



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0063320
(43) 공개일자 2021년06월01일

- (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 7/06 (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 10-2021-7004770
- (22) 출원일자(국제) 2019년09월18일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년02월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2019/075065
- (87) 국제공개번호 WO 2020/058360
국제공개일자 2020년03월26일
- (30) 우선권주장
10 2018 122 900.3 2018년09월18일 독일(DE)
62/732,863 2018년09월18일 미국(US)
- (71) 출원인
이매텍스 바이오테크놀로지스 게엠베하
독일 72076 튀빙겐 파울-울리히-스트라쎄 15
- (72) 발명자
슈스터 하이코
독일, 72074 튀빙겐, 도페커슈트라쎄 22
- 손탁 아니카
독일, 72076 튀빙겐, 보넨버거슈트라쎄 9
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한일

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 A*01 제약 펩티드 및 펩티드의 조합에 의한 암에 대한 면역요법 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 7/06 (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-슈트라쎄 1

슈어 올리버

독일, 72074 튀빙겐, 아이치할텐슈트라쎄 19

프리체 켄스

독일, 72144 더슬링겐, 래첸베그 11

바인센크 토니

독일, 73773 아이치발드, 임 모겐라인 15

싱 하프릿

독일, 80804 뮌헨, 헤세슈트라쎄 25에이

송 콜레트

독일, 73760 오스트필덴, 빌리-마우마이스터-베그 21

명세서

청구범위

청구항 1

서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 그리고 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 대해 적어도 88% 상동성인 이의 변이체 서열을 포함하는 펩티드, 그리고 상기 변이체는 주조직 적합 복합체(MHC)의 분자(들)에 결합하며/거나 상기 변이체 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하며, 그리고 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 있어서 상기 펩티드는 전장 폴리펩티드가 아닌 펩티드.

청구항 2

제1항에 따른 펩티드에 있어서, 상기 펩티드는 MHC 클래스 I 또는 II의 분자에 결합하는 능력을 보유하며, 또한 상기 펩티드는 상기 MHC와 결합 시 CD4 및/또는 CD8 T세포에 의해 인식될 수 있는 펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 그 아미노산 서열이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398 중 어느 하나에 따른 아미노산의 연속적인 신장을 포함하는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 4

제1항~제3항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 상기 펩티드 또는 그 변이체가 갖는 전체 길이는 8 ~ 100개, 바람직하게는 8 ~ 30개, 더 바람직하게는 8 ~ 16개 그리고 가장 바람직하게는 펩티드가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 실질적으로 구성되는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 5

제1항부터 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 그 변이체에 있어서, 상기 펩티드가 변형되며/거나 비펩티드 결합을 포함하는 펩티드 또는 그 변이체.

청구항 6

제1항부터 제5항의 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 7

제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체, 바람직하게는 MHC 분자에 결합 시 제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체를 특이적으로 인식하는 항체로 특히 가용성 혹은 막결합 항체, 바람직하게는 단클론 항체나 이의 단편.

청구항 8

HLA 리간드와 반응성인 바람직하게는 가용성이나 막결합된 T세포 수용체 또는 이의 단편에서, 상기 리간드가 제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체, 바람직하게는 MHC 분자에 결합 시 제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드 또는 이의 변이체인 T세포 수용체.

청구항 9

제8항에 따른 T세포 수용체에서 상기 리간드 아미노산 서열이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398의 어느 하나에 대해 적어도 88%의 동일성을 갖거나, 또는 상기 리간드 아미노산 서열이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398의 어느 하나로 구성된 T세포 수용체.

청구항 10

제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체로서, 상기 T세포 수용체가 용해성 분자로서 제공되며, 선택적으로 면역

자극 도메인이나 독소와 같은 추가 작용기 기능을 더욱 지니는 T세포 수용체.

청구항 11

제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 바람직하게는 MHC 분자에 결합한 제1항부터 제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드나 이의 변이체를 특이적으로 인식하는 압타머.

청구항 12

제1항~제5항의 어느 한 항에 따른 펩티드나 그 변이체를 인코딩하는 핵산, 제7항에 따른 항체나 이의 단편에서, 선택적으로 이중 촉진자 서열에 연계된 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편 또는 상기 핵산을 발현하는 발현 벡터.

청구항 13

제1항~제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 또는 제12항에 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 14

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 제4항의 어느 한 항에 따른 펩티드인 방법.

청구항 15

제1항~제4항의 어느 한 항에서 주어진 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 제시하는 세포를 선택적으로 인식하는, 제14항에 따른 방법에 의해 생산되는 활성화 T림프구.

청구항 16

제1항~제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제11항에 따른 압타머, 제12항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제13항에 따른 숙주 세포, 또는 제15항에 따른 활성화 T 림프구, 또는 접합되거나 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 17

제1항부터 제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드나 이의 변이체, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 또는 제8항에서 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편을 생산하는 방법에서, 상기 방법은 제13항에 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 18

의학에서의 사용을 위한 제1항~제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제11항에 따른 압타머, 제12항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제13항에 따른 숙주 세포 또는 제15항에 따른 활성화 T림프구.

청구항 19

제1항~제4항의 어느 한 항에 주어진 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 제시하는 세포를 표적으로 하는 환자 체내에서 표적 세포를 괴사시키는 방법으로, 제15항에 정의된 효과적인 수의 활성화 T세포의 상기 환자에 대한 투여를 포함하는 방법.

청구항 20

암의 진단 및/또는 치료에서의 사용을 위한 또는 암에 대한 약제의 제조에서의 사용을 위한, 제1항~제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제11항에 따른 압타머, 제12항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제13항에 따른 숙주 세포 또는 제15항에 따른 활성화 T 림프구.

청구항 21

제20항에 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 398로부터 유래하는 단백질의 과발현을 나타내는 다른 종양들의 군으로부터 선택되는 사용.

청구항 22

키트에 있어서,

- (a) 제1항~제6항의 어느 한 항에 따른 펩티드(들)이나 변이체, 제7항에 따른 항체나 이의 단편, 제8항이나 제9항에 따른 T세포 수용체나 이의 단편, 제11항에 따른 압타머, 제12항에 따른 핵산이나 발현 벡터, 제13항에 따른 숙주 세포 또는 제15항에 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 432로 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 23

제22항에 따른 키트에 있어서, 하나 이상의 (iii) 완충액, (iv) 희석제, (v) 필터, (vi) 주사바늘 또는 (v) 주사기를 추가로 포함하는 키트.

청구항 24

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 25

제24항에 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 I 및/또는 클래스 II 분자에 결합된 MHC 리간드의 서열과의 상관관계 결정에 의해 동정되는 방법.

청구항 26

제24항이나 제25항에 따른 방법에 있어서, 종양 샘플로부터 분리된 MHC 분자로부터 결합된 펩티드를 용출시키고 용출된 리간드의 서열결정에 의해 MHC 리간드의 서열을 결정하는 방법.

청구항 27

제24항부터 제26항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 종양 샘플의 조직 유형에 상응하는 정상 조직을 동일한 환자로부터 얻는 방법.

청구항 28

제24항부터 제27항의 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 29

제24항부터 제28항의 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 30

제24항~제29항의 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 상기 웨어하우스가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 432로 구성되는 군으로부터 선택된 복수의 펩티드를 포함하는 방법.

청구항 31

제24항부터 제30항의 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 32

제31항의 방법에 있어서, 상기 적어도 하나의 돌연변이가 전체 유전체 서열 결정에 의해 식별되는 방법.

청구항 33

제1항 ~ 제6항의 어느 한 항의 펩티드를 발현하는 환자에서 암 세포를 살해하는 활성화 T세포의 모집단을 포함

하는 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 34

제1항 ~ 제6항의 어느 한 항의 펩티드를 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 35

제33항 또는 제34항의 방법에 있어서, T세포가 환자에 대해 자가 세포인 방법.

청구항 36

제33항 또는 제34항의 방법에 있어서, T세포를 건강한 공여자로부터 얻는 방법.

청구항 37

제33항 또는 제34항의 방법에 있어서, T세포가 종양 침윤 림프구나 말초 혈액 단핵 세포로부터 유래하는 방법.

청구항 38

제33항 ~ 제37항의 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.

청구항 39

면역원성을 강화시키는보조제의 양을 추가로 포함하는 제16항의 약학적 조성물.

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. 주조직적합 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. GBM은 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 비소세포 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, 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 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 조직학적으로 인간 종양과 다르며, 정상 조직 중, 고환의 정모 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 특이적이지 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 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 제시를 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 막형단 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 제시 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 γ)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 에피토프

을 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 에피톱) 또는 CD4 양성 조력 T세포(리간드:MHC 클래스 II 분자 + 펩티드 에피톱)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 전체 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 에피톱이 항원의 아미노산 서열에 나타나는 것이 필수적이다.
- [0035] 기본적으로, MHC 분자에 결합할 수 있는 모든 펩티드는 T세포 에피톱으로서 기능할 수 있다. 시험관 내 또는 생체 내 T세포 반응의 유도의 전체 조건은 상응하는 TCR이 있는 T세포의 존재와 이 특정 에피톱에 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 에피톱에 대한 면역 내성이 없거나 최소화되어야 하므로 이러한 항원의 에피톱의 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(골격)에 의해 펩티드-MHC를 표적화하는 경우, 기저 펩티드의 면역원성은 이차적인 것이다. 이러한 경우 그 제시가 결정 요인이다.

과제의 해결 수단

- [0038] 본 발명의 제 1 양태에서, 본 발명은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398또는서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 대해 적어도 77%, 바람직하게는 적어도 88% 상동성인(바람직하게는 적어도 77% 또는 적어도 88% 동일한) 이의변이체 서열로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 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.
- [0039] 본 발명은 또한 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398또는서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 대해 적

어도 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.

[0040]

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 385의 펩티드는 HLA-A*01에 결합한다. 표의 펩티드는 고처리량의 스크리닝 및 높은 오류 비율의 결과로서 과거에 커다란 목록으로 공개되거나 알고리즘을 사용하여 계산되었지만, 과거에는 암과 연관된 점은 전혀 없었다. 표 2에서, 서열 식별 번호 386 ~ 서열 식별 번호 398의 펩티드는 HLA-A*01에 결합한다. 표의 펩티드는 본 발명에 따른 펩티드와의 병용에서 유용할 수 있는 추가의 펩티드이다. 표 3에서, 서열 식별 번호 399 ~ 서열 식별 번호 431의 펩티드는 HLA-A*01에 결합한다.

표 1

본 발명에 따른 펩티드,

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
1	TLDSTRTRY	TRPM8	A*01
2	VDPIGHLV	MAGEA3	A*01
3	FGTTPAAEYF	SLC6A3	A*01
4	RIEAIKAEY	TRIM51,TRIM51EP,TRIM51GP,TRIM51HP	A*01
5	FMVIAGMPLFY	SLC6A3	A*01
6	ARDPITFSF	UMODL1	A*01
7	ASDDVRIEVLGY	UMODL1	A*01
8	TSRAANIPGY	C7orf72	A*01
9	QLDSTLDSY	CYP4Z1,CYP4Z2P	A*01
10	VSERTGISY	ITIH6	A*01
11	ASDHWRGRY	SLC45A3	A*01
12	YTDFVGEGLY	SLC45A3	A*01
13	NTHTGTRPY	CTCF	A*01
14	QSEKEPGQQY	RHOXF2,RHOXF2B	A*01
15	YLDSSKPAVY	ESR1	A*01
16	NSDISIPEY	SCGB2A1	A*01
17	ASWAVLCYY	ANO7	A*01

[0041]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
18	RSDPVSLRY	COL20A1	A*01
19	LTEGHSGNY	FCRL5	A*01
20	LSAQHRMLA	EML6	A*01
21	LSSAVNPIIY	NMUR2	A*01
22	VMDTLGLFY	TRPM8	A*01
23	DTDPLKAAGL	SOX14	A*01
24	NLDHYTNAY	GLYATL3	A*01
25	AMMQEAQLAY	SOX1	A*01
26	ASDDFRSKY	KRT34,LOC100653049	A*01
27	PSEVPVDSHY	LOXL4	A*01
28	PSEVPVDSHY	LOXL4	A*01
29	TLEDLDNLYNY	EPYC	A*01
30	VTTDKPRAY	ITIH6	A*01
31	VSDHLQAGMLGQY	HEPHL1	A*01
32	GTDKQNSTLRY	HMCN1	A*01
33	SMDPVTGYQY	PAX3	A*01
34	SSWSAGENDSY	HRNR	A*01
35	SWSAGENDSYS	HRNR	A*01
36	MTSTEQSLY	GREB1	A*01
37	MTSTEQSLYY	GREB1	A*01
38	KWSQSSSLMY	F5	A*01
39	WSQSSSLMY	F5	A*01
40	TSDQLGYSY	DCT	A*01
41	HSDLLEDSKY	NAT1	A*01
42	ASDVTLLK	PTPRZ1	A*01
43	ETEPERHLGSY	NKX3-1	A*01
44	IPSFNEMVY	PTPRZ1	A*01
45	NLDPNKIY	STK31	A*01
46	RSDPGGGGLAYAAAY	MEX3B	A*01
47	WSDGVPLLY	BCAN	A*01
48	FTTQDELLVY	SEMG2	A*01
49	GSFSIQHTY	SEMG2	A*01
50	ITDEDEDMLSY	TSPY1,TSPY10,TSPY2,TSPY3,TSPY4,TSPY8,TSPY9P	A*01
51	STEERRLNY	SEMG2	A*01
52	TTQDELLVY	SEMG2	A*01
53	YLEDRLPSQLY	LOXL4	A*01
54	EVDIHTIHY	HEPHL1	A*01

[0042]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
55	ATEGDVLNY	COL19A1	A*01
56	VTEYAEEIYQY	CCNA1	A*01
57	ASDPASSTSCY	CYP1A1	A*01
58	YLENSASWY	DLX5	A*01
59	FTDSQGNDIK	SLC45A2	A*01
60	MTEKFLFLY	ERVV-1,ERVV-2	A*01
61	SSDIVALGGFLY	KLHDC7B	A*01
62	VSELVTTGHY	VCAN	A*01
63	TSEISQNALMY	ROS1	A*01
64	TSEISQNALMY	ROS1	A*01
65	SSDFDPLVY	RNF43,SUPT4H1	A*01
66	IATVIQLFY	HAS2,HAS3	A*01
67	NVDQNQNSY	HMCN1	A*01
68	QSLPEFGLTY	FERMT1	A*01
69	QSLPEFGLTY	FERMT1	A*01
70	YTELVEEKY	CAPN6	A*01
71	LTDSTTRTTY	MUC3A	A*01
72	VTDSSTTKIAY	LOC101060740	A*01
73	STDSASY	APOB	A*01
74	EMEQQSQEY	KRT13,KRT16	A*01
75	FTDYELKAY	ABCB11	A*01
76	QTDVERIKDTY	LAMA3	A*01
77	FTSDTGLEY	DNMT3B	A*01
78	QLDSAVKNLY	ZNF215	A*01
79	ASDLEPRELLSY	PCDHGB1	A*01
80	ELCPLPGTSAY	FBN3	A*01
81	YSDLHTPGRY	PTCHD4	A*01
82	LTEKSHIRY	C8orf48	A*01
83	DTEFHGGLHY	LOC100124692	A*01
84	ESEMIKFASY	ABCB11	A*01
85	SSDNYEHWLY	SFMBT1	A*01
86	VDPASNTY	MAGEA4	A*01
87	AFDDIATYF	SSX1	A*01/ C*04
88	KEVDPAGHSYI	MAGEA8,MAGEA9,MAGEA9B	A*01/ B*49
89	EVYDGREHSAY	MAGEA1	A*01/

[0043]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
			A*25
90	YEDHFPLLF	MAGEA10	A*01/ B*18
91	CLVLVIVLLY	SLC6A3	A*01
92	TTDDTTAMASAS	MAGEA10	A*01
93	HLKILSPIY	UMODL1	A*01
94	KPSAVKDSIY	MMP26	A*01/ A*26
95	SSDPKAVMF	MMP12	A*01/ C*05
96	TATLLIVRY	UMODL1	A*01
97	FPAPPAHWFY	CYP4Z1,CYP4Z2P	A*01
98	NFSDLVFTY	SOX11	A*01/ A*29
99	AADSNPSEL	RLN1	A*01/ C*05
100	TTSSAISWILY	CYP4Z1	A*01
101	SITDVDFIY	DNAH8	A*01
102	STIRGELFF	MMP11	A*01/ B*57
103	ITDTLIHLM	ESR1	A*01/ C*05
104	ITDTLIHL	ESR1	A*01/ C*05
105	VVFDKSDLAKY	SLC45A3	A*01/ A*29
106	EVVEGKEWGSFY	NPSR1	A*01/ A*26
107	TTENSGNYY	FCRL5	A*01
108	NSNLKFLEV	NLRP7	A*01
109	ISEDKSISF	LOC100996718,OR9G1,OR9G9	A*01/ B*15
110	IGDKVDAVY	MMP13	A*01
111	TPIPFDKILY	COL10A1	A*01/ B*35
112	KASSVSAEDGY	TTC6	A*01/ B*57

[0044]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
113	ASCRSSAEY	LAMC2	A*01
114	AVAAAAGASLY	MSX1	A*01
115	NEIDIHSIYFY	HEPHL1	A*01/ B*18
116	RSDIGFEW	FAM111B	A*01/ B*58
117	SPAKQFNIY	FAM111B	A*01/ B*35
118	LTWAHSAKY	LOXL4	A*01
119	TVFDENLSRY	HEPHL1	A*01/ C*12
120	LVDENQSWY	HEPHL1	A*01
121	SADEAHGLL	NFE2L3	A*01/ C*05
122	ISEAPLTEV	SLC45A2	A*01/ C*08
123	LLKAKDILY	ACSM1	A*01
124	FLKVTGYDKDDY	HMCN1	A*01
125	FQYELRELY	HMCN1	A*01/ B*15
126	TTDPKKFQY	HMCN1	A*01
127	VPFNLITEY	SLC45A2	A*01/ B*35
128	YTEFVDATFTK	HEPHL1	A*01
129	STIDFRAGF	HMCN1	A*01/ B*57
130	YIGLKGLYF	SLC45A2	A*01/ A*23
131	LEDGIEQSAY	G2E3	A*01
132	RTHIGYKVY	HMCN1	A*01
133	ITDVGPGRY	LOXL4	A*01
134	SAPSSSGSPY	T	A*01
135	TFDKQIVLL	F5	A*01/ C*04
136	RRLNFSGFGY	ASCL1	A*01/ B*27
137	EAYLERIGY	NAT1,NAT2	A*01/

[0045]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
			B*15
138	IPVHDSVGVTY	PTPRZ1	A*01/ B*35
139	PVHDSVGVTY	PTPRZ1	A*01
140	SQHIFTVSY	PTPRZ1	A*01/ B*15
141	DAVAPGREY	F5	A*01/ B*35
142	IEKFAVLY	PTPRZ1	A*01/ B*18
143	HVSGQMLYF	PGR	A*01/ A*29
144	RTIEGDFLW	BCAN	A*01/ A*32
145	LSDAVHVEF	FCRL3	A*01/ C*05
146	LCATVCGTEQY	MMP16	A*01
147	AQVQDTGRY	HMCN1	A*01
148	GTKQWVHARY	FCER2	A*01/ A*30
149	PIMSSSQALY	HMCN1	A*01
150	FTTSLDLQTNMA	MEIOB	A*01
151	YEVDTKLLSL	MEIOB	A*01
152	YLEDRLPLSQ	LOXL4	A*01
153	HSIEVFTHY	LOXL4	A*01
154	SIEVFTHY	LOXL4	A*01
155	HTMEVTVY	PMEL	A*01/ B*15
156	STALSILL	BCAN	A*01
157	GLIEVVTGY	IGF1R	A*01/ B*15
158	EVTDRNMLAF	TRPS1	A*01/ A*25
159	RQAPGPARDY	KRT13,KRT17	A*01/ B*15
160	EVLGEEMYAY	LOC101060117,TTC6	A*01
161	EAAPDIMHY	GREB1	A*01/

[0046]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
			B*35
162	IADNPQLSFY	ABCC11	A*01
163	KIRAEVLSHY	RALGPS2	A*01/ A*30
164	KLAGTVFQY	ADAMTS12	A*01
165	VSVYNSYPY	NKX3-1	A*01
166	YHRICELSDY	POTEE,POTEF	A*01
167	RAVQPGETY	F5	A*01/ B*15
168	VQPGETYTY	F5	A*01/ B*35
169	TVDNANILL	JUP,KRT13,KRT17	A*01/ C*05
170	VQIAKGMNY	EGFR	A*01/ B*15
171	ITDFGLAKL	EGFR	A*01/ C*05
172	FSEPFHLIV	FCRLA	A*01/ C*12
173	QSTTGVSXY	VCAN	A*01
174	TSEVEGLAFVSY	VCAN	A*01
175	GLEYEAPKLY	DNMT3B	A*01
176	HTDLESFSAVY	BTBD16	A*01
177	LVDGKWQEF	BTBD16	A*01
178	TQRTSFQFY	ROS1	A*01/ B*15
179	SSTDFTFASW	FERMT1	A*01/ A*25
180	AQISDTGRY	HMCN1	A*01
181	SVTDLIGGKW	HTR7,HTR7P1	A*01/ B*57
182	TQPELSSRY	ADAMTS12	A*01/ B*15
183	LADTDLGMTF	OR51B4	A*01/ C*12
184	KTIQEVAGY	EGFR	A*01/ B*57

[0047]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
185	NSDESADSEPHKY	PRDM15	A*01
186	AVSSGLFFY	CTLA4	A*01/ A*29
187	TQKSVQVLAY	PTPRZ1	A*01/ B*15
188	DIPDYLLQY	ELL3	A*01/ A*26
189	FRGVFVHRY	STAG3	A*01/ C*07
190	VSSTVHNLY	GREB1	A*01/ B*57
191	FTRAFDQLRM	TKTL2	A*01/ A*26
192	LAFYYGMY	SLC7A11	A*01/ B*15
193	SQNGQLIHY	SLC5A4	A*01
194	CYTADNEMGY	ROS1	A*01
195	YTADNEMGY	ROS1	A*01
196	RLAQYTIERY	GABRP	A*01/ B*15
197	NDEIDKLTGY	PDE11A	A*01
198	KLTDYINANY	PTPRZ1	A*01/ B*15
199	LCAAVLAKY	UGT1A3,UGT1A5	A*01
200	SLPEFGLTY	FERMT1	A*01/ B*15
201	SLPEFGLTYY	FERMT1	A*01/ B*46
202	QTDINGGSLK	GPR143	A*01
203	LSQDELSKF	NLRP2,PYDC2	A*01
204	NVKEAPTEY	BTLA	A*01/ C*12
205	RMQEGSEVY	BTLA	A*01/ B*15
206	RVFVAVTLY	ABCC4	A*01/ B*15
207	LLEGEDAHLTQY	JUP,KRT13,KRT17	A*01

[0048]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
208	LLISKAEDY	IGF1R	A*01/ B*35
209	EADPFLKYL	CCNA1	A*01/ B*35
210	LLEADPFLKY	CCNA1	A*01
211	YLNEWGSRF	CDH3	A*01
212	MMTDLTSVY	LOC101060622,MUC3A	A*01/ A*29
213	VSDSTTEITY	MUC3A	A*01
214	VQDPSLPVY	SOX30	A*01
215	DTLEAATSLY	PLEKHG4B	A*01
216	NSMLDPLVY	HCAR1	A*01
217	LMDEGAVLTL	L1TD1	A*01/ C*17
218	FTAQLQLY	ROS1	A*01
219	KTELETALYY	GOLGA6L2	A*01
220	DVERIKDTY	LAMA3	A*01
221	TDVERIKDTY	LAMA3	A*01
222	GSPDAVVS	MAGEB6	A*01/ B*35
223	NAVDVVPSSF	NLRP2	A*01
224	RTDEGDNRVW	LY6K	A*01/ B*57
225	STDPNIVRK	TAF7L	A*01/ A*11
226	QITPKHNGLY	PSG11	A*01/ B*15
227	ESAPKEVSR	PDE10A	A*01/ A*26
228	KSFDDIAKY	SSX7	A*01/ B*15
229	MTDVFIDY	ABCB11	A*01
230	CVIETFHKY	TCHHL1	A*01
231	LLPLLVMAY	CXCR3	A*01
232	RYLNIVHATQLY	CXCR3	A*01
233	RINSATGQY	CLNK	A*01/ A*30

[0049]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
234	YTDLTTIQV	LRRC15	A*01
235	SIEIDHTQY	MYH4	A*01
236	VLDSLLAQY	IGF2BP1	A*01
237	AQEAAVFLTY	DNAH8	A*01
238	ETDWGLLKGHY	CAPN6	A*01
239	SSERGSPIEKY	TRPS1	A*01
240	EVLDSELLAQY	IGF2BP1	A*01/ A*25
241	SLMVASLTY	TNFSF4	A*01/ B*15
242	GTNLPTLLW	CDKAL1	A*01/ B*57
243	LTSEDYGAY	CDKAL1	A*01
244	VTKYIAGPY	PSG4,PSG5,PSG6,PSG7,PSG9	A*01
245	LSDNAANRY	MED12L	A*01
246	ARLEGEIATY	KRT36	A*01
247	SMIRVGTTY	RCOR2	A*01/ B*15
248	VTIDDELGK	CDK6	A*01
249	GVGFTELEY	C9orf57	A*01
250	GYVCNACGLY	TRPS1	A*01
251	GIEMTYETY	SYCP2	A*01
252	DTTSHTYLQY	ADCY8	A*01/ A*25
253	YLESHGLAY	CPA5	A*01
254	FLFNDALLY	FGD6	A*01/ A*29
255	WELDSLEY	KIF26B	A*01
256	HAFESNNFIY	MET	A*01/ B*35
257	KSEMNVMNMY	MET	A*01
258	RPSSVLTIY	SLC44A5	A*01/ B*15
259	APDEVVALL	KLHL35	A*01
260	KPTEDSANVY	DCC	A*01
261	MTEGSTVNTEY	TEX15	A*01
262	NVKHFLNDLY	TEX15	A*01

[0050]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
263	DCMDTEGSYM	FBN3	A*01
264	YRDPVVFVSL	CYP2W1	A*01/ B*39
265	LSDIDSRVI	PRAMEF20,PRAMEF21	A*01
266	LTDSFLLRF	TTPA	A*01/ B*57
267	IVADDTVY	ADAM7	A*01
268	AILHHLIFY	ABCC4	A*01/ A*29
269	LPSPAATIWDY	MACC1	A*01/ B*35
270	DLKIDLAAQY	DNAH17	A*01/ A*25
271	VAEPPVVCYSY	LOC730110,ZNF492,ZNF98	A*01
272	IPQDECLRY	PRAMEF1,PRAMEF13,PRAMEF14,PRAMEF2	A*01
273	CGPNEINHFI	OR5M8	A*01
274	YADIHGDL	PARD6B	A*01/ C*05
275	ESDEMENLLTY	SERHL,SERHL2	A*01
276	QITSFASGTSY	MED12L	A*01
277	LPAPGFLFY	GDPGP1	A*01/ B*35
278	AATVKSDIY	TEX14	A*01
279	LMTVLLKY	SLC16A14	A*01
280	TTEMVSNESVDY	MET	A*01
281	YPDLSLLM	NUP155	A*01/ B*35
282	QAMPSWPTAAY	NRG3	A*01
283	ETILVSSSY	SLC10A5	A*01
284	TCSHTFVYY	VWDE	A*01
285	VLP HHSEGACVY	FRAS1	A*01/ B*15
286	ATDMEGNLNY	CDH4	A*01
287	ENSIEDLQY	CCDC83	A*01
288	TEEFVSY	TSPEAR	A*01
289	YTSHEDIGY	SLC16A14	A*01
290	GQFTGTAGACRY	WT1	A*01/

[0051]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
			B*15
291	TSDVTGSLTY	GPR31	A*01
292	VLDFAPPGASAY	WT1	A*01
293	IISVLIAY	SLC6A5	A*01
294	MMEMEGMY	DNAH8	A*01
295	GQRLDEAMISY	MYO3B	A*01/ B*15
296	HMLAAMAY	OR8G1,OR8G2,OR8G5	A*01
297	RLDEAMISY	MYO3B	A*01
298	KFDVINHYF	OR8G5	A*01
299	EVDSVALSL	VRTN	A*01
300	VSINPNSGDIY	PCDH19	A*01
301	ESQTCASDY	DCBLD1	A*01
302	FYLSTPENYHY	MYO10	A*01/ A*29
303	GFGGLSSQGVYY	NKX6-3	A*01
304	FSENLIYTYI	MYO1H	A*01
305	YADLLIYTY	MYO3B	A*01
306	KSFETTVRY	FMN1	A*01/ C*12
307	DTDDRELRY	FREM2	A*01
308	ELAAGQVVY	FREM2	A*01/ B*18
309	EVDRNLIQY	FREM2	A*01
310	KAFQELGVRY	FREM2	A*01/ B*57
311	TVTDGTHTDY	FREM2,FREM3	A*01
312	VTGGINPLI	FREM2	A*01
313	VTGTHTDY	FREM2,FREM3	A*01
314	PPEANSLQGALY	DBX2	A*01
315	VLKIELETY	CCDC6	A*01/ B*15
316	YTCEECCQAF	ZNF479,ZNF679,ZNF727,ZNF733P,ZNF734P	A*01
317	EDLLEVLDY	KCNH7	A*01/ B*18
318	YMTSMALNY	ITGAE	A*01
319	FTDPHIITF	VWDE	A*01/

[0052]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
			C*04
320	QALQDKLQTFY	VWDE	A*01
321	DGIADASNLSYY	LOC100124692,LOC93432	A*01
322	FSELNPLALY	TDRD5	A*01
323	KTLQKPVLPY	DNMBP	A*01/ A*30
324	RTGIFPYRF	DNMBP	A*01/ B*57
325	LQKPVLPY	DNMBP	A*01/ B*15
326	STSRLTLFS	DMXL1	A*01
327	IMLSVDQHLY	RAPGEF5	A*01
328	LLDEDNNIKL	HUNK	A*01
329	NTDSMTLNNTAY	EFCAB5	A*01
330	EGELSEGEHWY	ZNF827	A*01
331	YLYQAPGSLALY	IRX2	A*01
332	SLISFKYTSY	FRAS1	A*01
333	LSDPQAEHQFY	PCDHGB6	A*01
334	PSSMPECLSY	SOX30	A*01
335	PSSMPECLSY	SOX30	A*01
336	ATNIQLNIDTY	CCDC175	A*01
337	FTESNQYNIY	FSTL4	A*01
338	YSPDSFNVS	USH2A	A*01
339	ESMDIFPLGW	SFMBT1	A*01/ A*25
340	SVDSNLVAY	DMXL1	A*01
341	PANYLGKMTY	ARHGEF38	A*01/ B*15
342	QTYMDGLLHY	LAMA3	A*01/ B*15
343	YFGNYFTYY	C5orf34	A*01
344	AVNALQSVY	CPA6	A*01/ B*15
345	NTMDAVPRIDHY	SLC12A2	A*01
346	VAGLEAGVLY	UMODL1	A*01
347	SADHPGLTF	FREM2	A*01/ C*05

[0053]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
348	DSTDGCLLSF	TBC1D16	A*01
349	HLLSVSLYY	OR5AC2,OR5H14,OR5H2,OR5H6	A*01
350	LTDPQVSYV	FARP2	A*01
351	VLDPMLDFY	FAM46D	A*01
352	YPVVVAESMY	FAM46D	A*01
353	RLNGSVASY	FAM46D	A*01
354	EIIRYIFAY	HPGDS	A*01/ A*26
355	MADRGEARL	RMI2	A*01/ C*04
356	NSENHILKY	C12orf56	A*01
357	MSPDIALLYL	OVCH1	A*01
358	YMSPDIALLY	OVCH1	A*01
359	NKEINYFMY	ADCY10	A*01/ A*32
360	RFDDINQEF	DNAH17	A*01/ C*04
361	FTAEEGQLY	AR	A*01
362	SGALDEAAAY	AR	A*01
363	LTD RDVSFY	MROH2B	A*01
364	DTGYLQLYY	STON2	A*01
365	FVDTKVPEH	ABCC12	A*01
366	ITVDVRDEF	STON2	A*01/ B*57
367	LTDTGYLQLY	STON2	A*01
368	ESAATGQLDY	TNR	A*01
369	AVMEAAFVY	TXNDC16	A*01/ A*29
370	RLSTIRHLY	MXRA5	A*01/ A*32
371	WSDSTSQTIY	SH3PXD2A	A*01
372	SRSDFEWVY	DEGS2	A*01/ C*07
373	FHADSDDES F	CDCA7	A*01/ B*38
374	LTSVVVTLW	CDK6	A*01/ B*57

[0054]

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
375	ASSLDSLHY	PTPRT	A*01
376	EDDEDEDLY	HSD17B4	A*01
377	YADPSANRDLL	ST8SIA5	A*01/ B*35
378	TAKAPSTEY	GALNT5	A*01/ B*15
379	SLIIDDTEY	FSIP2	A*01/ B*35
380	VACGNNPVY	FSIP2	A*01/ B*15
381	ETSFSTSHY	NRG1	A*01/ A*26
382	YEPATMEQY	MYO10	A*01
383	PPDHAVGRTKY	GCNT2	A*01
384	RFRSITQSY	RAB30	A*01/ A*30
385	SANALILTY	RAB30	A*01/ B*35

[0055]

표 2

이전에 알려진 암 관련이 없는 본 발명에 따른 펩티드.

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
386	NSALNPLLY	KISS1R	A*01
387	LMEKEDYHSLY	TYR, TYRL	A*01
388	YTAHVGYSMY	MSX1	A*01
389	YYDLVESTF	DNTT	A*01
390	FSEPFHLIVSY	FCRLA	A*01
391	GSPARYEF	MAGEA4	A*01/ B*57
392	TQHFVQENY	MAGEA3	A*01/ B*15
393	QVWGGQPVY	PMEL	A*01/ B*35
394	QVPLDCVLY	PMEL	A*01
395	ILKGGSGTY	PMEL	A*01/ B*15
396	LPDPNVQKY	PRDM15	A*01/ C*04
397	NSAINPLIY	NPSR1	A*01
398	YYYDTHNTY	SLC12A2	A*01/ C*14

[0056]

표 3

예를 들어 개인화 암 요법에 유용한 펩티드.

서열 식별 번호	서열	유전자(들)	HLA 동종이형
399	YVGKEHMFY	MAGEA9,MAGEA9B	A*01
400	NTDNNLAVY	CXorf61	A*01
401	VWSNVTPPKF	MMP12	A*01
402	VLYPVPLESY	PRAME	A*01
403	SADDIRGIQSLY	MMP12	A*01
404	FVDNQYWRY	MMP12	A*01
405	STDIGALMY	MMP1	A*01
406	SDVTPLTF	MMP11	A*01
407	VSIRNTLLY	FLT3	A*01
408	VWSDVTPLTF	MMP11	A*01
409	YTFRYPLSL	MMP11	A*01
410	KTWAHCMSY	KISS1R	A*01
411	LLDAEPPILY	ESR1	A*01
412	AAAANAQVY	ESR1	A*01
413	TDTLIHLM	ESR1	A*01
414	LTEGHSGNYY	FCRL5	A*01
415	VWSDVTPLNF	MMP13	A*01
416	LSSPVHLDF	FCRL5	A*01
417	KLDRSVFTAY	FAM111B	A*01
418	LLDEGAMLLY	NLRP7	A*01
419	FPTEVTPHAF	PTPRZ1	A*01
420	VTDLMPHY	PTPRZ1	A*01
421	RSDPGGGGLAY	MEX3B	A*01
422	ALNPYQYQY	DLX5	A*01
423	LLDEGAKLLY	NLRP2	A*01
424	NVDPVQHTY	AGRN	A*01
425	VTEEPQRLFY	BMF	A*01
426	RSFNGLLTMY	LAMB3	A*01
427	LTDYINANY	PTPRZ1	A*01
428	IINESLLFY	GPR143	A*01
429	VSDSECLSRV	LAMA1	A*01
430	NTDPTAPPY	CDH3	A*01
431	ASSTDSASY	APOB	A*01
432	LQSSGLTLL	MSLN	A*01

[0057]

[0058]

위의 표에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 선호되는 펩티드의 다수가 놀랍게도 적어도 2개의 HLA 동종이형에 결합할 수 있다. 이것은 특히 이 펩티드들의 더 광범위한 적용성을 허용한다.

[0059]

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.

[0060]

특히 바람직하기로는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398로 구성된 군으로부터 선택된 본 발명에 따른 펩티드들의 단일 또는 그 조합이다. 더 바람직하기로는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 21로 구성된 군으로부터 (표 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.

- [0061] 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.
- [0062] 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.
- [0063] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 (각각) 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 따른 아미노산으로 구성되거나 실질적으로 구성된다.
- [0064] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 변형되며/거나 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0065] 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.
- [0066] 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.
- [0067] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있으며/거나 발현하는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0068] 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.
- [0069] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드 또는 본 설명에 따른 상기 펩티드와 MHC의 복합체에 대해 특이적인 항체 및 그의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0070] 본 발명은 또한 T세포 수용체(TCR), 특히 융해성 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.
- [0071] 항체 및 TCR은 현재 본 발명에 따른 펩티드의 면역요법 사용에 대한 추가적 실시예이다.
- [0072] 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.
- [0073] 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.
- [0074] 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.
- [0075] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 그 항원 제시 세포가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398을 포함하는, 바람직하게는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 21을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있거나 또는 발현하는 발현 벡터 또는 변이체 아미노산 서열을 포함한다.
- [0076] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 발현하는 세포를 선택적으로 인식하는, 본 발명에 따른 방법에 의해 생산된 활성화 T세포에 관한 것이다.
- [0077] 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.
- [0078] 본 설명은 또한 약제로서 또는 약제의 제조에 있어서, 설명된 일체의 펩티드, 본 설명에 따른 핵산, 본 설명에

다른 발현 벡터, 본 설명에 따른 세포, 본 설명에 따른 활성화 T림프구, T세포 수용체 또는 기타 펩티드 및/또는 펩티드 MHC 결합 분자의 사용에 관한 것이다. 바람직하게는 상기 약제가 암에 대해 활성이다.

[0079] 바람직하게는 상기 약제가 세포 요법, 백신 또는 용해성 TCR 혹은 항체에 근거한 단백질이다.

[0080] 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.

[0081] 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.

[0082] 선택적으로, 항체는 면역 자극 도메인 또는 독소와 같은 추가의 작용기 기능을 보유한다.

[0083] 본 설명은 또한 암 치료의 환경에서 이러한 신규 표적들의 사용에 관한 것이다.

[0084] 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.

[0085] 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.

[0086] 별도로 설명되지 않은 이상 여기에서 사용되는 모든 용어는 아래와 같이 정의된다.

[0087] "T세포 반응"이란 용어는 특이적 증식과 *시토크인* 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, 시토크인의 분비, 바람직하게는 펩티드에서 유도되는 인터페론-감마, TNF-알파, 또는 IL-2, 효과기 분자의 분비, 바람직하게는 펩티드에서 유도되는 그랜자임 또는 퍼로린 또는 탈파립일 수 있다.

[0088] "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, 12 또는 13개 이상일 수도 있으며, MHC 클래스 II 펩티드의 경우(본 설명의 펩티드의 연장된 변이) 그 길이가 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산일 수 있다.

[0089] 더욱이 "펩티드"라는 용어는 알파 아미노기와 이웃 아미노산의 카보닐기 사이의 펩티드 결합으로 보통 서로 연결되는 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.

[0090] "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.

[0091] "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.

[0092] 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.

[0093] 클래스 I T세포 "에피토프"는 적당한 친화력을 가진 MHC/펩티드 혼합물에 결합하는 T세포 수용체에 일치하는 T세포에 의해 인식되는 삼항 혼합물(MHC 클래스 I 알파 사슬, 베타-2-미세글로불린 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.

[0094] 인간에는 MHC 클래스 I 분자를 인코딩하는 세 개의 유전자 자리가 있다(인간의 MCH-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.

표 4

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 Gf 는 미국에서 650 만 명이 넘는 자원 공여자의 레지스트리로부터 얻은 HLA 형 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%

[0095]

A*03	아프리카인(N=28557)	14.8%
	유럽 백인(N=1242890)	26.4%
	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%

[0096]

[0097]

본 발명의 펩티드는 바람직하게 본 발명의 백신에 포함되면 여기서 설명된 바와 같이 A*01에 결합한다. 백신은 또한 범결합 MHC 클래스 II 펩티드를 포함할 수 있다. 그러므로 본 발명의 백신은 A*01 양성인 환자에서 암의 치료에 사용할 수 있는 반면, 이러한 펩티드의 범결합 성격으로 인해 MHC 클래스 II 동종이형에 대한 선택이 필요하지 않다.

[0098]

본 발명의 A*01 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).

표 5

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%

[0099]

[0100] 한 바람직한 구현에서 "뉴클레오타이드 서열"이란 용어는 디옥시리보뉴클레오타이드의 이중중합체를 말한다.

[0101] 특정 펩티드, 올리고펩티드 또는 폴리펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 코딩은 자연적으로 발생하거나 합성 구 축될 수도 있다. 일반적으로, 본 발명의 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질을 인코딩하는 DNA 세그먼트는 cDNA 조각 들과 짧은 올리고 뉴클레오타이드 링커, 또는 올리고 뉴클레오타이드의 연속에서 미생물이나 바이러스 오피론에서 유도된 규제 요소를 가진 재조합 모사 단위에서 발현될 수 있는 합성 유전자를 제공하기 위해서 조립된다.

[0102] 여기서 사용되는 용어 "펩티드를 코딩(또는 인코딩)하는 뉴클레오타이드"는 예를 들어, 수지상 세포 또는 TCR 제 조에 유용한 다른 세포계에 의해 서열이 발현되는 생물학적 체계와 호환가능한 인공(사람이 만든) 시작 및 정지 코돈을 포함하는 펩티드에 대한 뉴클레오타이드 서열 코딩을 지칭한다.

[0103] 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 이 러한 서열의 중복(두 가닥 DNA) 및 이러한 서열의 보완을 지칭한다.

[0104] 용어 "코딩 영역"은 자연적인 계능 환경에서 유전자의 발현 생성물에 대해 자연스럽게 또는 정상적으로 코딩하 는 유전자의 부분을 지칭한다(즉, 유전자 본래의 발현 생성물에 대한 생체 내 영역 코딩).

[0105] 코딩 영역은 비번이("정상")이거나 변이 또는 개조된 유전자로부터 유래할 수 있거나, 또는 심지어 DNA 서열, 또는 실험실에서 DNA 합성의 당업자에게 잘 알려진 방법을 사용해서 실험실에서 전적으로 합성된 유전자로부터 유래할 수 있다.

[0106] 용어 "발현 생성물"은 유전자의 자연 번역 제품인 폴리펩티드 또는 단백질 또는 유전적 코딩 퇴화로 인해 결과 된 어떤 핵산 서열 코딩과 상응하며 그러므로 같은 아미노산을 코딩한다.

[0107] 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.

[0108] 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, 조 작 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, 또 는 인트론에 의해 방해되지 않는 오픈 리딩 프레임의 형태로 제공된다. 비번역 DNA 서열은 동일 서열이 코딩 영

역의 조작이나 발현을 방해하지 않는 오픈 리딩 프레임의 하단에 나타날 수 있다.

- [0109] 용어 "프라이머"는 하나의 표준 DNA와 짝을 이룰 수 있는 짧은 핵산 서열을 의미하며 DNA 폴리머라아제가 더욱 시리보 뉴클레오티드 사슬 합성을 시작하는 유리 3'-OH 말단을 제공한다.
- [0110] 용어 "프로모터"는 전사를 시작하기 위한 RNA 폴리머라아제의 결합에 관여하는 DNA 영역을 뜻한다.
- [0111] 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.
- [0112] 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 라이브러리에서 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.
- [0113] 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.
- [0114] 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 관련해서 사용될 때, 이러한 용어들은 일반적인 엔도뉴클레아제 중 어떤 것과 함께 상기 폴리뉴클레오티드의 치료에 의해 생성된 생성물을 지칭한다.
- [0115] 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:
- [0116] 백분율 동일성 = $100 [1 - (C/R)]$
- [0117] 여기서 C는 기준 서열과 비교 서열의 정렬의 길이에 비해 기준 서열과 비교 서열의 차이의 개수이다. 또한,
- [0118] (i) 비교 서열에서 상응하는 정렬된 염기 또는 아미노산이 없는 기준 서열에 각 염기 또는 아미노산 및
- [0119] (ii) 기준 서열의 각 차이 및
- [0120] (iii) 비교 서열의 정렬된 기초 또는 아미노산과 다른 기준 서열에서 각 정렬된 염기 또는 아미노산은 차이를 구성하며,
- [0121] (iiii) 정렬은 정렬된 서열의 위치 1에서 시작해야 한다;
- [0122] 그리고 R은 비교 서열과의 정렬의 길이에 대한 기준 서열 염기 또는 아미노산의 수이고 기준 서열에 생긴 공백도 염기 또는 아미노산 개수로 계산된다.
- [0123] 만약에 위에서와 같이 계산된 비교 서열과 기준 서열 사이의 백분율 동일성이 특정 최소 백분율과 같거나 더 크

면 위에서 계산된 백분율 동일성이 특정 백분율 동일성보다 작은 경우에 정렬이 있더라도 비교 서열은 기준 서열에 대해 특정한 최소 백분율 동일성이 있다.

[0124] 위에서 언급된 바와 같이, 본 발명은 이와 같이 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 대해 88% 상동성인 그 변이체 또는 상기 펩티드와 교차 반응하는 T세포를 유도하는 그 변이체를 제공한다. 본 설명의 펩티드는 인간 구조적 복합 복합체(MHC) 클래스 I의 분자에 결합하는 능력 또는 연장된 버전의 상기 펩티드가 클래스 II에 결합하는 능력을 갖는다.

[0125] 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.

[0126] 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).

[0127] 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 398의 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.

[0128] 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 398에 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.

[0129] 여기에서 밝혀진 본래 (변형되지 않은) 펩티드는 달리 언급되지 않은 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 동중 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.

[0130] 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).

[0131] 한 양태에서, 보수적 치환은 그 전체 내용이 참조문헌으로 포함되는 "The Atlas of Protein Sequence and Structure. Vol. 5", Natl. Biomedical Research에서 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

[0132] 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).

[0133] 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.

[0134] [표 A]

보수적 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

[0135]

[0136] 다른 양태에서, 보수적 치환은 표 B에서 "보수적 치환"이란 제목 하에 있는 것들을 포함할 수 있다. 그러한 치환이 생물학적 활성도의 변경을 초래하는 경우, 표 B에서 "예시적 치환"으로 분류된 보다 실질적인 변경이 개입될 수 있으며 필요에 따라 그 생성물이 선별될 수 있다.

[0137] [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; 노트류신
Leu (L)	Ile	노트류신; 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; 노트류신

[0138]

[0139] 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.

[0140] 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.

[0141] 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.

[0142] 여기서 명시한 바와 같이 아미노산 서열로 실질적으로 구성된 펩티드는, 인간 구조적 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 구조적 적합 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.

[0143] T세포 수용체와의 상호작용에 상당히 기여를 하지 않는 아미노산 잔기들은, 이와 결합됨으로써 T세포의 반응성

에 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.

표 6

서열 식별 번호 1, 4, 9, 10 및 12에 따른 펩티드의 변이체 및 모티프

위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
서열 식별 번호 1	T	L	D	S	T	R	T	L	Y	
변이체		S								
		S							A	
		S	E							
		S	E						A	
		T								
		T							A	
		T	E							
		T	E						A	
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
서열 식별 번호 4	R	I	E	A	I	R	A	E	Y	
변이체		S	D							
		S	D						A	
		S								
		S							A	
		T	D							
		T	D						A	
		T								
		T							A	
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
서열 식별 번호 9	Q	L	D	S	T	L	D	S	Y	
변이체		S								
		S							A	
		S	E							
		S	E						A	
		T								
		T							A	
		T	E							
		T	E						A	

[0144]

위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
서열 식별 번호 10	V	S	E	R	T	G	I	S	Y	
변이체			D							
			D						A	
									A	
		T	D							
		T	D						A	
		T								
		T							A	
위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
서열 식별 번호 12	Y	T	D	F	V	G	E	G	L	Y
변이체		S								
		S								A
		S	E							
		S	E							A
										A
			E							
			E							A

[0145]

[0146]

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

[0147]

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:

표 7

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

[0148]

[0149]

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

[0150]

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.

[0151]

다른 구현에 있어서 펩티드는 한쪽 혹은 양쪽에서 4개가 넘는 아미노산으로 연장되며, 바람직하게는 최대 30개

의 아미노산 길이로 연장된다. 이는 MHC 클래스 II 결합 펩티드로 이어질 수 있다. MHC 클래스 II에 대한 결합은 당업계에서 알려진 방법으로 시험할 수 있다.

- [0152] 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.
- [0153] 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.
- [0154] 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.
- [0155] 본 발명의 특히 바람직한 구현에서 그 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성된다.
- [0156] "본질적으로 구성됨"은 본 발명에 따른 펩티드가, 일체의 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 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.
- [0157] 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.
- [0158] 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.
- [0159] 반대 펩티드 결합에서는 아미노산 잔기가 펩티드(-CO-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. CO-NH 대신에 NH-CO 결합을 포함하고 있는 역-인버스 펩티드는 단백질 가수 분해에 대한 저항력이 훨씬 높다.
- [0160] 비-펩티드 결합의 예는 -CH₂-NH-, -CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH-, -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- 및 -CH₂SO-이다. 미국 특허 번호 4,897,445는 기본 과정을 거쳐 합성된 폴리펩티드와 아미노 알데히드와 아미노산을 NaCNBH₃ 존재 하에 반응시켜 생성된 비-펩티드 결합을 포함한 폴리펩티드 사슬의 비-펩티드 결합(-CH₂-NH) 고체상 합성의 방법을 제공한다.
- [0161] 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-플루오렌일메톡시-카보닐-그룹이 펩티드의 아미노 말단에 위치할 수도 있다. 또한, 수소성 그룹, t-부틸옥시카보닐, 또는 아미도 그룹 또한 펩티드의 카복시 말단에 추가될 수 있다.
- [0162] 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.

- [0163] 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 설폰화(TNBS)에 의한 트라이 니트로 벤질화, 카복실 그룹의 아미드 변형 및 피포민산에 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.
- [0164] 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 메틸글리옥살과 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.
- [0165] 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.
- [0166] 테트라니트로메탄 및 N-아세틸이미다졸은 티로신 잔기의 변형에 사용할 수 있다. 디티로신의 형성을 통한 가교형성은 과산화 수소/구리 이온으로써 성취할 수 있다.
- [0167] 트립토판의 변형에 대한 최근의 연구에서는 N-브로모숙신이미드, 브롬화 2-키드록시-5-니트로벤질 또는 3-브로모-3-메틸-2-(2-니트로페닐메르 캡토)-3H-인돌(BPNS-스카톨)이 사용된 바 있다.
- [0168] PEG를 이용한 치료용 단백질과 펩티드의 성공적인 변형은 흔히 동시 순환 반감기의 증가를 시키는 것과 연관되어 있는 반면, 단백질과 글루타르알데히드, 폴리에틸렌글리콜 디아크릴레이트 및 포름알데히드와 교차 결합이 히드로겔의 준비에 사용된다. 면역 치료를 위한 알레르겐의 화학적 변형은 종종 칼륨 시안산염의 카바밀화와 관련이 있다.
- [0169] 펩티드 또는 변이체, 여기에서 펩티드는 변환되었거나 또는 비-펩티드 결합을 포함하는 것이 본 발명 구현에서 바람직하다.
- [0170] 본 발명의 또 다른 구현은 비자연적으로 발생하는 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 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 $(NH_4)_3PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)H_2PO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4CH_3COO , NH_4Cl , NH_4Br , NH_4NO_3 , NH_4ClO_4 , NH_4I , NH_4SCN ,

Rb₃PO₄, Rb₂HPO₄, RbH₂PO₄, Rb₂SO₄, Rb₄CH₃COO, Rb₄Cl, Rb₄Br, Rb₄NO₃, Rb₄ClO₄, Rb₄I, Rb₄SCN, K₃PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, K₂SO₄, KCH₃COO, KCl, KBr, KNO₃, KClO₄, KI, KSCN, Na₃PO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, Na₂SO₄, NaCH₃COO, NaCl, NaBr, NaNO₃, NaClO₄, NaI, NaSCN, ZnCl₂, Cs₃PO₄, Cs₂HPO₄, CsH₂PO₄, Cs₂SO₄, CsCH₃COO, CsCl, CsBr, CsNO₃, CsClO₄, CsI, CsSCN, Li₃PO₄, Li₂HPO₄, LiH₂PO₄, Li₂SO₄, LiCH₃COO, LiCl, LiBr, LiNO₃, LiClO₄, LiI, LiSCN, Cu₂SO₄, Mg₃(PO₄)₂, Mg₂HPO₄, Mg(H₂PO₄)₂, Mg₂SO₄, Mg(CH₃COO)₂, MgCl₂, MgBr₂, Mg(NO₃)₂, Mg(ClO₄)₂, MgI₂, Mg(SCN)₂, MnCl₂, Ca₃(PO₄)₂, Ca₂HPO₄, Ca(H₂PO₄)₂, CaSO₄, Ca(CH₃COO)₂, CaCl₂, CaBr₂, Ca(NO₃)₂, Ca(ClO₄)₂, CaI₂, Ca(SCN)₂, Ba₃(PO₄)₂, Ba₂HPO₄, Ba(H₂PO₄)₂, BaSO₄, Ba(CH₃COO)₂, BaCl₂, BaBr₂, Ba(NO₃)₂, Ba(ClO₄)₂, BaI₂ 및 Ba(SCN)₂으로부터 선택된다. 특히 바람직하기로는 예를 들어 염화물 또는 아세트산(트리플루오로아세트산) 염과 같은 NH 아세테이트, MgCl₂, KH₂PO₄, Na₂SO₄, KCl, NaCl 및 CaCl₂이다.

[0171] 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-디메틸포름아미드의 20% 피페리딘을 이용하여 이루어진다. 측사슬 기능은 부틸 에테르(세린, 트레오닌 및 티로신의 경우), 부틸 에스터(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'-디메톡시벤조히드릴이 사용되어 측사슬 아미도 기능을 보호한다. 고체상 보호는 디메틸아크릴아미드(백본-모노머), 비스아크릴로일에틸렌 디아민(가교 결합) 및 아크릴로일사르코신 메틸 에스터(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 술포산 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).

[0172] 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.

[0173] 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.

[0174] 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.

[0175] 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).

[0176] 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 = 155 샘플)로부터 기록된 자연적 종양 관련 펩티드(TUMAP)의 단편화 패턴과 동일한 서열을 갖는 상응하는 합성 참조 펩티드의 단편화 패턴과 비교하여 확인했다. 이 펩티드들은 원발성 종양의 HLA 분자의 리간드로 직접 식별되었으므로, 이 결과는 155명의 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.

[0177] 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, 전파 이온 계수화, 정제 시간 정렬, 상태 디킨볼루션 및 정상화에 필요한 알고리즘을 조합시킨 독점 데이터 분석 파이프라인에 의해 처리하여 획득한 LC-MS 데이터를 사용한 label-free 차등 정량화의 개발에 의해 성취되었다.

[0178] 펩티드와 샘플 각각에 대한 오류 측정치 등 제시 수준이 확립되었다. 종양 조직에 배타적으로 제시된 펩티드 그리고 종양에서 과도-제시된 펩티드 대비 비암성 조직 및 기관이 식별된 바 있다.

[0179] 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.

[0180] 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 TUMAP를 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 디킨볼루션(방전) 및 시간 성격 및 정제 정상화와 같은 다른 분석 방법들을 통합시킨다.

[0181] 펩티드의 과다제시 외에도, 기저 유전자의 mRNA 발현을 시험했다. 정상 조직 및 암 조직의 RNASeq 분석을 통해 mRNA 데이터를 획득했다(비교: 실시예 2, 제2도). 정상 조직 데이터의 추가 출처는 약 3000개 정상 조직 샘플로부터 공개적으로 이용 가능한 RNA 발현 데이터의 데이터베이스였다(Lonsdale, 2013). 코딩 mRNA가 암 조직에서 고도로 발현되지만 필수 정상 조직에서는 매우 낮거나 부재하는 단백질들로부터 유래된 펩티드는 본 발명에 바람직하게 포함되었다.

[0182] 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 것으

로 나타났다.

- [0183] 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, 담관, 방광, 골수, 식도, 대장, 신장, 말초 신경, 췌장, 피부, 척수, 비장, 위, 갑상선, 기관 세포 또는 기타 정상 조직 세포를 의미하며 근원 유전자와 높은 정도의 중앙 연관을 보여준다(실시예 2 참조). 더욱이 펩티드 자체가 중앙 조직에서 강력히 과다제시된다 - 본 발명과 관련하여 "중앙 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).
- [0184] 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.
- [0185] 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 결합된 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 참고). 그러므로, 본 발명의 펩티드는 환자의 중앙 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 중앙 세포에 아주 특정할 수 있다.
- [0186] 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.
- [0187] 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 용해성 TCR 단편, 단일 사슬 TCR 및 예를 들어 Ig와 같은 이에 대한 융합에 관한 것이다.
- [0188] 본 설명은 또한 본 설명의 TCR 및 펩티드를 발현하는 핵산, 벡터 및 숙주 세포; 그리고 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.
- [0189] 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.
- [0190] 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.
- [0191] 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.
- [0192] 알파/베�타 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 연사로 구성된다. 가변 도메인은 리더 영역(L) 또한 포함할 수 있다. 베타 및 델타 사슬 또한 다양성 영역(D)을 포함할 수 있다. 알파 및 베타 불변 도메인은 또한 알파 및 베타 사슬을 세포막에 고정시키는 C-말단 막형단(TM) 도메인을 포함할 수 있다.
- [0193] 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 세포의 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 세포의 TRDC 영역이나 C-말단 절단된 TRDC 서열을 지칭한다.

- [0194] 본 설명의 TCR은 바람직하게는 결합 친화도(KD)가 약 100 μ M 이하, 약 50 μ M 이하, 약 25 μ M 이하 혹은 약 10 μ M 이하인 펩티드-HLA 분자 복합체에 결합한다. 더욱 바람직하게는, 결합 친화도가 약 1 μ M 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.
- [0195] 본 설명의 TCR와 관련하여 여기서 사용되는, "특이적 결합" 및 그 문법적 변형어는 100 μ M 이하의 펩티드-HLA 분자 복합체에 대한 결합 친화도(KD)를 갖는 TCR을 의미하는 것으로 사용된다.
- [0196] 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.
- [0197] 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.
- [0198] 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.
- [0199] 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.
- [0200] 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 창의 존재는, HLA-A*01 제한 병원체에 특이적인 TCR의 KD 값이 HLA-A*01 제한 종양 관련 자가 항원에 특이적인 TCR에 대해 일반적으로 약 10배 낮다는 관찰에 근거한다(이는 다른 대립유전자에도 사실이다). 현재 종양은 개인 자체의 세포로부터 발생하기 때문에 종양 항원이 면역성일 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 유도하지는 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 것을 의미한다. 그러므로 본 설명의 TCR이나 변이체에 대한 친화도는 다음에 설명된 바와 같이 당업계에서 잘 알려진 방법들로 강화되어 왔다.
- [0201] 본 설명은 또한 본 설명에 따른 TCR의 식별 및 분리 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 HLA-A*01 음성의 건강한 공여자로부터의 PBMC를 A*01/펩티드 단량체와 함께 배양, PBMC를 사합체-피코에리트린(PE)으로 배양 그리고 형광 활성화 세포 분류(FACS)-캘리버 분석에 의한 고결합성 T세포의 분리를 포함한다.
- [0202] 본 설명은 또한 본 설명에 따른 TCR의 식별 및 분리 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 T세포가 마우스 TCR 결핍을 보상하는 방대한 TCR 레퍼토리를 발현하는 전체 인간 TCR $\alpha\beta$ 유전자 자리(1.1 및 0.7 Mb)를 이용한 유전자 이전 마우스의 획득, 펩티드에 의한 마우스의 면역접종, 유전자전이 마우스로부터 얻어진 PBMC의 사합체-피코에리트린(PE)으로 배양, 그리고 형광 활성화 세포 분류(FACS)-캘리버 분석에 의한 고결합성 T세포의 분리를 포함한다.
- [0203] 한 양태에서, 본 설명의 TCR을 발현하는 T세포를 얻기 위해, 본 설명의 TCR-알파 및/또는 TCR-베타 사슬을 인코딩하는 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 사용하여 표적 T세포 모집단(일반적으로 환자 PBMC로부터 정제된)을 형질도입하며, 모집단은 환자에 주입하기 전에 팽창시킨다.

- [0204] 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 도입시킨다.
- [0205] 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 원숭이 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.
- [0206] 강력한 촉진자 외에도, 본 설명의 TCR 발현 카세트가 도입 유전자 발현을 강화시킬 수 있는 추가의 요소를 포함할 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.
- [0207] 본 발명의 TCR의 알파 및 베타 사슬은 별개의 벡터에 위치한 핵산에 의해 인코딩될 수 있거나 동일한 벡터에 위치한 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩될 수 있다.
- [0208] 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 몰비의 생산을 보장하기 때문이다(Schmitt et al., 2009).
- [0209] 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 유전자 서열의 변경 그리고 mRNA 불안정성이나 잠재 스플라이스 부위의 제거는 TCR-알파 및 TCR-베타 유전자 발현을 유의하게 강화시키는 것으로 나타났다(Scholten et al., 2006).
- [0210] 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).
- [0211] 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("뿔-인-홀(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).
- [0212] 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.
- [0213] "약학적 조성물"이란 의학적 환경에서 인간에서 투여하기에 적합한 조성물이다. 바람직하게, 약학적 조성물은

무균 상태이며 GMP 지침에 따라 생산된다.

- [0214] 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 제제의 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.
- [0215] 특별히 바람직한 약학 조성물의 구현은 아세트산(아세트산염), 트리플루오로아세트산 또는 염산(염화물)의 염으로의 펩티드를 가진다.
- [0216] 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 짝 또는 하이브리드 분자의 섹션은 CD4-양성 T세포를 자극한다. CD4-와 CD8-자극유도 에피토프는 이 분야에서 잘 알려졌고 본 발명에서 식별된 것들을 포함한다.
- [0217] 한 양태에서, 이 백신은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398을 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.
- [0218] 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.
- [0219] 특히 DNA와 같은 폴리뉴클레오타이드를 예를 들면 보완 응집성 말단을 이용하여 연결하는 여러 가지 방법이 개발되었다. 예를 들면, 보완 동중중합체 트랙트가 벡터 DNA에 삽입될 DNA 세그먼트에 추가될 수 있다. 벡터와 DNA 세그먼트는 이후 보완 동중중합체 꼬리와 함께 수소 결합을 이용하여 재조합 DNA 분자를 형성할 수 있다.
- [0220] 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.
- [0221] 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.

- [0222] 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.
- [0223] 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.
- [0224] 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 뉴클레오티드 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.
- [0225] 다른 방법으로는, 이러한 선택이 가능한 특성이 다른 벡터에 있을 수도 있으며, 이는 바람직한 숙주 세포를 동시에 형질전환하는 데에 사용된다.
- [0226] 발명의 재조합 DNA에 의해 형질전환된 숙주 세포는 충분한 시간 동안 적당한 상태에서 당업자에 의해서 배양되고 이는 폴리펩티드의 발현을 가능하게 하며, 이는 후에 회복된다.
- [0227] 박테리아(예: 대장균(*E. coli*)과 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)), 효모(예를 들면 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*)), 사상균류(예를 들면 아스페르길스 스피시즈(*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.
- [0228] 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 동원체 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.
- [0229] 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.
- [0230] 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.
- [0231] 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 RR1 과 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 배칼로바이러스 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.

[0232] 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 리포솜 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 효모 세포, 박테리아 세포, 곤충세포 및 척추동물 세포 형질전환에 잘 알려져 있다.

[0233] 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.

[0234] 본 발명의 특정한 숙주 세포, 예를 들면 박테리아, 효모 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.

[0235] 바람직한 구현에서, 숙주 세포는 항원 제시 세포이며, 특히 수지상 세포 또는 항원 제시 세포이다. 전립선암 인산화소(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).

[0236] 본 발명의 다른 양태는 펩티드 또는 그의 변이체의 숙주 세포를 배양하고 펩티드를 숙주 세포 또는 배지에서 격리하는 것을 포함한 생산 방법을 제공한다.

[0237] 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).

[0238] 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 인코딩된 펩티드는 융합 단백질일 수도 있고, 예로서는 위에서 언급한 각각의 반대 CDR을 위한 T세포를 유도하는 에피톱을 들 수 있다.

- [0239] 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®), 레스퀴모드, ImuFact IMP321, IL-2, IL-13, IL-21과 같은 인터루킨, 인터페론 알파 또는 베타, 또는 이들의 폐결합된 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 아퀼라스 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).
- [0240] CpG 면역자극 올리고뉴클레오타이드는 백신 환경에서 보조제의 효율성을 높이는 것으로 나타났다. 이 이론에 국한하지 않고, CpG 올리고뉴클레오타이드는 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 올리고뉴클레오타이드는 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 올리고뉴클레오타이드, 비핵산 보조제 및 항원 특정 면역 반응을 일으키는 항원의 병용에 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.
- [0241] 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, 베바시주맵, 셀레브렉스, NCX-4016, 실데나필, 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.
- [0242] 바람직한 보조제들은 항-CD40, 이미퀴모드, 레스퀴모드, GM-CSF, 사이클로포스파마이드, 수니티닙, 아테졸리주맵, 베바시주맵, 인터페론-알파, CpG 올리고뉴클레오타이드 및 유도체, poly-(I:C) 및 유도체, RNA, 실데나필, PLG의 미립자 제제, 비로솜, 인터루킨 (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 및 IL-23이다.
- [0243] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그래눌로사이트 마크로파지 콜로니-자극 인자(GMCSF, 사르가라모스틴), 사이클로포스파마이드, 이미퀴모드, 레스퀴모드 및 인터페론-알파같은 콜로니-자극 인자로 구성된 군에서 선택된다.

- [0244] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 구현에서, 보조제는 그래눌로사이트 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.
- [0245] 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 시토키인 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.
- [0246] 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).
- [0247] 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.
- [0248] "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-펩티도로부터 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.
- [0249] 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.
- [0250] 각 골격은 IL-21, 항-CD3, 항-CD28과와 같은 두 번째 활성 분자와 접합될 수 있다.
- [0251] 폴리펩티드 골격에 대한 추가 정보는 예를 들어 WO 2014/071978A1의 배경 부분과 거기에 인용된 참조문헌을 참고한다.
- [0252] 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 요법

의 개발에 필요한 적합한 대안인 것으로 보여진 바 있다. 압타머는 높은 친화도 및 특이성으로 다양한 복합체 표적에 선택적으로 결합하는 것으로 나타난 바 있다.

- [0253] 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, 생의학 적용을 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.
- [0254] 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.
- [0255] 더욱이, 유세포 분석을 사용한 세포 결합 거동의 조사에 의하면 압타머는 나노몰 범위에서 매우 양호하고 뚜렷한 친화성을 드러내는 것으로 나타났다.
- [0256] 압타머는 진단 및 치료 목적으로 유용하다. 더욱이, 일부 압타머를 종양 세포가 취하며 그리하여 종양 세포 안으로의 siRNA와 같은 항암제의 표적 인도를 위한 분자 부형체로서 기능이 가능할 수 있다.
- [0257] 압타머는 세포와 조직 그리고 바람직하게는 현재 본 설명에 따른 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398의 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.
- [0258] 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.
- [0259] 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 단백질 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 특이적으로 결합하는 상기 항체를 나타낸다.
- [0260] 본 발명의 다른 양태는 HLA 제한 항원과 복합되는 인간 주조직적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는 것으로 이 항체는 바람직하게는 다클론 항체, 단클론 항체, 양특이성 항체 및/또는 키메라 항체이다.
- [0261] 그러한 항체 및 단일 사슬 클래스 I 주조직 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.
- [0262] 바람직하게는 항체는 20 나노몰 미만의 바람직하게는 10 나노몰 미만의 결합 친화력으로써 복합체와 결합하는데, 이는 본 발명의 문맥 상 "특이적"으로 간주된다.
- [0263] 본 발명은 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 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.
- [0264] 본 발명은 또한 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398로 구성되는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 펩티드 또는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 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.

- [0265] 본 발명은 또한 인간 주 조직적합, 복합체(MHC) 클래스-I 또는 -II의 분자에 결합하는 능력을 갖는 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것이다.
- [0266] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398에 따른 아미노산 서열로 구성되거나 실질적으로 구성된다.
- [0267] 본 발명은 또한 본 발명에 의한 펩티드에 관한 것으로 상기 펩티드는 (화학적으로) 변형되거나/며 비펩티드 결합을 포함한다.
- [0268] 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.
- [0269] 본 발명은 또한 본 발명이 따른 펩티드를 인코딩하는 핵산에 관한 것으로, 단 펩티드가 완전한(전체) 인간 단백질은 아니다.
- [0270] 본 발명은 또한 DNA, cDNA, PNA, RNA 또는 이들의 조합인 본 발명에 따른 핵산에 관한 것이다.
- [0271] 본 발명은 더욱 본 발명에 따른 핵산을 발현할 수 있는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0272] 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, 신세포암종, 방광 암종, 자궁 및 자궁내막암의 치료에서의 사용을 위한 본 발명에 따른 펩티드, 본 발명에 따른 핵산 또는 본 발명에 따른 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0273] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산을 또는 전에 설명한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0274] 본 발명은 또한 항원 제시 세포, 바람직하게는 수지상 세포인 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0275] 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.
- [0276] 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.
- [0277] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로, 항원 제시 세포가 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398 또는 상기 변이체 아미노산 서열을 포함하는 상기 펩티드를 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.
- [0278] 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.
- [0279] 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.
- [0280] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 일체의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 표적 세포가 이상 발현하는 환자에서 표적 세포를 살해하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따라 효과적인 수의 T세포를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0281] 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.
- [0282] 한 양태에서, 이 T세포는 환자에게 자가 세포일 수 있다. 다른 양태에서, 이 T세포를 건강한 공여자로부터 얻을 수 있다. 다른 양태에서, 이 T세포가 종양 침윤 림프구나 말초 혈액 단핵 세포로부터 유래할 수 있다. 다른 양태에서, 면역 반응은 세포독성 T세포 반응을 포함할 수 있다.
- [0283] 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.

[0284] 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.

[0285] 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.

[0286] 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.

[0287] 용어 "항체" 또는 "항체들"은 여기에서 광범위한 의미로 사용되며, 다클론 및 단클론 항체를 둘 다 포함한다. 무손상 즉 "온전한" 번역글로불린 분자뿐만 아니라, 용어 "항체들"에는 그런 번역글로불린 분자와 인간화된 버전의 번역글로불린 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.

[0288] 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.

[0289] 예를 들어, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398 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.

[0290] 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 활

성도에 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.

[0291] "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).

[0292] 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 내*에서 면역될 수도 있다.

[0293] 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).

[0294] *시험관 내* 방법 또한 1가의(monovalent) 항체를 준비하는 데에 적합하다. 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 소화의 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.

[0295] 항체 조각도, 이가 다른 서열과 붙어 있든 그렇지 않든 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 이황화물 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 생물학적 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.

[0296] 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.

[0297] 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 키메라 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.

- [0298] 면역되었을 때, 내인성의 면역글로불린 생성이 없는 중에 전체 인간 항체를 생산할 수 있는 유전자 변형 동물(예, 생쥐)이 사용될 수 있다. 예를 들면, 키메라 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 디스플레이에서 생산될 수 있다.
- [0299] 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.
- [0300] 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.
- [0301] 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 $\mu\text{g/kg}$ ~ 100 mg/kg 로 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.
- [0302] 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 보완결정 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 이항화 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.
- [0303] 그 밖에, 본 발명의 펩티드 및/또는 TCR 또는 항체 또는 다른 결합하는 분자는 생검 샘플에 근거한 병리학자의 암 진단을 확인하는 데 사용이 가능하다.
- [0304] 항체 또는 TCR은 생체 내의 진단 분석에 사용될 수도 있다. 일반적으로, 항체는 방사성핵종으로 라벨링되고(예, ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^3H , ^{32}P 또는 ^{35}S) 면역섬광계수법(immunoscintigraphy)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.

- [0305] 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 플루오레세인, 로다민, 에오신과 다른 형광체, 방사성 동위 원소, 금, 가돌리늄과 다른 란탄계열 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 연결하는 것으로는 이 분야에서 잘 알려진 것들 중에 프로브의 공유원자 연결, 프로브의 항체로의 편입 및 프로브의 결합을 위한 킬레이트 화합물의 공유원자 연결 등을 들 수 있다. 면역조직 화학을 위해서, 질병 조직 샘플은 신선하거나 냉동되었거나 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.
- [0306] 본 발명의 다른 양태는 활성화된 T세포와 항원 적재된 적당한 항원-제시 세포의 표면에서 시험관 내 T세포를 항원이 본 발명의 펩티드라고 할 때 항원 특정 방식으로 활성화시키는 데 충분한 시간 동안에 발현되는 인간 클래스 I 또는 MHC 분자의 접착을 포함하는 시험관 내의 방법으로 생성하는 방법을 포함한다. 바람직하게는, 충분한 양의 항원이 항원-제시 세포와 함께 사용된다.
- [0307] 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. TAP이란 항원 처리에 관련된 트랜스포터를 일컫는다.
- [0308] 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 번호 CRL 19863에서 구입이 가능하며, 생쥐 RMA-S 세포주는 Ljunggren 등에서 묘사가 된 바 있다(Ljunggren and Karre, 1985).
- [0309] 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 데이터베이스에서 공개적으로 제공된다.
- [0310] MHC 클래스 I 에피토프이 항원으로 사용되는 경우, T세포는 CD8-양성 T세포이다.
- [0311] 항원-제시 세포가 형질주입되어 그러한 에피토프를 발현하는 경우, 바람직하게는 그 세포는 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398을 포함하는 펩티드, 또는 이의 변이체의 아미노산 서열을 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함한다.
- [0312] 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 세포도 사용할 수 있다. 또한, 펩티드 또는 폴리펩티드로 펄스된 또는 재조합된 바이러스에 의해 감염된 대식세포가 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 T세포를 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.
- [0313] 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, 배칼로바이

러스-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.

- [0314] 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.
- [0315] 위에서 말한 방법으로 생성된 활성화된 T 세포는, 서열 식별 번호 1 ~ 서열 식별 번호 398의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 이상 발현하는 세포를 선택적으로 인식할 것이다.
- [0316] 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.
- [0317] 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)).
- [0318] 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.
- [0319] 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.
- [0320] T세포는 예를 들면 위에서 기술된 바와 같은 방법으로 얻어질 수 있다.
- [0321] 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).
- [0322] 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.
- [0323] 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.
- [0324] 본 발명은 다음을 포함한 키트(kit)를 포함한다:
- [0325] (a) 위에 기술된 바와 같은 약학 조성물을 용액 또는 동결건조된 형태로 포함하고 있는 용기;
- [0326] (b) 선택적으로 희석제 또는 동결건조된 배합을 위한 재구성 용액을 포함하는 둘째 용기; 및
- [0327] (c) 선택적으로(i) 용액의 사용 혹은(ii) 동결건조된 배합의 재구성 및/또는 사용을 위한 지시.
- [0328] 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.
- [0329] 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.

[0330] 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.

[0331] 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.

[0332] 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.

[0333] 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, 괴사유도제 또는 킬레이터. 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.

[0334] 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).

[0335] 본 배합은 구강(경구), 비강, 안약 형태의, 피하의, 피내, 근육내, 혈관내 또는 경피 등 어떠한 투여 형태라도는 펩티드 투여에 적당한 약제이다. 바람직하게는 투여는 피하(s.c.)이며, 가장 바람직하게는 주입 펌프에 의한 피내(i.d.)일 수 있다.

[0336] 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.

[0337] 본 발명은 또한 사전선별된 TUMAP의 웨어하우스로부터 선택된 적어도 하나의 펩티드가 포함된 약학 조성물의 제조를 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.

[0338] "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.

[0339] 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. 웨어하

우스(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.

- [0340] 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 고비용의 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.
- [0341] 1. 악성 종양 물질로부터의 HLA 리간드는 질량 분석에 의해 파악되었다
- [0342] 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.
- [0343] 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.
- [0344] 4. TUMAP로서 동정된 펩티드의 관련성을 지지하는 추가의 증거를 파악하기 위해 문헌 연구를 수행했다
- [0345] 5. mRNA 수준에서의 과다 발현의 타당성은 3단계에서 종양 조직으로부터 선택된 TUMAPs의 재검출 그리고 건강한 조직에 대한 검출의 부재(또는 낮은 빈도)에 의해 확인되었다.
- [0346] 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.
- [0347] 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.
- [0348] 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.

- [0349] 한 양태에서 여기 그리고 다음에 설명되는 본 발명에 따른 방법에 근거하여, 이 펩티드들은 개별 환자를 위한 적합성에 근거하여 백신에 포함되도록 선택된다.
- [0350] 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.
- [0351] 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.
- [0352] 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 배아계역은 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.
- [0353] 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 면역원성과 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.
- [0354] 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.
- [0355] 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.
- [0356] 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.

[0357] 최종 벌크 용액을 바이알에 채운 다음 사용 때까지 -20° C에서 보관한다. 바이알 하나에는 700 μ L의 용액을 함유하고 각 펩티드를 0.578 mg개씩 함유한다. 이 가운데 500 μ L(펩티드 당 약 400 μ g)는 피내 주사에 응용한다.

[0358] 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.

[0359] 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.

[0360] 병든 조직 표본의 펩티드의 탐지는 특히 만약 T 림프구가 작용 기전에 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.

[0361] 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.

[0362] 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

[0363] 도면

제1A도 - 제1N도는 상이한 암 조직(검은 점)에서 다양한 펩티드의 과다제시를 보여준다. 상부: 기술적인 반복 측정치의 MS 신호 강도 중간값이 단일 HLA-A*01 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 = 72, 종양 샘플 N = 155). 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; 담관; 방광; 골수; esoph(식도); intest. la(대장); 신장; nerve periph(말초 신경); 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); *GEJC*(위식도접합부 암); *HCC*(간세포 암종); *HNSCC*(두경부 편평세포 암종); *MEL*(흑색종); *NHL*(비호지킨 림프종); *NSCLC**adeno*(비소세포 폐암 선암종); *NSCLC**other*(*NSCLC**adeno*이나 *NSCLCsquam*으로 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) 펩티드: NSDISIPEY (서열 식별 번호: 16), 제1B도) 펩티드: TSDQLGYSY (서열 식별 번호: 40), 제1C도) 펩티드: HSDLLEDSKY (서열 식별 번호: 41), 제1D도) 펩티드: SSDFDPLVY (서열 식별 번호: 65), 제1E도) 펩티드: YTELVEEKY (서열 식별 번호: 70), 제1F도) 펩티드: QTDVERIKDTY (서열 식별 번호: 76), 제1G도) 펩티드: QLDSAVKNLY (서열 식별 번호: 78), 제1H도) 펩티드: HMLAAMAY (서열 식별 번호: 296), 제1I도) 펩티드: YTCEECGQAF (서열 식별 번호: 316), 제1J도) 펩티드: NTDSMTLNNTAY (서열 식별 번호: 329), 제1K도) 펩티드: TLDSTRITLY (서열 식별 번호: 1), 제1L도) 펩티드: YLDSSKPAVY (서열 식별 번호: 15), 제1M도) 펩티드: PSEVPVDSHY (서열 식별 번호: 28) 및 제1N도) 펩티드: LMEKEDYHSY (서열 식별 번호: 387).

제2A도-제2P도는 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; *parathyr*(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); *NSCLC**adeno*(비소세포 폐암 선암종); *NSCLC**other*(*NSCLC**adeno*이나 *NSCLCsquam*으로 분명히 지정될 수 없는 *NSCLC* 샘플); *NSCLCsquam*(편평세포 비소세포 폐암); *OC*(난소암); *OSCAR*(식도암); 기타(기타 암들, 예: 다발성 골수종); *PACA*(췌장암); *PRCA*(전립선암); *RCC*(신세포 암종); *SCLC*(소세포 폐암); *UBC*(방광 암종); *UEC*(자궁 및 자궁내막 암).

제2A도) 유전자 부호: MAGEA3, 펩티드: VDPIGHLY (서열 식별 번호: 2), 제2B도) 유전자 부호: SLC6A3, 펩티드: FGTTTAAEYF (서열 식별 번호: 3), 제2C도) 유전자 부호: UMODL1, 펩티드: ARDPITFSF (서열 식별 번호: 6), 제2D도) 유전자 부호: SLC45A3, 펩티드: ASDHWRGRY (서열 식별 번호: 11), 제2E도) 유전자 부호: MAGEA4, 펩티드: VDPASNTY (서열 식별 번호: 86), 제2F도) 유전자 부호: SSX1, 펩티드: AFDDIATYF (서열 식별 번호: 87), 제2G도) 유전자 부호: MAGEA1, 펩티드: EVDGREHSAY (서열 식별 번호: 89), 제2H도) 유전자 부호: MMP12, 펩티드: SSDPKAVMF (서열 식별 번호: 95), 제2I도) 유전자 부호: UMODL1, 펩티드: ASDDVRIEVLGY (서열 식별 번호: 7), 제2J도) 유전자 부호: C7orf72, 펩티드: TSRAANIPGY (서열 식별 번호: 8), 제2K도) 유전자 부호: CTCFL, 펩티드: NHTGTTRPY (서열 식별 번호: 13), 제2L도) 유전자 부호: SOX14, 펩티드: DTDPLKAAGL (서열 식별 번호: 23), 제2M도) 유전자 부호: HAS2, HAS3, 펩티드: IATVIQLFY (서열 식별 번호: 66), 제2N도) 유전자 부호: SLC6A3, 펩티드: CLVLVIVLLY (서열 식별 번호: 91), 제2O도) 유전자 부호: UMODL1, 펩티드: TATLLIVRY (서열 식별 번호: 96), and 제2P도) 유전자 부호: CDK6, 펩티드: LTSVVVTW (서열 식별 번호: 374).

제3도는 건강한 HLA-A*01+ 공여자에서 펩티드 특이적 시험관 내 CD8+ T세포 반응의 예시적 결과를 보여준다. 서열 식별 번호 417 펩티드(KLDRSVFTAY)(A, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 429 펩티드(VSDSECLSR)(B, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 19 펩티드(LTEGHSGNY)(C, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 33 펩티드(SMDPVTGYQY)(D, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 61 펩티드(SSDIVALGGFLY)(E, 왼쪽 패널), 서열 식별 번호: 77 펩티드(FTSDTGLEY)(F, 왼쪽 패널) 또는 서열 식별 번호: 83 펩티드(DTEFHGGLHY)(G, 왼쪽 패널)와의 복합체에서 항-CD28 mAb 및 HLA-A*01로써 코팅된 인공 APC를 사용하여 CD8+ T세포를 초회감작시켰다. 세 주기의 자극 후, A*01/서열 식별 번호 417(A) 또는 A*01/서열 식별 번호 429(B), A*01/서열 식별 번호 19(C), A*01/서열 식별 번호 33(D), A*01/서열 식별 번호 61(E), A*01/서열 식별 번호 77(F) 또는 A*01/서열 식별 번호 83(G)을 사용한 2D 다합체 염색에 의해 펩티드 반응성 세포의 검출을 수행했다. 오른쪽 패널은 관련이 없는 A*01/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

- [0364] 실시예
- [0365] 실시예 1
- [0366] 세포 표면에 제시한 종양 연관 펩티드의 동정 및 정량화
- [0367] 조직 샘플
- [0368] 환자의 종양 조직은 다음으로부터 얻었다: Asterand (Detroit, MI, 미국 & Royston, Herts, 영국), Bio-Options Inc. (Brea, CA, 미국), BioServe (Beltsville, MD, 미국), Geneticist Inc. (Glendale, CA, 미국), Leiden University Medical Center (LUMC) (Leiden, 네덜란드), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 미국), Saint Savas Hospital (Athens, 그리스), Tissue Solutions Ltd (Glasgow, 영국), University Hospital Bonn (Bonn, 독일), University Hospital Geneva (Geneva, 스위스), University Hospital Heidelberg (Heidelberg, 독일), Osaka City University (OCU) (오사카, Japan) 및 University Hospital Tübingen (Tübingen, 독일)
- [0369] 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), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 미국), Tissue Solutions Ltd (Glasgow, 영국), University Hospital Heidelberg (Heidelberg, 독일), 및 University Hospital Tübingen (Tübingen, 독일)
- [0370] 수술이나 부검 전에 모든 환자의 동의서가 제출되었다. 조직은 절제 후 즉시 충격동결한 다음 TUMAP의 분리까지 -70° C 이하에서 보관했다.
- [0371] 조직 샘플에서 HLA 펩티드의 분리
- [0372] 충격 냉동된 조직 샘플의 HLA 펩티드 풀은 약간 변형된 프로토콜(Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999)에 따라 고형 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 황산화 세파로오스, 산 처리 및 한외 여과를 이용해 취득되었다.
- [0373] 질량분광 분석
- [0374] 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 μm C18 역상 물질(Waters)로 충전된 합성-실리카 마이크로-모세관 칼럼(75 μm 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(아세트니트릴의 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≤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.
- [0375] 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 디컨볼루션 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 생물학

적 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.

[0376] 예시적인 과다제시된 펩티드의 제시 프로필이 제1도에 나와있다.

[0377] 표 8은 선택된 펩티드에 대한 다양한 암 객체 상의 제시, 그리고 표시된 암의 진단 및/또는 치료에 대해 언급된 펩티드의 특별한 관련성을 보여준다(예: 유방암 및 전립선암은 펩티드 서열 식별 번호 21, 흑색종, 비소세포 폐암 및 난소암은 서열 식별 번호 47).

표 8

객체에 걸쳐 본 발명의 선택된 중앙연관 펩티드 제시의 개요.

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 NSCLCsquam 으로 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	TLDSTRTLY	PRCA
2	VDPIGHLY	HCC
3	FGTTPAAEYF	OSCAR
4	RIEAIRAEY	MEL
5	FMVIAGMPLFY	NSCLCsquam
6	ARDPITFSF	HNSCC, NSCLCadeno
7	ASDDVRIEVLGY	AML, NSCLCother
8	TSRAANIPGY	MEL
9	QLDSTLDSY	BRCA

[0378]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
10	VSERTGISY	MEL
11	ASDHWRGRY	PRCA
12	YTDFVGEGLY	BRCA, PRCA
13	NTHTGTRPY	NSCLCsquam
14	QSEKEPGQQY	HCC
15	YLDSSKPAVY	BRCA, UEC
16	NSDISIPEY	BRCA, GC, NHL, OC, SCLC, UEC
17	ASWAVLCYY	NSCLCsquam
18	RSDPVSLRY	GBM
19	LTEGHSGNY	NHL
20	LSAQHRMLA	GBM
21	LSSAVNPIHY	MEL
22	VMDTLGLFY	BRCA, MEL, PRCA
23	DTDPLKAAGL	GBC, GBM, GC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UEC
24	NLDHYTNAY	UEC
25	AMMQEAQLAY	NSCLCadenos, NSCLCother, SCLC, UEC
26	ASDDFRSKY	OSCAR
27	PSEVPVDSHY	GBM, MEL
28	PSEVPVDSHY	CCC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCother, OC
29	TLEDLDNLYNY	NSCLCadenos
30	VTTDKPRAY	HNSCC
31	VSDHLQAGMLGQ Y	HNSCC, OSCAR
32	GTDKQNSTLRY	AML, NSCLCadenos
33	SMDPVTGYQY	MEL
34	SSWSAGENDSY	BRCA, CCC, GBC, GBM, GC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, UEC
35	SWSAGENDSYS	BRCA, NSCLCadenos, NSCLCsquam, UEC
36	MTSTEQSLY	HCC, MEL
37	MTSTEQSLYY	MEL
38	KWSQSSSLMY	HCC, HNSCC, MEL
39	WSQSSSLMY	AML, GBC, GC, HCC, NSCLCsquam
40	TSDQLGYSY	MEL
41	HSDLLEDISKY	AML, BRCA, CLL, GBC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OC,

[0379]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
		OSCAR, PACA, PRCA, SCLC, UBC, UEC
42	ASDVDTLTK	GBM
43	ETEPERHLGSY	PRCA
44	IPSFNEMVY	GBM, NSCLCadenos, NSCLCsquam
45	NLDPNKIY	MEL, OSCAR
46	RSDPGGGGLAYAA Y	AML, BRCA
47	WSDGVPLLY	GBM, MEL
50	ITDEDEDMLSY	HCC
53	YLEDRPLSQLY	MEL, OC
54	EVDIHTIHY	GBC, HNSCC, OSCAR
55	ATEGDVLNY	MEL, NHL, NSCLCsquam
56	VTEYAEEIYQY	AML
57	ASDPASSTSCY	HCC
58	YLENSASWY	UEC
59	FTDSQGNDIK	MEL
60	MTEKFLFLY	HNSCC, OSCAR
61	SSDIVALGGFLY	AML, BRCA, NSCLCsquam
62	VSELVTTGHY	AML, CRC, GBC, GBM, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR
63	TSEISQNALMY	NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam
64	TSEISQNALMY	NSCLCadenos
65	SSDFDPLVY	BRCA, GBC, GBM, GC, HCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, UEC
67	NVDQNNQSY	GBM, HNSCC, MEL, NSCLCadenos
68	QSLPEFGLTY	CCC, OSCAR
69	QSLPEFGLTY	OSCAR
70	YTELVEEKY	BRCA, CCC, CRC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, RCC, UEC
71	LTDSTTRTTY	CRC, GC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, PACA
72	VTDSSTTKIAY	GC, NSCLCsquam, PACA, SCLC
73	STDSASY	HCC
74	EMEQSQEY	HNSCC, OSCAR
75	FTDYELKAY	HCC
76	QTDVERIKDTY	CCC, CRC, GBC, GC, HCC, HNSCC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OC,

[0380]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
		OSCAR, PACA, PRCA, UEC
77	FTSDTGLEY	AML, NSCLCadenos
78	QLDSAVKNLY	BRCA, CRC, GBC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC, UEC
79	ASDLEPRELLSY	BRCA
80	ELCPLPGTSAY	GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC
81	YSDLHTPGRY	AML, SCLC
82	LTEKSHIRY	BRCA, GBM, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam
83	DTEFHGGLHY	BRCA, GC, OSCAR, PACA
84	ESEMIKFASY	HCC
85	SSDNYEHWLY	BRCA, MEL, NSCLCadenos
87	AFDDIATYF	SCLC
88	KEVDPAGHSYI	NHL
89	EVYDGREHSAY	MEL, OSCAR
90	YEDHFPLLF	MEL, OSCAR
91	CLVLVIVLLY	NSCLCadenos
92	TTDDTTAMASAS	GBC, MEL, NSCLCsquam
93	HLKILSPIY	BRCA
95	SSDPKAVMF	CRC
96	TATLLIVRY	AML
97	FPAPPAHWFY	BRCA
98	NFSDLVFTY	BRCA
99	AADSNPSEL	PRCA
100	TTSSAISWILY	BRCA
101	SITDVDFIY	UEC
102	STIRGELFF	BRCA
103	ITDTLIHLM	BRCA
104	ITDTLIHL	BRCA
107	TTENSGNYY	CLL
108	NSNLKFLEV	SCLC
109	ISEDKSISF	CRC
111	TPIPFDKILY	OSCAR
112	KASSVSAEDGY	GBM, UEC
113	ASCRSSAEY	OC
114	AVAAAAGASLY	AML, MEL, OSCAR
115	NEIDIHSIYFY	OSCAR

[0381]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
116	RSDIGFEW	AML
117	SPAKQFNIY	GBC
119	TVFDENLSRY	OSCAR
120	LVDENQSWY	NHL
121	SADEAHGLL	MEL
122	ISEAPLTEV	MEL
123	LLKAKDILY	HNSCC
124	FLKVTGYDKDDY	HCC
125	FQYELRELY	OC
126	TTDPKKFQY	MEL, NSCLCsquam, OC
127	VPFNLITEY	MEL
128	YTEFVDATFTK	HNSCC
130	YIGLKGLYF	MEL
131	LEDGIEQSAY	NHL
132	RTHIGYKVY	NSCLCsquam
134	SAPSSSGSPLY	NSCLCsquam
135	TFDKQIVLL	NSCLCother
136	RRLNFSGFGY	SCLC
137	EAYLERIGY	BRCA
138	IPVHDSVGVTY	MEL
139	PVHDSVGVTY	GC, SCLC, UEC
140	SQHIFTVSY	GBM, NSCLCsquam
141	DAVAPGREY	GBC
142	IEKFAVLY	HNSCC
143	HVSGQMLYF	BRCA
144	RTIEGDFLW	GBM
145	LSDAVHVEF	CLL
146	LCATVCGTEQY	HNSCC
147	AQVQDTGRY	MEL
148	GTKQWVHARY	CLL
149	PIMSSSQALY	NSCLCsquam
150	FTTSLDLQTNMA	HNSCC, MEL, NHL
151	YEVDTKLLSL	MEL
155	HTMEVTVY	MEL
156	STALSILL	MEL
157	GLIEVVTGY	MEL, OC
158	EVTDRNMLAF	HNSCC, OC, OSCAR

[0382]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
159	RQAPGPARDY	NSCLCsquam
160	EVLGEEMYAY	PRCA
161	EAAPDIMHY	MEL, OSCAR
162	IADNPQLSFY	BRCA
163	KIRAEVLSHY	CLL
164	KLAGTVFQY	NSCLCsquam
165	VSVYNSYPY	BRCA
166	YHRICELSDY	GC
167	RAVQPGETY	NSCLCother, NSCLCsquam
168	VQPGETYTY	GBC
169	TVDNANILL	UBC
170	VQIAKGMNY	NSCLCsquam
171	ITDFGLAKL	NSCLCaden
172	FSEPFHLIV	MEL
173	QSTTGVS	CCC
174	TSEVEGLAFVSY	NSCLCsquam
175	GLEYEAPKLY	GBM
176	HTDLES	HCC, UBC
178	TQRTSFQFY	NSCLCaden, NSCLCsquam, OC
179	SSTDFTFASW	HNSCC, OC, OSCAR
180	AQISDTGRY	MEL
181	SVTDLIGGKW	OSCAR
182	TQPELSSRY	NSCLCaden
183	LADTDLGMTF	OSCAR
184	KTIQEVAGY	GBM, HNSCC
185	NSDESADSEPHKY	BRCA
186	AVSSGLFFY	BRCA
187	TQKSVQVLAY	GBM
189	FRGVFVHRY	MEL
190	VSSTVHNLY	BRCA
191	FTRAFDQLRM	NSCLCaden
192	LAFYYGMY	GC, MEL, NHL, NSCLCsquam, OC, PRCA, RCC, UEC
193	SQNGQLIHY	OC
194	CYTADNEMGY	HCC
195	YTADNEMGYY	NSCLCaden, NSCLCother
196	RLAQYTIERY	HCC
197	NDEIDKLTGY	MEL

[0383]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
198	KLTDYINANY	GBM
199	LCAAVLAKY	MEL
200	SLPEFGLTY	GBM, RCC
201	SLPEFGLTYY	OSCAR
202	QTDINGGSLK	MEL
203	LSQDELSKF	NSCLCsquam
204	NVKEAPTEY	NSCLCother
205	RMQEGSEVY	MEL
206	RVFVAVTLY	OC, PRCA
207	LLEGEDAHLTQY	HNSCC
208	LLISKAEDY	MEL
209	EADPFLKYL	AML
210	LLEADPFLKY	AML
211	YLNEWGSRF	NSCLCadenoc
212	MMTDLTSVY	MEL
213	VSDSTTEITY	PACA
214	VQDPSLPVY	NSCLCsquam
215	DTLEAATSLY	HCC
216	NSMLDPLVY	BRCA, HNSCC, NSCLCsquam, UBC
217	LMDEGAVLTL	HNSCC
218	FTAQLQLY	GBC
219	KTELETALYY	HCC
220	DVERIKDTY	NSCLCsquam
221	TDVERIKDTY	HCC, NSCLCsquam
222	GSPDAVVS	NSCLCsquam
223	NAVDVVPSSF	GBC
224	RTDEGDNRVW	OSCAR
226	QITPKHNGLY	NSCLCsquam, OC
228	KSFDDIAKY	OC
229	MTDVFIDY	NSCLCsquam
230	CVIETFHKY	GBC
231	LLPLLVMAY	OC
232	RYLNIVHATQLY	CLL
233	RINSATGQY	CLL
234	YTDLTITQV	HNSCC
235	SIEIDHTQY	CCC, MEL, NSCLCadenoc
236	VLDSLAAQY	GC

[0384]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
237	AQEAAVFLTY	SCLC
238	ETDWGLLKGHY	BRCA
239	SSERGSPIEKY	OSCAR
240	EVLDSLLAQY	OSCAR
241	SLMVASLTY	OC
242	GTNLPTLLW	HCC, OSCAR
243	LTSED TGAY	NSCLCaden
244	VTKYIAGPY	BRCA
245	LSDNAANRY	AML
246	ARLEGEIATY	NSCLCsquam
247	SMIRVGTNY	NSCLCsquam, OC
248	VTDIDELGK	GBM
249	GVGFTELEY	GC
250	GYVCNACGLY	HNSCC
251	GIEMTYETY	GBC
252	DTTSHTYLQY	OSCAR
253	YLESHGLAY	NSCLCsquam
254	FLFNDALLY	BRCA
255	WELDSLEY	GBM
256	HAFESNNFIY	GBC
257	KSEMNVNMKY	BRCA, GBC, NSCLCsquam, PRCA, UEC
258	RPSSVLTIIY	GBM, MEL, NSCLCsquam
259	APDEVVALL	MEL
260	KPTEDSANVY	OSCAR
261	MTEGSTVNTEY	GBC, GC
263	DCMDTEGSYM	UEC
264	YRDPV FVSL	OC
266	LTD SFLRF	HCC
267	IVADDTVY	NSCLCaden, NSCLCother
268	AILHHLYFY	BRCA
269	LPSPAATIWDY	GBC
270	DLKIDLAAQY	OSCAR
271	VAEPPVVC SY	HCC
272	IPQDECLRY	GBC, HNSCC
273	CGPNEINH FY	NSCLCsquam
274	YADIHG DLL	RCC
275	ESDEMENLLTY	BRCA

[0385]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
276	QITSFASGTSY	GC
277	LPAPGFLFY	GBC
278	AATVKSDIY	NSCLCsquam
279	LMTVLLKY	BRCA
280	TTEMVSNESVDY	GBC
281	YPDLSSELLM	AML, RCC, UEC
282	QAMPSWPTAAY	NSCLCsquam
283	ETILVSSSY	NSCLCaden
284	TCSHTFVYY	NSCLCaden, SCLC
285	VLPFHSEGACVY	NSCLCaden, OC
286	ATDMEGNLNY	BRCA, GBM, NSCLCaden
287	ENSIEDLQY	HCC
289	YTSHEDIGY	NSCLCaden
290	GQFTGTAGACRY	NSCLCaden, OC
291	TSDVTGSLTY	BRCA, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCother
292	VLDFAAPPASAY	OC
293	IISVLIAIY	BRCA
294	MMEMEGMY	NSCLCsquam
295	GQRLDEAMISY	OC
296	HMLAAMAY	BRCA, MEL, NHL, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, RCC
297	RLDEAMISY	UBC
298	KFDVINHYF	BRCA
299	EVDSVALSL	MEL
300	VSINPNSGDIY	GC
301	ESQTCASDY	GBC, NSCLCother
302	FYLSTPENYHY	BRCA
303	GFGGLSSQGVYY	CCC, HNSCC
304	FSENLIYTYI	MEL
305	YADLLIYTY	NSCLCaden, UBC
306	KSFETTVRY	MEL, OSCAR
307	DTDDRELRY	GBM, HCC, UEC
308	ELAAGQVVY	CLL, OSCAR
309	EVDRNLIQY	UEC
311	TVTDGTHTDFY	NSCLCsquam
312	VTGGINPLI	OSCAR

[0386]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
313	VTDGTHTDFY	MEL
314	PPEANSLQGALY	CCC, OC
315	VLKIELETY	GBM, GC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, PACA, PRCA, RCC
316	YTCEECGQAF	BRCA, GBM, GC, HCC, HNSCC, NHL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UEC
317	EDLLEVLDY	UEC
318	YMTSMALNY	NSCLCsquam
319	FTDPHIITF	BRCA
320	QALQDKLQTFY	BRCA
321	DGIADASNLSYY	MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam
322	FSELNPLALY	GC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR
323	CTLQKPVLPY	CLL
324	RTGIFPYRF	GBC
325	LQKPVLPY	CLL, NSCLCsquam
326	STSRITLFS	GBM, HNSCC
327	IMLSVDQHLY	HNSCC, MEL
328	LLDEDNNIKL	GBC
329	NTDSMTLNNTAY	BRCA, GBC, HNSCC, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OSCAR, UBC
331	YLYQAPGSLALY	NSCLCadenos
332	SLISFKYTSY	OC
333	LSDPQAEIQFY	GBM
334	PSSMPECLSY	NSCLCsquam
335	PSSMPECLSY	NSCLCadenos
336	ATNIQLNIDTY	OC
337	FTESNQYNIY	BRCA, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam
338	YSPDSFNVSW	OSCAR
339	ESMDIFPLGW	HNSCC, OC, OSCAR
340	SVDSNLVAY	NSCLCadenos
341	PANYLGKMTY	MEL, NSCLCadenos, OC, PRCA
343	YFGNYFTYY	BRCA
344	AVNALQSVY	AML, GBC, GBM, GC, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, PACA, PRCA, UEC
345	NTMDAVPRIDHY	GBC, GC
346	VAGLEAGVLY	BRCA, GBM, HCC, MEL, OC, UBC, UEC
347	SADHPGLTF	CRC

[0387]

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
349	HLLSVSLYY	NSCLCsquam
350	LTDPQVSYV	MEL
351	VLDPMDFY	HCC
352	YPVVVAESMY	MEL
353	RLNGSVASY	OC
355	MADRGEARL	AML
356	NSENHILKY	GC, OSCAR
358	YMSPDIALLY	GBM, HCC, NSCLCaden
359	NKEINYFMY	CCC
360	RFDDINQEF	HNSCC
361	FTAEEGQLY	BRCA, GBC, GBM, HCC, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam, PACA, PRCA, RCC, SCLC, UBC, UEC
362	SGALDEAAAY	GBM, NSCLCaden, PRCA
363	LTDRDVSFY	HCC
364	DTGYLQLYY	BRCA
365	FVDTKVPEH	HCC, NHL, NSCLCsquam
366	ITVDVRDEF	GBM
367	LTDTGYLQLY	GBM, HNSCC, OC, OSCAR, UBC
368	ESAATGQLDY	OC
369	AVMEAAFVY	BRCA
370	RLSTIRHLY	HNSCC, MEL
371	WSDSTSQTIY	OSCAR
372	SRSDFEWVY	BRCA, OSCAR
373	FHADSDDES	NHL
374	LTSVVVTLW	HCC
375	ASSLDSLHY	BRCA
376	EDDEDEDLY	NSCLCsquam
377	YADPSANRDLL	OC
378	TAKAPSTEY	GBC, NSCLCaden, NSCLCother, NSCLCsquam
379	SLIIDDTEY	GBC, NSCLCsquam
380	VACGNPNVY	NSCLCaden
381	ETSFSTSHY	HNSCC
382	YEPATMEQY	NSCLCsquam
383	PPDHAVGRTKY	UBC
384	RFRSITQSY	CLL
385	SANALILTY	BRCA, MEL
386	NSALNPLLY	BRCA, NSCLCaden

서열 식별 번호	서열	암 객체상의 펩티드 제시
387	LMEKEDYHSLY	MEL
388	YTAHVGYSMY	NSCLCaden
389	YYDLVESTF	AML
390	FSEPFHLIVSY	CLL, MEL
392	TQHFVQENY	MEL
393	QVWGGQPVY	MEL
394	QVPLDCVLY	HNSCC, OSCAR
395	ILKGGSGTY	MEL
396	LPDPNVQKY	MEL
397	NSAINPLIY	NSCLCaden, RCC, UEC
398	YYYDTHNTY	HNSCC, PRCA

실시예 2

본 발명의 펩티드를 인코딩하는 유전자의 발현 프로파일

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.

[0393] RNA 원천 및 준비

[0394] 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.

[0395] 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).

[0396] RNA 샘플의 양과 질은 Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent, Waldbronn, 독일)에 의해 RNA 6000 Pico LabChip Kit(Agilent)를 사용하여 분석되었다.

[0397] RNAseq 실험

[0398] 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.

[0399] 제2도에는 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 프로파일이 나와있다. 추가의 예시적 유전자의 발현 점수가 표 9에 나와 있다.

표 9

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, 복막, 골격근, 피부, 소장, 비장, 위, 갑상선, 기관, 요관, 방광. 동일한 조직 유형에 대해 여러 샘플의 발현 데이터가 있는 경우, 모든 해당 샘플의 산술 평균을 그 계산에 사용했다. 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 NSCLCsquam 으로 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	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
1	TLDSTRTLY		GBM	PRCA
2	VDPIGHLY	CRC, NHL, OC,	GBC,	GC, HCC,

[0400]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		PACA	NSCLCadeno, UEC	HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
3	FGTTPAAEYF	NSCLCadeno, NSCLCsquam, SCLC		RCC
4	RIEAIRAEY			MEL
5	FMVIAGMPLFY	NSCLCadeno, NSCLCsquam		RCC
6	ARDPITFSF	BRCA, CRC, OC, SCLC	NSCLCadeno, NSCLCother	AML
7	ASDDVRIEVL Y	BRCA, CRC, OC, SCLC	NSCLCadeno, NSCLCother	AML
8	TSRAANIPGY	BRCA, CLL		NHL
9	QLDSTLDSY	OC		BRCA
10	VSERTGISY			MEL
11	ASDHWRGRY			PRCA
12	YTDFVGEGLY			PRCA
13	NTHTGTRPY	GBC, MEL, NHL	OC	
14	QSEKEPGQQY	GBC	HCC	
15	YLDSSKPAVY		BRCA, OC, UEC	
16	NSDISIPEY		OC, UEC	
17	ASWAVLCYY		PRCA	
18	RSDPVSLRY		GBM	
19	LTEGHSGNY		CLL, NHL	
20	LSAQHRMLA	CLL, SCLC	NHL	
21	LSSAVNPPIY	NSCLCsquam, UEC	GC, PACA	
22	VMDTLGLFY	HCC	PRCA	
23	DTDPLKAAGL	GBC, HCC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCother, SCLC, UBC, UEC	CRC, GC, PRCA	
24	NLDHYTNAY		SCLC, UEC	

[0401]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
25	AMMQEAQLAY	GBM	SCLC	
26	ASDDFRSKY	NSCLCsquam, OSCAR, UBC	HNSCC, MEL	
27	PSEVPVDSHY	CCC	MEL	
28	PSEVPVDSHY	CCC	MEL	
29	TLEDLDNLYN Y	CRC, GBC, NHL, UBC, UEC	BRCA, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA	
30	VTTDKPRAY		MEL	
31	VSDHLQAGML GQY	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
32	GTDKQNSTLR Y		MEL	
33	SMDPVTGYQY		MEL	
34	SSWSAGENDS Y	NHL	HNSCC, MEL	
35	SWSAGENDSY S	NHL	HNSCC, MEL	
36	MTSTEQSLY	BRCA, HCC, MEL, OC, SCLC, UEC	PRCA	
37	MTSTEQSLYY	BRCA, HCC, MEL, OC, SCLC, UEC	PRCA	
38	KWSQSSSLM Y	CCC	HCC	
39	WSQSSSLMY	CCC	HCC	
40	TSDQLGYSY		MEL	
41	HSDLLEDSKY		BRCA	
42	ASDVTLLK		GBM	
43	ETEPERHLGSY		PRCA	
44	IPSFNEMVY		GBM	
45	NLDPNKIY	CRC, GC, MEL, NSCLCadenoc,	GBC	

[0402]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA		
46	RSDPGGGGLA YAAAY	GBM, SCLC	AML	
47	WSDGVPLLY		GBM	
48	FTTQDELLVY		PRCA	
49	GSFSIQHTY		PRCA	
50	ITDEDEDMSY		GBC, HCC	
51	STEERRLNY		PRCA	
52	TTQDELLVY		PRCA	
53	YLEDRLPSQLY		MEL	
54	EVDIHTIHY	OSCAR	HNSCC	
55	ATEGDVLNY	NHL	CLL	
56	VTEYAEIYQY	OC, OSCAR	AML, UEC	
57	ASDPASSTSCY		NSCLCother	
58	YLENSASWY		UEC	
59	FTDSQGNDIK		MEL	
60	MTEKFLFLY	BRCA, CLL, NHL, RCC	UBC	
61	SSDIVALGGFL Y	BRCA, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	HNSCC	
62	VSELVTTGHY		GBM	
63	TSEISQNALMY	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCaden	
64	TSEISQNALMY Y	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCaden	
65	SSDFDPLVY	HCC	CRC	
66	IATVIQLFY	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	UBC	
67	NVDQNQNSY		MEL	
68	QSLPEFGLTY	GC, HNSCC, OSCAR, UBC	CRC	
69	QSLPEFGLTY	GC, HNSCC, OSCAR, UBC	CRC	

[0403]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
70	YTELVEEKY		UEC	
71	LTDSTTRTTY		PACA	
72	VTDSSTTKIAY		PACA	
73	STDSASY		HCC	
74	EMEQSQEY	OSCAR	HNSCC	
75	FTDYELKAY		HCC	
76	QTDVERIKDTY	CCC, GC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, UBC	OSCAR	
77	FTSDTGLEY	AML		
78	QLDSAVKNLY	CRC, NHL		
79	ASDLEPRELLS Y	GBM		
80	ELCPLPGTSAY	GBM, OC, SCLC		
81	YSDLHTPGRY	MEL, NSCLCadenoc, SCLC		
82	LTEKSHIRY	MEL		
83	DTEFHGGLHY	GBC, GC, PACA		
84	ESEMIKFASY	HCC		
85	SSDNYEHWLY	CLL		
86	VDPASNTY	BRCA, CRC, GC, UEC	HCC, NSCLCadenoc	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
87	AFDDIATYF	MEL, NHL, NSCLCadenoc	SCLC	HCC
88	KEVDPAGHSYI	CRC, PACA	BRCA, GC, HCC, NHL, NSCLCadenoc, OC, UEC	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
89	EVYDGREHSA Y	BRCA, CCC, OC, UBC	GBC, GC, HNSCC, NHL,	HCC, MEL, NSCLCsquam,

[0404]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
			NSCLCadeno, SCLC	OSCAR
90	YEDHFPLLF	HCC, NSCLCadeno, UEC	GBC, GC, HNSCC, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	MEL, UBC
91	CLVLVIVLLY	NSCLCadeno, NSCLCsquam		RCC
92	TTDDTTAMAS AS	HCC, UEC	GBC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC	MEL, UBC
93	HLKILSPIY	BRCA, CRC, NHL, OC, SCLC, UEC	NSCLCadeno, NSCLCother	AML
94	KPSAVKDSIY	OC	PRCA, SCLC	UEC
95	SSDPKAVMF	HCC, RCC	CCC, GC, MEL, NHL, NSCLCadeno, OC, PACA, UEC	CRC, GBC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC, UBC
96	TATLLIVRY	BRCA, CRC, SCLC	NSCLCadeno, NSCLCother	AML
97	FPAPPAHWFY	OC		BRCA
98	NFSDLVFTY	CLL, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadeno, NSCLCsquam, OC, PACA, RCC, UBC	BRCA, SCLC	GBM
99	AADSNPSEL		PRCA	
100	TTSSAISWILY		BRCA	
101	SITDVDFIY	CRC, SCLC	PRCA	

[0405]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
102	STIRGELFF	HCC, OC, RCC, SCLC	BRCA, CCC, CRC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC, UEC	
103	ITDTLIHLM		BRCA, OC, UEC	
104	ITDTLIHL		BRCA, OC, UEC	
105	VVFDKSDLAK Y		PRCA	
106	EVVEGKEWGS FY		CRC, GBC, GC, PACA	
107	TTENSGNYY		CLL, NHL	
108	NSNLKFLEV	BRCA, CRC, GC, MEL, NHL, NSCLCadeno, NSCLCother, OSCAR, PACA, SCLC, UEC	HNSCC, NSCLCsquam, OC	
109	ISEDKSISF		MEL	
110	IGDKVDAVY	NSCLCadeno, UBC	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR	
111	TPIPFDKILY	CRC, NSCLCsquam, OC, UBC, UEC	BRCA, CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCadeno, OSCAR, PACA	
112	KASSVSAEDG Y	BRCA, SCLC, UBC	PRCA	
113	ASCRSSAEY	GBC, GC, NSCLCadeno, NSCLCother, PACA, UEC	CCC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	
114	AVAAAAGASL		UEC	

[0406]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
	Y			
115	NEIDIHSIYFY	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
116	RSDIGFEW	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenoma, NSCLCother, NSCLCsquamous, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	
117	SPAKQFNIY	AML, BRCA, CCC, CRC, GBC, GBM, GC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenoma, NSCLCother, NSCLCsquamous, OC, OSCAR, PACA, UBC, UEC	CLL, SCLC	
118	LTWAHSAKY	CCC	MEL	
119	TVFDENLSRY	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
120	LVDENQSWY	NSCLCother, OSCAR	HNSCC	
121	SADEAHGLL	BRCA, GC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenoma, NSCLCother, NSCLCsquamous, OC, OSCAR, PACA, RCC, UBC, UEC	CCC, CRC, GBC	
122	ISEAPLTEV		MEL	

[0407]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
123	LLKAKDILY		HCC, BRCA	
124	FLKVTGYDKD DY		MEL	
125	FQYELRELY		MEL	
126	TTDPKKFQY		MEL	
127	VPFNLITEY	HCC	MEL	
128	YTEFVDATFT K	OSCAR	HNSCC	
129	STIDFRAGF		MEL	
130	YIGLKGLYF	HCC	MEL	
131	LEDGIEQSAY	AML	CLL	
132	RTHIGYKVY		MEL	
133	ITDVGPNGY		MEL	
134	SAPSSSGSPLY	CLL	SCLC	
135	TFDKQIVLL	CCC	HCC	
136	RRLNFSGFGY		SCLC	
137	EAYLERIGY		BRCA	
138	IPVHDSVGVTY		GBM	
139	PVHDSVGVTY		GBM	
140	SQHIFTVSY		GBM	
141	DAVAPGREY	CCC	HCC	
142	IEKFAVLY		GBM	
143	HVSGQMLYF	BRCA	UEC	
144	RTIEGDFLW		GBM	
145	LSDAVHVEF		CLL, NHL	
146	LCATVCGTEQ Y	BRCA	GBM, MEL	
147	AQVQDTGRY		MEL	
148	GTKQWVHARY		CLL, NHL	
149	PIMSSSQALY		MEL	
150	FTTSLDLQTN MA	AML, GBC, HCC, HNSCC, NSCLCadenoc, OC, OSCAR	MEL, SCLC	
151	YEVDTKLKSL	GBC, HCC, HNSCC, NSCLCadenoc,	MEL, SCLC	

[0408]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		NSCLCsquam, OC, OSCAR		
152	YLEDRLPSQ		MEL	
153	HSIEVFTHY		MEL	
154	SIEVFTHY		MEL	
155	HTMEVTVY		MEL	
156	STALSILL		GBM	
157	GLIEVVTGY		BRCA	
158	EVTDRNMLAF	OC	BRCA	
159	RQAPGPARDY	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
160	EVLGEEMYAY	BRCA	PRCA	
161	EAAPDIMHY	BRCA, HCC, MEL, OC	PRCA	
162	IADNPQLSFY	PRCA	BRCA	
163	KIRAEVLSHY		CLL	
164	KLAGTVFQY	BRCA, CRC, GC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, SCLC, UBC	CCC, GBC	
165	VSVYNSYPY		PRCA	
166	YHRICELSDY	BRCA, GBC, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, SCLC	PRCA	
167	RAVQPGETY	CCC	HCC	
168	VQPGETYTY	CCC	HCC	
169	TVDNANILL	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
170	VQIAKGMNY	HNSCC	GBM	
171	ITDFGLAKL	HNSCC	GBM	
172	FSEPFHLIV	MEL	CLL, NHL	
173	QSTTGVSHTY		GBM	
174	TSEVEGLAFVS		GBM	

[0409]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
	Y			
175	GLEYEAPKLY		AML	
176	HTDLESPSAV Y		UBC	
177	LVDGKWQEF		UBC	
178	TQRTSFQFY	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCadenos	
179	SSTDFTFASW	GC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	CRC	
180	AQISDTGRY		MEL	
181	SVTDLIGGKW	AML, NSCLCsquam, OSCAR	HNSCC, UBC	
182	TQPELSSRY	BRCA, CRC, GC, HNSCC, NSCLCadenos, NSCLCother, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, UBC	CCC, GBC	
183	LADTDLGMTF	HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenos, NSCLCother, SCLC	GBC	
184	KTIQEVAGY		GBM	
185	NSDESADSEPH KY		NHL	
186	AVSSGLFFY	NHL	CLL	
187	TQKSVQVLAY		GBM	
188	DIPDYLLQY		NHL	
189	FRGVFVHRY	MEL, NSCLCadenos, OC, SCLC	GBC, NHL	
190	VSSTVHNLY	BRCA, OC	PRCA	
191	FTRAFDQLRM		CLL	

[0410]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
192	LAFYYGMY	GBM, HNSCC, NSCLCadenoc, OSCAR	NSCLCsquam	
193	SQNGQLIHY		MEL	
194	CYTADNEMGY	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCadenoc	
195	YTADNEMGY	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCadenoc	
196	RLAQYTIERY	GBC, GC, UEC	PACA	
197	NDEIDKLTGY		PRCA	
198	KLTDYINANY		GBM	
199	LCAAVLAKY		HCC	
200	SLPEFGLTY	GC, HNSCC, OSCAR, UBC	CRC	
201	SLPEFGLTY	GC, HNSCC, OSCAR, UBC	CRC	
202	QTDINGGSLK		MEL	
203	LSQDELSKF	BRCA, CCC, NHL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC, UEC	GBC	
204	NVKEAPTEY	NHL	CLL	
205	RMQEGSEVY	NHL	CLL	
206	RVFVAVTLY		PRCA	
207	LLEGEDAHLT QY	NSCLCsquam, UBC	HNSCC, OSCAR	
208	LLISKAEDY		BRCA	
209	EADPFLKYL	OC, OSCAR, UEC	AML	
210	LLEADPFLKY	OC, OSCAR, UEC	AML	
211	YLNEWGSRF	GBC, NSCLCadenoc, NSCLCsquam, OSCAR, UBC	HNSCC	
212	MMTDLTSVY		PACA	
213	VSDSTTEITY		PACA	
214	VQDPSLPVY	CLL, CRC, GBM,	NHL	

[0411]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		GC, HNSCC, MEL, NSCLCadeno, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, PRCA, SCLC, UBC		
215	DTLEAATSLY	NSCLCadeno, NSCLCsquam, OC	SCLC	
216	NSMLDPLVY	UBC	BRCA	
217	LMDEGAVLTL	CLL, NHL	CRC	
218	FTAQLQLY	NSCLCother, NSCLCsquam	NSCLCadeno	
219	KTELETALYY	GBM, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, PACA, RCC	CRC	
220	DVERIKDTY	CCC, GC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, UBC	OSCAR	
221	TDVERIKDTY	CCC, GC, HNSCC, NSCLCother, NSCLCsquam, UBC	OSCAR	
222	GSPDAVVSY	CCC, CRC, GBC, GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, PACA, SCLC		
223	NAVDVVPSSF	BRCA, CCC, GBC, NSCLCsquam, OC, OSCAR,		

[0412]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		UBC, UEC		
224	RTDEGDNRVW	GBC, HNSCC, NSCLCadenoc, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC		
225	STDPNIVRK	MEL, PRCA, SCLC		
226	QITPKHNGLY	CCC, MEL		
227	ESAPKEVSRV	RCC, UBC		
228	KSFDDIAKY	GBC, HCC, NHL, NSCLCadenoc, OC, PACA		
229	MTDVFIDY	HCC		
230	CVIETFHKY	HNSCC, MEL		
231	LLPLLVMAY	CLL		
232	RYLNIVHATQL Y	CLL		
233	RINSATGQY	CLL		
234	YTDLTITQV	BRCA, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenoc, OSCAR		
235	SIEIDHTQY	HCC		
236	VLDSLLAQY	GBC, HCC, HNSCC, NSCLCsquam, SCLC		
237	AQEAAVFLTL Y	PRCA		
238	ETDWGLLKGH TY	UEC		
239	SSERGSPIEKY	BRCA		
240	EVLDSELLAQY	GBC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, SCLC		

[0413]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
241	SLMVASLTY	AML, CCC, PACA, UEC		
242	GTNLPTLLW	SCLC		
243	LTSED TGAY	SCLC		
244	VTKYIAGPY	CCC		
245	LSDNAANRY	AML		
246	ARLEGEIATY	HNSCC, OSCAR		
247	SMIRVG TNY	GBM, SCLC		
248	VTDIDELGK	AML		
249	GVGFTELEY	HCC		
250	GYVCNACGLY	BRCA		
251	GIEMTYETY	BRCA, CLL, SCLC		
252	DTTSHTYLQY	GBM		
253	YLESHGLAY	GBM, HCC, MEL, PACA, SCLC		
254	FLFNDALLY	CCC, GBC, HNSCC, NHL, NSCLCadenocarcinoma, NSCLCsquamous cell carcinoma, PACA		
255	WELDSLEY	BRCA, CCC, GBC, GC, HNSCC, MEL, NHL, NSCLCadenocarcinoma, NSCLCsquamous cell carcinoma, OSCAR, PACA, UBC, UEC		
256	HAFESNNFIY	CCC, GBC, NSCLCadenocarcinoma		
257	KSEMNVNMKY	CCC, GBC, NSCLCadenocarcinoma		
258	RPSSVLTIY	GBM, HCC, HNSCC, NSCLCadenocarcinoma, NSCLCsquamous cell carcinoma,		

[0414]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
		OSCAR, SCLC, UBC		
259	APDEVVALL	BRCA, CCC, MEL, OC, UEC		
260	KPTEDSANVY	GBM		
261	MTEGSTVNTE Y	CCC, GBC, MEL, OC, RCC, SCLC, UEC		
262	NVKHFLNDLY	CCC, GBC, MEL, OC, RCC, SCLC, UEC		
263	DCMDTEGSYM	GBM, NSCLCother, OC, SCLC		
264	YRDPVVFVSL	CRC		
265	LSDIDSRVI	BRCA, CCC, GBC, HCC, HNSCC, MEL, NHL, OC, SCLC, UEC		
266	LTDSFLLRF	HCC		
267	IVADDTVY	PRCA		
268	AILHHLYFY	PRCA		
269	LPSPAATIWY	CRC, GC, NSCLCadeno, PACA, RCC		
270	DLKIDLAAQY	HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR		
271	VAEPPVCSY	OC, SCLC		
272	IPQDECLRY	BRCA, GC, HCC, SCLC		
273	CGPNEINHFI	MEL, UBC		
274	YADIHGDLL	BRCA, CCC		
275	ESDEMENLLT Y	BRCA, PRCA		
276	QITSFASGTSY	AML		

[0415]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
277	LPAPGFLFY	BRCA		
278	AATVKSDIY	BRCA, NHL, PRCA, SCLC		
279	LMTVLLKY	NSCLCother		
280	TTEMVSNESV DY	CCC, GBC, RCC		
281	YDDLSELLM	CCC, GBC, MEL, NHL, NSCLCother, OSCAR, SCLC, UBC		
282	QAMPSWPTAA Y	MEL		
283	ETILVSSSY	HCC		
284	TCSHTFVYY	CCC, NSCLCother, NSCLCsquam, SCLC		
285	VLP HHSEGAC VY	PRCA		
286	ATDMEGNLNY	GBM		
287	ENSIEDLQY	BRCA, PRCA, UEC		
288	TEEFVSY	CRC, PACA, SCLC		
289	YTSHEDIGY	NSCLCother		
290	GQFTGTAGAC RY	OC		
291	TSDVTGSLTY	BRCA, CCC, GC, MEL, NHL, NSCLCother, NSCLCsquam, OC, RCC		
292	VLDFAAPGAS AY	OC		
293	IISVLIAIY	SCLC		
294	MMEMEGMY	PRCA		

[0416]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
295	GQRLDEAMISY	OC, UBC		
296	HMLAAMAY	GBC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC		
297	RLDEAMISY	OC, UBC		
298	KFDVINHYF	GBC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCadenos, NSCLCsquam, OC, OSCAR, UBC		
299	EVDSVALSL	GC, NHL, PACA		
300	VSINPNSGDIY	GBM, OC, UEC		
301	ESQTCASDY	CCC, GBC, GC, HNSCC, NSCLCsquam, OSCAR, UBC, UEC		
302	FYLSTPENYHY	MEL		
303	GFGGLSSQGV YY	GC		
304	FSENLIYTYI	SCLC		
305	YADLLIYTY	HNSCC, OC, UBC, UEC		
306	KSFETTVRY	MEL		
307	DTDDRELRY	GBM, SCLC		
308	ELAAGQVVY	GBM, SCLC		
309	EVDRNLIQY	GBM, SCLC		
310	KAFQELGVRY	GBM, SCLC		
311	TVTDGTHTD FY	GBM, SCLC		
312	VTDGINPLI	GBM, SCLC		
313	VTDGTHTDFY	GBM, SCLC		
314	PPEANSLQG ALY	GBM		
315	VLKIELETY	OC, UEC		

[0417]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
316	YTCEECGQAF	CLL		
317	EDLLEVLDMY	SCLC		
318	YMTSMALNY	AML		
319	FTDPhiITF	CCC, NSCLCother, NSCLCsquam, SCLC		
320	QALQDKLQTF Y	CCC, SCLC		
321	DGIADASNLSY Y	GBC, GC, PACA		
322	FSELNPLALY	BRCA, HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
323	KTLQKPVLP LY	CLL		
324	RTGIFPYRF	CLL		
325	LQKPVLP LY	CLL		
326	STSRLTLFS	PRCA		
327	IMLSVDQHLY	CCC		
328	LLDEDNNIKL	CRC, SCLC		
329	NTDSMTLNNT AY	AML, CLL, CRC, MEL, NHL		
330	EGELSEGEHW Y	PRCA		
331	YLYQAPGSLAL Y	BRCA, GC		
332	SLISFKYTSY	SCLC		
333	LSDPQAEQLQFY	GBM		
334	PSSMPECLSY	CRC, NHL		
335	PSSMPECLSY	CRC, NHL		
336	ATNIQLNIDTY	BRCA, CRC, GBC, GC, RCC		
337	FTESNQYNIY	UBC		
338	YSPDSFNVSW	MEL, OC		
339	ESMDIFPLGW	CLL		
340	SVDSNLVAY	PRCA		
341	PANYLGKMTY	PRCA		

[0418]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
342	QTYMDGLLHY	HNSCC, OSCAR		
343	YFGNYFTYY	NSCLCother, SCLC		
344	AVNALQSVY	CRC, PRCA		
345	NTMDAVPRID HY	CRC		
346	VAGLEAGVLY	SCLC		
347	SADHPGLTF	GBM		
348	DSTDGCLLSF	MEL		
349	HLLSVSLYY	HCC		
350	LTDPQVSYV	MEL		
351	VLDPMLDFY	OC, UEC		
352	YPVVVAESMY	OC, UEC		
353	RLNGSVASY	OC, UEC		
354	EIIRYIFAY	AML		
355	MADRGEARL	GBC, NHL		
356	NSENHILKY	HNSCC, SCLC		
357	MSPDIALLYL	NSCLCother		
358	YMSPDIALLY	NSCLCother		
359	NKEINYFMY	HCC		
360	RFDDINQEF	HNSCC, OSCAR		
361	FTAEEGQLY	HCC, PRCA		
362	SGALDEAAAY	HCC, PRCA		
363	LTDRDVSFY	HCC		
364	DTGYLQLYY	HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
365	FVDTKVPEH	BRCA		
366	ITVDVRDEF	HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
367	LTDGTGYLQLY	HNSCC, OC, OSCAR, UBC		
368	ESAATGQLDY	GBM		
369	AVMEAAFVY	PRCA		
370	RLSTIRHLY	BRCA, GBC, GC, NSCLCadenocarcinoma, NSCLCsquamous, OSCAR, PACA		

[0419]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
371	WSDSTSQTIIY	HNSCC		
372	SRSDFEWVY	BRCA, GC, UBC		
373	FHADSDDES F	CRC		
374	LTSVVVTLW	AML		
375	ASSLDSLHY	BRCA		
376	EDDEDEDLY	CLL		
377	YADPSANRDL	GBM		
378	TAKAPSTEY	CRC, GC, NSCLCaden o, PACA		
379	SLIIDDT EY	GC, PACA, UBC, UEC		
380	VACGNNPVY	GC, PACA, UBC, UEC		
381	ETSFSTSHY	HNSCC, OSCAR		
382	YEPATMEQY	MEL		
383	PPDHAVGRTKY	PRCA		
384	RFRSITQSY Y	BRCA, CLL		
385	SANALILTY	BRCA, CLL		
386	NSALNPLLY	NSCLCaden o, UEC	RCC	
387	LMEKEDYHSLY		MEL	
388	YTAHVGYSMY		UEC	
389	YYDLVESTF		AML	
390	FSEPFHLIVSY	MEL	CLL, NHL	
391	GSNPARYEF	BRCA, CRC, GC, UEC	HCC, NSCLCaden o	GBC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OC, OSCAR, SCLC, UBC
392	TQHFVQENY	CRC, NHL, PACA	GBC, NSCLCaden o, UEC	GC, HCC, HNSCC, MEL, NSCLCsquam, OSCAR, SCLC,

[0420]

서열 식별 번호	서열	종양 샘플에서 유전자 발현		
		과발현(+)	고도의 과발현(++)	고도의 과발현(+++)
				UBC
393	QVWGGQP VY		MEL	
394	QVPLDCVLY		MEL	
395	ILKGGSGTY		MEL	
396	LPDPNVQKY	NHL		
397	NSAINPLIY	CRC, GBC, GC		
398	YYDTHNTY	CRC		

[0421]

[0422] 실시예 3

[0423] MHC 클래스 I 제시 펩티드의 시험관 내 면역원성

[0424] 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 감각 분석을 사용하여 조사를 수행했다. 이 방법으로 본 발명자는 지금까지 HLA-A*01 제한된 TUMAP의 면역원성을 보여줄 수

있었으며, 이것은 이 펩티드들이 인간에 존재하는 CD8+ 전조 T세포에 대한 T세포 에피토프이라는 것을 보여주었다 (표 10).

[0425] CD8+ T세포의 시험관 내 초회감작

[0426] 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.

[0427] 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, Oberdorf, 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.

[0428] 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.

[0429] 정화된 공동-자극 쥐 IgG2a 항인체 CD28 Ab 9.3(Jung et al., 1987)은 제조사가 권장하는 술폰-N-히드록시숙신 이미도비오틴을 사용하여 화학적으로 비오틴닐화 했다(Perbio, Bonn, 독일). 사용된 비드는 스트렙티비딘으로 코팅된 직경 5.6 µm의 폴리스티렌 입자였다(Bangs Laboratories, Illinois, 미국).

[0430] 양성 및 음성 대조 자극으로 사용되는 pMHC는 각각 A*0201/MLA-001(변형된 Melan-A/MART-1의 펩티드 ELAGIGILT(서열 식별 번호 433))와 A*0201/DDX5-001(DDX5의 YLLPAIVHI, 서열 식별 번호 434)였다.

[0431] 800.000 비드 / 200 µl는 4 x 12.5 ng 비오틴-pMHC 존재 하에 96-웰 플레이트에서 코팅하고 세척한 다음 600 ng 비오틴 항-CD28를 첨가하여 200 µl의 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 관독을 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 보이면 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).

[0432]

[0433] 시험관 내 면역원성

[0434] 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 두 개의 펩티드에 대한 TUMAP-특이 다합체 염색의 예시적 유세포측정법의 결과 및 상응하는 음성 대조가 제2-3도에 나와있다. 본 발명의 13개의 펩티드에 대한 결과는 표 10a에 그리고 본 발명의 추가의 28개의 펩티드에 대한 결과는 표 10b에 각각 요약되어 있다.

[0435] [표 10a]

본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 *시험관 내* 면역원성

본 발명의 펩티드 출원자 실행한 *시험관 내* 면역원성 실험의 예시적 결과. <20 % = + ;

20 % - 49 % = ++ ; 50 % - 69 % = +++ ; >= 70 % = ++++

서열 식별 번호	서열	웰 양성 [%]
399	YVGKEHMFY	+
400	NTDNNLAVY	+
401	VWSNVTPKF	+
403	SADDIRGIQSLY	+
404	FVDNQYWRY	+
408	VWSDVTPLTF	+
414	LTEGHSGNYY	+
415	VWSDVTPLNF	+
417	KLDRSVFTAY	++++
420	VTDLEMPHY	+
421	RSDPGGGGLAY	+
427	LTDYINANY	+
429	VSDSECLSRV	++

[0436]

[0437] [표 10b]

본 발명의 HLA 클래스 I 펩티드의 시험관 내 면역원성

본 발명의 펩티드 출원자 실행한 시험관 내 면역원성 실험의 예시적 결과. <20 % = +;

20 % - 49 % = ++; 50 % - 69 % = +++; >= 70 % = ++++

서열 식별 번호	서열	웰 양성[%]
10	VSERTGISY	+
11	ASDHWRGRY	+++
12	YTDFVGEGLY	+
18	RSDPVSLRY	++
19	LTEGHSGNY	+
24	NLDHYTNAY	+
26	ASDDFRSKY	++
27	PSEVPVDSHY	+
33	SMDPVTGYQY	+
37	MTSTEQSLYY	+
42	ASDVDTLK	+
53	YLEDRLSQLY	+
54	EVDIHTIHY	+
60	MTEKFLFLY	+
61	SSDIVALGGFLY	++
64	TSEISQNALMY	+
70	YTELVEEKY	+
71	LTDSTTRTTY	+
73	STDSASY	+
75	FTDYELKAY	+
77	FTSDTGLEY	+++
79	ASDLEPRELLSY	+
81	YSDLHTPGRY	+
82	LTEKSHIRY	+
83	DTEFHGGLHY	+
84	ESEMIKFASY	+
386	NSALNPLLY	+
387	LMEKEDYHSLY	+

[0438]

[0439] 실시예 4

[0440] 펩티드의 합성

[0441] 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.

[0442] 실시예 5

[0443] MHC 결합 분석

[0444] 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($\beta 2m$) 검출에 근거하여 ELISA를 수행했다. 이 분석은 Rodenko 등에서 일반적으로 설명된대로 수행했다. (Rodenko et al., 2006)

[0445] 96 웰 MAXISorp 플레이트(NUNC)를 실온 그리고 PBS에서 2ug/ml 스트렙타비딘으로 밤새 코팅하고 4회 세척한 다

음 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-β2m으로 37° C에서 1시간 배양한 다음 NH₂SO₄로 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.

[0446] 본 발명의 391개 펩티드에 대한 MHC:펩티드 결합 결과는 표 11에 요약되어 있다.

표 11

MHC 클래스 I 결합 점수. HLA 클래스 I 제한 펩티드의 HLA-A*01:01에 대한 결합 범위는 펩티드 교환 수율에 의해 정해졌다: >10% = +; >20% = ++; >50 = +++; > 75% = ++++

서열 식별	서열	펩티드 교환
1	TLDSTRTRY	++++
2	VDPIGHLY	++
3	FGTTPAAEYF	++
4	RIEAIRAEY	++
5	FMVIAGMPLFY	+++
6	ARDPITFSF	++
7	ASDDVRIEVGLY	++++
8	TSRAANIPGY	+
9	QLDSTLDSY	+++
10	VSERTGISY	+++
11	ASDHWGRGY	+++
12	YTDFVGEGLY	+++
13	NTHTGTRPY	++
14	QSEKEPGQQY	+++
15	YLDSSKPAVY	+++
16	NSDISIPEY	+++
17	ASWAVLCYY	+++
18	RSDPVSLRY	++++
19	LTEGHSGNY	++++

[0447]

서열 식별	서열	펩티드 교환
20	LSAQHRMLA	++
21	LSSAVNPIIY	++
22	VMDTLGLFY	++++
23	DTDPLKAAGL	+
24	NLDHYTNAY	+++
25	AMMQEAQLAY	+++
26	ASDDFRSKY	+++
27	PSEVPVDSHY	++++
28	PSEVPVDSHYY	+++
29	TLEDLDNLYNY	+++
30	VTSDKPRAY	++
31	VSDHLQAGMLGQY	+++
32	GTDKQNSTLRY	+++
33	SMDPVTGYQY	+++
34	SSWSAGENDSY	+++
35	SWSAGENDSYS	+
36	MTSTEQSLY	+++
37	MTSTEQSLYY	+++
38	KWSQSSSLMY	+++
39	WSQSSSLMY	++++
40	TSDQLGYSY	+++
41	HSDLLEDISKY	+++
42	ASDVDTLK	+++
43	ETEPERHLGSY	+++
44	IPSFNEMVY	++
45	NLDPNKIY	+
46	RSDPGGGGLAYAA	++++
47	WSDGVPLLY	++++
48	FTTQDELLVY	+++
49	GSFSIQHTY	++
50	ITDEDEDMLSY	+++
51	STEERRLNY	+++
52	TTQDELLVY	+++
53	YLEDRLPSQLY	++++
54	EVDIHTIHY	+++
55	ATEGDVLNY	+++
56	VTEYAEEIYQY	+++
57	ASDPASSTSCY	+++

[0448]

서열 식별	서열	펩티드 교환
58	YLENSASWY	++++
59	FTDSQGNDIK	+++
60	MTEKFLFLY	++++
61	SSDIVALGGFLY	+++
62	VSELVTTGHY	+++
63	TSEISQNALMY	++++
64	TSEISQNALMY	+++
65	SSDFDPLVY	++++
67	NVDQNSY	+++
68	QSLPEFGLTY	++
69	QSLPEFGLTY	++
70	YTELVEEKY	+++
71	LTDSTTRTTY	+++
72	VTDSSTTKIAY	+++
73	STDSASY	++++
74	EMEQSQEY	++++
75	FTDYELKAY	++++
76	QTDVERIKDTY	+++
77	FTSDTGLEY	++++
78	QLDSAVKNLY	+++
79	ASDLEPRELLSY	+++
80	ELCPLPGTSAY	++
81	YSDLHTPGRY	+++
82	LTEKSHIRY	+++
83	DTEFHGGLHY	+++
84	ESEMIKFASY	++++
85	SSDNYEHWLY	++++
86	VDPASNTY	++
87	AFDDIATYF	++
88	KEVDPAGHSYI	++
89	EVYDGREHSAY	++
90	YEDHFPLLF	++
92	TTDDTTAMASAS	++
93	HLKILSPIY	+++
94	KPSAVKDSIY	++
95	SSDPKAVMF	++
97	FPAPPAHWFY	++
98	NFSDLVFTY	++

[0449]

서열 식별	서열	펩티드 교환
99	AADSNPSEL	++
100	TTSSAISWILY	+++
101	SITDVDFIY	++
102	STIRGELFF	++
103	ITDTLIHLM	+++
104	ITDTLIHL	++
105	VVFDKSDLAKY	++
106	EVVEGKEWGSFY	+++
107	TTENSGNYY	++++
108	NSNLKFLEV	++
109	ISEDKSISF	++
110	IGDKVDAVY	++
111	TPIPFDKILY	++
112	KASSVSAEDGY	++
113	ASCRSSAEY	++++
114	AVAAAAGASLY	++
115	NEIDIHSIYFY	++
116	RSDIGEFEW	++
117	SPAKQFNII	+++
118	LTWAHSAKY	+++
119	TVFDENLSRY	++
120	LVDENQSWY	+++
121	SADEAHGLL	++
122	ISEAPLTEV	++
123	LLKAKDILY	++
124	FLKVTGYDKDDY	++
125	FQYELRELY	++++
126	TTDPKKFQY	++++
127	VPFNLITEY	+
128	YTEFVDATFTK	++++
129	STIDFRAGF	++
130	YIGLKGLYF	++
131	LEDGIEQSAY	++
132	RTHIGYKVY	+++
133	ITDVGPNGY	+++
134	SAPSSSGSPLY	++
135	TFDKQIVLL	++
136	RRLNFSGFGY	+++

[0450]

서열 식별	서열	펩티드 교환
137	EAYLERIGY	+++
138	IPVHDSVGVTY	+++
139	PVHDSVGVTY	++
140	SQHIFTVSY	++
141	DAVAPGREY	++
142	IEKFAVLY	+++
143	HVSGQMLYF	++
144	RTIEGDFLW	++
145	LSDAVHVEF	+++
146	LCATVCGTEQY	++
147	AQVQDTGRY	+++
148	GTKQWVHARY	+
149	PIMSSSQALY	++
150	FTTSLDLQTNMA	++
151	YEVDTKLLSL	++
152	YLEDRLPSQ	++
153	HSIEVFTHY	++
154	SIEVFTHY	+++
155	HTMEVTVY	+++
156	STALSILL	++
157	GLIEVVTTY	++++
158	EVTDRNMLAF	+++
159	RQAPGPARDY	++
160	EVLGEEMYAY	++
161	EAAPDIMHY	++
162	IADNPQLSFY	++++
163	KIRAEVLSHY	++
164	KLAGTVFQY	++
165	VSVYNSYPY	++
166	YHRICELLSDY	++++
167	RAVQPGETY	+++
168	VQPGETYTY	+++
169	TVDNANILL	++
170	VQIAKGMNY	+++
171	ITDFGLAKL	++
172	FSEPFHLIV	+++
173	QSTTGVSHTY	+++
174	TSEVEGLAFVSY	+++

[0451]

서열 식별	서열	펩티드 교환
175	GLEYEAPKLY	++
176	HTDLESPSAVY	+++
177	LVDGKWQEF	++
178	TQRTSFQFY	++
179	SSTDFTFASW	+
180	AQISDTGRY	++
181	SVTDLIGGKW	++
182	TQPELSSRY	++
183	LADTDLGMTF	++
184	KTIQEVAGY	++
185	NSDESADSEPHKY	++++
186	AVSSGLFFY	++
187	TQKSVQVLAY	++
188	DIPDYLLQY	+++
189	FRGVFVHRY	++
190	VSSTVHNLY	++++
191	PTRAFDQLRM	+++
192	LAFYYGMY	++
193	SQNGQLIHY	+++
194	CYTADNEMGY	+++
195	YTADNEMGYY	+++
196	RLAQYTIERY	++
197	NDEIDKLTGY	++++
198	KLTDYINANY	++
199	LCAAVLAKY	++
200	SLPEFGLTY	++
201	SLPEFGLTY	++
202	QTDINGGSLK	+++
203	LSQDELSKF	++
204	NVKEAPTEY	++
205	RMQEGSEVY	++
207	LLEGEDAHLTQY	+++
208	LLISKAEDY	++
209	EADPFLKYL	++
210	LLEADPFLKY	++++
211	YLNEWGSRF	++
212	MMTDLTSVY	+++
213	VSDSTTEITY	+++

[0452]

서열 식별	서열	펩티드 교환
214	VQDPSLPVY	++
215	DTLEAATSLY	++
216	NSMLDPLVY	++++
217	LMDEGAVLTL	++
218	FTAQLQLY	+++
219	KTELETALYY	+++
220	DVERIKDTY	++
221	TDVERIKDTY	+++
222	GSPDAVVSY	+
223	NAVDVVPSSF	+
224	RTDEGDNRVW	++
225	STDPNIVRK	+++
226	QITPKHNGLY	++
227	ESAPKEVSRV	++
228	KSFDDIAKY	++
229	MTDVFIDY	+++
230	CVIETPHKY	+++
231	LLPLLVMAY	++
232	RYLNIVHATQLY	++
233	RINSATGQY	++
234	YTDLTITQV	++++
235	SIEIDHTQY	++
236	VLDSELLAQY	++++
237	AQEAAVFLTY	+++
238	ETDWGLLKGHTY	++++
239	SSERGSPIEKY	+++
240	EVLDSELLAQY	++
241	SLMVASLTY	++
242	GTNLPTLLW	+
243	LTSEDGTAY	+++
244	VTKYIAGPY	++
245	LSDNAANRY	+++
246	ARLEGEIATY	++
247	SMIRVGTNY	++
248	VTIDELGK	+++
249	GVGFTELEY	+++
250	GYVCNACGLY	++
251	GIEMTYETY	++

[0453]

서열 식별	서열	펩티드 교환
252	DTTSHTYLQY	++
253	YLESHGLAY	++++
254	FLFNDALLY	++++
255	WELDSLEY	++
256	HAFESNNFIY	++
257	KSEMNVNMKY	++++
258	RPSSVLTIIY	+++
259	APDEVVALL	++
260	KPTEDSANVY	+++
261	MTEGSTVNTEY	++++
262	NVKHFLNDLY	+++
263	DCMDTEGSYM	++
264	YRDPVVFVSL	++
265	LSDIDSRYI	++
266	LTDSFLLRF	++++
267	IVADDTVY	+++
268	AILHHLYFY	+
269	LPSPAATIWDY	+++
270	DLKIDLAAQY	++
271	VAEPFVVCYSY	++
272	IPQDECLRY	+++
273	CGPNEINHFIY	++
274	YADIHGDLL	+++
275	ESDEMENLLTY	+++
276	QITSFASGTSY	+++
277	LPAPGFLFY	++
278	AATVKSDIY	++
279	LMTVLLKY	+++
280	TTEMVSNESVDY	++++
281	YPDLSSELLM	++
282	QAMPSWPTAAY	++
283	ETILVSSSY	++
284	TCSHTFVYY	++
285	VLPFHSEGACVY	+++
286	ATDMEGNLNY	+++
287	ENSIEDLQY	+++
288	TEEFVVSYS	+
289	YTSHEDIGY	++++

[0454]

서열 식별	서열	펩티드 교환
290	GQFTGTAGACRY	++
291	TSDVTGSLTY	++++
292	VLDFAPPGASAY	++++
294	MMEMEGMY	+++
295	GQRLDEAMISY	+++
296	HMLAAMAY	++
297	RLDEAMISY	+++
298	KFDVINHYF	++
299	EVDSVALSL	++
300	VSINPNSGDIY	+++
301	ESQTCASDY	+++
302	FYLSTPENYHY	+++
303	GFGGLSSQGVYY	+++
304	FSENLITYI	++
305	YADLLITYY	++++
306	KSFETTVRY	++
307	DTDDRELR	+++
308	ELAAGQVVY	+
309	EVDRLIQY	+++
310	KAFQELGVRY	++
311	TVTDGTHTDFY	++
312	VTDGINPLI	++
313	VTDGTHTDFY	+++
314	PPEANSLQGALY	++
315	VLKIELETY	+++
316	YTCEECGQAF	++
317	EDLLEVLDMY	++
318	YMTSMALNY	+++
319	FTDPHIITF	++++
320	QALQDKLQTFY	++
321	DGIADASNLSYY	++
322	FSELNPLALY	++++
323	KTLQKPVLPY	++
324	RTGIFPYRF	++
325	LQKPVLPY	++
326	STSRLTLFS	++
327	IMLSVDQHLY	+++
328	LLDEDNNIKL	++

[0455]

서열 식별	서열	펩티드 교환
329	NTDSMTLNNTAY	++++
330	EGELSEGEHWY	+++
331	YLYQAPGSLALY	++++
333	LSDPQAELQFY	++++
334	PSSMPECLSY	++++
335	PSSMPECLSY	+++
336	ATNIQLNIDTY	+++
337	FTESNQYNIY	++++
338	YSPDSFNVSW	++
339	ESMDIFPLGW	++
340	SVDSNLVAY	+++
341	PANYLGKMTY	+++
342	QTYMDGLLHY	++++
343	YFGNYFTYY	+
344	AVNALQSVY	++
345	NTMDAVPRIDHY	++++
346	VAGLEAGVLY	++
347	SADHPGLTF	++
348	DSTDGCLLSF	++
349	HLLSVSLYY	+
350	LTDPQVSYV	+++
351	VLDPMDFY	++++
352	YPVVVAESMY	++
353	RLNGSVASY	++
354	EIIRYIFAY	++
355	MADRGEARL	++
356	NSENHILKY	++++
357	MSPDIALLYL	+++
358	YMSPDIALLY	++++
359	NKEINYFMY	+++
360	RFDDINQEF	+
361	FTAEEGQLY	+++
362	SGALDEAAAY	++
363	LTDRDVSFY	++++
364	DTGYLQLYY	++++
365	FVDTKVPEH	++
366	ITVDVRDEF	+
367	LTDGTGYLQLY	++++

[0456]

서열 식별	서열	펩티드 교환
368	ESAATGQLDY	+++
369	AVMEAAFVY	+++
370	RLSTIRHLY	+++
371	WSDSTSQTIY	++++
372	SRSDFEWVY	++
373	PHADSDDES	+
375	ASSLDSLHY	++++
376	EDDEDEDLY	+++
377	YADPSANRDLL	++
378	TAKAPSTEY	++
379	SLIIDDTEY	++
380	VACGNNPVY	+++
381	ETSFSTSHY	++++
382	YEPATMEQY	++
383	PPDHAVGRTKY	++
384	RFRSITQSY	+
385	SANALILTY	++
386	NSALNPLLY	++++
387	LMEKEDYHSLY	+++
388	YTAHVGYSMY	++++
389	YYDLVESTF	+
390	FSEPFHLIVSY	++++
391	GSNPARYEF	++
392	TQHFVQENY	++
393	QVWGGQPVY	+
394	QVPLDCVLY	++
395	ILKGGSGTY	++
396	LPDPNVQKY	++
397	NSAINPLIY	++++
398	YYYDTHNTY	+

[0457]

[0458]

참조 문헌 목록

[0459]

Alcoser, S. Y. et al., BMC Biotechnol. **11** (2011): 124

[0460]

Allison, J. P. et al., Science. **270** (1995): 932-933

[0461]

Andersen, R. S. et al., Nat Protoc. **7** (2012): 891-902

[0462]

Anderson, N. L. et al., J Proteome Res. **11** (2012): 1868-1878

[0463]

Appay, V. et al., Eur J Immunol. **36** (2006): 1805-1814

[0464]

Banchereau, J. et al., Cell. **106** (2001): 271-274

[0465]

Beatty, G. et al., J Immunol. **166** (2001): 2276-2282

[0466]

Beggs, J. D., Nature. **275** (1978): 104-109

[0467]

Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological),. **Vol.57** (1995): 289-300

[0468]

Boulter, J. M. et al., Protein Eng. **16** (2003): 707-711

[0469]

Braumuller, H. et al., Nature.(2013)

[0470]

Bray, F. et al., Int J Cancer. **132** (2013): 1133-1145

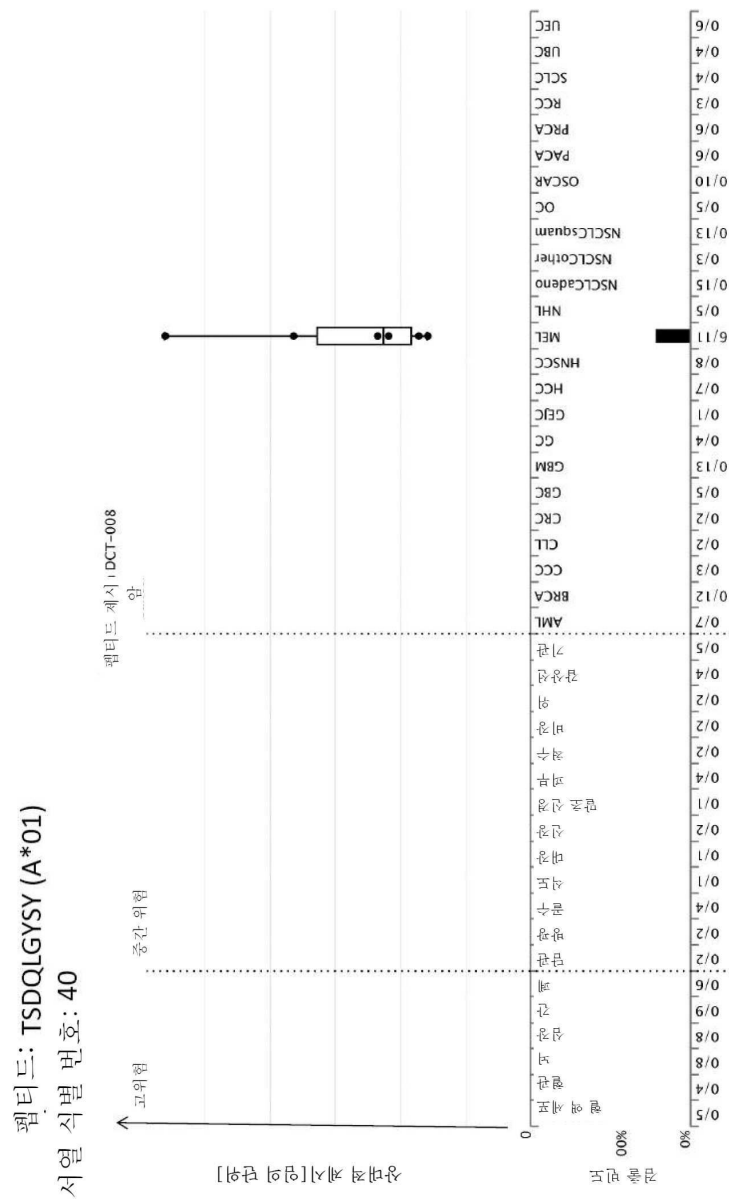
[0471]

Brossart, P. et al., Blood. **90** (1997): 1594-1599

- [0472] Bruckdorfer, T. et al., Curr Pharm Biotechnol. **5** (2004): 29-43
- [0473] Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 345-357
- [0474] Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. **16** (2003a): 324-332
- [0475] Cohen, C. J. et al., J Immunol. **170** (2003b): 4349-4361
- [0476] Cohen, S. N. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **69** (1972): 2110-2114
- [0477] Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science.(1995)
- [0478] Colombetti, S. et al., J Immunol. **176** (2006): 2730-2738
- [0479] Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 4163-4170
- [0480] Denkberg, G. et al., J Immunol. **171** (2003): 2197-2207
- [0481] Falk, K. et al., Nature. **351** (1991): 290-296
- [0482] Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1 0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No 11 [Internet] (2013), <http://globocan.iarc.fr>
- [0483] Follenzi, A. et al., Nat Genet. **25** (2000): 217-222
- [0484] Fong, L. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **98** (2001): 8809-8814
- [0485] Forsey, R. W. et al., Biotechnol Lett. **31** (2009): 819-823
- [0486] Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. **2** (1996): 1096-1103
- [0487] Gattinoni, L. et al., Nat Rev Immunol. **6** (2006): 383-393
- [0488] Gnjjatic, S. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **100** (2003): 8862-8867
- [0489] Godkin, A. et al., Int Immunol. **9** (1997): 905-911
- [0490] Gragert, L. et al., Hum Immunol. **74** (2013): 1313-1320
- [0491] Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual. **4th** (2012)
- [0492] Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual. **2nd** (2014)
- [0493] Gunawardana, C. et al., Br J Haematol. **142** (2008): 606-609
- [0494] Gustafsson, C. et al., Trends Biotechnol. **22** (2004): 346-353
- [0495] Hwang, M. L. et al., J Immunol. **179** (2007): 5829-5838
- [0496] Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **84** (1987): 4611-4615
- [0497] Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients. **rd** (2000)
- [0498] Krieg, A. M., Nat Rev Drug Discov. **5** (2006): 471-484
- [0499] Kuball, J. et al., Blood. **109** (2007): 2331-2338
- [0500] Liddy, N. et al., Nat Med. **18** (2012): 980-987
- [0501] Ljunggren, H. G. et al., J Exp Med. **162** (1985): 1745-1759
- [0502] Longenecker, B. M. et al., Ann N Y Acad Sci. **690** (1993): 276-291
- [0503] Lonsdale, J., Nat Genet. **45** (2013): 580-585
- [0504] Lukas, T. J. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **78** (1981): 2791-2795
- [0505] Lundblad, R. L., Chemical Reagents for Protein Modification. **3rd** (2004)
- [0506] Meziere, C. et al., J Immunol. **159** (1997): 3230-3237

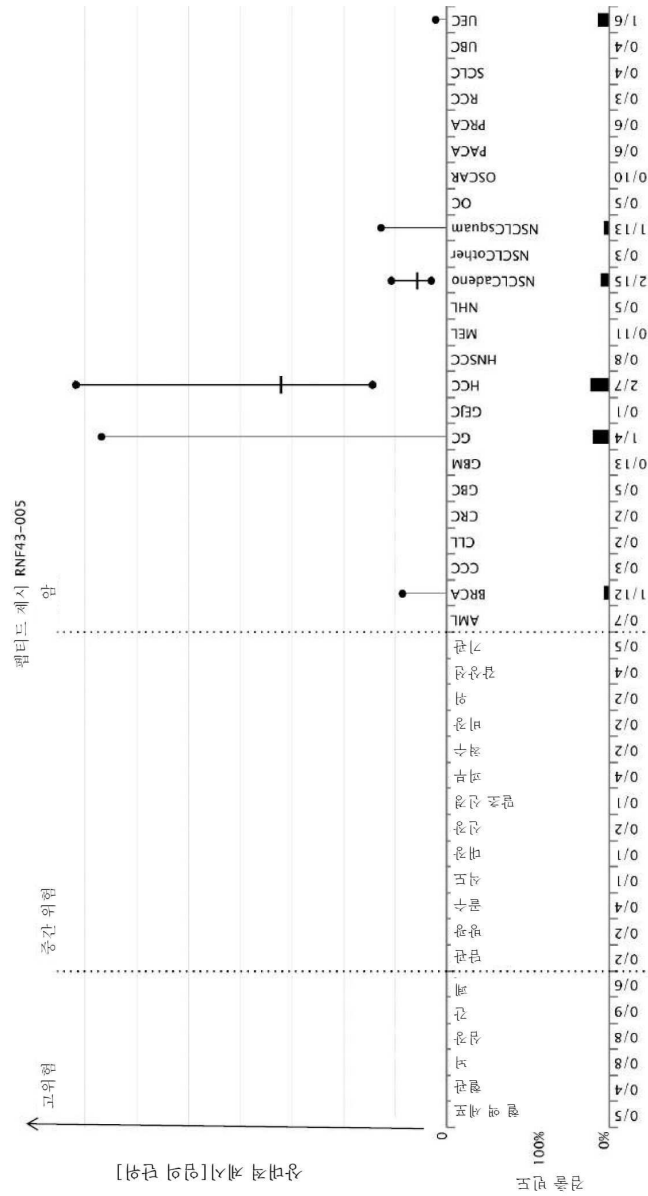
- [0507] Molina, J. R. et al., Mayo Clin Proc. **83** (2008): 584-594
- [0508] Morgan, R. A. et al., Science. **314** (2006): 126-129
- [0509] Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 3435-3443
- [0510] Mueller, L. N. et al., J Proteome Res. **7** (2008): 51-61
- [0511] Mueller, L. N. et al., Proteomics. **7** (2007): 3470-3480
- [0512] Mumberg, D. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. **96** (1999): 8633-8638
- [0513] Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (<http://CRANR-project.org/package=nlme>) (2015)
- [0514] Plebanski, M. et al., Eur J Immunol. **25** (1995): 1783-1787
- [0515] Porta, C. et al., Virology. **202** (1994): 949-955
- [0516] Rammensee, H. et al., Immunogenetics. **50** (1999): 213-219
- [0517] Rini, B. I. et al., Cancer. **107** (2006): 67-74
- [0518] Rock, K. L. et al., Science. **249** (1990): 918-921
- [0519] Rodenko, B. et al., Nat Protoc. **1** (2006): 1120-1132
- [0520] Saiki, R. K. et al., Science. **239** (1988): 487-491
- [0521] Schmitt, T. M. et al., Hum Gene Ther. **20** (2009): 1240-1248
- [0522] Scholten, K. B. et al., Clin Immunol. **119** (2006): 135-145
- [0523] Seeger, F. H. et al., Immunogenetics. **49** (1999): 571-576
- [0524] Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics.(1986)
- [0525] Silva, L. P. et al., Anal Chem. **85** (2013): 9536-9542
- [0526] Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 187-195
- [0527] Small, E. J. et al., J Clin Oncol. **24** (2006): 3089-3094
- [0528] Sturm, M. et al., BMC Bioinformatics. **9** (2008): 163
- [0529] Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. **62** (2005): 1755-1762
- [0530] Thakkar, J. P. et al., Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. **23** (2014): 1985-1996
- [0531] Tran, T. T. et al., Photochem Photobiol. **90** (2014): 1136-1143
- [0532] Walter, S. et al., J Immunol. **171** (2003): 4974-4978
- [0533] Walter, S. et al., Nat Med. **18** (2012): 1254-1261
- [0534] Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423
- [0535] World Cancer Report (2014)
- [0536] Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577
- [0537] Zufferey, R. et al., J Virol. **73** (1999): 2886-2892

도면1b

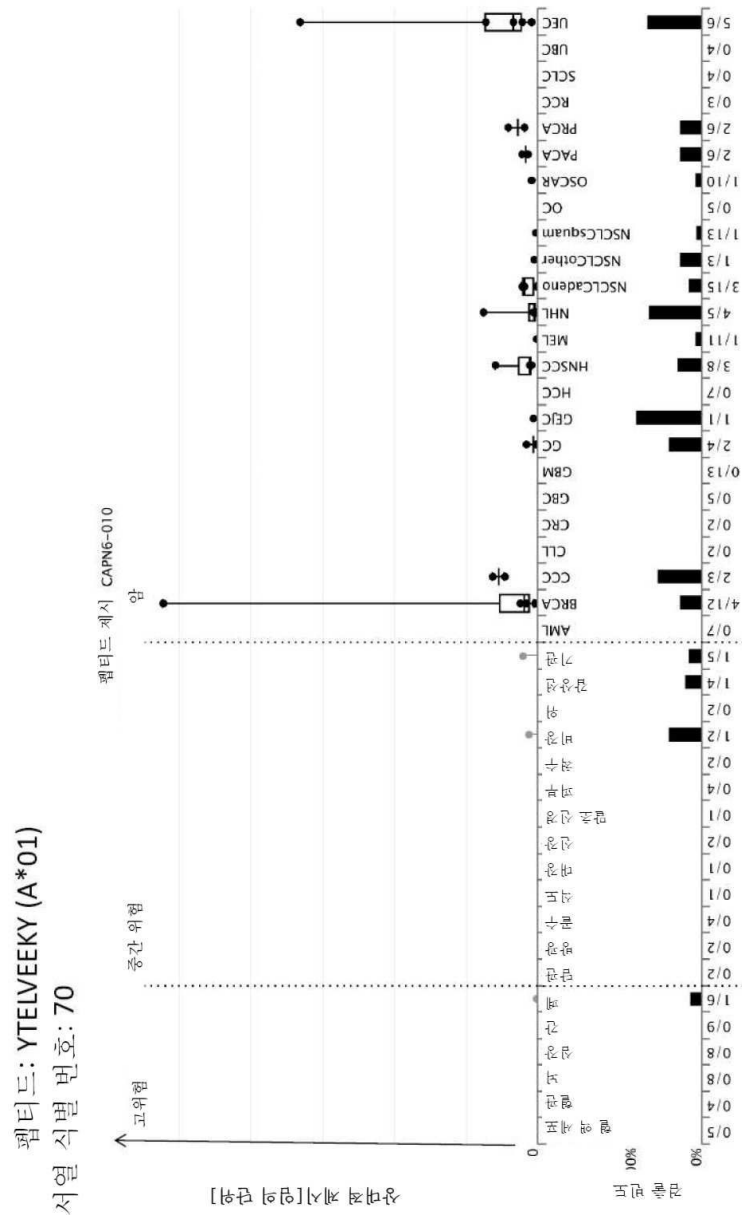


도면1d

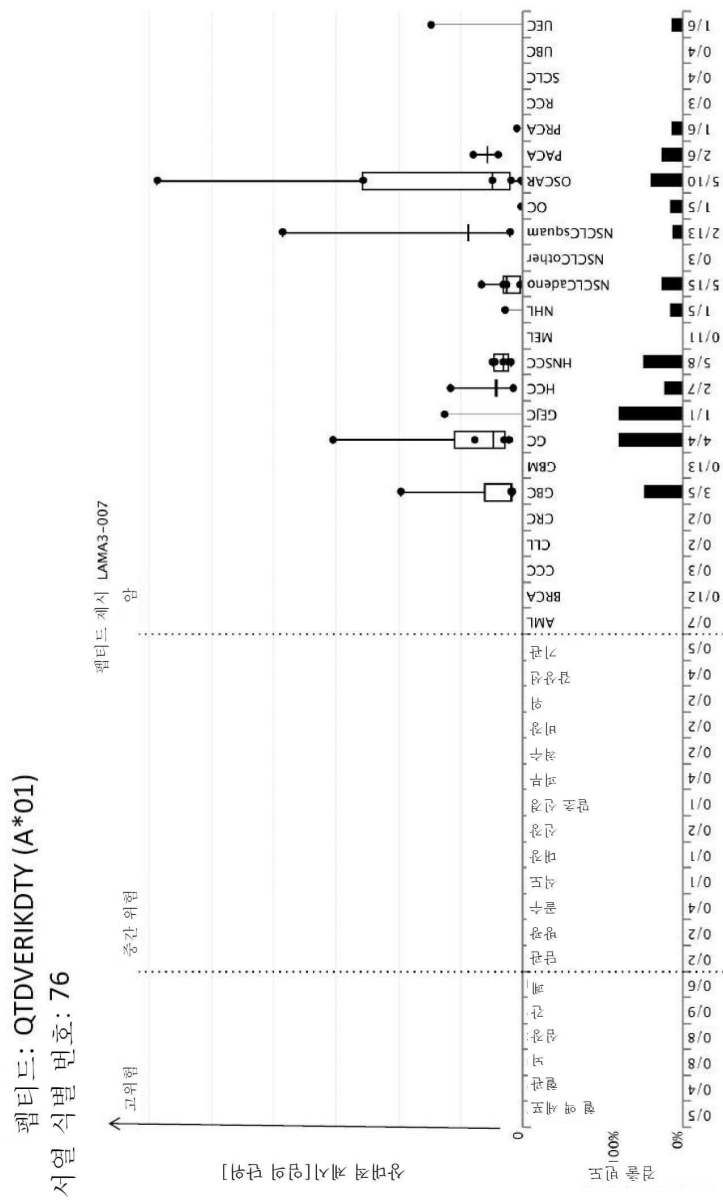
팜티드: SSDFDPLVY (A*01)
서열 식별 번호: 65



도면1e

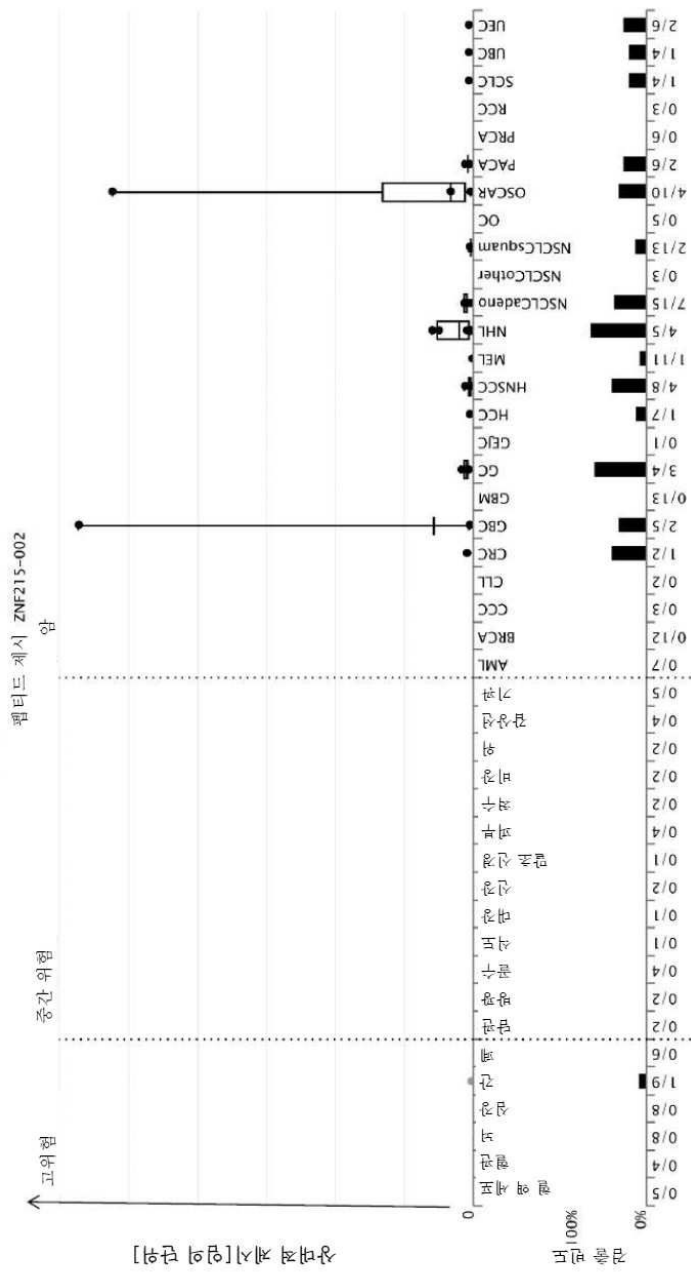


도면1f

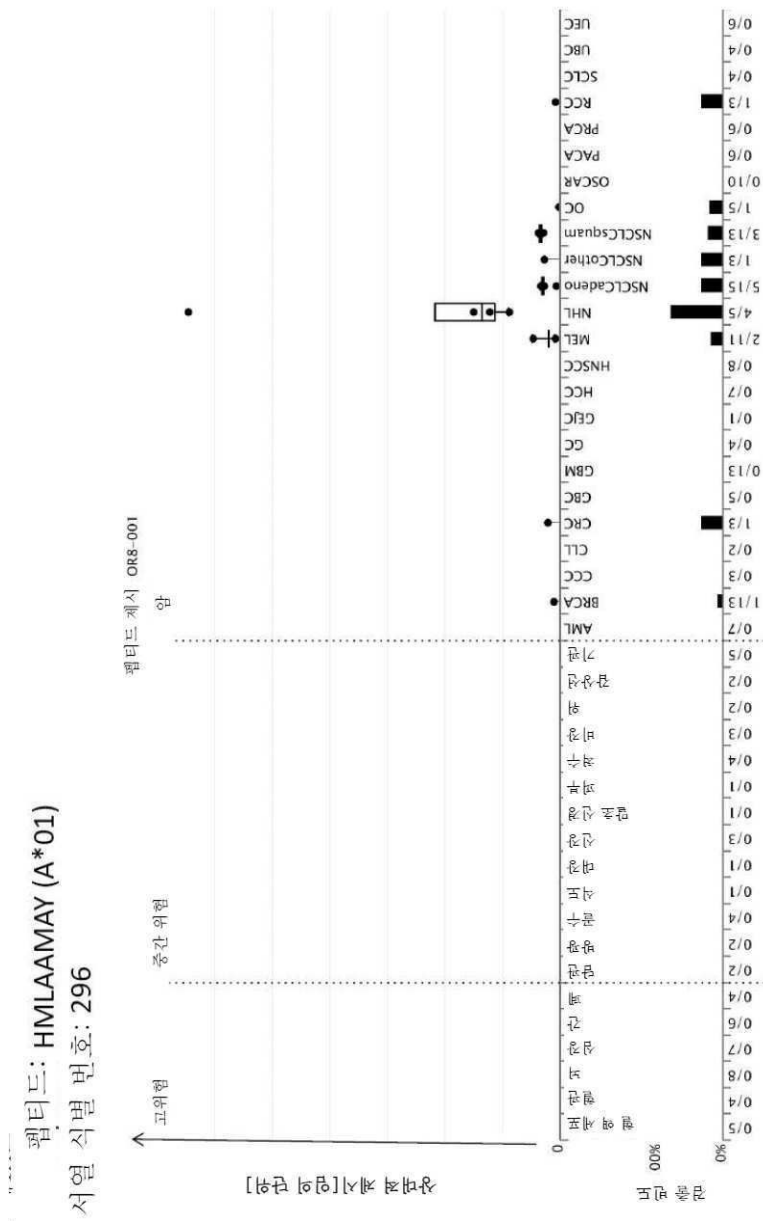


도면1g

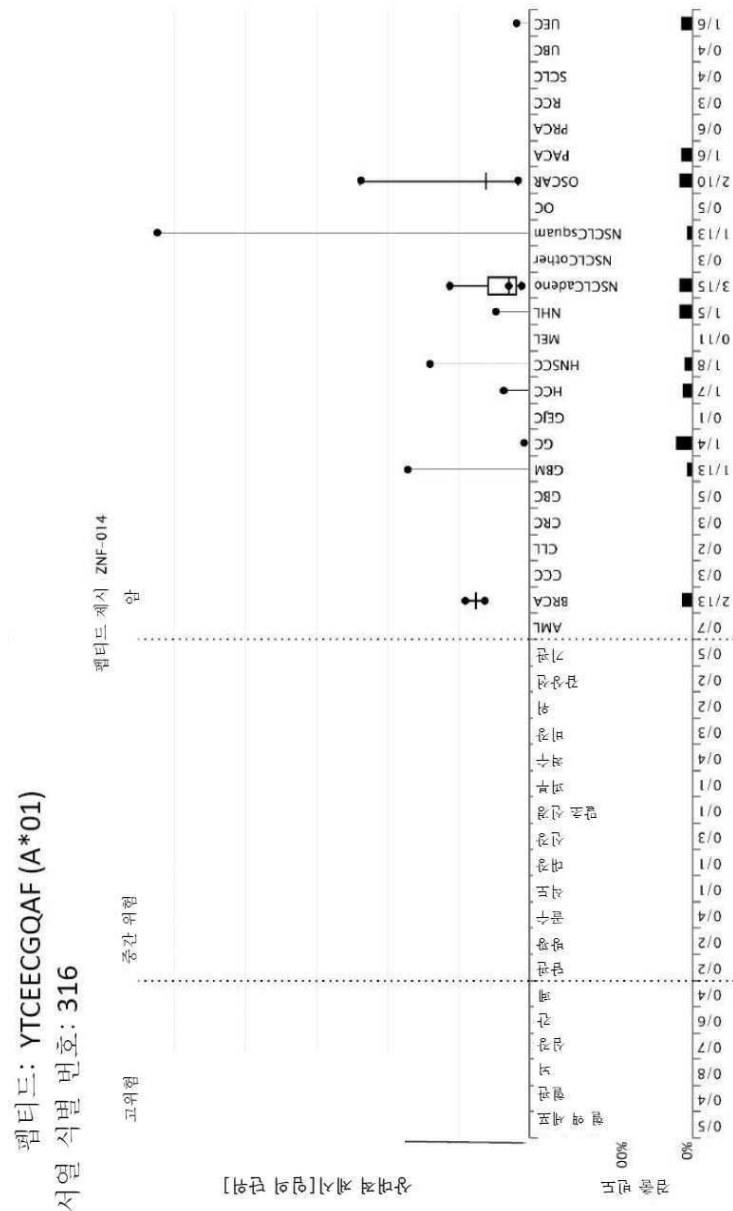
패티드: QLDSAVKNLY (A*01)
서열 식별 번호: 78



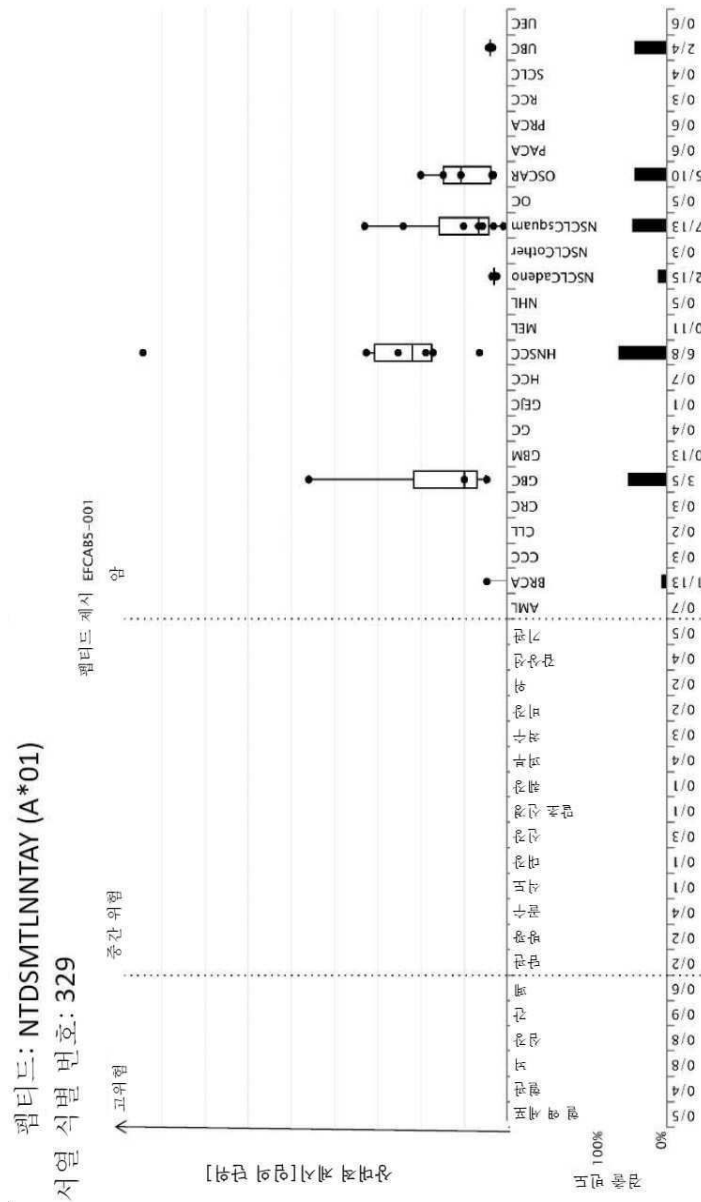
도면 1h



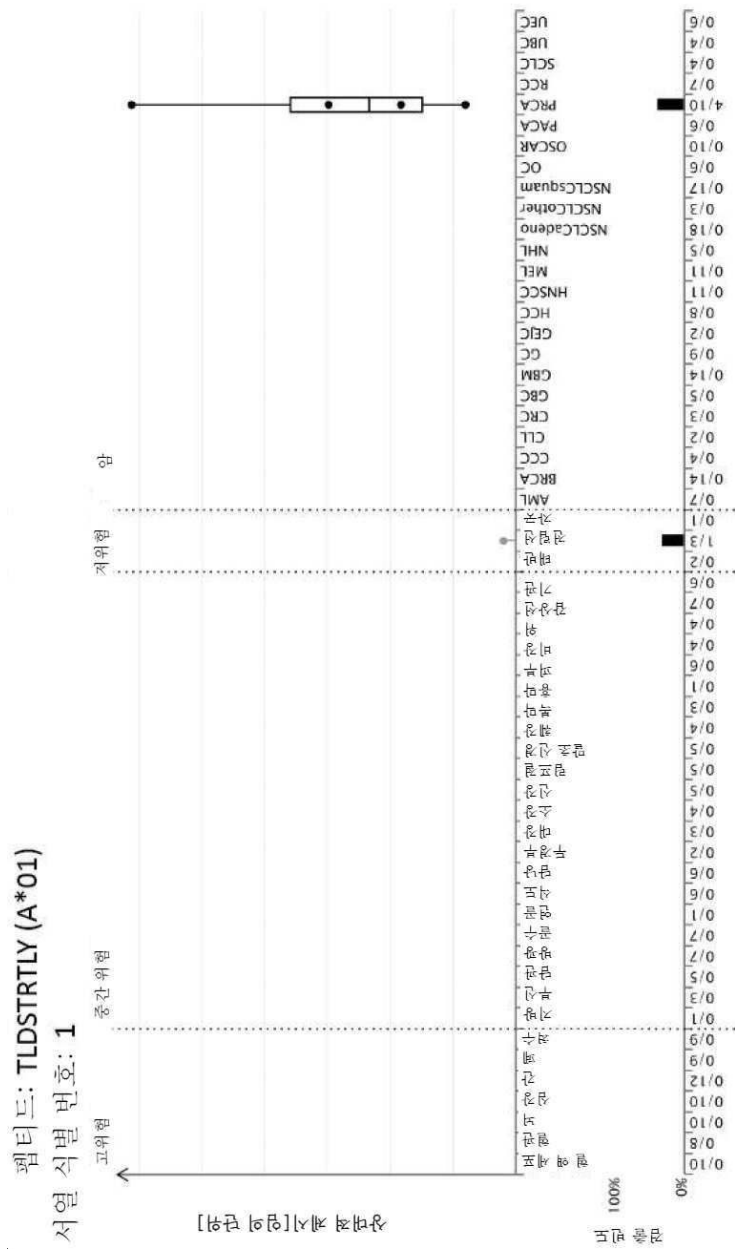
도면1i



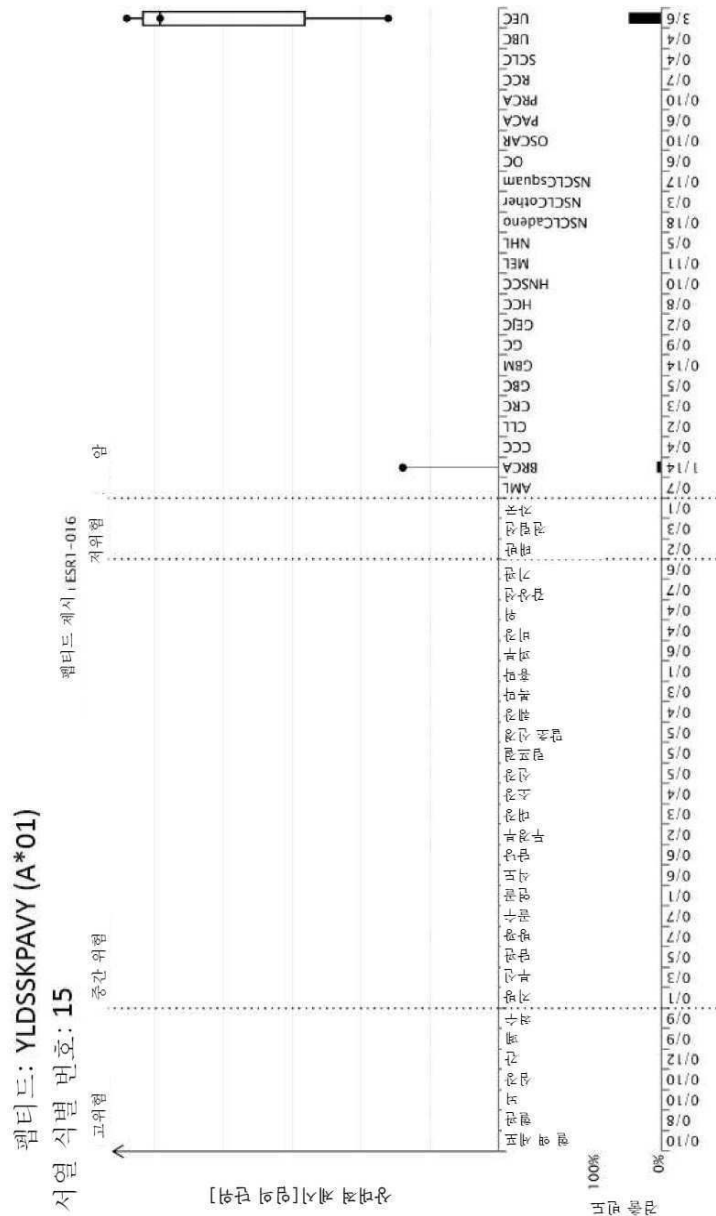
도면1j



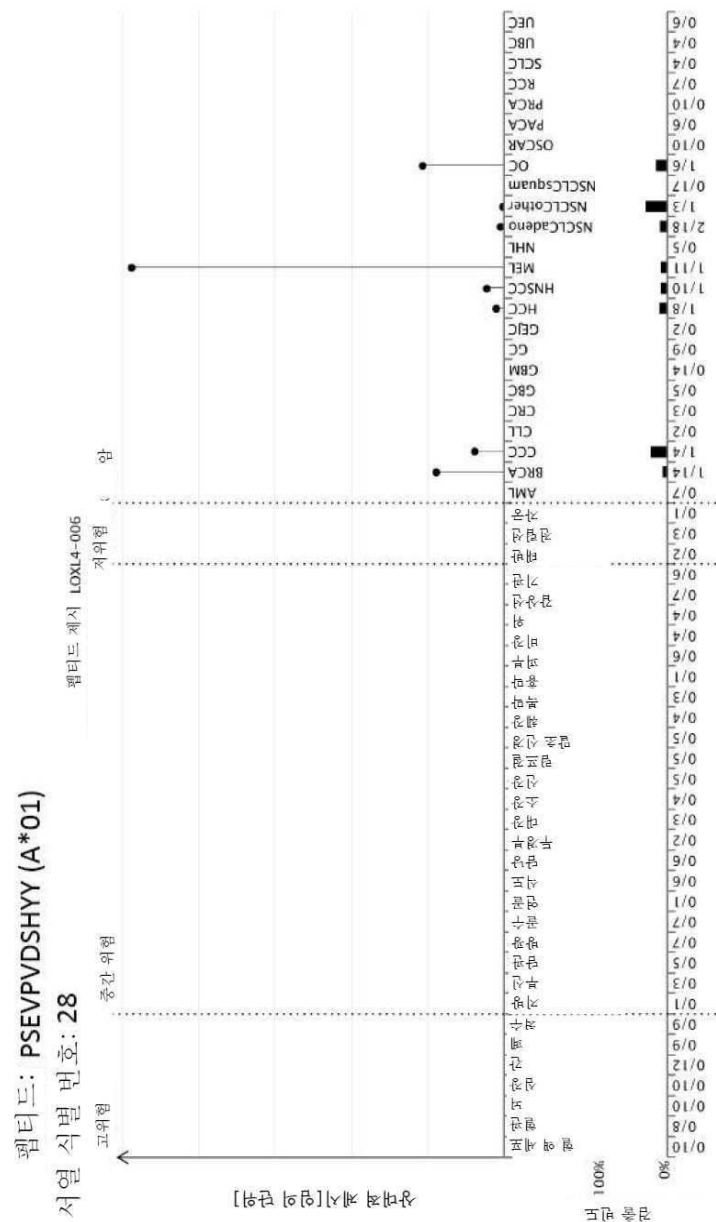
도면 1k



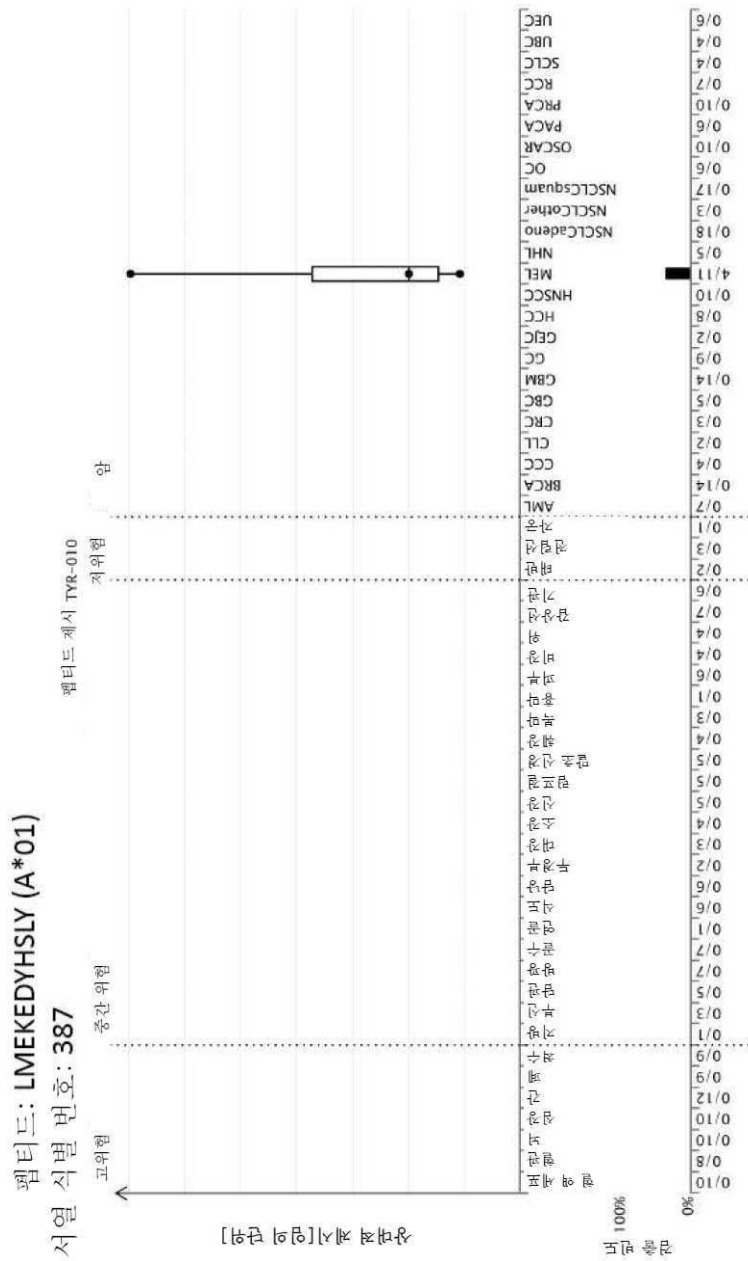
도면11



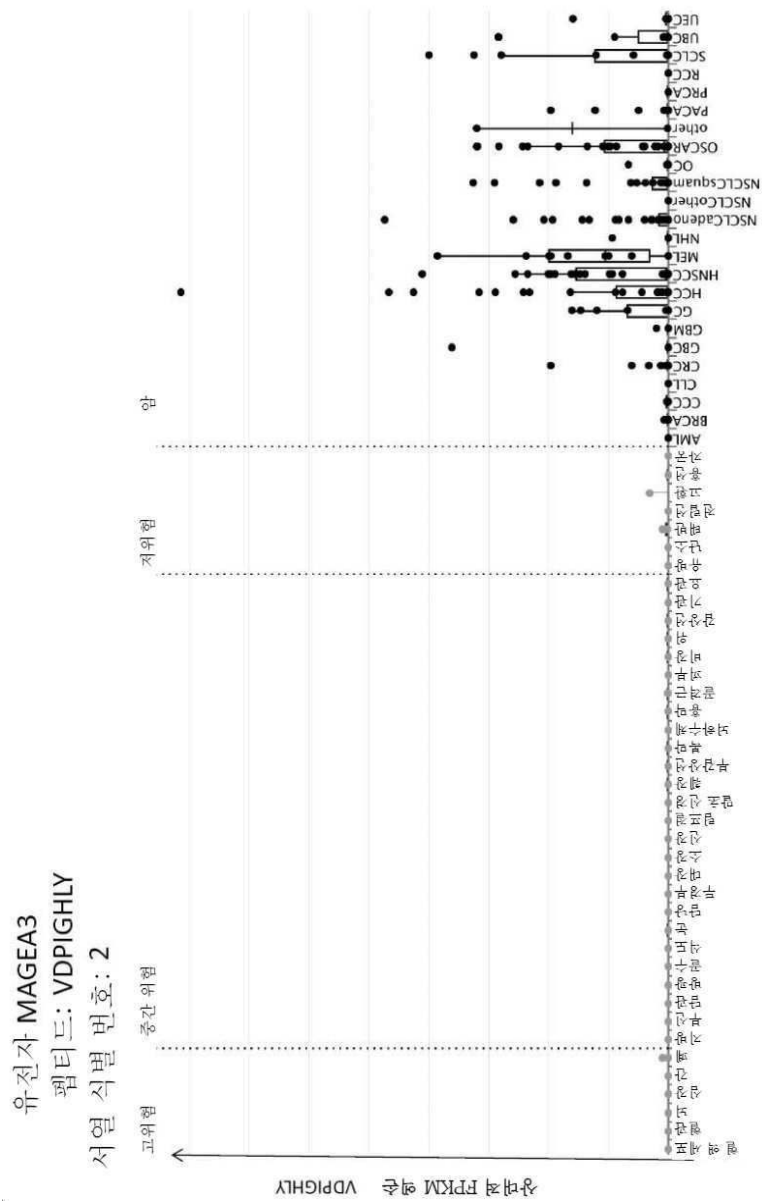
도면 1m



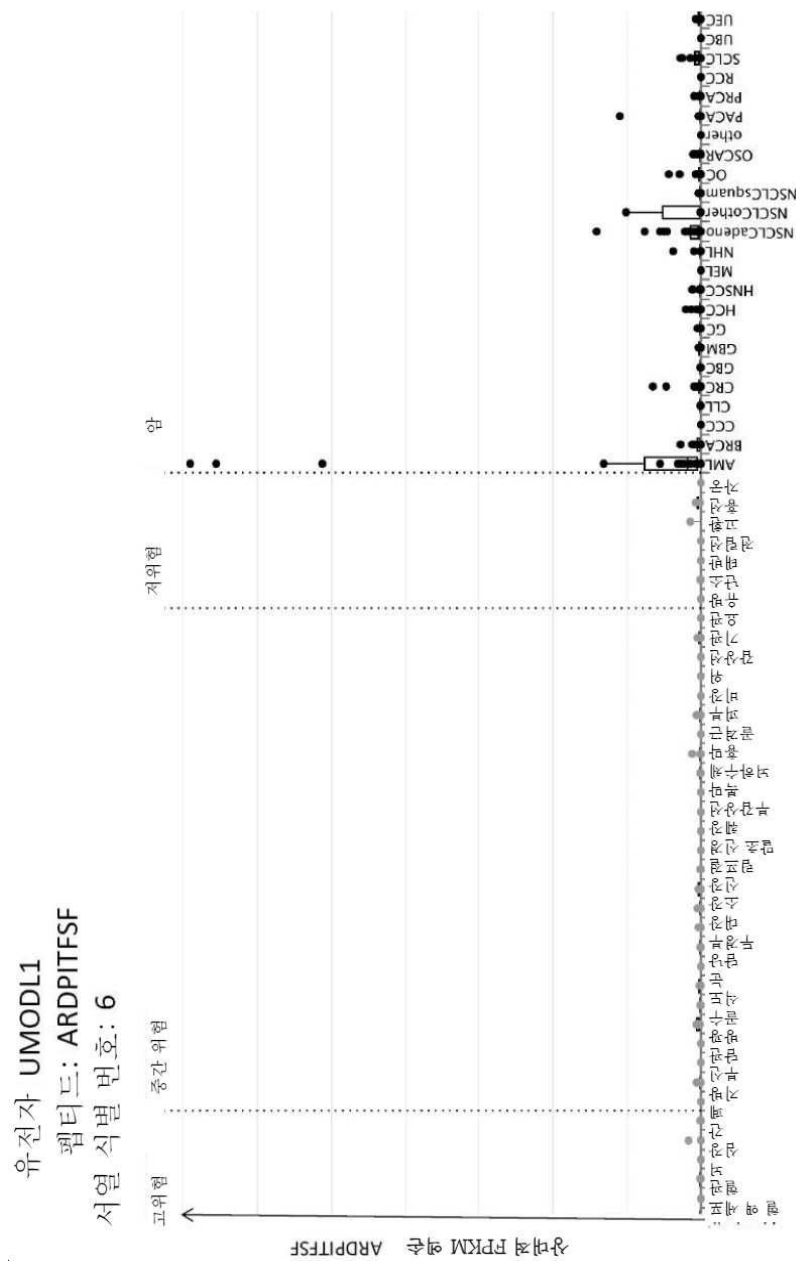
도면 1n



도면 2a

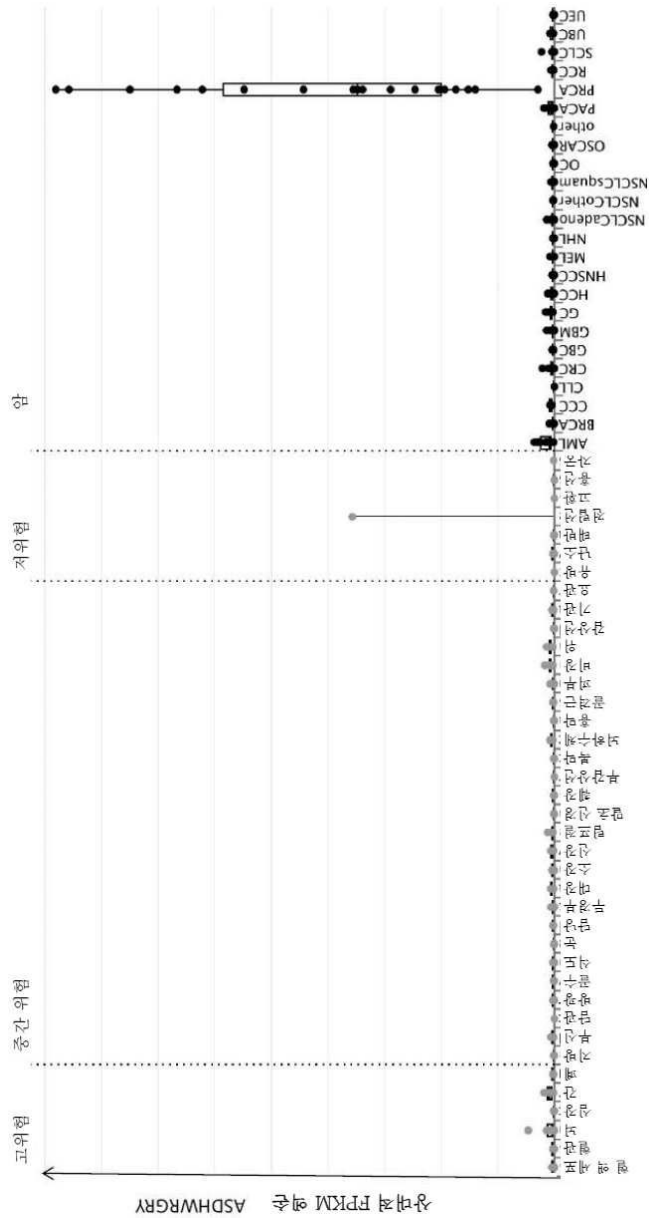


도면2c

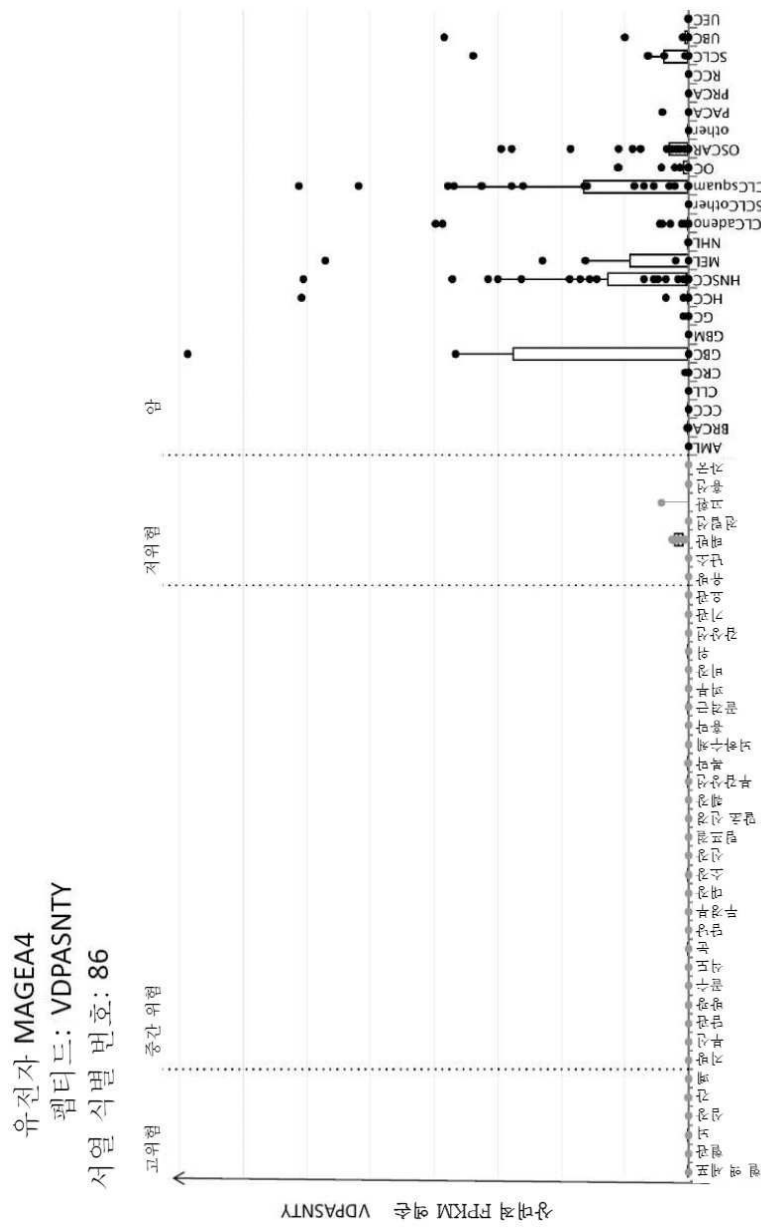


도면2d

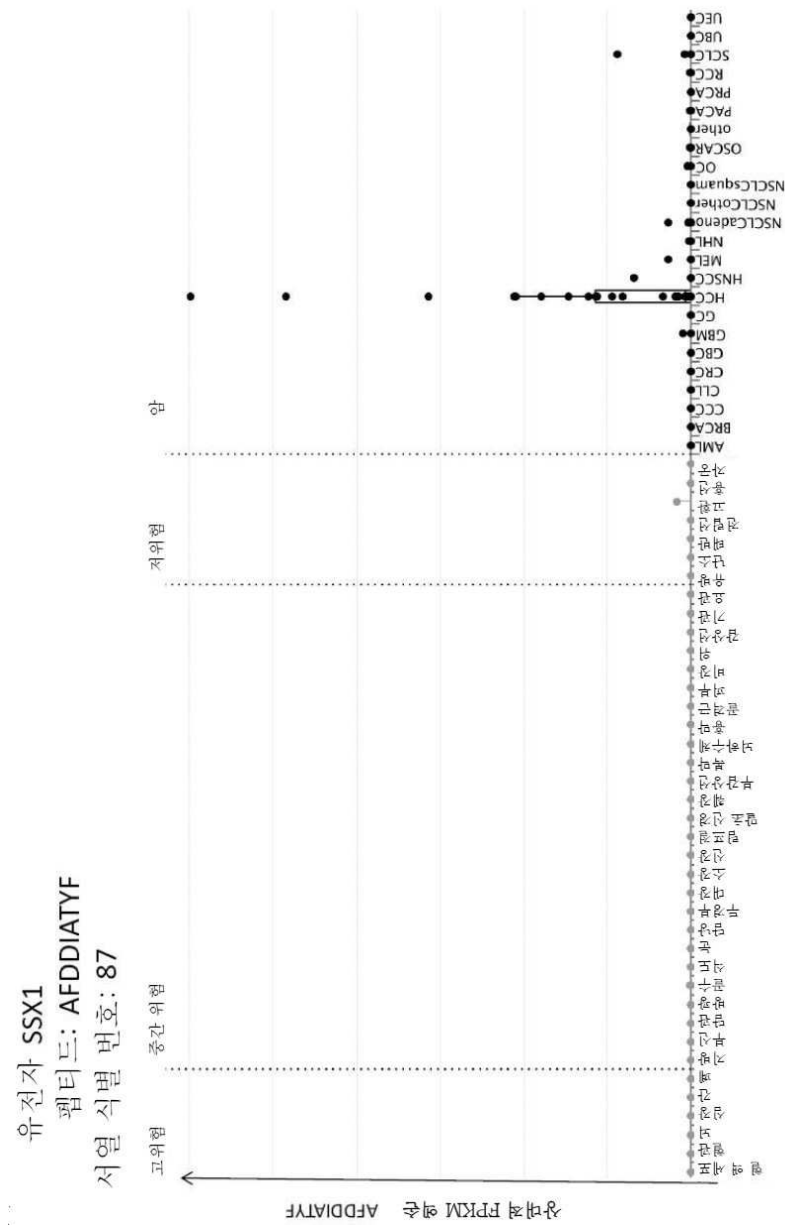
유전자 SLC45A3
 펩티드: ASDHWRGRY
 서열 식별 번호: 11



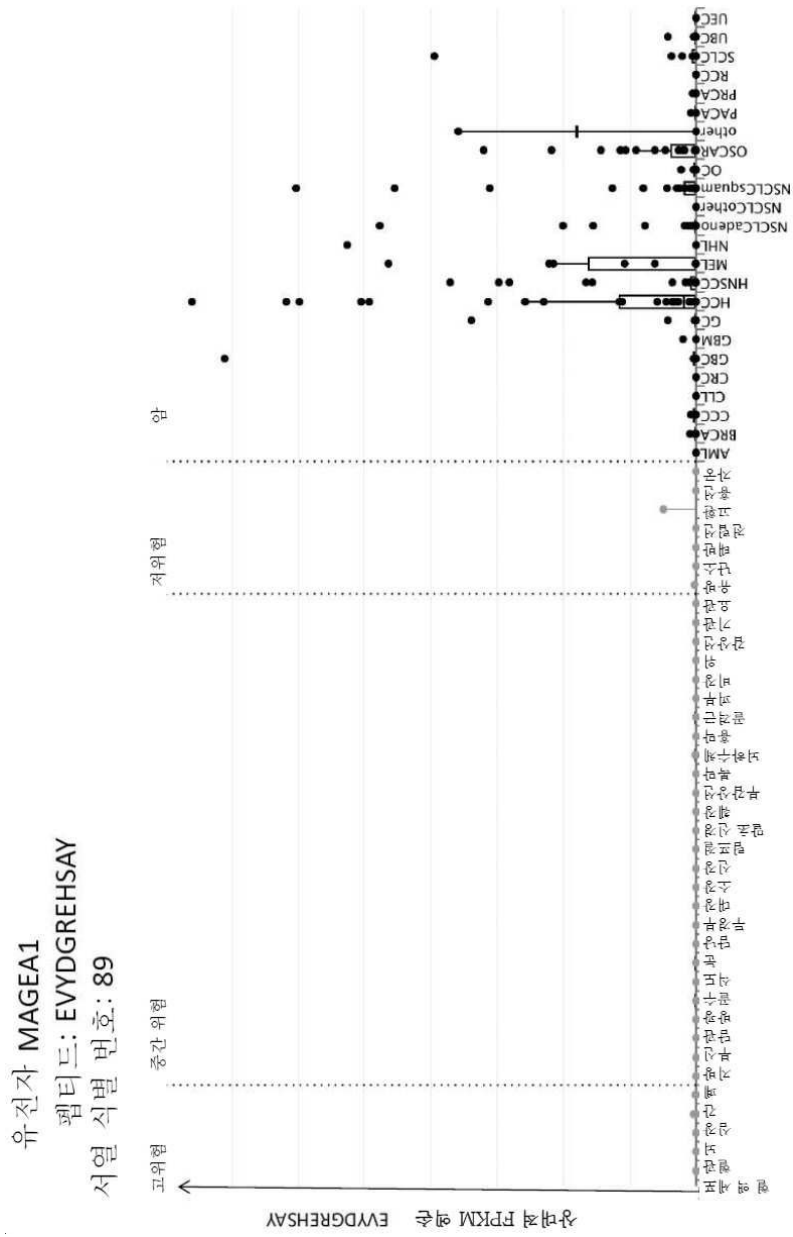
도면 2e



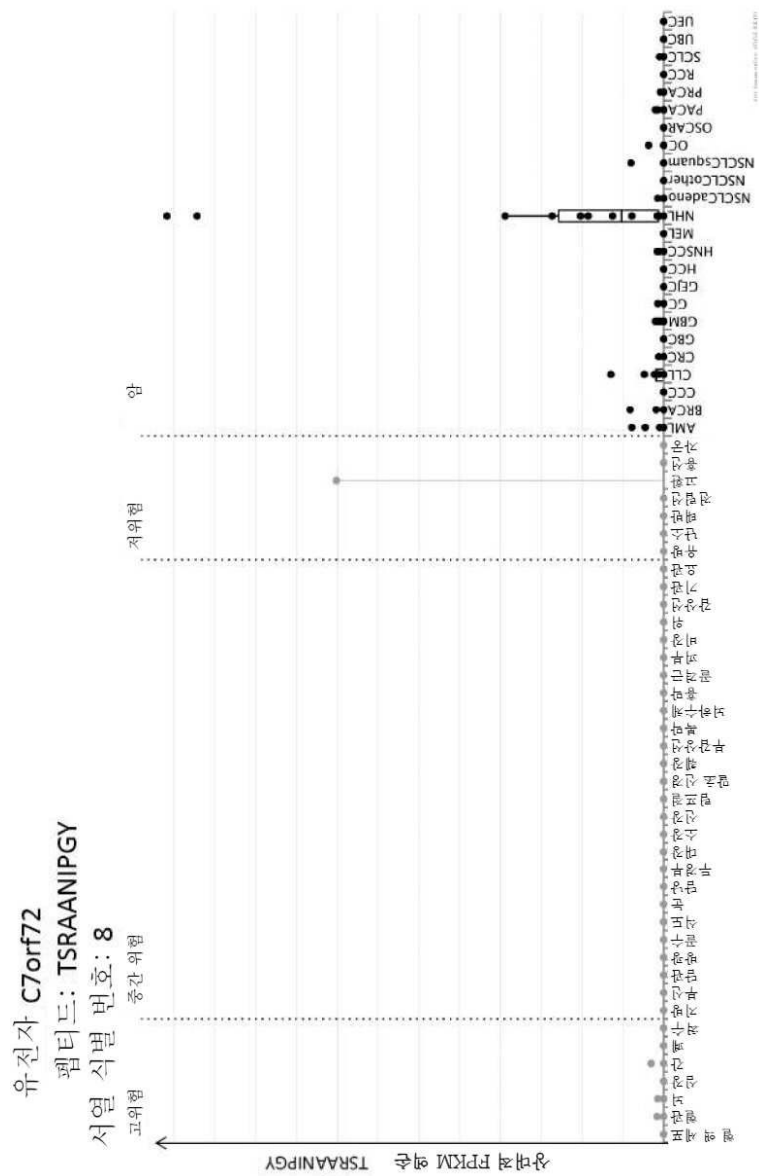
도면2f



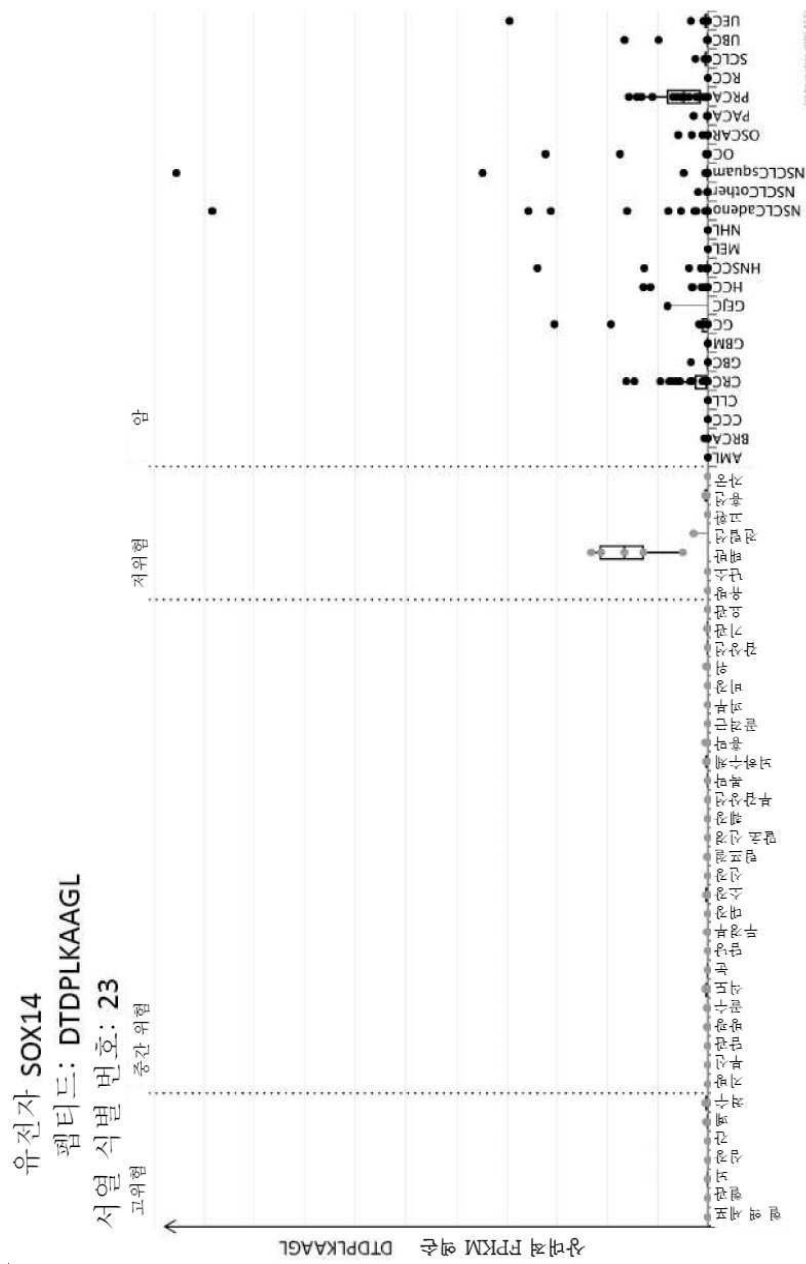
도면2g



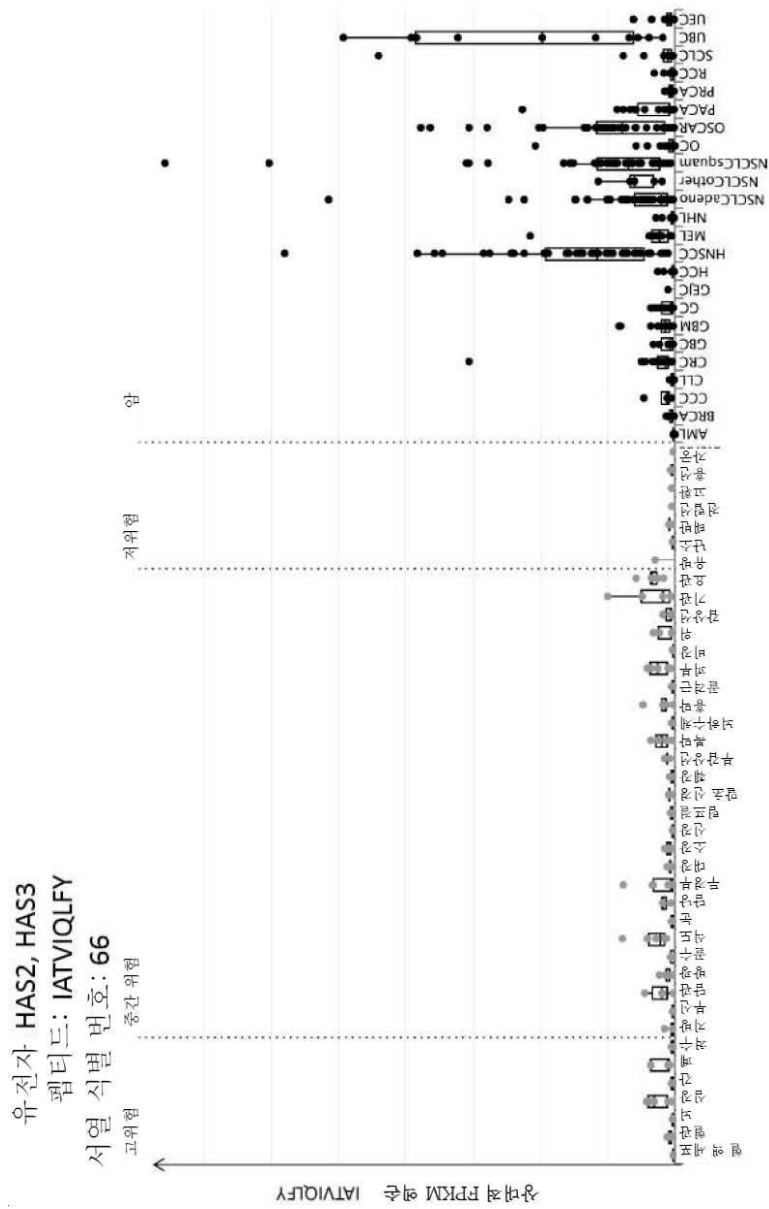
도면2j



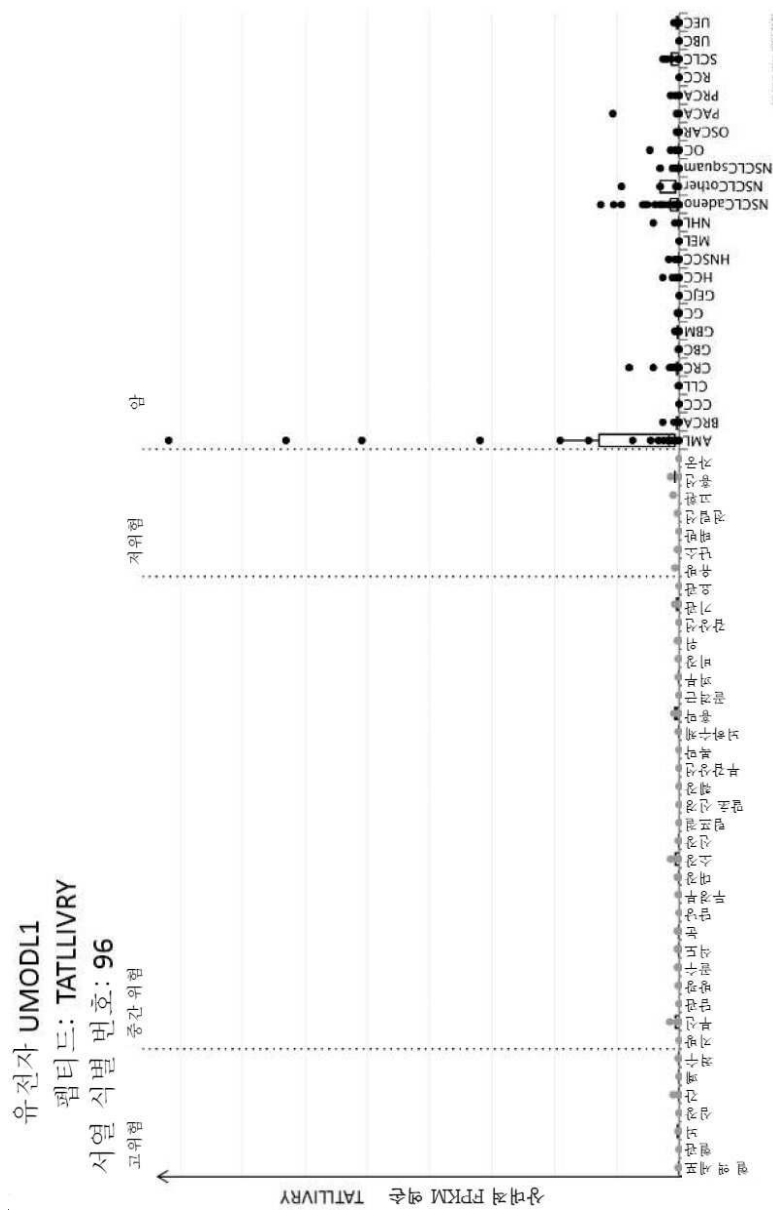
도면21



도면 2m

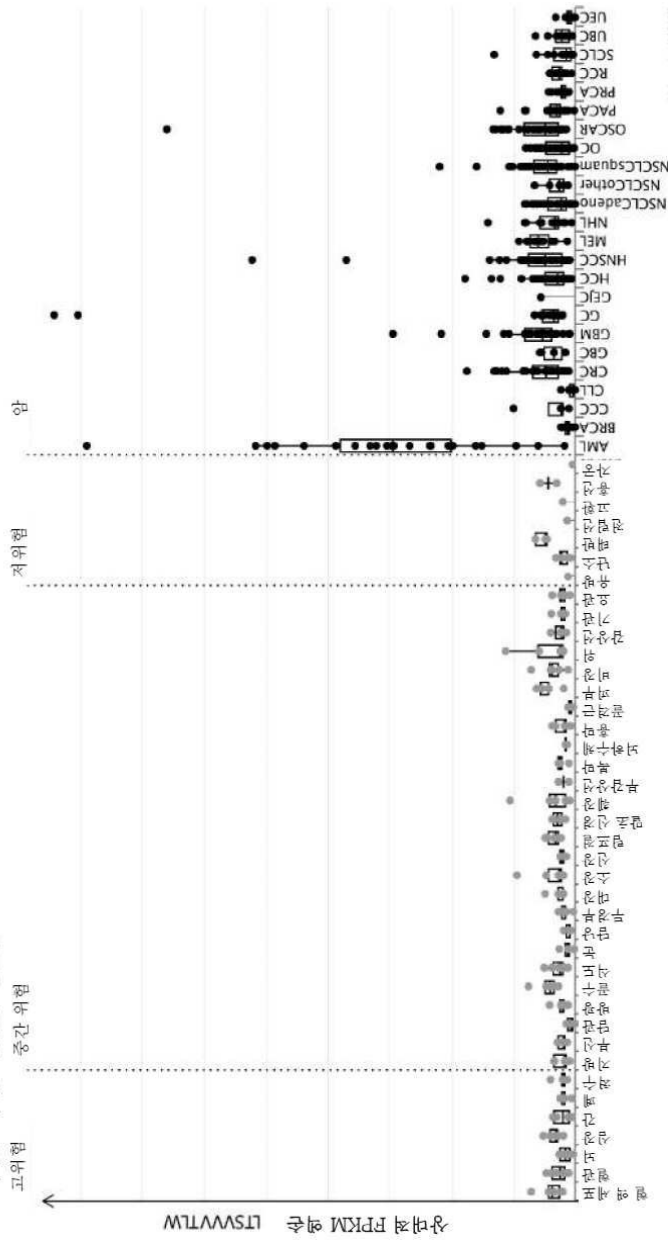


도면 20

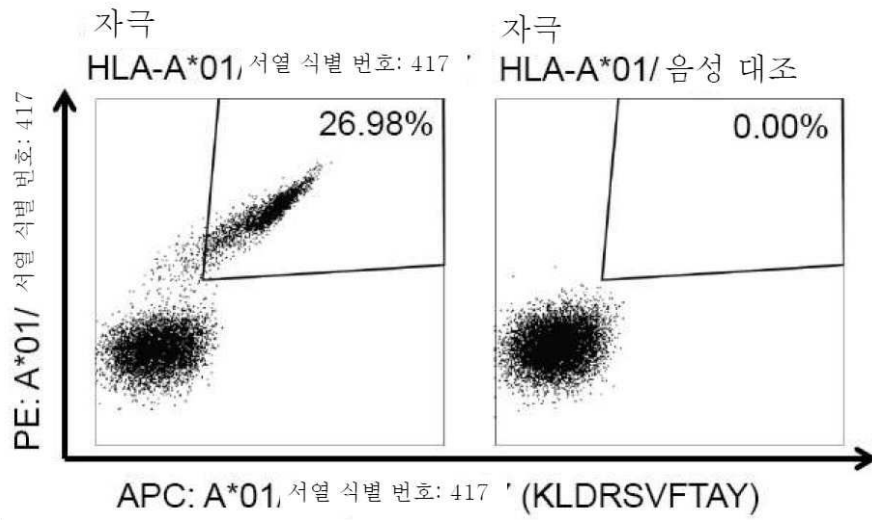


도면2p

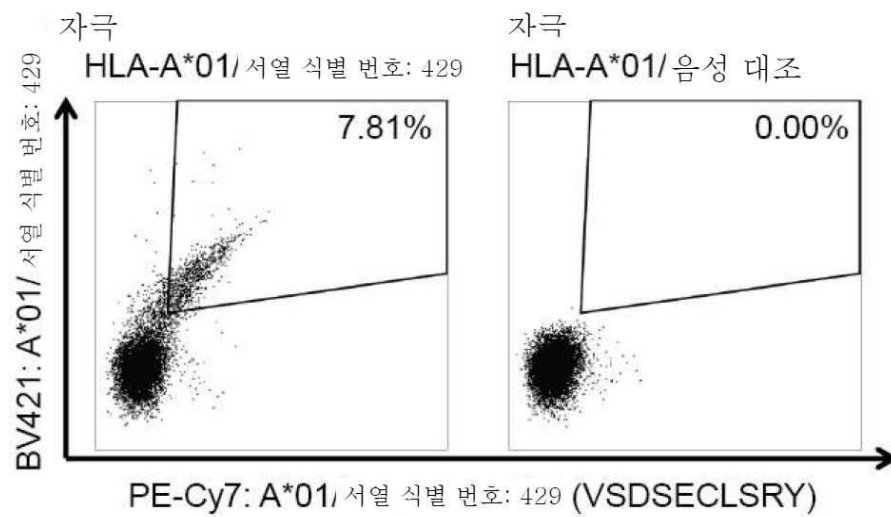
유전자 CDK6
 펩티드: LTSWVTLW
 서열 식별 번호: 374



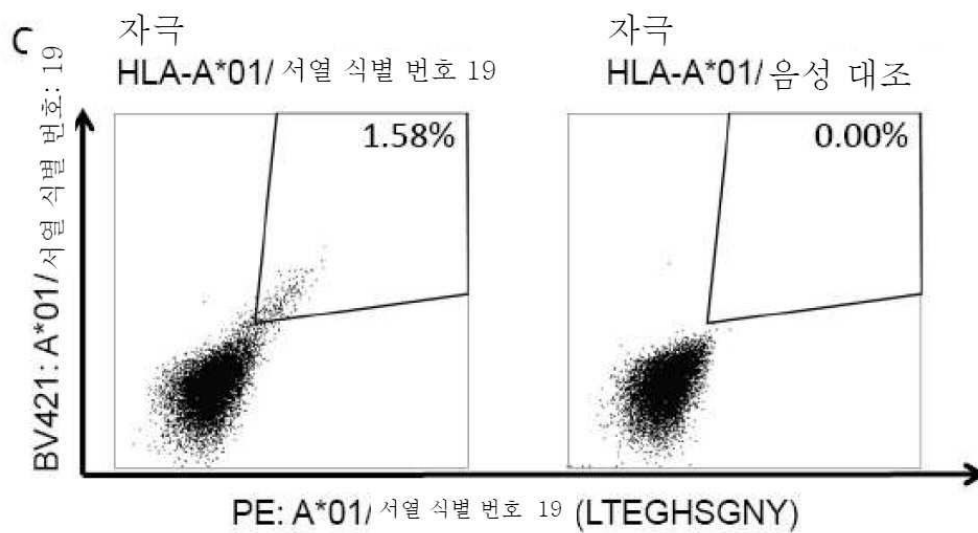
도면3a



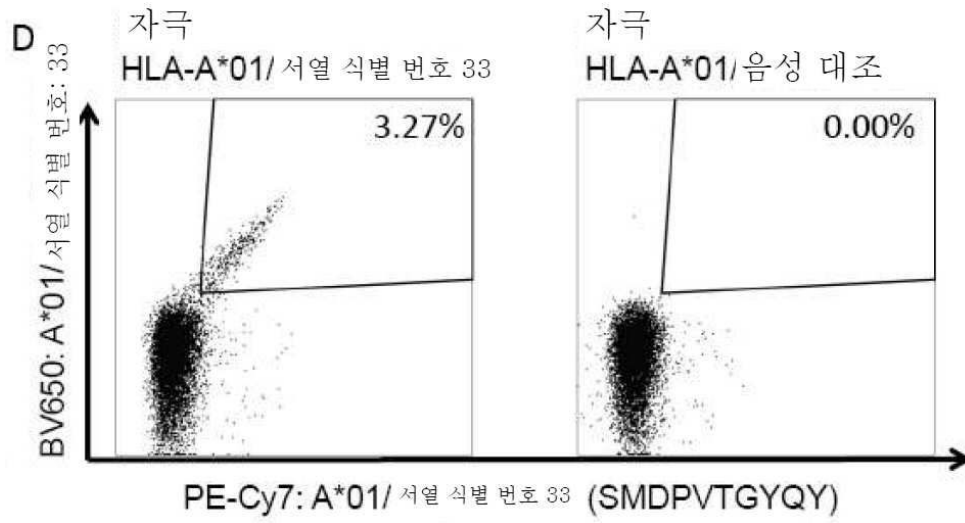
도면3b



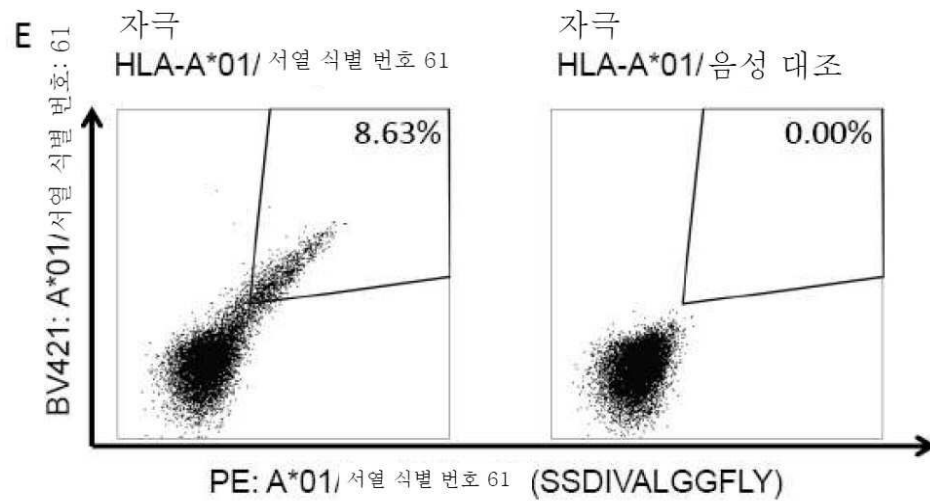
도면3c



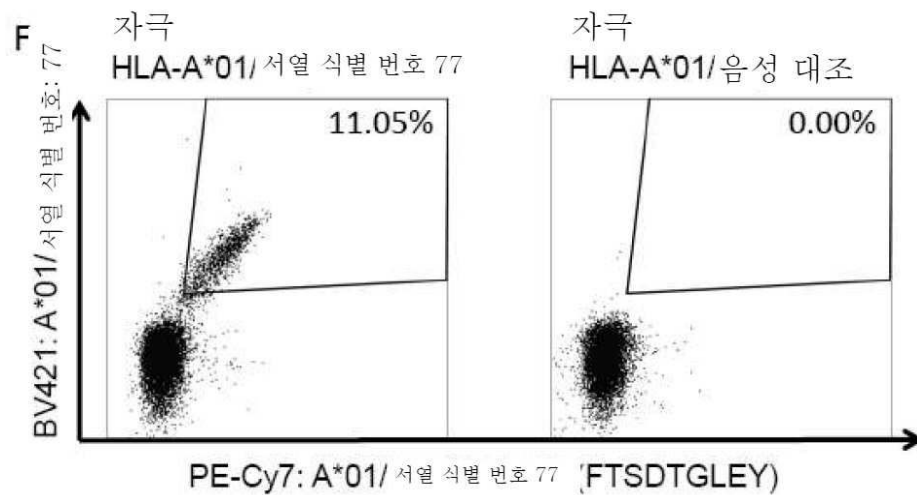
도면3d



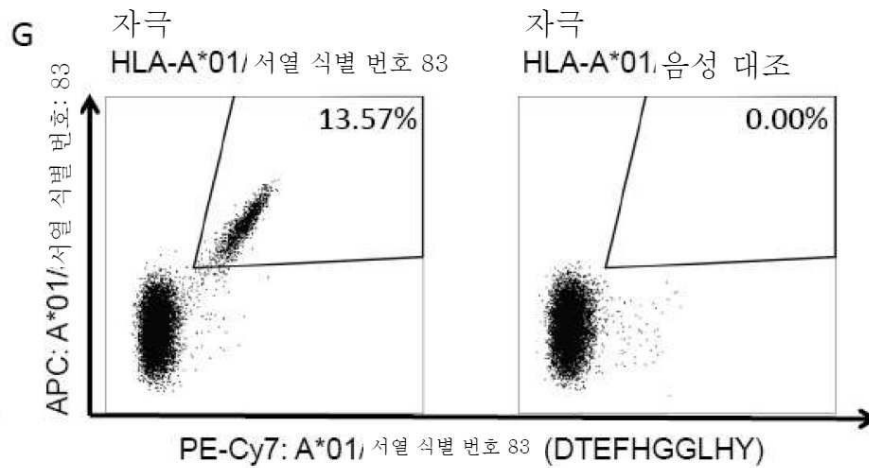
도면3e



도면3f



도면3g



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Immatics Biotechnologies GmbH

<120> Immunotherapy with A*01 restricted peptides and combination of peptides against cancers and related methods

<130> IPA210109-DE

<150> DE 10 2018 122 900.3

<151> 2018-09-18

<150> US 62/732,863

<151> 2018-09-18

<160> 434

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Thr Leu Asp Ser Thr Arg Thr Leu Tyr

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr

1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Phe Gly Thr Thr Pro Ala Ala Glu Tyr Phe

1 5 10

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Arg Ile Glu Ala Ile Arg Ala Glu Tyr

1 5

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Phe Met Val Ile Ala Gly Met Pro Leu Phe Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Arg Asp Pro Ile Thr Phe Ser Phe

1 5

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Ser Asp Asp Val Arg Ile Glu Val Gly Leu Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Thr Ser Arg Ala Ala Asn Ile Pro Gly Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Gln Leu Asp Ser Thr Leu Asp Ser Tyr

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Val Ser Glu Arg Thr Gly Ile Ser Tyr

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Ser Asp His Trp Arg Gly Arg Tyr

1 5

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Tyr Thr Asp Phe Val Gly Glu Gly Leu Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Asn Thr His Thr Gly Thr Arg Pro Tyr

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Ser Glu Lys Glu Pro Gly Gln Gln Tyr

1 5 10

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Tyr Leu Asp Ser Ser Lys Pro Ala Val Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Asn Ser Asp Ile Ser Ile Pro Glu Tyr

1 5
 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 Ala Ser Trp Ala Val Leu Cys Tyr Tyr

1 5
 <210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Arg Ser Asp Pro Val Ser Leu Arg Tyr

1 5
 <210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 Leu Thr Glu Gly His Ser Gly Asn Tyr

1 5
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 20
 Leu Ser Ala Gln His Arg Met Leu Ala

1 5
 <210> 21
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 21

Leu Ser Ser Ala Val Asn Pro Ile Ile Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Val Met Asp Thr Leu Gly Leu Phe Tyr

1 5

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Asp Thr Asp Pro Leu Lys Ala Ala Gly Leu

1 5 10

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Asn Leu Asp His Tyr Thr Asn Ala Tyr

1 5

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ala Met Met Gln Glu Ala Gln Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Ser Asp Asp Phe Arg Ser Lys Tyr

1 5

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Pro Ser Glu Val Pro Val Asp Ser His Tyr

1 5 10

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Pro Ser Glu Val Pro Val Asp Ser His Tyr Tyr

1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Thr Leu Glu Asp Leu Asp Asn Leu Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Val Thr Thr Asp Lys Pro Arg Ala Tyr

1 5

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Val Ser Asp His Leu Gln Ala Gly Met Leu Gly Gln Tyr

1 5 10

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Gly Thr Asp Lys Gln Asn Ser Thr Leu Arg Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Ser Met Asp Pro Val Thr Gly Tyr Gln Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Ser Ser Trp Ser Ala Gly Glu Asn Asp Ser Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Ser Trp Ser Ala Gly Glu Asn Asp Ser Tyr Ser

1 5 10

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Thr Ser Thr Glu Gln Ser Leu Tyr

1 5

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Thr Ser Thr Glu Gln Ser Leu Tyr Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Lys Ser Trp Ser Gln Ser Ser Ser Leu Met Tyr

1 5 10

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Trp Ser Gln Ser Ser Ser Leu Met Tyr

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Thr Ser Asp Gln Leu Gly Tyr Ser Tyr

1 5
 <210> 41
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41
 His Ser Asp Leu Leu Glu Asp Ser Lys Tyr

1 5 10
 <210> 42
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 42

Ala Ser Asp Val Asp Thr Leu Leu Lys

1 5
 <210> 43
 <211> 11

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 43

Glu Thr Glu Pro Glu Arg His Leu Gly Ser Tyr

1 5 10
 <210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 44

Ile Pro Ser Phe Asn Glu Met Val Tyr

1 5
 <210> 45
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 45

Asn Leu Asp Pro Asn Lys Ile Tyr

1 5

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Arg Ser Asp Pro Gly Gly Gly Gly Leu Ala Tyr Ala Ala Tyr

1 5 10

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Trp Ser Asp Gly Val Pro Leu Leu Tyr

1 5

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Phe Thr Thr Gln Asp Glu Leu Leu Val Tyr

1 5 10

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Gly Ser Phe Ser Ile Gln His Thr Tyr

1 5

<210

> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Ile Thr Asp Glu Asp Glu Asp Met Leu Ser Tyr

1 5 10

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Ser Thr Glu Glu Arg Arg Leu Asn Tyr

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Thr Thr Gln Asp Glu Leu Leu Val Tyr

1 5

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Tyr Leu Glu Asp Arg Pro Leu Ser Gln Leu Tyr

1 5 10

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Glu Val Asp Ile His Thr Ile His Tyr

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Ala Thr Glu Gly Asp Val Leu Asn Tyr

1 5

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Val Thr Glu Tyr Ala Glu Glu Ile Tyr Gln Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Ala Ser Asp Pro Ala Ser Ser Thr Ser Cys Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Tyr Leu Glu Asn Ser Ala Ser Trp Tyr

1 5

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Phe Thr Asp Ser Gln Gly Asn Asp Ile Lys

1 5 10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Thr Glu Lys Phe Leu Phe Leu Tyr

1 5

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Ser Ser Asp Ile Val Ala Leu Gly Gly Phe Leu Tyr

1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Val Ser Glu Leu Val Thr Thr Gly His Tyr

1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 63

Thr Ser Glu Ile Ser Gln Asn Ala Leu Met Tyr

1 5 10

<210> 64

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Thr Ser Glu Ile Ser Gln Asn Ala Leu Met Tyr Tyr

1 5 10

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Ser Ser Asp Phe Asp Pro Leu Val Tyr

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Ile Ala Thr Val Ile Gln Leu Phe Tyr

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Asn Val Asp Gln Asn Gln Asn Ser Tyr

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Gln Ser Leu Pro Glu Phe Gly Leu Thr Tyr

1 5 10

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Gln Ser Leu Pro Glu Phe Gly Leu Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Tyr Thr Glu Leu Val Glu Glu Lys Tyr

1 5

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Leu Thr Asp Ser Thr Thr Arg Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Val Thr Asp Ser Thr Thr Lys Ile Ala Tyr

1 5 10

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Ser Thr Asp Ser Ala Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Glu Met Glu Gln Gln Ser Gln Glu Tyr

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Phe Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Ala Tyr

1 5

<210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Gln Thr Asp Val Glu Arg Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Phe Thr Ser Asp Thr Gly Leu Glu Tyr

1 5

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Gln Leu Asp Ser Ala Val Lys Asn Leu Tyr

1 5 10

<210> 79

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Ala Ser Asp Leu Glu Pro Arg Glu Leu Leu Ser Tyr

1 5 10

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 80

Glu Leu Cys Pro Leu Pro Gly Thr Ser Ala Tyr

1 5 10

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Tyr Ser Asp Leu His Thr Pro Gly Arg Tyr

1 5 10

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Leu Thr Glu Lys Ser His Ile Arg Tyr

1 5

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Asp Thr Glu Phe His Gly Gly Leu His Tyr

1 5 10

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Glu Ser Glu Met Ile Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Ser Ser Asp Asn Tyr Glu His Trp Leu Tyr

1 5 10

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Val Asp Pro Ala Ser Asn Thr Tyr

1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Ala Phe Asp Asp Ile Ala Thr Tyr Phe

1 5

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Lys Glu Val Asp Pro Ala Gly His Ser Tyr Ile

1 5 10

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Glu Val Tyr Asp Gly Arg Glu His Ser Ala Tyr

1 5 10

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Tyr Glu Asp His Phe Pro Leu Leu Phe

1 5

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Cys Leu Val Leu Val Ile Val Leu Leu Tyr

1 5 10

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Thr Thr Asp Asp Thr Thr Ala Met Ala Ser Ala Ser

1 5 10

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

His Leu Lys Ile Leu Ser Pro Ile Tyr

1 5

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Lys Pro Ser Ala Val Lys Asp Ser Ile Tyr

1 5 10

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Ser Ser Asp Pro Lys Ala Val Met Phe

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Thr Ala Thr Leu Leu Ile Val Arg Tyr

1 5

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Phe Pro Ala Pro Pro Ala His Trp Phe Tyr

1 5 10

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Asn Phe Ser Asp Leu Val Phe Thr Tyr

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Ala Ala Asp Ser Asn Pro Ser Glu Leu

1 5

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Thr Thr Ser Ser Ala Ile Ser Trp Ile Leu Tyr

1 5 10

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Ser Ile Thr Asp Val Asp Phe Ile Tyr

1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Ser Thr Ile Arg Gly Glu Leu Phe Phe

1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Ile Thr Asp Thr Leu Ile His Leu Met

1 5

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Ile Thr Asp Thr Leu Ile His Leu

1 5

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Val Val Phe Asp Lys Ser Asp Leu Ala Lys Tyr

1 5 10

<210> 106

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Glu Val Val Glu Gly Lys Glu Trp Gly Ser Phe Tyr

1 5 10

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Thr Thr Glu Asn Ser Gly Asn Tyr Tyr

1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Asn Ser Asn Leu Lys Phe Leu Glu Val

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Ile Ser Glu Asp Lys Ser Ile Ser Phe

1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Ile Gly Asp Lys Val Asp Ala Val Tyr

1 5

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Thr Pro Ile Pro Phe Asp Lys Ile Leu Tyr

1 5 10

<210> 112

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Lys Ala Ser Ser Val Ser Ala Glu Asp Gly Tyr

1 5 10

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Ala Ser Cys Arg Ser Ser Ala Glu Tyr

1 5

<210> 114

<211> 11

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 114

Ala Val Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ser Leu Tyr

1 5 10

<210> 115

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Asn Glu Ile Asp Ile His Ser Ile Tyr Phe Tyr

1 5 10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Arg Ser Asp Ile Gly Glu Phe Glu Trp

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Ser Pro Ala Lys Gln Phe Asn Ile Tyr

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Leu Thr Trp Ala His Ser Ala Lys Tyr

1 5

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Thr Val Phe Asp Glu Asn Leu Ser Arg Tyr

1 5 10

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Leu Val Asp Glu Asn Gln Ser Trp Tyr

1 5

<210> 121

<211>

9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Ser Ala Asp Glu Ala His Gly Leu Leu

1 5

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Ile Ser Glu Ala Pro Leu Thr Glu Val

1 5

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Leu Leu Lys Ala Lys Asp Ile Leu Tyr

1 5

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Phe Leu Lys Val Thr Gly Tyr Asp Lys Asp Asp Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Phe Gln Tyr Glu Leu Arg Glu Leu Tyr

1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Thr Thr Asp Pro Lys Lys Phe Gln Tyr

1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Val Pro Phe Asn Leu Ile Thr Glu Tyr

1 5

<210> 128

<211

> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Tyr Thr Glu Phe Val Asp Ala Thr Phe Thr Lys

1 5 10

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Ser Thr Ile Asp Phe Arg Ala Gly Phe

1 5

<210> 130

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Tyr Ile Gly Leu Lys Gly Leu Tyr Phe

1 5

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Leu Glu Asp Gly Ile Glu Gln Ser Ala Tyr

1 5 10

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Arg Thr His Ile Gly Tyr Lys Val Tyr

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Ile Thr Asp Val Gly Pro Gly Asn Tyr

1 5

<210> 134

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Ser Ala Pro Ser Ser Ser Gly Ser Pro Leu Tyr

1 5 10

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Thr Phe Asp Lys Gln Ile Val Leu Leu

1 5

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Arg Arg Leu Asn Phe Ser Gly Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Glu Ala Tyr Leu Glu Arg Ile Gly Tyr

1 5

<210> 138

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Ile Pro Val His Asp Ser Val Gly Val Thr Tyr

1 5 10

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

Pro Val His Asp Ser Val Gly Val Thr Tyr

1 5 10

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Ser Gln His Ile Phe Thr Val Ser Tyr

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

Asp Ala Val Ala Pro Gly Arg Glu Tyr

1 5

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

Ile Glu Lys Phe Ala Val Leu Tyr

1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

His Val Ser Gly Gln Met Leu Tyr Phe

1 5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

Arg Thr Ile Glu Gly Asp Phe Leu Trp

1 5

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Leu Ser Asp Ala Val His Val Glu Phe

1 5

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

Leu Cys Ala Thr Val Cys Gly Thr Glu Gln Tyr

1 5 10

<210> 147

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Ala Gln Val Gln Asp Thr Gly Arg Tyr

1 5

<210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Gly Thr Lys Gln Trp Val His Ala Arg Tyr

1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Pro Ile Met Ser Ser Ser Gln Ala Leu Tyr

1 5 10

<210> 150

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

Phe Thr Thr Leu Ser Asp Leu Gln Thr Asn Met Ala

1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Tyr Glu Val Asp Thr Lys Leu Leu Ser Leu

1 5 10

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Tyr Leu Glu Asp Arg Pro Leu Ser Gln

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

His Ser Ile Glu Val Phe Thr His Tyr

1 5

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Ser Ile Glu Val Phe Thr His Tyr

1 5

<210> 155

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr

1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Ser Thr Ala Leu Ser Ile Leu Leu Leu

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Gly Leu Ile Glu Val Val Thr Gly Tyr

1 5

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Glu Val Thr Asp Arg Asn Met Leu Ala Phe

1 5 10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Arg Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Tyr

1 5 10

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Glu Val Leu Gly Glu Glu Met Tyr Ala Tyr

1 5 10

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Glu Ala Ala Pro Asp Ile Met His Tyr

1 5

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Ile Ala Asp Asn Pro Gln Leu Ser Phe Tyr

1 5 10

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

Lys Ile Arg Ala Glu Val Leu Ser His Tyr

1 5 10

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Lys Leu Ala Gly Thr Val Phe Gln Tyr

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Val Ser Val Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr

1 5

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Tyr His Arg Ile Cys Glu Leu Leu Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Arg Ala Val Gln Pro Gly Glu Thr Tyr

1 5

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Val Gln Pro Gly Glu Thr Tyr Thr Tyr

1 5

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Thr Val Asp Asn Ala Asn Ile Leu Leu

1 5

<210> 170

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr

1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu

1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Phe Ser Glu Pro Phe His Leu Ile Val

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Gln Ser Thr Thr Gly Val Ser His Tyr

1 5

<210> 174

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Thr Ser Glu Val Glu Gly Leu Ala Phe Val Ser Tyr

1 5 10

<210> 175

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Gly Leu Glu Tyr Glu Ala Pro Lys Leu Tyr

1 5 10

<210> 176

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

His Thr Asp Leu Glu Ser Pro Ser Ala Val Tyr

1 5 10

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Leu Val Asp Gly Lys Trp Gln Glu Phe

1 5

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Thr Gln Arg Thr Ser Phe Gln Phe Tyr

1 5

<210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Ser Ser Thr Asp Phe Thr Phe Ala Ser Trp

1 5 10

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Ala Gln Ile Ser Asp Thr Gly Arg Tyr

1 5

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Ser Val Thr Asp Leu Ile Gly Gly Lys Trp

1 5 10

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Thr Gln Pro Glu Leu Ser Ser Arg Tyr

1 5

<210> 183

<

211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Leu Ala Asp Thr Asp Leu Gly Met Thr Phe

1 5 10

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr

1 5

<210> 185

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Asn Ser Asp Glu Ser Ala Asp Ser Glu Pro His Lys Tyr

1 5 10

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 186

Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe Tyr

1 5

<210> 187

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Thr Gln Lys Ser Val Gln Val Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 188

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Asp Ile Pro Asp Tyr Leu Leu Gln Tyr

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Phe Arg Gly Val Phe Val His Arg Tyr

1 5

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Val Ser Ser Thr Val His Asn Leu Tyr

1 5

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Phe Thr Arg Ala Phe Asp Gln Leu Arg Met

1 5 10

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Leu Ala Phe Tyr Tyr Gly Met Tyr

1 5

<210> 193

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Ser Gln Asn Gly Gln Leu Ile His Tyr

1 5

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Cys Tyr Thr Ala Asp Asn Glu Met Gly Tyr

1 5 10

<210> 195

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Tyr Thr Ala Asp Asn Glu Met Gly Tyr Tyr

1 5 10

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Arg Leu Ala Gln Tyr Thr Ile Glu Arg Tyr

1 5 10

<210> 197

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Asn Asp Glu Ile Asp Lys Leu Thr Gly Tyr

1 5 10

<210> 198

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Lys Leu Thr Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr

1 5 10

<210> 199

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Leu Cys Ala Ala Val Leu Ala Lys Tyr

1 5

<210>

200

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Ser Leu Pro Glu Phe Gly Leu Thr Tyr

1 5

<210> 201

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Ser Leu Pro Glu Phe Gly Leu Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Gln Thr Asp Ile Asn Gly Gly Ser Leu Lys

1 5 10

<210> 203

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Leu Ser Gln Asp Glu Leu Ser Lys Phe

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr

1 5

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Arg Met Gln Glu Gly Ser Glu Val Tyr

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Arg Val Phe Val Ala Val Thr Leu Tyr

1 5

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Leu Leu Glu Gly Glu Asp Ala His Leu Thr Gln Tyr

1 5 10

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 208

Leu Leu Ile Ser Lys Ala Glu Asp Tyr

1 5

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Glu Ala Asp Pro Phe Leu Lys Tyr Leu

1 5

<210> 210

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 210

Leu Leu Glu Ala Asp Pro Phe Leu Lys Tyr

1 5 10

<210> 211

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 211

Tyr Leu Asn Glu Trp Gly Ser Arg Phe

1 5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

Met Met Thr Asp Leu Thr Ser Val Tyr

1 5

<210> 213

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Val Ser Asp Ser Thr Thr Glu Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Val Gln Asp Pro Ser Leu Pro Val Tyr

1 5

<210> 215

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Asp Thr Leu Glu Ala Ala Thr Ser Leu Tyr

1 5 10

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Asn Ser Met Leu Asp Pro Leu Val Tyr

1 5

<210> 217

<

211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Leu Met Asp Glu Gly Ala Val Leu Thr Leu

1 5 10

<210> 218

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Phe Thr Ala Gln Leu Gln Leu Tyr

1 5

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Lys Thr Glu Leu Glu Thr Ala Leu Tyr Tyr

1 5 10

<210> 220

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Asp Val Glu Arg Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 221

Thr Asp Val Glu Arg Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5 10

<210> 222

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 222

Gly Ser Pro Asp Ala Val Val Ser Tyr

1 5

<210> 223

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 223

Asn Ala Val Asp Val Val Pro Ser Ser Phe

1 5 10

<210> 224

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 224

Arg Thr Asp Glu Gly Asp Asn Arg Val Trp

1 5 10

<210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 225

Ser Thr Asp Pro Asn Ile Val Arg Lys

1 5

<210> 226

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 226

Gln Ile Thr Pro Lys His Asn Gly Leu Tyr

1 5 10

<210> 227

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 227

Glu Ser Ala Pro Lys Glu Val Ser Arg Tyr

1 5 10

<210> 228

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 228

Lys Ser Phe Asp Asp Ile Ala Lys Tyr

1 5

<210> 229

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Met Thr Asp Val Phe Ile Asp Tyr

1 5

<210> 230

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 230

Cys Val Ile Glu Thr Phe His Lys Tyr

1 5

<210> 231

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231

Leu Leu Pro Leu Leu Val Met Ala Tyr

1 5

<210> 232

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 232

Arg Tyr Leu Asn Ile Val His Ala Thr Gln Leu Tyr

1 5 10

<210> 233

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 233

Arg Ile Asn Ser Ala Thr Gly Gln Tyr

1 5

<210> 234

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 234

Tyr Thr Asp Leu Thr Thr Ile Gln Val

1 5

<210> 235

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 235

Ser Ile Glu Ile Asp His Thr Gln Tyr

1 5

<210> 236

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Val Leu Asp Ser Leu Leu Ala Gln Tyr

1 5

<210> 237

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

Ala Gln Glu Ala Ala Val Phe Leu Thr Leu Tyr

1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 238

Glu Thr Asp Trp Gly Leu Leu Lys Gly His Thr Tyr

1 5 10

<210> 239

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 239

Ser Ser Glu Arg Gly Ser Pro Ile Glu Lys Tyr

1 5 10

<210> 240

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Glu Val Leu Asp Ser Leu Leu Ala Gln Tyr

1 5 10

<210> 241

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr

1 5

<210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Gly Thr Asn Leu Pro Thr Leu Leu Trp

1 5

<210> 243

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

Leu Thr Ser Glu Asp Thr Gly Ala Tyr

1 5

<210> 244

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 244

Val Thr Lys Tyr Ile Ala Gly Pro Tyr

1 5

<210> 245

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 245

Leu Ser Asp Asn Ala Ala Asn Arg Tyr

1 5

<210> 246

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 246

Ala Arg Leu Glu Gly Glu Ile Ala Thr Tyr

1 5 10

<210> 247

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 247

Ser Met Ile Arg Val Gly Thr Asn Tyr

1 5

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 248

Val Thr Asp Ile Asp Glu Leu Gly Lys

1 5

<210> 249

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 249

Gly Val Gly Phe Thr Glu Leu Glu Tyr

1 5

<210> 250

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

Gly Tyr Val Cys Asn Ala Cys Gly Leu Tyr

1 5 10

<210> 251

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

Gly Ile Glu Met Thr Tyr Glu Thr Tyr

1 5

<210> 252

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Asp Thr Thr Ser His Thr Tyr Leu Gln Tyr

1 5 10

<210> 253

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Tyr Leu Glu Ser His Gly Leu Ala Tyr

1 5

<210> 254

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 254

Phe Leu Phe Asn Asp Ala Leu Leu Tyr

1 5

<210> 255

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 255

Trp Glu Leu Asp Ser Leu Glu Tyr

1 5

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 256

His Ala Phe Glu Ser Asn Asn Phe Ile Tyr

1 5 10

<210> 257

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 257

Lys Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr

1 5 10

<210> 258

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 258

Arg Pro Ser Ser Val Leu Thr Ile Tyr

1 5

<210> 259

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 259

Ala Pro Asp Glu Val Val Ala Leu Leu

1 5

<210> 260

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 260

Lys Pro Thr Glu Asp Ser Ala Asn Val Tyr

1 5 10

<210> 261

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 261

Met Thr Glu Gly Ser Thr Val Asn Thr Glu Tyr

1 5 10

<210> 262

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 262

Asn Val Lys His Phe Leu Asn Asp Leu Tyr

1 5 10

<210> 263

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 263

Asp Cys Met Asp Thr Glu Gly Ser Tyr Met

1 5 10

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 264

Tyr Arg Asp Pro Val Phe Val Ser Leu

1 5

<

210> 265

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 265

Leu Ser Asp Ile Asp Ser Arg Tyr Ile

1 5

<210> 266

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 266

Leu Thr Asp Ser Phe Leu Leu Arg Phe

1 5

<210> 267

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 267

Ile Val Ala Asp Asp Thr Val Tyr

1 5

<210> 268

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 268

Ala Ile Leu His His Leu Tyr Phe Tyr

1 5

<210> 269

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

Leu Pro Ser Pro Ala Ala Thr Ile Trp Asp Tyr

1 5 10

<210> 270

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 270

Asp Leu Lys Ile Asp Leu Ala Ala Gln Tyr

1 5 10

<210> 271

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 271

Val Ala Glu Pro Pro Val Val Cys Ser Tyr

1 5 10

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 272

Ile Pro Gln Asp Glu Cys Leu Arg Tyr

1 5

<210> 273

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 273

Cys Gly Pro Asn Glu Ile Asn His Phe Tyr

1 5 10

<210> 274

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 274

Tyr Ala Asp Ile His Gly Asp Leu Leu

1 5

<210> 275

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 275

Glu Ser Asp Glu Met Glu Asn Leu Leu Thr Tyr

1 5 10

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 276

Gln Ile Thr Ser Phe Ala Ser Gly Thr Ser Tyr

1 5 10

<210> 277

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 277

Leu Pro Ala Pro Gly Phe Leu Phe Tyr

1 5

<210> 278

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 278

Ala Ala Thr Val Lys Ser Asp Ile Tyr

1 5

<210> 279

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 279

Leu Met Thr Val Leu Leu Lys Tyr

1 5

<210> 280

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 280

Thr Thr Glu Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 281

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 281

Tyr Pro Asp Leu Ser Glu Leu Leu Met

1 5

<210> 282

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 282

Gln Ala Met Pro Ser Trp Pro Thr Ala Ala Tyr

1 5 10

<210> 283

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 283

Glu Thr Ile Leu Val Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 284

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Thr Cys Ser His Thr Phe Val Tyr Tyr

1 5

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 285

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

1 5 10

<210> 286

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 286

Ala Thr Asp Met Glu Gly Asn Leu Asn Tyr

1 5 10

<210> 287

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 287

Glu Asn Ser Ile Glu Asp Leu Gln Tyr

1 5

<210> 288

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Thr Glu Glu Lys Phe Val Ser Tyr

1 5

<210> 289

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

Tyr Thr Ser His Glu Asp Ile Gly Tyr

1 5

<210> 290

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 290

Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr

1 5 10

<210> 291

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

Thr Ser Asp Val Thr Gly Ser Leu Thr Tyr

1 5 10

<210> 292

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 292

Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr

1 5 10

<210> 293

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 293

Ile Ile Ser Val Leu Ile Ala Ile Tyr

1 5

<210> 294

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 294

Met Met Glu Met Glu Gly Met Tyr

1 5

<210> 295

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 295

Gly Gln Arg Leu Asp Glu Ala Met Ile Ser Tyr

1 5 10

<210> 296

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 296

His Met Leu Ala Ala Met Ala Tyr

1 5

<210> 297

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

Arg Leu Asp Glu Ala Met Ile Ser Tyr

1 5

<210> 298

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 298

Lys Phe Asp Val Ile Asn His Tyr Phe

1 5

<210> 299

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 299

Glu Val Asp Ser Val Ala Leu Ser Leu

1 5

<210> 300

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 300

Val Ser Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Ile Tyr

1 5 10

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 301

Glu Ser Gln Thr Cys Ala Ser Asp Tyr

1 5

<210> 302

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 302

Phe Tyr Leu Ser Thr Pro Glu Asn Tyr His Tyr

1 5 10

<210> 303

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 303

Gly Phe Gly Gly Leu Ser Ser Gln Gly Val Tyr Tyr

1 5 10

<210> 304

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 304

Phe Ser Glu Asn Leu Ile Tyr Thr Tyr Ile

1 5 10

<210> 305

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 305

Tyr Ala Asp Leu Leu Ile Tyr Thr Tyr

1 5

<210> 306

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 306

Lys Ser Phe Glu Thr Thr Val Arg Tyr

1 5

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 307

Asp Thr Asp Asp Arg Glu Leu Arg Tyr

1 5

<210> 308

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 308

Glu Leu Ala Ala Gly Gln Val Val Tyr

1 5

<210> 309

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 309

Glu Val Asp Arg Asn Leu Ile Gln Tyr

1 5

<210> 310

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 310

Lys Ala Phe Gln Glu Leu Gly Val Arg Tyr

1 5 10

<210> 311

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

Thr Val Thr Asp Gly Thr His Thr Asp Phe Tyr

1 5 10

<210> 312

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 312

Val Thr Asp Gly Ile Asn Pro Leu Ile

1 5

<210> 313

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 313

Val Thr Asp Gly Thr His Thr Asp Phe Tyr

1 5 10

<210> 314

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 314

Pro Pro Glu Ala Asn Ser Leu Gln Gly Ala Leu Tyr

1 5 10

<210> 315

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 315

Val Leu Lys Ile Glu Leu Glu Thr Tyr

1 5

<210> 316

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 316

Tyr Thr Cys Glu Glu Cys Gly Gln Ala Phe

1 5 10

<210> 317

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 317

Glu Asp Leu Leu Glu Val Leu Asp Met Tyr

1 5 10

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 318

Tyr Met Thr Ser Met Ala Leu Asn Tyr

1 5

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 319

Phe Thr Asp Pro His Ile Ile Thr Phe

1 5

<210> 320

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 320

Gln Ala Leu Gln Asp Lys Leu Gln Thr Phe Tyr

1 5 10

<210> 321

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 321

Asp Gly Ile Ala Asp Ala Ser Asn Leu Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 322

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 322

Phe Ser Glu Leu Asn Pro Leu Ala Leu Tyr

1 5 10

<210> 323

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 323

Lys Thr Leu Gln Lys Pro Val Leu Pro Leu Tyr

1 5 10

<210> 324

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 324

Arg Thr Gly Ile Phe Pro Tyr Arg Phe

1 5

<210> 325

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 325

Leu Gln Lys Pro Val Leu Pro Leu Tyr

1 5

<210> 326

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 326

Ser Thr Ser Arg Leu Thr Leu Phe Ser

1 5

<210> 327

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 327

Ile Met Leu Ser Val Asp Gln His Leu Tyr

1 5 10

<210> 328

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 328

Leu Leu Asp Glu Asp Asn Asn Ile Lys Leu

1 5 10

<210> 329

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 329

Asn Thr Asp Ser Met Thr Leu Asn Asn Thr Ala Tyr

1 5 10

<210> 330

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 330

Glu Gly Glu Leu Ser Glu Gly Glu His Trp Tyr

1 5 10

<210> 331

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 331

Tyr Leu Tyr Gln Ala Pro Gly Ser Leu Ala Leu Tyr

1 5 10

<210> 332

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 332

Ser Leu Ile Ser Phe Lys Tyr Thr Ser Tyr

1 5 10

<210> 333

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 333

Leu Ser Asp Pro Gln Ala Glu Leu Gln Phe Tyr

1 5 10

<210> 334

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 334

Pro Ser Ser Met Pro Glu Cys Leu Ser Tyr

1 5 10

<210> 335

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 335

Pro Ser Ser Met Pro Glu Cys Leu Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 336

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 336

Ala Thr Asn Ile Gln Leu Asn Ile Asp Thr Tyr

1 5 10

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 337

Phe Thr Glu Ser Asn Gln Tyr Asn Ile Tyr

1 5 10

<210> 338

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 338

Tyr Ser Pro Asp Ser Phe Asn Val Ser Trp

1 5 10

<210> 339

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 339

Glu Ser Met Asp Ile Phe Pro Leu Gly Trp

1 5 10

<210> 340

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 340

Ser Val Asp Ser Asn Leu Val Ala Tyr

1 5

<210> 341

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 341

Pro Ala Asn Tyr Leu Gly Lys Met Thr Tyr

1 5 10

<210>

342

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 342

Gln Thr Tyr Met Asp Gly Leu Leu His Tyr

1 5 10

<210> 343

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 343

Tyr Phe Gly Asn Tyr Phe Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 344

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 344

Ala Val Asn Ala Leu Gln Ser Val Tyr

1 5

<210> 345

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 345

Asn Thr Met Asp Ala Val Pro Arg Ile Asp His Tyr

1 5 10

<210> 346

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 346

Val Ala Gly Leu Glu Ala Gly Val Leu Tyr

1 5 10

<210> 347

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

Ser Ala Asp His Pro Gly Leu Thr Phe

1 5

<210> 348

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 348

Asp Ser Thr Asp Gly Cys Leu Leu Ser Phe

1 5 10

<210> 349

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 349

His Leu Leu Ser Val Ser Leu Tyr Tyr

1 5

<210> 350

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 350

Leu Thr Asp Pro Gln Val Ser Tyr Val

1 5

<210> 351

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 351

Val Leu Asp Pro Met Leu Asp Phe Tyr

1 5

<210> 352

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 352

Tyr Pro Val Val Val Ala Glu Ser Met Tyr

1 5 10

<210> 353

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 353

Arg Leu Asn Gly Ser Val Ala Ser Tyr

1 5

<210> 354

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 354

Glu Ile Ile Arg Tyr Ile Phe Ala Tyr

1 5

<210> 355

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 355

Met Ala Asp Arg Gly Glu Ala Arg Leu

1 5

<210> 356

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 356

Asn Ser Glu Asn His Ile Leu Lys Tyr

1 5

<210> 357

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 357

Met Ser Pro Asp Ile Ala Leu Leu Tyr Leu

1 5 10

<210> 358

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 358

Tyr Met Ser Pro Asp Ile Ala Leu Leu Tyr

1 5 10

<210> 359

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 359

Asn Lys Glu Ile Asn Tyr Phe Met Tyr

1 5

<210> 360

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 360

Arg Phe Asp Asp Ile Asn Gln Glu Phe

1 5

<210> 361

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 361

Phe Thr Ala Glu Glu Gly Gln Leu Tyr

1 5

<210> 362

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 362

Ser Gly Ala Leu Asp Glu Ala Ala Ala Tyr

1 5 10

<210> 363

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 363

Leu Thr Asp Arg Asp Val Ser Phe Tyr

1 5

<210> 364

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 364

Asp Thr Gly Tyr Leu Gln Leu Tyr Tyr

1 5

<210> 365

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 365

Phe Val Asp Thr Lys Val Pro Glu His

1 5

<210> 366

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 366

Ile Thr Val Asp Val Arg Asp Glu Phe

1 5

<210> 367

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 367

Leu Thr Asp Thr Gly Tyr Leu Gln Leu Tyr

1 5 10

<210> 368

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 368

Glu Ser Ala Ala Thr Gly Gln Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 369

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 369

Ala Val Met Glu Ala Ala Phe Val Tyr

1 5

<210> 370

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 370

Arg Leu Ser Thr Ile Arg His Leu Tyr

1 5

<210> 371

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 371

Trp Ser Asp Ser Thr Ser Gln Thr Ile Tyr

1 5 10

<210> 372

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 372

Ser Arg Ser Asp Phe Glu Trp Val Tyr

1 5

<210> 373

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 373

Phe His Ala Asp Ser Asp Asp Glu Ser Phe

1 5 10

<210> 374

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 374

Leu Thr Ser Val Val Val Thr Leu Trp

1 5

<210> 375

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 375

Ala Ser Ser Leu Asp Ser Leu His Tyr

1 5

<210> 376

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 376

Glu Asp Asp Glu Asp Glu Asp Leu Tyr

1 5

<210> 377

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 377

Tyr Ala Asp Pro Ser Ala Asn Arg Asp Leu Leu

1 5 10

<210> 378

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 378

Thr Ala Lys Ala Pro Ser Thr Glu Tyr

1 5

<210> 379

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 379

Ser Leu Ile Ile Asp Asp Thr Glu Tyr

1 5

<210> 380

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 380

Val Ala Cys Gly Asn Asn Pro Val Tyr

1 5

<210> 381

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 381

Glu Thr Ser Phe Ser Thr Ser His Tyr

1 5

<210> 382

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 382

Tyr Glu Pro Ala Thr Met Glu Gln Tyr

1 5

<210> 383

<211> 11

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 383

Pro Pro Asp His Ala Val Gly Arg Thr Lys Tyr

1 5 10

<210> 384

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 384

Arg Phe Arg Ser Ile Thr Gln Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 385

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 385

Ser Ala Asn Ala Leu Ile Leu Thr Tyr

1 5

<210> 386

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 386

Asn Ser Ala Leu Asn Pro Leu Leu Tyr

1 5

<210> 387

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 387

Leu Met Glu Lys Glu Asp Tyr His Ser Leu Tyr

1 5 10

<210> 388

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 388

Tyr Thr Ala His Val Gly Tyr Ser Met Tyr

1 5 10

<210> 389

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 389

Tyr Tyr Asp Leu Val Glu Ser Thr Phe

1 5

<210> 390

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 390

Phe Ser Glu Pro Phe His Leu Ile Val Ser Tyr

1 5 10

<210> 391

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 391

Gly Ser Asn Pro Ala Arg Tyr Glu Phe

1 5

<210> 392

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 392

Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr

1 5

<210> 393

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 393

Gln Val Trp Gly Gly Gln Pro Val Tyr

1 5

<210> 394

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 394

Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr

1 5

<210> 395

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 395

Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr

1 5

<210> 396

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 396

Leu Pro Asp Pro Asn Val Gln Lys Tyr

1 5

<210> 397

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 397

Asn Ser Ala Ile Asn Pro Leu Ile Tyr

1 5

<210> 398

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 398

Tyr Tyr Tyr Asp Thr His Thr Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 399

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 399

Tyr Val Gly Lys Glu His Met Phe Tyr

1 5

<210> 400

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 400

Asn Thr Asp Asn Asn Leu Ala Val Tyr

1 5

<210> 401

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 401

Val Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu Lys Phe

1 5 10

<210> 402

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 402

Val Leu Tyr Pro Val Pro Leu Glu Ser Tyr

1 5 10

<210> 403

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 403

Ser Ala Asp Asp Ile Arg Gly Ile Gln Ser Leu Tyr

1 5 10

<210> 404

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 404

Phe Val Asp Asn Gln Tyr Trp Arg Tyr

1 5

<210> 405

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 405

Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr

1 5

<210> 406

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 406

Ser Asp Val Thr Pro Leu Thr Phe

1 5

<210> 407

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 407

Val Ser Ile Arg Asn Thr Leu Leu Tyr

1 5

<210> 408

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 408

Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 409

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 409

Tyr Thr Phe Arg Tyr Pro Leu Ser Leu

1 5

<210> 410

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 410

Lys Thr Trp Ala His Cys Met Ser Tyr

1 5

<210> 411

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 411

Leu Leu Asp Ala Glu Pro Pro Ile Leu Tyr

1 5 10

<210> 412

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 412

Ala Ala Ala Ala Asn Ala Gln Val Tyr

1 5

<210> 413

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 413

Thr Asp Thr Leu Ile His Leu Met

1 5

<210> 414

<211> 10

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 414

Leu Thr Glu Gly His Ser Gly Asn Tyr Tyr

1 5 10

<210> 415

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 415

Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu Asn Phe

1 5 10

<210> 416

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 416

Leu Ser Ser Pro Val His Leu Asp Phe

1 5

<210> 417

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 417

Lys Leu Asp Arg Ser Val Phe Thr Ala Tyr

1 5 10

<210> 418

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 418

Leu Leu Asp Glu Gly Ala Met Leu Leu Tyr

1 5 10

<210> 419

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 419

Phe Pro Thr Glu Val Thr Pro His Ala Phe

1 5 10

<210> 420

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 420

Val Thr Asp Leu Glu Met Pro His Tyr

1 5

<210>

421

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 421

Arg Ser Asp Pro Gly Gly Gly Gly Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 422

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 422

Ala Leu Asn Pro Tyr Gln Tyr Gln Tyr

1 5

<210> 423

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 423

Leu Leu Asp Glu Gly Ala Lys Leu Leu Tyr

1 5 10

<210> 424

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 424

Asn Val Asp Pro Val Gln His Thr Tyr

1 5

<210> 425

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 425

Val Thr Glu Glu Pro Gln Arg Leu Phe Tyr

1 5 10

<210> 426

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 426

Arg Ser Phe Asn Gly Leu Leu Thr Met Tyr

1 5 10

<210> 427

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 427

Leu Thr Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr

1 5

<210> 428

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 428

Ile Ile Asn Glu Ser Leu Leu Phe Tyr

1 5

<210> 429

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 429

Val Ser Asp Ser Glu Cys Leu Ser Arg Tyr

1 5 10

<210> 430

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 430

Asn Thr Asp Pro Thr Ala Pro Pro Tyr

1 5

<210> 431

<211>

10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 431

Ala Ser Ser Thr Asp Ser Ala Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 432

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 432

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Thr Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 433

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 433

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val

1 5 10

<210> 434

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 434

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile

1 5

2 / 80