> 227

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 227

Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp Thr Phe

1 5 10

<210> 228

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 228

Leu Glu Tyr Glu Ala Pro Lys Leu Tyr

1 5

<210> 229

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Ala Glu Asp Leu Glu Lys Lys Tyr Ala

1 5

<210> 230

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 230

Ala Glu Ala Leu Val Asp Gly Lys Trp

1 5

<210> 231

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231

Ala Glu Ala Leu Val Asp Gly Lys Trp Gln Glu Phe

1 5 10

<210> 232

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 232

Tyr Glu Ile Arg Ala Glu Ala Leu

1 5

<210> 233

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 233

Gln Glu Asp Lys Ala Thr Gln Thr Leu

1 5

<210> 234

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 234

Thr Glu Glu Pro Gln Arg Leu Phe Tyr

1 5

<210> 235

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 235

Ser Glu Ser Leu Pro Arg Ala Pro Leu

1 5

<210> 236

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Leu Glu Asp Gln Leu Lys Pro Met Leu Glu Trp

1 5 10

<210> 237

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

Gln Glu Ile Gly Gln Lys Thr Ser Val

1 5

<210> 238

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 238

Val Glu Asp Asp Asn Tyr Lys Leu Ser Leu

1 5 10

<210> 239

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 239

Asp Glu Asp Tyr Thr Tyr Leu Ile Leu

1 5

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Met Glu Leu Gln Val Ser Ser Gly Phe

1 5

<210> 241

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Gln Glu Leu Leu Asp Ile Ala Asn Tyr Leu

1 5 10

<210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Cys Asp Ala Gln Ile Gln Tyr Ser Tyr

1 5

<210> 243

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

Val Glu Gln Ile Asn Ile Ser Gln Asp Trp

1 5 10

<210> 244

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 244

Val Glu Ser Ser Gln Ala Phe Thr Trp

1 5

<210> 245

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 245

Met Glu Phe Gln Gly Pro Met Pro Ala Gly Met

1 5 10

<210> 246

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 246

His Glu His Gly Leu Phe Asn Leu Tyr

1 5

<210> 247

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 247

Lys Glu Ser Met Leu Lys Thr Thr Leu

1 5

<210> 248

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 248

Lys Glu Ser Gln Leu Pro Thr Val Met Asp Phe

1 5 10

<210> 249

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 249

Tyr Glu Met Ala Ile Tyr Lys Lys Tyr

1 5

<210> 250

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

Ala Glu Leu Asp His Leu Ala Ser Leu

1 5

<210> 251

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

Asp Glu Ser Ala Asp Ser Glu Pro His Lys Tyr

1 5 10

<210> 252

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Glu Glu Phe Ile Gly Lys Ile Gly Ile

1 5

<210> 253

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Gln Glu Ile Leu His Gly Ala Val Arg Phe

1 5 10

<210> 254

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 254

Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile

1 5

<210> 255

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 255

Lys Gln Trp Glu Tyr Asn Glu Lys Leu Ala Phe

1 5 10

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 256

Arg Leu Leu Pro Gly Lys Val Val Trp

1 5

<210> 257

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 257

His Ala Ile Asp Gly Thr Asn Asn Trp

1 5

<210> 258

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 258

Ile Glu Val Ser Ser Pro Ile Thr Leu

1 5

<210> 259

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 259

Ile Glu Val Ser Ser Pro Ile Thr Leu Gln Ala Leu

1 5 10

<210> 260

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 260

Val Glu Leu Met Phe Pro Leu Leu Leu

1 5

<210> 261

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 261

Gln Glu Trp Asp Pro Gln Lys Thr Glu Lys Tyr

1 5 10

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 262

Tyr Glu Asn Ile Leu Asn Ala Ile

1 5

<210> 263

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 263

Ala Glu Gln Leu Arg Gly Phe Asn Ala

1 5

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 264

Arg Glu Leu Ile Lys Ala Ile Gly Leu

1 5

<210> 265

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 265

Glu Asp Asn Leu Ile His Lys Phe

1 5

<210> 266

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 266

Glu Glu Glu Asp Arg Asp Gly His Thr Trp

1 5 10

<210> 267

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 267

Val Glu Leu Glu Val Pro Gln Leu

1 5

<210> 268

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 268

Glu Asp Leu Ala Val His Leu Tyr

1 5

<210> 269

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

Ser Glu Asp Leu Ala Val His Leu

1 5

<210> 270

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 270

Val Leu Arg Pro Pro Gly Ser Ser Trp

1 5

<210> 271

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 271

Arg Glu Asp Leu Val Gly Pro Glu Val

1 5

<210> 272

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 272

Ser Glu Gln Asn Ile Gln Arg Ala Asn Leu Phe

1 5 10

<210> 273

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 273

Thr Glu Phe Glu Leu Leu His Gln Val

1 5

<210> 274

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 274

Asp Glu Ile Asp Lys Leu Thr Gly Tyr

1 5

<210> 275

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 275

Gly Glu Gln Pro Pro Glu Gly Gln Trp

1 5

<210> 276

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 276

Ser Glu Tyr Gln Asp Gly Lys Glu Phe

1 5

<210> 277

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 277

Val Glu Phe Pro Ala Thr Arg Ser Leu

1 5

<210> 278

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 278

Asp Gln Val Thr Val Phe Leu His Phe

1 5

<210> 279

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 279

Gly Glu Pro Val Thr Gln Pro Gly Ser Leu Leu

1 5 10

<210> 280

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 280

Ala Ala Glu Pro Leu Val Gly Gln Arg Trp

1 5 10

<210> 281

<211> 8

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 281

His Glu Ile Pro Gln Glu Ser Leu

1 5

<210> 282

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 282

Lys Glu Phe Gly Ile Gly Asp Leu Val Trp

1 5 10

<210> 283

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 283

Val Glu Glu Glu Ile Ser Arg His Tyr

1 5

<210> 284

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Ser Gln Tyr Pro His Thr His Thr Phe

1 5

<210> 285

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 285

Ala Glu His Pro Asp Phe Ser Pro Cys Ser Phe

1 5 10

<210> 286

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 286

Asp Glu Leu Ser Val Gly Arg Tyr

1 5

<210> 287

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 287

Arg Glu Val Ser Val Val Asp Ile Leu

1 5

<210> 288

<211>

9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Thr Glu His Phe Leu Lys Lys Phe Phe

1 5

<210> 289

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

Asn Arg Tyr Ile Asn Ile Val Ala Tyr

1 5

<210> 290

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 290

Ala Glu Cys Ile Leu Ser Lys Arg Leu

1 5

<210> 291

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

Asp Glu Gln Leu Leu Leu Arg Phe

1 5

<210> 292

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 292

His Glu Leu Ala Leu Arg Gln Thr Val

1 5

<210> 293

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 293

Gln Glu Asp Glu Gln Leu Leu Leu Arg Phe

1 5 10

<210> 294

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 294

Glu Glu Trp Glu Trp Ile Gln Lys Leu

1 5

<210> 295

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 295

Gln Glu Leu Glu Gln Glu Val Ile Ser Leu

1 5 10

<210> 296

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 296

Ala Glu Thr Ile Phe Ile Val Arg Leu

1 5

<210> 297

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe Phe

1 5 10

<210> 298

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 298

Lys Glu Val Ala Ser Asn Ser Glu Leu

1 5

<210> 299

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 299

Ala Glu Val Gln Ile Ala Arg Lys Leu

1 5

<210> 300

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 300

Lys Gln Thr Glu Ala Thr Met Thr Phe

1 5

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 301

Ala Glu Arg Ile Met Phe Ser Asp Leu

1 5

<210> 302

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 302

Glu Gly Glu Asp Ala His Leu Thr Gln Tyr

1 5 10

<210> 303

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 303

Gly Glu Asp Ala His Leu Thr Gln Tyr

1 5

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 304

Arg Glu Leu Gly Phe Thr Glu Ala Thr Gly Trp

1 5 10

<210> 305

<211> 11

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 305

Ala Glu Lys Asn Arg Arg Asp Ala Glu Thr Trp

1 5 10

<210> 306

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 306

Arg Arg His Pro Ser Phe Lys Arg Phe

1 5

<210> 307

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 307

Tyr Glu Gln Leu Leu Lys Val Val Thr Trp

1 5 10

<210> 308

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 308

Glu Glu Pro Lys Ile Asp Phe Arg Val Tyr

1 5 10

<210> 309

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 309

Ser Asp Asp Leu Arg Asn Val Thr Trp

1 5

<210> 310

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 310

Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr

1 5

<210> 311

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

Arg Glu Lys Asp Leu Pro Asn Tyr Asn Trp

1 5 10

<210> 312

<

211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 312

Lys Glu Trp Glu Arg Glu Lys Ala Val Ser Leu

1 5 10

<210> 313

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 313

Glu Glu Ile Asn Gln Gly Gly Arg Lys Tyr

1 5 10

<210> 314

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 314

Glu Met Arg Glu Glu Arg Lys Phe

1 5

<210> 315

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 315

Met Glu Gln Gln Ser Gln Glu Tyr

1 5

<210> 316

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 316

Arg Leu Trp Pro Glu Pro Glu Asn Trp

1 5

<210> 317

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 317

Thr Glu Phe Gln Gln Ile Ile Asn Leu

1 5

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 318

Ser Glu Ser Ser Ser Phe Leu Lys Val

1 5

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 319

Tyr Glu Trp Glu Pro Phe Ala Glu Val

1 5

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 320

Ala Glu Asn Pro Leu Asn Ile Phe Tyr

1 5

<210> 321

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 321

Ala Glu Asn Pro Leu Asn Ile Phe Tyr Ile

1 5 10

<210> 322

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 322

Arg Glu Glu Ser Asp Trp His Tyr Leu

1 5

<210> 323

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 323

Ser Glu Thr Ala Val Val Asn Val Thr Tyr

1 5 10

<210> 324

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 324

Gln Glu Leu Ser Ser Ile Arg Gln Phe

1 5

<210> 325

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 325

Ala Glu Gln Glu Ile Met Lys Lys Val

1 5

<210> 326

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 326

Arg Glu Leu Leu Asp Phe Ser Ser Trp

1 5

<210> 327

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 327

Ser Glu Gln His Ser Leu Pro Val Phe

1 5

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 328

His Glu Asn Gly Val Leu Thr Lys Phe

1 5

<210> 329

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 329

Ser Glu Pro Gln Ile Thr Val Asn Phe

1 5

<210> 330

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 330

Ser Glu His Leu Phe Gly Thr Ser Tyr

1 5

<210> 331

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 331

Lys Glu Leu Glu Ala Thr Lys Gln Tyr Leu

1 5 10

<210> 332

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 332

Ser Glu Ala Asp Trp Leu Arg Phe Trp

1 5

<210> 333

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 333

Ser Glu Gly Thr Leu Pro Tyr Ser Tyr

1 5

<210> 334

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 334

Leu Glu Trp Gln Asn Ser Ser Ser Met

1 5

<210> 335

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 335

Ser Glu Thr Pro Thr Leu Gln Gly Leu

1 5

<210> 336

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 336

Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr

1 5

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 337

Val Glu Val Ile Pro Glu Gly Ala Met Leu

1 5 10

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 338

Ala Glu Met Lys Phe Tyr Val Val Ile

1 5

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 339

Asn Glu Val Lys Glu Ile Lys Gly Tyr

1 5

<210> 340

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 340

Gly Glu Leu Ala Pro Ser His Gly Leu

1 5

<210> 341

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 341
 His Glu Leu Glu Ser Glu Asn Lys Lys Trp
 1 5 10
 <210> 342
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 342
 Ser Glu Asn Lys Lys Trp Val Glu Phe
 1 5
 <210> 343
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 343
 Ser Glu Phe Asp Leu Glu Gln Val Trp
 1 5
 <210> 344
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 344
 Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr
 1 5
 <210> 345
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 345
 Ala Glu Tyr Gln Ala Ala Ile Leu His Leu
 1 5 10

<210> 346

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 346

Glu Glu Ile Glu Asn Leu Gln Ala Gln Phe

1 5 10

<210> 347

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

Leu Glu Asn Pro His Val Gln Ser Val

1 5

<210> 348

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 348

Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe

1 5 10

<210> 349

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 349

Leu Glu Trp Gln His Pro Ser Ser Trp

1 5

<210> 350

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 350

Glu Glu Met Leu Glu Asn Val Ser Leu

1 5

<210> 351

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 351

Glu Glu Gly Arg Val Tyr Val Tyr

1 5

<210> 352

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 352

Gln Glu Asp Glu Leu Val Lys Ile Arg Lys Tyr

1 5 10

<210> 353

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 353

Ala Glu Thr Glu Glu Gly Ile Tyr Trp

1 5

<210> 354

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 354

Thr Glu Ile Met Glu Lys Thr Thr Leu

1 5

<210> 355

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 355

Ser Glu Thr Ser Thr Gly Thr Ser Val

1 5

<210> 356

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 356

Thr Glu Ala Val Leu Asn Arg Tyr

1 5

<210> 357

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 357

Ala Glu Leu Met Asp Lys Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 358

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 358

Thr Glu Phe His Gly Gly Leu His Tyr

1 5

<210> 359

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 359

Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe

1 5

<210> 360

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 360

Asp Glu Met Glu Asn Leu Leu Thr Tyr

1 5

<210> 361

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 361

Glu Asp Ala Ser Leu Met Gly Leu Tyr

1 5

<210> 362

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 362

Ser Glu Val Glu Tyr Ile Asn Lys Tyr

1 5

<210> 363

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 363

Glu Glu Cys Asp Lys Ala Phe His Phe

1 5

<210> 364

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 364

Glu Glu Cys Asp Lys Ala Tyr Ser Phe

1 5

<210> 365

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 365

Asn Glu Ser Gly Lys Ala Phe Asn Tyr

1 5

<210> 366

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 366

Glu Glu Cys Gly Lys Ala Phe Lys Lys Phe

1 5 10

<210> 367

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 367

Thr Glu Phe Ala Val Lys Leu Lys Ile

1 5

<210> 368

<211>

9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 368

Lys Glu Lys Val Pro Gly Ile Thr Ile

1 5

<210> 369

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 369

Lys Glu Leu Glu Glu Arg Met Leu His Trp

1 5 10

<210> 370

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 370

Glu Glu Val Leu Leu Ala Asn Ala Leu Trp

1 5 10

<210> 371

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 371

Asn Glu Ile Gly Gln Glu Leu Thr Gly Gln Glu Trp

1 5 10

<210> 372

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 372

Glu Glu Tyr Lys Phe Pro Ser Leu Phe

1 5

<210> 373

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 373

Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile

1 5

<210> 374

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 374

Asn Glu Ala Glu Trp Gln Glu Ile Leu

1 5

<210> 375

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 375

His Glu Ala Thr Phe Gly Glu Lys Arg Phe

1 5 10

<210> 376

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 376

Ser Glu Ser Asp Gly Ile Glu Gln Leu

1 5

<210> 377

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 377

Ala Glu Asp Ala Arg Gly Trp Thr Ala

1 5

<210> 378

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 378

Gln Glu Leu Phe Leu Gln Glu Val Arg Met

1 5 10

<210> 379

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 379

Ala Glu Asn Arg Val Gly Lys Met Glu Ala

1 5 10

<210> 380

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 380

Glu Glu Cys Gly Lys Ala Phe Arg Val Phe

1 5 10

<210> 381

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 381

Gln Glu Leu Met Ala Phe Ser Phe Ala Gly Leu

1 5 10

<210> 382

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 382

Ser Glu Leu Asn Pro Leu Ala Leu Tyr

1 5

<210> 383

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 383

Glu Glu Met Glu Arg Asp Leu Asp Met Tyr

1 5 10

<210> 384

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 384

Leu Asp Gly Ile Pro Thr Ala Gly Trp

1 5

<210> 385

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 385

Leu Glu His Pro Phe Leu Val Asn Leu Trp

1 5 10

<210> 386

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 386

Glu Glu Ser Asp Tyr Ile Thr His Tyr

1 5

<210> 387

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 387

Gly Glu Val Gln Glu Asn Tyr Lys Leu

1 5

<210> 388

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 388

Val Glu Ile Val Thr Ile Pro Ser Leu

1 5

<210> 389

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 389

Asp Glu Gln Arg Arg Gln Asn Val Ala Tyr

1 5 10

<210> 390

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 390

Gly Glu Tyr Asn Lys His Ala Gln Leu Trp

1 5 10

<210> 391

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 391

Thr Glu Ser Ile Gly Ala Gln Ile Tyr

1 5

<210> 392

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 392

Thr Glu Val Ser Val Leu Leu Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 393

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 393

Ser Glu Thr Ile Leu Ala Val Gly Leu

1 5

<210> 394

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 394

Ser Glu Ile Leu Arg Val Thr Leu Tyr

1 5

<210> 395

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 395

Ala Glu Asp Phe Val Trp Ala Gln Trp

1 5

<210> 396

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 396

Met Glu Leu Leu Phe Leu Asp Thr Phe

1 5

<210> 397

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 397

Glu Glu Cys Gly Lys Ala Phe Ser Val Phe

1 5 10

<210> 398

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 398

Ala Glu Ile Ile Arg Tyr Ile Phe

1 5

<210> 399

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 399

Ile Glu Gln Ala Asp Trp Pro Glu Ile

1 5

<210> 400

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 400

Thr Glu Leu Gly Leu Phe Gly Val Trp

1 5

<210> 401

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 401

Val Glu Asn Ile Phe His Asn Phe

1 5

<210> 402

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 402

Ile Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Phe Asn Phe

1 5 10

<210> 403

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 403

Gln Glu Ser Val His Val Ala Ser Tyr

1 5

<210> 404

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 404

Ala Glu Arg Glu Gln Val Ile Lys Leu

1 5

<210> 405

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 405

Tyr Glu His Ala Phe Asn Ser Ile Val Trp

1 5 10

<210> 406

<

211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 406

Gly Glu Thr Val Val Leu Lys Asn Met

1 5

<210> 407

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 407

Met Glu Phe Gln Asn Thr Gln Ser Tyr

1 5

<210> 408

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 408

Ala Phe Ser Leu Leu Ser Ala Ala Phe Tyr

1 5 10

<210> 409

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 409

Gln Glu Ala Lys Pro Arg Ala Thr Trp

1 5

<210> 410

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 410

Arg Glu Leu Glu Glu Glu Phe Tyr Ser Leu

1 5 10

<210> 411

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 411

Ala Glu Arg Asp Leu Asn Val Thr Ile

1 5

<210> 412

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 412

Glu Glu Ser Phe Asp Ser Lys Phe Tyr

1 5

<210> 413

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 413

Thr Glu Leu Glu Pro Gly Leu Thr Tyr

1 5

<210> 414

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 414

Ala Glu Gly Tyr Leu Asp Leu Asp Gly Ile

1 5 10

<210> 415

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 415

Glu Glu Ala Gly Phe Pro Leu Ala Tyr

1 5

<210> 416

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 416

Asp Glu Leu Met Arg Lys Glu Ser Gln Trp

1 5 10

<210> 417

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 417

Glu Glu Ser Phe Arg Cys Leu Pro Glu Trp

1 5 10

<210> 418

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 418

Gly Glu Pro Arg Lys Leu Leu Thr Gln Asp Trp

1 5 10

<210> 419

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 419

Ser Glu Leu Ser Leu Leu Ser Leu Tyr

1 5

<210> 420

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 420

Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Val Tyr

1 5 10

<210> 421

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 421

Thr Glu Asp Tyr Ser Lys Gln Ala Leu

1 5

<210> 422

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 422

Glu Glu Ala Gln Trp Val Arg Lys Tyr Phe

1 5 10

<210> 423

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 423

Lys Glu Ala Ile Asn Leu Leu Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 424

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 424

Glu Glu His Val Tyr Glu Ser Ile Ile Arg Trp

1 5 10

<210> 425

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 425

Lys Glu Val Asp Pro Ala Ser Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 426

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 426

Ala Glu Ser Leu Phe Arg Glu Ala Leu

1 5

<210> 427

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 427

Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp

1 5 10

<210> 428

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 428

Ala Glu Glu Lys Ala Ala Val Thr Ser Leu

1 5 10

<210> 429

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 429

Arg Glu Thr Glu Asp Tyr Ser Lys Gln Ala Leu

1 5 10

<210> 430

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 430

Arg Glu Leu Ala Arg Val Val Thr Leu

1 5

<210> 431

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 431

Gln Glu Leu Leu Asp Phe Thr Asn Trp

1 5

<210> 432

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 432

Thr Glu Glu Asn Gly Phe Trp Tyr Leu

1 5

<210> 433

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 433

Ala Glu Glu Gly Pro Ser Val Pro Lys Ile Tyr

1 5 10

<210> 434

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 434

Ala Glu Gln Gln Gln Gln Met Tyr

1 5

<210> 435

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 435

Phe Glu Thr Glu Gln Ala Leu Arg Leu

1 5

<210> 436

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 436

Ala Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp Phe

1 5 10

<210> 437

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 437

His Glu Asp Pro Ser Gly Ser Leu His Leu

1 5 10

<210> 438

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 438

Ala Glu Leu Asp Ser Lys Ile Leu Ala Leu

1 5 10

<210> 439

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 439

Val Glu Val Gly Asp Arg Thr Asp Trp

1 5

<

210> 440

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 440

Gln Glu Val Ala Gln Val Ala Ser Ala

1 5

<210> 441

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 441

Gln Glu Val Ala Gln Val Ala Ser Ala Ile Leu

1 5 10

<210> 442

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 442

Lys Glu Ser Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr

1 5

<210> 443

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 443

Glu Glu Tyr Ala Gly Gln Ile Thr Leu

1 5

<210> 444

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 444

Ser Glu Ser Ala Leu Gln Thr Val Ile

1 5

<210> 445

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 445

Gln Glu Val Gly Glu Ile Thr Asn Leu

1 5

<210> 446

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 446

Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr

1 5

<210> 447

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 447

Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu

1 5 10

<210> 448

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 448

Ala Leu Ser Pro Val Pro Ser His Trp

1 5

<210> 449

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 449

Arg Glu Asn Asp Phe Glu Pro Lys Phe

1 5

<210> 450

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 450

Arg Glu Ile Glu Asn Gly Asn Ser Phe

1 5

<210> 451

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 451

Arg Glu Tyr Glu Asp Gly Pro Leu Ser Leu

1 5 10

<210> 452

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 452

Asn Glu Val Asp Gly Glu Tyr Arg Tyr

1 5

<210> 453

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 453

Ser Glu Ser Lys Val Phe Gln Leu Leu

1 5

<210> 454

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 454

Ser Glu Ser Ser Ser Ala Phe Gln Phe

1 5

<210> 455

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 455

Gln Glu Ser Val His Val Ala Ser Tyr Tyr Trp

1 5 10

<210> 456

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 456

Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val

1 5

<210> 457

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 457

Ala Glu Met Leu Glu Arg Val Ile Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 458

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 458

Ala Glu Met Leu Glu Ser Val Ile Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 459

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 459

Lys Glu Val Asp Pro Ala Gly His Ser Tyr

1 5 10

<210> 460

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 460

Ser Glu Phe Met Gln Val Ile Phe

1 5

<210> 461

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 461

Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Val Tyr Ile Phe

1 5 10

<210> 462

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 462

Ser Glu Ser Asp Thr Ile Arg Ser Ile

1 5

<210> 463

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 463

Gln Glu Met Gln His Phe Leu Gly Leu

1 5

<210> 464

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 464

Arg Glu Met Pro Gly Gly Pro Val Trp

1 5

<210> 465

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 465

Tyr Glu Ile Glu Ala Arg Asn Gln Val Phe

1 5 10

<210> 466

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 466

Lys Glu Val Asp Pro Thr Ser His Ser Tyr

1 5 10

<210> 467

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

400> 467

Phe Glu Tyr Asp Phe Leu Leu Gln Arg Ile

1 5 10

<210> 468

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 468

Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln Lys Tyr

1 5 10

<210> 469

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 469

Ser Glu Ala Phe Pro Ser Arg Ala Leu

1 5

<210> 470

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 470

Glu Asp Ala Gln Gly His Ile Trp

1 5

<210> 471

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 471

Phe Glu Asp Ala Gln Gly His Ile Trp

1 5

<210> 472

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 472

His Glu Phe Gly His Val Leu Gly Leu

1 5

<210> 473

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 473

Ser Glu Leu Lys Met Met Thr Gln Leu

1 5

<210> 474

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 474

Ala Glu Glu Glu Ile Met Lys Lys Ile

1 5

<210> 475

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 475

Thr Asp Ser Ile His Ala Trp Thr Phe

1 5

<210> 476

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 476

Met Glu His Pro Gly Lys Leu Leu Phe

1 5

<210> 477

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 477

Val Tyr Glu Lys Asn Gly Tyr Ile Tyr Phe

1 5 10

<210> 478

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 478

Ala Glu Ile Glu Ala Asp Arg Ser Tyr

1 5

<210> 479

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 479

Gln Glu Asn Ser Tyr Gln Ser Arg Leu

1 5

<210> 480

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 480

Ser Glu Ile Glu Gln Glu Ile Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 481

<

211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 481

Glu Glu Ala Gln Trp Val Arg Lys Tyr

1 5

<210> 482

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 482

Asn Glu Ala Ile Met His Gln Tyr

1 5

<210> 483

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 483

Lys Glu Ser Pro Thr Ser Val Gly Phe

1 5

<210> 484

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 484

Gly Glu Ala Val Thr Asp His Pro Asp Arg Leu Trp

1 5 10

<210> 485

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 485

Asn Glu His Pro Ser Asn Asn Trp

1 5

<210> 486

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 486

Glu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Ser Phe

1 5

<210> 487

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 487

Leu Glu Met Pro His Tyr Ser Thr Phe

1 5

<210> 488

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 488

Ser Glu Asn Pro Glu Thr Ile Thr Tyr

1 5

<210> 489

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 489

Ser Glu Tyr Ala Asp Thr His Tyr Phe

1 5
 <210> 490
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 490
 Thr Glu Asn Arg Tyr Cys Val Gln Leu

1 5
 <210> 491
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 491
 Tyr Glu Val Asp Thr Val Leu Arg Tyr

1 5
 <210> 492
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 492
 Ala Glu His Asn Phe Val Ala Lys Ala

1 5
 <210> 493
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 493
 Ala Leu Asn Pro Tyr Gln Tyr Gln Tyr

1 5
 <210> 494
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 494

Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile

1 5

<210> 495

<211> 10

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 495

Arg Glu Asn Gln Val Leu Gly Ser Gly Trp

1 5 10

<210> 496

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 496

Ala Glu Ile Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Lys Val Phe

1 5 10

<210> 497

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 497

Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Lys Val Phe

1 5

<210> 498

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

<400> 498

Arg Glu Ala Gly Phe Gln Val Lys Ala Tyr

1 5 10

<210> 499

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 499

Val Thr Glu Glu Pro Gln Arg Leu Phe Tyr

1 5 10

<210> 500

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 500

Gln Glu Val Leu Leu Gln Thr Phe Leu

1 5

<210> 501

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 501

Lys Glu Gly Asp Leu Gly Gly Lys Gln Trp

1 5 10

<210> 502

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 502

Met Glu Val Pro Val Ile Lys Ile

1 5

<210> 503

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 503

Ala Ser Ser Ser Gly Pro Met Arg Trp Trp

1 5 10

<210> 504

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 504

Lys Glu Ser Gln Leu Pro Thr Val Met

1 5

<210> 505

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 505

Ala Glu Asp Asn Leu Ile His Lys Phe

1 5

<210> 506

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 506

Gln Glu Ser Asp Leu Arg Leu Phe Leu

1 5

<210> 507

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 507

Gln Gln Phe Leu Thr Ala Leu Phe Tyr

1 5

<210> 508

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 508

Ala Glu Ser Glu Asp Leu Ala Val His Leu

1 5 10

<210> 509

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 509

Ala Glu Ser Glu Asp Leu Ala Val His Leu Tyr

1 5 10

<210> 510

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 510

Ser Glu Asp Leu Ala Val His Leu Tyr

1 5

<210> 511

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 511

Ala Glu Ala Val Leu Lys Thr Leu Gln Glu Leu

1 5 10

<210> 512

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 512

Ala Glu Pro Leu Val Gly Gln Arg Trp

1 5

<210> 513

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 513

Ala Glu Lys Asp Gly Lys Leu Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 514

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 514

Glu Glu Asn Lys Pro Gly Ile Val Tyr

1 5

<210> 515

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 515

Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp

1 5 10

<210> 516

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 516

Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe

1 5 10

<210> 517

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 517

Thr Glu Ala Thr Met Thr Phe Lys Tyr

1 5

<210> 518

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 518

Phe Glu Leu Pro Thr Gly Ala Gly Leu

1 5

<210> 519

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 519

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val

1 5 10

<210> 520

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 520

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile

1 5