



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124577** (13) **C2**

(51) МПК (2021.01)

C07K 14/82 (2006.01)**C07K 7/06** (2006.01)**A61K 38/17** (2006.01)**A61K 38/08** (2019.01)

A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2018 08797	(72) Винахідник(и):	Мар Андреа (DE), Вайншенк Тоні (DE), Шор Олівер (DE), Фрітше Йенс (DE), Сінгх Харпреет (US)
(22) Дата подання заявки:	26.08.2016	(73) Володілець (володільці):	ІММАТІКС БІОТЕКНОЛОДЖІС ГМБХ, Paul-Ehrlich-Straße 15, 72076 Tuebingen, Germany (DE)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	14.10.2021	(74) Представник:	Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	62/211,276, 1515321.6	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2014178409 A1, 26.06.2014 US 2014147490 A1, 29.05.2014 US 2011318408 A1, 29.12.2011 Stevanovic S. Identification of tumour associated T-cell epitopes for vaccine development. Cancer, 2002, vol. 2, p. 1-7 Haen S. P. et al. The repertoire of human tumor-associated epitopes - identification and selection of antigens and their application in clinical trials. Current opinion in immunology, 2013, vol. 25, no. 2, p. 277 - 283 WO 2015018805 A1, 12.02.2015 WO 2009015842 A2, 05.02.2009 WO 2004099243 A2, 18.11.2004 EP 1125947 A1, 22.08.2001 EP 1104808 A1, 06.06.2001 WO 2005073374 A1, 11.08.2005 Weinschenk T et al. Integrated functional genomics approach for the design of patient- individual antitumor vaccines. Cancer research, 2002, vol. 62, no. 20, p. 5818 - 5827
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	28.08.2015, 28.08.2015		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заяву:	US, GB		
(41) Публікація відомостей про заяву:	10.12.2018, Бюл.№ 23		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	13.10.2021, Бюл.№ 41		
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заяву, позначену кодом (21):	а201801344, 26.08.2016		

(54) ПЕПТИД ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАКУ**(57) Реферат:**

Винахід стосується пептиду, що має довжину до 30 амінокислот, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 323, або його фармацевтично прийнятної солі, та його застосування в діагностиці і/або лікуванні раку або у виробництві лікарського засобу проти раку. Винахід

UA 124577 C2

також стосується Т-клітинного рецептора, що реагує з лігандом HLA, де згаданий ліганд складається з амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 323, нуклеїнової кислоти, що кодує пептид, рекомбінантної клітини-хазяїна, способу отримання пептиду, терапевтичного комплексу, фармацевтичної композиції та способу отримання персоналізованої протиракової вакцини.

Цей винахід стосується пептидів, білків, нуклеїнових кислот та клітин для їх застосування в імунотерапії. Зокрема, цей винахід стосується імунотерапії раку. Цей винахід також стосується епітопів пухлино-асоційованих пептидів Т-клітин, які самостійно або в комбінації з іншими пухлино-асоційованими пептидами можуть, наприклад, служити активними фармацевтичними інгредієнтами композицій вакцин, які стимулюють протипухлинні імунні відповіді, або стимулювати Т-клітини *ex vivo* з їх перенесенням в організм пацієнта. Пептиди, зв'язані з молекулами головного комплексу гістосумісності (МНС), або пептиди як такі можуть також бути мішенями для антитіл, розчинних Т-клітинних рецепторів та інших зв'язувальних молекул.

Цей винахід стосується декількох нових пептидних послідовностей та їх варіантів, отриманих із молекул HLA I класу пухлинних клітин людини, які можуть застосовуватися у вакцинних композиціях з метою викликати протипухлинну імунну відповідь або являють собою мішені для розробки фармацевтично або імунологічно активних сполук і клітин.

ПЕРЕДУМОВА СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Відповідно до даних Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), рак був у 2012 році одним із чотирьох найбільш смертельних неінфекційних захворювань у масштабах всього світу. У тому ж році колоректальний рак, рак молочної залози і ракові захворювання дихальних шляхів входили у перелік 10 головних причин смерті у країнах з високим рівнем доходів (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>).

Епідеміологія

За приблизною оцінкою, в усьому світі у 2012 році було діагностовано 14,1 мільйонів нових випадків раку, кількість пацієнтів, що страждають на рак, сягала 32,6 мільйона (у межах 5 років після встановлення діагнозу), а кількість смертей від раку становила 8,2 мільйона (Ferlay et al., 2013; Bray et al., 2013).

У групах хворих на рак головного мозку, лейкоз і рак легенів цей винахід особливо стосується хворих на гліобластому (ГБ), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ) і недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів (НДРЛ і ДРЛ).

Рак легенів є найпоширенішим видом раку на земній кулі. Він є головною причиною смерті від раку у багатьох країнах.

Рак молочної залози є імуногенним видом раку, а різні типи інфільтруючих клітин імунної системи у первинних пухлинах є важливими показниками з певною прогностичною і передбачувальною цінністю. На пацієнтах, хворих на рак молочної залози, проведено велику кількість досліджень ранніх фаз щодо імунотерапевтичних засобів. Більшість завершених вакцинаційних досліджень були націлені на HER2 і вуглеводні антигени, такі як MUC-1, і призвели до доволі невтішних результатів. Продовжують з'являтися клінічні дані щодо ефектів модуляції імунних контрольних точок в результаті прийому іпілімумабу та інших антитіл, які активують Т-клітини, у пацієнтів із раком молочної залози (Emens, 2012).

Хронічний лімфоцитарний лейкоз

Хоча ХЛЛ ще не є виліковним, багато пацієнтів демонструють лише повільне прогресування захворювання або погіршення симптомів. Оскільки пацієнти не отримали користь від раннього початку лікування, первісним підходом є практика «чекай і спостерігай» (Richards et al., 1999). Для пацієнтів із симптоматичним або швидко прогресуючим захворюванням існує декілька варіантів лікування. До них входять хіміотерапія, таргетна терапія, застосування імунних лікарських засобів, таких як моноклональні антитіла, застосування химерних антигенних рецепторів (CAR) і активної імунотерапії, і трансплантація стовбурових клітин.

Для лікування гематологічних злоякісних захворювань широко застосовуються моноклональні антитіла. Це пов'язано зі знанням відповідних антигенів, виходячи з добре вивчених молекул на поверхні імунних клітин і доступності пухлинних клітин у крові або кістковому мозку. Зазвичай моноклональні антитіла, що застосовуються у терапії ХЛЛ, націлені на CD20 або CD52. Ритуксимаб, перше моноклональне антитіло проти CD20, яке отримало схвалення Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами (FDA) США для лікування НХЛ, зараз широко використовується у терапії ХЛЛ. Терапія комбінацією ритуксимаб/флударабін/циклофосфамід веде до вищих показників повної клінічної відповіді і покращеної загальної виживаності (OS) у порівнянні з комбінацією флударабін/циклофосфамід і стало переважним варіантом лікування (Hallek et al., 2008). Офатумумаб націлений на CD20 і застосовується для лікування пацієнтів з рефрактерним ХЛЛ (Wierda et al., 2011). Обінутумаб є іншим моноклональним антитілом проти CD20, яке використовується для лікування першої лінії у комбінації з хлорамбуцилом (Goede et al., 2014).

Алемтузумаб є антитілом проти CD52, застосовуваним для лікування пацієнтів із захворюванням, резистентним до хіміотерапії, або пацієнтів із такими несприятливими прогностичними факторами як *del* 17p або мутації p53 (Parikh et al., 2011).

Мішенями нових моноклональних антитіл є CD37 (отлєртузумаб, BI 836826, IMGN529 і (177)Lu-тетуломаб) або CD40 (дацетузумаб і лукатумумаб). Ці антитіла випробують поза умов лікарняного стаціонару (Robak and Robak, 2014).

У декількох завершених випробуваннях і таких, які ще тривають, використовуються отримані методами генної інженерії Т-клітини, які несуть аутологічні химерні антигенні рецептори (CAR) із специфічністю до CD19 (Maus et al., 2014). На цей час тільки меншість пацієнтів показала виявлювані або стійкі CAR. Одна часткова відповідь (ЧВ) і дві повні відповіді (ПВ) спостерігалися у дослідженнях Т-клітин із CAR, проведених Porter і співавт. і Kalos і співавт. (Kalos et al., 2011; Porter et al., 2011).

Активна імунотерапія включає наступні стратегії: генну терапію, застосування вакцин на базі модифікованих цільних пухлинних клітин, вакцин на основі ДК і пептидних вакцин, отриманих із пухлино-асоційованих антигенів (ТАА).

Підходи у генній терапії охоплюють аутологічні генетично модифіковані пухлинні клітини. Ці клітини В-CLL трансфектовані імунно-(ко)стимуляторними генами на зразок ІЛ-2, ІЛ-12, TNF-альфа, ГМ-КСФ, CD80, CD40L, LFA-3 і ICAM-1 з метою підвищення презентації антигенів і активації Т-клітин (Carballido et al., 2012). У той час як специфічні відповіді Т-клітин і зниження кількості пухлинних клітин спостерігати легко, імунні відповіді спостерігаються лише тимчасово.

У декількох дослідженнях як антиген-презентуючі клітини використовувалися аутологічні ДК для отримання протипухлинної відповіді. ДК навантажували *ex vivo* пухлино-асоційованими пептидами, лізатом цільних клітин пухлин і отриманими з пухлин РНК або ДНК. У іншій стратегії використовували цільні пухлинні клітини для злиття з ДК і генерації гібридних клітин ДК-В-CLL. Трансфектовані ДК викликали відповіді як CD4+, так і CD8+ Т-клітин (Muller et al., 2004). Гібридні клітини, отримані внаслідок злиття, і ДК, навантажені лізатом пухлинних клітин або апоптичними тільцями, підвищували пухлиноспецифічні відповіді CD8+ Т-клітин. Пацієнти, які демонстрували клінічну відповідь, мали підвищені сироваткові рівні ІЛ-12 і знижені рівні регуляторних Т-клітин (Palma et al., 2008).

Різні підходи використовують модифіковані пухлинні клітини для стимуляції або підвищення ХЛЛ-специфічної імунної відповіді. Прикладом цієї стратегії є генерація клітин за триомною технологією: клітини В-CLL зливають з клітинами гібридами, що експресують антитіла до Fc-рецептора і виявляють специфічність до анти-АПК. Клітини, отримані за триомною технологією, індукували ХЛЛ-специфічні відповіді Т-клітин *in vitro* (Kronenberg et al., 2008).

У іншій стратегії використовується вакцина на основі опромінених аутологічних клітин ХЛЛ із бацилою Кальмета-Герена як ад'юванта. У декількох пацієнтів спостерігалось зниження рівнів лейкоцитів або стабілізація захворювання (Hus et al., 2008).

Окрім виділених клітин ХЛЛ, як вакцину використовували цільну кров хворих на ХЛЛ пацієнтів після приготування у відділенні переливання крові. Ця вакцина індукувала ХЛЛ-специфічні відповіді Т-клітин, і її застосування привело до часткових клінічних відповідей або стабільного захворювання у декількох пацієнтів (Spaner et al., 2005).

Декілька ТАА надмірно експресуються при ХЛЛ і є придатними для вакцинації. Вони включають фібромодулін (Mayr et al., 2005), RHAMM/CD168 (Giannopoulos et al., 2006), MDM2 (Mayr et al., 2006), hTERT (Counter et al., 1995), раково-ембріональний антиген-незрілий білок-рецептор ламініну (OFAiLRP) (Siegel et al., 2003), адипофілін (Schmidt et al., 2004), сурвівін (Granziero et al., 2001), KW1 – KW14 (Krackhardt et al., 2002) і отримана з пухлин ділянка IgVHCDR3 (Harig et al., 2001; Carballido et al., 2012). Було проведене клінічне дослідження фази I з використанням як вакцини RHAMM-таргет пептид R3. У 5 із 6 пацієнтів спостерігалися R3-специфічні відповіді CD8+ Т-клітин, які піддаються виявленню (Giannopoulos et al., 2010).

Колоректальний рак

Залежно від стадії колоректального раку (КРК), різні стандарти терапії застосовуються для лікування раку товстої і прямої кишки. Стандартні процедури включають хірургію, радіотерапію, хіміотерапію і таргетну терапію КРК (Berman et al., 2015a; Berman et al., 2015b).

На додаток до хіміотерапевтичних препаратів пацієнтам із захворюванням на пізніх стадіях вводять декілька моноклональних антитіл, націлених на рецептор епідермального фактору росту (EGFR, цетуксимаб, панітумумаб) або на ендотеліальний фактор росту судин А (VEGF-A, бєвацизумаб). Для терапії другої або пізнішої лінії можуть застосовуватися інгібітор VEGF афліберцепт, інгібітор тирозинкінази регорафеніб і інгібітор тимідилат-синтєтази TAS-102 і інгібітор дУТФази TAS-114 (Stintzing, 2014; Wilson et al., 2014).

У нещодавно проведених клінічних дослідженнях аналізуються засоби активної імунотерапії як варіант лікування КРК. Ці стратегії включають вакцинацію пептидами із пухлино-асоційованих антигенів (ТАА), цільними клітинами пухлин, вакцинами з дендритними клітинами (ДК) і вірусними векторами (Koido et al., 2013).

Пептидні вакцини на цей час були спрямовані проти раковомембріонального антигену (CEA), муцину 1, EGFR, антигену пласкоклітинної карциноми, що розпізнається Т-клітинами 3 (SART3), бета-хоріонічного гонадотропіну людини (бета-ХГЛ), антигену 1 пухлини Вільмса (WT1), сурвівіну-2В, MAGE3, р53, білка 43, що містить домен «ring finger» і транслокази зовнішньої мітохондріальної мембрани 34 (TOMM34) або мутованого KRAS. У декількох клінічних випробуваннях фаз I і II у пацієнтів спостерігалася відповідь антиген-специфічних ЦТЛ або продукція антитіл. У протилежність імунним відповідям багато пацієнтів не отримали користь від застосування пептидних вакцин на клінічному рівні (Koido et al., 2013; Miyagi et al., 2001; Moulton et al., 2002; Okuno et al., 2011).

Вакцини на основі дендритних клітин містять ДК, оброблені отриманими з ТАА пептидами, лізатами пухлинних клітин, апоптотичними пухлинними клітинами, РНК пухлин, або продуктами злиття ДК і клітин пухлин. Хоча багато пацієнтів, що брали участь у клінічних дослідженнях фаз I/II, продемонстрували специфічні імунні відповіді, тільки меншість отримала клінічну користь (Koido et al., 2013).

Вакцини на основі цільних клітин пухлин складаються із аутологічних клітин пухлин, модифікованих для індукції секреції ГМ-КСФ, модифікованих опромінюванням або інфікуванням вірусами, опромінених клітин. Більшість пацієнтів не продемонстрували клінічної користі у декількох дослідженнях фаз II/ III (Koido et al., 2013).

У вакцинах на основі вірусних векторів у клінічних дослідженнях фази I у якості носіїв використовувалися вектори вірусу коров'ячої віспи або дефіцитного за реплікацією вірусу віспи птахів, що кодують раковомембріональний антиген (CEA), а також B7.1, ICAM-1 і LFA-3. У іншому дослідженні використовувався нереплікуючий вірус віспи канарок, що кодує CEA, і B7.1. Окрім індукції CEA-специфічних відповідей Т-клітин, 40% пацієнтів показали об'єктивні клінічні відповіді (Horig et al., 2000; Kaufman et al., 2008).

Рак стравоходу

Головний метод лікування раку стравоходу залежить від стадії розвитку пухлини, її локалізації, гістологічного типу і медичного стану пацієнта. Саме лише хірургічне втручання не є достатнім, за винятком невеликої підгрупи пацієнтів із пласкоклітинною карциномою.

На даний час існує обмежений об'єм даних щодо імунотерапевтичних підходів до лікування раку стравоходу, оскільки проведена дуже обмежена кількість клінічних випробувань ранніх фаз. Вакцину, що складається з трьох пептидів, отриманих із трьох різних раково-тестикулярних антигенів (протеїнкіназа ТТК, комплекс лімфоцитарного антигену 6, локус К і інсуліноподібний фактор росту (IGF)-II іРНК зв'язувальний білок 3) вводили пацієнтам з поширеним раком стравоходу у клінічному дослідженні фази I; результати були помірними. Внутрішньопухлинна ін'єкція активованих Т-клітин після їх стимуляції *in vitro* аутологічними злоякісними клітинами викликала повну або часткову відповідь пухлин у чотирьох із одинадцяти пацієнтів у випробуванні фази I/II (Toomey et al., 2013).

Рак шлунка

Пухлина раку шлунка (РШ) виникає у клітинах, що вистилають м'язовий шар, і у міру росту поширюється крізь зовнішні шари. Хірургічна операція і головним методом лікування і єдиним варіантом радикального лікування раку шлунка. Ефективність існуючих режимів терапії поширеного РШ погана, що призводить до низьких показників 5-річної виживаності. Імунотерапія може стати альтернативним підходом до поліпшення виживаності пацієнтів із РШ. У клінічних дослідженнях багатообіцяючі результати показали адаптивне перенесення пухлино-асоційованих лімфоцитів і цитокін-продукуючих кілерних клітин, вакцини на основі пептидів, націлені на HER2/neu, MAGE-3 або на рецептори 1 і 2 судинного ендотеліального фактора росту і вакцини на основі дендритних клітин, націлені на HER2/neu. Інгібітори, які діють на імунні контрольні точки, і отримані методами генної інженерії Т-клітини можуть надати додаткові варіанти терапії, які у цей час проходять оцінку у доклінічних і клінічних дослідженнях (Matsueda and Graham, 2014).

Гліобластома

Варіанти лікування пацієнтів з гліобластомою (зі ступенем злоякісності IV за критеріями ВООЗ) дуже обмежені. Відповідно до рекомендацій, виданих Німецьким товариством неврологів, стандартом терапії у молодих пацієнтів є резекція або біопсія пухлини, фокальна променева терапія і хіміотерапія темозоломідом або CCNU/ломустиним, або комбінацією прокарбазину з CCNU і вінкристином (PCV). У США, Канаді і Швейцарії терапія бевацизумабом (антитілами проти VEGF) також схвалена для терапії рецидивів (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 2014).

Різні імунотерапевтичні підходи досліджуються для лікування ГБ, включаючи інгібітори, які діють на імунні контрольні точки, вакцинацію і адаптивне перенесення отриманих методами

генної інженерії Т-клітин.

Антитіла, що діють проти інгібіторних рецепторів Т-клітин або їхніх лігандів, як було показано, ефективно підсилюють опосередковані Т-клітинами протипухлинні імунні відповіді при різних видах раку, включаючи меланому і рак сечового міхура. Отже, ефекти антитіл, що активують Т-клітини, такі як іпіліумаб і ніволумаб, оцінюються в клінічних дослідженнях ГБ, але попередні дані вказують на побічні явища, пов'язані з аутоімунними захворюваннями.

Зараз проходить дослідження різні вакцинаційні стратегії для пацієнтів із ГБ, включаючи вакцини на основі пептидів, вакцини на основі білків теплового шоку, вакцини на основі аутологічних пухлинних клітин, вакцини на основі дендритних клітин і вакцини на основі вірусних білків. У цих підходах пептиди, отримані з асоційованих із ГБ білків, подібних до варіанту III рецептора епідермального фактору росту (EGFRvIII), або білків теплового шоку, або дендритних клітин, оброблених лізатом аутологічних пухлинних клітин, або з компонентів цитомегаловірусу, застосовують для індукції протипухлинної імунної відповіді у пацієнтів із ГБ. У декількох таких дослідженнях отримані добрі профілі безпеки і переносимості, а також багатообіцяючі дані з ефективності.

Адоптивне перенесення генетично модифікованих Т-клітин є одним із додаткових імунотерапевтичних підходів до лікування ГБ. У різних клінічних випробуваннях зараз оцінюється безпека і ефективність Т-клітин, які несуть химерні антигенні рецептори HER2, рецептора альфа 2 ІЛ-13 і EGFRvIII (Ampie et al., 2015).

Рак печінки

Ведення пацієнтів з захворюванням залежить від стадії розвитку пухлини на час виявлення та від загального стану печінки. Якщо хірургічне втручання не є варіантом лікування, можливо використовувати різні інші методи лікування.

Останнім часом була проведена обмежена кількість досліджень імунотерапії ГЦК. Для стимулювання субпопуляції імунних клітин і (або) підвищення імуногенності пухлин були застосовані цитокіни (Reinisch et al., 2002; Sangro et al., 2004). Інші дослідження були сконцентровані на інфузії лімфоцитів, які інфільтрують пухлину, або активованих лімфоцитів периферійної крові (Shi et al., 2004; Takayama et al., 1991; Takayama et al., 2000b).

На цей час була проведена лише невелика кількість досліджень терапевтичної вакцинації. Butterfield і співавт. Провели два дослідження з застосуванням пептидів, отриманих із альфа-фетопротеїну (АФП), у ролі вакцини або ДК, навантажених АФП-пептидами *ex vivo* (Butterfield et al., 2003; Butterfield et al., 2006). У двох різних дослідженнях аутологічні дендритні клітини (АДК) були оброблені *ex vivo* лізатом аутологічних пухлинних клітин (Lee et al., 2005) або лізатом клітин гепатобластоми лінії HepG2 (Palmer et al., 2009). На цей час дослідження вакцинації показали лише обмежене поліпшення кінцевих клінічних результатів.

Меланома

Стандартом лікування меланоми є повна хірургічна резекція прилеглих здорових тканин. Якщо резекція неповна або взагалі неможлива, пацієнти отримують первинну променеву терапію, яку можна використовувати у комбінації з введенням інтерферону-альфа на пізніх стадіях (стадії ІІВ/С і ІІІА-С).

Підсилення протипухлинних імунних відповідей видається багатообіцяючою стратегією лікування поширеної меланоми. У Сполучених Штатах Америки інгібітор, який діє на імунні контрольні точки, іпіліумаб, а також інгібітори BRAF-кінази вемурафеніб і дабрафеніб, і інгібітор MEK траметиніб вже схвалені для лікування поширеної меланоми. Обидва підходи підвищують протипухлинний імунітет пацієнта: іпіліумаб – безпосередньо, за рахунок зниження інгібування Т-клітин, а інгібітори кінази – опосередковано, шляхом підвищення рівня експресії антигенів диференціації меланоцитів. Додаткові інгібітори, які діють на контрольні точки (ніволумаб і ламбrolізумаб) зараз проходять клінічні дослідження з першими обнадійливими результатами. Крім цього, проходять клінічні дослідження різні комбінації терапевтичних засобів, націлених на протипухлинну імунну відповідь, включаючи іпіліумаб плюс ніволумаб, ніволумаб плюс пептидна вакцина, отримана з gp100, іпіліумаб плюс дакарбазин, іпіліумаб плюс ІЛ-2 і іпіліумаб плюс ГМ-КСФ (Srivastava and McDermott, 2014).

На пацієнтах з поширеною меланомою вже було оцінено декілька різних вакцинаційних підходів. На цей час у дослідженнях фази III були отримані доволі невтішні результати, і, безумовно, вакцинаційні стратегії потребують удосконалення. У зв'язку з цим нові клінічні дослідження, такі як дослідження ГМ-КСФ під назвою OncoVEX або дослідження DERMA, мають на меті підвищення клінічної ефективності без погіршення переносимості (<http://www.cancerresearchuk.org>).

Адоптивне перенесення Т-клітин демонструє великі перспективи щодо лікування меланоми пізньої стадії. Культивовані *in vitro* аутологічні лімфоцити, які інфільтрують пухлину, а також Т-

клітини, що несуть високоафінний Т-клітинний рецептор раково-тестикулярного антигену NY-ESO-1, продемонстрували значущі позитивні клінічні і низькотоксичні ефекти після перенесення пацієнтам з меланою. Нажаль, Т-клітини з високоафінними Т-клітинними рецепторами до меланоцит-специфічних антигенів MART1 і gp100 і до раково-тестикулярного антигену MAGEA3 викликали значні токсичні ефекти у клінічних випробуваннях. Таким чином, адоптивне перенесення Т-клітин має високий терапевтичний потенціал, але безпека і переносимість цих засобів лікування потребує подальшого покращення (Phan and Rosenberg, 2013; Hinrichs and Restifo, 2013).

Недрібноклітинний рак легенів

Методи лікування залежать від типу (дрібноклітинний або недрібноклітинний) і стадії раку і включають хірургію, променеву терапію, хіміотерапію і таргетну біологічну терапію такими засобами як бевацизумаб, ерлотиніб і гефітиніб.

З метою розширення діапазону терапевтичних варіантів для НДРЛ вивчалися або і наразі вивчаються різні імунотерапевтичні підходи. У той час як вакцинація за допомогою L-BLP25 або MAGEA3 не продемонструвала переваг щодо опосередкованої вакциною виживаності у пацієнтів із НДРЛ, вакцина, отримана із лінії алогенних клітин, показала багатообіцяючі результати у клінічних дослідженнях. До того ж, зараз проходять подальші вакцинаційні дослідження, націлені на гангліозиди, рецептор епідермального фактору росту і декілька інших антигенів. Альтернативна стратегія посилення відповіді протипухлинних Т-клітин пацієнта полягає у блокуванні інгібіторних Т-клітинних рецепторів або їх лігандів специфічними антитілами. Терапевтичний потенціал декількох таких антитіл, включаючи іпіліумаб, ніволумаб, пембролізумаб, MPDL3280A і MEDI-4736, у лікуванні НДРЛ зараз оцінюється у клінічних дослідженнях (Reinmuth et al., 2015).

Рак яєчника

Хірургічна резекція є первинним методом лікування на ранній, так само як і на пізній стадії карциноми яєчника. Хірургічне видалення супроводжується системою хіміотерапією аналогами платини, за винятком ракових пухлин яєчника дуже низького ступеня злоякісності (стадія IA, ступінь злоякісності 1), коли післяопераційну хіміотерапію не призначають.

Очевидно, що імунотерапія є багатообіцяючою стратегією поліпшення лікування пацієнтів, хворих на рак яєчника, оскільки присутність прозапальних лімфоцитів, які інфільтрують пухлину, особливо CD8-позитивних Т-клітин, корелює зі сприятливим прогнозом і оскільки Т-клітини, специфічні до пухлино-асоційованих антигенів, можливо виділити із ракових клітин.

Таким чином, багато наукових зусиль було спрямовано на дослідження різних видів імунотерапії раку яєчника. Було проведено значну кількість доклінічних і клінічних досліджень, і подальші дослідження проводяться у цей час. Є в наявності клінічні дані для терапії цитокінами, вакцинації, лікування моноклональними антитілами, адоптивного перенесення клітин і імуномодуляції.

Терапія цитокінами з інтерлейкіном-2, інтерфероном-альфа, інтерфероном-гамма або фактором стимулювання формування колоній гранулоцитів-макрофагів має метою стимулювати власну протипухлинну відповідь імунної системи пацієнта, і ці методи лікування вже продемонстрували багатообіцяючі результати на невеликих когортах дослідження.

Вакцинаційні дослідження фаз I і II з використанням одного пептиду або декількох, отриманих із пухлино-асоційованих білків (Her2/neu, NY-ESO-1, p53, білка 1 пухлини Вільмса) або з антигенами на основі цільних пухлинних клітин, отриманими з аутологічних пухлинних клітин, виявили хороші профілі безпеки і переносимості, але лише низькі або помірні клінічні ефекти.

Вважається, що моноклональні антитіла, які специфічно розпізнають пухлино-асоційовані білки, підвищують знищення пухлинних клітин, опосередковане імунними клітинами. Застосування антитіл проти CA-125 або ореговомабу і абаговомабу, а також антитіл проти ЕрСАН катумаксомабу, дало багатообіцяючі результати у дослідженнях фаз II і III. Навпаки, антитіла проти MUC1, HMFG1, чітко не підвищили виживаність у дослідженні фази III.

У альтернативному підході використовувалися моноклональні антитіла для націлювання на і для блокування фактора росту і рецепторів виживання на пухлинних клітинах. Тоді як введення трастузумабу (антитіл проти HER2/neu) та MOv18 і MORAb-003 (антитіла проти рецептора фолієвої кислоти альфа) надало тільки обмежену клінічну користь пацієнтам, хворим на рак яєчника, додання бевацизумабу (антитіл проти VEGF) до стандартної хіміотерапії пізньої стадії раку яєчника справляє враження корисного.

Адоптивне перенесення імунних клітин дало неоднозначні результати у клінічних дослідженнях. У пілотному дослідженні було показано, що застосування культивованих in vitro аутологічних Т-клітин, які інфільтрують пухлину, являє собою багатообіцяючий підхід. Навпаки,

перенесення Т-клітин, які несуть химерні антигенні рецептори, специфічні до рецептора фолієвої кислоти альфа, не викликали значущої клінічної відповіді у дослідженні фази I. Було показано, що дендритні клітини, оброблені лізатом пухлинних клітин або пухлино-асоційованими білками *in vitro*, посилюють протипухлинну відповідь Т-клітин після перенесення, але ступінь активації Т-клітин не корелює з клінічними ефектами. Перенесення природних кілерних клітин викликало значну токсичність у дослідженні фази II.

Внутрішній імунітет проти пухлин, так само як і імунотерапія, зустріли перешкоди з боку імуносупресивного мікросередовища пухлини. Щоб подолати цю перешкоду, у комбінації з імунотерапевтичними препаратами були випробовані імуномодулятори, такі як циклофосфамід, антитіла проти CD25 і пегільований ліпосомальний доксорубіцин. Найнадійніші результати зараз отримані для іпіліумабу, антитіл проти CTLA4, які посилюють активність Т-клітин. Було показано, що іпіліумаб має значний протипухлинний ефект при лікуванні пацієнтів з раком яєчника (Mantia-Smaldone et al., 2012).

Рак підшлункової залози

Варіанти лікування пацієнтів з раком підшлункової залози дуже обмежені. Однією з головних проблем ефективності лікування є зазвичай пізня стадія розвитку пухлини під час встановлення діагнозу. Крім того, рак підшлункової залози є досить резистентним до хіміотерапевтичних препаратів, що може бути викликаним щільною і гіповаскулярною десмопластичною строю пухлини.

Відповідно до рекомендацій, виданих Німецьким онкологічним товариством, Німецьким онкологічним фондом і Федеральною медичною асоціацією Німеччини, резекція пухлини є єдиним наявним варіантом радикального лікування.

Вакцинаційні стратегії досліджувалися як додаткова інноваційна і багатообіцяюча альтернатива при лікуванні раку підшлункової залози. Вакцини на основі пептидів, націлені на мутації гену KRAS, активна теломераза, гастрин, сурвівін, CEA і MUC1, уже пройшли оцінку в клінічних випробуваннях, були отримані деякі багатообіцяючі результати. Більш того, клінічні випробування вакцин на основі дендритних клітин, алогенних вакцин на основі клітин, що секретують ГМ-КСФ, і альгенпантуселю-L, за участю пацієнтів із раком підшлункової залози, також виявили користь від імунотерапії. У додаткових клінічних випробуваннях зараз проводиться подальше дослідження ефективності протоколів введення різних вакцин (Salman et al., 2013).

Рак передміхурової залози

Терапевтична стратегія у випадку раку передміхурової залози головним чином залежить від стадії раку. Вакцина на основі дендритних клітин сіпулейцел-Т була першою протираковою вакциною, яка отримала схвалення Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами (FDA) США. Завдяки її позитивному впливу на виживаність пацієнтів із КРРПЗ багато зусиль було докладено для розробки інших засобів імунотерапії. Що стосується вакцинаційних стратегій, пептидна вакцина на основі простат-специфічного антигену (PSA)-TRICOM, персоналізована пептидна вакцина PPV, вакцина із ДНК pTVG-HP і вакцина GVAX на основі цільних клітин, які експресують ГМ-КСФ, продемонстрували багатообіцяючі результати у різних клінічних дослідженнях. Більш того, було показано, що вакцини на основі дендритних клітин, відмінні від сіпулейцелу-Т, а саме BPX-101 і DCVAC/Pa, викликають клінічні відповіді у пацієнтів, хворих на рак передміхурової залози. Інгібітори, які діють на імунні контрольні точки, такі як іпіліумаб і ніволумаб, у цей час проходять оцінку у клінічних дослідженнях як монотерапію, а також у комбінації з іншими методами лікування, включаючи андроген-деприваційну терапію, місцеву променеву терапію, PSA-TRICOM і GVAX. Речовина з імуномодуючими властивостями, тасквінімод, який значуще уповільнював прогресування і подовжував виживання без прогресування у дослідженні фази II, зараз проходить подальше дослідження фази III. Інший імуномодулятор, леналідомід, викликав багатообіцяючі ефекти у клінічних дослідженнях ранніх фаз, але виявився нездатним покращити виживаність у дослідженні фази III. Незважаючи на ці невтішні результати, продовжуються подальші випробування леналідоміду (Quinn et al., 2015).

Плоскоклітинна карцинома

Первинним лікуванням найчастіше є часткове або повне видалення ураженої(-их) нирки(-ок), яке залишається основою радикального лікування (Rini et al., 2008). Відома імуногенність НКК є підставою для застосування імунотерапії і протиракових вакцин за поширеної форми НКК. Цікавий факт кореляції між експресією PD-1 лімфоцитами і пізніми стадіями НКК, її ступеню злоякісності і прогнозом перебігу, а також селективною експресією PD-L1 пухлинними клітинами НКК і її можливого зв'язку з гіршими клінічними результатами привели до розробки нових засобів проти PD-1/PD-L1, які самостійно або в комбінації з анти-ангіогенними лікарськими

засобами або іншими імунотерапевтичними підходами можуть застосовуватися для лікування НКК (Massari et al., 2015). У хворих з поширеною формою НКК у дослідженні фази III протиракової вакцини під назвою TRIST оцінюється, чи може TroVax (вакцина з використанням пухлино-асоційованого антигену, 5T4, із вектором на основі поксвірусу), додана до стандарту терапії першої лінії, подовжити виживання пацієнтів з місцево-поширеною або метастатичною НКК. Медіана виживаності не була досягнута в жодній групі із 399 пацієнтів (54%), що залишилися у дослідженні, проте аналіз даних підтвердив попередні клінічні результати, продемонструвавши, що TroVax є імунологічно активною, так само як і те, що існує кореляція між інтенсивністю відповіді 5T4-специфічних антитіл і покращенням виживаності. Також проводяться декілька досліджень з пошуку пептидних вакцин з використанням епітопів, що надлишково експресуються у НКК.

Досліджувалися різні підходи до створення протипухлинних вакцин. На пацієнтах із НКК були проведені дослідження із застосуванням цілісних компонентів пухлин, включаючи лізати пухлинних клітин, злиття дендритних клітин з клітинами пухлини або РНК цільних клітин. У деяких із цих випробувань спостерігалася ремісія пухлинних уражень (Avigan et al., 2004; Holtl et al., 2002; Marten et al., 2002; Su et al., 2003; Wittig et al., 2001).

Дрібноклітинний рак легенів

Лікування і прогноз для ДРЛ сильно залежить від діагностованої стадії раку. Імунна терапія являє собою добре досліджений метод терапії раку. У лікуванні ДРЛ були вивчені різні підходи. Один із підходів націлений на блокування CTLA-4, засобу пригнічення природного імунітету людини. Інгібування CTLA-4 має на меті стимуляцію імунної системи для боротьби з раковим захворюванням. Нещодавно була почата розробка багатообіцяючих інгібіторів імунної контрольної точки для лікування ДРЛ. Інший підхід базується на протиракових вакцинах, які зараз доступні для лікування ДРЛ у клінічних дослідженнях (American Cancer Society, 2015; National Cancer Institute, 2015).

Гострий мієлоїдний лейкоз

Одним із варіантів лікування ГМЛ є націлювання на CD33 кон'югованих із антитілами лікарських препаратів (анти-CD33 + каліхеаміцин, SGN-CD33a, анти-CD33 + актиній-225), біспецифічних антитіл (що розпізнають CD33 + CD3 (AMG 330) або CD33 + CD16) і химерних антигенних рецепторів (CAR) (Estey, 2014).

Неходжкінська лімфома

Лікування НХЛ залежить від гістологічного типу і від стадії (National Cancer Institute, 2015): у хворих на лімфому можна спостерігати спонтанну регресію пухлини. Отже, варіантом лікування є імунотерапія (Palomba, 2012).

Важливі варіанти вакцинації включають вакцини на основі ідіотипів (Id вакцини). В-лімфоцити експресують на своїй поверхні імуноглобуліни з специфічною послідовністю амінокислот у варіабельних ділянках їх важких і легких ланцюгів, унікальною для кожного клону клітин (= ідіотип, Id). Ідіотип діє як пухлино-асоційований антиген.

Пасивна імунізація включає ін'єкцію рекомбінантних мишачих моноклональних антитіл проти Id самостійно або в комбінації з інтерфероном-альфа, ІЛ2 або хлорамбуцилом.

Активна імунізація включає ін'єкцію рекомбінантного білка (Id), кон'югованого з ад'ювантом (KLH), що вводиться разом із ГМ-КСФ як імунним ад'ювантом. Пухлино-специфічний Id отримують із культур гібридомних клітин або з використанням рекомбінантних ДНК (плазмід) шляхом експресії у клітинах бактерій, комах або ссавців.

Були проведені три клінічних дослідження фази III (Biovest, Genitope, Favril). У двох дослідженнях пацієнти отримували ритуксимаб. ГМ-КСФ вводили в усіх трьох дослідженнях. У дослідженні Biovest використовувався білок, отриманий за гібридомною технологією, у Genitope і Favril використовувався рекомбінантний білок. В усіх трьох дослідженнях Id був кон'югований з KLH. Тільки Biovest дало значущі результати.

Вакцини, відмінні від Id, включають раково-тестикулярні антигени MAGE, NY-ESO1 і PASD-1, В-клітинний антиген CD20 або клітинні вакцини. Останні зі згаданих містять ДК, оброблені апоптотичними пухлинними клітинами, лізатом пухлинних клітин, продукти злиття ДК і пухлинних клітин або ДК, злиті з РНК, отриманими з пухлин.

Вакцинація *in situ* включає вакцинацію внутрішньопухлинним CpG у комбінації з хіміотерапією або з опроміненими пухлинними клітинами, вирощеними у присутності ГМ-КСФ і збором/ експансією/ ре-інфузією Т-клітин.

Вакцинація антитілами, які змінюють імунологічні контрольні точки, проводиться антитілами проти CD40, OX40, 41BB, CD27, GITR (антитіла-агоністи, які безпосередньо підсилюють протипухлинну відповідь) або антитілами проти PD1, CTLA-4 (блокуючі антитіла, що інгібують контрольну точку, яка заважає імунній відповіді). Прикладами є іпіліумаб (антитіла проти

CTLA-4) і CT-011 (антитіла проти PD1) (Palomba, 2012).

Рак матки

Лікування карцином ендометрія залежить від стадії. Більшість карцином ендометрія охоплює добре або помірно диференційовані ендометріюїдні аденокарциноми, які зазвичай обмежені тілом матки на час діагнозу і які можна вилікувати шляхом гістеректомії (World Cancer Report, 2014).

Методи лікування раку шийки матки також залежать від стадії. На ранніх стадіях стандартом терапії є ексцизія, яку можна комбінувати з променевою (хіміо)терапією. Первинна променева (хіміо)терапія застосовується на пізніх стадіях (стадія III і вище), у випадках із інфільтрацією лімфовузлів або у разі неможливості проведення ексцизії пухлини.

Існують також декілька імунотерапевтичних підходів, які зараз проходять випробування. У клінічному дослідженні фаз I/II пацієнтів, що страждають на рак матки, вакцинували аутологічними дендритними клітинами (ДК), у які методом електропорації введена іРНК гена 1 пухлини Вільмса (WT1). За виключенням одного випадку місцевої алергічної реакції на ад'ювант, жодних несприятливих побічних ефектів не спостерігалось, і 3 з 6 пацієнтів показали імунну відповідь (Coosemans et al., 2013).

Як зазначено вище, папілома-вірусна інфекція (HPV) спричиняє ураження, які кінець кінцем призводять до раку шийки матки. Отже, онкобілки Е6 і Е7 вірусу HPV, які конститутивно експресуються в ураженнях високого ступеня злоякісності і ракових пухлинах і які необхідні для ініціювання і підтримання злоякісного фенотипу, вважаються багатообіцяючими мішенями для імунотерапевтичного підходу (Hung et al., 2008; Vici et al., 2014). У одному дослідженні для лікування метастатичного раку шийки матки застосовувалася терапія на основі адоптивного перенесення Т-клітин (АСТ). Пацієнти отримували інфузію Е6- і Е7-реактивних пухлино-інфільтруючих Т-клітин (TIL), що приводило до повної регресії у 2 і до часткової відповіді у 1 із 9 пацієнтів (Stevanovic et al., 2015). До того ж, повідомлялося, що внутріклітинні антитіла, націлені на Е7, блокують ріст пухлини у мишей (Accardi et al., 2014). Клінічні дослідження також проходять вакцини на основі пептидів, ДНК і ДК, націлені на Е6 і Е7 вірусу HPV (Vici et al., 2014).

Аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома

Холангіокарциному головним чином ідентифікують на пізніх стадіях, оскільки її важко діагностувати. Холангіокарцинома погано піддається лікуванню, і звичайно вона є летальною.

Рак жовчного міхура є найпоширенішим і найагресивнішим злоякісним захворюванням жовчних протоків у масштабах всього світу.

Рак сечового міхура

Стандартне лікування раку сечового міхура включає хірургію, променеву терапію, хіміотерапію і імунотерапію.

На стадіях 0 і 1 рак сечового міхура як правило лікують трансуретральною резекцією, що потенційно супроводжується інтравезикальною хіміотерапією і, необов'язково, проводиться інтравезикальне імунотерапевтичне лікування BCG (bacillus Calmette-Guérin).

Ефективний імунотерапевтичний підхід розроблений для лікування агресивного раку сечового міхура без інвазії у м'язову стінку (NMIBC). За цим підходом внутрішньопухирно у вигляді розчину вводять послаблену форму бактерії *Mycobacterium bovis* (bacillus Calmette-Guérin = BCG). Головний ефект лікування BCG полягає у значному довготривалому (до 10 років) захисту від рецидиву раку і у зниженій швидкості прогресування. У принципі, лікування BCG викликає місцеву запальну відповідь, яка стимулює клітинну імунну відповідь. Імунна відповідь на вакцину БЦЖ базується на наступних ключових етапах: інфікування уротеліальних клітин і клітин раку сечового міхура вакциною БЦЖ, за яким слідує підвищення експресії антиген-презентуючих молекул, індукція імунної відповіді, опосередкована вивільненням цитокінів, індукція протипухлинної активності шляхом залучення різних клітин імунної системи (відповідно до цього, цитотоксичні Т-лімфоцити, нейтрофіли, природні кілерні клітини і макрофаги) (Fuge et al., 2015; Gandhi et al., 2013).

Лікування BCG як правило добре переноситься пацієнтами, але може призводити до смерті, особливо пацієнтів із імунodefіцитом. Рефрактерність до BCG спостерігається приблизно у 30–40% пацієнтів (Fuge et al., 2015; Steinberg et al., 2016a). Лікування пацієнтів, для яких терапія BCG виявилася неефективною, становить велику проблему. Для пацієнтів, для яких терапія BCG виявилася неефективною, існує високий ризик розвитку пухлин, які інвазують м'язовий шар. Для пацієнтів, що не відповідають на терапію BCG, переважним варіантом є радикальна цистектомія (Steinberg et al., 2016b; von Rundstedt and Lerner, 2015). Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами (FDA) США схвалило хіміотерапевтичне лікування валрубцином як терапію другої лінії для пацієнтів, хворих на рак сечового міхура (без інвазії у м'язовий шар) (NMIBC), для яких терапія BCG виявилася неефективною і які бажають

зберегти сечовий міхур. Ряд інших варіантів терапії другої лінії є доступними або також проходять випробування, включаючи імунотерапевтичні лікарські препарати, такі як комбінації BCG-інтерферон або BCG-інгібітор контрольної точки, трансдермальна вакцинація pre-BCG, лікування комплексом MCNA нуклеїнової кислоти з *Mycobacterium phlei* клітинної стінки, моно- або комбінаційна хімотерапія різними препаратами, такими як мітоміцин С, гемцитабін, доцетаксел, наб-паклітаксел, епірубіцин, мітоміцин/гемцитабін, гемцитабін/доцетаксел, і хімотерапевтичні засоби, що вводяться за допомогою пристроїв, таких як термохіміо-, радіохіміо-, електрохімотерапія або фотодинамічна терапія (Fuge et al., 2015; Steinberg et al., 2016b; von Rundstedt and Lerner, 2015). Все ще необхідна подальша оцінка доступних терапевтичних засобів у клінічних дослідженнях.

У клінічних іспитах, які зараз продовжуються, досліджуються альтернативні варіанти лікування поширеного раку сечового міхура. Дослідження, які зараз проводяться, сконцентровані на розробці лікарських засобів, націлених на певні молекули, і імунотерапевтичних засобів. У межах таргетної терапії раку сечового міхура досліджуються ефекти інгібіторів сигнальних шляхів, пов'язаних із канцерогенезом (тобто mTOR, рецептори судинного ендотелію, фібробластів або епідермального фактора росту, інгібітори анти-ангіогенезних агентів або клітинного циклу). Розробка препаратів спрямованої дії, що чинять дію на молекулярному рівні, залишається проблемною у зв'язку з високим ступенем генетичної різноманітності раку сечового міхура. Головний напрямок сучасної імунотерапії – це розробка засобів блокади контрольних точок, таких як моноклональні антитіла проти PD1 і адоптивне перенесення Т-клітин (Knollman et al., 2015b; Grivas et al., 2015; Jones et al., 2016; Rouanne et al., 2016).

Пласкоклетинна карцинома голови та шиї

Пласкоклетинні карциноми голови та шиї (ПККГШ) є гетерогенними пухлинами з різною епідеміологією, етіологією і варіантами лікування (Economidou et al., 2016).

ПККГШ вважається імуносупресивним захворюванням, для якого характерні порушення регуляції імункомпетентних клітин і порушення секреції цитокінів (Economidou et al., 2016). Імунотерапевтичні стратегії відрізняються для HPV-негативних і HPV-позитивних пухлин.

У HPV-позитивних пухлинах вірусні онкобілки E6 і E7 являють собою добрі мішені, оскільки вони безперервно експресуються пухлинними клітинами і є важливими для підтримання статусу трансформації клітин HPV-позитивної ракової пухлини. Зараз проходять дослідження декілька засобів вакцинаційної терапії HPV-позитивної ПККГШ, включаючи вакцини на основі ДНК, пептидні вакцини і вакцини на основі дендритних клітин (ДК). До того ж, у клінічному дослідженні фази II, що зараз проводиться, досліджується ефективність стратегії lymphodepletion (деструкції лімфоцитів перед їх введенням), що супроводжується аутологічною інфузією TIL пацієнтам із HPV-позитивними пухлинами (Economidou et al., 2016).

У випадку HPV-негативних пухлин зараз використовуються і досліджуються декілька імунотерапевтичних стратегій. Цетуксимаб (химерне антитіло IgG1 проти рецептора EGFR) отримав схвалення Управління FDA для застосування у комбінації з хімотерапією як стандарт лікування першої лінії рецидивуючої/метастатичної ПККГШ. Зараз проходять оцінку інші моноклональні антитіла проти рецептора EGFR, включаючи панітумумаб, німотузумаб і залутумумаб, як засоби лікування ПККГШ. У клінічних іспитах досліджується застосування декількох інгібіторів імунних контрольних точок при ПККГШ. Вони включають наступні антитіла: іпілііумаб (антитіло проти CTLA-4), тремеліумаб (антитіло проти CTLA-4), пембролізумаб (антитіло проти PD-1), ніволумаб (антитіло проти PD-1), дурвалумаб (антитіло проти PD-1), антитіло проти KIR, урелумаб (антитіло проти CD137) і антитіло проти LAG-3.

У двох клінічних дослідженнях оцінювалося застосування ДК, навантажених пептидами p53 або апоптотичними пухлинними клітинами, у пацієнтів із ПККГШ. Імунні відповіді були задовільними, а побічні ефекти – прийнятними.

Було проведено кілька досліджень із застосуванням терапії на основі адоптивного перенесення Т-клітин (АСТ). Т-клітини індукували або проти опромінених аутологічних пухлинних клітин, або проти вірусу EBV. Результати стосовно контролю захворювання і загального виживання були багатообіцяючими (Economidou et al., 2016).

Зважаючи на важкі побічні ефекти і витрати, пов'язані з лікуванням раку, існує потреба ідентифікувати чинники, які можуть застосовуватися у лікуванні раку взагалі і гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК), колоректальної карциноми (КРК), гліобластоми (ГБ), раку шлунка (РШ), раку стравоходу, недрібноклітинного раку легенів (НДРЛ), раку підшлункової залози (РПШЗ), нирковоклітинної карциноми (НKK), доброякісної гіперплазії передміхурової залози (ДГПМЗ), раку передміхурової залози (РПМЗ), раку яєчника (РЯ), меланоми, раку молочної залози, хронічного лімфоцитарного лейкозу (ХЛЛ), карциноми з клітин Меркеля (ККМ), дрібноклітинного

раку легенів (ДРЛ), неходжкінської лімфоми (НХЛ), гострого мієлоїдного лейкозу (ГМЛ), раку жовчного міхура і холангіокарциноми (РЖМ, ХГК), раку сечового міхура (РСМ), раку матки (РМ), пласкоклітинної карциноми голови та ший (ПККГШ) зокрема. Є також потреба в ідентифікації інших чинників, які виконують роль біомаркерів раку взагалі і вищезгаданих видів ракових захворювань зокрема, які забезпечать кращу діагностику раку, оцінку прогнозу і передбачення успіху лікування.

Імунотерапія раку являє собою варіант специфічного націлювання на ракові клітини, у той же час зводячи до мінімуму побічні ефекти. У імунотерапії раку використовується існування пухлино-асоційованих антигенів.

Сучасна класифікація пухлино-асоційованих антигенів (ТАА) охоплює наступні головні групи:

а) Раково-тестикулярні антигени: Перші будь-коли ідентифіковані ТАА, які можуть бути розпізнані Т-клітинами, належать до цього класу, які були спочатку названі раково-тестикулярними (СТ) антигенами завдяки експресії його представників у гістологічно різних пухлинах людини і, поряд із нормальними тканинами, тільки в сперматоцитах/сперматогоніальних клітинах яєчок і іноді в плаценті. Оскільки клітини яєчок не експресують молекули HLA I та II класу, ці антигени не можуть розпізнаватися Т-клітинами у нормальних тканинах і можуть, таким чином, вважатися пухлинно-специфічними, з точки зору імунології. Добре відомими прикладами СТ антигенів є члени сімейства MAGE і NY-ESO-1.

б) Антигени диференціації: Ці ТАА розподілені між пухлинами та нормальними тканинами, з яких виникла пухлина. Більшість з відомих антигенів диференціації знайдена в меланомах і нормальних меланоцитах. Багато цих білків, пов'язаних із диференціацією у меланоцити, беруть участь у біосинтезі меланіну і тому не є пухлинно-специфічними, але, тим не менше, широко застосовуються для імунотерапії раку. Приклади включають, без обмеження, тирозиназу і Melan-A/MART-1 для меланоми або ПСА для раку передміхурової залози.

в) Надмірно експресовані ТАА: Гени, що кодують ТАА, які широко експресуються, були виявлені в гістологічно різних типах пухлин, а також у багатьох нормальних тканинах, загалом з нижчими рівнями експресії. Можливо, що багато епітопів, що були процесовані і, можливо, презентовані нормальними тканинами, присутні у кількості, що нижча за пороговий рівень розпізнання Т-клітинами, в той час як їх надекспресія в пухлинних клітинах може запустити антиракову реакцію, порушивши раніш встановлену толерантність. Відомими прикладами для цього класу ТАА є Her-2/neu, сурвівін, теломераза або WT1.

г) Пухлинно-специфічні антигени: Ці унікальні ТАА утворюються в результаті мутацій нормальних генів (таких як бета-катенін, CDK4 тощо). Деякі з цих молекулярних змін зв'язані з неопластичною трансформацією і (або) прогресуванням пухлини. Пухлинно-специфічні антигени загалом можуть викликати сильні імунні відповіді, не спричиняючи ризику аутоімунних реакцій проти нормальних тканин. З іншого боку, ці ТАА у більшості випадків мають відношення тільки до певної пухлини, на якій вони були ідентифіковані, і зазвичай не є спільними для багатьох окремих пухлин. Специфічність пептиду до пухлини (або асоціація з пухлиною) може також виникати, якщо пептид походить із екзону пухлини (пухлино-асоційованого екзону) у випадку білків з пухлиноспецифічними (-асоційованими) ізоформами.

д) ТАА, що виникають в результаті посттрансляційних модифікацій: Такі ТАА можуть виникати з білків, які не є ні специфічними, ні надмірно експресованими у пухлинах, але, незважаючи на це, стають асоційованими з пухлинами в результаті посттрансляційних процесів, первинно активних у пухлинах. Прикладами ТАА цього класу є антигени, що виникають в результаті змін характеру глікозилювання, що приводить до утворення у пухлинах нових епітопів, таких як MUC1, або таких подій як білковий сплайсинг під час деградації, які можуть бути пухлинно-специфічними, а можуть і не бути.

е) Онковірусні білки: Ці ТАА є вірусними білками, які можуть відігравати вирішальну роль в онкогенному процесі і, оскільки вони є чужорідними (не походять від людини), вони можуть викликати відповідь Т-клітин. Прикладами таких білків є білки вірусу папіломи людини типу 16, E6 і E7, які експресуються клітинами карциноми шийки матки.

Мішенями імунотерапії з використанням Т-клітин є пептидні епітопи, отримані з пухлино-асоційованих або пухлинно-специфічних білків, які презентуються молекулами головного комплексу гістосумісності (МНС). Антигенами, які розпізнаються пухлинно-специфічними Т-лімфоцитами, тобто їхніми епітопами, можуть бути молекули, що отримані з усіх класів білків, таких як ферменти, рецептори, фактори транскрипції тощо, які експресуються і, у порівнянні з незміненими клітинами того ж походження, активність яких підвищена у клітинах відповідної пухлини.

Існує два класи молекул МНС, МНС I класу і МНС II класу. Молекули МНС I класу складаються з альфа-важких ланцюгів і бета-2-мікроглобуліну, молекули МНС II класу

складаються з альфа- і бета-ланцюгів. Їхня тримірна конформація приводить до утворення зв'язувальної щілини, що використовується для нековалентної взаємодії з пептидами.

Молекули МНС I класу можна виявити в більшості клітин, що мають ядро. Вони презентують пептиди, які утворюються в результаті розщеплення протеолітичними ферментами переважно ендогенних білків, дефектних рибосомальних продуктів (DRIP) та більш великих пептидів. Однак пептиди, одержані з ендосомальних компартментів чи екзогенних джерел, також часто зустрічаються на молекулах МНС I класу. Цей неklasичний спосіб презентації I класом називається у науковій літературі крос-презентацією (Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990). Молекули МНС II класу містяться головним чином на професійних антигенпрезентуючих клітинах (АПК) і презентують головним чином пептиди екзогенних або трансмембранних білків, які поглинаються АПК в ході ендоцитозу і згодом процесуються.

Комплекси пептидів і молекул МНС I класу розпізнаються CD8-позитивними Т-клітинами, що несуть відповідний Т-клітинний рецептор (ТКР), в той час як комплекси пептиду і молекул МНС II класу розпізнаються CD4-позитивними Т-хелперами, що несуть відповідний ТКР. Загальновідомо, що ТКР, пептид і МНС, таким чином, є присутніми у стехіометричних кількостях у співвідношенні 1:1:1.

CD4-позитивні Т-хелпери відіграють важливу роль, викликаючи та підтримуючи ефективну відповідь CD8-позитивних цитотоксичних Т-клітин. Ідентифікація епітопів CD4-позитивних Т-клітин, отриманих із пухлино-асоційованих антигенів (ТАА), може мати велике значення під час розробки фармацевтичних засобів для ініціювання протипухлинних імунних реакцій (Gnjatic et al., 2003). У місці локалізації пухлини Т-хелперні клітини підтримують сприятливе для цитотоксичних Т-клітин (ЦТЛ) цитокінове середовище (Mortara et al., 2006) і притягують ефекторні клітини, такі як ЦТЛ, природні кілерні (NK) клітини, макрофаги і гранулоцити (Hwang et al., 2007).

За відсутності запалення експресія молекул МНС II класу обмежується головним чином клітинами імунної системи, особливо професійними антиген-презентуючими клітинами (АПК), наприклад, моноцитами, клітинами, що походять з моноцитів, макрофагами, дендритними клітинами. Було виявлено, що клітини пухлин у хворих на рак пацієнтів експресують молекули МНС II класу (Dengjel et al., 2006).

Подовжені пептиди за винаходом можуть діяти як епітопи, активні по відношенню до молекул МНС II класу.

Т-хелперні клітини, активовані зв'язаними з молекулами МНС II класу епітопами, відіграють важливу роль в регуляції ефекторної функції ЦТЛ у протипухлинному імунітеті. Епітопи Т-хелперних клітин, які ініціюють реакцію Т-хелперів типу TH1, підтримують ефекторні функції CD8-позитивних Т-кілерів, котрі включають цитотоксичні функції, спрямовані проти клітин пухлини, що презентують комплекси пухлино-асоційованого пептиду/МНС на поверхнях своїх клітин. У такий спосіб епітопи пухлино-асоційованих пептидів Т-хелперів самостійно або в комбінації з іншими пухлино-асоційованих пептидами можуть служити активними фармацевтичними інгредієнтами композицій вакцин, які стимулюють протипухлинні імунні реакції.

На моделях тварин-ссавців, наприклад, на мишах, було показано, що навіть за відсутності CD8-позитивних Т-лімфоцитів, присутності CD4-позитивних Т-клітин виявляється достатньо для послаблення клінічних проявів пухлин шляхом інгібування ангіогенезу за рахунок секреції інтерферону-гамма (ІФН-γ) (Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999). Існують докази, що CD4 Т-клітини є ефекторними клітинами прямої протипухлинної дії (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014).

Оскільки конститутивна експресія молекул HLA II класу зазвичай обмежується клітинами імунної системи, раніше вважалося неможливим виділити пептиди II класу безпосередньо з первинних пухлин. Однак Dengjel і співавт. вдалося ідентифікувати декілька зв'язаних з молекулами МНС II класу епітопів безпосередньо із пухлин (WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1).

Оскільки обидва типи відповіді, залежні від CD8 та CD4, спільно та синергічно роблять свій внесок у протипухлинну дію, для розробки протипухлинних вакцин важливими є ідентифікація та визначення характеристик пухлино-асоційованих антигенів, які розпізнаються або CD8+ Т-клітинами (ліганд: молекули МНС I класу + пептидний епітоп), або CD4- позитивними Т-хелперними клітинами (ліганд: молекули МНС II класу + пептидний епітоп).

Щоб пептид, зв'язаний з молекулою МНС I класу, ініціював (викликав) клітинну імунну відповідь, він також має зв'язатися з молекулою МНС. Цей процес залежить від алетя молекули МНС і специфічних поліморфізмів амінокислотної послідовності пептиду. Пептиди, що зв'язуються з молекулами МНС I класу, зазвичай мають 8-12 амінокислотних залишків у довжину і зазвичай містять два консервативні залишки («якорі») у своїй послідовності, які

взаємодіють з відповідною зв'язувальною щільною молекулою МНС. У такий спосіб кожний алель МНС має «зв'язувальний мотив», що визначає, які пептиди зможуть специфічно зв'язатися зі зв'язувальною щільною.

В імунній реакції, залежній від молекул МНС I класу, пептиди не тільки мають бути здатними зв'язатися з певними молекулами МНС I класу, що експресуються клітинами пухлини, але вони також мають розпізнаватися Т-клітинами, що несуть специфічний Т-клітинний рецептор (ТКР).

Для того, щоб білки розпізнавалися Т-лімфоцитами як пухлино-специфічні або пухлино-асоційовані антигени, та щоб їх було можливо застосовувати в терапії, необхідно створити особливі передумови. Антиген має експресуватися, головним чином, пухлинними клітинами і не експресуватися або експресуватися у порівняно невеликих кількостях нормальними здоровими тканинами. В переважному втіленні вищезгаданий пептид має надмірно презентуватися пухлинними клітинами у порівнянні з нормальними здоровими тканинами. До того ж бажано, щоб відповідний антиген не тільки був присутнім у пухлині певного типу, але також був присутнім у високих концентраціях (тобто як декілька копій відповідного пептиду на клітину). Пухлино-специфічні та пухлино-асоційовані антигени часто отримують із білків, які беруть безпосередню участь у трансформації нормальної клітини в пухлинну клітину, завдяки їх функції, наприклад, в контролі клітинного циклу або пригніченні апоптозу. Крім цього, низхідні мішені білків, що також є безпосередньою причиною трансформації, можуть мати підвищену експресію і, таким чином, можуть бути опосередковано пухлино-асоційованими. Такі опосередковано пухлино-асоційовані антигени також можуть бути мішенями у вакцинаційному підході (Singh-Jasuja et al., 2004). Важливим є те, щоб в амінокислотній послідовності антигену були присутні епітопи, оскільки такий пептид («імуногенний пептид»), отриманий із пухлино-асоційованого антигену, має приводити до відповіді Т-клітин *in vitro* або *in vivo*.

По суті, будь-який пептид, що здатний зв'язуватися з молекулою МНС, може відігравати роль епітопу Т-клітини. Передумовою індукції відповіді Т-клітин *in vitro* або *in vivo* є присутність Т-клітин із відповідним ТКР і відсутність імунологічної толерантності до цього конкретного епітопу.

Таким чином, ТАА є стартовою точкою для розробки Т-клітинної терапії, включаючи, але не обмежуючись ними, протипухлинні вакцини. Методи ідентифікації та визначення характеристик ТАА зазвичай базуються на використанні Т-клітин, які можна виділити з організму пацієнтів або здорових суб'єктів, або вони ґрунтуються на генерації різних профілів транскрипції або різному характері експресії пептидів тканинами пухлин і нормальними тканинами. Проте ідентифікація генів, які надмірно експресуються пухлинними тканинами або лініями пухлинних клітин людини, або селективно експресуються в таких тканинах або клітинних лініях, не дає точної інформації щодо використання антигенів, що кодуються цими генами, в імунній терапії. Причиною цього є те, що тільки окрема субпопуляція епітопів цих антигенів придатна для такого застосування, оскільки має бути присутня Т-клітина з відповідним ТКР, і імунологічна толерантність по відношенню до цього епітопу повинна бути відсутньою або мінімальною. Отже, у більш переважному втіленні цього винаходу важливо вибрати тільки ті надмірно або селективно презентовані пептиди, проти яких можна знайти функціонуючу Т-клітину і (або) Т-клітину, здатну до проліферації. Така функціонуюча Т-клітина визначається як Т-клітина, яка за стимуляції специфічним антигеном може бути клонована і здатна виконувати функції ефектору («ефекторна Т-клітина»).

У випадку націлювання специфічних ТКР (наприклад, розчинних ТКР) і антитіл або інших зв'язувальних молекул (каркасів) за цим винаходом імуногенність базових пептидів є вторинною. У цих випадках визначальним фактором є презентація.

КОРОТКЕ ФОРМУЛЮВАННЯ СУТНОСТІ ВИНАХОДУ

Згідно з першим аспектом цього винаходу, пропонується пептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або варіант його послідовності, який принаймні на 77%, переважно принаймні на 88 % гомологічний (переважно принаймні на 77% або принаймні на 88 % ідентичний) послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, де згаданий варіант зв'язується з МНС і (або) викликає перехресну реакцію Т-клітин із згаданим пептидом або його фармацевтично прийнятною сіллю, де згаданий пептид не є базовим повнорозмірним поліпептидом.

У той час як найважливішим критерієм виконання пептидом функції мішені для ракової терапії є його надмірна презентація на тканинах первинних пухлин у порівнянні з нормальними тканинами, при виборі відповідних пептидів інформативним є також профіль експресії РНК відповідного гена. Зокрема, деякі пептиди важко виявити мас-спектрометрією, або у зв'язку з їх хімічними властивостями, або у зв'язку з невеликою кількістю їх копій на клітинах, і скринінговий підхід, спрямований на виявлення присутності пептидів, може виявитися невдалим для

ідентифікації цих мішеней. Однак ці мішені можна виявити за допомогою альтернативного підходу, що починається з аналізу експресії генів у нормальних тканинах і завершується оцінкою презентації пептидів і генної експресії у пухлинах. Цей підхід був реалізований у цьому винаході шляхом використання бази даних iPHK (Lonsdale, 2013) у комбінації з додатковими даними генної експресії (включаючи зразки пухлин), а також дані презентації пептидів. Якщо iPHK гена практично відсутня у нормальних тканинах, особливо у системах життєво важливих органів, більш ймовірно, що націлювання на відповідні пептиди навіть дуже ефективними засобами (такими як біспецифічні оптимізовані за афінністю антитіла або Т-клітинні рецептори) буде безпечним. Такі пептиди, навіть якщо вони ідентифіковані лише у невеликому відсотку пухлинних тканин, являють собою цікаві мішені. Стандартний мас-спектрометричний аналіз є недостатньо чутливим, щоб оцінити ступінь охоплення цільових мішеней на рівні пептидів. Скоріше для оцінки охоплення може використовуватися експресія iPHK пухлиною. Для детекції самого пептиду може виявитися необхідним застосувати підхід з таргетною мас-спектрометрією, що має більшу чутливість у порівнянні з традиційним скринінгом, який може забезпечити кращу оцінку охоплення на рівні презентації пептидів.

Цей винахід також стосується пептиду, що містить послідовність, вибрану з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або його варіанту, який принаймні на 77 %, переважно принаймні на 88% гомологічний (переважно принаймні на 77 % або принаймні на 88% ідентичний) послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, де згаданий пептид або його варіант має загальну довжину між 8 і 100, переважно між 8 і 30 і найбільш переважно між 8 і 14 амінокислот.

У нижче наведеній таблиці описані пептиди за цим винаходом, їх відповідні SEQ ID NO і очікувані вихідні (основні) гени для пептидів. Усі пептиди у **Помилка! Джерело посилання не знайдено.**А і **Помилка! Джерело посилання не знайдено.**А зв'язуються з HLA-A*02. Пептиди у Таблиці 1В і Таблиці 2Г зв'язуються з HLA-A*24. Пептиди у Таблиці 1Б зв'язуються алелями HLA II класу. Пептиди, наведені у **Помилка! Джерело посилання не знайдено.**, є додатковими пептидами, які зв'язуються з HLA-A*24 і які доцільно *використовувати у комбінації з іншими пептидами за винаходом.*

Таблиця 1А

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*02

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
1	PLWGVFYLYs	10926	DBF4
2	ALYGKLLKL	157680	VPS13B
3	TLLGKQVTL	157680	VPS13B
4	ELAEIVFKV	203427,349075,51373	SLC25A43, ZNF713, MRPS17
5	SLFGQEVYC	10840	ALDH1L1
6	FLDPAQRDL	57677	ZFP14
7	AAAAKVPEV	23382	AHCYL2
8	KLGPFLNLA	100508781,653199,9747	FAM115B, FAM115A
9	FLGDYVENL	54832	VPS13C
10	KTLDVFNIL	54832	VPS13C
11	GVLKVFLNV	121504,554313,8294,8359,8360,8361,8362,8363,8364,8365,8366,8367,8368,8370	HIST4H4, HIST2H4B, HIST1H4I, HIST1H4A, HIST1H4D, HIST1H4F, HIST1H4K, HIST1H4J, HIST1H4C, HIST1H4H, HIST1H4B, HIST1H4E, HIST1H4L, HIST2H4A
12	GLIYEETRGV		
13	VLRDNIQGI		
14	LLDHLSFINKI	64863	METTL4
15	ALGDYVHAC	4588	MUC6
16	HLYNNEEQV	101060798,1645,8644	AKR1C1, AKR1C3
17	ILHEHHIFL	4233	MET
18	YVLNEEDLQKV	4233	MET
19	TLLPTVLTL	127707	KLHDC7A
20	ALDGHLYAI	127707	KLHDC7A
21	SLYHRVLLY	57221	KIAA1244
22	MLSDLTLQL	57221	KIAA1244
23	AQTVVVIKA	101059911,4586,727897	MUC5AC, MUC5B

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*02

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
24	FLWNGEDSAL	4586,727897	MUC5AC, MUC5B
25	IQADDFRTL	101059911,4586,727897	MUC5AC, MUC5B
26	KVDGVVIQL	101059911,4586,727897	MUC5AC, MUC5B
27	KVFGDLQV	169611	OLFML2A
28	TLYSMDLMKV	169611	OLFML2A
29	TLCNKTFTA	26137	ZBTB20
30	TVIDECTRI	26137	ZBTB20
31	ALSDETKNNWEV	5591	PRKDC
32	ILADEAFFSV	5591	PRKDC
33	LLLPLLPPLSPSLG	347252	IGFBPL1
34	LLPKKTESHKKT	8330,8331	HIST1H2AK, HIST1H2AJ
35	YVLPKLYVKL	100128168,100996747,441502,6231,643003,644166,644928,644934,646753,728937,729188	RPS26P39, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P20, RPS26P15, RPS26P50, RPS26P2, RPS26P25, RPS26P58
36	KLYGIEIEV	56107	PCDHGA9
37	ALINDILGELVKL	85463	ZC3H12C
38	KMQEDLVTL	781	CACNA2D1
39	ALMAVVSGL	55103	RALGPS2
40	SLLALPQDLQA	1364,1365,23562,9074,9080	CLDN4, CLDN3, CLDN14, CLDN6, CLDN9
41	FVLPLVVT	2848	GPR25
42	VLSPFILTL	113730	KLHDC7B
43	LLWAGPVTA	28603	TRBV6-4
44	GLLWQIIKV	5357	PLS1
45	VLGPTPELV	100124692	
46	SLAKHGIVAL	10693	CCT6B
47	GLYQAQVNL	89886	SLAMF9
48	TLDHKPVT	203447	NRK
49	LLDESKLTL	64097	EPB41L4A
50	EYALLYHTL	26	ABP1
51	LLLDGDFTL	347051	SLC10A5
52	ELLSSIFFL	160418	TMTC3
53	SLLSHVIVA	545	ATR
54	FINPKGWNLL	3673	ITGA2
55	IASAIVNEL	57448	BIRC6
56	KILDLTRVL	79783	C7orf10
57	VLISSTVRL	166379	BBS12
58	ALDDSLTSL	2302	FOXJ1
59	ALTKILAE	339766	MROH2A
60	FLIDTSASM	203522,26512	DDX26B, INTS6
61	HLPDFVKQL	9857	CEP350
62	SLFNQEVQI	100528032,22914,8302	KLRK1, KLRC4
63	TLSSERDFAL	100293534,720,721	C4A,C4B
64	GLSSSSYEL	89866	SEC16B
65	KLDGICWQV	733	C8G
66	FITDFYTTV	80055	PGAP1
67	GVIETVTS	79895	ATP8B4
68	ALYGFFFKI	118663	BTBD16
69	GIYDGILHSI	158809,392433	MAGEB6, MAGEB6P1
70	GLFSQHFNL	1789	DNMT3B
71	GLITVDIAL	84162	KIAA1109
72	GMIGFQVLL	6006,6007	RHCE,RHD

Таблиця 1А

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*02

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
73	GVPDTIATL	23120	ATP10B
74	ILDETLNV	167227	DCP2
75	ILDNVKNLL	4602	MYB
76	ILLDESNFNHFL	222584	FAM83B
77	IVLSTIASV	10559,154313	SLC35A1, C6orf165
78	LLWGHPRVA	25878	MXRA5
79	SLVPLQILL	101060288,101060295,101060308,343068,343070,400735,440560,440561,441873,645359,653619,729368	PRAMEF5, PRAMEF9, PRAMEF4, PRAMEF11, PRAMEF6, PRAMEF15, PRAMEF23
80	TLDEYLTYL	101060308,343068,343070,653619	PRAMEF5, PRAMEF9, PRAMEF15
81	VLFLGKLLV	204962	SLC44A5
82	VLLRVLIL	102	ADAM10
83	ELLEYPQL	5288	PIK3C2G
84	FLEEEITRV	6570	SLC18A1
85	STLDGSLHAV	2081	ERN1
86	LLVTSLVVV	118471,118472	PRAP1, ZNF511
87	YLTEVFLHVV	55024	BANK1
88	ILLNTEDLASL	388015	RTL1
89	YLVAHNLLL	9365	KL
90	GAVAEVLSSI	340273	ABCB5
91	SSLEPQIQPV	23029	RBM34
92	LLRGPPVARA	3486	IGFBP3
93	SLLTQPIFL	151295	SLC23A3

Таблиця 1Б

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують молекули HLA II класу.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
94	LKMENKEVLPQLVDAVTS	4547	MTTP
95	GLYLPLFKPSVSTSKAIGGGP	10165	SLC25A13

Таблиця 1В

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
96	YYTQYSQTI	25878	MXRA5
97	TYTFLKETF	203238	CCDC171
98	VFPRLHNVLF	9816	URB2
99	QYILAVPVL	91147	TMEM67
100	VYIESRIGHTSTSF	10112	KIF20A
101	IYIPVLPPHL	163486	DENND1B
102	VYPFENFEF	127700	OSCP1
103	NYIPVKNGKQF	3096	HIVEP1
104	SYLTWHQQI	125919	ZNF543
105	IYNETITDLL	1062	CENPE
106	IYNETVRDLL	3833	KIFC1
107	KYFPYLVVI	80131	LRRC8E
108	PYLVVIHTL	80131	LRRC8E

Таблиця 1В

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
109	LFITGGQFF	114134	SLC2A13
110	SYPKIIEEF	2177	FANCD2
111	VYVQILQKL	4998	ORC1
112	IYNFVESKL	4998	ORC1
113	IYSFHTLSF	55183	RIF1
114	QYLDGTWSL	55083	KIF26B
115	RYLNKSFVL	63926	ANKRD5
116	AYVIAVHLF	10178	TENM1
117	IYLSDLTYI	55103	RALGPS2
118	KYLNSVQYI	55103	RALGPS2
119	VYRVYVTTF	57089	ENTPD7
120	GYIEHFSLW	5069	PAPPA
121	RYGLPAAWSTF	79713	IGFLR1
122	EYQARIPEF	55758	RCOR3
123	VYTPVLEHL	5591	PRKDC
124	TYKDYVDLF	5591	PRKDC
125	VFSRDFGLLVF	5591	PRKDC
126	PYDPALGSPSRLF	389058	SP5
127	QYFTGNPLF	3237	HOXD11
128	VYPFDWQYI	7941	PLA2G7
129	KYIDYLMTW	55233,92597	MOB1A, MOB1B
130	VYAHYHQHF	55233,92597	MOB1A, MOB1B
131	EYLDRIQQLFF	51608	GET4
132	RYPALFPVL	11237	RNF24
133	KYLEDMKTYF	5273	SERPINB10
134	AYIPTPIYF	81796	SLCO5A1
135	VYEAMVPLF	85465	EPT1
136	IYPEWPVFFF	51146	A4GNT
137	EYLNCSYF	25909,285116	AHCTF1, AHCTF1P1
138	VYNAVSTSF	79915	ATAD5
139	IFGIFPNQF	79895	ATP8B4
140	RYLINSYDF	84002	B3GNT5
141	SYNGHLTIWF	56245	C21orf62
142	VYVDDIYVI	57082	CASC5
143	KYIFQLNEI	347475	CCDC160
144	VFASLPGFLF	1233	CCR4
145	VYALKVRTI	1237	CCR8
146	NYYERIHAI	8832	CD84
147	LYLAFPLAF	253782	CERS6
148	SYGTVSQIF	23601	CLEC5A
149	SYGTVSQI	23601	CLEC5A
150	IYITRQFVQF	81501	DCSTAMP
151	AYISGLDVF	8632	DNAH17
152	KFFDDLGDLELF	8632	DNAH17
153	VYVPFGGKSMITF	146754	DNAH2
154	VYGVPTPHF	151651	EFHB
155	IYKWITDNF	2302	FOXJ1
156	YYMELTKLLL	51659	GINS2

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
157	DYIPASGFALF	84059	GPR98
158	IYEETRGVLKVF	121504, 554313, 8294, 8359, 8360, 8361, 8362, 8363, 8364, 8365, 8366, 8367, 8368, 8370	HIST4H4, HIST2H4B, HIST1H4I, HIST1H4A, HIST1H4D, HIST1H4F, HIST1H4K, HIST1H4J, HIST1H4C, HIST1H4H, HIST1H4B, HIST1H4E, HIST1H4L, HIST2H4A
159	IYEETRGVL		
160	RYGDGGSSF	3188	HNRNPH2
161	KYPDIVQQF	29851	ICOS
162	KYTSYLAF	3458	IFNG
163	RYLTISNLQF	28785	IGLV4-60
164	HYVPATKVF	259307	IL4I1
165	EYFTPLLSGQF	55175	KLHL11
166	FYTLPFHLI	55175	KLHL11
167	RYGFYYVEF	197021	LCTL
168	RYLEAALRL	10609	LEPREL4
169	NYITGKGDFV	84125	LRRIQ1
170	QYPFHVPLL	4049	LTA
171	NYEDHFPLL	4109	MAGEA10
172	VFIFKGNEF	4319	MMP10
173	QYLEKYYNL	4319	MMP10
174	VYEKNGYIYF	4322	MMP13
175	LYSPVPFTL	387521	TMEM189
176	FYINGQYQF	55728	N4BP2
177	VYFKAGLDVF	254827	NAALADL2
178	NYSSAVQKF	4983	OPHN1
179	TYIPVGLGRLL	58495	OVOL2
180	KYLQVVGMF	5021	OXTR
181	VYPPYLYNL	5241	PGR
182	AYAQLGYLLF	9033	PKD2L1
183	PYLQDVPI	92340	C17orf72
184	IYVGAFENF	389677	RBM12B
185	QYLVHVNDL	23322	RPGRIP1L
186	VFTTSSNIF	10371	SEMA3A
187	AYAANVHYL	151473	SLC16A14
188	GYKTFFNEF	64078	SLC28A3
189	AYFKQSSVF	54790	TET2
190	LYSELTETL	54790	TET2
191	TYPDGTYTGRIF	201633	TIGIT
192	RYSTFSEIF	8277	TKTL1
193	LYLENNAQTQF	8626	TP63
194	VYQSLNSNL	286827	TRIM59
195	AYIKGGWIL	125488	TTC39C
196	GYIRGSWQF	79465	ULBP3
197	IFTDIFHYL	54464	XRN1
198	DYVGFTLKI	19	ABCA1
199	SYLNHLNNL	154664	ABCA13
200	VFIHHLPOF	116285	ACSM1
201	GYNPNRVFF	158067	AK8
202	RYVEGIVSL	246	ALOX15
203	VYNVEVKNAEF	84250	ANKRD32

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
204	EYLSTCSKL	196528	ARID2
205	VYPVVLNQI	79798	ARMC5
206	NYLDVATFL	10973	ASCC3
207	LYSDAFKFIVF	344905	ATP13A5
208	TYLEKIDGF	100526740,26024,9551	ATP5J2-PTCD1, PTCD1, ATP5J2
209	AFIETPIPLF	631	BFSP1
210	IYAGVGEFSF	701	BUB1B
211	VFKSEGAYF	375444	C5orf34
212	SYAPPSDLF	100533105,23678	SGK3
213	SYAPPSDLFL	100533105,23678	SGK3
214	KYLMELTLI	9133	CCNB2
215	SYVASFFLL	9398	CD101
216	FYVNVKEQF	79682	MLF1IP
217	IYISNSIYF	54967	CXorf48
218	LYSELNKWSF	1591	CYP24A1
219	SYLKAVFNL	163720,199974	CYP4Z2P, CYP4Z1
220	SYSEIKDFL	64421	DCLRE1C
221	KYIGNLDLL	8701	DNAH11
222	HYSTLVHMF	8701	DNAH11
223	TFITQSPLL	1767	DNAH5
224	PYFFANQEF	79843	FAM124B
225	TYTNTLERL	55719	FAM178A
226	MYLKLVLQF	2175	FANCA
227	IYRFITERF	2301	FOXE3
228	IYQYVADNF	2299	FOXI1
229	IYQFVADSF	344167	FOXI3
230	TYGMVMVTF	84059	GPR98
231	AFADVSVKF	84059	GPR98
232	YYLSDSPLL	51512	GTSE1
233	QYLTAALHNL	3552	IL1A
234	SYLPAIWLL	3641	INSL4
235	VYKDSIYYI	84541	KBTBD8
236	VYLPKIPSW	157855	KCNU1
237	KYVGQLAVL	9928	KIF14
238	SYLEKVRQL	100653049,3881,3883,3884,3885,3886	KRT31, KRT33A, KRT33B, KRT34, KRT35
239	VYAIFRILL	987	LRBA
240	YYFFVQEKI	84944	MAEL
241	SYVKVLHHL	101060230,4111	MAGEA12
242	VYGEPRELL	392555,51438	MAGEC2
243	SYLELANTL	4163	MCC
244	VHFEDTGKTLLF	4322	MMP13
245	LYPQLFVVL	377711,727957	MROH1
246	KYLSVQLTL	339766	MROH2A
247	SFTKTSPNF	200958	MUC20
248	AFPTFSVQL	4588	MUC6
249	RYHPTTCTI	4608	MYBPH
250	KYPDIASPTF	89795	NAV3
251	VYTKALSSL	64151	NCAPG
252	AFGQETNVPLNNF	4695	NDUFA2
253	IYGFFNENF	10886	NPFFR2

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
254	KYLESSATF	91181	NUP210L
255	VYQKIILKF	139135	PASD1
256	VFGKSAYLF	118987	PDZD8
257	IFIDNSTQPLHF	5288	PIK3C2G
258	AYAQLGYLL	9033	PKD2L1
259	YFIKSPPSQLF	79949	PLEKHS1
260	VYMNVMTRL	5523	PPP2R3A
261	GYIKLINFI	10196	PRMT3
262	VYSSQFETI	23362	PSD3
263	RYILENHDF	442247	RFPL4B
264	LYTETRLQF	26150	RIBC2
265	SYLNEAFSF	286205	SCAI
266	KYTDWTEFL	57713	SFMBT2
267	SFLNIEKTEILF	347051	SLC10A5
268	IFITKALQI	159371	SLC35G1
269	QYPYLQAFF	146857	SLFN13
270	YYSQESKVLYL	55181	SMG8
271	RFLMKSYSF	8435	SOAT2
272	RYVFPLPYL	8403	SOX14
273	IYGEKLQFIF	57405	SPC25
274	KQLDIANYELF	51430	SUCO
275	KYGTLDVTF	255928	SYT14
276	QYLDVLHAL	51256	TBC1D7
277	FYTFPFQQL	6996	TDG
278	KYVNLVMYF	116238	TLCD1
279	VWLPASVLF	85019	TMEM241
280	TYNPNLQDKL	5651	TMPRSS15
281	NYSPGLVSLIL	28677	TRAV9-2
282	NYLVDPVTI	129868,653192	TRIM43, TRIM43B
283	EYQEIFQQL	129868,653192	TRIM43, TRIM43B
284	DYLKDPVTI	391712,653794	TRIM61, TRIM60P14
285	VYVGDALLHAI	7223	TRPC4
286	SYGTILSHI	54986	ULK4
287	IYNPNLLTASKF	81839	VANGL1
288	VYPDTVALTF	284403	WDR62
289	FFHEGQYVF	389668	XKR9
290	KYGDFKLLEF	143570	XRRA1
291	YYLGSGRETF	152002	XXYLT1
292	FYPQIINTF	79776	ZFHx4
293	VYPHFSTTNLI	79776	ZFHx4
294	RFPVQGTVTF	79818	ZNF552
295	SYLVIHERI	84775	ZNF607
296	SYQVIFQHF	344905	ATP13A5
297	TYIDTRTVF	827	CAPN6
298	AYKSEVVYF	441402,728577,79937	CNTNAP3B, CNTNAP3
299	KYQYVLNEF	400823	FAM177B
300	TYPSQLPSL	26290	GALNT8
301	KFDDVTMLF	2977	GUCY1A2
302	LYLPVHYGF	253012	HEPACAM2
303	LYSVIKEDF	285600	KIAA0825
304	EYNEVANLF	57097	PARP11

Таблиця 1В

Пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
305	NYENKQYLF	144406	WDR66
306	VYPAEQPQI	2334	AFF2
307	GYAFTLPLF	440138	ALG11
308	TFDGHGVFF	29785	CYP2S1
309	KYYRQTLLF	27042	DIEXF
310	IYAPTLLVF	23341	DNAJC16
311	EYLQNLNHI	79659	DYNC2H1
312	SYTSVLSRL	57724	EPG5
313	KYTHFIQSF	26301	GBGT1
314	RYFKGDYSI	3709	ITPR2
315	FYIPHVPSVF	89866	SEC16B
316	VYFEGSDFKF	55164	SHQ1
317	VFDTSIAQLF	6477	SIAH1
318	TYSNSAFQYF	28672	TRAV12-3
319	KYSDVKNLI	57623	ZFAT
320	KFILALKVLF	6790	AURKA

Таблиця 2А

Додаткові пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*02.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
321	SLWFKPEEL	4831,654364	NME2, NME1-NME2
322	ALVSGGVAQA	64326	RFWD2
323	ILSVVNSQL	80183	KIAA0226L
324	AIFDFCPSV	23268	DNMBP
325	RLLPKVQEV	168417,89958	ZNF679, SAPCD2
326	SLLPLVWKI	1130	LYST
327	SIGDIFLKY	1894	ECT2
328	SVDSAPAAV	10635	RAD51AP1
329	FAWEPsFRDQV	1244	ABCC2
330	FLWPKEVEL	146206	RLTPR
331	AIWKELISL	55183	RIF1
332	AVTKYTSK	54145,85236,8970	H2BFS, HIST1H2BK, HIST1H2BJ
333	GTFLEGVAK	126328	NDUFA11
334	GRADALRVL	79713	IGFLR1
335	VLLAAGPSAA	23225	NUP210
336	GLMDGSPHFL	157680	VPS13B
337	KVLGKIEKV	987	LRBA
338	LLYDGKLSSA	987	LRBA
339	VLGPGPPPL	254359	ZDHHC24
340	SVAKTILKR	55233,92597	MOB1A, MOB1B

Таблиця 2Б

Додаткові пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
341	SYLTQHQR	162655,344065,9422	ZNF519, ZNF264
342	NYAFLHRTL	200316,9582	APOBEC3F, APOBEC3B
343	NYLGGTSTI	367	AR
344	EYNSDLHQF	699	BUB1

Таблиця 2Б

Додаткові пептиди за цим винаходом, що зв'язують HLA-A*24.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
345	EYNSDLHQFF	699	BUB1
346	IYVIPQPHF	57082	CASC5
347	VYAEVNSL	1459	CSNK2A2
348	IYLEHTESI	2177	FANCD2
349	QYSIISNVF	28982	FLVCR1
350	KYGNFIDKL	85865	GTPBP10
351	IFHEVPLKF	728432,79664	NARG2
352	QYGGDLTNTF	3673	ITGA2
353	TYGKIDLGF	57650	KIAA1524
354	VYNEQIRDLL	81930	KIF18A
355	IYVTGGHLF	113730	KLHDC7B
356	NYMPGQLTI	346389	MACC1
357	QFITSTNTF	94025	MUC16
358	YYSEVPVKL	25878	MXRA5
359	NYGVLHVTF	204801	NLRP11
360	VFSPDGHLF	143471,5688	PSMA8, PSMA7
361	TYADIGGLDNQI	5700	PSMC1
362	VYNYAEQTL	100526737,10432,5936	RBM14-RBM4, RBM14, RBM4
363	SYAELGTTI	23657	SLC7A11
364	KYLNENQLSQL	6491	STIL
365	VFIDHPVHL	26011	TENM4
366	QYLELAHSL	4796	TONSL
367	LYQDHMQYI	7474	WNT5A
368	KYQNVKHNL	79830	ZMYM1
369	VYTHEVVTL	983	CDK1
370	RFIGIPNQF	79659	DYNC2H1
371	AYSHLRYVF	2195	FAT1
372	VYVIEPHSMEF	23225	NUP210
373	GYISNGELF	116143,5534,5535	WDR92, PPP3R1, PPP3R2
374	VFLPRVTEL	5591	PRKDC
375	KYTDYILKI	374462	PTPRQ
376	VYTPVASRQSL	56852	RAD18
377	QYTPHSHQF	57521	RPTOR
378	VYIAELEKI	27127	SMC1B
379	VFIAQGYTL	160418	TMTC3
380	VYTGIDHHW	25879	DCAF13
381	KYPASSSVF	3217	HOXB7
382	AYLPPLQQVF	26523	EIF2C1
383	RYKPGEPITF	163486	DENND1B
384	RYFDVGLHNF	55733	HHAT
385	QYIEELQKF	55103	RALGPS2
386	TFSDVEAHF	55609	ZNF280C
387	KYTEKLEEI	95681	CEP41
388	IYGEKTYAF	5273	SERPINB10

Таблиця 3

Пептиди за цим винаходом, які доцільно використовувати для терапії раку, наприклад, для персоналізованої терапії раку.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
389	EYLPEFLHTF	154664	ABCA13
390	RYLWATVTI	259266	ASPM

Таблиця 3

Пептиди за цим винаходом, які доцільно використовувати для терапії раку, наприклад, для персоналізованої терапії раку.

SEQ ID No.	Послідовність	Ідентифікатор(-и) гена	Символ(и) гена(ів)
391	LYQILQGIVF	983	CDK1
392	RYLDSLKAIVF	55839	CENPN
393	KYIEAIQWI	81501	DCSTAMP
394	FYQPKIQQF	55215	FANCI
395	LYINKANIW	55632	G2E3
396	YYHFITTTL	2899	GRIK3
397	IYNGKLFDL	11004	KIF2C
398	IYNGKLFDLL	11004	KIF2C
399	SYIDVLPEF	4233	MET
400	KYLEKYYNL	4312	MMP1
401	VFMKDGFFYF	4312	MMP1
402	VWSDVTPLTF	4320	MMP11
403	TYKYVDINTF	4321	MMP12
404	RYLEKFYGL	4321	MMP12
405	NYPKSIHSF	4321	MMP12
406	TYSEKTTLF	94025	MUC16
407	VYGIRLEHF	83540	NUF2
408	QYASRFVQL	10733	PLK4
409	YFISHVLAF	6241	RRM2
410	RFLSGIINF	83540	NUF2
411	VYIGHTSTI	23499,93035	MACF1, PKHD1L1
412	SYNPLWLRI	259266	ASPM
413	NYLLYVSNF	4486	MST1R
414	MYPYIYHVL	54954	FAM120C
415	SYQKVIELF	55872	PBK
416	AYSDBGHFLF	26011	TENM4
417	VYKVVGNNLL	128239	IQGAP3

Цей винахід також загалом стосується пептидів за цим винаходом для застосування для лікування проліферативних захворювань, таких як, наприклад, гліобластома (ГБ), рак молочної залози (РМЗ), колоректальний рак (КРК), нирково-клітинна карцинома (НKK), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК), недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів (НДРЛ, ДРЛ), неходжкінська лімфома (НХЛ), гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), рак яєчника (РЯ), рак підшлункової залози (РПШЗ), рак передміхурової залози (РПМЗ), рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення (РС), рак жовчного міхура і холангіокарцинома (РЖМ, ХГК), меланома (МЕЛ), рак шлунка (РШ), рак яєчка (РЯЧ), рак сечового міхура (PCM), плоскоклітинна карцинома голови та шиї (ПККГШ) і рак матки (РМЕ).

Особливо переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – за цим винаходом, вибрані з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388. Більш переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – вибрані з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 295 (див. Таблиці 1А, Б, В), і їх застосовування в імунотерапії гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки.

Особливо переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – за цим винаходом, вибрані з групи послідовностей від SEQ ID NO: 70, 80, 323 і 325. Більш переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – вибрані з групи послідовностей від SEQ ID NO: 70, 80, 323 і 325 і їх застосовування в імунотерапії гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного

лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки.

Також переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – за цим винаходом, вибрані з групи послідовностей SEQ ID NO: 391 і 403. Більш переважними є пептиди – для застосування самостійно або в комбінації – вибрані з групи послідовностей SEQ ID NO: 391 і 403 і їх застосування в імунотерапії гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки.

Як наведено вище у Прикладі 1, багато пептидів за цим винаходом також виявлені на різних видах пухлин і можуть, таким чином, також застосовуватися в імунотерапії за багатьма показаннями. Надмірна експресія базових пептидів при багатьох видах раку, як показано у Прикладі 2, наводить на думку про можливість використання цих пептидів за різними іншими онкологічними показаннями.

Отже, у ще одному аспекті цей винахід стосується застосування пептидів за цим винаходом для – бажано комбінованого – лікування проліферативного захворювання, вибраного з групи із гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, які здатні зв'язуватись з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I класу або – у подовженій формі, такий як відмінний за довжиною варіант – МНС II класу.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згадані пептиди (кожний із них) складаються або по суті складаються з амінокислотної послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згаданий пептид є модифікованим і (або) включає непептидні зв'язки.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згаданий пептид є частиною злитого білка, зокрема злитого з N-термінальними амінокислотами HLA-DR антиген-асоційованого інваріантного ланцюга (Ii) або злитого з послідовністю (або вбудованого у послідовність) антитіла, наприклад, антитіла, що є специфічним до дендритних клітин.

Інше втілення цього винаходу стосується пептиду неприродного походження, де згаданий пептид складається або по суті складається з амінокислотної послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 48 і був отриманий синтезом (наприклад, синтезований) у вигляді фармацевтично прийнятної солі. Способи синтетичного отримання пептидів добре відомі фахівцю у цій галузі. Солі пептидів за цим винаходом суттєво відрізняються від пептидів за їхнім станом (їхніми станами) *in vivo*, оскільки пептиди, які генеруються *in vivo*, не є солями. Сольова форма пептиду неприродного походження опосередковує розчинність цього пептиду, особливо у контексті фармацевтичних композицій, які містять ці пептиди, наприклад, пептидні вакцини, як це розкрито тут. Достатня і принаймні суттєва розчинність пептиду (пептидів) є необхідною умовою для того, щоб ефективно доставити пептиди суб'єкту, якого належить лікувати. Переважно, щоб ці солі були фармацевтично прийнятними солями пептидів. Ці солі за винаходом включають лужні і лужноземельні солі, такі як солі із серії Гофмейстера, які містять аніони PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_4^- , I^- , SCN^- і катіони NH_4^+ , Rb^+ , K^+ , Na^+ , Cs^+ , Li^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} і Ba^{2+} . Переважно солі вибирають із $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, NH_4Cl , NH_4Br , NH_4NO_3 , NH_4ClO_4 , NH_4I , NH_4SCN , Rb_3PO_4 , Rb_2HPO_4 , RbH_2PO_4 , Rb_2SO_4 , $\text{Rb}_4\text{CH}_3\text{COO}$, Rb_4Cl , Rb_4Br , Rb_4NO_3 , Rb_4ClO_4 , Rb_4I , Rb_4SCN , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 , KCH_3COO , KCl , KBr , KNO_3 , KClO_4 , KI , KSCN , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , Na_2SO_4 , NaCH_3COO , NaCl , NaBr , NaNO_3 , NaClO_4 , NaI , NaSCN , ZnCl_2 , Cs_3PO_4 , Cs_2HPO_4 , CsH_2PO_4 , Cs_2SO_4 , CsCH_3COO , CsCl , CsBr , CsNO_3 , CsClO_4 , CsI , CsSCN , Li_3PO_4 , Li_2HPO_4 , LiH_2PO_4 , Li_2SO_4 ,

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 і Ba(SCN)₂. Особливо переважними є ацетат NH, MgCl₂, KH₂PO₄, Na₂SO₄, KCl, NaCl і CaCl₂, такі як, наприклад, хлоридні або ацетатні (трифторацетатні) солі.

Загалом, пептиди і їх варіанти (принаймні такі, що містять пептидні зв'язки між амінокислотними залишками) можуть бути синтезовані Fmoc-поліамідним методом твердофазного синтезу пептидів, як це розкрито у роботі Lukas і співавт. (Lukas et al., 1981) і в посиланнях, що є в ній. Тимчасовий захист N-аміногрупи забезпечується 9-флуоренілметилоксикарбонільною (Fmoc) групою. Повторювальне розщеплення цієї дуже нестійкої до дії луг захисної групи виконується за допомогою 20 % піперидину у N,N-диметилформаміді. Можна захистити функціональні групи бокових ланцюгів, такі як бутилові етери (у випадку серину, треоніну та тирозину), бутилові естери (у випадку глутамінової кислоти і аспарагінової кислоти), бутилоксикарбонільне похідне (у випадку лізину і гістидину), тритильне похідне (у випадку цистеїну) і 4-метокси-2,3,6-триметилбензосульфонільне похідне (у випадку аргініну). У сполуках, в яких C-термінальними залишками є глутамін або аспарагін, для захисту амідогруп бокових ланцюгів використовують 4,4'-диметоксибензгидрильну групу. Основою твердофазного носія є полідиметилакриламідний полімер, що складається з трьох мономерів: диметилакриламід (каркасний мономер), біс-акрилоїлетилендіаміну (компонент для перехресного зшивання) і акрилоїлсаркозинметилового естеру (функціоналізуючий агент). Як агент, що утворює зв'язок пептиду і смоли, який піддається розщепленню, використовується нестійке до дії кислот похідне 4-гідроксиметилфеноксіоцтової кислоти. Всі амінокислотні похідні додають у вигляді заздалегідь синтезованих симетричних ангідридних похідних за винятком аспарагіну і глутаміну, які додають з використанням зворотної N,N-дициклогексилкарбодіімід/1-гідроксибесотриазол-опосередкованої реакції сполучення. Усі реакції сполучення і зняття захисту відслідковували за допомогою методів контролю з використанням нінгідрину, тринітробензолсульфонові кислоти і ізотину. Після завершення синтезу пептиди відщеплюють від смоли-носія з супутнім видаленням захисних груп бокових ланцюгів шляхом обробки 95 % трифтороцтовою кислотою, що містить 50% суміші поглиначів. Зазвичай використовувані поглиначі включають етандитіол, фенол, анізол і воду, конкретний вибір залежить від амінокислотних складових пептиду, що синтезується. Для синтезу пептидів можливе також використання комбінації твердофазних і рідкофазних методик (див., наприклад, (Bruckdorfer et al., 2004) і посилання, наведені в цій роботі).

Трифтороцтову кислоту видаляють випаровуванням у вакуумі з подальшим подрібнюванням із діетиловим етером, що забезпечує отримання сирого пептиду. Будь-які поглиначі, які присутні в матеріалі, видаляються простою процедурою екстракції, яка після ліофілізації водної фази дозволяє отримати сирий пептид, вільний від поглиначів. Реагенти для синтезу пептидів, як правило, можна придбати, наприклад, у компанії Calbiochem-Novabiochem (Нотінгем, Велика Британія).

Очищення може виконуватися за допомогою одного будь-якого методу або їх комбінації, таких як перекристалізація, ексклюзійна хроматографія, іонообмінна хроматографія, хроматографія гідрофобної взаємодії та (зазвичай) зворотно-фазна вискоєфективна рідинна хроматографія із градієнтним розділенням, наприклад, з використанням системи ацетонітрил/вода.

Цей винахід також стосується нуклеїнової кислоти, що кодує пептиди за цим винаходом. Цей винахід також стосується нуклеїнової кислоти за цим винаходом, яка являє собою ДНК, кДНК, ПНК, РНК чи їх комбінацію.

Цей винахід також стосується вектора експресії, що здатний експресувати і (або) експресує нуклеїнову кислоту за цим винаходом.

Цей винахід також стосується пептиду за цим винаходом, нуклеїнової кислоти за цим винаходом або вектора експресії за цим винаходом для застосування для лікування захворювань і в медицині, зокрема в лікуванні раку.

Цей винахід також стосується антитіл, які є специфічними по відношенню до пептидів за цим винаходом або комплексів згаданих пептидів за цим винаходом з МНС та способів їх отримання.

Цей винахід також стосується Т-клітинних рецепторів (ТКР), зокрема розчинних ТКР (рТКР), і клонованих ТКР, вбудованих у аутологічні або алогенні Т-клітини, та способів їх отримання, а також НК-клітин або інших клітин, що несуть згаданий ТКР або вступають у перехресну реакцію із згаданими ТКР.

Антитіла і (або) ТКР є додатковими втіленнями імунотерапевтичного застосування пептидів за винаходом що розглядається.

Цей винахід також стосується клітини-хазяїна за цим винаходом, що містить нуклеїнову кислоту за цим винаходом або вектор експресії, як зазначено вище. Цей винахід також стосується клітини-хазяїна за цим винаходом, де антиген-презентуюча клітина є дендритною клітиною, і переважно дендритною клітиною.

Цей винахід також стосується способу отримання пептиду за цим винаходом, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна за цим винаходом і виділення пептиду зі згаданого клітини-хазяїна або її культурального середовища.

Цей винахід також стосується способу за цим винаходом, де антиген навантажують на молекули МНС I або II класу, що експресуються на поверхні відповідної антиген-презентуючої клітини або штучної антиген-презентуючої клітини шляхом контакту достатньої кількості антигену з антиген-презентуючою клітиною.

Цей винахід також стосується способу за цим винаходом, де антиген-презентуюча клітина містить вектор експресії, що здатний експресувати або експресує згаданий пептид, що містить послідовність від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, переважно, що містить послідовність від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 295 або варіант амінокислотної послідовності.

Цей винахід також стосується активованих Т-клітин, отриманих згідно способу за цим винаходом, де згадана Т-клітина селективно розпізнає клітину, яка експресує поліпептид, що містить амінокислотну послідовність за цим винаходом.

Цей винахід також стосується способу знищення клітин-мішеней в організмі пацієнта, клітини-мішені якого абераційно експресують поліпептид, що містить будь-яку амінокислотну послідовність за цим винаходом, причому спосіб включає введення в організм пацієнта ефективної кількості Т-клітин за цим винаходом.

Цей винахід також стосується застосування будь-якого пептиду, що описаний тут, нуклеїнової кислоти за цим винаходом, вектора експресії за цим винаходом, клітини за цим винаходом або активованого Т-лімфоцита, Т-клітинного рецептора або антитіла або інших молекул, що зв'язують пептид або комплекс пептид-МНС, за цим винаходом як лікарського засобу або в процесі виробництва лікарського засобу. Переважно, якщо згаданий лікарський засіб виявляє протиракову активність.

Переважно, якщо згаданий лікарський засіб є засобом клітинної терапії, вакциною або білком на основі розчинного ТКР або антитілом.

Цей винахід також стосується застосування за цим винаходом, де згадані ракові клітини є клітинами гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки.

Цей винахід також стосується біомаркерів на основі пептидів за цим винаходом, які у цьому документі іменуватимуться як «мішені», які можуть використовуватися в діагностиці раку, переважно гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки. Маркером може бути надмірна презентація самого(-их) пептиду(-ів) або надмірна експресія відповідного(-их) гена(-ів). Маркери також можуть використовуватися для передбачення вірогідності успіху лікування, переважно імунотерапії і найбільш переважно імунотерапії, націленої на ту ж мішень, що ідентифікується біомаркером. Наприклад, антитіло або розчинний ТКР може використовуватися для барвлення зрізів пухлини з метою виявлення присутності досліджуваного пептиду у комплексі з МНС.

Необов'язково, антитіло містить додаткову функціональну ділянку, таку як імуностимулюючий домен або токсин.

Цей винахід також стосується цих нових мішеней у контексті лікування раку.

Як терапевтичне застосування проти інших типів раку, так і діагностичне застосування розкриті у наведеному нижче описі продуктів експресії (поліпептидів), які є базовими для пептидів за цим винаходом.

A4GNT часто експресується у клітинах раку підшлункової залози, але не у клітинах периферичної крові, і кількісний аналіз iPHK A4GNT, яка експресується у фракції моноклеарних клітин периферичної крові, може сприяти виявленню раку підшлункової залози (Ishizone et al., 2006). iPHK A4GNT піддавалася виявленню у 80% пацієнтів з раком шлунка на ранній стадії, коли ракові клітини обмежені слизовою шлунка, а рівні експресії iPHK A4GNT підвищувалися з прогресуванням пухлини (Shimizu et al., 2003).

Підвищена експресія ABCC2 у первинних карциномах маткових труб пов'язана з несприятливим прогнозом (Halon et al., 2013).

При ракових захворюваннях людини активність ADAM10 є підвищеною, і її рівні загалом корелюють з параметрами прогресування пухлини і поганим клінічним результатом. На доклінічних моделях було показано, що селективний інгібітор ADAM10 діє синергічно з існуючими терапевтичними засобами, знижуючи ріст пухлини (Duffy et al., 2009).

Як було показано, експресія AHCYL2 знижена у карциномі товстої кишки і у підгрупі карцином легенів (Leonart et al., 2006). Як доповідалося, експресія iPHK AHCYL2 потенційно асоціюється з контролем функції p53, а також із шляхом gas-MAPK, клітинними програмами метилювання і транскрипції, і AHCYL2 може, таким чином, бути регуляторним геном-супресором, задіяним у пухлинах товстої кишки і легенів людини (Leonart et al., 2006).

AKR1C1 відіграє роль у резистентності до цисплатину у клітинах раку шийки матки, яєчника і легенів, яка включає деполяризацію мітохондріальних мембран, продукцію ВФК і активацію шляху JNK (Chen et al., 2015). Значуще вищі внутрішньопухлинні рівні AKR1C1 були виявлені у пацієнтів, що відповідають на неoad'ювантну хіміотерапію, ніж у пацієнтів, що не відповідають на неї (Hlavac et al., 2014).

Було показано, що рівень експресії AKR1C3 позитивно корелює з підвищеним балом за шкалою Глісона при раку передміхурової залози, що свідчить про те, що AKR1C3 може служити перспективним біомаркером прогресування раку передміхурової залози (Tian et al., 2014). Було визначено, що AKR1C3 каталізує відновлення 4-андростен-3,17-діону до тестостерону і естрону до 17 β -естрадіолу, що сприяє проліферації гормон-залежних форм раку передміхурової і молочної залоз, відповідно (Byrns et al., 2011). Було визначено, що експресія AKR1C3B підвищена при раку молочної залози, раку передміхурової залози і пласкоклітинній карциномі шкіри (Byrns et al., 2011; Mantel et al., 2014). Було показано, що AKR1C3 є маркером у складі генетичного підпису, за допомогою якого можливо відрізнити пацієнтів, що не відповідають на хіміопроменеве лікування із числа пацієнтів із місцево-поширеним раком прямої кишки (Agostini et al., 2015). Було визначено, що AKR1C3 асоціюється з резистентністю до доксорубіцину при раку молочної залози людини внаслідок активації антиапоптотичного шляху PTEN/Akt шляхом втрати супресора пухлини PTEN (Zhong et al., 2015). Було показано, що AKR1C3 асоціюється з вищим ризиком раку легенів серед людей з китайської популяції, які піддавалися діє виділень вуглеводобутку (Li et al., 2015a). Як доповідалося, AKR1C3 є потенційним терапевтичним маркером хоріокарциноми. який також асоціюється з розвитком резистентності до дії метотрексату при цьому захворюванні (Zhao et al., 2014a).

Було показано, що експресія ALDH1L1 знижена у ГЦК і гліомах. Зниження експресії ALDH1L1 у цих видах ракових пухлин було асоційоване з гіршим прогнозом і більш агресивним фенотипом (Chen et al., 2012; Rodriguez et al., 2008).

ALOX15 присутній у високих рівнях у пухлинах раку передміхурової залози (РПМ3), раку легенів, раку молочної залози, меланомах і аденокарциномах товстої кишки у порівнянні з нормальними тканинами (Kelavkar et al., 2002). Активність ферменту ALOX15 робить свій внесок у ініціювання і прогресування РПМ3 (Kelavkar et al., 2007).

AR задіяний у розвитку різних видів раку, таких як рак передміхурової залози, кастрат-резистентний рак передміхурової залози, рак молочної залози, мультиформна гліобластома, рак товстої кишки і шлунка (Wang et al., 2009b; Yu et al., 2015b; Mehta et al., 2015; Wang et al., 2015a; Sukacheva et al., 2015). На додаток до сприяння проліферації клітин раку передміхурової залози, андрогензалежний сигнальний шлях через AR веде до апоптозу, індукуючи експресію p21 (WAF1/CIP1), інгібітора циклін-залежної кінази (Yeh et al., 2000).

Мутації у ARMC5 спричиняють макронодулярні кортизол-продукуючі новоутворення, білатеральні макронодулярні гіперплазії, первинну макронодулярну гіперплазію надниркових залоз і менінгіому (Espiard and Bertherat, 2015; Kirschner and Stratakis, 2016; Elbelt et al., 2015).

Фармакогеномні дослідження виявили кореляцію між ATAD5 і прийомом протипухлинних препаратів (Abaan et al., 2013). Активність ATAD5 значно підвищена у злоякісних пухлинах оболонки периферичних нервів (Pasmant et al., 2011). Білок Х вірусу гепатиту В значно підвищує рівні експресії ATAD5 у гепатоцелюлярній карциномі, пов'язаній з інфікуванням вірусом гепатиту В (Ghosh et al., 2016). Втрата ATAD5 є летальною для мишачих ембріонів, він діє як супресор

пухлини як у мишей, так і у людини, і він взаємодіє з компонентами шляху анемії Фанконі людини. Крім цього, він може бути відповідальним за деякі фенотипи, асоційовані з нейрофіброматозом, спадковим захворюванням з високим ризиком росту пухлин (Gazy et al., 2015; Jenne et al., 2001). Варіанти локусу гена ATAD5 асоціюються з ризиком епітеліального раку яєчника (Kuchenbaecker et al., 2015). ATAD5 впливає на принаймні один фенотип

недрібноклітинного раку легенів у свавців (Li et al., 2014).
Регуляція експресії ATP10B порушена у клітинах високоінвазивної гліоми і асоціюється з інвазивною поведінкою (Tatenhorst et al., 2004).

ATP8B4 може бути прогностичним маркером і терапевтичною мішенню у пацієнтів із множинною мієломою та з іншими видами пухлин (заявка на патент США № 20070237770 A1) (Ni et al., 2012).

ATR кодує серин/треонінкіназу ATR, яка належить до сімейства PI3/PI4-кіназ. Збільшення кількості копій гена, його ампліфікація або транслокації гена ATR спостерігалися у лініях клітин пласкоклітинної карциноми порожнини рота (Parikh et al., 2014). Було продемонстровано, що «усічені» мутації ATR при ракових захворюваннях ендометрія асоціюються зі зниженою виживаністю без ознак захворювання і загальною виживаністю (Zigheboim et al., 2009).

B3GNT5 надмірно експресується при гострому мієлоїдному лейкозі і ембріональній карциномі мишей, і рівень його експресії зворотно корелює з метилюванням промотора при гліобластомі (Ogasawara et al., 2011; Etcheverry et al., 2010; Wang et al., 2012). Зниження експресії B3GNT5 через міРНК-203 може робити свій внесок у злоякісність гіпофарингеальної пласкоклітинної карциноми (Wang et al., 2015g). B3GNT5 асоціюється з виживаністю пацієнтів при раку молочної залози (Potapenko et al., 2015).

Експресія Bub1 підвищена у підгрупах лімфом і ракових пухлин молочної залози, шлунка і передміхурової залози. Надмірна експресія Bub1 корелює з несприятливим клінічним прогнозом (Ricke and van Deursen, 2011). Мутації Bub1 можна виявити у колоректальних карциномах, для яких характерна хромосомна нестабільність (Williams et al., 2007).

C4A був описаний як біомаркер синдрому полікістозних яєчників і раку ендометрія, а експериментальні дані свідчать, що C4 може бути посередником у рості ракових пухлин (Galazis et al., 2013; Rutkowski et al., 2010).

У клітинах лінії JH3 гострого мієломоноцитарного лейкозу делеція у хромосомі включає C7orf10 (Pan et al., 2012).

C8 конститутивно експресується клітинною лінією HepG2 гепатоми людини, і його експресія значно підвищується після стимуляції цитокінами ІЛ-6, ІФН-гамма і ІЛ-1 бета (Scheurer et al., 1997).

Специфічні праймери раково-тестикулярного антигену дозволяють виявити CASC5 у мультиформній гліобластомі, одній із найбільш злоякісних і агресивних пухлин із дуже несприятливим прогнозом. CASC5 має специфічні зв'язувальні мотиви на N-кінці (для Bub1 і BubR1) і на C-кінці (для Zwint-1 і hMis14/hNsl1). Розрив цього зв'язку може призвести до онкогенезу (Kiyomitsu et al., 2011; Jiang et al., 2014c). CASC5 взаємодіє з супресором пухлини pRb (Bogdanov and Takimoto, 2008). CASC5 експресується на високому рівні у проліферуючих соматичних клітинах, пухлинах і здорових сім'яниках людини (Bogdanov and Takimoto, 2008; Sasao et al., 2004). Існує зв'язок між CASC5 і пригніченням росту клітин і посиленням визрівання, і, отже, його розрив може бути ключовим фактором лейкозогенезу (Hayette et al., 2000; Bogdanov and Takimoto, 2008; Chinwalla et al., 2003; Kuefer et al., 2003; Yang et al., 2014a).

CCR4 був описаний як прогностичний маркер у різних пухлинах, таких як нирковоклітинна карцинома, пласкоклітинна карцинома голови та шиї, рак шлунка, рак молочної залози, рак товстої кишки і лімфома Ходжкіна (Ishida et al., 2006; Olkhanud et al., 2009; Yang et al., 2011; Tsujikawa et al., 2013; Al-haidari et al., 2013; Liu et al., 2014a). Дослідження виявили той факт, що пацієнти, які страждають на рак шлунка, з CCR4-позитивними пухлинами, мають значно гірший прогноз, ніж пацієнти з CCR4-негативними пухлинами (Lee et al., 2009a).

Експресія CCR8 підвищена у підгрупах таких мієлоїдних клітин як моноцити і гранулоцити периферичної крові пацієнтів із уротеліальними і нирковими карциномами. Підвищена експресія CCR8 також виявлена усередині сечового міхура людини і у тканинах раку нирок і головним чином обмежена пухлино-асоційованими макрофагами. Вісь CCL1/CCR8 є компонентом пов'язаного з раком запалення і може робити свій внесок в уникнення від імунної відповіді (Eruslanov et al., 2013).

Було показано, що одонуклеотидний поліморфізм у гені CD101 асоціюється з ризиком раку підшлункової залози, але результати не вдалося повторити у дослідженні за схемою випадок-контроль та в когортному дослідженні пацієнтів із раком передміхурової залози, таким чином, можлива роль CD101 у раку підшлункової залози потребуватиме у майбутньому додаткових

досліджень (Reid-Lombardo et al., 2011). CD101 був одним геном із сигнатури групи 6 генів, яка дозволяє розрізнити хронічний мієлоїдний лейкоз у хронічній фазі і у бластній фазі з використанням усереднення за моделлю у формі мереж Байєса (Oehler et al., 2009).

CD84, як описувалося, є CD-антигеном, який по-різному поширений при прогресуючому хронічному лімфоцитарному лейкозі у порівнянні з повільно прогресуючим і стабільним хронічним лімфоцитарним лейкозом (Huang et al., 2014). Як було показано, рівень експресії CD84 значуще підвищується з ранніх стадій хронічного лімфоцитарного лейкозу (Binsky-Ehrenreich et al., 2014).

Експресія CENPE значуще корелює з ступенем злоякісності гліом і може доповнювати інші параметри у передбаченні тривалості виживання пацієнтів із гліомою (Bie et al., 2011). Активність CENPE підвищена у хіміорезистентних пухлинах епітелію яєчника у порівнянні з чутливими до хіміотерапії пухлинами (Ju et al., 2009). Активність CENPE підвищена у інвазивних і агресивно-інвазивних пухлин гіпофізу, що виробляють пролактин (Wierinckx et al., 2007).

Було показано, що експресія CLDN14 підвищена при раку шлунка (Gao et al., 2013). Було показано, що експресія CLDN14 асоціюється з метастазами у лімфатичні вузли при раку шлунка (Gao et al., 2013). CLDN14, як повідомлялося, відіграє роль у регуляції цілісності кровоносних судин пухлин і ангиогенезу у мишей (Baker et al., 2013).

CLDN3 дуже по-різному експресується у багатьох пухлинах людини і може бути ефективним молекулярним інструментом для специфічної ідентифікації і націлювання на біологічно агресивні ракові клітини людини, оскільки CLDN3 є високоафінним рецептором ентеротоксину *Clostridium perfringens* (Black et al., 2015). CLDN3 часто надмірно експресується у декількох новоутвореннях, включаючи ракові пухлини яєчника, молочної залози, підшлункової і передміхурової залоз (Morin, 2005). CLDN3 був ідентифікований як біомаркер раку передміхурової залози, оскільки він експресується на високому рівні при раку передміхурової залози (Amago et al., 2014). Знижена експресія CLDN3 асоціюється з поганим прогнозом і EMT у пласкоклітинній карциномі легенів після повної резекції (Che et al., 2015). CLDN3 пригнічує агресивність раку через сигнальний шлях Wnt-EMT і є потенційним прогностичним біомаркером для гепатоцелюлярної карциноми (Jiang et al., 2014b).

CLDN4 дуже по-різному експресується у багатьох пухлинах людини і може бути ефективним молекулярним інструментом для специфічної ідентифікації і націлювання на біологічно агресивні ракові клітини людини, оскільки CLDN4 є високоафінним рецептором ентеротоксину *Clostridium perfringens* (Black et al., 2015). CLDN4 часто надмірно експресується у декількох новоутвореннях, включаючи ракові пухлини яєчника, молочної залози, підшлункової і передміхурової залоз (Morin, 2005). Антитіла проти позаклітинного домена CLDN4 забезпечують про-хіміотерапевтичні ефекти при раку сечового міхура (Kuwada et al., 2015). Підвищений рівень експресії CLDN4 асоціюється з більш високо диференційованою карциномою шлунка кишкового типу і втрачається у слабодиференційованих пухлинах дифузного типу. Низький рівень експресії CLDN4 пов'язаний із лімфоангіогенезом (Shareef et al., 2015).

Як було показано, експресія CLDN6 асоціюється з метастазами у лімфатичні вузли і зі стадією за системою TNM при недрібноклітинному раку легенів (Wang et al., 2015f). Крім того, було показано, що низька експресія CLDN6 асоціюється з значуще зниженими показниками виживаності у пацієнтів із недрібноклітинним раком легенів (Wang et al., 2015f). Отже, низька експресія CLDN6 є незалежним прогностичним біомаркером, який є ознакою гіршого прогнозу у пацієнтів із недрібноклітинним раком легенів (Wang et al., 2015f). Було показано, що CLDN6 пригнічений при карциномі шийки матки і раку шлунка (Zhang et al., 2015; Lin et al., 2013). Було визначено, що активність CLDN6 підвищена при раку молочної залози, пов'язаному із BRCA1, і при папілярній серозній карциномі яєчника (Wang et al., 2013b; Heerma van Voss et al., 2014). CLDN6 був описаний як супресор пухлини при раку молочної залози (Zhang et al., 2015). Було визначено, що збільшення рівня експресії CLDN6 у клітинах карциноми шийки матки ліній HeLa і C33A пригнічує проліферацію клітин, формування колоній *in vitro* і ріст пухлин *in vivo*, наводячи на думку, що CLDN6 може відігравати роль супресора пухлини у клітинах карциноми шийки матки (Zhang et al., 2015). CLDN6 може відігравати позитивну роль у інвазії і метастазуванні раку яєчника (Wang et al., 2013b). Було показано, що CLDN6 послідовно експресується у герміногенних пухлинах. Отже, він є новим діагностичним маркером примітивних герміногенних пухлин (Ushiku et al., 2012). Експресія CLDN6, як було показано, є позитивною у більшості пухлин із групи оцінених атипичних тератоїдно-рабдоїдних пухлин центральної нервової системи, причому значна позитивність CLDN6 є потенційним незалежним прогностичним фактором результату лікування захворювання (Dufour et al., 2012).

Було виявлено, що експресія CLDN9 підвищена у клітинах метастатичної карциноми легенів Льюїса лінії p-3LL і у пухлинах, отриманих із цих клітин, і у онкоцитомах гіпофізу (Sharma et al.,

2016; Hong et al., 2014). Було показано, що втрата експресії гена CLDN9 у клітинах метастатичної карциноми легенів Льюїса лінії p-3LL веде до значуще зниженої їхньої рухливості, інвазивності *in vitro* і метастазуванні *in vivo*, тоді як тимчасова надмірна експресія цих клітин підвищує їх рухливість (Sharma et al., 2016). Отже, CLDN9 може відігравати суттєву роль у сприянні метастазуванню раку легенів (Sharma et al., 2016). Було визначено, що активність CLDN9 знижена у тканинах карциноми шийки матки (Zhu et al., 2015a). Спостерігалася кореляція рівня експресії CLDN9 із метастазуванням карцином шийки матки у лімфатичні вузли (Zhu et al., 2015a). Повідомлялося, що CLDN9 є найбільш значно зміненим і високо експресованим геном в онкоцитомах гіпофізу з вищими рівнями експресії у інвазивних онкоцитомах у порівнянні з неінвазивними (Hong et al., 2014). Отже, CLDN9 може служити важливим біомаркером інвазивних онкоцитом гіпофізу (Hong et al., 2014). Було показано, що надмірна експресія CLDN9 у клітинах аденокарциноми шлунка лінії AGS підвищує інвазивний потенціал, міграцію клітин і швидкість проліферації і, таким чином, є достатнім чинником підвищення онкогенних властивостей лінії клітин аденокарциноми шлунка (Zavala-Zendejas et al., 2011). Високий рівень експресії CLDN9, як було показано, асоціюється з вищим рівнем смертності від аденокарцином шлунка дифузного типу у порівнянні з пухлинами кишкового типу, і його виявлення описувалося як прийнятний прогностичний маркер аденокарцином шлунка «кишкового» і «дифузного типу» (Rendon-Huerta et al., 2010).

Як було показано, рівень експресії іРНК CLEC5A значно нижчий у зразках пацієнтів із первинним гострим мієлоїдним лейкозом, ніж у макрофагах і гранулоцитах від здорових донорів (Batliner et al., 2011). CLEC5A описували як нову транскрипційну мішень супресора пухлин PU.1 у моноцитах, макрофагах і гранулоцитах (Batliner et al., 2011).

DCP2 був ідентифікований як мішень miR-224. Він диференційно експресується, з різницею більш ніж у 2 рази, у клітинах метотрексат-резистентного раку товстої кишки людини (Mencia et al., 2011).

Експресія DCSTAMP підвищена при папілярному раку щитоподібної залози (Lee et al., 2009b; Kim et al., 2010b). Зниження експресії DCSTAMP веде до зниженого формування колоній клітин MCF-7, можливо, внаслідок зниженої проліферації і швидкості проходження клітин через клітинний цикл, а також підвищеного апоптозу (Zeng et al., 2015). DCSTAMP надмірно експресується у макрофагах периферичної крові, і дендритні клітини і плазматичні клітини мієломи демонструють високу вразливість по відношенню до DCSTAMP і здатні до трансдиференціювання до остеокластів. Злоякісні плазматичні клітини, які експресують фенотип стовбурових ракових клітин і мають високу здатність до метастазування, експресують маркери остеокластної активності, які активують транскрипційний шлях beta3, що приводить до фосфорилування ERK1/2 і ініціювання резорбції кісток (Silvestris et al., 2011). Ескулетин і партенолід пригнічують c-Fos і ядерний фактор c1 сигнального шляху активованих Т-клітин, що призводить до пригнічення експресії DCSTAMP, гена-маркера диференціації остеокластів (Ihn et al., 2015; Baek et al., 2015; Cicek et al., 2011; Courtial et al., 2012; Kim et al., 2014a).

SNP у гені DENND1B значуще асоціюються з ризиком раку підшлункової залози (Cotterchio et al., 2015).

Як було описано, DNAH17, також відомий під назвою DNEL2, є гомологом пухлинного антигену, ідентифікованого у пацієнтів з меланою (Ehlken et al., 2004). DNAH17 описували як одного з декількох генів-кандидатів, що картується у невеликому інтервалі хромосоми, який асоціюється з онкогенезом спорадичних пухлин молочної залози і яєчника і раку стравоходу при аутосомно-домінантних захворюваннях: спадковій невральній аміотрофії і тилозі (Kalikin et al., 1999).

DNAH2 є одним із генів, які мутовані у $\geq 10\%$ пацієнтів із хронічним мієломоноцитарним лейкозом (Mason et al., 2015). Гени, які кодують асоційовані з мікротрубочками білки, такі як DNAH2, демонструють 10% або вищу частоту генетичних аберацій при світлоклітинних нирково-клітинних карциномах, позитивних щодо фенотипу метилювання CpG-острівців (Arai et al., 2015).

Поновна експресія пригнічених метилюванням генів-супресорів пухлин шляхом інгібування DNMT3B виявилася ефективною протираковою стратегією (Singh et al., 2013).

Експресія іРНК FAM83B була значно вищою у пласкоклітинній карциномі, ніж у нормальних легенях або аденокарциномі. Таким чином, FAM83B є новим біомаркером для діагностики і прогнозу (Okabe et al., 2015). FAM83B був ідентифікований як онкоген, задіяний у активації сигнального шляху CRAF/MAPK і який спричиняє трансформацію епітеліальних клітин. Підвищений рівень його експресії асоціюється з підвищеним ступенем злоякісності пухлини і зниженою загальною виживаністю (Cipriano et al., 2014). Підвищений рівень експресії FAM83B також активує сигнальний шлях PI3K/AKT і веде до зниження чутливості до інгібіторів PI3K, AKT

i mTOR (Cipriano et al., 2013).

Про пригнічення активності або дисфункцію FANCD2 у результаті генетичних мутацій повідомлялося для різних видів раку, включаючи рак молочної залози, гострий лімфобластний лейкоз і семіноми яєчка, і асоціюється з розвитком раку. В інших відношеннях, було також
5 показано, що поновна експресія і підвищена активність FANCD2 асоціюється з прогресуванням пухлин і розвитком метастазів гліом і колоректального раку (Patil et al., 2014; Shen et al., 2015a; Shen et al., 2015b; Ozawa et al., 2010; Rudland et al., 2010; Zhang et al., 2010a; Smetsers et al., 2012). Сигнальний шлях PI3K/mTOR/Akt стимулює FANCD2 на індукцію контрольної точки ATM/Chk2 як відповідь на пошкодження ДНК, а моноубіквітинільований FANCD2 активує
10 транскрипцію супресора пухлин Tap63 (Shen et al., 2013; Park et al., 2013).

У пацієнтів із світлоклітинною нирково-клітинною карциномою експресія FOXJ1 підвищена і асоціюється зі стадією розвитку пухлини, гістологічним ступенем злості і розміром і корелює з прогнозом (Zhu et al., 2015b). Знижений рівень експресії FOXJ1 значуще корелює з клінічною стадією, метастазами у лімфатичні вузли і віддаленими метастазами, а нижчі рівні
15 експресії FOXJ1 незалежно є чинником передбачення коротшої тривалості життя при карциномі шлунка (Wang et al., 2015c). Надмірна експресія FOXJ1 може сприяти проліферації пухлинних клітин і проходженню клітин через клітинний цикл при гепатоцелюлярній карциномі і асоціюється з гістологічним ступенем і поганим прогнозом (Chen et al., 2013).

Високий рівень транскриптів GINS2 є несприятливим прогностичним фактором і корелює з високим гістологічним ступенем і резистентністю до ендокринної терапії через стовбурові клітини раку молочної залози у пацієнтів з раком молочної залози (Zheng et al., 2014). Повідомлялося, що GINS2 присутній на високому рівні при аденокарциномі легенів і асоціюється зі стадіями за системою TNM (Liu et al., 2013b). GINS2 експресується інтенсивно і аномально у багатьох солідних злості пухлинах, таких як рак молочної залози, меланома і
25 карцинома печінки. До того ж, надмірна експресія GINS2 може сприяти проліферації клітинних ліній лейкозу (Zhang et al., 2013a).

Експресія GPR98 підвищена у первинних нейроендокринних пухлинах по відношенню до нормальних тканин (Sherman et al., 2013). GPR98 є одним із генів, асоційованих з виживаністю при мультиформній гліобластомі (Sadeque et al., 2012). GPR98 продукує транскрипт, регульований глюкокортикоїдами, які використовуються для лікування гострого лімфобластного лейкозу, оскільки вони ведуть до індукції апоптозу (Rainer et al., 2012).
30

Спостерігається чітка кореляція між GTPBP10 і варіаціями кількості копій гена, експресією гена і клінічним результатом у пацієнтів з гліобластомою (Kong et al., 2016).

Експресія GTSE1 пригнічує сигнальний шлях апоптозу і надає клітинам раку шлунка резистентності до дії цисплатину (Subhash et al., 2015). GTSE1 надмірно експресується у лейоміосаркомі матки (ULMS) і бере участь у регуляції клітинного циклу.
35

H2BFS послідовно експресується як значущий кластер, асоційований з підгрупами гострого лімфобластного лейкозу низького ризику (Qiu et al., 2003).

Було показано, що активність HIST1H2BJ знижена у пухлинах головного мозку. Повідомлялося, що його потенційно можна використовувати для розробки молекулярних маркерів, що мають діагностичну і прогностичну цінність (Luna et al., 2015).
40

Ацетилювання HISTH4A може бути потенційною стратегією інактивації ембріонального раку людини (пухлина Вільмса) (Yan-Fang et al., 2015).

HIST1H4C може діяти як фактор розрізнення ризику розвитку мієлоїдного лейкозу, що виник в результаті лікування (Bogni et al., 2006).
45

Спостерігалось гіперметилування гена HIST1H4F при раку передміхурової залози, що також може корелювати зі старінням пацієнта (Kitchen et al., 2016).

Висока частота метилування HIST1H4K спостерігалась при раку сечового міхура високого ступеня злості без інвазії у м'язову стінку, а також при раку передміхурової залози. Таким чином, він являє собою потенційний біомаркер (Payne et al., 2009; Kachakova et al., 2013).
50

Було показано, що активність HIST1H4L значно підвищена у ERG-позитивних карциномах передміхурової залози (Camoes et al., 2012). HIST1H4L кодує залежний від реплікації кластера пістонів 1, H4I, який є членом сімейства гістонів H4 (RefSeq, 2002).

HIST2H4B був ідентифікований як новий білок у ключових шляхах патогенезу у клітинах, інфікованих підтипом реовірусу, який зараз проходить клінічні дослідження як протираковий онколітичний засіб (Berard et al., 2015).
55

HIST4H4 є одним із генів, які демонструють стійку знижену експресію у клітинах раку шлунка після лікування імунними кон'югатами, що складаються з альфа-випромінювача і моноклонального антитіла d9MAb, яке специфічно націлене на клітини-мішені, що експресують мутантну форму d9-E-кадгерину (Seidl et al., 2010). Гіперметилування інших членів сімейства
60

гістонів H4 значуще асоціювалося з коротшою безрецидивною виживаністю при недрібноклітинному раку легенів стадії I (Sandoval et al., 2013).

HIVER1 був ідентифікований як клітинний ген, пошкоджений інтеграцією Т-лімфотропного вірусу людини типу 1 у лінії клітин лімфоми (Cao et al., 2015). HIVER1 асоціювався з небажаною делецією 11q, а також із несприятливими стадіями B і C за класифікацією Біне хронічного лімфоцитарного лейкозу (Aalto et al., 2001).

Експресія HNRNPH2 підвищена при різних видах ракових захворювань, включаючи рак підшлункової залози, печінки і шлунка (Honore et al., 2004; Zeng et al., 2007). HNRNPH2 бере участь у сплайсингу транскрипту hTERT з бета-делецією, який експресується на високому рівні у ракових клітинах і конкурує і у такий спосіб інгібує активність ендогенної теломери (Listerman et al., 2013).

Регуляція HOXD11 порушена у пласкоклітинній карциномі голови та шиї, демонструючи вражаюче високі рівні у лініях клітин і у зразках пухлин пацієнтів. Нокдаун гена HOXD11 знижує інвазію (Sharpe et al., 2014). Активність HOXD11 значно підвищена у пласкоклітинній карциномі порожнини рота (Rodini et al., 2012). HOXD11 є аберантно метильованим при ракових пухлинах молочної залози людини (Miyamoto et al., 2005). Ген HOXD11 є злитим з геном NUP98 при гострому мієлоїдному лейкозі з локусом t(2;11) (q31;p15) (Taketani et al., 2002).

ICOS відіграє роль ліганду програмованої смерті-1 (PD-1) на Т-клітинах, ініціює уникнення імунної відповіді ракових клітин і також діє як рецептор, що опосередковує антиапоптотичні ефекти на ракових клітинах (Yang et al., 2015c). Мишачі моделі пухлин забезпечили значну підтримку націлювання на численні імунні контрольні точки, включаючи ICOS під час росту пухлин (Leung and Suh, 2014). ICOS-позитивна інфільтрація клітин корелює з несприятливим прогнозом для пацієнта, ідентифікуючи ICOS як нову мішень імунотерапії раку (Faget et al., 2013). ICOS може підсилювати цитотоксичний ефект цитокін-продукуючих кілерних клітин проти холангіокарциноми як *in vitro*, так і *in vivo* (He et al., 2011).

Було показано, що внутрішньопухлинна експресія IFNG асоціюється з експресією молекул MHC II класу і з агресивнішим фенотипом при меланомах людини (Brockner et al., 1988). Аутокринний сигналінг IFNG, як було показано, підвищує експериментальну метастатичну активність трансфектованих геном IFNG клітин аденокарциноми молочної залози і був пояснений підвищеною резистентністю до дії NK-клітин (Lollini et al., 1993).

Потрійний негативний рак молочної залози характеризується високим рівнем експресії IGFBP3 пухлиною, що асоціюється з маркером поганого прогнозу (Marzec et al., 2015). Був ідентифікований новий рецептор клітинної смерті, який специфічно зв'язується з IGFBP3 і може використовуватися у лікуванні раку молочної залози (Mohanraj and Oh, 2011). IGFBP3 сприяє виживанню і стимулює ріст *in vitro* (Johnson and Firth, 2014). IGFBP3 є незалежним маркером рецидиву карцином уротеліальних клітин (Phe et al., 2009).

IGFBPL1 є регулятором інсулінового фактора росту, і його експресія знижена у лініях клітин раку молочної залози, що демонструють аберантне гіперметилування. Метилування IGFBPL1 чітко асоціювалося з гіршою загальною виживаністю і виживаністю без ознак захворювання (Smith et al., 2007).

IGFLR1 є мутованим при колоректальному раку (Donnard et al., 2014). IGFLR1 має структурну схожість із сімейством рецепторів факторів некрозу пухлин (Lobito et al., 2011).

Експресія білка IL4I1 спостерігається у пухлинах дуже часто. IL4I1 був виявлений у пухлино-асоційованих макрофагах різних видів пухлин, у неопластичних клітинах лімфом і у поодиноких випадках солідних ракових захворювань, головним чином мезотеліом (Carbonnelle-Puscian et al., 2009). Підвищена експресія IL4I1 у клітинах людини Th17 обмежує їхню опосередковану Т-клітинними рецепторами (ТКР) експансію внаслідок блокування молекулярного шляху, задіяного у активації промотора ІЛ-2, і внаслідок підтримання високих рівнів Tob1, який перешкоджає вступу клітин у клітинний цикл (Santarasci et al., 2014).

IQGAP3 надлишково експресується у пухлинах раку легенів і асоціюється з ростом, міграцією і інвазією пухлинних клітин. Більш того, його експресія підвищується під дією ампліфікації хромосом у гепатоцелюлярній карциномі, і експресія IQGAP3 підвищується у пацієнтів з колоректальним раком і з мутацією p53 із низькою виживаністю (Katkoori et al., 2012; Yang et al., 2014b; Skawran et al., 2008). IQGAP3 модулює сигнальний каскад EGFR/Ras/ERK і взаємодіє з Rac/Cdc42 (Yang et al., 2014b; Kunitomo et al., 2009).

Підвищені рівні ITGA2 були виявлені у лініях клітин високоінвазивної і метастатичної меланоми у порівнянні з культурами нормальних меланоцитів і клітинними лініями немеластатичної меланоми (van Muijen et al., 1995). Експресія молекул адгезії ITGA2 у клітинах меланоми підвищується під дією ІФН-гамма, TNF-альфа і ІЛ-1-бета (Garbe and Krasagakis, 1993). Трансфекція ITGA2 у клітини рабдоміосаркоми людини, які не експресують ITGA2,

підвищувала частоту метастазів у різні органи (Matsuura et al., 1995).

KCNU1 локалізується на хромосомі 8p у ділянці, яка часто задіяна у комплексних хромосомних перебудовах при раку молочної залози (Gelsi-Boyer et al., 2005). KCNU1 є одним із 25 надмірно експресованих позаклітинних мембранних білків у гепатобластомах у зразках дитячого раку (Orentas et al., 2012).

Вважається, що KIAA0226L є геном-супресором пухлин і є гіперметильованим при раку шийки матки. Повторна активація KIAA0226L веде до зниження росту клітин, їх життєздатності і формування колоній (Huisman et al., 2015; Eijssink et al., 2012; Huisman et al., 2013). Профіль метилювання KIAA0226L можна використовувати для розрізнення попередніх дисплазійних уражень і звичайного раку шийки матки (Milutin et al., 2015). Профіль метилювання KIAA0226L не може використовуватися як специфічний біомаркер для раку шийки матки (Sohrabi et al., 2014). Повторна активація KIAA0226L частково деметилує його промоторну ділянку і також зменшує рівень пригнічувального метилювання гістону (Huisman et al., 2013).

Надмірна експресія KIAA1244 є одним із важливих механізмів, які спричиняють активацію сигнального шляху естроген/ER-альфа гормон-залежного росту клітин раку молочної залози (Kim et al., 2009). Інгібування взаємодії між KIAA1244 і PNB2 може виявитися новою терапевтичною стратегією лікування раку молочної залози люмінального типу (Yoshimaru et al., 2013).

KIAA1524 кодує раковий інгібітор протеїнфосфатази 2A (CIP2A). Була продемонстрована ключова роль CIP2A серед інших чинників для НДРЛ, ГЦК, ПККГШ, ракових захворювань сечового міхура, підшлункової залози, шийки матки, молочної залози, передміхурової залози, яєчника і колоректального раку (Ventela et al., 2015; Ma et al., 2014; Guo et al., 2015b; Rincon et al., 2015; Guo et al., 2015c; Wu et al., 2015; Peng et al., 2015; Lei et al., 2014; Liu et al., 2014c; Farrell et al., 2014; Fang et al., 2012; He et al., 2012; Bockelman et al., 2012).

Була показана надмірна експресія KIF18A при гепатоцелюлярному раку, що корелює зі значно зниженою виживаністю без ознак захворювання і загальною виживаністю. Таким чином, KIF18A може бути біомаркером під час діагностики гепатоцелюлярного раку і незалежним передбачувальним фактором для виживаності без ознак захворювання і загальної виживаності після хірургічної резекції (Liao et al., 2014). Експресія KIF18A підвищена у конкретних підтипах сировіальної саркоми (Przybyl et al., 2014). Естроген ефективно індукуює експресію KIF18A при раку молочної залози, що асоціюється з підвищеною проліферацією і зниженим апоптозом (Zou et al., 2014).

Надмірну експресію KIF20A спостерігали при аденокарциномі протоків підшлункової залози, меланомі, раку сечового міхура, недрібноклітинному раку легенів і холангіоцелюлярній карциномі (Imai et al., 2011; Yamashita et al., 2012; Stangel et al., 2015). Нещодавно повідомлялося, що пацієнти з аденокарциномою протоків підшлункової залози, вакциновані отриманим із KIF20A пептидом, демонстрували кращий прогноз у порівнянні з контрольною групою (Asahara et al., 2013). До того ж, сайленсинг KIF20A приводив до інгібування проліферації, рухливості і інвазії у лініях клітин раку підшлункової залози (Stangel et al., 2015).

Високий рівень експресії KIF26B при раку молочної залози асоціюється з несприятливим прогнозом (Wang et al., 2013c). Підвищена експресія KIF26B значуще корелює з розміром пухлини, судячи з даних аналізу тканин пухлин КРК і відповідної прилеглої нормальної слизової оболонки. KIF26B відіграє важливу роль у колоректальному канцерогенезі і виконує функції нового прогностичного індикатора і потенційної терапевтичної мішені для КРК (Wang et al., 2015d).

Було показано, що KIF2C бере участь у спрямованій міграції і інвазії пухлинних клітин (Ritter et al., 2015). Було показано, що надмірна експресія KIF2C асоціюється з лімфатичною інвазією і метастазами у лімфовузлах у пацієнтів з раком шлунка і колоректальним раком (Ritter et al., 2015). Було показано, що експресія KIF2C підвищена при раку тіла язика (Wang et al., 2014a). Високий рівень експресії KIF2C, як було показано, асоціюється з метастазами у лімфатичні вузли і стадією розвитку пухлини при пласкоклітинній карциномі тіла язика (Wang et al., 2014a). Було визначено, що сайленсинг KIF2C веде до пригнічення проліферації і міграції клітин лінії Tca8113 пласкоклітинної карциноми порожнини рота людини (Wang et al., 2014a). Повідомлялося, що мутації гена KIF2C асоціюються з колоректальним раком (Kumar et al., 2013).

Було визначено, що KIFC1 є суттєвим фактором для формування веретена належним чином, стабільного фокусування на полюси і виживання ракових клітин незалежно від числа створених центросом (нормальних або додаткових центросом). Було визначено, що експресія KIFC1 є підвищеною при раку молочної залози, особливо негативному за експресією рецепторів до естрогенів, негативному за експресією рецепторів до прогестерону, і потрійного негативному

раку молочної залози, і у 8 лініях клітин раку молочної залози людини. У клітинах естроген-рецептор-позитивного раку молочної залози KIFC1 є одним із 19 інших кінезинів, експресія яких у значній мірі індукується естрогеном. Було визначено, що надмірна експресія KIFC1 і його накопичення у ядрі корелюють при раку молочної залози з гістологічним ступенем злоякісності і є фактором передбачення поганої виживаності без прогресування і загальної виживаності. Було показано, що у лініях клітин раку молочної залози надмірна експресія KIFC1 опосередковує резистентність до доцетакселу. Пригнічення KIFC1 негативно впливає на життєздатність клітин раку молочної залози (Zou et al., 2014; Pannu et al., 2015; De et al., 2009; Li et al., 2015b). Було визначено, що KIFC1 надмірно експресується при раку яєчника, що асоціюється з агресивністю пухлини, високим ступенем злоякісності і пізньою стадією розвитку пухлини. KIFC1 був ідентифікований як один із трьох генів, підвищена експресія яких у пухлинах первинного НДРЛ означає вищий ризик розвитку метастазів у головний мозок (Grinberg-Rashi et al., 2009).

Повідомлялося, що KL є геном-супресором пухлин, який пригнічує епітеліально-мезенхімальний перехід при раку шийки матки і який відіграє роль супресора пухлини у декількох видах раку людини шляхом інгібування сигнальних інсулін/IGF1, p53/p21 і Wnt (Xie et al., 2013; Qureshi et al., 2015). Як було описано, KL є аберантно експресованим геном у декількох видах раку, включаючи рак молочної залози, рак легенів і гепатоцелюлярну карциному (Zhou and Wang, 2015). Повідомлялося, що експресія KL знижена при раку підшлункової залози, гепатоцелюлярній карциномі і інших пухлинах (Zhou and Wang, 2015). KL був описаний як новий біомаркер для ракових захворювань, зниження експресії якого веде до підвищеної проліферації і зниженого апоптоза ракових клітин. У цьому контексті сигнальний шлях Wnt/ β -катенін є одним із декількох відповідних сигнальних шляхів (Zhou and Wang, 2015). Поліморфізм гена KL, як показано, асоціюється з підвищеним ризиком колоректального раку (Liu et al., 2015).

KLHDC7B асоціюється з пласкоклітинною карциною шийки матки і є потенційним біомаркером пласкоклітинної карциноми шийки матки (Guo et al., 2015a).

Гени KLHL є відповідальними за декілька захворювань, які спадкуються за законами Менделя і асоціюються з раком (Dhanoo et al., 2013).

Фокальну експресію KRT31 спостерігали у інвазивній оніхоцитарній карциномі, що виникла з кератиноцитів нігтьової матриці (Wang et al., 2015e). Піломатриксоми є пухлинами, які сприяють диференціації матричних клітин волосного фолікулу, демонструючи диференціацію у напрямку придатків шкіри з подальшою надмірною експресією кератинів KRT35 і KRT31 (Battistella et al., 2014).

KRT35 є одним із найбільш часто і найбільш інтенсивно експресованих кератинів волосся у піломатриксомах. Піломатриксоми є пухлинами, які сприяють диференціації матричних клітин волосного фолікулу, демонструючи диференціацію кортикального шару з подальшою надмірною експресією кератинів KRT35 і KRT31 (Battistella et al., 2014).

Нокдаун гена LCTL дозволяє hTERT імпорталізувати колоноцити епітелію (Kim et al., 2011).

Дослідники спостерігали, що інгібування експресії LRBA за допомогою РНК-інтерференції або домінантно-негативним мутантом приводить до інгібування росту ракових клітин. Ці факти наводять на думку, що порушення регуляції експресії LRBA робить свій внесок у зміну властивостей що стосується росту ракової клітини (Wang et al., 2004).

LRRC8E надмірно експресується у тканинах остерсаркоми і нейробластоми у порівнянні з нормальними зразками (Orentas et al., 2012).

Поліморфізми LTA роблять свій внесок у підвищений ризик раку (Huang et al., 2013a). Фактори резорбції кісток, такі як LTA, продукуються при певних солідних ракових пухлинах і злоякісних захворюваннях крові і причетні до пухлино-індукованої гіперкальціємії (Goni and Tolis, 1993). Існує зв'язок між сигнальною віссю від LTA до LTbetaR і раком (Drutskaya et al., 2010). Отриманий із В-клітин лімфотоксин сприяє кастраційно-резистентному раку передміхурової залози (Ammirante et al., 2010).

MACC1 надмірно експресується при багатьох видах ракових пухлин, включаючи рак шлунка, колоректальний рак, рак легенів і рак молочної залози, і асоціюється з прогресуванням раку, метастазуванням і низькою виживаністю пацієнтів (Huang et al., 2013b; Ma et al., 2013a; Stein, 2013; Wang et al., 2015b; Wang et al., 2015h; Ilm et al., 2015). MACC1 сприяє канцерогенезу шляхом націлювання на бета-катеніновий сигнальний шлях і сигнальний шлях PI3K/Akt, що призводить до підвищення рівню c-Met і бета-катеніну і їх низхідних генів-мішеней, включаючи c-Myc, циклін D1, caspase9, BAD і MMP9 (Zhen et al., 2014; Yao et al., 2015).

MAGEA10 кодує члена сімейства MAGE A10, причетного до деяких спадкових захворювань, таких як вроджений дискератоз (RefSeq, 2002). Вакцина, спрямована проти MAGEA10, і два інших раково-тестикулярні антигени, усі з яких, як відомо, є мішенями для відповіді цитотоксичних Т-лімфоцитів, дозволяють охопити більш ніж дві третини випадків раку молочної

залози (Taylor et al., 2007). MAGEA10 експресувався у 36,7% пухлинних тканин, отриманих від пацієнтів із гепатоцелюлярною карциномою, однак, він не експресується у пара-ракових тканинах (Chen et al., 2003). MAGEA10 експресувався у 14% із 79 тканин раку легенів (Kim et al., 2012).

MAGEB6 був ідентифікований як новий ген MAGE, який не експресується у нормальних тканинах, за винятком сім'яників, і експресується у пухлинах різного гістологічного походження (Lucas et al., 2000). Було виявлено, що MAGEB6 експресується у пласкоклітинній карциномі голови та шиї, а позитивність щодо iPHK дає значущий зв'язок з відомими клінічними ознаками поганого клінічного результату (Zamuner et al., 2015).

MCC взаємодіє з бета-катеніном, і поновна експресія MCC у клітинах колоректального раку специфічно інгібує сигнальний шлях Wnt (Fukuyama et al., 2008). Ген MCC має тісний зв'язок із геном аденоматозного поліпозу Coli на хромосомі 5, у ділянці частоті втрати гетерозиготності (LOH) при колоректальному раку (Kohonen-Corish et al., 2007). LOH у гені MCC можна виявити як на ранніх, так і на пізніх стадіях раку шлунка, легенів, стравоходу та молочної залози (Wang et al., 1999a; Medeiros et al., 1994).

Як було показано, активність MET підвищена при дедиференційованій ліпосаркомі і його рівень асоціюється з меланоцитними пухлинами, гепатоцелюлярною карциномою, недрібноклітинним раком легенів, спадковим папілярним раком нирки і аденокарциномами шлунка (Petrini, 2015; Finocchiaro et al., 2015; Steinway et al., 2015; Bill et al., 2015; Yeh et al., 2015).

MMP10 інтенсивно експресується при пласкоклітинній карциномі порожнини рота і помірно експресується при верукозній карциномі (Kadeh et al., 2015). MMP10 бере участь у гепатоканцерогенезі у новій перехресній взаємодії з отриманою із клітин строми віссю фактор 1/рецептор 4 C-X-C-хемокінів (Garcia-Irigoyen et al., 2015). Інфекція *Helicobacter pylori* сприяє інвазії і метастазуванню раку шлунка внаслідок підвищення експресії MMP10 (Jiang et al., 2014a). MMP10 сприяє прогресуванню пухлин шляхом регуляції ангіогенного і апоптотичного шляхів у пухлинах шийки матки (Zhang et al., 2014).

Повідомлялося, що підвищені рівні MMP-13 перед хірургічним втручанням асоціюються з прогресуванням пухлини і поганою виживаністю пацієнтів із пласкоклітинною карциномою стравоходу (Jiao et al., 2014). PAI-1, ген-мішень miR-143, регулює інвазію і метастазування у легені через підвищення експресії MMP-13 і секреції у клітинах остеосаркоми людини, наводячи на думку, що ці молекули можуть бути потенційними генами-терапевтичними мішенями для попередження метастазів у легені у пацієнтів із остеосаркомною (Hirahata et al., 2016). Вже відомо, що експресія MMP-13 підвищена при червоному пласкому лишаї (OLP), якого класифікували як передракове захворювання, що веде до пласкоклітинної карциноми порожнини рота (ПККПР) (Agha-Hosseini and Mirzaei-Dizgah, 2015). MMP-13 відіграє потенційно унікальну фізіологічну роль у регенерації остеобласт-подібних клітин (Ozeki et al., 2016).

Регуляція MUC5AC порушена при різних видах раку, включаючи колоректальний рак, рак шлунка, легенів і підшлункової залози. Виснаження або низький рівень експресії у колоректальних пухлинах і пухлинах шлунка асоціюється з агресивнішою поведінкою і поганим прогнозом. Надекспресія при раку легенів призводить до підвищеної ймовірності рецидивів і утворення метастазів (Yonezawa et al., 1999; Kocer et al., 2002; Kim et al., 2014b; Yu et al., 1996).

MUC5B надмірно експресується при багатьох видах ракових пухлин, включаючи колоректальний рак, рак легенів і рак молочної залози, і асоціюється з прогресуванням пухлини (Sonora et al., 2006; Valque et al., 2012; Walsh et al., 2013; Nagashio et al., 2015). Активність MUC5B можливо пригнітити шляхом метилювання і можна підвищити дією ATF-1, c-Мус, NF-каппа-B, Sp1, CREB, TTF-11 і GCR (Perrais et al., 2001; Van, I et al., 2000).

Повідомлялося, що генетичні варіанти MUC6 модифікують ризик розвитку раку шлунка (Resende et al., 2011). У пухлинах слинних залоз профілі експресії MUC6, ймовірно, дуже тісно корелюють із гістопатологічним типом пухлини, вказуючи на їх потенційне використання для покращення точності діагнозу (Mahomed, 2011). У дослідженнях було виявлено, що рівні експресії MUC6 у тканинах раку молочної залози відрізняються від рівнів експресії у непухлинних тканинах молочної залози (Mukhopadhyay et al., 2011).

У проведеному в Китаї дослідженні MXRA5 виявився другим за частотою мутованим геном у недрібноклітинному раку легенів (Xiong et al., 2012). Було показано, що MXRA5 є надмірно експресованим при раку товстої кишки і його можливо використовувати як біомаркер для ранньої діагностики і метастазів у сальник (Zou et al., 2002; Wang et al., 2013a).

MYB може трансформуватися у білок, що є ознакою онкогенної трансформації, шляхом декількох мутацій (Zhou and Ness, 2011). Про MYB відомо, що він є онкогеном, який асоціюється з апоптозом, контролем клітинного циклу, ростом клітин/ангіогенезом і адгезією клітин шляхом

регуляції експресії ключових генів-мішеней, таких як циклооксигеназа-2, Bcl-2, BclX(L) і c-Myc (Ramsay et al., 2003; Stenman et al., 2010). Онкогенний злитий білок MYB-NFIB і надмірну експресію MYB було виявлено у аденокістозних карциномах слинних залоз і молочної залози, дифузних гліомах у дітей, гострому мієлоїдному лейкозі і раку підшлункової залози (Wallrapp et al., 1999; Pattabiraman and Gonda, 2013; Nobusawa et al., 2014; Chae et al., 2015; Marchio et al., 2010). В результаті синергічної взаємодії між MYB і бета-катеніном у сигнальному шляху Wnt MYB асоціюється з онкогенезом товстої кишки (Burgess et al., 2011). Оскільки MYB є безпосередньою мішенню естрогенового сигналіngu, у випадках ER-позитивних пухлин молочної залози показана терапія анти-MYB (Gonda et al., 2008).

Можливо, що N4BP2 відіграє роль у розвитку назофарингеальної карциноми. Існує статистично значуща відмінність двох різних блоків гаплотипів, яка корелює з ризиком спорадичної назофарингеальної карциноми. Крім цього, N4BP2 надмірно експресується у цих пухлинних тканинах у порівнянні з відповідними нормальними тканинами (Zheng et al., 2007).

У багатоетапному дослідженні асоціації в усьому геномі тільки на хворих, проведеному на 12 518 пацієнтах із раком передміхурової залози, NAALADL2 був ідентифікований як локус, асоційований із балом за шкалою Глісона, мірою патології щодо агресивності захворювання (Berndt et al., 2015). NAALADL2 надмірно експресується при ракових захворюваннях передміхурової залози і товстої кишки і сприяє виникненню про-міграційному і про-метастатичному фенотипу, асоційованому з поганою виживаністю (Whitaker et al., 2014).

Активність NCAPG знижена у пацієнтів із множинною мієломою, гострим мієлоїдним лейкозом і у лейкозних клітинах із крові або мієломних клітинах (Cohen et al., 2014). NCAPG може служити геном множинної лікарської резистентності при колоректальному раку (Li et al., 2012a). NCAPG експресується на надзвичайно високому рівні у хромофобному підтипі клітинної карциноми людини, але не у звичайній нирковоклітинній карциномі людини (Kim et al., 2010a). Підвищення експресії NCAPG асоціюється з прогресуванням меланоми (Ryu et al., 2007). NCAPG асоціюється з увеальною меланою (Van Ginkel et al., 1998). NCAPG показує варіабельну експресію у клітинах різних пухлин (Jager et al., 2000).

NRK кодує кіназу, пов'язану з Nik, протеїнкіназу, необхідну для активації JNK, яка може відігравати роль у індукції полімеризації актину на пізніх стадіях ембріогенезу (RefSeq, 2002). NRK активує сигнальний шлях c-jun N-кінцевих кіназ і може брати участь у регуляції організації актинового цитоскелету у клітинах скелетних м'язів через фосфорилування кофіліну (Nakano et al., 2003).

Було показано, що NUP210 є кандидатом у гени поліморфізму, асоційованого з ризиком колоректального раку (Landi et al., 2012). Активність NUP210, як було показано, підвищена при раку шийки матки, і було зроблено припущення, що він відіграє роль на ранніх стадіях онкогенезу (Rajkumar et al., 2011).

Було показано, що ORC1 надмірно експресується у лініях пухлинних клітин, і передбачається, що він є біомаркером раку передміхурової залози, а також лейкозу (Struyf et al., 2003; Zimmerman et al., 2013; Young et al., 2014). Внаслідок взаємодії з гістонацетилтрансферазами, такими як HBO1, ORC1 виконує онкогенні функції при раку молочної залози (Wang et al., 2010).

Відсутність у пацієнта гетерозиготних мутацій у двох SNP в OSCP1 може служити біомаркером схильності до невірусного типу карциноми печінки (Toda et al., 2014).

OVOL2 ініціює мезенхімально-епітеліальний перехід, що приводить до зниження метастазування (Roca et al., 2013). OVOL2 інгібує c-Myc і Notch1 (Wells et al., 2009). OVOL2 є гіперметильованим при колоректальному раку, що веде до неспроможності інгібувати сигнальний шлях Wnt (Ye et al., 2016). Надмірна експресія OVOL2 зменшує міграцію та інвазію клітин, знижує рівень маркерів епітеліально-мезенхімального переходу і пригнічує метастазування (Ye et al., 2016). Експресія OVOL2 знижена при колоректальному раку і зворотно корелює зі стадією пухлини (Ye et al., 2016). OVOL2 регулюється сигнальним шляхом Wnt (Ye et al., 2016).

OXTR значуще надмірно експресується у первинних пухлинах тонкої кишки і нейроендокринних пухлинах підшлункової залози, дрібноклітинній карциномі легенів, карциномі яєчника, а також при раку передміхурової залози, опосередковуючи міграцію клітин і метастазування (Morita et al., 2004; Zhong et al., 2010; Carr et al., 2012; Carr et al., 2013; Pequeux et al., 2002). Однак OXTR1 чинить також інгібіторну дію на проліферацію неопластичних клітин епітеліального, нервового або кісткового походження, яка, як вважають, залежить від локалізації рецептора на мембрані (Cassoni et al., 2004).

PAPPA являє собою ген, пов'язаний з метастазуванням, який зустрічається у численних видах ракових захворювань, таких як НДРЛ і гепатоцелюлярна карцинома, де він позитивно

асоціюється з факторами росту (VEGF і IGF-I) і транскрипції (NF-каппаВ p50, NF-каппаВ p65, HIF-1альфа) (Salim et al., 2013; Iunusova et al., 2013; Engelmann et al., 2015). PAPPA регулює проходження мітозу шляхом модуляції сигнального шляху IGF-1 у клітинах раку молочної залози і яєчника, де його переважно виявляють у первинному пухлинному осередку (Boldt and Conover, 2011; Loddo et al., 2014; Becker et al., 2015; Iunusova et al., 2014).

Рівень експресії PGAP1 знижений у клітинах аденокарциноми лінії AsPC-1 (Yang et al., 2016).

PGR має високий рівень асоціації з ініціюванням і прогресуванням раку молочної залози, де він активує шляхи MAPK і PI3K/AKT, а також експресію рецепторів фактору росту (GFR) (Jaiswal et al., 2014; Piasecka et al., 2015). PGR (окрім HER і естрогенового рецептора) служить класифікаційним фактором, що допомагає розрізнити три різні підтипи раку молочної залози (Safarpour and Tavassoli, 2015).

PLA2G7 має сильний вплив на ліпідний метаболізм у клітинах раку молочної залози, яєчника, меланоми і раку передміхурової залози, де блокада ферменту веде до зниженої патогенності раку (Vainio et al., 2011a; Massoner et al., 2013; Kohnz et al., 2015). PLA2G7 має чітку асоціацію з раком передміхурової залози і, таким чином, являє собою потенційний біомаркер для цього виду раку (Vainio et al., 2011b).

Активність PPP3R1 підвищена у клітинах гепатоцелюлярної карциноми, що впливає на аж до 10 різних сигнальних шляхів (Zekri et al., 2008).

PRKDC часто є мутованим геном при ендометріоз-асоційованому раку яєчника і раку молочної залози (Er et al., 2016; Wheler et al., 2015). Активність PRKDC підвищена у ракових тканинах у порівнянні з нормальними тканинами при колоректальній карциномі. Пацієнти з високим рівнем експресії PRKDC демонструють гіршу загальну виживаність (Sun et al., 2016).

Підвищена експресія PSMA7T було виявлена при метастатичному раку легенів, кастраційно-рекурентного раку передміхурової залози (KPPПЗ), а також при первинному колоректальному раку, де він підвищує ризик метастазів у печінку (Hu et al., 2008; Hu et al., 2009; Romanuk et al., 2010; Cai et al., 2010). Було також показано, що кількість PSMA7T корелює з трансактивацією андрогенного рецептора (AR) при рості пухлини передміхурової залози, опосередкованому андрогенами/AR (Ogiso et al., 2002).

Було показано, що PSMC1 здатний впливати на ріст клітин і, таким чином, він являє собою потенційну мішень протиракової терапії у клітинах раку передміхурової залози, множинної мієломи і гліобластоми (Dahlman et al., 2012; Kim et al., 2008).

RAD18 задіяний у онкогенезі внаслідок його добре відомій здатності до синтезу ДНК в обхід пошкодження, постреплікаційної репарації і гомологічної рекомбінації ДНК (Ting et al., 2010). Поліморфізм Arg302Gln гена RAD18 асоціюється з ризиком колоректального раку і недрібноклітинного раку легенів (Kanzaki et al., 2008; Kanzaki et al., 2007). RAD18 опосередковує резистентність до іонізуючої радіації у клітинах гліоми людини, і нокдаун RAD18 порушує репарацію, опосередковану гомологічною рекомбінацією, що веде до підвищеного накопичення дволанцюгових розривів (Xie et al., 2014). З використанням тканинних мікроматриць меланоми було показано, що експресія RAD18 у ядрі підвищена у первинній і метастатичній меланомі у порівнянні з диспластичними невусами (Wong et al., 2012).

Було визначено, що RAD51AP1 асоціюється з папілярним раком щитоподібної залози в результаті впливу радіації (Handkiewicz-Junak et al., 2016). Ампліфікація RAD51AP1, як було показано, корелює з іморталізацією клітин і коротшою тривалістю життя при раку яєчника (Sankaranarayanan et al., 2015). Повідомлялося, що RAD51AP1, як правило, надмірно експресується у пухлинних клітинах і тканинах, і порушення функції RAD51AP1 було запропоновано використовувати як багатообіцяючий підхід таргетної терапії пухлин (Parplys et al., 2014). Було показано, що транскрипція RAD51AP1 безпосередньо стимулюється геном-супресором пухлин MEN1 (Fang et al., 2013). Було показано, що експресія RAD51AP1 підвищена у внутрішньопечінковій холангіокарциномі, пласкоклітинній папіломавірус-позитивній карциномі голови та шиї людини і у BRCA1-дефіцитних пухлинах молочної залози у порівнянні зі спорадичними (Martinez et al., 2007; Martin et al., 2007; Obama et al., 2008). Пригнічення RAD51AP1, як виявилось, приводить до пригнічення росту клітин внутрішньопечінкової холангіокарциноми, що наводить на думку про його причетність до розвитку і (або) прогресування внутрішньопечінкової холангіокарциноми (Obama et al., 2008).

Нокдаун гена RBM14, як було показано, блокує повторний ріст мультиформної гліобластоми після опромінення *in vivo* (Yuan et al., 2014). Було показано, що активність RBM14 знижена у нирковоклітинній карциномі (Kang et al., 2008). Повідомлялося, що RBM14 є потенційним супресором пухлин при карциномі нирок, який інгібує перехід клітин нирки людини від фази G(1) до S-фази і пригнічує без'якірний ріст і отримання пухлин із ксенотрансплантату частково

внаслідок зниження експресії прото-онкогена *c-myc* (Kang et al., 2008). Було показано, що RBM14 бере участь у прискорювальному впливі на міграцію ракових клітин людини PEA3 і MCF7 (Verreman et al., 2011). Ген RBM14, як було показано, ампліфікується у підгрупі первинних ракових захворювань людини, включаючи недрібноклітинну карциному легенів, пласкоклітинну карциному шкіри і лімфому (Sui et al., 2007).

RBM4 задіяний у регуляторних механізмах сплайсингу пре-інформаційної РНК, що пригнічує проліферацію і міграцію різних ракових клітин (Lin et al., 2014; Wang et al., 2014c). Порушення регуляції активності RBM4 було виявлено при ракових захворюваннях шийки матки, молочної залози, легенів, товстої кишки, яєчника і прямої кишки (Liang et al., 2015; Markus et al., 2016).

Сироваткові рівні RCOR3 у пацієнтів із раком печінки були значуще нижчі, ніж у пацієнтів із помірним хронічним вірусним гепатитом В і легким хронічним вірусним гепатитом В (Xue et al., 2011).

Пригнічення експресії RFWD2 корелює з поганим прогнозом при раку шлунка (Sawada et al., 2013). RFWD2 безпосередньо взаємодіє з p27, і порушення регуляції цієї взаємодії причетне до онкогенезу (Choi et al., 2015b; Choi et al., 2015a; Marine, 2012). Підвищена експресія RFWD2 корелює з несприятливим прогнозом при раку сечового міхура, раку шлунка і потрійному негативному раку молочної залози (Ouyang et al., 2015; Li et al., 2016; Li et al., 2012c).

RIF1 експресується на високому рівні у пухлинах молочної залози людини, кодує анти-апоптотичний фактор, необхідний для репарації ДНК і є потенційною мішенню при лікуванні раку (Wang et al., 2009a). Роль RIF1 у підтриманні цілісності геному була визнана ширшою, до неї були включені регуляція хроматинових структур, реплікаційний таймінг і контрольна точка в S-фазі (Kumar and Cheok, 2014).

У пацієнтів з діагнозом вісцерального множинного вродженого інфантильного міофіброматозу були ідентифіковані нові гомозиготні варіанти у гені RLTPR (Linhares et al., 2014).

Було показано, що експресія RNF24 підвищена у аденокарциномі стравоходу і відіграє вирішальну роль у прогресуванні стравоходу Баррета до аденокарциноми стравоходу (Wang et al., 2014b). RNF24, як було виявлено, експресується диференційно, залежно від певних факторів ризику при пласкоклітинній карциномі порожнини рота (Cheong et al., 2009).

RPGRIP1L пригнічує без'якірний ріст частково за рахунок білка Mad2 контрольної точки мітозу і є кандидатом у гени-супресори пухлин гепатоцелюлярної карциноми (Lin et al., 2009).

Надмірна експресія Rtl1 у печінці дорослих мишей призводила до утворення пухлин із високою пенетрантністю. Надмірна експресія Rtl1 була виявлена у 30% проаналізованих зразків гепатоцелюлярної карциноми людини (Riordan et al., 2013). Транскрипційна активність імпринтованого гена RTL1 оцінювали у панелі з 32 пухлин Вільмса, і була виявлена масивна надмірна експресія у порівнянні з нормальною тканиною нирки (Hubertus et al., 2011).

SAPCD2 (також відомий під назвами p42.3 або C9orf140) кодує білок, вперше знайдений як експресований пухлинами раку шлунка, але не нормальною слизовою шлунка (Xu et al., 2007). SAPCD2 надмірно експресується при різних видах ракових пухлин, включаючи колоректальний рак, рак шлунка, гепатоцелюлярний рак і рак головного мозку, і високі рівні SAPCD2 асоціюються з прогресуванням пухлини (Sun et al., 2013; Weng et al., 2014; Wan et al., 2014). Оптимальний шлях гена SAPCD у регуляторній мережі білків при раку шлунка включає білок Ras, білок Raf-1, MEK, кіназу MAPK, MAPK, тубулін, білок, асоційований з веретенном поділу, центромерний білок і пухлину (Zhang et al., 2012a; Weng et al., 2014).

Було показано, що нижчий рівень експресії SEMA3A корелює з коротшою загальною виживаністю і має незалежну прогностичну цінність у пацієнтів із пласкоклітинною карциномою голови та шиї (Wang et al., 2016). Надмірна експресія SEMA3A, як показано, пригнічує міграцію, інвазію і епітеліально-мезенхімальний перехід частково завдяки інгібуванню NF- κ B і SNAI2 у лініях клітин пласкоклітинної карциноми голови та шиї (Wang et al., 2016). Отже, SEMA3A служить геном-супресором пухлин при пласкоклітинній карциномі голови та шиї і може бути новою мішенню при лікуванні цього захворювання (Wang et al., 2016). Було показано, що експресія SEMA3A демонструє зворотну асоціацію з метастазами гепатоцелюлярної карциноми (Yan-Chun et al., 2015). Повідомлялося, що експресія SEMA3A знижена при багатьох видах ракових захворювань, включаючи рак передміхурової залози, рак молочної залози, гліому, карциному епітелію яєчника і рак шлунка (Jiang et al., 2015a; Tang et al., 2014). Як було показано, низький рівень експресії SEMA3A корелює з низьким ступенем диференціювання, інвазією судин, глибиною інвазії, метастазами у лімфатичні вузли, віддаленими метастазами, пізніми стадіями за системою TNM і поганим прогнозом при раку шлунка (Tang et al., 2014). Повідомлялося, що SEMA3A є кандидатом у гени-супресори пухлин і потенційним прогностичним біомаркером канцерогенезу шлунка (Tang et al., 2014).

Було показано, що міссенс-варіантам гена SERPINB10 властиві онкогенні ознаки, які ведуть до підвищеного ризику раку передміхурової залози (Shioji et al., 2005). До того ж, експресія SERPINB10 значуще підвищена у метастатичних пухлинах молочної залози (Klopfleisch et al., 2010).

5 Рівень експресії SLC16A14 значуще асоціюється з виживаністю без прогресування і являє собою новий передбачуваний маркер прогресування епітеліального раку яєчника (Elsnerova et al., 2016).

SLC18A1 демонстрував нижчу експресію у несприятливих формах пухлин нейробластоми у порівнянні зі сприятливими (Wilzen et al., 2009).

10 SLC25A43 ідентифікували як регулятор проходження клітин через клітинний цикл і проліферації через передбачувану мітохондріальну контрольну точку у лініях клітин раку молочної залози (Gabrielson et al., 2016). SLC25A43 впливає на ефективність лікарських препаратів і регуляцію клітинного циклу після дії лікарських препаратів у лініях клітин раку молочної залози (Gabrielson and Tina, 2013).

15 Було визначено, що активність SLC28A3 знижена при аденокарциномі протоків підшлункової залози (Mohelnikova-Duchonova et al., 2013). SLC28A3 асоціюється з кінцевим клінічним результатом при лікуванні метастатичного раку молочної залози хіміотерапією паклітакселом і гемцитабіном, загальною виживаністю при лікуванні недрібноклітинного раку легенів гемцитабіном і загальною виживаністю при лікуванні аденокарциноми підшлункової залози хіміопроменевою терапією на базі гемцитабіну (Li et al., 2012b; Lee et al., 2014b; Marechal et al., 2009). SLC28A3 асоціюється з резистентністю хронічного лімфоцитарного лейкозу до дії флударабіну і з лікарською резистентністю Т-клітинного лейкозу (Karim et al., 2011; Fernandez-Calotti et al., 2012).

25 Спостерігалось стійке підвищення рівня SLC2A13 у клітинах, що формують сфери, у первинних культурах зразків пласкоклітинної карциноми порожнини рота, а конфокальна мікроскопія виявила той факт, що клітини, які експресують SLC2A13, були вбудовані в обмежені ділянки пухлинної тканини у вигляді кластера, наводячи на думку, що SLC2A13 може бути потенційним маркером ракових стовбурових клітин (Lee et al., 2011). SLC2A13 ідентифікували як ген, асоційований із стимуляцією і прогресуванням недрібноклітинного раку легенів (Bankovic et al., 2010).

Інгібування SLC35A1, як виявилось, знижує рівень сіалілування ракових клітин і зменшує метастатичний потенціал ракових клітин (Maggioni et al., 2014).

35 Було показано, що експресія SERPINH1 знижена у резистентних до лікарських препаратів варіантах клітин раку яєчника лінії W1, і, таким чином, може відігравати роль у резистентності ракових клітин до лікарських препаратів (Januchowski et al., 2013). Повідомлялося, що SLC7A11 модулює мікрооточення пухлини, призводячи до виникнення сприятливих умов для росту ракових пухлин (Savaskan and Eypuroglu, 2010). Повідомлялося, що SLC7A11 бере участь у нейродегенеративних процесах у гліомі (Savaskan et al., 2015). Було показано, що SLC7A11 пригнічується p53 за механізмом фероптозу, і повідомлялося, що вісь p53-SLC7A11 зберігається у вигляді мутанта p53(3KR) та робить свій внесок у його здатність пригнічувати пухлиногенез за відсутності класичних механізмів пригнічення пухлин (Jiang et al., 2015b). Повідомлялося, що SLC7A11 є функційною субодиницею системи Хс-, функція якої підвищена у клітинах агресивного раку молочної залози (Linher-Melville et al., 2015). Було показано, що інтенсивне забарвлення клітинних мембран для SLC7A11 при цисплатин-резистентному раку сечового міхура асоціюється з гіршим кінцевим клінічним результатом, і повідомлялося, що інгібування SLC7A11 є багатообіцяючим терапевтичним підходом до лікування цього захворювання (Drayton et al., 2014). Було показано, що SLC7A11 диференційно експресується у клітинах промієлоцитарного лейкозу людини лінії HL-60, які піддали дії бензолу та його метаболітів, що, таким чином, підкреслює можливу асоціацію SLC7A11 з лейкозогенезом (Sarma et al., 2011). Повідомлялося, що руйнування гена SLC7A11 приводить до інгібування росту багатьох видів карцином, включаючи лімфому, гліому, рак передміхурової і молочної залози (Chen et al., 2009). Було показано, що інгібування SLC7A11 інгібує інвазію клітин раку стравоходу лінії KYSE150 *in vitro* і утворення його експериментальних метастазів у «голих» мишей і, таким чином, є свідченням ролі SLC7A11 у утворенні метастазів пухлини (Chen et al., 2009).

55 SLCO5A1 локалізується на плазматичній мембрані і може брати участь у формуванні хіміорезистентності дрібноклітинної карциноми легенів шляхом впливу на внутрішньоклітинний транспорт лікарських препаратів (Olszewski-Hamilton et al., 2011). SLCO5A1 є найбільш важливим поліпептидом, який транспортує органічні аніони, при метастатичному 60 дрібноклітинному раку легенів, і рівень iPHK SLCO5A1 значно підвищений у пухлинах печінки і

раку молочної залози (Kindla et al., 2011; Wlcek et al., 2011; Brenner et al., 2015). Злиття генів при пласкоклітинних карциномах ротоглотки асоціюється з зниженням активності SLCO5A1 (Guo et al., 2016).

Експресія SP5 знижується після виснаження бета-катеніну у лініях клітин колоректального раку, і він є новою прямою низхідною мішенню у сигнальному шляху Wnt (Takahashi et al., 2005). Надмірна експресія SP5 приводила до активації бета-катенінового шляху у поодиноких новоутвореннях підшлункової залози людини (Cavard et al., 2009). У клітинах колоректальної карциноми людини, які демонструють порушення регуляції шляху Wnt, монензин SP5 знижував внутрішньоклітинні рівні β -катеніну, що вело до зменшення рівня експресії генів-мішеней сигнального шляху Wnt, таких як SP5, і знижувало швидкість проліферації клітин (Tumova et al., 2014).

STIL належить до групи генів, для яких характерні зміни у кількості копій і втрата гетерозиготності, що має копій-нейтральний характер, у 15 адренокортикальних аденомах, що секретують кортизол (Ronchi et al., 2012). Хромосомні делеції, що забезпечують злиття цього гена і прилеглого локуса, зазвичай відбуваються при Т-клітинних лейкозах, і вважається, що вони виникають в результаті недозволених рекомбінаційних подій V-(D)-J (Karrman et al., 2009; Alonso et al., 2012).

Підвищена експресія TBC1D7 була виявлена у більшості пухлин раку легенів, та імуногістохімічне барвлення наводить на думку про асоціацію експресії TBC1D7 з поганим прогнозом для пацієнтів із НДРЛ (Sato et al., 2010). Надмірна експресія TBC7 підвищує убіквітинування TSC1 і підвищує фосфорилювання білка S6 за допомогою S6-кінази, яка є компонентом сигнального шляху mTOR (Nakashima et al., 2007).

TDG чинить вплив на сигнальний шлях Wnt шляхом позитивної регуляції через взаємодію з фактором транскрипції TCF4. Вважається, що він є потенційним біомаркером колоректального раку (Xu et al., 2014). З іншого боку, знижений рівень експресії TDG веде до порушення сигнального шляху ексцизійної репарації основ із сильними онкогенними властивостями (van de Klundert et al., 2012). Зниження експресії цього білка спостерігалось на ранніх стадіях раку молочної залози, при пласкоклітинній карциномі стравоходу (ПККС), а також при раку шлунка (Li et al., 2013; Du et al., 2015; Yang et al., 2015a).

Серед чотирьох генів, які частіше мутують, TENM4 демонстрував мутації, що змінюють білок у первинних лімфомах ЦНС (Vater et al., 2015). Лінія клітин MDA-MB-175 містить хромосомну транслокацію, яка веде до злиття TENM4 і рецепторів сімейства ErbB. Химерні гени були також виявлені у нейробластомах (Wang et al., 1999b; Boeva et al., 2013).

TET2 є головним регулятором гомеостазу гематопоетичних стовбурових клітин, порушення функцій яких призводить до злоякісних захворювань крові (Nakajima and Kunimoto, 2014). Мутації TET2 чинять негативний вплив на прогноз і можуть допомогти виправдати застосування ризик-адаптованих терапевтичних стратегій для пацієнтів із гострим мієлоїдним лейкозом (Liu et al., 2014b). Ядерна локалізація TET2 втрачається у значній долі тканин колоректального раку, з асоціацією з метастазами (Huang et al., 2016).

TKTL1 асоціюється з розвитком і прогресуванням пухлин багатьох видів, таких як пласкоклітинна карцинома стравоходу, пласкоклітинна карцинома порожнини рота, рак легенів, колоректальний рак і недрібноклітинний рак легенів (Kayser et al., 2011; Bentz et al., 2013; Grimm et al., 2014).

TMEM67 бере участь у міграції центріолей до апікальної мембрани і у формуванні первинної війки. Дефекти цього гена є причиною синдрому Меккеля типу 3 (MKS3) і синдрому Жубера типу 6 (JBTS6) (RefSeq, 2002). TMEM67 бере участь у формуванні війок, і війки з дефектами можуть призвести до колобоми ока, пухлин язика і медулобластоми (Yang et al., 2015b; Parisi, 2009).

TONSL бере участь у канцерогенезі легенів і стравоходу, стабілізуючи онкогенний білок MMS22L (Nguyen et al., 2012). Була виявлена подальша взаємодія між TONSL і BRCA1, який діє як ген-супресор пухлин молочної залози і яєчника (Hill et al., 2014).

Повідомлялося, що транслокація TP63 є подією у підгрупі (кіназа анапластичної лімфоми) - позитивних анапластичних великоклітинних лімфом, вона асоціюється з агресивним перебігом цього захворювання (Hargood and Savage, 2015). Повідомлялося, що TP63 відіграє різноманітні ролі у раку у зв'язку з його участю у диференціації епітелію, зупинці клітинного циклу і апоптозі (Lin et al., 2015). Повідомлялося, що TAp63 як ізоформа TP63 надлишково експресується при злоякісних захворюваннях крові, тоді як міссенс-мутації в гені TP63 були виявлені при пласкоклітинних ракових пухлинах, а транслокації гена TP63 – у лімфомах і деяких аденокарциномах легенів (Orzol et al., 2015). Повідомлялося, що аберантний сплайсинг, який призводить до надмірної експресії DeltaNp63, ізоформи TP63, часто виявляється при ракових захворюваннях людини, таких як пласкоклітинна карцинома шкіри, за якої він, вірогідно, сприяє

ініціації і прогресуванню пухлини (Missero and Antonini, 2014; Inoue and Fry, 2014).

TRIM59 сприяє проліферації і міграції клітин недрібноклітинного раку легенів шляхом сприяння експресії білків, пов'язаних із клітинним циклом (Zhan et al., 2015). Експресія передбачуваної убіквітинлігази TRIM59 підвищена у пухлинах шлунка у порівнянні з непухлинними тканинами, і рівні TRIM59 корелюють із прогресуванням пухлини і тривалістю життя пацієнтів. TRIM59 взаємодіє з P53, сприяючи його убіквітинуванню і деградації, і TRIM59 може сприяти канцерогенезу шлунка через цей механізм (Zhou et al., 2014).

Було виявлено, що експресія TRPC4 підвищена при раку легенів, раку яєчника, раку голови та шиї, раку нирок і недрібноклітинному раку легенів (Zhang et al., 2010b; Zeng et al., 2013a; Jiang et al., 2013; Park et al., 2016).

ULBP3 експресується у розчинній і зв'язаній з мембраною ізоформі у багатьох пухлинних клітинах. Бластні клітини дитячого гострого лімфобластного лейкозу експресують значуще вищі рівні ULBP3 у порівнянні з бластними клітинами дорослих (Torelli et al., 2014). Набагато вищі рівні ULBP3 були знайдені у клітинах лейкозу лінії K562 у порівнянні з іншими лініями клітин лейкозу. До того ж, його можна виявити як і клітинних ліній лейкозу, так і злоякісних клітинах первинного лейкозу (Ma et al., 2013b). Локус ULBP3 є метильованим у клітинних ліній колоректального раку (Bormann et al., 2011). У клітинах раку легенів людини лінії SW-900 були виявлені підвищені рівні iPHK і рівні експресії ULBP3 на поверхні клітин (Park et al., 2011). ULBP3 має вищу поверхневу експресію у клітинах лейкозу (Ogbomo et al., 2008). Рівні ULBP3 у різних ліній пухлинних клітин корелюють із цитотоксичністю NK-клітин, однак очевидно, що ULBP3 не підходить для використання як біомаркер (Wang et al., 2008; Linkov et al., 2009). ULBP3 не експресується у клітинах назофарингеальної карциноми людини лінії CNE2 (Mei et al., 2007). ULBP3 експресується при раку яєчника і зворотно корелює з виживаністю пацієнтів (Carlsten et al., 2007; McGilvray et al., 2010). В-клітини експресують ULBP3 у неходжкінській лімфомі або його можна виявити у периферичній крові, кістковому мозку або лімфатичних вузлах (Catellani et al., 2007). ULBP3 експресується при раку молочної залози, у клітинах гліобластоми лінії U251, пухлинах головного мозку людини та у пласкоклітинній карциномі голови та шиї (Eisele et al., 2006; Butler et al., 2009; Bryant et al., 2011; de Kruijff et al., 2012). Пухлинні клітини експресують розчинний і поверхневий ULBP3 для регуляції активності NK-клітин (Mou et al., 2014). ULBP3 надмірно експресується у певних епітеліальних пухлинах. До того ж, рівень ULBP3 у сироватці хворих на рак пацієнтів підвищений у порівнянні з із здоровими донорами (Mou et al., 2014).

Алелі гена VPS13B є мутованими при дрібноклітинному раку легенів (Iwakawa et al., 2015). Мутації VPS13B спостерігалися при раку шлунка і колоректальному раку (An et al., 2012).

Мутації зсуву рамки зчитування гена VPS13C були описані для захворювань на рак шлунка і колоректальний рак із мікросателітною нестабільністю (An et al., 2012).

Рівень експресії WDR62 був значно підвищений у тканинах і клітинних ліній раку шлунка і асоціювався з низьким ступенем диференціювання і поганим прогнозом. Крім цього, експресія WDR62 була підвищеною у клітинах із множинною лікарською резистентністю (Zeng et al., 2013b). Надмірна експресія WDR62 пов'язана з ампліфікацією центросом і може бути новим прийнятним біомаркером диференціації і потенційною терапевтичною мішенню при раку яєчника (Zhang et al., 2013b).

Зв'язаний з екзосомою WDR92 інгібує інвазію клітин раку молочної залози шляхом деградації iPHK амфірегуліну (Saeki et al., 2013). WDR92 потенціює апоптоз, індукований фактором некрозу пухлини альфа і циклогексимідом (Ni et al., 2009).

Ген WNT5A належить до сімейства генів WNT, яке складається з структурно споріднених генів, які кодують сигнальні білки, що секретиються. Ці білки задіяні у онкогенезі і у декількох процесах розвитку, включаючи регуляцію спеціалізацію клітин і формування біологічного патерну під час ембріогенезу. Ген WNT5A кодує члена сімейства генів WNT, який є елементом сигнальних шляхів WNT, як канонічного, так і неканонічного. Цей білок є лігандом для семипрохідного трансмембранного рецептора 5, що завивається, і орфанного тирозинкіназного рецептора 2. Цей білок відіграє суттєву роль у регуляції процесів розвитку зародку під час ембріогенезу. Цей білок може також відігравати певну роль у онкогенезі (RefSeq, 2002). WNT5A надмірно експресується у КРК і має показник зіставності 76 % між первинною пухлинною і метастатичним осередком (Lee et al., 2014a). Експресія WNT5A підвищена і він є ключовим регулятором епітеліально-мезенхімального переходу і метастазування у клітинах карциноми шлунка людини, назофарингеальної карциноми і раку підшлункової залози (Kanzawa et al., 2013; Zhu et al., 2014; Bo et al., 2013).

Імовірно, що XRN1 задіяний у декількох регуляторних шляхах iPHK у астроцитах і клітинах астроцитоми (Moser et al., 2007). Нокдаун XRN1 інгібує експресію андрогенного рецептора у клітинах раку передміхурової залози і відіграє важливу роль в осі miR-204/XRN1 в

аденокарциномі передміхурової залози (Ding et al., 2015).

Дослідження асоціації в усьому геномі виявило генетичні поліморфізми XXYL1. Було висловлено припущення, що ці поліморфізми є локусами схильності до розвитку недрібноклітинного раку легенів (Zhang et al., 2012b).

5 ZBTB20 сприяє проліферації клітин недрібноклітинного раку легенів через пригнічення FoxO1 (Zhao et al., 2014b). Рівень експресії ZBTB20 підвищений при гепатоцелюлярній карциномі і асоціюється з поганим прогнозом (Wang et al., 2011c). Поліморфізм гена ZBTB20 асоціюється з раком шлунка (Song et al., 2013).

10 Вважається, що ZFNХ4 регулює диференціацію клітин, і його пригнічення пов'язане з безглуздою виживаністю (Chudnovsky et al., 2014). У папілярних пухлинах пінеальної ділянки головного мозку виявлені високі рівні експресії ZFNХ4 (Fevre-Montange et al., 2006). Було визначено, що ZFNХ4 є локусом схильності до базальноклітинної карциноми (Stacey et al., 2015).

15 ZMYM1 є головним партнером по взаємодії з ZNF131, який бере участь у сигнальному шляху, що регулюється естрогенами, і у проліферації клітин раку молочної залози (Oh and Chung, 2012; Kim et al., 2016).

ПОВНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

20 Стимуляція імунної відповіді залежить від присутності антигенів, що сприймаються імунною системою хазяїна як чужорідні. Відкриття пухлино-асоційованих антигенів зробило можливим використання імунної системи хазяїна для втручання в ріст пухлини. Зараз вивчається можливість використання для імунотерапії раку різних механізмів задіяння як гуморальної, так і клітинної ланки імунної системи.

25 Специфічні елементи клітинної імунної відповіді здатні специфічно розпізнавати та знищувати пухлинні клітини. Виділення Т-клітин із популяції пухлино-інфільтруючих клітин або з периферичної крові говорить про те, що такі клітини відіграють важливу роль у природному імунному захисті проти раку. Важливу роль у цій відповіді відіграють, зокрема, CD8-позитивні Т-клітини, які розпізнають пептиди, зв'язані з молекулами головного комплексу гістосумісності I класу (МНС). Ці пептиди зазвичай складаються з 8–10 амінокислотних залишків, що отримані з білків або дефектних рибосомальних продуктів (DRIP), які містяться у цитозолі. Молекули МНС людини також визначаються як лейкоцитарні антигени людини (HLA).

30 Якщо не зазначено інше, під нижче наведеними термінами, що використовуються у цьому описі, розуміються наступні поняття.

Термін «Т-клітинна відповідь» означає специфічну проліферацію та активацію ефекторних функцій, індукованих пептидом *in vitro* чи *in vivo*. Для цитотоксичних Т-клітин, обмежених МНС I класу, ефекторними функціями можуть бути лізис клітин-мішеней, оброблених пептидом чи пептидним прекурсором чи клітин-мішеней, природно презентуючих пептид, секреція цитокінів, переважно гамма-інтерферону, TNF-альфа або ІЛ-2, індукована пептидом, секреція ефекторних молекул, переважно гранзимів чи перфоринів, індукована пептидом, або дегрануляція.

40 Термін «пептид» використовується в цьому описі для позначення серії амінокислотних залишків, що з'єднані один з одним зазвичай пептидним зв'язком між альфа-аміно та карбонільними групами сусідніх амінокислот. Бажано, щоб пептиди були довжиною у 9 амінокислот, але можуть бути такими короткими, як довжиною у 8 амінокислот, і такими довгими, як довжиною у 10, 11, 12, 13 або 14 амінокислот або більшими по довжині, а у випадку пептидів, що зв'язані з молекулами МНС II класу (подовжені варіанти пептидів за цим винаходом), вони можуть досягати такої довжини, як 15, 16, 17, 18, 19 або 20 амінокислот.

45 Термін «пептид» використовується також для позначення солей серії амінокислотних залишків, що з'єднані один з одним зазвичай пептидним зв'язком між альфа-аміно та карбонільними групами сусідніх амінокислот. Переважно, щоб ці солі були фармацевтично прийнятними солями пептидів, наприклад, такими як хлорид або ацетат (трифторацетат). Треба зазначити, що солі пептидів за цим винаходом суттєво відрізняються від пептидів у їхньому стані *in vivo*, оскільки пептиди не є солями *in vivo*.

Термін «пептид» повинен також включати «олігопептид». Термін «олігопептид» використовується в цьому описі для позначення серії амінокислотних залишків, що з'єднані один з одним зазвичай пептидними зв'язками між альфа-аміно та карбонільними групами сусідніх амінокислот. Довжина олігопептиду не є критичною для цього винаходу за умови, що він містить правильний епітоп чи епітопи. Олігопептиди зазвичай коротші, ніж довжиною близько 30 амінокислотних залишків, і довші, ніж довжиною близько 15 амінокислотних залишків.

Термін «поліпептид» використовується для позначення серії амінокислотних залишків, що з'єднані один з одним зазвичай пептидними зв'язками між альфа-аміно та карбонільними групами сусідніх амінокислот. Довжина поліпептиду не є критичною для цього винаходу за

умови, що він містить правильні епітопи. На відміну до термінів «пептид» і «олігопептид», під терміном «поліпептид» маються на увазі молекули, що містять більш ніж 30 амінокислотних залишків.

Пептид, олігопептид, білок або полінуклеотид, що кодує таку молекулу, має назву «імуногенного» (і, отже, є «імуногеном» в межах цього винаходу), якщо він здатний індукувати імунну відповідь. У межах цього винаходу імуногенність точніше визначається як здатність викликати відповідь Т-клітин. Отже, «імуногеном» може бути молекула, яка здатна індукувати імунну відповідь, і що стосується цього винаходу, молекула, що здатна індукувати відповідь Т-клітин. В іншому аспекті імуноген може бути пептидом, комплексом пептиду з МНС, олігопептидом і/або білком, який використовується для продукції специфічних антитіл або ТКР проти нього.

«Епітоп» І класу Т-клітини потребує короткого пептиду, який зв'язаний із рецептором молекули МНС І класу, утворюючи потрійний комплекс (альфа-ланцюг молекули МНС І класу, бета-2-мікроглобулін і пептид), який може розпізнаватися Т-клітиною, що несе відповідний Т-клітинний рецептор, який зв'язується із комплексом МНС/пептид із належної афінністю. Пептиди, які зв'язані з молекулами МНС І класу, зазвичай мають довжину в 8-14 амінокислот, і, найбільш типово, довжину в 9 амінокислот.

У людини є три різні генетичні локуси, які кодують молекули МНС І класу (молекули МНС людини мають також визначаються як лейкоцитарні антигени людини (HLA)): HLA-A, HLA-B і HLA-C. HLA-A*01, HLA-A*02 і HLA-B*07 є прикладами різних алелів МНС І класу, які можуть експресуватися з цих локусів.

Таблиця 4

Частоти експресії F для HLA*A02 і HLA-A*24 і найбільш поширених серотипів HLA-DR. Частоти, отримані з частот виявлення гаплотипів Gf серед населення США, адаптовано з публікації Mori і співавт. (Mori et al., 1997), з використанням формули Харді-Вайнберга: $F = 1 - (1 - Gf)^2$. Комбінація A*02 або A*24 з певними алелями HLA-DR внаслідок невірноваженого зчеплення може бути збагаченою або збідненою у порівнянні з передбачуваною на основі індивідуальних частот виявлення. Докладну інформацію див. у Chanock і співавт. (Chanock et al., 2004).

Алель	Популяція	Фенотип, розрахований із частоти алелів
A*02	Європеоїдна раса (Північна Америка)	49,1%
A*02	Афроамериканці (Північна Америка)	34,1%
A*02	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	43,2%
A*02	Латиноамериканці (Північна Америка)	48,3%
DR1	Європеоїдна раса (Північна Америка)	19,4%
DR2	Європеоїдна раса (Північна Америка)	28,2%
DR3	Європеоїдна раса (Північна Америка)	20,6%
DR4	Європеоїдна раса (Північна Америка)	30,7%
DR5	Європеоїдна раса (Північна Америка)	23,3%
DR6	Європеоїдна раса (Північна Америка)	26,7%
DR7	Європеоїдна раса (Північна Америка)	24,8%
DR8	Європеоїдна раса (Північна Америка)	5,7%
DR9	Європеоїдна раса (Північна Америка)	2,1%
DR1	Афроамериканці (Північна Америка)	13,20%
DR2	Афроамериканці (Північна Америка)	29,80%
DR3	Афроамериканці (Північна Америка)	24,80%
DR4	Афроамериканці (Північна Америка)	11,10%
DR5	Афроамериканці (Північна Америка)	31,10%
DR6	Афроамериканці (Північна Америка)	33,70%
DR7	Афроамериканці (Північна Америка)	19,20%
DR8	Афроамериканці (Північна Америка)	12,10%
DR9	Афроамериканці (Північна Америка)	5,80%
DR1	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	6,80%
DR2	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	33,80%
DR3	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	9,20%

Таблиця 4

Частоти експресії F для HLA-A*02 і HLA-A*24 і найбільш поширених серотипів HLA-DR. Частоти, отримані з частот виявлення гаплотипів Gf серед населення США, адаптовано з публікації Mori і співавт. (Mori et al., 1997), з використанням формули Харді-Вайнберга: $F = 1 - (1 - Gf)^2$. Комбінація A*02 або A*24 з певними алелями HLA-DR внаслідок невірноваженого зчеплення може бути збагаченою або збідненою у порівнянні з передбачуваною на основі індивідуальних частот виявлення. Докладну інформацію див. у Chanock і співавт. (Chanock et al., 2004).

Алель	Популяція	Фенотип, розрахований із частоти алелів
DR4	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	28,60%
DR5	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	30,00%
DR6	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	25,10%
DR7	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	13,40%
DR8	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	12,70%
DR9	Американці монголоїдної раси (Північна Америка)	18,60%
DR1	Латиноамериканці (Північна Америка)	15,30%
DR2	Латиноамериканці (Північна Америка)	21,20%
DR3	Латиноамериканці (Північна Америка)	15,20%
DR4	Латиноамериканці (Північна Америка)	36,80%
DR5	Латиноамериканці (Північна Америка)	20,00%
DR6	Латиноамериканці (Північна Америка)	31,10%
DR7	Латиноамериканці (Північна Америка)	20,20%
DR8	Латиноамериканці (Північна Америка)	18,60%
DR9	Латиноамериканці (Північна Америка)	2,10%
A*24	Філіппіни	65%
A*24	Ненці Росії	61%
A*24:02	Японія	59%
A*24	Малайзія	58%
A*24:02	Філіппіни	54%
A*24	Індія	47%
A*24	Південна Корея	40%
A*24	Шрі-Ланка	37%
A*24	Китай	32%
A*24:02	Індія	29%
A*24	Західна Австралія	22%
A*24	США	22%
A*24	Росія, Самара	20%
A*24	Південна Америка	20%
A*24	Європа	18%

Пептиди за винаходом, переважно якщо введені до складу вакцини за винаходом, як описано в цьому документі, переважно зв'язуються з A*02, A*24 або алелями II класу, як зазначено. Вакцина може також містити пептиди, що універсально зв'язуються з молекулами МНС II класу. Таким чином, вакцина за винаходом може застосовуватися для лікування раку у пацієнтів, що є A*02-позитивними, у той час як немає необхідності вибору алотипів МНС II класу завдяки здатності цих пептидів до універсальності зв'язування.

Якщо пептиди, що зв'язуються з HLA-A*02, поєднати з пептидами, які зв'язуються з іншим алелем, наприклад, A*24, лікуванню можна піддати більший відсоток будь-якої популяції пацієнтів, у порівнянні з охопленням пацієнтів, у яких кожний алель МНС I класу наявний окремо. У той час як у більшості популяцій менше ніж 50% пацієнтів може бути охоплено кожним алелем окремо, вакцина, що містить пептиди, які є епітопами HLA-A*24 і HLA-A*02, дозволяє вакцинувати принаймні 60% пацієнтів у кожній відповідній популяції. Конкретно, наступні відсоткові долі пацієнтів будуть позитивними принаймні до одного з цих алелів у різних регіонах: США – 61 %, Західна Європа – 62 %, Китай – 75 %, Південна Корея – 77 %, Японія – 86 % (розраховано з даних www.allele frequencies.net).

У переважному втіленні термін «нуклеотидна послідовність» стосується гетерополімеру

дезоксирибонуклеотида.

Нуклеотидна послідовність, що кодує конкретний пептид, олігопептид або поліпептид, може зустрічатися в природі або може бути сконструйована синтетично. Загалом, сегменти ДНК, які кодують пептиди, поліпептиди та білки за цим винаходом, зібрані з фрагментів кДНК і коротких олігонуклеотидних лінкерів або з серії олігонуклеотидів з утворенням синтетичного гена, що здатний експресуватися в рекомбінантній транскрипційній одиниці, що містить регуляторні елементи, які отримані з оперону мікроорганізму або вірусу.

Термін «нуклеотидне кодування пептиду» в контексті цього винаходу означає нуклеотидну послідовність, що кодує пептид, включаючи штучні (створені руками людини) старт- і стоп-кодони, сумісні з біологічною системою, якою ця послідовність буде експресуватися, наприклад, з дендритними клітинами або іншою системою клітин, застосованих для отримання ТКР.

Для цілей цього винаходу посилення на послідовність нуклеїнової кислоти означає як одноланцюгову, так і дволанцюгову нуклеїнову кислоту. Отже, наприклад, для ДНК, конкретна послідовність, якщо контекст на вказує на інше, відноситься до одноланцюгової ДНК такої послідовності, дуплекса такої послідовності з її комплементом (дволанцюгова ДНК) і комплементу такої послідовності.

Термін «кодуюча ділянка» відноситься до тієї частини гена, яка або природно, або нормально кодує продукт експресії цього гена в його природному геномному оточенні, тобто до ділянки, що кодує *in vivo* природний продукт експресії гена.

Кодуюча ділянка може бути ділянкою немутованого («нормального»), мутованого або зміненого гена, або навіть ділянкою послідовності ДНК або гена, повністю синтезованого в лабораторії з використанням методів, добре відомих фахівцям у галузі синтезу ДНК.

Термін «продукт експресії» означає поліпептид або білок, котрий є природним трансляційним продуктом гена та будь-якої нуклеїново-кислотної послідовності, що кодує еквіваленти, які є результатом виродження генетичного коду, і, таким чином, кодує ту ж амінокислоту (ті ж амінокислоти).

Термін «фрагмент», стосовно кодуючої послідовності, означає частину ДНК, яка містить менш ніж повну кодуючу ділянку, і продукт експресії якої зберігає по суті ту ж біологічну функцію чи активність, що й продукт експресії повної кодуючої ділянки.

Термін «сегмент ДНК» відноситься до полімеру ДНК у формі окремого фрагмента чи як компонент більшої конструкції ДНК, що одержаний з ДНК, виділеної принаймні один раз по суті в чистій формі, тобто без забруднюючих ендогенних матеріалів та в кількості чи концентрації, яка дає змогу ідентифікувати, виконувати маніпуляції та відновлювати сегмент і його складові нуклеотидні послідовності за допомогою стандартних біохімічних методів, наприклад, з використанням вектора клонування. Такі сегменти надаються у формі відкритої рамки зчитування, без порушень внутрішніми нетрансльованими послідовностями, чи інтронів, які зазвичай присутні в еукаріотичних генах. Послідовності нетрансльованих ДНК можуть бути присутні за відкритою рамкою зчитування, де вони не заважають маніпуляціям або експресії кодуючих ділянок.

Термін «праймер» означає коротку нуклеїново-кислотну послідовність, котра може бути спарена з одним ланцюгом ДНК та надає вільний 3'ОН-кінець, на якому ДНК-полімераза починає синтез дезоксирибонуклеотидного ланцюга.

Термін «промотор» означає ділянку ДНК, яка бере участь у зв'язуванні РНК-полімерази для ініціації транскрипції.

Термін «виділений» означає, що матеріал видаляється зі свого первісного середовища (наприклад, природного середовища, якщо він має природне походження). Наприклад, існуючий у природі полінуклеотид чи поліпептид, присутній у живих тваринах, не є виділеним, але той самий полінуклеотид чи поліпептид, відокремлений від якихось чи всіх співіснуючих матеріалів в природній системі, є виділеним. Такі полінуклеотиди можуть бути часткою вектора, і (або) такі полінуклеотиди чи поліпептиди можуть становити частину композиції і все ж таки бути виділеними, якщо такий вектор чи композиція не є частиною свого природного середовища.

Ці полінуклеотиди та рекомбінантні чи імуногенні поліпептиди, розкриті відповідно до цього винаходу, також можуть бути в «очищеній» формі. Термін «очищений» не вимагає абсолютної чистоти; скоріше він має відносне значення та може включати препарати високого ступеню очищення або препарати, які тільки частково очищені, в тому сенсі, як спеціалісти в цій галузі розуміють такі терміни. Наприклад, окремі клони, виділені з бібліотеки кДНК, були стандартним чином очищені до електрофоретичної однорідності. Очищення вихідного матеріалу чи природного матеріалу принаймні на порядок величини, переважно на два-три порядки, та більш переважно, на чотири-п'ять порядків величини, чітко передбачається в цьому винаході. Крім того, заявлений поліпептид, котрий має чистоту переважно в 99,999, або принаймні в 99,99 %

чи 99,9 %; і навіть бажано 99 % за масою чи більше, також чітко пропонується у винаході.

Нуклеїнові кислоти та поліпептиди як продукти експресії, що розкриваються відповідно до цього винаходу, а також вектори експресії, які містять такі нуклеїнові кислоти і (або) такі поліпептиди, можуть бути в «збагаченій формі». Термін «збагачений» в тому виді, в якому він використовується тут, означає, що концентрація матеріалу принаймні приблизно в 2, 5, 10, 100 або 1000 разів перевищує його природну концентрацію (наприклад), бажано 0,01 %, за масою, принаймні краще приблизно 0,1 % за масою. Також мають на увазі збагачені препарати приблизно в 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 % та 20 % за масою. Послідовності, конструкції, вектори, клони та інші матеріали, які складають цей винахід, можуть, що більш сприятливо, бути у збагаченій чи виділений формі. Термін «активний фрагмент» означає фрагмент, зазвичай пептиду, поліпептиду або нуклеїново-кислотної послідовності, що генерує імунну реакцію (тобто має імуногенну активність) при введенні індивідуально чи, необов'язково, з прийнятим ад'ювантом або у векторі, тварині, наприклад, ссавцю, такому як кролик чи миша, і також включаючи людину, до того ж така імунна реакція має вид стимуляції Т-клітинної відповіді у тварини-реципієнта, такої як людина. Альтернативно, «активний фрагмент» також може використовуватись для індукції Т-клітинної відповіді *in vitro*.

В цьому винаході терміни «частка», «сегмент» і «фрагмент», якщо вони використовуються по відношенню до поліпептидів, означають безперервну послідовність залишків, таких як амінокислотні залишки, причому ця послідовність утворює підгрупу більшої послідовності. Наприклад, якщо поліпептид був підданий обробці будь-якою з типових ендопептидаз, таких як трипсин або хімотрипсин, олігопептиди, одержані в результаті такої обробки, будуть представляти частки, сегменти чи фрагменти початкового поліпептиду. Якщо такі терміни використовуються стосовно полінуклеотидів, вони означають продукти, одержані після обробки згаданих полінуклеотидів будь-якою з типових ендонуклеаз.

Відповідно до цього винаходу, термін «відсоткова ідентичність» або «відсоток ідентичності» відносно послідовності означає, що послідовність порівнюється із заявленою або описаною послідовністю після вирівнювання послідовності, яка порівнюється («Послідовність, що порівнюється»), з описаною або заявленою послідовністю («Контрольна послідовність»). Відсоткова ідентичність визначається відповідно до наведеної нижче формули:

Відсоткова ідентичність = $100 [1 - (C/R)]$

де С - кількість відмінностей між Контрольною послідовністю та Послідовністю, що порівнюється, на довжині вирівнювання між Контрольною послідовністю та Послідовністю, що порівнюється, де

(i) кожна основа чи амінокислота в Контрольній послідовності, котра не має відповідної вирівняної основи чи амінокислоти у Послідовності, що порівнюється, і

(ii) кожний розрив у Контрольній послідовності та

(iii) кожна вирівняна основа чи амінокислота в Контрольній послідовності, котра не має відповідної вирівняної основи чи амінокислоти у Послідовності, що порівнюється, становить відмінність, і

(iiii) вирівнювання повинне починатися з позиції 1 вирівняних послідовностей;

і R є числом основ або амінокислот у Контрольній послідовності по довжині вирівнювання з Послідовністю, що порівнюється, причому будь-який розрив, створений у Контрольній послідовності, також вважається основою або амінокислотою.

Якщо існує вирівнювання між Послідовністю, що порівнюється, та Контрольною послідовністю, для якої відсоткова ідентичність, що розрахована вище, є приблизно рівною чи більшою, ніж зазначена мінімальна Відсоткова ідентичність, то Послідовність, що порівнюється, має зазначену мінімальну відсоткову ідентичність до Контрольної послідовності, хоча можуть існувати вирівнювання, в яких розрахована, як описано вище, Відсоткова ідентичність є меншою, ніж зазначена Відсоткова ідентичність.

Як згадано вище, цей винахід також стосується пептиду, що містить послідовність, вибрану з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або їхній варіант, який на 88% є гомологічним послідовностям від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або їхнього варіанту, який викликає перехресну реакцію Т-клітин із зазначеним пептидом. Пептиди за винаходом здатні зв'язуватися з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I класу, або подовжені версії згаданих пептидів – з молекулою II класу.

У цьому винаході термін «гомологічний» означає ступінь ідентичності (див. «Відсоткова ідентичність» вище) послідовностей двох амінокислотних послідовностей, тобто пептидних або поліпептидних послідовностей. Згадана вище «гомологія» визначається порівнянням двох послідовностей, що були вирівняні в оптимальних умовах щодо послідовностей, які порівнюються. Таку гомологічність послідовностей можна розрахувати, створивши

вирівнювання за допомогою, наприклад, алгоритму ClustalW. Загальнодоступне програмне забезпечення для аналізу послідовностей, більш конкретно, Vector NTI, GENETYX або інші інструменти можна знайти у базах даних у вільному доступі.

Фахівець у цій галузі в змозі оцінити, чи будуть Т-клітини, індуковані варіантом конкретного пептиду, вступати в перехресну реакцію із самим пептидом (Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997).

Під терміном «варіант» даної амінокислотної послідовності автори винаходу мають на увазі, що бокові ланцюги, наприклад, одного чи двох амінокислотних залишків змінюються (зокрема, шляхом заміни їх боковим ланцюгом залишку іншої природно існуючої амінокислоти чи якимось іншим боковим ланцюгом) таким чином, що пептид все ще здатний зв'язуватися з молекулою HLA, по суті, у такий же спосіб, як і пептид, що складається з даної амінокислотної послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388. Наприклад, пептид може бути модифікований так, що він буде принаймні зберігати, чи навіть поліпшувати, здатність взаємодіяти та зв'язуватися зі зв'язувальною щільною прийнятною молекули MHC, такої як HLA-A*02 або -DR, і у такий спосіб принаймні зберігати чи навіть поліпшувати здатність зв'язуватися з ТКР активованих Т-клітин.

Ці Т-клітини можуть згодом вступати в перехресну реакцію із клітинами і знищувати клітини, які експресують поліпептид, що містить природну амінокислотну послідовність спорідненого пептиду як визначено в аспектах цього винаходу. Як можна дізнатися з наукових публікацій і баз даних (Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997), окремі позиції пептидів, що зв'язують HLA, є типово якірними залишками, які формують ключову послідовність, що відповідає зв'язувальному мотиву рецептора HLA, який визначається полярністю, електрофізичними, гідрофобними властивостями і просторовою структурою поліпептидних ланцюгів, що утворюють зв'язувальну щільну. Отже, фахівець у цій галузі зможе модифікувати амінокислотну послідовність від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, зберігаючи відомі якірні залишки, і буде здатний визначити, чи зберігають такі варіанти здатність зв'язувати молекули MHC I або II класу. Варіанти за цим винаходом зберігають здатність зв'язуватися з ТКР активованої Т-клітини, який потім може вступати в перехресну реакцію з- і знищувати клітини, які експресують поліпептид, що містить природну амінокислотну послідовність спорідненого пептиду як визначено в аспектах винаходу.

Первісні (немодифіковані) пептиди, що розкриваються в цьому винаході, можуть модифікуватися заміщенням одного чи кількох залишків на різних, можливо, селективних, ділянках пептидного ланцюга, якщо не зазначено інакше. Переважно, щоб ці заміщення знаходилися на кінці амінокислотного ланцюга. Такі заміщення можуть бути консервативного характеру, наприклад, коли одна амінокислота замінюється амінокислотою подібної структури та характеристик, наприклад, коли гідрофобна амінокислота замінюється іншою гідрофобною амінокислотою. Навіть більш консервативною буде заміна амінокислот такого ж чи подібного розміру та хімічного характеру, наприклад, коли лейцин замінюється на ізолейцин. В дослідженнях варіацій послідовностей в сімействах природних гомологічних білків певні амінокислотні заміщення допускаються частіше, ніж інші, і вони часто демонструють кореляцію зі схожістю за розміром, зарядом, полярністю та гідрофобністю між первісною амінокислотою та її заміною, і це є основою для визначення «консервативних заміщень».

Консервативні заміщення визначаються в цьому документі як обмін в межах однієї з наведених нижче п'яти груп: група 1 – малі аліфатичні, неполярні чи слабо полярні залишки (Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); група 2 – полярні, негативно заряджені залишки та їх аміді (Asp, Asn, Glu, Gln); група 3 – полярні, позитивно заряджені залишки (His, Arg, Lys); група 4 – великі аліфатичні неполярні залишки (Met, Leu, Ile, Val, Cys); та група 5 – великі ароматичні залишки (Phe, Tyr, Trp).

Менш консервативні заміщення можуть включати заміну однієї амінокислоти іншою, котра має подібні характеристики, але дещо відрізняється за розміром, наприклад, заміна аланіну залишком ізолейцину. Високо-неконсервативні заміни можуть включати заміщення кислотої амінокислоти полярною, або навіть такою, що є основною за своїм характером. Такі «радикальні» заміщення не можуть, однак, відхилятися як потенційно неефективні, оскільки їх хімічні наслідки не є повністю прогнозованими, та радикальні заміщення також можуть несподівано призвести до сприятливих ефектів, які неможливо передбачити за простими хімічними принципами.

Звичайно, такі заміщення можуть включати структури, що відрізняються від звичайних L-амінокислот. Отже, D-амінокислоти можуть заміщуватися L-амінокислотами, котрі зазвичай виявляються в антигенних пептидах цього винаходу та все ж охоплюються розкриттям в ньому. Крім того, нестандартні амінокислоти (тобто інші, ніж стандартні амінокислоти природних білків), також можуть використовуватись для заміщення з метою отримання імуногенів та імуногенних

поліпептидів відповідно до цього винаходу.

Якщо виявляється, що заміщення в більш ніж одній позиції приводять до утворення пептиду по суті з еквівалентною чи більшою антигенною активністю, як визначено нижче, тоді комбінації цих заміщень будуть досліджуватись з метою визначення, чи мають комбіновані заміщення додатковий чи синергічний вплив на антигенність пептиду. Як правило, в пептиді замінюються одночасно не більш ніж 4 позиції.

Пептид, що по суті складається з амінокислотної послідовності як зазначено у цьому документі, може мати одну або дві неякірні амінокислоти (див. нижче пояснення щодо якірного мотиву), що були замінені без того, щоб здатність пептиду зв'язуватись з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I або II класу суттєво змінилася або піддалася негативному впливу у порівнянні з немодифікованим пептидом. У іншому пептиді, що складається або по суті складається з цієї амінокислотної послідовності як зазначено у цьому документі, одна або дві амінокислоти можуть бути замінені партнерами по консервативній заміні (також див. нижче у цьому документі) без того, щоб здатність пептиду зв'язуватись з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I або II класу суттєво змінилася або піддалася негативному впливу у порівнянні з немодифікованим пептидом.

Ті амінокислотні залишки, що не є суттєвими для взаємодії з Т-клітинним рецептором, можуть бути модифіковані шляхом заміни іншою амінокислотою, введення якої не має суттєвого впливу на реактивність Т-клітин та не виключає зв'язування із відповідним МНС. Отже, за винятком зазначеної умови, пептид за винаходом може бути будь-яким пептидом (до цього терміну автори винаходу відносять олігопептид чи поліпептид), котрий включає амінокислотні послідовності або їхню частину чи її варіант, як він є.

Таблиця 5

Переважаючі варіанти і мотиви пептидів, що зв'язують HLA-A*02, відповідно до SEQ ID NO: 2, 4 і 6

Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 4	E	L	A	E	I	V	F	K	V
Варіанти									I
									L
									A
		M							I
		M							L
		M							
		M							A
		A							I
		A							L
		A							
		A							A
		V							I
		V							L
		V							
		V							A
		T							I
		T							L
		T							
		T							A
		Q							I
		Q							L
		Q							
		Q							A
Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO 2	A	L	Y	G	K	L	L	K	L
Варіанти									V
									I
									A
		M							V

Таблиця 5

Переважні варіанти і мотиви пептидів, що зв'язують HLA-A*02, відповідно до SEQ ID NO: 2, 4 і 6

Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		V							V
		V							I
		V							
		V							A
		T							V
		T							I
		T							
		T							A
		Q							V
		Q							I
		Q							
		Q							A
Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 6	F	L	D	P	A	Q	R	D	L
Варіанти									V
									I
									A
		M							V
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		V							V
		V							I
		V							
		V							A
		T							V
		T							I
		T							
		T							A
		Q							V
		Q							I
		Q							
		Q							A

Таблиця 6

Переважні варіанти і мотиви пептидів, що зв'язують HLA-A*24, відповідно до SEQ ID NO: 98, 114 і 158

Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID 158	I	Y	E	E	T	R	G	V	L	K	V	F
Варіант												I
												L
		F										I
		F										L
Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID 114	Q	Y	L	D	G	T	W	S	L			
Варіант									I			
									F			
		F										
		F							I			
Позиція	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID 98	V	F	P	R	L	H	N	V	L	F		
Варіант		Y								I		
		Y								L		
		Y										
										I		
										L		

Більш довгі (подовжені) пептиди також можуть бути придатними. Можливо, щоб епітопи комплексу MHC I класу, хоча вони мають зазвичай довжину 8–11 амінокислот, утворювались шляхом процесингу з більш довгих пептидів чи білків, які включають фактичний епітоп. Бажано, щоби бокові залишки фактичного епітопу не завдавали значного впливу на протеолітичне розщеплення, необхідне для презентації фактичного епітопу під час процесингу.

Пептиди за цим винаходом можуть бути подовжені аж до чотирьох амінокислот, тобто 1, 2, 3 або 4 амінокислоти можуть біти додані до будь-якого кінця у будь-якій комбінації між 4:0 і 0:4. Комбінації подовжень за цим винаходом можуть бути проілюстровані у **Помилка! Джерело посилання не знайдено.**

Таблиця 7

Комбінації подовжень у пептидах за цим винаходом

С-кінець	N-кінець
4	0
3	0 або 1
2	0, або 1, або 2
1	0, або 1, або 2, або 3
0	0, або 1, або 2, або 3, або 4
N-кінець	С-кінець
4	0
3	0 або 1
2	0, або 1, або 2
1	0, або 1, або 2, або 3
0	0, або 1, або 2, або 3, або 4

Амінокислотами для подовжень/елонгацій можуть бути пептиди вихідної послідовності білка або будь-яка інша амінокислота. Подовження може використовуватися для підвищення стабільності або розчинності пептидів.

Отже, епітопи відповідно цього винаходу можуть бути ідентичними природним пухлино-асоційованим та пухлино-специфічним епітопам або можуть включати епітопи, які відрізняються не більше ніж на чотири залишки від контрольного пептиду, за умови, що вони мають по суті ідентичну антигенну активність.

У альтернативному втіленні пептид є подовженим з будь-якого або з обох боків на більш ніж чотири амінокислоти, переважно до загальної довжини до 30 амінокислот. Це може привести до утворення пептидів, що зв'язуються з молекулами МНС II класу. Зв'язування з молекулами МНС II класу може бути перевірено методами, відомими в цій галузі.

Відповідно, за цим винаходом також пропонуються пептидні епітопи і епітопи пептидних варіантів, що зв'язуються з молекулами МНС I класу, де згаданий пептид або його варіант має загальну довжину від 8 до 100, переважно від 8 до 30, та найбільш переважно від 8 до 14, а саме 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 амінокислот, а у випадку подовжених пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA II класу, вони можуть також досягати довжини 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 або 22 амінокислоти.

Зрозуміло, що пептид або його варіант за цим винаходом здатний зв'язуватися з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I або II класу. Зв'язування пептиду або його варіанту з комплексом МНС може бути досліджено методами, відомими в цій галузі.

Переважно, коли Т-клітини, специфічні по відношенню до пептиду за цим винаходом, досліджують у порівнянні із заміщеними пептидами, причому концентрація пептиду, за якої заміщені пептиди досягають половини максимального росту лізису відносно фонових значень, є не більше ніж 1 мМ, переважно не більше ніж 1 мкМ, ще більш переважно не більше ніж приблизно 1 нМ, і ще більш переважно не більше ніж приблизно 100 пМ, і найбільш переважно не більше ніж приблизно 10 пМ. Переважно також, щоб заміщений пептид розпізнавався Т-клітинами, отриманими від більш ніж однієї особи, принаймні двох, і більш переважно трьох осіб.

У особливо переважному втіленні цього винаходу пептид складається або по суті складається з амінокислотної послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388.

«По суті складається з» означає, що пептид за винаходом, на додаток до послідовності відповідно до будь-якої послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, чи його варіант, містить додаткові N- і (або) C-термінальні фрагменти послідовності амінокислот, які не обов'язково формують частину пептиду, що функціонує як епітоп для молекул МНС.

Проте ці фрагменти можуть бути важливими для забезпечення ефективного введення пептиду відповідно до цього винаходу в клітини. В одному з втілень цього винаходу пептид є частиною гібридного білка, який містить, наприклад, 80 N-термінальних амінокислот HLA-DR-антиген-асоційованого інваріантного ланцюга (p33, надалі "I"), одержаного з NCBI, інвентарний номер в генному банку (GenBank) X00497. У інших злиттях пептиди за цим винаходом можуть бути злиті з антитілом, як описано в цьому документі, або з його функціональною частиною, зокрема з послідовністю антитіла, щоби бути специфічно націленими згаданими антитілами, або, наприклад, злиті з антитілом або з послідовністю антитіла, що є специфічним до дендритних клітин, як описано в цьому документі.

Крім того, пептид чи його варіант може бути додатково модифікований для поліпшення його стабільності і (або) зв'язку з молекулами МНС, щоб викликати сильнішу імунну відповідь. Методи такої оптимізації пептидної послідовності добре відомі в цій галузі та включають, наприклад, введення реверсованих пептидних зв'язків чи непептидних зв'язків.

В реверсованому пептидному зв'язку амінокислотні залишки не з'єднуються пептидними зв'язками (-CO-NH-), а пептидний зв'язок реверсується. Такі ретро-інверсивні пептидні міметики можуть бути отримані методами, відомими в даній галузі, наприклад, описаними в роботі Meziere і співавт. (1997) (Meziere et al., 1997), яка включена в цей документ шляхом посилання. Такий підхід включає формування псевдо-пептидів, які містять зміни із залученням остова, а не орієнтації бокових ланцюгів. Автори Meziere і співавт. (Meziere et al., 1997) показують, що для відповіді МНС і Т-клітин-хелперів зазначені псевдо-пептиди є прийнятними. Ретро-інверсивні пептиди, які містять зв'язки NH-CO замість пептидних зв'язків CO-NH, набагато більш стійкі до протеолізу.

Непептидний зв'язок – це, наприклад, -CH₂-NH, -CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH-, -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- та -CH₂SO-. У патенті США 4 897 445 пропонується метод твердофазного синтезу непептидних зв'язків (-CH₂-NH) в поліпептидних ланцюгах, що включає поліпептиди, синтезовані за допомогою стандартних методик, та непептидний зв'язок, синтезований шляхом реакції аміноальдегіду та амінокислоти в присутності NaCNBH₃.

Пептиди, що включають послідовності, описані вище, можуть бути синтезовані з додатковими хімічними групами, присутніми на їхніх аміно- і (або) карбоксильних кінцях, для

посилення стабільності, біологічної доступності і (або) афінності пептидів. Наприклад, гідрофобні групи, такі як карбобензоксильні, данзильні чи трет-бутилоксикарбонільні, можуть додаватися до аміно-кінців пептидів. Подібним чином, на аміно-кінцях пептидів може розміщуватись ацетильна група чи 9-флуоренілметоксикарбонільна група. До карбоксильних кінців пептидів може бути додана також гідрофобна група, трет-бутилоксикарбонільна чи амідогрупа.

Крім того, пептиди за винаходом можуть бути синтезовані для зміни їхньої просторової конфігурації. Наприклад, може використовуватися D-ізомер одного чи кількох амінокислотних залишків пептиду, а не звичайний L-ізомер. До того ж, принаймні один з амінокислотних залишків пептидів за винаходом може замінюватись одним з добре відомих амінокислотних залишків неприродного походження. Такі заміни можуть служити для підвищення стабільності, біологічної доступності і (або) здатності до зв'язування пептидів за винаходом.

Подібним чином, пептид чи його варіант за винаходом може модифікуватися хімічно, шляхом реакції окремих амінокислот до чи після синтезу пептиду. Приклади таких модифікацій добре відомі в цій галузі та узагальнені, зокрема, в роботі R. Lundblad, *Chemical Reagents for Protein Modification*, 3rd ed. CRC Press, 2004 (Lundblad, 2004), яка включена в цей документ шляхом посилання. Хімічна модифікація амінокислот включає, але не обмежується ними, модифікацію шляхом ацилювання, амідинування, піридоксильовання лізину, відновлювального алкілювання, тринітробензилювання аміногруп 2,4,6-тринітробензолсульфоною кислотою (TNBS), амідну модифікацію карбоксильних груп та сульфгідрильну модифікацію шляхом окиснення пермурашиною кислотою цистеїну в цистеїнову кислоту, формування похідних ртуті, утворення змішаних дисульфідів з іншими тиольними сполуками, реакцію з імідом малеїнової кислоти, карбоксиметилування йодоцтовою кислотою чи йодацетамідом та карбамоїлування ціанатом при лужному pH, хоча способи модифікації не обмежуються наведеними тут. В цьому відношенні досвідчений фахівець може звернутися до Глави 15 публікації *Current Protocols In Protein Science*, Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000) (Coligan et al., 1995), де докладно описано методику відносно хімічної модифікації білків.

Стисло, модифікація, наприклад, аргінільних залишків часто базується на реакції віцинальних дикарбонільних сполук, таких як фенілглюксаль, 2,3-бутандіон і 1,2-циклогександіон, з утворенням адукту. Іншим прикладом є реакція метилглюксалу з аргініновими залишками. Цистеїн може бути модифікований без супутньої модифікації інших нуклеофільних сайтів, таких як лізин та гістидин. В результаті велика кількість реагентів є доступною для модифікації цистеїну. Веб-сайти таких компаній, як Sigma-Aldrich (<http://www.sigma-aldrich.com>), надають інформацію щодо конкретних реагентів.

Селективне відновлення дисульфідних зв'язків також є поширеним. Дисульфідні зв'язки можуть утворюватися і окислюватися під час теплової обробки біофармацевтичних препаратів. К-реагент Вудворда може використовуватися для модифікації деяких залишків глутамінової кислоти. N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодіїмід може використовуватися для утворення внутрішньомолекулярних зшивок між залишками лізину і глутамінової кислоти. Наприклад, діетилпірокарбонат є реагентом для модифікації гістидильних залишків у білках. Для модифікації гістидину може також використовуватися 4-гідрокси-2-ноненаль. Реакція залишків лізину та інших альфа-аміногруп є, наприклад, прийнятною для зв'язування пептидів до поверхонь або поперечного зшивання білків/пептидів. Лізин є сайтом для прикріплення поліетиленгліколю і головним сайтом модифікації при глікозилюванні білків. Метіонінові залишки у білках можна модифікувати, наприклад, йодацетамідом, брометиламіном і хлораміном T.

Тетранітрометан і N-ацетилімідазол можуть використовуватися для модифікації тирозильних залишків. Поперечне зшивання шляхом утворення дитирозину може здійснюватися пероксидом водню/іонами міді.

У недавніх дослідженнях модифікації триптофану використовувалися N-бромсукцинімід, 2-гідрокси-5-нітробензилбромід або 3-бром-3-метил-2-(2-нітрофенілмеркапто)-3H-індол (BNPS-скатол).

Успішна модифікація ПЕГ (поліетиленгліколем) терапевтичних білків та пептидів, що часто асоціюється з подовженням напівперіоду циркуляції при перехресному зшиванні білків із глутаральдегідом, поліетиленглікольдіакрилатом та формальдегідом, використовується для приготування гідрогелів. Хімічна модифікація алергенів для використання в імунотерапії часто досягається шляхом карбамоїлування ціанатом калію.

Пептид чи його варіант, де пептид є модифікованим або включає непептидні зв'язки, є переважним втіленням цього винаходу. Загалом, пептиди і їх варіанти (принаймні такі, що містять пептидні зв'язки між амінокислотними залишками) можуть бути синтезовані Fmoc-

поліамідним методом твердофазного синтезу пептидів, як це розкрито у роботі Lukas і співавт. (Lukas et al., 1981) і в посиланнях, що є в ній. Тимчасовий захист N-аміногрупи забезпечується 9-флуоренілметилокискарбонільною (Fmoc) групою. Повторювальне розщеплення цієї дуже нестійкої до дії луг захисної групи виконується за допомогою 20% піперидину у N,N-диметилформаміді. Можна захистити функціональні групи бокових ланцюгів, такі як бутилові етери (у випадку серину, треоніну та тирозину), бутилові естери (у випадку глютамінової кислоти і аспарагінової кислоти), бутилокискарбонільне похідне (у випадку лізину і гістидину), тритильне похідне (у випадку цистеїну) і 4-метокси-2,3,6-триметилбензосульфонільне похідне (у випадку аргініну). У сполуках, в яких C-термінальними залишками є глютамін або аспарагін, для захисту амідогруп бокових ланцюгів використовують 4,4'-диметоксибензгдрильну групу. Основою твердофазного носія є полідиметилакриламідний полімер, що складається з трьох мономерів: диметилакриламід (каркасний мономер), біс-акрилоїлетилендіаміну (компонент для перехресного зв'язування) і акрилоїлсаркозинметилового естеру (функціоналізуючий агент). Як агент, що утворює зв'язок пептиду і смоли, який піддається розщепленню, використовується нестійке до дії кислот похідне 4-гідроксиметилфеноксидної кислоти. Всі амінокислотні похідні додають у вигляді заздалегідь синтезованих симетричних ангідридних похідних за винятком аспарагіну і глютаміну, які додають з використанням зворотної N,N-дициклогексилкарбодімід/1-гідроксибесотриазол-опосередкованої реакції сполучення. Усі реакції сполучення і зняття захисту відслідковували за допомогою методів контролю з використанням нінгдрину, тринітробензолсульфонові кислоти і ізотину. Після завершення синтезу пептиди відщеплюють від смоли-носія з супутнім видаленням захисних груп бокових ланцюгів шляхом обробки 95% трифтороцтовою кислотою, що містить 50% суміші поглиначів. Зазвичай використовувані поглиначі включають етандитіол, фенол, анізол і воду, конкретний вибір залежить від амінокислотних складових пептиду, що синтезується. Для синтезу пептидів можливе також використання комбінації твердофазних і рідкофазних методик (див., наприклад, (Bruckdorfer et al., 2004) і посилання, наведені в цій роботі).

Трифтороцтову кислоту видаляють випаровуванням у вакуумі з подальшим подрібнюванням із діетиловим етером, що забезпечує отримання сирого пептиду. Будь-які поглиначі, які присутні в матеріалі, видаляються простою процедурою екстракції, яка після ліофілізації водної фази дозволяє отримати сирий пептид, вільний від поглиначів. Реагенти для синтезу пептидів, як правило, можна придбати, наприклад, у компанії Calbiochem-Novabiochem (Нотінгем, Велика Британія).

Очищення може виконуватися за допомогою одного будь-якого методу або їх комбінації, таких як перекристалізація, ексклюзійна хроматографія, іонообмінна хроматографія, хроматографія гідрофобної взаємодії та (зазвичай) зворотно-фазна вискоєфективна рідинна хроматографія із градієнтним розділенням, наприклад, з використанням системи ацетонітрил/вода.

Аналіз пептидів може виконуватися за допомогою тонкошарової хроматографії, електрофорезу, зокрема, капілярного електрофорезу, твердофазної екстракції (ТФЕ), зворотно-фазної вискоєфективної рідинної хроматографії, амінокислотного аналізу після кислотного гідролізу та мас-спектрометрії із бомбардуванням прискореними атомами (FAB), а також мас-спектрометричного аналізу MALDI та ESI-Q-TOF.

Для ідентифікації пептидів за цим винаходом був проведений скринінг бази даних експресії ДНК (Lonsdale, 2013) з приблизно 3000 зразків нормальних (здорових) тканин на наявність генів з майже відсутньою експресією у системах життєво важливих органів і низькою експресією у системах інших важливих органів. Потім раково-асоційовані пептиди, отримані з білків-продуктів цих генів, були ідентифіковані методом мас-спектрометрії за допомогою платформи XPRESIDENT®, як описано в цьому документі.

Щоб вибрати надмірно представлені пептиди, розраховували профіль презентації, який дозволяє оцінити медіану презентації у зразку, а також варіацію повторних вимірювань. Профіль зіставляє зразки пухлини, що вивчається, з фоновим рівнем зразків нормальних тканин. Кожний із цих профілів можна потім консолідувати у показник надмірної презентації, підрахувавши р-значення за допомогою лінійної моделі змішаних ефектів (Pinheiro et al., 2015), з поправкою на багаторазове тестування за методом аналізу долі хибно-позитивних ідентифікацій (Benjamini and Hochberg, 1995) (порівняйте з Прикладом 1).

З метою ідентифікації і відносного кількісного визначення HLA-лігандів методом мас-спектрометрії молекули HLA зразків тканин після шоквої заморозки були очищені, і були виділені пептиди, що зв'язуються з молекулами HLA. Виділені пептиди були розділені, а їх послідовності були ідентифіковані методом рідинної хроматографії і мас-спектрометрії (PX-MS) у режимі реального часу з іонізацією у наноелектроспреї. Отримані пептидні послідовності були

перевірені порівнянням шаблону фрагментації природних пухлино-асоційованих пептидів (TUMAP), записаного для зразків раку (N = 377 A*02-позитивних зразків від 370 донорів, N = 204 A*24-позитивних зразків), із шаблонами фрагментації відповідних синтетичних контрольних пептидів із ідентичними послідовностями. Оскільки було безпосередньо виявлено, що пептиди є

лігандами молекул HLA на клітинах первинних пухлин, ці результати надали прямі докази природного процесингу і презентації ідентифікованих пептидів на тканинах первинних ракових пухлин, отриманих від 574 пацієнтів, хворих на рак.

Патентовані інформаційні канали з наукової розробки XPRESIDENT® v2.1 (див., наприклад, заявку США 2013-0096016, яка таким чином включена в цей документ шляхом посилання в усій повноті) дозволяють ідентифікувати і виділяти відповідні кандидати у вакцини на базі надмірно презентованих пептидів, застосовуючи метод прямого відносного кількісного визначення рівнів HLA-рестрикованих пептидів на ракових тканинах у порівнянні з декількома різними нераковими тканинами і органами. Цього вдалося досягти за рахунок розробки методу диференційного кількісного визначення на основі даних PX-MC без використання ізотопної мітки, що були оброблені патентованими інформаційними каналами аналізу даних, в яких об'єднані алгоритми для ідентифікації послідовностей, спектральної кластеризації, підрахунку іонів, вирівнювання часу утримання, деконволюції за зарядовими станами і нормалізації.

Були встановлені рівні презентації, включаючи оцінку похибок для кожного пептиду і зразка. Були ідентифіковані пептиди, що презентуються виключно на пухлинних тканинах, і пептиди, надмірно презентовані на пухлинних тканинах у порівнянні з нераковими тканинами і органами.

Комплекси HLA-пептид, отримані із зразків тканин, були очищені, і пептиди, зв'язані з молекулами HLA, були виділені і проаналізовані методом PX-MC (див. приклади). Усі TUMAP, включені у цю заявку, були за допомогою цього підходу ідентифіковані на зразках пухлин первинного раку, що підтвердило факт їх презентації на пухлинах первинної гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура або раку матки.

Ідентифіковані на зразках багатьох видів раку і на нормальних тканинах TUMAP були кількісно визначені методом PX-MC без застосування ізотопних міток з реєстрацією спектрів у режимі підрахунку іонів. Цей метод базується на припущенні, що площі піків PX-MC пептиду корелюють з його кількістю у зразку. Усі сигнали, які залежать від кількості пептиду, у різних експериментах за методом PX-MC, були нормалізовані на основі середніх значень, усереднені по зразках і злиті у гістограму, що має назву профілю презентації. Профіль презентації об'єднує дані різних методів аналізу, таких як пошук по базах даних для білків, спектральної кластеризації, деконволюції за зарядовими станами (розрядження) і вирівнювання часу утримання і нормалізації.

Крім того, патентовані інформаційні канали з наукової розробки XPRESIDENT® v2.1 дозволяють провести пряме визначення абсолютних значень рівнів MHC-, переважно HLA-рестрикованих пептидів на ракових та інших інфікованих тканинах. Стисло, загальне число клітин було розраховано з сумарного вмісту ДНК у зразку тканини, яку аналізують. Загальну кількість пептиду для TUMAP у зразку тканини вимірювали методом наноPX-MC/MC як співвідношення природного TUMAP і відомої кількості версії TUMAP із міченням ізотопом, так званім внутрішнім стандартом. Ефективність виділення TUMAP була визначена методом введення стандартних добавок комплексів пептид-MHC всіх вибраних TUMAP до тканинного лізату у найранішій можливій точці процедури виділення TUMAP і визначенням методом наноPX-MC/MC, після чого відбувалося закінчення процедури виділення пептидів. Загальне число клітин і загальна кількість пептиду були розраховані з результатів трьох паралельних вимірювань на кожний зразок тканини. Ефективності виділення конкретних пептидів розраховували як середнє 10 дослідів введення стандартних добавок, кожен у трьох паралельних вимірюваннях (див. Приклад 6 і Таблицю 14).

Комбінований аналіз даних експресії РНК і мас-спектрометрії визначив 417 пептидів за цим винаходом.

Предметом цього винаходу є пептиди для лікування раку та інших пухлин, переважно гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи

рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї і раку матки, які надмірно чи виключно презентують пептиди за цим винаходом. Ці пептиди, за даними мас-спектрометрії, презентуються природно молекулами HLA на зразках тканин первинного раку людини.

Багато вихідних генів/білків (які також визначаються як «повнорозмірний білок» або «базовий білок»), із яких отримані пептиди, як було показано, відзначаються високою надекспресією у клітинах раку у порівнянні з нормальними тканинами – «нормальні тканини» у контексті даного винаходу означає або здорові клітини і тканини, отримані з того ж органу, що вражений пухлиною, або клітини інших нормальних тканин, що свідчить про високий ступінь зв'язку пухлин із вихідними генами (див. Приклад 2). Більш того, самі пептиди дуже надмірно презентуються на тканинах пухлини – «пухлинні тканини» у контексті даного винаходу означає зразок від пацієнта, що страждає на рак але не на нормальних тканинах (див., наприклад, Приклад 1).

Зв'язані з HLA пептиди можуть розпізнаватися імунною системою, а саме Т-лімфоцитами. Т-клітини можуть руйнувати клітини, що презентують розпізнаний комплекс HLA/пептид, наприклад, клітини гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї або раку матки, що презентують отримані пептиди.

Було показано, що пептиди за цим винаходом здатні стимулювати відповідь Т-клітин і (або) надмірно презентуються, і, таким чином, можуть використовуватися для отримання антитіл і (або) ТКР, таких як розчинні ТКР, за цим винаходом (див. Приклад 3). Більш того, пептиди, якщо вони утворюють комплекси з відповідними молекулами МНС, також можуть використовуватися для продукції антитіл і (або) ТКР, особливо рТКР за цим винаходом. Відповідні способи добре відомі фахівцю у цій галузі, і їх описи можна знайти також у відповідній літературі. Отже, пептиди за цим винаходом можуть використовуватись для генерації імунної відповіді організму пацієнта, завдяки чому клітини пухлини можуть бути зруйновані. Імунна відповідь організму пацієнта може індукуватися прямим введенням пацієнту описаних пептидів або відповідних прекурсорних речовин (наприклад, подовжених пептидів, білків або нуклеїнових кислот, які кодують ці пептиди), ідеально в комбінації з агентом, що підвищує імунну реакцію (тобто ад'ювантом). Можна очікувати, що імунна відповідь, що виникає в результаті такої терапевтичної вакцинації, є високо специфічною по відношенню до клітин пухлини, оскільки цільові пептиди за цим винаходом не є присутніми на нормальних тканинах у достатній кількості копій, що попереджає ризик небажаних аутоімунних реакцій проти нормальних клітин в організмі пацієнта.

Цей винахід також стосується Т-клітинних рецепторів (ТКР), що містять альфа-ланцюг і бета-ланцюг («альфа/бета ТКР»). Предметом цього винаходу також є пептиди, здатні зв'язуватися з ТКР і антитілами, якщо вони презентуються молекулою МНС. Цей опис стосується також нуклеїнових кислот, векторів і клітин-хазяїв для експресії ТКР і пептидів за цим описом і способів їх використання.

Термін «Т-клітинний рецептор» (скорочено ТКР) означає гетеродимерну молекулу, що містить альфа-поліпептидний ланцюг (альфа-ланцюг) і бета-поліпептидний ланцюг (бета-ланцюг), де гетеродимерний рецептор здатний зв'язуватися з пептидним антигеном, що презентується молекулою HLA. Цей термін також охоплює так звані гамма/дельта ТКР.

В одному з втілень пропонується спосіб отримання ТКР, як описано у цьому документі, де згаданий спосіб включає культивування клітини-хазяїна, здатної експресувати ТКР за умов, прийнятних для сприяння експресії цих ТКР.

Цей винахід в іншому аспекті стосується способів за цим описом, де антиген навантажують на молекули МНС I або II класу, що експресуються на поверхні відповідної антиген-презентуючої клітини або штучної антиген-презентуючої клітини шляхом контакту достатньої кількості антигену з антиген-презентуючою клітиною або антиген навантажують на тетрамери МНС I або II класу шляхом тетрамеризації мономерних комплексів антиген/МНС I або II класу.

Альфа- і бета-ланцюги альфа/бета ТКР і гамма- і дельта-ланцюги гамма/дельта ТКР взагалі вважаються як такі, кожен із яких має два «домени», а саме варіабельні і константні домени. Варіабельний домен складається з послідовно розташованих варіабельного сегменту (V) і з'єднувального сегменту (J). Варіабельний домен може також включати лідерний сегмент (L).

Бета- і дельта-ланцюги можуть також включати D-сегмент. Альфа- і бета- константні домени можуть також містити С-кінцеві трансмембранні (ТМ) домени, які заякорюють альфа- і бета-ланцюги на клітинній мембрані.

Що стосується гамма/дельта ТКР, термін «гамма-варіабельний домен ТКР» у тому вигляді, в якому він використовується тут, означає зчеплення сегменту гамма V ТКР (TRGV) без лідерного сегменту (L) і сегменту ТКР гамма J (TRGJ), а термін «константний домен ТКР гамма» означає позаклітинний сегмент TRGC або С-кінцеву усічену послідовність TRGC. Подібним чином, термін «дельта-варіабельний домен ТКР» означає зчеплення сегменту ТКР дельта V (TRGV) без лідерного сегменту (L) і сегменту ТКР дельта D/J (TRDD/TRDJ), а термін «константний домен ТКР дельта» означає позаклітинний сегмент TRDC або С-кінцеву усічену послідовність TRDC.

ТКР за цим описом переважно з'єднуються з комплексом пептид-молекула HLA зі спорідненістю (KD) приблизно 100 мкМ або менше, приблизно 50 мкМ або менше, приблизно 25 мкМ або менше, або приблизно 10 мкМ або менше. Більш переважними є високоафінні ТКР, які мають спорідненості приблизно 1 мкМ або менше, приблизно 100 нМ або менше, приблизно 50 нМ або менше, приблизно 25 нМ або менше. Приклади, що не мають обмежувального характеру, переважних діапазонів спорідненості для ТКР за цим винаходом включають від приблизно 1 нМ до приблизно 10 нМ, від приблизно 10 нМ до приблизно 20 нМ, від приблизно 20 нМ до приблизно 30 нМ, від приблизно 30 нМ до приблизно 40 нМ, від приблизно 40 нМ до приблизно 50 нМ, від приблизно 50 нМ до приблизно 60 нМ, від приблизно 60 нМ до приблизно 70 нМ, від приблизно 70 нМ до приблизно 80 нМ, від приблизно 80 нМ до приблизно 90 нМ, від приблизно 90 нМ до приблизно 100 нМ.

В тому виді, в якому він використовується тут, у зв'язку з ТКР за цим винаходом, «специфічне зв'язування» та його граматичні варіанти використовуються для позначення ТКР, що має спорідненість (KD) для комплексу пептид-молекула HLA 100 мкМ або менше.

Альфа/бета гетеродимерні ТКР за цим винаходом можуть мати введені дисульфідні зв'язки між їх константними доменами. Переважними ТКР цього типу включають такі, що мають послідовність константних доменів TRAC і послідовність константних доменів TRBC1 або TRBC2, за винятком того, що Thr 48 послідовності TRAC і Ser 57 послідовності TRBC1 або TRBC2 заміщені залишками цистеїну, причому згадані цистеїни утворюють дисульфідний зв'язок між послідовністю константних доменів TRAC і послідовністю константних доменів TRBC1 або TRBC2 Т-клітинного рецептора.

З введенням згаданим вище міжланцюговим зв'язком або без нього, альфа/бета гетеродимерні ТКР за цим винаходом можуть мати послідовність константних доменів TRAC і послідовність константних доменів TRBC1 або TRBC2, а послідовність константних доменів TRAC і послідовність константних доменів TRBC1 або TRBC2 Т-клітинного рецептора можуть бути з'єднані природним дисульфідним зв'язком між Cys4 екзону 2 у TRAC і Cys2 екзону 2 у TRBC1 або TRBC2.

ТКР за цим описом можуть включати детектовану мітку, вибрану з групи, що складається з радіонукліду, флуорофору і біотину. ТКР за цим описом можуть бути кон'юговані з терапевтично активною речовиною, такою як радіонуклід, хіміотерапевтичний препарат або токсин.

У одному втіленні ТКР за цим винаходом, що має принаймні одну мутацію в альфа-ланцюгу і (або) має принаймні одну мутацію у бета-ланцюгу, має модифіковане глікозилування у порівнянні з немутованим ТКР.

У одному втіленні ТКР, що містить принаймні одну мутацію в альфа-ланцюгу і (або) у бета-ланцюгу ТКР має спорідненість до і (або) напівперіод зв'язування з комплексом пептид-молекула HLA, які принаймні вдвічі вище таких для ТКР, що містить немутований альфа-ланцюг ТКР і (або) немутований бета-ланцюг ТКР. Підсилення афінності пухлино-специфічних ТКР та її застосування ґрунтується на існуванні «вікна» для оптимальної афінності ТКР. Існування такого вікна базується на спостереженнях, що ТКР, специфічні до патогенів, рестрикованих за молекулами HLA-A2, мають значення KD, які, як правило, приблизно у 10 разів нижчі, якщо їх порівняти з ТКР, специфічних до «своїх» власних антигенів (аутоантигенів), рестрикованих за молекулами HLA-A2. Зараз відомо, що хоча пухлинні антигени мають потенціал ставати імуногенними, оскільки пухлини виникають із власних клітин індивідуума, тільки мутовані білки або білки зі зміненою трансляційною модифікацією будуть сприйматися імунною системою як чужорідні. Антигени, які мають підвищену активність або надмірно експресуються (так звані аутоантигени), зовсім необов'язково викликають функціональну імунну відповідь на пухлину. Т-клітини, що експресують ТКР, які є високореактивними по відношенню до цих антигенів, будуть піддаватися негативному відбору у тимусі у процесі, відомому як центральна толерантність, що означає, що залишаються лише Т-клітини з низькоафінними ТКР до аутоантигенів. Таким чином,

афінність ТКР або їх варіантів за цим описом до пептидів за цим винаходом можна підвищити методами, добре відомими фахівцям у цій галузі.

Цей винахід також стосується способу ідентифікації і виділення ТКР відповідно до цього опису, причому згаданий спосіб включає інкубування МКПК, отриманих у HLA-A*02-негативних здорових донорів, із A2/мономерами пептидів, інкубування МКПК з тетрамер-фікоеритрином (ФЕ) і виділення високоавідних Т-клітин методом флуоресцентного сортування клітин на аналізаторі FACS Calibur.

Цей винахід також стосується способу ідентифікації і виділення ТКР відповідно до цього опису, де згаданий спосіб включає отримання трансгенної миші з цілими локусами генів людини ТКР $\alpha\beta$ (1,1 і 0,7 п. н.), Т-клітини якої експресують широкий спектр ТКР людини, які компенсують дефіцит ТКР у миші, імунізацію миші досліджуванним пептидом, інкубування МКПК, отриманих від трансгенної миші, з тетрамер-фікоеритрином (ФЕ) і виділення високоавідних Т-клітин методом флуоресцентного сортування клітин на аналізаторі FACS Calibur.

Згідно з одним аспектом винаходу, для отримання Т-клітин, що експресують ТКР за цим винаходом, нуклеїнові кислоти, які кодують ТКР-альфа і (або) ТКР-бета ланцюги за цим винаходом, клонують у вектори експресії, такі як гамма-ретровірус або лентівірус. Рекombінантні віруси отримують, а потім перевіряють на функціональність, таку як специфічність до антигену і функціональну авідність. Аліквоту кінцевого продукту після цього використовують для трансдукції цільової популяції Т-клітин (як правило очищених від МКПК пацієнта), яку культивують перед введенням пацієнту. У іншому аспекті, з метою отримання Т-клітин, які експресують ТКР за цим описом, синтезують РНК ТКР за методиками, відомими фахівцям у цій галузі, наприклад, використанням систем транскрипції *in vitro*. Синтезовані *in vitro* РНК ТКР потім вводять у первинні CD8+ Т-клітини, отримані від здорових донорів електропорацією для повторної експресії альфа- і (або) бета-ланцюгів ТКР, специфічних для пухлини.

З метою підвищення рівня експресії нуклеїнові кислоти, що кодують ТКР за цим описом, можна функційно зв'язати із сильними промоторами, такими як довгі кінцеві повтори ретровірусу (LTR), цитомегаловірусу (CMV), вірусу стовбурових клітин мишей (MSCV) U3, фосфогліцераткіназа (PGK), бета-актин, убіквітин і композиційний промотор мавпячого вірусу 40 (SV40)/CD43, фактор елонгації (EF)-1a і промотор вірусу некрозу селезінки (SFFV). У переважному втіленні промотор є гетерологічним по відношенню до нуклеїнової кислоти, що експресується. На додаток до сильних промоторів, касети експресії ТКР за цим описом можуть містити додаткові елементи, які можуть посилити трансгенну експресію, включаючи центральний поліпуриновий тракт (сРРТ), який сприяє ядерній транслокації лентівірусних конструкцій (Follenzi і співавт., 2000), посттранскрипційний регуляторний елемент вірусу гепатиту Вучук американських байбаків (wPRE), який підвищує рівень трансгенної експресії шляхом підвищення стабільності РНК (Zufferey і співавт., 1999).

Альфа- і бета-ланцюги ТКР за цим винаходом можуть кодуватися нуклеїновими кислотами, розташованими у різних векторах, або кодуватися полінуклеотидами, розташованими у одному і тому ж векторі.

Щоб досягти високого рівня поверхневої експресії ТКР, необхідно, щоб як альфа-, так і бета-ланцюги ТКР введеного ТКР транскрибувалися на високому рівні. Щоб досягти цього, альфа- і бета-ланцюги ТКР за цим описом можуть бути клоновані у біцистронні конструкції в одному векторі, які, як було показано, здатні подолати цю перешкоду. Використання ділянки внутрішньої посадки рибосоми вірусу (IRES) між альфа- і бета-ланцюгами ТКР приводить до координованої експресії обох ланцюгів, оскільки альфа- і бета-ланцюги ТКР утворюються з одного транскрипту, який розділяється на два білки в ході трансляції, забезпечуючи утворення рівних молярних співвідношень альфа- і бета-ланцюгів ТКР. (Schmitt і співавт. 2009).

Нуклеїнові кислоти, що кодують ТКР за цим описом, можуть бути кодон-оптимізовані для підвищення рівня експресії клітиною-хазяїном. Надмірність генетичного коду дозволяє деяким кислотам кодуватися більш ніж одним кодоном, але певні кодони є менш «оптимальними» ніж інші внаслідок відносної наявності відповідних РНК, а також інших факторів (Gustafsson і співавт., 2004). Як було показано, модифікація послідовностей генів альфа- і бета-ланцюгів ТКР таким чином, щоб кожна амінокислота кодувалася оптимальним кодоном для експресії генів у ссавців, а також видалення мотивів нестабільності іРНК або прихованих сайтів сплайсингу, значно підвищує експресію генів альфа- і бета-ланцюгів ТКР (Scholten і співавт., 2006).

Крім того, порушення парування між введеними і ендогенними ланцюгами ТКР може привести до набуття таких видів специфічності, які становлять значний ризик для аутоімунності. Наприклад, утворення суміші димерів ТКР може знизити кількість молекул CD3, що доступні для утворення належним чином спарених комплексів ТКР, і у такий спосіб може значно зменшити функціональну авідність клітин, які експресують введені ТКР (Kuball і співавт., 2007).

Для зменшення порушень парування, С-кінцевий домен ланцюгів введеного ТКР за цим описом можна модифікувати, щоб підвищити взаємодію між ланцюгами, у той же час зменшити здатність введених ланцюгів утворювати пари з ендogenous ТКР. Ці підходи можуть включати заміну С-кінцевих доменів альфа- і бета-ланцюгів ТКР їх мишачими двійниками (наближений до мишачого С-кінцевий домен), утворюючи другий міжланцюговий дисульфідний зв'язок у С-кінцевому домені шляхом введення другого залишку цистеїну як у альфа-ланцюги ТКР, так і у бета-ланцюги ТКР введеного ТКР (цистеїнова модифікація); перестановка взаємодіючих залишків С-кінцевих доменів альфа- і бета-ланцюгів ТКР («виступ-у-западину»); і злиття варіабельних доменів альфа- і бета-ланцюгів ТКР безпосередньо з CD3 ζ (злиття CD3 ζ). (Schmitt і співавт. 2009).

У одному втіленні клітина-хазяїн отримана методами генної інженерії з метою експресувати ТКР за цим описом. У переважних втіленнях клітина-хазяїн є Т-клітиною людини або попередником Т-клітини людини. У деяких втіленнях Т-клітина або попередник Т-клітини отримані від хворого на рак пацієнта. У інших втіленнях Т-клітина або попередник Т-клітини отримані від здорового донора. Клітини-хазяї за цим описом можуть бути алогенними або аутологічними по відношенню до пацієнта, якого належить лікувати. У одному втіленні клітиною-хазяїном є гамма/дельта Т-клітина, трансформована для експресії альфа/бета ТКР.

«Фармацевтична композиція» є переважно композицією, прийнятною для введення людині у медичній установі. Переважно, фармацевтична композиція є стерильною і виробляється відповідно до вимог належної виробничої практики (GMP).

Фармацевтичні композиції включають пептиди або у вільній формі, або у формі фармацевтично прийнятної солі (див. також вище). Термін «фармацевтично прийнятна сіль» в контексті цього винаходу означає похідну сполуку розкритих пептидів, в якій пептид модифікується шляхом створення кислоти чи основної солі речовини. Наприклад, кислі солі готуються з вільної основи (як правило, де нейтральна форма лікарського засобу має нейтральну $-NH_2$ -групу), за участю реакції з прийнятною кислотою. Прийнятні кислоти для приготування кислих солей включають органічні кислоти, такі, наприклад, як оцтова кислота, пропіонова кислота, гліколева кислота, піровиноградна кислота, щавлева кислота, яблучна кислота, малінова кислота, бурштинова кислота, малеїнова кислота, фумарова кислота, винна кислота, лимонна кислота, бензойна кислота, корична кислота, мигдальна кислота, метансульфо кислота, етансульфо кислота, п-толуолсульфо кислота, саліцилова кислота і т. ін., а також неорганічні кислоти, наприклад, соляна кислота, бромистоводнева кислота, сірчана кислота, азотна кислота, фосфорна кислота і т. ін. І навпаки, приготування основних солей кислотних компонентів, які можуть бути присутніми на пептиді, здійснюється з використанням фармацевтично прийнятної основи, такої як гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид амонію, гідроксид кальцію, триметиламін і тому подібні.

В особливо переважному втіленні фармацевтичні композиції містять пептиди у вигляді солей оцтової кислоти (ацетати), трифторацетатів або солей соляної кислоти (хлориди).

Переважно, лікарський засіб за цим винаходом є імунотерапевтичним засобом, таким як вакцина. Вона може вводиться безпосередньо пацієнту, в уражений орган або системно в/ш, в/м, п/ш, в/ч і в/в, або вноситься *ex vivo* у клітини, отримані від пацієнта, чи у клітинну лінію людини, котрі згодом вводяться пацієнту, або використовуватись *in vitro* для селекції субпопуляції з імунних клітин, які отримані від пацієнта і які потім знов вводяться йому. Якщо нуклеїнова кислота вводиться у клітини *in vitro*, тоді може бути корисним, щоби клітини були трансфектованими, щоби спільно експресувати імуностимулюючі цитокіни, наприклад, інтерлейкін-2. Пептид може бути, по суті, чистим, або поєднаним з імуностимулюючим ад'ювантом (див. нижче), чи використовуватись в комбінації з імуностимулюючими цитокінами, або вводиться з належною системою доставки, наприклад, ліпосомами. Пептиди також можуть бути кон'юговані з належним носієм, таким як гемоціанін фісурели (KLH) або маннан (див. патентну заявку WO 95/18145 та роботу (Longenecker et al., 1993)). Пептид також може бути міченим або бути злитим білком чи гібридною молекулою. Очікується, що пептиди, послідовності яких наведені у цьому винаході, стимулюють CD4 або CD8 Т-клітини. Проте стимуляція CD8Т-клітин є більш ефективною за умови сприяння з боку CD4 Т-хелперних клітин. Таким чином, для епітопів МНС І класу, які стимулюють CD8 Т-клітини, партнер по злиттю або сегменти гібридної молекули принагідно постачають епітопи, які стимулюють CD4-позитивні Т-клітини. CD4- і CD8-стимулюючі епітопи добре відомі фахівцям в цій галузі і включають епітопи, ідентифіковані в цьому винаході.

Згідно з одним аспектом винаходу, вакцина містить принаймні один пептид, який має амінокислотну послідовність від SEQ ID NO:1 до SEQ ID NO: 388, і принаймні один додатковий пептид, переважно, від двох до 50, більш переважно, від двох до 25, ще більш переважно, від

двох до 20, і найбільш переважно, два, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять, десять, одинадцять, дванадцять, тринадцять, чотирнадцять, п'ятнадцять, шістнадцять, сімнадцять або вісімнадцять пептидів. Пептид(и) може (можуть) бути виділений (виділені) з одного або більшої кількості специфічних ТАА і може (можуть) зв'язатися з молекулами МНС I класу.

5 Згідно з ще одним аспектом винаходу пропонується нуклеїнова кислота (наприклад, полінуклеотид), що кодує пептид чи його варіант за винаходом. Полінуклеотид може бути, наприклад, ДНК, кДНК, РНК, СНК, РНК чи їх комбінацією, як одноланцюговою, так і (або) дволанцюговою, або природними чи стабілізованими формами полінуклеотидів, такими як, наприклад, полінуклеотиди з фосфоротіоатним скелетом; він може містити або не містити інтрони, за умови, що він кодує пептид. Звичайно, що тільки пептиди, що містять природно існуючі амінокислотні залишки, з'єднані природно існуючими пептидними зв'язками, можуть бути кодовані полінуклеотидом. Згідно з ще одним аспектом цього винаходу, пропонується вектор експресії, здатний експресувати поліпептид відповідно до винаходу.

15 Було розроблено багато способів зв'язування полінуклеотидів, особливо ДНК, з векторами, наприклад, за допомогою комплементарних липких кінців. Наприклад, можуть бути додані комплементарні гомополімерні хвости до сегменту ДНК, щоб бути вставленими у вектор ДНК. Цей вектор і сегмент ДНК потім з'єднують водневим зв'язком між комплементарними гомополімерними хвостами з утворенням молекул рекомбінантної ДНК.

20 Синтетичні лінкери, що містять один або більше сайтів рестрикції, забезпечують альтернативний спосіб об'єднання фрагментів ДНК у вектори. Синтетичні лінкери, що містять різноманітні сайти впізнавання рестрикційних ендонуклеаз, комерційно доступні у декількох джерелах, включаючи компанію International Biotechnologies Inc., Нью Хейвен, Коннектикут, США.

У бажаному методі модифікації ДНК, що кодує поліпептид за винаходом, використовується полімеразна ланцюгова реакція, як це розкрито у роботі Saiki RK і співавт. (Saiki et al., 1988). Цей метод може використовуватися для введення цієї ДНК у відповідний вектор, наприклад, шляхом створення відповідних сайтів рестрикції, або його можна застосовувати для модифікації ДНК у інший прийнятний спосіб, відомий фахівцям у цій галузі. Якщо використовуються вірусні вектори, переважними є вектори на основі поксвірусу або аденовірусу.

30 Ця ДНК (або, у випадку ретровірусного вектора, РНК) може потім експресуватися у відповідному організмі-хазяїні, утворюючи поліпептид, що містить пептид або чи його варіант за винаходом. Таким чином, ДНК, яка кодує пептид чи його варіант за винаходом, може використовуватися відповідно до відомих методик, належним чином модифікованих виходячи з ідей, розкритих у цьому описі, для конструювання вектора експресії, який після цього використовується для трансформації відповідних клітин-хазяїв таким чином, щоб вони набули здатність експресувати і виробляти пептиди за винаходом. Ці методики включають такі, що розкриті, наприклад, у патентах США 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 і 4 810 648.

35 Ця ДНК (або, у випадку ретровірусного вектора, РНК), яка кодує поліпептид, що є предметом цього винаходу, може бути з'єднана з широким спектром інших послідовностей ДНК для введення у відповідну клітину-хазяїна. Ця супутня ДНК буде залежати від природи хазяїна, способу представлення ДНК хазяїну, і від того, необхідне утримання в епісомальній чи інтегрованій формі.

40 Зазвичай ДНК вставляється у вектор експресії, такий як плазміда, у належній орієнтації і коректній рамці зчитування для експресії. Якщо необхідно, ДНК може бути зв'язаною з відповідними нуклеотидними послідовностями, що забезпечують координацію транскрипції і трансляції, що розпізнаються бажаним хазяїном, хоча такі контрольні елементи зазвичай містяться у векторі експресії. Вектор згодом вводиться хазяїну із використанням стандартних методик. Загалом, не всі хазяї трансформуються вектором. Отже, необхідно виділити трансформовані клітини-хазяї. Одна з методик виділення включає введення до складу вектора експресії такої послідовності ДНК із будь-якими необхідними контрольними елементами, яка кодує вибрану ознаку у трансформованій клітині, таку як резистентність до антибіотиків.

45 Як альтернатива, ген для такої вибраної ознаки може бути вбудованим в інший вектор, який використовується для спільної трансформації бажаної клітини-хазяїна.

50 Клітини-хазяї, які були трансформовані рекомбінантною РНК за винаходом, потім культивують протягом достатнього періоду часу у відповідних умовах, які відомі фахівцям в цій галузі з точки зору ідей, розкритих тут, з метою дати можливість експресувати поліпептид, який потім може бути виділений.

60 Фахівцям відомі багато експресійних систем, включаючи бактерії (наприклад, *E. coli* і *Bacillus subtilis*), дріжджі (наприклад, *Saccharomyces cerevisiae*), міцеліальні гриби (наприклад, *Aspergillus* spec.), клітини рослин, тварин і комах. Переважно, система може бути клітинами

ссавців, таких як клітини CHO, які комерційно доступні від Американської колекції типових культур ATCC.

Типова векторна плазмідна клітина ссавців для конститутивної експресії включає вірус CMV або промотор SV40 з відповідним поліаденільним хвостом poly(A)-tail і маркером резистентності, таким є неоміцин. Одним із прикладів є pSVL, доступний від компанії Pharmacia, Піскатеуей, Нью-Джерсі, США. Прикладом вектора індукційної експресії у ссавців є pMSG, також доступний від компанії Pharmacia. Корисними є плазмідні вектори дріжджів pRS403-406 і pRS413-416, які доступні від компанії Stratagene Cloning Systems, Ла Джола, Каліфорнія 92037, США. Плазмиди pRS403, pRS404, pRS405 і pRS406 є дріжджовими інтегруючими плазмідами (YIp) і включають дріжджові селективні маркери HIS3, TRP1, LEU2 і URA3. Плазмиди pRS413-416 є дріжджовими плазмідами з центромерами (Ycp). Вектори на базі промотору CMV (наприклад, від компанії Sigma-Aldrich) забезпечують тимчасову або стабільну експресію, цитоплазматичну експресію або секрецію і N-термінальне або C-термінальне мічення для різних комбінацій FLAG, 3xFLAG, c-myc або MAT. Ці злиті білки можна використовувати для виявлення, очищення і аналізу рекомбінантного білка. Злиття з використанням двох міток забезпечує гнучкість під час виявлення.

Сильна регуляторна область промотора цитомегаловірусу (CMV) людини підвищує рівні конститутивної експресії білка у клітинах лінії COS до таких високих значень, як 1 мг/л. У разі не таких активних ліній клітин рівні білка зазвичай становлять ~0,1 мг/л. Присутність ділянки початку реплікації у фрагменті SV40 приводить до високих рівнів реплікації ДНК у пермісивних клітинах COS. Вектори CMV, наприклад, можуть містити pMB1 (похідне pBR322) ділянку початку реплікації у клітинах бактерій, ген бета-лактамази для вибору резистентності бактерій до ампіциліну, poly(A) гормону росту людини і ділянку початку реплікації f1. Вектори, що містять лідерну послідовність препротрипсину (PPT), можуть направляти секрецію злитих білків FLAG в культуральному середовищі на очищення антитілом проти FLAG, смол і планшетів. Інші вектори і експресійні системи також добре відомі у цій галузі для використання у багатьох клітинах-хазяїнах.

В іншому втіленні два або більше пептидів або варіантів пептидів за винаходом кодуються і, отже, експресуються послідовно (подібно до конструкцій «вузли на мотузці»). При цьому пептиди або варіанти пептидів можуть бути зв'язані або злиті одне з одним фрагментами лінкерних амінокислотних послідовностей, такими, наприклад, як LLLLLL, або можуть зв'язатися без будь-яких додаткових пептидів між ними. Ці конструкції можуть також застосовуватися для терапії раку і можуть індукувати імунну відповідь за участі як молекул MHC I класу, так і MHC II класу

Цей винахід також стосується клітини-хазяїна, трансформованої полінуклеотидною векторною конструкцією за винаходом. Клітина-хазяїн може бути або прокаріотичною, або еукаріотичною. Бактеріальні клітини можуть бути переважно прокаріотичними клітинами-хазяїнами у деяких обставинах, а зазвичай це штам *E. coli*, такий як, наприклад, штам DH5 *E. coli*, доступний від компанії Bethesda Research Laboratories Inc., Бетесда, Меріленд, США, і RR1, доступний від Американської колекції типових культур ATCC, Роквіл, Меріленд, США (Номер ATCC 31343). Переважні еукаріотичні клітини-хазяї включають клітини дріжджів, комах і ссавців, переважно клітини хребетних, такі як лінії фібробластних клітин і клітин товстої кишки від мишей, пацюків, мавп або людини. Дріжджові клітини-хазяї включають YPH499, YPH500 і YPH501, які зазвичай доступні від компанії Stratagene Cloning Systems, Ла Джола, 92037, Каліфорнія, США. Переважні клітини-хазяї ссавців включають клітини яєчника китайського хом'яка (CHO), доступні як штам ATCC CCL61, клітини ембріонів швейцарської миші штаму NIH/3T3, доступні з колекції ATCC CRL 1658, клітини COS-1 з нирок мавп, доступні з колекції ATCC CRL 1650 і клітини 293 нирок ембріонів людини. Переважними клітинами комах є клітини Sf9, що можуть бути трансфектовані векторами експресії бациловірусу. Огляд публікацій щодо вибору відповідних клітин-хазяїв для експресії можна знайти, наприклад, у підручнику: Paulina Balbás and Argelia Lorence "Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols," Part One, Second Edition, ISBN 978-1-58829-262-9, і інших літературних джерелах, відомих фахівцю у цій галузі.

Трансформація відповідних клітин-хазяїв за допомогою ДНК-конструкції за цим винаходом здійснюється добре відомими методами, вибір яких, як правило, залежить від типу вектора, що використовується. Щодо трансформації прокаріотичних клітин-хазяїв див., наприклад, Cohen і співавт. (Cohen et al., 1972) і (Green and Sambrook, 2012). Трансформація дріжджових клітин описана в роботі Sherman і співавт. (Sherman et al., 1986) Метод Beggs (Beggs, 1978) також є корисним. Щодо клітин хребетних, реагенти, придатні для трансфекції таких клітин, наприклад, фосфат кальцію і ДЕАЕ-декстран або ліпосомні препарати, доступні від компанії Stratagene

Cloning Systems, або Life Technologies Inc., Гейтерсберг, Меріленд 20877, США. Електропорація також придатна для трансформації і (або) трансфекції клітин і відома в цій галузі як метод трансформації клітин дріжджів, клітин бактерій, клітин комах і клітин хребетних.

Успішно трансформовані клітини, наприклад, клітини, що містять ДНК-конструкцію за цим винаходом, можуть бути ідентифіковані добре відомими методами, такими як ПЛР. Альтернативно, присутність білка у супернатанті можна виявити за допомогою антитіл.

Зрозуміло, що певні клітини-хазяї за винаходом здатні синтезувати пептиди за винаходом, наприклад, клітини бактерій, дріжджів і комах. Проте в певних терапевтичних методах можуть використовуватися інші клітини-хазяї. Наприклад, антиген-презентуючі клітини, такі як дендритні клітини, можуть принагідно використовуватися, щоби експресувати пептиди за винаходом, які можуть бути навантажені на відповідні молекули МНС. Отже, цей винахід також стосується клітини-хазяїна, що містить нуклеїнову кислоту або вектор експресії за цим винаходом.

У переважному втіленні клітина-хазяїн є антиген-презентуючою клітиною, зокрема дендритною клітиною або антиген-презентуючою клітиною. Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами (FDA) США 29 квітня 2010 року схвалило застосування АПК, навантажених рекомбінантним злитим білком, що містить простатичну кислоту фосфатазу (PAP), для лікування метастатичного HRPС (гормон-рефрактерного раку передміхурової залози), що протікає безсимптомно або з мінімально вираженими симптомами (сіпулейцел-Т) (Rini et al., 2006; Small et al., 2006).

Згідно з ще одним аспектом винаходу пропонується спосіб отримання пептиду або його варіанту, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна і виділення пептиду з клітини-хазяїна або її культурального середовища.

В іншому втіленні пептид, нуклеїнова кислота або вектор експресії за винаходом застосовуються у медицині. Наприклад, пептид або його варіант може бути приготований для внутрішньовенного (в/в) введення, підшкірного (п/ш) введення, внутрішньошкірного (в/ш) введення, внутрішньочеревного (в/ч) введення, внутрішньом'язового (в/м) введення. Переважні способи введення пептиду – це п/ш, в/ш, в/ч, в/м і в/в. Переважними способами введення ДНК є в/ш, в/м, п/ш, в /ч і в/в. Можуть вводиться дози від 50 мкг до 1,5 мг, переважно від 125 мкг до 500 мкг пептиду або ДНК залежно від відповідного пептиду чи ДНК. Дози в цьому діапазоні успішно використовувались в попередніх дослідженнях (Walter et al., 2012).

Полінуклеотид, що застосовується для активної вакцинації, може бути по суті чистим або включеним в належний вектор чи в систему доставки. Нуклеїнова кислота може бути, наприклад, ДНК, кДНК, ПНК, РНК чи їхньою комбінацією. Методи конструювання і введення такої нуклеїнової кислоти добре відомі фахівцям в цій галузі. Їх огляд наведений, наприклад, у роботі Teufel і співавт. (Teufel et al., 2005). Полінуклеотидні вакцини легко приготувати, але механізм дії цих векторів у виникненні імунної відповіді повністю не з'ясований. Прийнятні векторні системи і системи доставки включають вірусну ДНК і (або) РНК, такі як системи на базі аденовірусу, вірусу коров'ячої віспи, ретровірусу, вірусу герпесу, аденоасоційованого вірусу або гібридів, що містять елементи більш ніж одного вірусу. Невірусні системи доставки включають катіонні ліпіди та катіонні полімери, добре відомі в галузі засобів доставки ДНК. Також може використовуватись фізична доставка, наприклад, за допомогою «генної гармати». Пептид або пептиди, що кодуються нуклеїновою кислотою, може (можуть) бути злитим білком, наприклад, з епітопом, що стимулює Т-клітини щодо відповідних протилежних CDR, як відзначається вище.

Лікарський засіб за винаходом може також включати один або більше ад'ювантів. Ад'юванти є речовинами, які у неспецифічний спосіб підвищують або підсилюють імунну відповідь (наприклад, імунну відповідь на антиген, яку опосередковують CD8-позитивні Т-клітини і Т-хелпери (ТН), і, отже, можуть вважатися корисними для використання у лікарському засобі за винаходом. Відповідні ад'юванти включають, але не обмежуються ними, 1018 ISS, солі алюмінію, AMPLIVAX®, AS15, BCG, CP-870.893, CpG7909, CyaA, dSLIM, флагелін чи ліганди TLR5, які походять з флагеліну, ліганд FLT3, GM-CSF, IC30, IC31, іміквімод (ALDARA®), резиквімод, ImuFact IMP321, інтерлейкіни, такі як ІЛ-2, ІЛ-13, ІЛ-21, інтерферон-альфа чи -бета, або їхні пегільовані похідні, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, імуностимулюючі комплекси ISCOM, JuvImmune®, LipoVac, MALP2, MF59, монофосфориловий ліпід А, монтанід IMS 1312, монтанід ISA 206, монтанід ISA 50V, монтанід ISA-51, емульсії «вода у маслі» та «масло у воді», OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, OspA, векторну систему PepTel®, мікрочастинки на основі полілактиду когліколіду [PLG] та декстрану, талактоферин, SRL172, віросоми та інші вірусоподібні частинки, YF-17D, VEGF trap, R848, бета-глюкан, Pam3Cys, стимулон QS21 Aquila, який виділяється з сапоніну, мікобактеріальні екстракти та синтетичні імітатори стінок бактеріальних клітин, а також інші патентовані ад'юванти, наприклад, Detox компанії Ribi, Quil чи Superfos. Переважними є такі ад'юванти, як ад'ювант Фрейнда або ГМ-КСФ. Декілька

імунологічних ад'ювантів (наприклад, MF59), специфічних до дендритних клітин, та способи їх приготування були описані раніше (Allison and Krummel, 1995). Також можуть застосовуватися цитокіни. Окремі цитокіни були прямо співвіднесені з впливом на міграцію дендритних клітин до лімфоїдних тканин (наприклад, TNF-), прискорюючи дозрівання дендритних клітин до ефективних антиген-презентуючих клітин для Т-лімфоцитів (наприклад, ГМ-КСФ, ІЛ-1 та ІЛ-4) (Патент США 5 849 589, конкретно включений в цей документ шляхом посилання в усій повноті) та діючи як імуноад'юванти (наприклад, ІЛ-12, ІЛ-15, ІЛ-23, ІЛ-7, ІФН-альфа, ІФН-бета) (Gabrilovich et al., 1996).

Також доповідалося про те, що імуностимулюючі CpG-олігонуклеотиди посилюють ефект ад'ювантів у складі вакцин. Якщо не вдаватися у подробиці теорії, CpG-олігонуклеотиди діють шляхом активації природної (не здобутої) імунної системи за допомогою Toll-подібних рецепторів (TLR), переважно TLR9. Активація TLR9, ініційована CpG, посилює антиген-специфічні гуморальні та клітинні реакції на широкий спектр антигенів, включаючи пептидні чи білкові антигени, живі або знищені віруси, вакцини на основі дендритних клітин, аутологічні клітинні вакцини та полісахаридні кон'югати як в профілактичних, так і в терапевтичних вакцинах. Важливішим є те, що посилюється визрівання та диференціація дендритних клітин, що в результаті збільшує активацію TH1-клітин та інтенсивну генерацію цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ) навіть за відсутності підтримки з боку CD4 Т-клітин. Активація TH1, індукована стимуляцією TLR9, зберігається навіть у присутності вакцинних ад'ювантів, таких як галун чи неповний ад'ювант Фрейнда (IFA), котрі зазвичай сприяють активації TH2. CpG-олігонуклеотиди демонструють навіть більшу ад'ювантну активність, коли переводяться в лікарську форму або вводяться разом з іншими ад'ювантами чи в таких формах, як мікрочастинки, наночастинки, ліпідні емульсії або подібні композиції, особливо необхідні для індукування сильної відповіді, коли антиген відносно слабкий. Вони також прискорюють імунну відповідь та дозволяють зменшити дози антигену приблизно на два порядки в порівнянні з відповідями антитіл на вакцину в повній дозі без CpG, як спостерігалось в деяких експериментах (Krieg, 2006). У патенті США 6 406 705 B1 описується комбіноване застосування CpG-олігонуклеотидів, ад'ювантів, що не містять нуклеїнові кислоти, та антигену для індукування антиген-специфічної імунної відповіді. CpG TLR9-антагоністом є dSLIM (імуномодулятор із структурою типу дволанцюжкове стебло-петля) компанії Mologen (Берлін, Німеччина), котрий є переважним компонентом фармацевтичної композиції за цим винаходом. Також можуть використовуватись інші TLR-зв'язувальні молекули, наприклад, TLR 7, TLR 8 і (або) TLR 9, що зв'язуються з РНК.

Інші приклади прийнятих ад'ювантів включають, без обмежень, хімічно модифіковані CpG (наприклад, CpR, Idera), аналоги дЛРНК, такі як полі(I:C) та їхні похідні (наприклад, AmpliGen®, Hiltanol®, полі(ICLC), полі(IC-R), полі(I:C12U), бактеріальні ДНК або РНК, відмінні від CpG, а також невеликі імунологічно активні молекули та антитіла, такі як циклофосфамід, сунітиніб, бевацизумаб, целебрекс, NCX-4016, сілденафіл, тадалафіл, варденафіл, сорафеніб, темозоломід, темзиролімум, XL-999, CP-547632, пазопаніб, VEGF Trap, ZD2171, AZD2171, анти-CTLA4, інші антитіла, націлені на ключові структури імунної системи (наприклад, анти-CD40-, анти-TGFбета-, анти-TNFальфа-рецептори) та SC58175, які можуть діяти терапевтично і (або) як ад'юванти. Кількості та концентрації ад'ювантів та добавок, прийнятих в контексті цього винаходу, можуть бути легко визначені досвідченим фахівцем без зайвого експериментування.

Переважними ад'ювантами є анти-CD40-антитіла, іміквімод, резиквімод, GM-CSF, циклофосфамід, сунітиніб, бевацизумаб, інтерферон-альфа, CpG олігонуклеотиди та їх похідні, полі(I:C) та її похідні, РНК, сілденафіл і композиції з твердих мікрочастинок з PLG або віросоми.

В переважному втіленні фармацевтичної композиції за винаходом ад'ювант вибирається з групи, що складається з колонієстимулюючих факторів, таких як Фактор стимулювання утворення колоній гранулоцитів-макрофагів (ГМ-КСФ, сарграмостим), циклофосфамід, іміквімод, резиквімод та інтерферон-альфа.

В переважному втіленні фармацевтичної композиції за винаходом ад'ювант вибирається з групи, що складається з колонієстимулюючих факторів, таких як Фактор стимулювання утворення колоній гранулоцитів-макрофагів (ГМ-КСФ, сарграмостим), циклофосфамід, іміквімод і резиквімод. У переважному втіленні фармацевтичної композиції за винаходом ад'ювантом є циклофосфамід, іміквімод чи резиквімод. Навіть більш переважними ад'ювантами є монтанід IMS 1312, монтанід ISA 206, монтанід ISA 50V, монтанід ISA-51, полі-ICLC (Hiltanol®) і моноклональні анти-CD40-антитіла або їх комбінація.

Ця композиція може застосовуватися для парентерального введення, наприклад, підшкірного, внутрішньошкірного, внутрішньом'язового або для перорального застосування. Для цього пептиди і необов'язково інші молекули розчиняють або суспендують у фармацевтично прийнятному, переважно водному носіїві. Крім того, композиція може містити допоміжні

речовини, такі як буфери, зв'язувальні речовини, баластні речовини, розріджувачі, ароматизатори, антифрикційні речовини тощо. Пептиди можна також ввести разом із імуностимуляторами, такими як цитокіни. Великий перелік допоміжних речовин, які можна використовувати у такій композиції, можна знайти, наприклад, у посібнику A. Kibbe, Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000). Ця композиція може застосовуватися для попередження, профілактики і (або) лікування аденоматозних або ракових захворювань. Приклади фармацевтичних композицій наведені, наприклад, у EP2113253.

Важливо розуміти, що імунна відповідь, ініційована вакциною за винаходом, спрямована проти ракових клітин на різних стадіях клітинного циклу і на різних стадіях розвитку пухлини. Більш того, атака здійснюється на різні асоційовані з раковими пухлинами сигнальні шляхи. Це є перевагою над вакцинами, які направлені тільки на одну чи малу кількість мішеней, що може привести до легкої адаптації пухлини до атаки (уникання пухлиною). Більш того, не усі індивідуальні пухлини експресують одну й ту саму картину антигенів. Таким чином, комбінація декількох пухлино-асоційованих пептидів гарантує, що кожна окрема пухлина несе принаймні деякі з мішеней. Композиція була створена виходячи з того, що, як очікується, кожна пухлина експресує декілька антигенів і охоплює декілька незалежних сигнальних шляхів, необхідних для росту і розвитку пухлини. Таки чином, вакцину може легко використовувати у «готовому для застосування» вигляді для більшої популяції пацієнтів. Це означає, що попередній відбір пацієнтів, що потребують лікування цією вакциною, можна обмежити типуванням за HLA, не потребує будь-якого додаткового дослідження біомаркерів експресії антигенів, але все ж забезпечується одночасна атака декількох мішеней у вигляді індукованої імунної відповіді, що є важливим для ефективності (Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012).

Термін «каркас» в контексті цього винаходу означає молекулу, яка специфічно зв'язується з (наприклад, антигенною) детермінантою. В одному з втілень каркас здатний направляти об'єкт, до якого він приєднаний (наприклад, (другий) антиген-зв'язувальний елемент) до сайта-мішені, наприклад, до клітини конкретного виду пухлини або до строми пухлини, що несе антигенну детермінанту (наприклад, комплекс пептид-МНС відповідно до цього підходу). В іншому втіленні каркас здатний активувати сигнальний шлях через його антиген-мішень, наприклад, антиген комплексу Т-клітинного рецептора. Каркаси включають, але не обмежуються ними, антитіла і їх фрагменти, антиген-зв'язувальні домени антитіл, що містять варіабельну ділянку важкого ланцюга антитіла і варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла, зв'язувальні білки, що містять принаймні один модуль анкіринового повтору і однодоменні антиген-зв'язувальні (SDAB) молекули, аптамери, (розчинні) ТКР і (модифіковані) клітини, такі як алогенні або аутологічні Т-клітини. Щоб оцінити, чи буде молекула каркасом, що зв'язується з мішенню, можна провести аналіз зв'язування.

«Специфічне» зв'язування означає, що каркас зв'язує досліджуваний комплекс пептид-МНС краще ніж інші природно існуючі комплекси пептид-МНС до такої міри, що каркас, споряджений активною молекулою, яка здатна знищувати клітину, що несе конкретну мішень, не здатний знищувати іншу клітину без конкретної мішені, але таку, що презентує інший(-і) комплекс(-и) пептид-МНС. Зв'язування з іншими комплексами пептид-МНС не має значення, якщо пептид, що бере участь у перехресній реакції, не зустрічається в природі, тобто не отриманий із пептидому HLA. Тести для оцінки знищення клітин-мішеней добре відомі фахівцям в цій галузі. Їх потрібно виконувати з використанням клітин-мішеней (первинних клітинних культур або клітинних ліній) із незміненою презентацією пептидів молекулами МНС, або клітин, навантажених пептидами, у такий спосіб, щоб були досягнуті природні рівні комплексів пептид-МНС.

Кожний каркас містить мітку, яка забезпечує можливість виявлення зв'язаного каркаса шляхом визначення присутності або відсутності сигналу, який генерує мітка. Наприклад, каркас може бути міченим флуоресцентним барвником або іншою застосовною маркерною молекулою клітини. Такі маркерні молекули добре відомі в цій галузі. Наприклад, флуоресцентне мічення, наприклад, флуоресцентним барвником, може забезпечити візуалізацію зв'язаного аптамеру за допомогою флуоресценції або лазерної сканувальної мікроскопії або проточної цитометрії.

Кожний каркас може бути кон'югованим із другою активною молекулою, такою як, наприклад, ІЛ-21, антитіло проти CD3, антитіло проти CD28.

Додаткову інформацію про поліпептидні каркаси див., наприклад, у розділі «Передумова створення винаходу» у заявці WO 2014/071978A1 і у посиланнях, наведених в ній.

Цей винахід також стосується аптамерів. Аптамери (див., наприклад, WO 2014/191359 і посилання, наведені в цій роботі) є молекулами коротких одноланцюгових нуклеїнових кислот, які можуть складатися у певні тримірні структури і розпізнавати специфічні структури-мішені. Вони, очевидно, є прийнятними альтернативами для розробки таргетної терапії. Було показано,

що аптамери селективно зв'язуються з багатьма складними мішенями з високою афінністю і специфічністю.

Аптамери, що розпізнають розташовані на поверхні молекули, були ідентифіковані у минулому десятиріччі і забезпечують засоби для розробки діагностичних і терапевтичних підходів. Оскільки було показано, що аптамери майже не проявляють жодної токсичності і імуногенності, вони є перспективними кандидатами у речовини для біомедичних застосувань. Справді, аптамери, наприклад, такі, що розпізнають простат-специфічні мембранні антигени, були успішно застосовані для таргетної терапії, і було показано, що вони виявляють ці функції в трансплантатних моделях *in vivo*. Більш того, були ідентифіковані аптамери, які розпізнають конкретні лінії пухлинних клітин.

Можуть бути вибрані аптамери ДНК, що проявляють розпізнавальні властивості широкого спектру по відношенню до різних ракових клітин, особливо до таких, що отримані з солідних пухлин, у той час як непухлинногенні і первинні здорові клітини ними не розпізнаються. Якщо ідентифіковані аптамери розпізнають не тільки підтип конкретної пухлини, але скоріше взаємодіють з рядом пухлин, це надає аптамерам властивість бути застосовними в якості так званих діагностичних і терапевтичних засобів широкого спектру.

Далі, дослідження зв'язувальних властивостей по відношенню до клітин методом проточної цитометрії показало, що аптамери виявляють дуже добру позірну афінність, яка знаходиться у наномольному діапазоні.

Аптамери можуть використовуватися для діагностичних і терапевтичних цілей. Далі, можна показати, що деякі аптамери поглинаються пухлинними клітинами і таким чином можуть використовуватися як молекулярні носії для цілеспрямованої доставки протиракових препаратів, таких як міРНК, у пухлинні клітини.

Аптамери можуть бути вибрані проти складних мішеней, таких як клітини і тканини і комплекси пептидів, що включають, переважно що складаються з послідовності відповідно до будь якої послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 за цим винаходом із молекулою МНС з використанням методики SELEX (Систематична еволюція лігандів шляхом експоненційного збагачення).

Пептиди за цим винаходом можуть використовуватися для продукції і розробки антитіл, специфічних до комплексів МНС/пептид. Вони можуть застосовуватися для лікування, націлюючи токсини або радіоактивні речовини на хворі тканини. Іншим використанням цих антитіл може бути націлювання радіонуклідів на хворі тканини з метою формування зображень, таких як позитронна емісійна томографія (ПЕТ). Таке використання може виявляти невеликі метастази або визначати розмір і точну локалізацію хворих тканин.

Таким чином, в ще одному аспекті цей винахід стосується способу отримання рекомбінантного антитіла, яке специфічно зв'язується з головним комплексом гістосумісності (МНС) людини I або II класу, який входить до складу комплексу з антигенами, обмеженими за HLA, причому спосіб включає: імунізацію клітинами ссавців нелюдського походження, отриманих методами генної інженерії, що експресують згаданий головний комплекс гістосумісності (МНС) людини I або II класу із розчинною формою молекули МНС I або II класу, яка входить до складу комплексу зі згаданими антигенами, обмеженими за HLA; виділення молекул іРНК із клітин згаданих ссавців нелюдського походження, що продукують антитіла; отримання бібліотеки фагового дисплея, що містить фаги, які експонують молекули білка, який кодується згаданими молекулами іРНК; і виділення принаймні одного фага із згаданої бібліотеки фагового дисплея, причому згаданий принаймні один фаг експонує згадане антитіло, що специфічно зв'язується із згаданим головним комплексом гістосумісності (МНС) людини I або II класу, який входить до складу комплексу із згаданим антигеном, обмеженим за HLA.

У ще одному аспекті цей винахід стосується антитіла, яке специфічно зв'язується з головним комплексом гістосумісності (МНС) людини I або II класу, який входить до складу комплексу з антигенами, рестрикованими за HLA, в якому антитіло переважно є поліклональним антитілом, моноклональним антитілом, біспецифічним антитілом і (або) химерним антитілом.

Відповідні способи отримання таких антитіл і одноланцюгових головних комплексів гістосумісності (МНС) I класу, а також інших інструментів отримання цих антитіл розкриті в заявках WO 03/068201, WO 2004/084798, WO 01/72768, WO 03/070752 і статтях (Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denker et al., 2003), які для цілей цього винаходу всі у прямій формі включені в цей документ шляхом посилання в усій повноті.

Переважно, антитіло зв'язується з спорідненістю на рівні нижче 20 наномолів, переважно нижче 10 наномолів, у комплекс, який також вважається «специфічним» у контексті цього винаходу.

Цей винахід також стосується пептиду, що містить послідовність, вибрану з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або їхній варіант, який принаймні на 88% є гомологічним (переважно ідентичним) послідовностям від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або їхнього варіанту, що викликає перехресну реакцію Т-клітин із зазначеним пептидом, де зазначений пептид не є базовим повнорозмірним поліпептидом.

Цей винахід також стосується пептиду, що містить послідовність, вибрану з групи послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або їхній варіант, який принаймні на 88% є гомологічним (переважно ідентичним) послідовностям від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, де зазначений пептид або його варіант має загальну довжину між 8 і 100, переважно між 8 і 30 і найбільш переважно між 8 і 14 амінокислот.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, які здатні зв'язуватись з молекулою головного комплексу гістосумісності (МНС) людини I або II класу.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згадані пептиди складаються або по суті складаються з амінокислотної послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згаданий пептид є (хімічно) модифікованим і (або) включає непептидні зв'язки.

Цей винахід також стосується пептидів за цим винаходом, де згаданий пептид є частиною злитого білка, зокрема злитим із N-термінальними амінокислотами HLA-DR антиген-асоційованого інваріантного ланцюга (Ii), або де пептид є злитим із антитілом (або вбудованим в антитіло), наприклад, із антитілом, що є специфічним до дендритних клітин.

Цей винахід також стосується нуклеїнової кислоти, що кодує пептиди за цим винаходом за умови, що пептид не є повністю (цілковито) людським білком.

Цей винахід також стосується нуклеїнової кислоти за цим винаходом, яка являє собою ДНК, кДНК, РНК, РНК чи їх комбінацію.

Цей винахід також стосується вектору експресії, що здатний експресувати або експресує нуклеїнову кислоту за цим винаходом.

Цей винахід також стосується пептиду за цим винаходом, нуклеїнової кислоти за цим винаходом або вектора експресії за цим винаходом для застосування в медицині, зокрема в лікуванні ракових захворювань, таких як гліобластома, рак молочної залози, колоректальний рак, нирково-клітинна карцинома, хронічний лімфоцитарний лейкоз, гепатоцелюлярна карцинома, недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів, неходжкінська лімфома, гострий мієлоїдний лейкоз, рак яєчника, рак підшлункової залози, рак передміхурової залози, рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, рак жовчного міхура і холангіокарцинома, меланома, рак шлунка (РШ), рак яєчка (РЯЧ), рак сечового міхура (PCM), плоскоклітинна карцинома голови та шиї (ПМКГШ) або рак матки (РМЕ).

Цей винахід також стосується клітини-хазяїна, що містить нуклеїнову кислоту за цим винаходом або вектор експресії за цим винаходом.

Цей винахід також стосується клітини-хазяїна за цим винаходом, яка є антиген-презентуючою клітиною, і переважно дендритною клітиною.

Цей винахід також стосується способу отримання пептиду за цим винаходом, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна за цим винаходом і виділення пептиду зі згаданого клітини-хазяїна або її культурального середовища.

Цей винахід також стосується способу за цим винаходом, де антиген навантажують на молекули МНС I або II класу, що експресуються на поверхні відповідної антиген-презентуючої клітини шляхом контакту достатньої кількості антигену з антиген-презентуючою клітиною.

Цей винахід також стосується способу за цим винаходом, де антиген-презентуюча клітина містить вектор експресії, здатний експресувати згаданий пептид, що містить послідовність від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388 або згаданий варіант амінокислотної послідовності.

Цей винахід також стосується активованих Т-клітин, отриманих згідно способу за цим винаходом, де згадані Т-клітини селективно розпізнають клітину, яка експресує поліпептид, що містить амінокислотну послідовність за цим винаходом.

Цей винахід також стосується способу знищення клітин-мішеней в організмі пацієнта, клітини-мішені якого аберадно експресують поліпептид, що містить будь-яку амінокислотну послідовність за цим винаходом, причому спосіб включає введення в організм пацієнта ефективною кількістю Т-клітин за цим винаходом.

Цей винахід також стосується застосування будь-якого пептиду, що описаний тут, нуклеїнової кислоти за цим винаходом, вектора експресії за цим винаходом, клітини за цим винаходом, або активованого цитотоксичного Т-лімфоцита за цим винаходом, як лікарського засобу або в процесі виробництва лікарського засобу. Цей винахід також стосується застосування за цим винаходом, де лікарський засіб виявляє протиракову активність.

Цей винахід також стосується застосування за цим винаходом, де лікарський засіб являє собою вакцину. Цей винахід також стосується застосування за цим винаходом, де лікарський засіб виявляє протиракову активність.

Цей винахід також стосується застосування за цим винаходом, де згадані ракові клітини є клітинами солідних або гематологічних пухлин, таких як гліобластома, рак молочної залози, колоректальний рак, нирково-клітинна карцинома, хронічний лімфоцитарний лейкоз, гепатоцелюлярна карцинома, недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів, неходжкінська лімфома, гострий мієлоїдний лейкоз, рак яєчника, рак підшлункової залози, рак передміхурової залози, рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, рак жовчного міхура і холангіокарцинома, меланома, рак шлунка, рак яєчка, рак сечового міхура, плоскоклітинна карцинома голови та шиї (ПККГШ) або рак матки.

Цей винахід також стосується конкретних маркерних білків і біомаркерів на основі пептидів за цим винаходом, які у цьому документі іменуватимуться як «мішені», які можуть використовуватися в діагностиці і (або) визначенні прогнозу перебігу гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки. Цей винахід також стосується застосування цих нових мішеней для лікування раку.

Термін «антитіло» або «антитіла» використовується в тут у широкому сенсі і включає як поліклональні, так і моноклональні антитіла. На додаток до інтактних або «повнорозмірних» молекул імуноглобуліну, до терміну «антитіла» також входять фрагменти (наприклад, ділянки CDR, фрагменти Fv, Fab і Fc) або полімери цих молекул імуноглобуліну і гуманізовані версії молекул імуноглобуліну, за умови, що вони виявляють будь-які з бажаних властивостей (наприклад, специфічне зв'язування (полі)пептидного маркера гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки, доставка токсину до клітини раку, що експресує ген-маркер раку на підвищеному рівні, і (або) інгібування активності поліпептидного маркера раку) відповідно до цього винаходу.

За найменшої можливості антитіла за винаходом слід закуповувати у комерційних підприємств. Антитіла за винаходом можуть бути отримані з використанням добре відомих методів. Кваліфікований фахівець зрозуміє, що для отримання антитіл за винаходом можуть бути використані як повнорозмірні поліпептидні маркери гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланоми, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки, так і їх фрагменти. Поліпептид, який буде використовуватися для отримання антитіл за винаходом, може бути повністю чи частково очищеним компонентом природного джерела або може бути отриманий за допомогою технології рекомбінантних ДНК.

Наприклад, кДНК, що кодує пептид за цим винаходом, такий як пептид з послідовністю від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, поліпептид або його варіант чи фрагмент, може експресуватися в прокаріотичних клітинах (наприклад, бактерій) або еукаріотичних клітинах (наприклад, клітинах дріжджів, комах або ссавців), після чого рекомбінантний білок можна очистити і використати для отримання препарату моноклональних або поліклональних антитіл, які специфічно зв'язують поліпептидний маркер вищезгаданих видів ракових захворювань, що був використаний для отримання антитіл за цим винаходом.

Фахівцю в цій галузі відомо, що отримання двох або більше різних комплектів моноклональних або поліклональних антитіл максимально збільшує ймовірність отримання антитіла, що буде мати специфічність та афінність, необхідні для використання за призначенням (наприклад, для ELISA, імуногістохімічних методів, візуалізації in vivo, лікування імуноотоксинами). Антитіла досліджують на бажану активність добре відомими методами,

відповідно до цілей, у яких мають використовуватися антитіла (наприклад, ELISA, імуногістохімічні методи, імунотерапія тощо; додаткові відомості щодо отримання і перевірки антитіл див., наприклад, Greenfield, 2014 (Greenfield, 2014)). Наприклад, антитіла можуть бути досліджені методами ELISA, Вестерн-блотингу, імуногістохімічним забарвлюванням фіксованих формаліном зрізів ракової тканини або заморожених зрізів тканини. Після попередніх досліджень *in vitro* антитіла, які мають використовуватися для терапевтичних цілей або для діагностики *in vivo*, досліджують з використанням відомих методів клінічного дослідження.

Термін «моноклональне антитіло» в тому виді, в якому він використовується тут, означає антитіло, отримане із по суті гомогенної популяції антитіл, тобто індивідуальні антитіла, що складають популяцію, є ідентичними, за винятком мутантних форм, що спостерігаються в природі, які можуть бути присутніми в незначній кількості. Моноклональні антитіла за цим патентом конкретно включають «химерні» антитіла, у яких частина важкого і (або) легкого ланцюга ідентична або гомологічна відповідним послідовностям в антитілах, отриманих із окремого виду, або які належать до окремого класу чи підкласу антитіл, в той час як решта ланцюга (ланцюгів) ідентична або гомологічна відповідним послідовностям в антитілах, отриманих із іншого виду або які належать до іншого класу чи підкласу антитіл, а також фрагментів таких антитіл, за умови, що вони виявляють бажану антагоністичну активність (Пат. США 4 816 567, включений в цей документ шляхом посилання в усій повноті).

Моноклональні антитіла за винаходом можуть бути отримані гібридомними технологіями. У гібридомних технологіях мишу або іншу прийнятну тварину-хазяїна, як правило, імунізують імунізуючим агентом для створення лімфоцитів, які продукують або здатні продукувати антитіла, які специфічно зв'язуються з імунізуючим агентом. Альтернативно, лімфоцити можуть бути імунізовані *in vitro*.

Моноклональні антитіла можуть також бути створені технологіями рекомбінантних ДНК, такими як описані в патенті США 4 816 567. ДНК, що кодує моноклональні антитіла за винаходом, можна легко виділити і секвенувати з використанням традиційних методик (наприклад, використовуючи олігонуклеотидні зонди, здатні специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкі та легкі ланцюги антитіл миші).

Методи *In vitro* також придатні для створення одновалентних антитіл. Розщеплення антитіл з метою отримання їх фрагментів, зокрема, Fab-фрагментів, можна провести з використанням стандартних методик, відомих у галузі. Наприклад, розщеплення можна виконати за допомогою папаїну. Приклади розщеплення за допомогою папаїну описані у заявці WO 94/29348 і в патенті США 4 342 566. При розщепленні антитіл за допомогою папаїну, як правило, утворюються два ідентичних антиген-зв'язувальних фрагменти, які зветься Fab-фрагментами, кожний з одним антиген-зв'язувальним сайтом, і залишковим Fc фрагментом. Обробка пепсином дає фрагмент F(ab')₂ і фрагмент pFc'.

Фрагменти антитіл, чи то з'єднані з іншими послідовностями, чи ні, можуть також включати вставки, делеції, заміни або інші вибрані модифікації окремих частин або амінокислотних залишків за умови, що активність фрагмента не є значно зміненою або пошкодженою у порівнянні з немодифікованим антитілом або фрагментом антитіла. Ці модифікації можуть надати деякі додаткові властивості, такі як видалити/додати амінокислоти, що здатні до дисульфідного зв'язування, підвищити біологічну довговічність, змінити секреторні властивості тощо. У будь-якому випадку, фрагмент антитіла має виявляти біологічну активність, таку як зв'язувальна активність, регулювання зв'язування у зв'язувальному домені тощо. Функціональні або активні центри антитіла можуть бути ідентифіковані шляхом мутагенезу конкретної ділянки білка, який супроводжується експресією і перевіркою експресованого поліпептиду. Такі методи є цілком очевидними для фахівця у цій галузі і можуть включати сайт-специфічний мутагенез нуклеїнової кислоти, що кодує фрагмент антитіла.

Антитіла за винаходом можуть додатково включати гуманізовані антитіла або людські антитіла. Гуманізованими формами антитіл нелюдського походження (наприклад, мишачі) є химерні імуноглобуліни, ланцюги імуноглобулінів або їх фрагменти (такі як Fv, Fab, Fab' та інші антиген-зв'язувальні послідовності антитіл), які містять мінімальну послідовність, отриману з імуноглобуліну нелюдського походження. Гуманізовані антитіла включають імуноглобуліни людини (антитіло-реципієнт), в яких залишки від комплементарної детермінантної групи (CDR) реципієнта заміщені залишками від CDR нелюдського походження (антитіло-донор), такого як від миші, пацюка або кроля, що має бажану специфічність, афінність і зв'язувальну здатність. У деяких випадках Fv каркасні (FR) залишки імуноглобуліну людини є заміщеними відповідними залишками нелюдського походження. Гуманізовані антитіла можуть включати залишки, які не були виявлені ні в антитілі-реципієнті, ні в імпортованих CDR або послідовностях каркаса. Як правило, гуманізоване антитіло буде містити по суті всі з принаймні одного, а зазвичай двох

варіабельних доменів, в яких всі або по суті всі із ділянок CDR відповідають ділянкам імуноглобуліну нелюдського походження і всі або по суті всі із ділянок FR є ділянками консенсусної послідовності імуноглобуліну людини. Оптимально, якщо гуманізоване антитіло містить також принаймні частину константної ділянки імуноглобуліну (Fc), зазвичай ділянку

5

Методи гуманізації нелюдських антитіл добре відомі фахівцю у цій галузі. Загалом, гуманізоване антитіло має один або більше амінокислотних залишків, введених в нього з джерела, яке є нелюдського походження. Ці амінокислотні залишки нелюдського походження часто називають «імпортними» залишками, які зазвичай беруть із «імпортного» варіабельного домену. Гуманізацію можна по суті провести шляхом заміщення CDR або послідовностей CDR гризунів відповідними послідовностями людського антитіла. Відповідно, такі «гуманізовані» антитіла є химерними антитілами (патент США 4 816 567), в яких суттєво менша частина ніж інтактний варіабельний домен людини була заміщена відповідною послідовністю біологічних видів, відмінних від людини. На практиці гуманізовані антитіла є зазвичай людськими антитілами, в яких деякі залишки CDR і, можливо, залишки FR є заміщеними залишками з аналогічних сайтів антитіл гризунів.

10

15

Можуть використовуватися трансгенні тварини (наприклад, миші), які після імунізації набувають здатність продукувати повний спектр людських антитіл в умовах відсутності виробки ендогенного імуноглобуліну. Наприклад, було описано, що гомозиготна делеція гена, що кодує ділянку з'єднання важких ланцюгів антитіла, у химерних клітин і лінії клітин зародків мутантних мишей приводить до повного інгібування виробки ендогенних антитіл. Перенесення генної матриці імуноглобуліну клітин зародків людини у лінію клітин зародків мутантних мишей приводить до виробки людських антитіл після антигенної стимуляції. Людські антитіла можуть також бути виділені методом фагового дисплея з комбінаторної бібліотеки.

20

25

Антитіла за винаходом переважно вводять суб'єкту у фармацевтично прийнятному носіїві. Як правило, для надання фармацевтичній композиції ізотонічності використовують відповідну кількість фармацевтично прийнятної солі. Приклади фармацевтично прийнятного носія включають фізіологічний розчин, розчин Рінгера і розчин глюкози. рН розчину переважно має становити приблизно від 5 до 8, і більш переважно приблизно від 7 до 7,5. Додатково пропонуються носії, що включають препарати з тривалим вивільненням, такі як напівпроникні матриці твердих гідрофобних полімерів, які містять антитіла, причому ці матриці мають вигляд сформованих предметів, наприклад, плівок, ліпосом або мікрочастинок. Фахівцю в цій галузі зрозуміло, що певні носії можуть бути більш переважними, залежно від, наприклад, способу введення і концентрації антитіла, що вводиться.

30

35

Антитіла можна вводити суб'єкту, пацієнту або в клітину шляхом ін'єкції (наприклад, внутрішньовенної, внутрішньочеревної, підшкірної, внутрішньом'язової) або іншими методами, такими як інфузія, яка гарантує їх доставку у кровотік у ефективній формі. Антитіла можуть також бути введені внутрішньопухлинним або перитуморальним шляхом з метою отримати місцевий, а також системний терапевтичний ефект. Кращими є місцеве або внутрішньовенне введення.

40

Ефективні дози і режими дозування для введення антитіл можна визначити емпіричним шляхом, такі визначення знайомі фахівцю в цій галузі. Фахівцю в цій галузі зрозуміло, що дози антитіл, які необхідно вводити, залежать, наприклад, від суб'єкта, який отримує антитіла, шляху введення, конкретного типу використовуваних антитіл та інших лікарських препаратів, які вводяться. Типова добова доза при монотерапії антитілами може становити від приблизно 1 мкг/кг до 100 мг/кг маси тіла або більше на добу, залежно від вищезгаданих факторів. Після введення антитіл, переважно з метою лікування гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, пласкоклітинної карциноми голови та шиї (ПКСГШ) або раку матки, ефективність терапевтичної дії антитіл можна оцінити різними способами, відомими фахівцю в цій галузі. Наприклад, розмір, кількість і (або) розповсюдження раку в організмі суб'єкта, що отримує лікування, можна контролювати за допомогою стандартних методик візуалізації пухлин. Введене з терапевтичними цілями антитіло, яке затримує ріст пухлини, приводить до скорочення пухлини і (або) запобігає розвитку нових пухлин у порівнянні з перебігом захворювання, який би спостерігався за відсутності введення антитіла, є ефективним антитілом для лікування гліобластоми.

55

60

У ще одному аспекті цей винахід стосується способу отримання розчинного Т-клітинного рецептора (pTKR), що розпізнає конкретний комплекс пептиду і МНС. Такі розчинні Т-клітинні рецептори можуть бути отримані зі специфічних клонів Т-клітин, і їх спорідненість можна підвищити мутагенезом, націленим на комплементарні детермінантні групи. З метою вибору Т-клітинних рецепторів може використовуватися метод фагового дисплея (Заявка США 20100113300, (Liddy et al., 2012)). З метою стабілізації Т-клітинних рецепторів у процесі фагового дисплея і у разі застосування як лікарського препарату альфа- і бета-ланцюги можуть буди зв'язані, наприклад ненативними дисульфідними зв'язками або іншими ковалентними зв'язками (одноланцюговий Т-клітинний рецептор) або доменами димеризації (Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999). Т-клітинний рецептор може бути зв'язаний з токсинами, лікарськими препаратами, цитокінами (див., наприклад, заявку США 2013/0115191), доменами, що залучають ефекторні клітини, такі як домени антитіл проти CD3 тощо, щоб виконувати конкретні функції на клітинах-мішенях. Більш того, він може експресуватися у Т-клітинах, що використовуються для адаптивного переносу. Додаткову інформацію можна знайти у заявках WO 2004/033685A1 і WO 2004/074322A1. Комбінація pTKR описана у заявці WO 2012/056407A1. Інші способи отримання розкриті у заявці WO 2013/057586A1.

Крім того, пептиди і (або) ТКР, або антитіла, або інші зв'язувальні молекули за цим винаходом можуть використовуватися для підтвердження діагнозу «рак», поставленому патоморфологом на основі дослідження біоптату.

Ці антитіла або ТКР можуть використовуватися також для діагностики *in vivo*. Зазвичай антитіла мітять радіонуклідами (такими як ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^3H , ^{32}P або ^{35}S), щоб пухлину можна було локалізувати, використовуючи імуносцинтиграфію. В одному з втілень антитіла або їх фрагменти зв'язуються з зовнішньоклітинними доменами двох або більше таких мішеней білка, вибраного з групи, що складається з вищезгаданих білків, із константою зв'язування (K_d) меншою ніж 1×10 мкМ.

Антитіла для діагностичного застосування можна мітити зондами, що підходять для виявлення різними методами візуалізації. Методи виявлення зондів включають, але не обмежуються ними, флуоресценцію, світлову, конфокальну і електронну мікроскопію, магнітно-резонансну візуалізацію і спектроскопію, флуороскопію, комп'ютерну томографію та позитронну емісійну томографію. Відповідні зонди включають, але не обмежуються ними, флуоресцеїн, родамін, еозин та інші флуорофори, радіоізотопи, золото, гадоліній та інші лантаніди, парамагнітне залізо, фтор-18 та інші радіонукліди, що випромінюють позитрони. Крім цього, зонди можуть бути бі- або багатофункціональними і виявлятися більш ніж одним із зазначених методів. Ці антитіла можуть бути безпосередньо або опосередковано мічені вищезгаданими зондами. Прикріплення зондів до антитіл включає ковалентне зв'язування зонда, включення зонда в антитіло і ковалентне прикріплення хелатуючої сполуки для зв'язування зонда, серед інших методів, добре відомих фахівцю у цій галузі. У разі імуногістохімічних методів зразок хворої тканини може бути свіжим чи замороженим або може бути залитим у парафін і фіксованим за допомогою консерванту, такого як формалін. Фіксовані або залиті зразки зрізів тканин приводять у контакт із міченим первинним антитілом і вторинним антитілом, де антитіло використовується для виявлення експресії цих білків *in situ*.

Згідно з іншим аспектом цього винаходу пропонується спосіб отримання активованих Т-клітин *in vitro*, причому спосіб включає контактування *in vitro* Т-клітин із навантаженими антигеном молекулами МНС, що експресуються на поверхні відповідної антиген-презентуючої клітини протягом періоду часу, достатнього для активації Т-клітини шляхом набуття нею специфічності до антигену, де згаданий антиген є пептидом за винаходом. Переважно з антиген-презентуючою клітиною використовують достатню кількість антигену.

Переважно клітина ссавців не має пептидного транспортера TAP чи має його знижений рівень або знижену функціональну активність. Відповідні клітини з дефіцитом пептидного транспортера TAP включають клітини T2, RMA-S і клітини дрозоділі. TAP є транспортером, асоційованим із процесингом антигену.

Лінія людських клітин з недостатністю T2, на які завантажуються пептиди, доступна для придбання у Американській колекції типових культур ATCC за адресою 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, США, номер за каталогом CRL 1992; лінія клітин дрозоділі Schneider 2 доступна для придбання в ATCC, номер за каталогом CRL 19863; клітинна лінія миші RMA-S описана у Ljunggren і співавт. (Ljunggren and Karre, 1985).

Переважно, клітина-хазяїн до трансфекції не експресує суттєвої кількості молекул МНС I класу. Також переважно клітина-стимулятор експресує молекулу, яка є важливою для забезпечення додаткового стимулюючого сигналу для Т-клітин, таку як будь-яка з молекул B7.1, B7.2, ICAM-1 і LFA 3. Послідовності нуклеїнових кислот багатьох молекул МНС I класу і

костимуляторних молекул є у вільному доступі в базах даних GenBank і EMBL.

У випадку, коли роль антигенів відіграють епітопи комплексу MHC I класу, Т-клітини є CD8-позитивними Т-клітинами.

5 Якщо антиген-презентуючі клітини трансфектують для експресії такого епітопу, клітина переважно містить вектор експресії, здатний експресувати пептид, що містить послідовності від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 388, або варіант його амінокислотної послідовності.

Ряд інших способів може використовуватися для отримання Т-клітин *in vitro*. Наприклад, для отримання ЦТЛ можуть використовуватися аутологічні лімфоцити, які інфільтрують пухлину. Plebanski і співавт. (Plebanski et al., 1995) використовували аутологічні лімфоцити периферійної крові (PLB) для отримання Т-клітин. Більш того, можливе створення аутологічних Т-клітин шляхом обробки дендритних клітин пептидом або поліпептидом або інфікуванням рекомбінантним вірусом. Для отримання аутологічних Т-клітин можуть також використовуватися В-клітини. Крім того, для отримання аутологічних Т-клітин можуть використовуватися макрофаги, оброблені пептидом або поліпептидом або інфіковані рекомбінантним вірусом. S. Walter і співавт. (Walter et al., 2003) описують примування Т-клітин *in vitro* за допомогою штучних антиген-презентуючих клітин (штучні АПК), що також є прийнятним способом отримання Т-клітин проти вибраного пептиду. В цьому винаході штучні АПК отримували шляхом прикріплення заздалегідь сформованих комплексів МНС-пептид до поверхні полістирольних частинок (мікрогранул) за допомогою системи біотин-стрептавідин. Ця система забезпечує точний контроль щільності МНС на штучних АПК, що дозволяє селективно викликати високо-або низькоавідні специфічні до антигену відповіді Т-клітин з високою ефективністю для зразків крові. Окрім комплексів МНС-пептид, штучні АПК мають нести інші білки з костимулювальною активністю, такі як антитіла проти CD28, прикріплені до їхньої поверхні. До того ж такі системи на базі штучних АПК часто вимагають додавання відповідних розчинних елементів, наприклад, цитокінів, таких як інтерлейкін-12.

Алогенні клітини також можуть використовуватися для отримання Т-клітин, і відповідний спосіб докладно описаний у заявці WO 97/26328, яка включена в цей документ шляхом посилання. Наприклад, окрім клітин *Drosophila* і клітин Т2, інші клітини можуть використовуватися для презентації антигенів, такі як клітини СНО, інфіковані бациловірусом клітин комах, бактеріальні, дріжджові клітини та клітини-мішені, інфіковані коров'ячою віспою. Крім того, можуть використовуватись віруси рослин (див., наприклад, роботу Porta і співавт. (Porta et al., 1994), в якій описується розробка мозаїчного вірусу вігні як високопродуктивної системи для презентації чужорідних пептидів.

Активовані Т-лімфоцити, які спрямовані проти пептидів за винаходом, є корисними в терапії. Отже, згідно з ще одним аспектом винаходу пропонуються активовані Т-клітини, які можна отримати за допомогою вищезгаданих способів за винаходом.

Активовані Т-клітини, які отримані вищезгаданим способом, селективно розпізнають клітину, яка аберантно експресує поліпептид, який містить амінокислотну послідовність від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO 388.

40 Переважно, Т-клітина розпізнає цю клітину шляхом взаємодії свого Т-клітинного рецептора з комплексом HLA/пептид (наприклад, зв'язуванням). Т-клітини є корисними у способі знищення клітин-мішеней в організмі пацієнта, клітини-мішені якого аберантно експресують поліпептид, що містить амінокислотну послідовність за винаходом, за яким пацієнту вводиться ефективна кількість активованих Т-клітин. Ці Т-клітини, що вводяться пацієнту, можуть бути виділені з організму пацієнта і активовані як описано вище (тобто вони є аутологічними Т-клітинами). Як альтернатива, ці Т-клітини одержуються не з організму пацієнта, а від іншої людини. Зрозуміло, що переважно ця людина є здоровою людиною. Під терміном «здорова людина» автори винаходу мають на увазі, що людина має хороший загальний стан здоров'я, переважно має адекватну імунну систему та, ще більш переважно, не страждає від якогось захворювання, на яке її можна легко перевірити і виявити.

In vivo, клітини-мішені для CD8-позитивних Т клітин за цим винаходом можуть бути клітинами пухлини (які іноді експресують МНС II класу) і (або) клітинами стромы, що оточують пухлину (пухлинні клітини) (які іноді також експресують МНС II класу; (Dengjel et al., 2006)).

Т-клітини за цим винаходом можуть використовуватися як активні інгредієнти терапевтичної композиції. Отже, предметом цього винаходу також є спосіб знищення клітин-мішеней в організмі пацієнта, клітини-мішені якого аберантно експресують поліпептид, що містить амінокислотну послідовність за винаходом, причому спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості Т-клітин згідно визначеному вище.

60 Під терміном «абераантно експресовані» автори винаходу мають на увазі, що поліпептид є надмірно експресованим у порівнянні з рівнями експресії нормальних тканин або що ген є

«мовчазним» у тканині, з якої походить пухлина, але він експресується в пухлині. Під терміном «надмірно експресований» автори винаходу мають на увазі, що поліпептид присутній на рівні, що принаймні у 1,2 рази вищий за рівень у нормальній тканині, переважно принаймні у 2 рази, та більш переважно принаймні у 5 або 10 разів вищий за рівень у нормальній тканині.

5 Т-клітини можуть бути отримані способами, що відомі в галузі, наприклад, тими, що описані вище.

Протоколи для цього так званого адаптивного перенесення Т-клітин добре відомі в цій галузі. Огляди можна знайти, наприклад, у роботах Gattioni і співавт. і Morgan і співавт. (Gattioni et al., 2006; Morgan et al., 2006).

10 У ще одному аспекті цей винахід стосується застосування пептидів, які входять до складу комплексу з МНС, для отримання Т-клітинного рецептора, нуклеїнова кислота якого клонована і введена у клітину-хазяїн, переважно Т-клітину. Ця отримана методами генної інженерії Т-клітина може потім бути перенесена в організм пацієнта для лікування раку.

Будь-яка молекула за винаходом, тобто пептид, нуклеїнова кислота, антитіло, вектор експресії, клітина, активована Т-клітина, Т-клітинний рецептор або нуклеїнова кислота, яка її кодує, є прийнятною для лікування захворювань, для яких є характерним те, що клітини уникають імунної відповіді. Таким чином, будь-яка молекула за цим винаходом може застосовуватися як лікарський засіб або в процесі виробництва лікарського засобу. Згадана молекула може використовуватися сама по собі або у комбінації з іншою молекулою (іншими молекулами) за винаходом або відомою молекулою (відомими молекулами).

За цим винаходом також пропонується комплект, що включає:

(а) контейнер, який містить фармацевтичну композицію як зазначено вище, у розчині або у ліофілізованій формі;

25 (б) необов'язково, другий контейнер, що містить розріджувач або розчин для відновлення ліофілізованої композиції, і

(в) необов'язково, інструкції із (і) застосування розчину або (ii) відновлення і (або) застосування ліофілізованої композиції.

Комплект може додатково включати один або більше (iii) буферів, (iv) розріджувачів, (v) фільтрів, (vi) голок або (vii) шприців. Контейнер є переважно пляшкою, флаконом, шприцом або пробіркою; і він може бути контейнером багаторазового застосування. Фармацевтична композиція є переважно ліофілізованою.

Комплекти за винаходом, переважно, включають ліофілізовану композицію за цим винаходом в належному контейнері та інструкції з її відновлення і (або) застосування. Належні контейнери включають, наприклад, пляшки, флакони (наприклад, двокамерні флакони), шприци (такі як двокамерні шприци) і пробірки. Контейнер може бути виготовленим із багатьох видів матеріалів, таких як скло або пластмаса. Переважно, комплект і (або) контейнер містить(ять) інструкції із застосування контейнера або пов'язані з контейнером, які містять вказівки щодо відновлення і (або) застосування. Наприклад, на етикетці може вказуватися, що ліофілізована лікарська форма має бути відновлена до таких концентрацій пептидів як зазначено вище. На етикетці, крім того, може бути зазначено, що лікарська форма є прийнятною для або призначена для підшкірного введення.

Контейнер із лікарською формою може бути флаконом багаторазового застосування, котрий дозволяє робити повторні введення (наприклад, від 2 до 6 введень) відновленої лікарської форми. Комплект додатково може включати другий контейнер, що містить прийнятний розріджувач (наприклад, розчин бікарбонату натрію).

Після змішування розріджувача та ліофілізованої форми остаточна концентрація пептиду у відновленій формі переважно становить принаймні 0,15 мг/мл/пептиду (=75 мкг) та переважно не більше 3 мг/мл/пептиду (=1500 мкг). Комплект додатково може включати інші матеріали, бажані з комерційної точки зору та з точки зору користувача, включаючи інші буфери, розріджувачі, фільтри, голки, шприци та вкладиші в упаковку з інструкціями із застосування.

Комплекти за цим винаходом можуть включати один контейнер, який містить лікарську форму фармацевтичних композицій відповідно до цього винаходу з іншими компонентами чи без них (наприклад, інші сполуки або фармацевтичні композиції цих інших сполук) чи включати окремі контейнери для кожного компоненту.

55 Переважно, комплекти за винаходом включають композицію за винаходом, упаковану для використання, в комбінації з одночасним введенням другої сполуки, такої, як ад'юванти (наприклад, ГМ-КСФ), хіміотерапевтичний агент, природний продукт, гормон чи антагоніст, анти-ангіогенезний агент чи інгібітор, апоптоз-індукуючий агент або хелатор) чи їхню фармацевтичну композицію. Компоненти комплекту до введення пацієнту можуть бути завчасно змішані, чи кожний компонент може бути в окремому контейнері. Компоненти комплекту можуть бути надані

в одному чи кількох рідких розчинах, переважно, водному розчині, більш переважно, стерильному водному розчині Компоненти комплексу також можуть надаватись як речовини у твердому стані, які можуть бути переведені на рідини шляхом додання прийнятних розчинників, котрі переважно містяться в іншому окремому контейнері.

5 Контейнер терапевтичного комплексу може являти собою флакон, пробірку, колбу, пляшку, шприц або будь-який інший засіб для вміщення твердої речовини чи рідини. Зазвичай, коли є більш ніж один компонент, комплект включає другий флакон чи другий контейнер, який дозволяє окреме дозування. Комплект може також включати інший контейнер для фармацевтично прийнятної рідини. Переважно, терапевтичний комплект буде включати апарат (наприклад, одну чи кілька голок, шприци, очні піпетки, піпетку та ін.), який робить можливим введення речовин відповідно винаходу, що є компонентами цього комплексу.

10 Ця лікарська форма є формою, прийнятною для введення пептидів будь-яким зручним способом, наприклад, пероральним (ентеральним), назальним, очним, підшкірним, внутрішньошкірним, внутрішньом'язовим, внутрішньовенним або трансдермальним. Переважно, введення може здійснюватися підшкірно, та найбільш переважно, внутрішньошкірно інфузійним насосом.

Оскільки пептиди за винаходом були виділені з гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура або раку матки, лікарський засіб за винаходом переважно застосовується для лікування гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, плоскоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки.

Цей винахід також стосується способу отримання персоналізованого фармацевтичного засобу для застосування для конкретного пацієнта, який включає виготовлення фармацевтичної композиції, яка містить принаймні один пептид, вибраний із «сховища» заздалегідь «просіяних» TUMAP, в якому щонайменше один пептид, використаний у фармацевтичній композиції, вибраний таким чином, щоб підходити конкретному пацієнту. В одному з втілень фармацевтична композиція є вакциною. Спосіб може також бути пристосованим для отримання клонів Т-клітин для подальшого використання, такого як виділення ТКР, або розчинних антитіл та інших варіантів лікування.

«Персоналізований фармацевтичний засіб» означає засоби лікування, спеціально адаптовані для конкретного пацієнта, які будуть застосовані для лікування лише цього конкретного пацієнта, включаючи активно персоналізовані протиракові вакцини і засоби адаптивної клітинної терапії з використанням аутологічних тканин, отриманих від пацієнта.

Термін «сховище» в контексті цього винаходу означає групу пептидів, яка заздалегідь пройшла «просіяння» (скринінг) на імуногенність і (або) надмірну презентацію у конкретному виді пухлин. Термін «сховище» не означає, що конкретні пептиди, що входять до складу вакцини, були заздалегідь виготовлені і зберігалися у фізичному об'єкті, хоча така можливість мається на увазі. Прямо передбачається, що пептиди можуть бути виготовлені de novo для кожної отриманої персоналізованої вакцини або вони можуть бути виготовлені заздалегідь і зберігатися. «Сховище» (наприклад, у формі бази даних) складається з пухлино-асоційованих пептидів, що були дуже надмірно експресовані тканинами пухлин хворих на гліобластому, рак молочної залози, колоректальний рак, нирково-клітинну карциному, хронічний лімфоцитарний лейкоз, гепатоцелюлярну карциному, недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів, неходжкінську лімфому, гострий мієлоїдний лейкоз, рак яєчника, рак підшлункової залози, рак передміхурової залози, рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, рак жовчного міхура і холангіокарциному, меланому, рак шлунка, рак яєчка, рак сечового міхура, плоскоклітинну карциному голови та шиї (ПККГШ) або рак матки, із різними алелями HLA-A, HLA-B і HLA-C. Воно може містити пептиди, що зв'язані з молекулами MHC I класу і з молекулами MHC II класу або подовжені пептиди, що зв'язані з молекулами MHC I класу. На додаток до пухлино-асоційованих пептидів, отриманих із декількох ракових тканин, сховище може містити маркерні пептиди, що зв'язані з HLA-A*02 і HLA-A*24. Ці пептиди дозволяють

кількісно порівняти інтенсивність Т-клітинної відповіді, індукованої TUMAP, і таким чином дозволяє зробити важливий висновок відносно здатності вакцини викликати протипухлинну відповідь. По-друге, вони виконують функцію важливих пептидів позитивного контролю, отриманих з «не-свого» антигену, у випадку, якщо у пацієнта не спостерігаються жодні вакцино-індуковані Т-клітинні відповіді на TUMAP, отримані зі «своїх» власних антигенів пацієнта. І по-третє, воно дозволяє зробити висновки щодо стану імунотропності пацієнта.

TUMAP для «сховища» ідентифікуються за допомогою підходу інтегрованої функціональної геноміки, що поєднує аналіз генної експресії, мас-спектрометрію і Т-клітинну імунологію (XPresident®). Цей підхід гарантує, що тільки TUMAP, насправді присутні у великому відсотку пухлин, але не взагалі неекспресовані або лише мінімально експресовані на нормальних тканинах, будуть вибрані для подальшого аналізу. Для первинного вибору пептидів зразки від пацієнтів, хворих на гліобластому, рак молочної залози, колоректальний рак, нирково-клітинну карциному, хронічний лімфоцитарний лейкоз, гепатоцелюлярну карциному, недрібноклітинний і дрібноклітинний рак легенів, неходжкінську лімфому, гострий мієлоїдний лейкоз, рак яєчника, рак підшлункової залози, рак передміхурової залози, рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, рак жовчного міхура і холангіокарциному, меланому, рак шлунка, рак яєчка, рак сечового міхура, пласкоклітинну карциному голови та шиї (ПМКГШ) або рак матки, і зразки крові від здорових донорів аналізували з використанням поетапного підходу:

1. HLA-ліганди зі злоскісного матеріалу ідентифікували методом мас-спектрометрії.

2. Аналіз експресії інформаційної рибонуклеїнової кислоти (іРНК) в усьому геномі використовували для ідентифікації генів, що надмірно експресовані у злоскісній тканині у порівнянні з рядом нормальних органів і тканин.

3. Ідентифіковані HLA-ліганди порівнювали з даними генної експресії Пептиди, надмірно або селективно презентовані на пухлинній тканині, переважно такі, що кодуються селективно експресованими або надмірно-експресованими генами, як було визначено на етапі 2, вважали прийнятними TUMAP-кандидатами для включення до складу мультипептидної вакцини.

4. Пошук літератури був проведений для ідентифікації додаткових свідочств, що підтверджують доречність використання ідентифікованих пептидів як TUMAP.

5. Доречність надмірної експресії на рівні іРНК була підтверджена повторним виявленням вибраних TUMAP етапу 3 на пухлинній тканині і їх відсутністю (або рідким виявленням) на здорових тканинах.

6. Для оцінки того, чи є здійсненою індукція вибраними пептидами Т-клітинної відповіді *in vivo*, був проведений аналіз імунотропності *in vitro* з використанням Т-клітин людини, отриманих від здорових донорів, а також від пацієнтів, хворих на рак.

В одному з аспектів пептиди проходять попередній скринінг на імунотропність перед тим, як їх включають до «сховища». Як приклад, що не має обмежувального значення, імунотропність пептидів, доданих до «сховища», визначають методом, що включає примування Т-клітин *in vitro* шляхом повторних стимуляцій CD8+ Т-клітин від здорових донорів клітинами, що презентують штучний антиген, навантаженими комплексами пептид/МНС і антитілами проти CD28.

Цей метод є переважним для видів раку, що рідко спостерігаються, і для пацієнтів з рідкісними профілями експресії. На відміну від мультипептидних коктейлів зі сталим складом, які у даний час вже розроблені, «сховище» дозволяє забезпечити значно кращий збіг з вакциною реальної експресії антигенів у пухлині. Вибрані «готові для застосування» індивідуальні пептиди або комбінації декількох пептидів будуть використані для кожного пацієнта у багатоцільовому підході. Теоретично, підхід, який базується на виборі, наприклад, 5 різних антигенних пептидів із бібліотеки з 50 пептидів, вже мав би привести приблизно до 17 мільйонів можливих складів лікарських препаратів.

В одному варіанті винаходу пептиди вибираються для включення до складу вакцини на основі їхньої прийнятності для конкретного пацієнта на основі способу за цим винаходом як вже описано в цьому документі або як викладено нижче.

З матеріалу пухлини і зразків крові пацієнта будуть зібрані дані щодо фенотипу HLA, транскриптомного і пептидомного аналізу з метою ідентифікувати найбільш прийнятні для кожного пацієнта пептиди «сховища» і унікальні для пацієнта (тобто мутовані) TUMAP. Будуть вибрані ті пептиди, які селективно або надмірно експресуються в пухлинах пацієнтів і, де можливо, демонструють сильну імунотропність *in vitro*, якщо вони були досліджені на зразках МКПК індивідуальних пацієнтів.

Переважно, пептиди, що входять до складу вакцини, ідентифіковані методом, що включає: (а) ідентифікацію пухлино-асоційованих пептидів (TUMAP), які презентуються зразком пухлини від конкретного пацієнта; (б) порівняння пептидів, ідентифікованих в (а), зі сховищем (базою даних) пептидів як зазначено вище; і (в) вибір принаймні одного пептиду зі сховища (бази

даних), який корелює з пухлино-асоційованим пептидом, ідентифікованим у пацієнта. Наприклад, TUMAP, які презентуються зразком пухлини, ідентифікуються за допомогою: (a1) порівняння даних експресії зі зразка пухлини з даними експресії зі зразка нормальної тканини, що відповідає типу тканини зразка пухлини, для ідентифікації білків, які надмірно експресуються або аберантно експресуються у зразку пухлини; і (a2) проведення кореляції даних експресії з послідовностями лігандів МНС, зв'язаних із молекулою МНС I класу і (або) II класу, в зразку пухлини для ідентифікації лігандів МНС, отриманих із білків, що надмірно експресуються або аберантно експресуються пухлиною. Переважно, послідовності лігандів МНС ідентифікуються елююванням зв'язаних пептидів із їхніх комплексів із молекулами МНС, виділених із зразка пухлини, і секвенуванням елююваних лігандів. Переважно, зразок пухлини і нормальна тканина отримані від того самого пацієнта.

На додаток до (або як альтернатива йому) вибору пептидів з використанням моделі «сховища», TUMAP можуть бути ідентифіковані у пацієнта *de novo* і потім введені до складу вакцини. Як один приклад, TUMAP-кандидати можуть бути ідентифіковані у пацієнта шляхом (a1) порівняння даних експресії зі зразка пухлини з даними експресії зі зразка нормальної тканини, що відповідає типу тканини зразка пухлини, для ідентифікації білків, які надмірно експресуються або аберантно експресуються у зразку пухлини; і (a2) проведення кореляції даних експресії з послідовностями лігандів МНС, зв'язаних із молекулою МНС I класу і (або) II класу, в зразку пухлини для ідентифікації лігандів МНС, отриманих із білків, що надмірно експресуються або аберантно експресуються пухлиною. Як інший приклад, білки можуть бути ідентифіковані як такі, що містять мутації, які є унікальними для зразка пухлини, по відношенню до відповідної нормальної тканини конкретного пацієнта, а TUMAP можуть бути ідентифіковані як такі, що специфічно націлені на цю мутацію. Наприклад, геном пухлинної клітини і геном клітин відповідної нормальної тканини можливо секвенувати методом повногеномного секвенування: для викриття несинонімічних мутацій у білок-кодуючій ділянці генів геномні ДНК і РНК екстрагують із пухлинних тканин, а нормальну немутовану геномну ДНК лінії зародкових клітин екстрагували з мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК). Використаний метод секвенування нового покоління (NGS) зводиться до повторного секвенування білок-кодуючих ділянок (ресеквенування екзому). З цією метою екзонну ДНК із зразків людини уловлюють за допомогою комплексів збагачення цільовими фрагментами, придбаних у постачальника, з наступним секвенуванням, наприклад, за допомогою HiSeq2000 (Illumina). Крім цього, іРНК пухлинних клітин секвенують для прямого кількісного визначення генної експресії і підтвердження того, що мутовані гени експресуються у пухлинах пацієнтів. Отримані мутації послідовностей зчитування обробляють з використанням програмно-реалізованих алгоритмів. Таблиця результатів містить мутації і показники генної експресії. Пухлиноспецифічні соматичні мутації визначають шляхом порівняння з варіаціями зародкових ліній, що походять від МКПК, і розміщують у відповідності до пріоритету. Ідентифіковані *de novo* пептиди можуть згодом бути досліджені на імуногенність як викладено вище для «сховища», а і TUMAP-кандидати, що мають прийнятну імуногенність, вибирають для включення до складу вакцини.

В одному з прикладів втілень пептиди, що входять до складу вакцини, ідентифікуються таким чином: (а) ідентифікацією пухлино-асоційованих пептидів (TUMAP), які презентуються зразком пухлини від конкретного пацієнта описаними вище методами; (б) порівнянням пептидів, ідентифікованих в а), зі сховищем пептидів, які пройшли попередній скринінг на імуногенність і на надмірну експресію у пухлинах у порівнянні з відповідною нормальною тканиною; (в) вибором принаймні одного пептиду зі сховища, який корелює з пухлино-асоційованим пептидом, ідентифікованим у пацієнта, і г) необов'язково, вибором принаймні одного пептиду, ідентифікованого *de novo* в (а) і підтвердженням його імуногенності.

В одному з прикладів втілень пептиди, що входять до складу вакцини, ідентифікуються таким чином: (а) ідентифікацією пухлино-асоційованих пептидів (TUMAP), які презентуються зразком пухлини від конкретного пацієнта; і (б) вибором принаймні одного пептиду, ідентифікованого *de novo* в (а) і підтвердженням його імуногенності.

Після вибору пептидів для персоналізованої вакцини на основі пептиді виготовляється вакцина. Ця вакцина переважно є рідкою лікарською формою, що складається з окремих пептидів, розчинених у ДМСО концентрацією від 20 до 40%, переважно приблизно від 30 до 35%, такий як приблизно 33% ДМСО.

Кожен пептид, який належить включити до композиції, розчиняють у ДМСО. Концентрацію розчинів окремих пептидів необхідно вибирати залежно від кількості пептидів, які належить включити до складу продукту. Розчини окремих пептидів у ДМСО змішують у рівних частинах, щоб отримати розчин, який містить усі пептиди, які належить включити до складу продукту, з концентрацією ~2,5 мг/мл для кожного пептиду. Змішаний розчин потім розводять у

співвідношенні 1:3 водою для ін'єкцій з метою досягти концентрацію 0,826 мг/мл для кожного пептиду у 33% ДМСО. Розведений розчин фільтрують через стерильний фільтр із розміром пор 0,22 мкм. Отримують нерозфасований кінцевий розчин.

5 Нерозфасований кінцевий розчин розливають по флаконах і зберігають при температурі - 20 °С аж до використання. Один флакон вміщує 700 мкл розчину, що містить 0,578 мг кожного пептиду. 500 мкл цього розчину (приблизно 400 мкг кожного пептиду) будуть використані для внутрішньошкірної ін'єкції.

10 На додаток до можливості використання для лікування раку, пептиди за цим винаходом можуть також використовуватися як діагностичні реактиви. Оскільки пептиди були тримані із зразків гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, пласкоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки, і оскільки було визначено, що ці пептиди не є присутніми у нормальних тканинах або присутні у низькій кількості, ці пептиди можуть використовуватися для діагностики наявності раку.

20 Присутність пептидів за цим винаходом на біоптатах тканин у зразках крові може допомогти патоморфологу в діагностуванні раку. Виявлення певних пептидів за допомогою антитіл, мас-спектрометрії або інших методів, відомих фахівцям у цій галузі, може надати патоморфологу інформацію, чи є тканина злоякісною або запаленою або взагалі ураженою хворобою, або може використовуватися як біомаркер гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура, пласкоклітинної карциноми голови та шиї (ПККГШ) або раку матки. Наявність груп пептидів 25 30 може дозволити віднести хворі тканини до певного класу чи підкласу.

Виявлення пептидів на зразках хворої тканини дає можливість прийняти рішення відносно користі від методів лікування за участю імунної системи, особливо якщо відомо або передбачається, що Т-лімфоцити причетні до механізму дії. Втрата експресії МНС є добре відомим механізмом, за яким інфіковані або злоякісні клітини уникають імунного контролю. 35 Отже, наявність пептидів свідчить про те, що цей механізм не використовується клітинами, що аналізуються.

Пептиди за цим винаходом можливо використовувати для аналізу відповіді лімфоцитів на дію таких пептидів, такої як реакція Т-клітин або відповідь антитіл на пептид або комплекс пептиду і молекул МНС. Ці відповіді лімфоцитів можливо використовувати як прогностичні 40 маркери для прийняття рішень щодо наступних терапевтичних дій. Ці відповіді можна також використовувати як сурогатні маркери в імунотерапевтичних підходах, що мають на меті викликати відповіді лімфоцитів у різний спосіб, наприклад, вакцинацією білками, нуклеїновими кислотами, аутологічними матеріалами, адоптивним перенесенням лімфоцитів. В закладах, де застосовують генну терапію, для оцінки побічних ефектів рекомендується проаналізувати реакції лімфоцитів на пептиди. Моніторинг реакцій лімфоцитів може також бути цінним 45 інструментом під час обстеження при подальшому спостереженні після трансплантації, наприклад, для виявлення реакцій «трансплантат проти хазяїна» та «хазяїн проти трансплантата».

Цей винахід буде проілюстрований наведеними нижче прикладами, які описують його переважні втілення, з посиланнями на супроводжувальні фігури, але не обмежуються наведеними тут. Для цілей цього винаходу всі цитовані джерела включені в цей документ шляхом посилання в усій повноті.

ФІГУРИ

55 На Фігурах 1 показана надмірна презентація різних пептидів у нормальних тканинах (білі стовпчики) і тканинах різних видів раку (чорні стовпчики). Фігура 1А) Символ гена: IGFBPL1, пептид: LLPLPPLSPSLG (SEQ ID NO: 33) – тканини зліва направо: 1 лінія клітин (1 підшлункова залоза), 1 нормальна тканина (1 цитоподібна залоза), 22 ракових тканини (5 раків головного мозку, 1 рак молочної залози, 1 рак товстої кишки, 1 рак стравоходу, 1 рак жовчного міхура, 1 рак печінки, 10 раків легенів, 1 рак підшлункової залози, 1 рак шлунка); Фігура 1В) Символ гена: 60 HIVER1, пептид: NYIPVKNGKQF (SEQ ID NO: 103) – тканини зліва направо: 11 ракових тканин (1

рак головного мозку, 1 рак печінки, 8 раків легенів, 1 рак передміхурової залози), Фігура 1C) Символ гена: GET4, пептид: EYLDRIGQLFF (SEQ ID NO: 131) – тканини зліва направо: 2 нормальні тканини (1 нирка, 1 легеня), 41 ракова тканина (2 раки головного мозку, 1 рак нирки, 3 раки печінки, 29 раків легенів, 2 раки передміхурової залози, 4 раки шлунка); Фігура 1D) Символ гена: N4BP2, пептид: FYINGQYQF (SEQ ID NO: 176) – тканини зліва направо: 1 лінія клітин (1 передміхурова залоза), 3 нормальні тканини (1 нирка, 1 гіпофіз, 1 шкіра), 67 ракових тканин (4 раки головного мозку, 2 раки печінки, 42 раки легенів, 12 раків передміхурової залози, 7 раків шлунка). На Фігурах 1E) – Z) показана надмірна презентація різних пептидів на різних ракових тканинах у порівнянні з нормальними тканинами. В аналіз були включені дані більш ніж 440 зразків нормальних тканин і 526 ракових зразків. Показані лише зразки, на яких була виявлена присутність пептиду. Фігура 1E) Символ гена: AKR1C1, AKR1C3, пептид: HLYNNEEQV (SEQ ID NO: 16) – тканини зліва направо: 1 лінія клітин (підшлункова залоза), 15 ракових тканин (1 рак жовчних протоків, 1 рак стравоходу, 6 раків печінки, 5 раків легенів, 2 раки сечового міхура), Фігура 1F) Символ гена: RPS26P39, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P20, RPS26P15, RPS26P50, RPS26P2, RPS26P25, RPS26P58, пептид: YVLPKLYVKL (SEQ ID NO: 35) – тканини зліва направо: 1 нормальна тканина (1 зразок лейкоцитів), 8 ракових тканин (1 рак голови та шиї, 3 раки лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак жовчного міхура, 1 рак товстої кишки, 1 рак лімфатичних вузлів); Фігура 1G) Символ гена: CLDN4, CLDN3, CLDN14, CLDN6, CLDN9, пептид: SLLALPQDLQA (SEQ ID NO: 40) – тканини зліва направо: 21 ракова тканина (1 рак жовчних протоків, 1 рак молочної залози, 3 раки товстої кишки, 1 рак прямої кишки, 6 раків легенів, 2 раки яєчника, 1 рак передміхурової залози, 3 раки сечового міхура, 3 раки матки); Фігура 1H) Символ гена: KLHDC7B, пептид: VLSPFILTL (SEQ ID NO: 42) – тканини зліва направо: 18 ракових тканин (1 рак лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак молочної залози, 1 рак нирки, 6 раків легенів, 3 раки лімфатичних вузлів, 2 раки яєчника, 2 раки сечового міхура, 1 рак матки); Фігура 1I) Символ гена: ATR, пептид: SLLSHVIVA (SEQ ID NO: 53) – тканини зліва направо: 3 лінії клітин (1 зразок клітин крові, 2 підшлункові залози), 21 ракова тканина (1 рак голови та шиї, 1 рак жовчних протоків, 2 раки лейкоцитів, 1 рак молочної залози, 2 раки стравоходу, 1 рак жовчного міхура, 1 рак нирки, 1 рак печінки, 2 раки легенів, 4 раки лімфатичних вузлів, 1 рак яєчника, 3 раки шкіри, 1 рак сечового міхура); Фігура 1J) Символ гена: PGAP1, пептид: FITDFYTTV (SEQ ID NO: 66) – тканини зліва направо: 1 лінія клітин (1 шкіра), 1 нормальна тканина (1 товста кишка), 13 ракових тканин (1 рак голови та шиї, 6 раків головного мозку, 1 рак товстої кишки, 1 рак печінки, 2 раки шкіри, 2 раки сечового міхура); Фігура 1K) Символ гена: ZNF679, SAPCD2, пептид: RLLPKVQEV (SEQ ID NO: 325) – тканини зліва направо: 4 лінії клітин (2 зразки клітин крові, 1 нирка, 1 товста кишка), 22 ракові тканини (1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак молочної залози, 1 рак стравоходу, 4 раки товстої кишки, 1 рак прямої кишки, 10 раків легенів, 2 раки яєчника, 1 рак шлунка, 1 рак сечового міхура); Фігура 1L) Символ гена: ZDHHC24, пептид: VLGPGRPPL (SEQ ID NO: 339) – тканини зліва направо: 2 лінії клітин (1 нирка, 1 підшлункова залоза), 19 ракових тканин (4 раки лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак кісткового мозку, 2 раки головного мозку, 1 рак печінки, 2 раки легенів, 6 раків лімфатичних вузлів, 1 рак шкіри, 1 рак матки); Фігура 1M) Символ гена: ORC1, пептид: VYVQILQKL (SEQ ID NO: 111) – тканини зліва направо: 1 нормальна тканина (1 печінка), 32 ракових тканини (2 раки печінки, 24 раки легенів, 6 раків шлунка); Фігура 1N) Символ гена: RIF1, пептид: IYSFHTLSF (SEQ ID NO: 113) – тканини зліва направо: 28 ракових тканин (1 рак передміхурової залози, 1 рак головного мозку, 25 раків легенів, 2 раки шлунка), Фігура 1O) Символ гена: ANKRD5, пептид: RYLNKSFVL (SEQ ID NO: 115) – тканини зліва направо: 1 нормальна тканина (1 шлунок), 25 ракових тканин (1 рак головного мозку, 2 раки печінки, 17 раків легенів, 2 раки передміхурової залози, 3 раки шлунка); Фігура 1P) Символ гена: IGFLR1, пептид: RYGLPAAWSTF (SEQ ID NO: 121) – тканини зліва направо: 20 ракових тканин (2 раки печінки, 17 раків легенів, 1 рак шлунка), Фігура 1Q) Символ гена: CCR8, пептид: VYALKVRTI (SEQ ID NO: 145) – тканини зліва направо: 25 ракових тканин (25 раків легенів), Фігура 1R) Символ гена: CLEC5A, пептид: SYGTVSQIF (SEQ ID NO: 148) – тканини зліва направо: 5 нормальних тканин (1 печінка, 3 легені, 1 гіпофіз), 100 ракових тканин (10 раків головного мозку, 4 раки печінки, 74 раки легенів, 1 рак передміхурової залози, 11 раків шлунка); Фігура 1S) Символ гена: FOXJ1, пептид: IYKWITDNF (SEQ ID NO: 155) – тканини зліва направо: 4 нормальні тканини (4 нирки), 53 ракових тканин (10 раків головного мозку, 1 рак печінки, 26 раків легенів, 1 рак передміхурової залози, 15 раків шлунка); Фігура 1T) Символ гена: IFNG, пептид: KYTSYLAF (SEQ ID NO: 162) – тканини зліва направо: 3 лінії клітин (3 передміхурові залози), 4 нормальні тканини (1 печінка, 1 легеня, 1 підшлункова залоза, 1 шлунок), 95 ракових тканин (1 рак нирки, 5 раків печінки, 71 рак легенів, 2 раки передміхурової залози, 16 раків шлунка); Фігура 1U) Символ гена: KLHL11, пептид: EYFTPLLSGQF (SEQ ID NO: 165) – тканини зліва направо: 10 ракових тканин (10 раків легенів), Фігура 1V) Символ гена:

TMEM189, пептид: LYSPVPFTL (SEQ ID NO: 175) – тканини зліва направо: 42 ракові тканини (4 раки головного мозку, 1 рак печінки, 30 раків легенів, 7 раків шлунка), Фігура 1W) Символ гена: BUB1, пептид: EYNSDLHQFF (SEQ ID NO: 345) – тканини зліва направо: 13 ракових тканин (3 раки головного мозку, 10 раків легенів), Фігура 1X) Символ гена: CASC5, пептид: IYVIPQPHF (SEQ ID NO: 346) – тканини зліва направо: 21 ракова тканина (3 раки головного мозку, 1 рак нирки, 1 рак печінки, 14 раків легенів, 2 раки шлунка), Фігура 1Y) Символ гена: KIF18A, пептид: VYNEQIRDLL (SEQ ID NO: 354) – тканини зліва направо: 13 ракових тканин (1 рак головного мозку, 11 раків легенів, 1 рак шлунка), і Фігура 1Z) Символ гена: PSMA8, PSMA7, пептид: VFSPDGHLLF (SEQ ID NO: 360) – тканини зліва направо: 33 ракові тканини (4 раки печінки, 27 раків легенів, 1 рак передміхурової залози, 1 рак шлунка).

На Фігурах 2 показані типові профілі експресії вихідних генів за цим винаходом, які дуже надмірно або виключно експресуються у різних ракових пухлинах у панелі нормальних тканин (білі стовпчики) і різних ракових зразках (чорні стовпчики). Фігура 2A) Символ гена: MXRA5 – тканини зліва направо: 61 зразок нормальних тканин (6 артерій, 1 головний мозок, 1 серце, 2 печінки, 2 легені, 2 вени, 1 жирова тканина, 1 надниркова залоза, 5 кісткових мозків, 1 хрящ, 1 товста кишка, 1 стравохід, 2 жовчних міхури, 1 нирка, 6 лімфатичних вузлів, 1 підшлункова залоза, 1 гіпофіз, 1 пряма кишка, 1 скелетний м'яз, 1 шкіра, 1 тонка кишка, 1 селезінка, 1 шлунок, 1 тимус, 1 щитоподібна залоза, 5 трахей, 1 сечовий міхур, 1 молочна залоза, 5 яєчників, 3 плаценти, 1 передміхурова залоза, 1 сім'яник, 1 матка) і 70 ракових зразків (10 раків молочної залози, 11 раків легенів, 12 раків яєчника, 11 раків стравоходу, 26 раків підшлункової залози); Фігура 2B) Символ гена: KIF26B – тканини зліва направо: 61 зразок нормальних тканин (6 артерій, 1 головний мозок, 1 серце, 2 печінки, 2 легені, 2 вени, 1 жирова тканина, 1 надниркова залоза, 5 кісткових мозків, 1 хрящ, 1 товста кишка, 1 стравохід, 2 жовчних міхури, 1 нирка, 6 лімфатичних вузлів, 1 підшлункова залоза, 1 гіпофіз, 1 пряма кишка, 1 скелетний м'яз, 1 шкіра, 1 тонка кишка, 1 селезінка, 1 шлунок, 1 тимус, 1 щитоподібна залоза, 5 трахей, 1 сечовий міхур, 1 молочна залоза, 5 яєчників, 3 плаценти, 1 передміхурова залоза, 1 сім'яник, 1 матка) і 58 ракових зразків (10 раків молочної залози, 11 раків легенів, 11 раків стравоходу, 26 раків підшлункової залози); Фігура 2C) Символ гена: IL4I1 – тканини зліва направо: 61 зразок нормальних тканин (6 артерій, 1 головний мозок, 1 серце, 2 печінки, 2 легені, 2 вени, 1 жирова тканина, 1 надниркова залоза, 5 кісткових мозків, 1 хрящ, 1 товста кишка, 1 стравохід, 2 жовчних міхури, 1 нирка, 6 лімфатичних вузлів, 1 підшлункова залоза, 1 гіпофіз, 1 пряма кишка, 1 скелетний м'яз, 1 шкіра, 1 тонка кишка, 1 селезінка, 1 шлунок, 1 тимус, 1 щитоподібна залоза, 5 трахей, 1 сечовий міхур, 1 молочна залоза, 5 яєчників, 3 плаценти, 1 передміхурова залоза, 1 сім'яник, 1 матка) і 34 ракових зразки (11 раків легенів, 12 раків яєчника, 11 раків стравоходу); Фігура 2D) Символ гена: TP63 – тканини зліва направо: 61 зразок нормальних тканин (6 артерій, 1 головний мозок, 1 серце, 2 печінки, 2 легені, 2 вени, 1 жирова тканина, 1 надниркова залоза, 5 кісткових мозків, 1 хрящ, 1 товста кишка, 1 стравохід, 2 жовчних міхури, 1 нирка, 6 лімфатичних вузлів, 1 підшлункова залоза, 1 гіпофіз, 1 пряма кишка, 1 скелетний м'яз, 1 шкіра, 1 тонка кишка, 1 селезінка, 1 шлунок, 1 тимус, 1 щитоподібна залоза, 5 трахей, 1 сечовий міхур, 1 молочна залоза, 5 яєчників, 3 плаценти, 1 передміхурова залоза, 1 сім'яник, 1 матка) і 11 зразків раку стравоходу

На Фігурі 3 показані типові дані дослідження імуногенності: результати проточної цитометрії після пептид-специфічного мультимерного забарвлювання.

На Фігурі 4 показані типові результати відповіді *in vitro* пептид-специфічних CD8⁺ Т-клітин здорового HLA-A*02⁺ донора. CD8-позитивні Т-клітини були примовані з використанням штучних АПК, стимульованих моноклональними антитілами проти CD28 і HLA-A*02 у комплексі з пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 2 (А, ліва частина), пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 9 (В, ліва частина) і пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 331 (С, ліва частина), відповідно. Після трьох циклів стимуляції були проведені визначення клітин, що реагують із пептидом, за допомогою подвійного барвлення мультимерів з А*02/ SEQ ID NO: 2 (А), А*02/ SEQ ID NO: 9 (В) або А*02/ SEQ ID NO: 331 (С). На правих панелях (А,В і С) показане контрольне забарвлювання клітин, стимульованих невідповідними комплексами А*02/пептид. Проводили «гейтування» життєздатних поодиноких клітин на належність до CD8⁺ лімфоцитів. Булеві гейтування допомогли виключити хибнопозитивні відповіді, виявлені за допомогою мультимерів, специфічних до різних пептидів. Наведені частоти виявлення специфічних мультимер-позитивних клітин серед CD8⁺ лімфоцитів.

На Фігурі 5 показані типові результати відповіді *in vitro* пептид-специфічних CD8⁺ Т-клітин здорового HLA-A*24⁺ донора. CD8-позитивні Т-клітини були примовані з використанням штучних АПК, стимульованих моноклональними антитілами проти CD28 і HLA-A*24 у комплексі з пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 99 (А, ліва частина), пептидом з послідовністю SEQ ID

NO: 119 (B, ліва частина), пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 142 (C, ліва частина) і пептидом з послідовністю SEQ ID NO: 174 (D, ліва частина), відповідно. Після трьох циклів стимуляції були проведені визначення клітин, що реагують із пептидом, за допомогою подвійного барвлення мультимерів з A*24/ SEQ ID NO: 99 (A), A*24/ SEQ ID NO: 119 (B), A*24/ SEQ ID NO: 142 (C) або A*24/ SEQ ID NO: 174 (D). На правих частинах (A, B, C і D) показане контрольне забарвлення клітин, стимульованих невідповідними комплексами A*24/пептид. Проводили «гейтування» життєздатних поодиноких клітин на належність до CD8+ лімфоцитів. Булеві гейтування допомогли виключити хибнопозитивні відповіді, виявлені за допомогою мультимерів, специфічних до різних пептидів. Наведені частоти виявлення специфічних мультимер-позитивних клітин серед CD8+ лімфоцитів.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1

Ідентифікація і кількісне визначення рівнів пухлино-асоційованих пептидів, презентованих на поверхні клітин

Зразки тканин

Зразки тканин пухлин пацієнтів були отримані відповідно до письмової інформованої згоди від усіх пацієнтів, наданої до хірургічного видалення тканин або аутопсії. Тканини були заморожені шокним способом безпосередньо після вирізування та зберігались до виділення TUMAP при температурі -70 °C або нижче.

Пептиди були вибрані, якщо виконувалися дві умови: (1) Їх базовий(-и) транскрипт(-и) і (або) екзон(-и) експресується (експресуються) на дуже низькому рівні, тобто вважалося за необхідне, щоб медіана показника кількості зчитувань на кілобазу, у перерахунку на мільйон зчитувань (RPKM), була нижче двох, і 75-й квантиль становив менш ніж 5 для наступних органів: головний мозок, кровоносна судина, серце, печінка, легеня, кров. До того ж, вважалося за необхідне, щоб медіана RPKM була менш ніж 10 для наступних органів: сечовий міхур, слинна залоза, шлунок, надниркова залоза, товста кишка, тонка кишка, селезінка, кістковий мозок, підшлункова залоза, м'яз, жирова тканина, шкіра, стравохід, нирка, щитоподібна залоза, гіпофіз, нерв. (2) Пептид був пухлино-асоційованим, тобто присутнім специфічно чи на пухлинах, або надмірно експресованим у порівнянні з фоновим рівнем зразків нормальних тканин (порівняйте з Прикладом 1).

Кількість зразків для вибору TUMAP, рестрикованих за HLA-A*02, дорівнювала: для раку підшлункової залози N=16, для раку нирки N= 20, для колоректального раку N=28, для карциноми стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення N= 15, для пухлин передміхурової залози N=35, для гепатоцелюлярної карциноми N=16, для недрібноклітинного раку легенів N=88, для раку шлунка N=29, для раку молочної залози N=9, для меланоми N=3, для раку яєчника N=20, для хронічного лімфоцитарного лейкозу N=13 (із 12 донорів), для раку сечового міхура N=5, для раку яєчка N=1, для дрібноклітинного раку легенів N=18 (із 13 донорів), для раку жовчного міхура і холангіокарциноми N=3, для гострого мієлоїдного лейкозу N=5 (із 4 донорів), для гліобластоми N=40 і для раку матки N=5.

Кількість зразків для вибору TUMAP, рестрикованих за HLA-A*24, дорівнювала: для раку шлунка N=44, для пухлин передміхурової залози N=37, для недрібноклітинного раку легенів N=88, для гепатоцелюлярної карциноми N=15, для раку нирки N=2, для колоректального раку N=1 і для гліобластоми N=17.

Виділення пептидів HLA із зразків тканин

Пули пептидів HLA із заморожених шокним способом зразків тканин були одержані імунним осадженням із твердих тканин відповідно до незначно зміненого протоколу (Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999) з використанням HLA-A*02-специфічного антитіла BB7.2, використанням HLA-A, -B, -C-специфічного антитіла W6/32, використанням антитіла L243, специфічного до HLA II класу, використанням CNBr-активованої сефарози, кислотної обробки та ультрафільтрації.

Аналіз методом мас-спектрометрії

Одержані пули пептидів HLA розділялися відповідно до їхньої гідрофобності із використанням зворотно-фазної хроматографії (nanoAcquity UPLC system, Waters), та елюювані пептиди були проаналізовані на гібридному мас-спектрометрі LTQ-velos (ThermoElectron) з джерелом іонів типу електроспрей (ESI). Пептидні пули були завантажені безпосередньо на аналітичну мікрокапілярну колонку з плавленого кварцу (75 мкм в. д. x 250 мм), заповнену зворотно-фазним сорбентом C18 розміром 1,7 мкм (Waters), із застосуванням швидкості потоку 400 нл на хвилину. Згодом пептиди були розділені з використанням двоетапного 180-хвилинного бінарного градієнту з 10% до 33% розчинника В при швидкості потоку 300 нл на хвилину. Градієнт був забезпечений розчинником А (0,1% мурашиної кислоти у воді) та розчинником В (0,1% мурашиної кислоти в ацетонітрилі). Був використаний скляний

капіляр із золотим покриттям (PicoTip, New Objective) для введення в джерело іонів нано-ESI. Мас-спектрометри LTQ-Orbitrap працювали в інформаційно-залежному режимі з використанням стратегії TOP5. Стисло, цикл сканування був ініційований з повним скануванням при високій точності маси на Orbitrap ($R = 30\,000$) з наступними сканами MS/MS також на Orbitrap ($R = 7500$) на 5 найбільш поширених прекурсорних іонах з динамічним виключенням раніше вибраних іонів. Тандемні мас-спектри були інтерпретовані програмою SEQUEST з додатковим контролем в ручному режимі. Ідентифікована пептидна послідовність була підтверджена порівнянням генерованої моделі фрагментації природного пептиду з моделлю фрагментації синтетичного контрольного пептиду з ідентичною послідовністю.

Відносне кількісне визначення на основі даних PX-MS без використання ізотопної мітки здійснювалось підрахунком іонів, тобто екстракцією і аналізом компонентів PX-MS (Mueller et al., 2007). Цей метод базується на припущенні, що площі піків PX-MS сигналів пептиду корелюють з його кількістю у зразку. Екстраговані компоненти були потім піддані обробці методами деконволюції за зарядовими станами і вирівнювання часу утримання (Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008). Нарешті, компоненти PX-MS були піддані обробці методом перехресних посилань з результатами ідентифікації послідовностей з метою об'єднати кількісні дані різних зразків і тканин у профілі презентації пептидів. Кількісні дані пройшли двоярусну нормалізацію відповідно до основної тенденції, з урахуванням варіабельності технічних і біологічних повторних вимірів. Отже, кожний ідентифікований пептид можна зв'язати з кількісними даними, що дозволяє провести відносний кількісний аналіз між зразками і тканинами. Крім того, усі кількісні дані, отримані для пептидів-кандидатів, були перевірені вручну для забезпечення погодженості даних і перевірки точності автоматичного аналізу. Профілі презентації були розраховані для кожного пептиду, які дозволяють оцінити середній рівень презентації у зразку, а також варіацію повторних вимірювань. На профілях зіставляються різні ракові зразки з фоновим рівнем зразків нормальних тканин. Профілі презентації типових надмірно презентованих пептидів показані на Фігурі 1.

У Таблиці 8 (А і Б) і 9 (А і Б) наведені дані щодо презентації вибраних пептидів при різних видах раку, і, отже, особлива значущість згаданих пептидів для діагностики і (або) лікування ракових захворювань як зазначено (наприклад, пептид із послідовністю SEQ ID NO: 1 – для раку сечового міхура, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного раку легенів і раку підшлункової залози, пептид із послідовністю SEQ ID NO: 2 – для раку нирки, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, гліобластоми, ... і таке інше).

Таблиця 8А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів за цим винаходом, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома (8 зразків), ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, лкРПШЗ – лінія клітин раку підшлункової залози, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РЯЧ – рак яєчка, РСМ – рак сечового міхура, РМЕ – рак матки

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
1	HLYNNEEQV	РСМ, РС, ГЦК, НДРЛ, лкРПШЗ
2	ALYGKLLKL	НКК, РС, ГБ, РМЗ, ХЛЛ, РСМ, ГЦК, ДРЛ, НДРЛ, КРК, РЯ, РШ, НХЛ
4	ELAEIVFKV	КРК, ХЛЛ, НДРЛ, ГБ
5	SLFGQEVYC	ГЦК, ГБ, КРК
6	FLDPAQRDL	РСМ, НДРЛ, ГБ, ГМЛ, лкРПШЗ
7	AAAAKVPEV	НДРЛ, ГБ, КРК
8	KLGPFLNLA	РШ, ГБ, лкРПШЗ, НДРЛ,
9	FLGDYVENL	ХЛЛ, КРК, РСМ
10	KTLDVFNIL	ХЛЛ, РШ, РЖМ_ХГК, РС
11	GVLKVFLNV	ГЦК, НДРЛ, РШ, РЯ, РС
12	GLIYEETRGV	РШ, РС, НДРЛ, НХЛ

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів за цим винаходом, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома (8 зразків), ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, лкРПШЗ – лінія клітин раку підшлункової залози, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РЯЧ – рак яєчка, РСМ – рак сечового міхура, РМЕ – рак матки

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
13	VLRDNIQGI	НДРЛ, РЖМ_ХГК, РЯ, РШ, РМЗ, РС, КРК, ГБ, РМЕ, ХЛЛ, НКК, РСМ, ГЦК, МЕЛ, ДРЛ, НХЛ
15	ALGDYVHAC	ГЦК, РШ
16	PLWGVVLY	РЖМ_ХГК, НДРЛ, ГБ, лкРПШЗ, КРК
17	ILHENHIFL	НКК, НДРЛ
19	TLLPTVLT	НКК, РСМ, ДРЛ
20	ALDGHLYAI	НКК, РСМ, РШ
21	SLYHRVLLY	НКК, РС, НДРЛ
22	MLSDTLQL	КРК, РПМЗ, НКК, НДРЛ, РМЗ, РШ, ДРЛ, РПШЗ, РС
23	AQTVVVIKA	РШ
24	FLWNGEDSAL	РПШЗ, КРК
25	IQADDFRTL	РШ
26	KVDGVVIQL	РС, РШ
27	KVFGDLQV	РС, РШ
29	TLCNKTFTA	РПМЗ, ГБ
30	TVIDECTRI	РШ
31	ALSDETKNNWEV	ГМЛ, ХЛЛ
32	ILADEAFFSV	ХЛЛ, РПШЗ, ГБ, РСМ, РПМЗ, КРК, ДРЛ, ГЦК, НКК, РЯ, НДРЛ, МЕЛ, РС, лкРПШЗ, РШ, РМЗ, НХЛ
34	LLPKKTESHKKT	КРК, ГЦК, НДРЛ, ГБ
35	YVLPKLYVKL	ХЛЛ, КРК, НДРЛ, РЖМ_ХГК, РСМ, РС
36	KLYGIEIEV	НДРЛ, ГБ, НКК
37	ALINDILGELVKL	лкРПШЗ, КРК, НКК, ГЦК
38	KMQEDLVTL	НДРЛ, НКК, РЯ, РШ, РЖМ_ХГК, РС, лкРПШЗ, ГБ, РМЗ, РПМЗ, РПШЗ, РМЕ, ГЦК, КРК, ДРЛ, НХЛ
39	ALMAVVSGL	РС, РЖМ_ХГК, ХЛЛ, РМЗ, ГЦК, РСМ, НДРЛ, РЯ, РШ, МЕЛ
40	SLLALPQDLQA	РПМЗ, НДРЛ, КРК, РСМ, РЯ
41	FVLPLVVT	РЯ, РС, ХЛЛ, РПМЗ, ДРЛ, НДРЛ, НХЛ
42	VLSPFILTL	НДРЛ, НКК, РМЗ, РСМ, РЯ, НХЛ
43	LLWAGPVTA	ХЛЛ, ГЦК, КРК, НДРЛ, НКК, РСМ, НХЛ, РЯЧ
44	GLLWQIIKV	КРК, НДРЛ, РШ
45	VLGPTPELV	КРК, ДРЛ, РШ, лкРПШЗ, РПШЗ
46	SLAKHGIVAL	РПШЗ, НДРЛ, КРК, НКК, РЯ, лкРПШЗ, РПМЗ, НХЛ
47	GLYQAQVNL	НДРЛ, ДРЛ
48	TLDHKPVT	РЯ, РПМЗ, НДРЛ
49	LLDESKLTL	РСМ, РЯ, РПМЗ, НДРЛ, НКК
50	EYALLYHTL	КРК, РШ
51	LLLDGDFTL	ДРЛ, ГЦК
52	ELLSSIFFL	РСМ, НДРЛ, КРК, НКК
53	SLLSHVIVA	лкРПШЗ, НКК, РЖМ_ХГК, РСМ, НДРЛ
54	FINPKGNWLL	РСМ, НДРЛ, лкРПШЗ
55	IASAIVNEL	РМЗ, РШ
56	KILDLTRVL	КРК, НДРЛ
57	VLISSTVRL	лкРПШЗ, НКК, ХЛЛ, НХЛ

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів за цим винаходом, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома (8 зразків), ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, лкРПШЗ – лінія клітин раку підшлункової залози, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РЯЧ – рак яєчка, РСМ – рак сечового міхура, РМЕ – рак матки

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
58	ALDDSLTSL	лкРПШЗ, РПШЗ, ГБ
59	ALTKILAEEL	РСМ, НДРЛ
60	FLIDTSASM	РСМ, ДРЛ, НКК
61	HLPDFVKQL	РМЗ, ХЛЛ, РЖМ_ХГК
62	SLFNQEVQI	ХЛЛ, НХЛ
63	TLSSERDFAL	НДРЛ, РШ
66	FITDFYTTV	ГБ
67	GVIETVTSL	НДРЛ, РШ, КРК
68	ALYGFFFKI	РСМ
69	GIYDGILHSI	РМЕ, ГБ
70	GLFSQHFNL	ГЦК, НДРЛ
71	GLITVDIAL	ДРЛ, РПМЗ
72	GMIGFQVLL	РСМ, РЯ, ХЛЛ, ГБ, РЖМ_ХГК
74	ILDETLNV	РСМ, ДРЛ, НХЛ
76	ILLDESNFNHFL	НДРЛ
77	IVLSTIASV	лкРПШЗ, КРК, РПМЗ
81	VLFLGKLLV	КРК, РСМ
82	VLLRVLIL	НДРЛ, РЯЧ
83	ELLEYPQL	РПШЗ, РЖМ_ХГК
84	FLEEEITRV	КРК, РШ
85	STLDGSLHAV	РС, РПМЗ, РЖ
87	YLTEVFLHVV	ХЛЛ, НХЛ
89	YLVAHNLLL	НКК
90	GAVAEVLSSI	ГБ
92	LLRGPPVARA	лкРПШЗ, РПШЗ, НКК, РСМ, РС
93	SLLTQPIFL	НКК, ГЦК
321	SLWFKPEEL	РШ, РМЗ, ХЛЛ, РПШЗ, ГБ, РСМ, РПМЗ, КРК, ДРЛ, ГЦК, МЕЛ, РЯ, НДРЛ, РЖМ_ХГК, РС, лкРПШЗ, НХЛ
322	ALVSGGVAQA	РЖМ_ХГК, РС, РМЗ, ХЛЛ, РСМ, ГЦК, РПШЗ, ДРЛ, НДРЛ, КРК, РЯ, НХЛ
323	ILSVVNSQL	КРК, РШ, РМЗ, РЯ, ХЛЛ, НДРЛ, НХЛ
324	AIFDFCPSV	НДРЛ, КРК, РШ, МЕЛ, ГБ, РС, ХЛЛ
325	RLLPKVQEV	РС, НДРЛ, КРК, ДРЛ, РЯ
326	SLLPLVWKI	НДРЛ, КРК, ГБ, НКК, МЕЛ, ХЛЛ, РЯЧ
327	SIGDIFLKY	РШ, ГБ, КРК, НКК, НДРЛ
328	SVDSAPAAV	ДРЛ, РЯ, РПШЗ, РС, НКК, НДРЛ, РСМ
329	FAWEPSFRDQV	ДРЛ, ГЦК
330	FLWPKEVEL	НДРЛ, РМЗ, ДРЛ, РЯ, ХЛЛ, НХЛ
331	AIWKELISL	ГБ, КРК
332	AVTKYTSAK	ХЛЛ, НДРЛ, МЕЛ, НХЛ
333	GTFLEGVAK	НКК, ХЛЛ, ГЦК
334	GRADALRVL	РМЗ, ДРЛ, ХЛЛ
335	VLLAAGPSAA	РСМ, ХЛЛ, НДРЛ, РШ, лкРПШЗ
336	GLMDGSPHFL	РПШЗ, НДРЛ

Таблиця 8А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів за цим винаходом, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома (8 зразків), ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, лкРПШЗ – лінія клітин раку підшлункової залози, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РЯЧ – рак яєчка, РСМ – рак сечового міхура, РМЕ – рак матки

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
337	KVLGKIEKV	НКК, КРК
339	VLGPGPPPL	НДРЛ, лкРПШЗ, ХЛЛ, НХЛ
340	SVAKTILKR	НДРЛ, РС

У Таблиці 8Б наведені дані щодо презентації вибраних пептидів при додаткових видах ракових захворювань, і, отже, щодо особливої значущості згаданих пептидів для діагностики і (або) лікування ракових захворювань як зазначено.

5

Таблиця 8Б

Зведення даних щодо презентації вибраних пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома, ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, ДГПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РСМ – рак сечового міхура, РМ – рак матки, ПМКГШ – плоскоклітинна карцинома голови та шиї

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
1	HLYNNEEQV	РЖМ_ХГК
2	ALYGKLLKL	лкРПШЗ, РМ, РПМЗ, МЕЛ, ГМЛ
3	TLLGKQVTL	ХЛЛ, НДРЛ, НХЛ, ГМЛ
5	SLFGQEVYC	РЖМ_ХГК, РПМЗ
6	FLDPAQRDL	МЕЛ
7	AAAAKVPEV	МЕЛ, ПМКГШ, НХЛ
8	KLGPFLNLA	РМ, ГЦК
9	FLGDYVENL	РМ, ГМЛ, РЯ, лкРПШЗ
12	GLIYEETRGV	ГМЛ, РМ, ПМКГШ
13	VLRDNIQGI	ГМЛ, ПМКГШ
17	ILHEHHIFL	РМ
18	YVLNEEDLQKV	РМ, НДРЛ
19	TLLPTVLT	РЖМ_ХГК, РМЗ, РМ
22	MLSDLTLQL	МЕЛ
24	FLWNGEDSAL	НДРЛ, РШ, РМ
28	TLYSMDLMKV	ПМКГШ, НКК
32	ILADEAFFSV	ПМКГШ, РМ, ГМЛ, РЖМ_ХГК
33	LLLPLLPPLSPSLG	МЕЛ, НДРЛ, РЖМ_ХГК, РШ, лкРПШЗ, ДРЛ, ГБ, РПШЗ, ККМ, КРК, ГЦК
34	LLPKKTESHHKT	РМ
35	YVLPKLYVKL	ПМКГШ, НХЛ, ГМЛ
36	KLYGIEIEV	РМ
37	ALINDILGELVKL	МЕЛ, РМ

Таблиця 8Б

Зведення даних щодо презентації вибраних пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома, ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, ДГПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РСМ – рак сечового міхура, РМ – рак матки, ПККГШ – плоскоклітинна карцинома голови та шиї

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
38	KMQEDLVTL	МЕЛ, ГМЛ
39	ALMAVVVSG	ПККГШ, НХЛ, РМ, ГМЛ
40	SLLALPQDLQA	РЖМ_ХГК, РМЗ, РМ
41	FVLPLVVTL	ГМЛ, КРК, РМЗ, ПККГШ, РМ
42	VLSPFILTL	ГМЛ, ХЛЛ, РМ
43	LLWAGPVTA	ПККГШ
45	VLGPTPELV	РС, РЖМ_ХГК, РМЗ
46	SLAKHGIVAL	РСМ, ПККГШ, ГБ, ХЛЛ, МЕЛ, РМ, ГЦК
47	GLYQAQVNL	РС
50	EYALLYHTL	РЖМ_ХГК
51	LLLDGDFTL	РС
53	SLLSHVIVA	ГЦК, ГМЛ, РЯ, РС, ПККГШ, МЕЛ, ХЛЛ, НХЛ, РМЗ
54	FINPKGWNLL	РМ, ПККГШ
55	IASAIVNEL	ГЦК, РЖМ_ХГК
56	KILDLTRVL	РЖМ_ХГК
57	VLISSTVRL	МЕЛ
59	ALTKILAE	ГЦК
60	FLIDTSASM	ГМЛ, ХЛЛ, РМЗ, ПККГШ, РМ, НХЛ
61	HLPDFVKQL	МЕЛ, ГМЛ
64	GLSSSSYEL	РЖМ_ХГК, ГЦК
65	KLDGICWQV	РЖМ_ХГК, ГЦК
66	FITDFYTTV	МЕЛ, РСМ, ГЦК, ПККГШ, КРК
67	GVIETVTS	ГМЛ
70	GLFSQHFN	РМЗ, РМ, ПККГШ, РСМ, ГМЛ, РС, лкРПШЗ
71	GLITVDIAL	ГМЛ, МЕЛ, РМ
72	GMIGFQVLL	ПККГШ, ГМЛ
73	GVPDTIATL	РШ
74	ILDETLENV	ГМЛ, РМЗ
75	ILDNVKNLL	ГМЛ
77	IVLSTIASV	ГМЛ
78	LLWGHPRVA	НДРЛ
79	SLVPLQILL	ГЦК
80	TLDEYLTYL	ГЦК
81	VFLGKLLV	ПККГШ
86	LLVTSLVVV	ГЦК, РЖМ_ХГК
88	ILLNTEDLASL	НКК
91	SSLEPQIQPV	МЕЛ, ХЛЛ
93	SLLTQPIFL	РЖМ_ХГК
321	SLWFKPEEL	РМ, ПККГШ, ГМЛ
322	ALVSGGVAQA	ГМЛ, РШ, лкРПШЗ, РМ, МЕЛ
323	ILSVVNSQL	МЕЛ, РЖМ_ХГК, ГМЛ, РС
324	AIFDFCPSV	РМЗ, НХЛ, РМ, ГМЛ, ПККГШ
325	RLLPKVQEV	ГМЛ, РМЗ, РСМ, РШ
326	SLLPLVWKI	ГМЛ

Таблиця 8Б

Зведення даних щодо презентації вибраних пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*02, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, РМЗ – рак молочної залози, КРК – колоректальний рак, НКК – нирковоклітинна карцинома, ХЛЛ – хронічний лімфоцитарний лейкоз, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, ДРЛ – дрібноклітинний рак легенів, НХЛ – неходжкінська лімфома, ГМЛ – гострий мієлоїдний лейкоз, РЯ – рак яєчника, РПШЗ – рак підшлункової залози, ДГПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РС – рак стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РШ – рак шлунка, РСМ – рак сечового міхура, РМ – рак матки, ПККГШ – плоскоклітинна карцинома голови та шиї

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
327	SIGDIFLKY	МЕЛ, ГМЛ
328	SVDSAPAAV	НХЛ, РМЗ, ГМЛ, РМ, ХЛЛ, ПККГШ, МЕЛ
329	FAWEPFRDQV	РЖМ_ХГК
330	FLWPKEVEL	ГМЛ
331	AIWKELISL	МЕЛ, ХЛЛ, НДРЛ
333	GTFLEGVAK	МЕЛ, НДРЛ
334	GRADALRVL	МЕЛ, РЖМ_ХГК, ГМЛ
335	VLLAAGPSAA	ГМЛ, КРК, РМ, НХЛ
336	GLMDGSPHFL	МЕЛ
338	LLYDGLSSA	КРК, РСМ, РЯ
339	VLGPGPPPL	МЕЛ, ГБ, РМ, ГМЛ, ГЦК
340	SVAKTILKR	НХЛ

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
96	LYSPVPFTL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
97	TYTFLKETF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
98	VFPRLHNVLF	ГЦК, НДРЛ, РШ
99	QYILAVPVL	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
100	VYIESRIGTSTSF	ГБ, ГЦК, НДРЛ, РШ
101	IYIPVLPPHL	ГЦК, НДРЛ
102	VYPFENFEF	РШ, НДРЛ
103	NYIPVKNGKQF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
104	SYLTWHQQI	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
105	IYNETITDLL	РШ, ГБ, ГЦК, НДРЛ
106	IYNETVRDLL	РШ, ГБ, НДРЛ
107	KYFPYLVVI	ГЦК, НДРЛ, РШ
109	LFITGGQFF	ГЦК, НДРЛ, РШ
110	SYPKIIEEF	ГБ, ГЦК, НДРЛ, РШ
111	VYVQILQKL	РШ, ГЦК, НДРЛ
112	IYNFVESKL	НДРЛ, РШ
113	IYSFHTLSF	НДРЛ, РШ, ГБ
114	QYLDGTWSL	НДРЛ, РШ, ГБ
115	RYLNKSFVL	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
116	AYVIAVHLF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
117	IYLSDLTYI	ГЦК, НДРЛ, РШ, РПМЗ

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
118	KYLNSVQYI	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
119	VYRVVYVTTTF	НДРЛ, РШ
120	GYIEHFSWL	ГЦК, НДРЛ, РШ
121	RYGLPAAWSTF	ГЦК, НДРЛ, РШ
122	EYQARIPEF	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
123	VYTPVLEHL	НДРЛ, РШ, ГБ, ГЦК
124	TYKDYVDLF	РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
125	VFSRDFGLLVF	РШ, ГЦК, НДРЛ
126	PYDPALGSPSRLF	НДРЛ, РШ, РПМЗ, ГЦК
127	QYFTGNPLF	НДРЛ, РШ, ГБ, НКК, РПМЗ
128	VYPFDWQYI	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
129	KYIDYLMTW	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
130	VYAHYHQHF	НДРЛ, РШ, РПМЗ, ГЦК
131	EYLDRIQQLFF	НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК
132	RYPALFPVL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
133	KYLEDMKTYF	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
134	AYIPTPIYF	РПМЗ, НДРЛ, ГБ
135	VYEAMVPLF	РШ, НДРЛ
136	IYPEWPVVF	РШ
137	EYLHNCSYF	РШ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
138	VYNAVSTSF	НДРЛ, РШ
139	IFGIFPNQF	РПМЗ, НДРЛ
142	VYVDDIYVI	НДРЛ, РШ
143	KYIFQLNEI	ГБ, НДРЛ
144	VFASLPGFLF	НДРЛ, РШ
145	VYALKVRTI	НДРЛ
147	LYLAFPLAF	НДРЛ, РШ, РПМЗ, ГЦК
148	SYGTVSQIF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
149	SYGTVSQI	ГЦК, НДРЛ, ГБ
150	IYITRQFVQF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
151	AYISGLDVF	ГЦК, НДРЛ, РПМЗ
153	VYVPFGGKSMITF	НДРЛ
154	VYGVPTPHF	ГБ, НДРЛ
155	IYKWITDNF	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
156	YYMELTKLLL	НДРЛ, РШ, ГЦК
157	DYIPASGFALF	НДРЛ, ГБ
158	IYEETRGLVKVF	ГЦК, НДРЛ, РШ
159	IYEETRGL	ГЦК, НДРЛ
160	RYGDGGSSF	РПМЗ, НДРЛ, РШ
161	KYPDIVQQF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
162	KYTSYILAF	НДРЛ, РШ, РПМЗ, ГЦК
163	RYLTISNLQF	НДРЛ
165	EYFTPLLSGQF	НДРЛ
166	FYTLPFHII	ГЦК, НДРЛ

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
168	RYLEAALRL	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
169	NYITGKGDVF	НДРЛ, РПМЗ
170	QYPFHVPLL	РШ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
174	VYEKNGYIYF	НДРЛ, ГБ
175	YYTQYSQTI	ГБ, НДРЛ
176	FYINGQYQF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
177	VYFKAGLDVF	РПМЗ, НДРЛ
178	NYSSAVQKF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
179	TYIPVGLGRLL	НДРЛ, РШ
180	KYLQVVGMF	НДРЛ, ГБ
182	AYAQLGYLLF	НДРЛ
183	PYLQDVPRI	НДРЛ, ГБ
186	VFTTSSNIF	НДРЛ, ГБ
187	AYAANVHYL	НДРЛ
188	GKTYFFNEF	НДРЛ
192	RYSTFSEIF	ГЦК, НДРЛ, РШ
194	VYQSLSNSL	НДРЛ
195	AYIKGGWIL	НКК, ГЦК, НДРЛ, РШ
196	GYIRGSWQF	НДРЛ, РШ
197	IFTDIFHYL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
199	SYLNHLNNL	НДРЛ
201	GYNPNRVFF	ГБ, НДРЛ
202	RYVEGIVSL	НДРЛ
204	EYLSTCSKL	НДРЛ, ГЦК
206	NYLDVATFL	НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
207	LYSDAFKFIVF	НДРЛ
209	AFIETPIPLF	НДРЛ
210	IYAGVGEFSF	НДРЛ, РШ
215	SYVASFFLL	РШ, НДРЛ
217	IYISNSIYF	НДРЛ, РШ
221	KYIGNLDLL	НДРЛ, ГБ
223	TFITQSPLL	НДРЛ
225	TYTNTLERL	НДРЛ
226	MYLKLVLQF	ГЦК, РШ
228	IYQYVADNF	НДРЛ
229	IYQFVADSF	НДРЛ
232	YYLSDSPLL	НДРЛ, РШ
234	SYLPAIWLL	РШ
235	VYKDSIYYI	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
236	VYLPKIPSW	ГЦК, НДРЛ
238	SYLEKVRQL	НДРЛ
240	YYFFVQEKI	ГЦК, НДРЛ
243	SYLELANTL	РПМЗ, НДРЛ
248	AFPTFSVQL	НДРЛ
249	RYHPTTCTI	НДРЛ
250	KYPDIASPTF	ГЦК

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
251	VYTKALSSL	НДРЛ, ГЦК
252	AFGQETNVPLNNF	ГЦК
253	IYGFFNENF	ГЦК
254	KYLESSATF	НДРЛ
255	VYQKIILKF	ГЦК
257	IFIDNSTQPLHF	ГЦК
259	YFIKSPPSQLF	НДРЛ, РШ
260	VYMNVMTRL	НДРЛ
261	GYIKLINFI	РШ
262	VYSSQFETI	ГБ
264	LYTETRLQF	НДРЛ
265	SYLNEAFSF	РПМЗ
266	KYTDWTEFL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
268	IFITKALQI	РШ
269	QYPYLQAFF	НДРЛ
271	RFLMKSYSF	ГЦК
274	KQLDIANYELF	НДРЛ, ГБ, ГЦК
275	KYGTLDVTF	НДРЛ
276	QYLDVLHAL	РШ, НКК
277	FYTFPFQQL	РШ, НКК, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
280	TYNPNLQDKL	ГЦК
281	NYSPGLVSLIL	НДРЛ
284	DYLKDPVTI	НДРЛ
285	VYVGDALLHAI	РПМЗ
286	SYGTILSHI	НДРЛ
288	VYPDTVALTF	НДРЛ, РШ
289	FFHEGQYVF	РШ
290	KYGDFKLLEF	РПМЗ, ГБ
295	SYLVIHERI	НДРЛ, РШ
296	SYQVIFQHF	НДРЛ, РШ
297	TYIDTRTVF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
298	AYKSEVVYF	НДРЛ, ГБ
299	KYQYVLNEF	НДРЛ, РШ, ГБ
300	TYPSQLPSL	КРК, РШ
301	KFDDVTMLF	НДРЛ, РШ, ГЦК
303	LYSVIKEDF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
304	EYNEVANLF	ГЦК, НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ
305	NYENKQYLF	НДРЛ, ГБ, ГЦК
306	VYPAEQPQI	НДРЛ
307	GYAFTLPLF	НДРЛ, РШ
308	TFDGHGVFF	НДРЛ, РШ
309	KYYRQTLLF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
310	IYAPTLLVF	РШ, ГБ, НКК, ГЦК, НДРЛ
311	EYLQNLNHI	РПМЗ
312	SYTSVLSRL	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
313	KYTHFIQSF	НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК
314	RYFKGDYSI	ГБ, ГЦК
315	FYIPHVPVSF	ГЦК, НДРЛ
316	VYFEGSDFKF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
317	VFDTIAQLF	ГБ, НКК, ГЦК, НДРЛ, РШ
318	TYSNSAFQYF	РШ, НКК, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
319	KYSDVKNLI	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, ГБ
320	KFILALKVLF	ГЦК, НДРЛ
341	SYLTQHQR	РПМЗ, НДРЛ
343	NYLGGTSTI	РПМЗ, ГЦК, ГБ
344	EYNSDLHQF	ГБ, НКК, ГЦК, НДРЛ, РШ
345	EYNSDLHQFF	ГБ, НДРЛ
346	IYVIPQPHF	НДРЛ, РШ, ГБ, ГЦК
347	VYAEVNSL	ГБ, НДРЛ, РШ
348	IYLEHTESI	РШ, ГЦК, НДРЛ
349	QYSIISNVF	РШ, ГЦК, НДРЛ
350	KYGNFIDKL	НДРЛ, РШ, ГЦК
351	IFHEVPLKF	ГЦК, НДРЛ
352	QYGGDLTNTF	НДРЛ, ГБ
353	TYGKIDLGF	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
354	VYNEQIRDLL	НДРЛ, РШ, ГБ
355	IYVTGGHLF	ГЦК, НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ
356	NYMPGQLTI	НКК, НДРЛ, РШ
357	QFITSTNTF	НДРЛ
358	YYSEVPVKL	НДРЛ, ГБ
359	NYGVLHVTF	НКК, ГЦК, НДРЛ
360	VFSPDGHLF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
361	TYADIGGLDNQI	РПМЗ, НДРЛ, РШ, ГБ, НКК
362	VYNYAEQTL	РШ, ГБ, НДРЛ
363	SYAELGTTI	ГБ, НДРЛ, РШ
365	VFIDHPVHL	НДРЛ, ГБ
366	QYLELAHSL	ГЦК, НДРЛ, РШ
367	LYQDHMQYI	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
368	KYQNVKHNL	НДРЛ, ГЦК
369	VYTHEVVTI	НДРЛ
370	RFIGIPNQF	РПМЗ
371	AYSHLRYVF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
373	GYISNGELF	РПМЗ, ГЦК
375	KYTDYILKI	НДРЛ
376	VYTPVASRQSL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
377	QYTPHSHQF	ГЦК, НДРЛ
378	VYIAELEKI	ГЦК, НДРЛ
380	VYTGIDHHW	НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК

Таблиця 9А

Зведення даних щодо презентації вибраних пухлино-асоційованих пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, для різних пухлин. ГБ – гліобластома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози, РШ – рак шлунка, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома.

SEQ ID NO:	Послідовність	ЗАХВОРЮВАННЯ
382	AYLPPLQQVF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ, НКК, ГБ
383	RYKPGEPITF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
384	RYFDVGLHNF	РШ, ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
385	QYIEELQKF	НДРЛ, ГЦК
386	TFSDVEAHF	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
387	KYTEKLEEI	ГЦК, НДРЛ, ГБ, РПМЗ
388	IYGEKTYAF	ГЦК, НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ
389	EYLPEFLHTF	НДРЛ
390	RYLWATVTI	РШ, ГЦК, НДРЛ,
391	LYQILQGIVF	НДРЛ, РШ, ГБ, НКК, ГЦК
392	RYLDSLKAIVF	НДРЛ, РШ, НКК, ГЦК
393	KYIEAIQWI	ГЦК, НДРЛ
394	FYQPKIQQF	ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, РШ
395	LYINKANIW	НДРЛ, РШ, ГЦК
396	YYHFIFTTL	ГБ
397	IYNGKLFDL	ГБ, НДРЛ, РШ
398	IYNGKLFDLL	КРК, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК, НДРЛ
399	SYIDVLPEF	ГЦК, НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ
400	KYLEKYYNL	НДРЛ
401	VFMKDGFFYF	НДРЛ, РШ, РПМЗ
402	VWSDVTPLTF	НДРЛ, КРК, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК
403	TYKYVDINTF	НДРЛ, РШ
404	RYLEKFYGL	НДРЛ, РШ, ГЦК
405	NYPKSIHSF	НДРЛ
406	TYSEKTTLF	НДРЛ, РШ
407	VYGIRLEHF	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ
408	QYASRFVQL	РШ, ГБ, ГЦК, НДРЛ
409	YFISHVLAFF	РШ, НДРЛ
410	RFLSGIINF	НДРЛ, РШ, ГБ, ГЦК
411	VYIGHTSTI	НДРЛ
412	SYNPLWLRI	ГБ, НКК, ГЦК, НДРЛ, РШ
413	NYLLYVSNF	ГЦК, НДРЛ, РШ
414	MYPYIYHVL	ГЦК, НДРЛ, РШ, ГБ, РПМЗ
415	SYQKVIELF	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, КРК, РШ, НКК, ГБ
416	AYSDBGHFLF	НДРЛ, РШ, НКК, ГБ, РПМЗ, ГЦК
417	VYKVVGNNLL	ГБ, НКК, ГЦК, НДРЛ, РШ

У Таблиці 9Б наведені дані щодо презентації вибраних пептидів при додаткових видах ракових захворювань, і, отже, щодо особливої значущості згаданих пептидів для діагностики і (або) лікування ракових захворювань як зазначено.

Таблиця 9Б

Зведення даних щодо презентації вибраних пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, серед різних видів раку. ГБ – гліобластома, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РШ – рак шлунка.

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
50	EYALLYHTL	РПМЗ, ГЦК, НДРЛ, КРК, РШ, НКК
104	SYLTWHQQI	ГБ
108	PYLVVIHTL	НДРЛ
110	SYPKIIIEEF	РПМЗ
132	RYPALFPVL	НКК
135	VYEAMVPLF	ГЦК
140	RYLINSYDF	НДРЛ
141	SYNGHLTIWF	ГБ
146	NYYERIHAI	НДРЛ
148	SYGTVSQIF	КРК
152	KFFDDLGDLELF	НДРЛ
155	IYKWITDNF	РПМЗ
164	HYVPATKVF	НДРЛ
167	RYGFYYVEF	ГБ
171	NYEDHFPLL	НДРЛ
172	VFIFKGNEF	НДРЛ
173	QYLEKYYNL	НДРЛ
181	VYPPYLYNL	РПМЗ
184	IYSVGAFENF	НДРЛ
185	QYLVHVNDL	ГБ
189	AYFKQSSVF	НДРЛ
190	LYSELTETL	НДРЛ
191	TYPDGTYTGRIF	НДРЛ
193	LYLENNAAQTQF	НДРЛ
198	DYVGFTLKI	НДРЛ
200	VFIHHL PQF	ГЦК
203	VYNVEVKNAEF	НДРЛ
204	EYLSTCSKL	РПМЗ
205	VYPVVLNQI	НДРЛ
208	TYLEKIDGF	НДРЛ
211	VFKSEGAYF	НДРЛ
212	SYAPPSDLF	НДРЛ
213	SYAPPSDLFL	НДРЛ
214	KYLMELTLI	НДРЛ
216	FYVNVKEQF	НДРЛ
218	LYSELN KWSF	НДРЛ
219	SYLKAVFNL	НДРЛ
220	SYSEIKDFL	НДРЛ
222	HYSTLVHMF	НДРЛ
224	PYFFANQEF	ГЦК
227	IYRFITERF	НДРЛ
230	TYGMVMVTF	НДРЛ
231	AFADVSVKF	НДРЛ
233	QYLTAALHNL	НДРЛ

Таблиця 9Б

Зведення даних щодо презентації вибраних пептидів, що зв'язуються з молекулами HLA-A*24, серед різних видів раку. ГБ – гліобластома, КРК – колоректальний рак, НКК – нирково-клітинна карцинома, ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома, НДРЛ – недрібноклітинний рак легенів, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РШ – рак шлунка.

SEQ ID NO:	Послідовність	Презентація пептидів при різних видах раку
237	KYVGQLAVL	ГЦК
239	VYAIFRILL	РШ
241	SYVKVLHHL	ГЦК
242	VYGEPRELL	ГЦК
244	VHFEDTGKTLLF	НДРЛ
245	LYPQLFVVL	РШ
246	KYLSVQLTL	НДРЛ
247	SFTKTSPNF	ГЦК
256	VFGKSAYLF	НДРЛ
258	AYAQLGYLL	НДРЛ
263	RYILENHDF	ГЦК
267	SFLNIEKTEILF	ГЦК
270	YYSQESKVLVYL	ГЦК
272	RYVFPLPYL	НДРЛ
273	IYGEKLQFIF	НДРЛ
278	KYVNLVMYF	НДРЛ
279	VWLPASVLF	НДРЛ
282	NYLVDPVTI	НДРЛ
283	EYQEIFQQL	НДРЛ
287	IYNPNLLTASKF	НДРЛ
291	YYLGSGRETF	НДРЛ, ГБ, РПМЗ, ГЦК
292	FYPQIINTF	НДРЛ
293	VYPHFSTTNLI	ГЦК
294	RFPVQGTVTF	РПМЗ
302	LYLPVHYGF	НДРЛ
342	NYAFLHRTL	НДРЛ
344	EYNSDLHQF	РПМЗ
348	IYLEHTESI	ГБ
350	KYGNFIDKL	РПМЗ
364	KYLNENQLSQL	НДРЛ
372	VYVIEPHSMEF	НДРЛ
374	VFLPRVTEL	НДРЛ
379	VFIAQGYTL	НДРЛ
381	KYPASSSVF	НКК, НДРЛ

ПРИКЛАД 2

Профілі експресії генів, що кодують пептиди за винаходом

- Надмірна презентація або специфічна презентація пептиду пухлинних клітинах у порівнянні з нормальними клітинами є достатньою для можливості його використання в імунотерапії, а деякі пептиди є пухлино-специфічними незважаючи на те, що їхній вихідний білок зустрічається також у нормальних тканинах. Все ж, отримання профілю експресії іРНК додає додатковий рівень безпеки у виборі пептидних мішеней для імунотерапії. Особливо для варіантів терапії з високим ризиком для безпеки, таких як ТКР із дозрілою афінністю, ідеальний пептид буде отриманий з білка, унікального для пухлини і який не виявлений у нормальних тканинах, і високе співвідношення рівнів експресії гена у пухлині і у нормальній тканині свідчить про наявність терапевтичного вікна. Більш того, надмірна експресія вихідних генів у видах пухлин, які ще не були проаналізовані щодо презентації пептидів, свідчить про те, що певний пептид

може бути важливим для відповідного виду пухлин.

Для пептидів за цим винаходом, що зв'язуються з молекулами HLA I класу, було показано, що експресія усіх вихідних генів у нормальній тканині є мінімальною, виходячи з даних RNA-seq, що охоплюють близько 3000 зразків нормальних тканин (Lonsdale, 2013). До того ж, дані генної експресії для пухлин у порівнянні з нормальними тканинами були проаналізовані з метою оцінки цільового охоплення у різних видах пухлин.

Джерела та приготування РНК

Зразки тканин, видалені хірургічним шляхом, були придбані у зазначених вище джерел (див. Приклад 1) після одержання письмової інформованої згоди від кожного пацієнта. Зразки пухлинної тканини були миттєво заморожені в рідкому азоті безпосередньо після хірургічної операції та пізніше гомогенізовані з використанням ступки та товчача під рідким азотом. Тотальна РНК була приготована з цих зразків з використанням реактиву TRI (Ambion, Дармштадт, Німеччина), з наступним очищенням за допомогою RNeasy (QIAGEN, Хільден, Німеччина); обидві методики виконувались за протоколом виробника.

Тотальну РНК із здорових тканин людини для експериментів із секвенування РНК отримували із таких джерел: Asterand (Детройт, США і Royston, Хартфордшир, Велика Британія); Bio-Options Inc. (Брі, Каліфорнія, США); ProteoGenex Inc. (Калвер Сіті, Каліфорнія, США); Geneticist Inc. (Глендейл, Каліфорнія, США); Національний онкологічний інститут «Pascale» (Неаполь, Італія); Університетська клініка Гейдельберга (Гейдельберг, Німеччина), BioCat GmbH (Гейдельберг, Німеччина), BioServe (Белтсвілл, Меріленд, США), Capital BioScience Inc. (Роквілл, Меріленд, США).

Тотальну РНК із пухлинних тканин людини для експериментів із секвенування РНК отримували із таких джерел: Asterand (Детройт, Мічиган, США і Ройстон, Хартфордшир, Велика Британія), Bio-Options Inc. (Брі, Каліфорнія, США), BioServe (Белтсвілл, Меріленд, США), Geneticist Inc. (Глендейл, Каліфорнія, США), ProteoGenex Inc., (Калвер Сіті, Каліфорнія, США), Tissue Solutions Ltd (Глазго, Велика Британія), лікарня Університету Бонна (Бонн, Німеччина), лікарні Університету Гейдельберга (Гейдельберг, Німеччина) лікарні Університету Тюбінгена (Тюбінген, Німеччина).

Якість та кількість усіх зразків РНК були оцінені на біоаналізаторі Agilent 2100 (Agilent, Вальдброн, Німеччина), з використанням комплекту RNA 6000 Pico LabChip Kit (Agilent).

Експерименти з секвенування РНК

Аналіз генної експресії зразків РНК пухлинних і нормальних тканин був виконаний за методикою секвенування «наступного покоління» (RNAseq) компанією CeGaT (Тюбінген, Німеччина). Стисло, бібліотеки секвенування готують з використанням набору реагентів Illumina HiSeq v4 відповідно до протоколу виробника (Illumina Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія, США), який включає РНК-фрагментацію, конверсію у кДНК і додавання адаптерів секвенування. Бібліотеки, отримані із багатьох зразків, змішували у еквімолярних співвідношеннях і секвенували на секвенаторі Illumina HiSeq 2500 відповідно до інструкцій виробника, виконуючи зчитування 50 п. н. з одного кінця. Оброблені зчитування картували на геном людини (GRCh38) з використанням програми STAR. Дані з експресії отримані на рівні транскриптів у вигляді RPKM (кількість зчитувань на кілобазу, у перерахунку на мільйон зчитувань, отримана за допомогою програми Cufflinks) і на рівні екзонів (загальна кількість зчитувань, отримана за допомогою програми Bedtools), на основі ідентифікації за базою даних ensembl щодо послідовностей (Ensembl77). Зчитування за ексонами нормалізують за довжиною екзону і розміром вирівнювання для отримання значень RPKM.

Типові профілі експресії вихідних генів за цим винаходом, які дуже надмірно або виключно експресуються при різних видах раку, показані на На Фігурах 2. Показники експресії для додаткових типових мішеней наведені у Таблицях 10 (А і Б), виходячи з результатів власного аналізу за методикою RNASeq. Дані експресії для інших видів захворювань і додаткові типові пептиди зведені у Таблицю 11, виходячи з даних, отриманих за допомогою дослідницької мережі TCGA: <http://cancergenome.nih.gov/>.

Таблиця 10

Цільові охоплення у різних видах пухлин щодо експресії вихідних генів вибраних пептидів. Надмірна експресія була визначена як більш ніж у 1,5 рази вища експресія на пухлині у порівнянні з відповідною нормальною тканиною, яка демонструє найвищу експресію гена. Надмірна експресія <19% = I, 20–49% = II, 50–69% = III, >70% = IV. Якщо пептид можна отримати із декількох вихідних генів, ген з найменшим охопленням вважався вирішальним. Базовий рівень включав наступні відповідні нормальні тканини: жирову тканину, надниркову залозу, артерію, кістковий мозок, головний мозок, хрящ, товсту кишку, стравохід, жовчний міхур, серце, нирку, печінку, легеню, лімфатичний вузол, підшлункову залозу, гіпофіз, пряму кишку, скелетний м'яз, шкіру, тонку кишку, селезінку, шлунок, тимус, щитоподібну залозу, трахею, сечовий міхур і вену. У випадку, якщо були наявні дані для декількох зразків одного й того самого типу тканини, для розрахунків використовували середнє арифметичне значення для всіх відповідних зразків.

SEQ ID NO:	Послідовність	ГМЛ (N=7)	РМЗ (N=10)	ХЛЛ (N=10)	КРК (N=20)	ГБ (N=24)	ГЦК (N=15)	пНДРЛ (N=11)	РЯ (N=12)	РС (N=11)	РПШЗ (N=26)	НКК (N=10)	ДРЛ (N=10)
2	ALYGKLLKL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
3	TLLGKQVTL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
5	SLFGQEVYC	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
9	FLGDYVENL	I	I	IV	I	III	I	I	I	I	I	I	II
10	KTLDFVNIIL	I	I	IV	I	III	I	I	I	I	I	I	II
11	GVLKVFLENV	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
12	GLIYEETRGV	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
13	VLRDNIQGI	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
14	LLDHLSFINKI	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	III
16	HLYNNEEQV	I	I	I	I	I	IV	I	I	II	I	II	I
17	ILHEHHIFL	I	I	I	II	I	II	II	II	I	II	IV	I
18	YVLNEEDLQKV	I	I	I	II	I	II	II	II	I	II	IV	I
19	TLLPTVLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	IV	I
20	ALDGHLYAI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	IV	I
27	KVFGDLQV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
28	TLYSMDLMKV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
31	ALSDETKNNWEV	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
32	ILADEAFFSV	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
33	LLLPLPLPSLGL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
36	KLYGIEIEV	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
39	ALMAVVSGL	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
42	VLSPFILTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
44	GLLWQIIKV	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I
45	VLGPTPELV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
46	SLAKHGIVAL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
47	GLYQAQVNL	I	I	I	II	II	II	III	I	IV	II	I	II
49	LLDESKLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I
50	EYALLYHTL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I
51	LLLDGDFTL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
52	ELLSSIFFL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	II	II
53	SLLSHVIVA	I	II	I	II	I	I	II	II	II	I	I	II
54	FINPKGWNLL	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I	I
55	IASAIVNEL	I	II	II	I	II	I	II	II	I	I	I	II
59	ALTKILAEI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
63	TLSSERDFAL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	II	I
64	GLSSSSYEL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
65	KLDGICWQV	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
67	GVIETVTSI	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
69	GIYDGILHSI	I	I	I	II	II	II	II	II	II	I	I	II
70	GLFSQHFNL	III	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
73	GVPDTIATL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO:	Послідовність	ГМЛ (N=7)	PM3 (N=10)	ХЛЛ (N=10)	KPK (N=20)	ГБ (N=24)	ГЦК (N=15)	пНДРЛ (N=11)	РЯ (N=12)	РС (N=11)	РПШЗ (N=26)	НKK (N=10)	ДРЛ (N=10)
75	ILDNVKNLL	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
78	LLWGHPRVA	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
79	SLVPLQILL	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
80	TLDEYLTYL	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I
81	VLFLGKLLV	I	I	II	II	III	II	I	II	II	II	II	IV
84	FLEEEITRV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
86	LLVTSLVVV	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
88	ILLNTEDLASL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	II
91	SSLEPQIQPV	I	II	II	I	II	I	I	II	III	I	II	I
322	ALVSGGVAQA	I	III	I	I	I	I	I	III	III	II	I	I
323	ILSVVNSQL	I	I	IV	II	I	I	I	I	I	I	I	I
324	AIFDFCPSV	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
325	RLLPKVQEV	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
327	SIGDIFLKY	I	II	I	III	II	I	IV	III	III	II	I	IV
328	SVDSAPAAV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
329	FAWEPSFRDQV	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
331	AIWKELISL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	III
332	AVTKYTSK	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
334	GRADALRVL	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
335	VLLAAGPSAA	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	II
336	GLMDGSPHFL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
337	KVLGKIEKV	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
338	LLYDGLSSA	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
96	YYTQYSQTI	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
98	VFPRLHNVLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
100	VYIESRIGTSTSF	I	II	I	I	I	I	I	II	II	I	I	II
101	IYIPVLPPHL	I	IV	I	I	I	I	IV	III	III	I	I	I
103	NYIPVKNGKQF	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I
106	IYNETVRDLL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
107	KYFPYLVVI	I	II	I	I	I	I	I	II	III	I	II	I
108	PYLVVIHTL	I	II	I	I	I	I	I	II	III	I	II	I
110	SYPKIIIEF	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I
113	IYSFHTLSF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	III
114	QYLDGTWSL	I	IV	I	II	II	I	IV	II	IV	III	I	II
115	RYLNKSFVL	I	II	I	II	I	I	I	III	I	I	I	II
117	IYLSDLTYI	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
118	KYLNQSVQYI	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
119	VYRVYVTTF	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
121	RYGLPAAWSTF	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
123	VYTPVLEHL	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
124	TYKDYVDLF	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
125	VFSRDFGLLVF	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
126	PYDPALGSPSRLF	I	I	I	II	I	III	I	II	I	I	I	I
127	QYFTGNPLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
132	RYPALFPVL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
135	VYEAMVPLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
138	VYNAVSTSF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
139	IFGIFPNQF	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
140	RYLINSYDF	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	II
141	SYNGHLTIWF	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I
146	NYERIHAL	III	I	IV	I	II	I	II	II	I	I	I	I
147	LYLAFPLAF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
151	AYISGLDVF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	II
152	KFFDDLGDLELF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	II
156	YYMELTKLL	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I	I	IV
157	DYIPASGFALF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO:	Послідовність	ГМЛ (N=7)	PM3 (N=10)	ХЛЛ (N=10)	KPK (N=20)	ГБ (N=24)	ГЦК (N=15)	пНДРЛ (N=11)	РЯ (N=12)	РС (N=11)	РПШЗ (N=26)	НKK (N=10)	ДРЛ (N=10)
158	IYEETRGVLKVF	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
159	IYEETRGVL	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
162	KYTSYILAF	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I
164	HYVPATKVF	I	II	I	I	I	I	IV	IV	III	I	II	II
167	RYGFYYVEF	I	I	I	I	IV	I	III	II	II	I	I	I
171	NYEDHFPLL	I	I	I	I	I	I	I	II	II	I	I	II
172	VFIFKGNEF	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
173	QYLEKYNNL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
174	VYEKNGYIYF	I	II	I	I	I	I	II	I	III	I	I	I
175	LYSPVPFTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
176	FYINGQYQF	III	I	III	I	II	I	II	I	II	I	I	II
177	VYFKAGLDVF	I	II	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I
178	NYSSAVQKF	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I
179	TYIPVGLGRLL	I	I	I	I	I	I	I	III	II	I	I	II
181	VYPPYLNLY	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
182	AYAQLGYLLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
184	IYSVGAFENF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
185	QYLHVHNDL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II	II
189	AYFKQSSVF	II	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
190	LYSELTETL	IV	III	IV	I	II	I	IV	I	I	II	I	IV
191	TYPDGYTGRIF	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
193	LYLENNATQTF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	I
195	AYIKGGWIL	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
198	DYVGFTLKI	I	I	I	I	III	I	II	I	I	I	I	I
203	VYNVEVKNAEF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
204	EYLSTCSKL	II	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	III
205	VYPVVLNQI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
206	NYLDVATFL	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	II
208	TYLEKIDGF	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
210	IYAGVGEFSF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
211	VFKSEGAYF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
212	SYAPPSDLF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
213	SYAPPSDLFL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
214	KYLMELTLI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
216	FYVNVKEQF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
218	LYSELNKWSF	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I
219	SYLKAVFNL	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
220	SYSEIKDFL	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
221	KYIGNLDLL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
222	HYSTLVHMF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
224	PYFFANQEF	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
226	MYLKLVLQF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
227	IYRFITERF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
230	TYGMVMVTF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
231	AFADVSVKF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
233	QYLTAALHNL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
235	VYKDSIYYI	II	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
236	VYLPKIPSW	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
237	KYVGQLAVL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
239	VYAIFRILL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
240	YYFFVQEKI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
241	SYVKVLHHL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
242	VYGEPRELL	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
243	SYLELANTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
244	VHFEDTGKTLFF	I	II	I	I	I	I	II	I	III	I	I	I
245	LYPQLFVVL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I

SEQ ID NO:	Послідовність	ГМЛ (N=7)	PM3 (N=10)	ХЛЛ (N=10)	KPK (N=20)	ГБ (N=24)	ГЦК (N=15)	пНДРЛ (N=11)	РЯ (N=12)	РС (N=11)	РПШЗ (N=26)	НKK (N=10)	ДРЛ (N=10)
246	KYLSVQLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
247	SFTKTSPNF	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
251	VYTKALSSL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III
256	VFGKSAYLF	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
258	AYAQLGYLL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
263	RYILENHDF	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
267	SFLNIEKTEILF	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
270	YYSQESKVLYL	I	II	II	I	II	I	I	III	II	I	I	II
272	RYVFPLPYL	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	I	I
273	IYGEKLQFIF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
274	KQLDIANYELF	I	III	I	I	II	I	I	II	I	I	I	II
276	QYLDVLHAL	I	II	I	I	I	I	I	II	II	I	II	II
277	FYTFPFQQL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
278	KYVNLVMYF	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
279	VWLPAVLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
282	NYLVDPVTI	I	II	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I
283	EYQEIFQQL	I	II	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I
287	IYNPNLLTASKF	I	III	I	I	I	I	I	III	III	I	I	I
291	YYLGSGRETF	I	I	I	I	II	I	II	II	III	I	I	II
292	FYPQIINTF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
293	VYPHFSTTNLI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
294	RFPVQGTVTF	I	IV	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
295	SYLVIHERI	I	I	II	I	II	I	I	III	I	I	I	II
300	TYPSQLPSL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
302	LYLPVHYGF	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	II
304	EYNEVANLF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
307	GYAFTLPLF	I	II	I	II	II	I	I	II	I	I	II	II
308	TFDGHGVFF	I	I	I	II	I	I	I	I	II	I	I	I
309	KYYRQTLLF	I	I	I	I	I	I	I	III	IV	I	II	II
310	IYAPTLLVF	I	II	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
314	RYFKGDYSI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
315	FYIPHPVVSF	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
320	KFILALKVLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
342	NYAFLHRTL	II	I	I	I	I	I	I	II	III	I	I	I
343	NYLGGTSTI	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
344	EYNSDLHQF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
345	EYNSDLHQFF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
348	IYLEHTESI	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
350	KYGNFIDKL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
351	IFHEVPLKF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
352	QYGGDLTNTF	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I	I
353	TYGKIDLGF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
354	VYNEQIRDLL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
355	IYVTGGHLF	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
356	NYMPGQLTI	I	I	I	II	I	I	II	II	I	II	II	I
358	YYSEVPVKL	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
359	NYGVLHVTF	II	I	II	II	II	III	I	I	I	I	II	II
360	VFSPDGHLF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
361	TYADIGGLDNQI	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
363	SYAELGTTI	I	I	I	I	II	I	I	I	II	I	I	I
364	KYLNENQLSQL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III
365	VFIDHPVHL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II
366	QYLELAHSL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	II
367	LYQDHMQYI	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
368	KYQNVKHNL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
371	AYSHLRYVF	I	I	I	IV	III	I	IV	II	IV	III	III	II

SEQ ID NO:	Послідовність	ГМЛ (N=7)	РМЗ (N=10)	ХЛЛ (N=10)	КРК (N=20)	ГБ (N=24)	ГЦК (N=15)	пНДРЛ (N=11)	РЯ (N=12)	РС (N=11)	РПШЗ (N=26)	НKK (N=10)	ДРЛ (N=10)
372	VYVIERPHSMEF	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	II
374	VFLPRVTEL	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
376	VYTPVASRQSL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II
377	QYTPHSHQF	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	III
378	VYIAELEKI	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
379	VFIAQGYTL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	II	II
380	VYTGDHWW	I	II	I	II	I	I	II	III	IV	I	I	III
381	KYPASSSVF	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	III	I
382	AYLPPLQQVF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
383	RYKPGEPITF	II	IV	I	II	I	I	IV	II	II	I	I	II
385	QYIEELQKF	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
386	TFSDVEAHF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
387	KYTEKLEEI	I	I	I	I	IV	I	I	II	I	I	I	III

Таблиця 10Б

Цільові охоплення для вихідних генів вибраних пептидів. Надмірна експресія була визначена як більш ніж у 1,5 рази вища експресія на пухлині у порівнянні з відповідною нормальною тканиною, яка демонструє найвищу експресію гена. Надмірна експресія <19% = I, 20–49% = II, 50–69% = III, >70% = IV. Якщо пептид можна отримати із декількох вихідних генів, ген з найменшим охопленням вважався вирішальним. Базовий рівень включав наступні відповідні нормальні тканини: жирову тканину, надниркову залозу, артерію, кістковий мозок, головний мозок, хрящ, товсту кишку, стравохід, жовчний міхур, серце, нирку, печінку, легеню, лімфатичний вузол, підшлункову залозу, гіпофіз, пряму кишку, скелетний м'яз, шкіру, тонку кишку, селезінку, шлунок, тимус, щитоподібну залозу, трахею, сечовий міхур і вену. У випадку, якщо були наявні дані для декількох зразків одного й того самого типу тканини, для розрахунків використовували середнє арифметичне значення для всіх відповідних зразків. НХЛ – неходжкінська лімфома, РПМЗ – рак передміхурової залози і доброякісна гіперплазія передміхурової залози, РШ – рак шлунка, РЖМ_ХГК – аденокарцинома жовчного міхура і холангіокарцинома, МЕЛ – меланома, РСМ – рак сечового міхура, РМ – рак матки, ПККГШ – плоскоклітинна карцинома голови та ший.

SEQ ID NO:	Послідовність	НХЛ (N=10)	РПМЗ (N=10)	РШ (N=11)	РЖМ_ХГК (N=10)	МЕЛ (N=10)	РСМ (N=10)	РМ (N=10)	ПККГШ (N=10)
2	ALYGKLLKL	I	I	I	I	I	I	I	I
3	TLLGKQVTL	I	I	I	I	I	I	I	I
4	ELAEIVFKV	I	I	I	I	I	I	I	II
9	FLGDYVENL	I	I	I	I	I	I	I	I
12	GLIYEETRGV	II	II	I	I	II	I	I	I
13	VLRDNIQGI	II	II	I	I	II	I	I	I
19	TLLPTVLT	I	I	I	I	I	III	I	I
32	ILADEAFFSV	II	I	I	I	II	I	I	I
34	LLPKKTESHK	II	I	I	I	I	I	I	I
35	YVLPKLYVKL	I	I	I	I	I	I	I	I
37	ALINDILGELVKL	I	I	I	I	I	I	I	I
39	ALMAVVSG	II	I	I	I	I	I	I	I
41	FVLPLVVT	I	I	I	I	I	I	I	I
42	VLSPFIL	I	I	I	II	I	II	I	II
45	VLGPTPELV	I	I	II	II	I	I	I	I
46	SLAKHGIVAL	I	I	I	I	I	I	II	I
47	GLYQAQVNL	I	I	I	II	IV	II	I	III
51	LLLDGDF	I	I	I	I	I	I	I	I
53	SLLSHVIVA	III	I	I	II	I	I	II	I
55	IASAIVNEL	II	I	I	II	I	I	I	I
60	FLIDTSASM	I	I	I	I	I	I	I	I
61	HLPDFVKQL	I	I	I	I	I	I	I	I
70	GLFSQHFN	I	I	I	II	I	II	III	II

SEQ ID NO:	Послідовність	НХЛ (N=10)	РГМЗ (N=10)	РШ (N=11)	РЖМ_ХГК (N=10)	МЕЛ (N=10)	PCM (N=10)	PM (N=10)	ПККГШ (N=10)
96	YYTQYSQTI	I	I	I	II	I	I	I	II
98	VFPRLHNVLF	I	I	I	I	I	I	I	I
99	QYILAVPVL	I	I	I	I	I	I	I	I
100	VYIESRIGTSTSF	I	I	I	I	II	I	I	I
101	IYIPVLPPHL	III	III	I	III	I	II	III	III
103	NYIPVKNGKQF	I	I	I	I	I	I	I	I
104	SYLTWHQQI	I	I	I	I	I	I	I	I
105	IYNETITDLL	I	I	I	I	I	I	I	I
110	SYPKIIIEF	II	I	I	I	I	I	I	I
113	IYSFHTLSF	I	I	I	I	I	I	I	II
114	QYLDGTWSL	II	I	II	IV	IV	III	IV	III
116	AYVIAVHLF	I	I	I	I	I	I	I	I
117	IYLSDLTYI	II	I	I	I	I	I	I	I
118	KYLNSVQYI	II	I	I	I	I	I	I	I
119	VYRVYVTF	I	I	I	I	I	I	II	I
121	RYGLPAAWSTF	I	I	I	I	I	I	I	I
123	VYTPVLEHL	II	I	I	I	II	I	I	I
124	TYKDYVDLF	II	I	I	I	II	I	I	I
126	PYDPALGSPSRLF	I	II	II	II	I	I	III	I
127	QYFTGNPLF	I	I	I	I	I	I	I	I
128	VYPFDWQYI	I	I	I	I	I	I	I	I
132	RYPALFPVL	I	I	I	I	I	I	I	I
135	VYEAMVPLF	I	I	I	I	I	I	I	I
144	VFASLPGFLF	III	I	I	I	I	I	I	I
145	VYALKVRTI	II	I	I	II	II	II	I	II
147	LYLAFPLAF	I	I	I	I	I	I	I	I
150	IYITRQFVQF	I	I	I	I	II	I	I	I
151	AYISGLDVF	I	I	I	I	I	I	I	III
155	IYKWITDNF	I	I	I	I	I	I	II	I
156	YYMELTKLLL	II	I	I	II	I	I	I	I
158	IYEETRGLVKVF	II	II	I	I	II	I	I	I
161	KYPDIVQQF	II	I	I	I	I	I	I	I
162	KYTSYILAF	II	I	I	II	I	I	I	I
163	RYLTISNLQF	I	I	I	I	I	I	I	I
165	EYFTPLLSGQF	I	I	I	I	I	I	I	I
166	FYTLPFHLI	I	I	I	I	I	I	I	I
168	RYLEAALRL	I	I	I	I	II	I	I	I
170	QYPFHVPLL	III	I	I	I	I	I	I	I
171	NYEDHFPLL	I	I	II	I	IV	II	I	II
172	VFIFKGNEF	I	I	I	I	I	I	I	I
175	LYSPVPFTL	I	I	I	II	I	I	I	II
176	FYINGQYQF	I	II	I	I	I	I	I	II
177	VYFKAGLDVF	I	III	I	II	I	II	II	I
178	NYSSAVQKF	I	III	I	I	II	I	I	I
179	TYIPVGLGRLL	I	I	I	I	I	I	III	II
180	KYLQVVGMF	I	I	I	I	I	I	I	I
191	TYPDGTYTGRIF	II	I	I	I	I	I	I	I
195	AYIKGGWIL	I	I	I	I	I	I	I	I
197	IFTDIFHYL	I	I	I	I	I	I	I	I
204	EYLSTCSKL	II	II	I	I	I	I	IV	II
206	NYLDVATFL	I	I	I	I	I	I	II	I
235	VYKDSIYYI	IV	I	I	I	I	I	I	I
277	FYTFPFQQL	I	I	I	I	I	I	I	II
291	YYLGSGRETF	I	I	I	II	II	II	III	III
296	SYQVIFQHF	I	I	I	I	I	I	I	II
297	TYIDTRTVF	I	I	I	I	I	I	III	I

SEQ ID NO:	Послідовність	НХЛ (N=10)	РГМЗ (N=10)	РШ (N=11)	РЖМ_ХГК (N=10)	МЕЛ (N=10)	PCM (N=10)	PM (N=10)	ПККГШ (N=10)
304	EYNEVANLF	I	III	I	I	I	I	I	I
307	GYAFTLPLF	I	II	I	I	I	I	II	I
309	KYYRQTLLF	I	I	I	I	I	I	II	I
312	SYTSVLSRL	II	I	I	I	II	I	I	I
316	VYFEGSDFKF	II	I	I	I	I	I	I	I
317	VFDTSLAQLF	I	I	I	I	I	I	I	I
318	TYSNSAFQYF	I	I	I	I	I	I	I	I
319	KYSDVKNLI	I	I	I	I	I	I	I	I
326	SLLPLVWKI	I	I	I	I	I	I	I	I
327	SIGDIFLKY	I	I	II	III	I	I	III	II
328	SVDSAPAAV	II	I	I	I	I	I	I	I
330	FLWPKEVEL	II	I	I	I	I	I	I	I
331	AIWKELISL	I	I	I	I	I	I	I	II
332	AVTKYTSK	I	I	I	I	I	I	I	I
333	GTFLEGVAK	I	I	I	I	I	I	I	I
334	GRADALRVL	I	I	I	I	I	I	I	I
335	VLLAAGPSAA	III	I	I	I	I	I	I	I
342	NYAFLHRTL	I	I	I	I	I	II	I	I
343	NYLGGTSTI	I	IV	I	I	I	I	II	I
344	EYNSDLHQF	II	I	I	I	I	I	I	I
345	EYNSDLHQFF	II	I	I	I	I	I	I	I
347	VYAEVNSL	I	I	I	I	I	I	I	I
348	IYLEHTESI	I	I	I	I	I	I	I	I
350	KYGNFIDKL	I	I	I	I	I	I	I	I
352	QYGGDLTNTF	I	I	I	II	I	II	I	I
353	TYGKIDLGF	II	I	I	I	I	I	I	I
354	VYNEQIRDLL	I	I	I	I	I	I	I	I
355	IYVTGGHLF	I	I	I	II	I	II	I	II
356	NYMPGQLTI	I	I	II	II	I	I	I	I
359	NYGVLHVTF	IV	I	I	I	II	I	I	I
360	VFSPDGHLF	II	I	I	I	I	I	I	I
361	TYADIGGLDNQI	I	I	I	I	I	I	I	I
362	VYNYAEQTL	I	I	I	I	I	I	I	I
363	SYAELGTTI	I	I	I	I	I	I	I	I
365	VFIDHPVHL	I	I	I	I	I	I	I	I
366	QYLELAHSL	I	I	I	I	I	I	I	I
367	LYQDHMQYI	I	I	I	I	I	I	I	I
371	AYSHLRYVF	I	I	III	II	I	IV	I	II
376	VYTPVASRQSL	II	I	I	II	I	II	I	I
380	VYTGDHWW	II	I	I	II	I	I	I	II
383	RYKPGEPITF	II	III	I	III	I	II	III	II
386	TFSDVEAHF	II	I	I	I	I	I	I	I
387	KYTEKLEEI	I	I	I	I	I	I	I	I

Таблиця 11

Цільові охоплення у різних видах пухлин щодо експресії вихідних генів вибраних пептидів. Ген вважали надмірно експресованим, якщо рівень його експресії у зразку пухлини був більш ніж у 2 рази вищим за найвищий 75% процентиль рівнів експресії, визначених для зразків наступних нормальних органів (прилеглих до пухлин): пряма кишка (n=10), стравохід (n=11), сечовий міхур (n=19), нирка (n=129), шлунок (n=35), товста кишка (n=41), голова та шия (n=43), печінка (n=50), легеня (n=51), щитоподібна залоза (n=59), легеня (n=59).

Категорії надекспресії позначали «А» ($\geq 50\%$ пухлин вище порогового значення), «В» ($\geq 20\%$ пухлин вище порогового значення, але $< 50\%$) і «С» ($\geq 5\%$ пухлин вище порогового значення, але $< 20\%$).

АКК – адренкортикальна карцинома (N=79), УКСМ – уротеліальна карцинома сечового міхура (N=408), ГНСЗ – гліома низького ступеня злоякісності (N=534), ПКШМ – плоскоклітинна карцинома шийки матки і ендодермальна аденокарцинома (N=307), АКШ – аденокарцинома шлунка (N=415), ХГК – холангіокарцинома (N=36), МЕЗО – мезотеліома (N=87), ХКН – хромофобна карцинома нирки (N=66), АКПЗ – аденокарцинома передміхурової залози (N=498), ДВВЛ – лімфоїдне новоутворення дифузна В-великоклітинна лімфома (N=48), ФХПГ – феохромоцитома і парагангліома (N=184), ПНKKH – папілярна нирково-клітинна карцинома нирки (N=291), МШ – меланома шкіри (N=473), САРК – саркома (N=263), КЩЗ – карцинома щитоподібної залози (N=513), ТИМ – тимома (N=120), КСМ – карциносаркома матки (N=57), ЕКМ – ендометріальна карцинома матки (N=546), УВМ – увеальна меланома (N=80), ГГПЯ – герміногенні пухлини яєчка (N=156), ПККГШ – плоскоклітинна карцинома голови та шиї (N=521)

SEQ CD NO:	АКК (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККГШ (N = 521)	ХКН (N = 66)	ПНKKH (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЩЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
16		C	C	C		C		C													
2																					
3																					
4		B	C		B	B							C		C	A			C	C	
5																					
6																					
8	C								C			C									
9																					
10																					
11	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
12	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
13	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
1		C	B		B	C							C	C	B	A		B	C	B	
17							B	A		C				C	C		A				B
18							B	A		C				C	C		A				B
21											C	B									
22											C	B									
24			C												C				C		
27													C								
28													C								
29															C						
30															C						
31		C	C			B							C	C	B	B				B	C
32		C	C			B							C	C	B	B				B	C
34		C	C		B										C	B		B	B	C	
35																			B		
36				C				C	B	C	C		C								
37																					
38											C										
39				C	B										C						
40		C	C	A		C				C	C				C	A	A	C	B	A	
42		A	A		B	B	B	C		C			C	C	C		C	A	C		

SEQ CD NO:	AKK (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ M (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН N = 66	ПНKK H (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
45															В						
47		С	С	С	С	В				С			С	В	С	С				С	
48	С															С				С	
49																					
51				С								С			С						
52						С															
53																					
54		С	С	С		С									С		С	С			
55																С					
56													С								
58			С																В	С	
60	С	С			В					С	С			С				С			
61																					
62					В								С	С		С		С			
63																					
64				С																	
65																					
66						С			В		А		С	С	С	С		С			
67							В					С	В								
68		С																			
69																С					
70		В	В	С		В		В					С	С	С	А		В	А	А	
72	С	С							В		С	В	С	С		В		С	С	С	
74					А											А		А			
75																		В			
76						С															
78	С		С			С				В			В		В		С	С		С	
79																С					
80																					
81	С	С	С	С		С		С	С			С			С			С			
84											А										
86																					
87					С							С									
88				С							А									В	
90	С							С					В	А		С					А
91			С	С												С				С	
92		В	С			С		С					С	С					С		
321	В	В	С	С	В	В		С	А	В	В	С	В	В		С		В	В	В	В
323					В																
325		С	В		С	В			А			С			В	С			В	С	
326														А			С	С			С
327		В	А	С		А				С			В	С	А	А			В	В	
328		С	В		С	С							С		В	А		С	С	В	
329																					
330		С	С	С	А				С	С	А			С	С	А		А	С	С	
331																В					
332	С	В	А	В	В	В	С			В		А	В	В	В	А	С	В	А	В	В
334					А								С	С		С		С			
335		В	А	С	А	С				С		С	С	В	В	С		А	В	С	
336																					
340					В		В								С						
175		С	С			В							С		С						
97																С		В			
98					С	С								В	С	В					
100	С	В	А		С	В				В			В	В	В	А		В	В	А	
101																					

SEQ CD NO:	AKK (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ M (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН N = 66	ПНKK H (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
103																					
104																					
105		B	A		B	B							B	C	A	B		B	C	B	
106		B	A		A	B							B	B	C	A		A	B	A	
107			C			B															
108			C			B															
110		B	A		A	C				C			C	B	C	A		B	B	B	
111		C	A		B	B							C	C	C	A		B	C		
112		C	A		B	B							C	C	C	A		B	C		
113																B					
114		C		B	C	C			C	C			B	B	B	C		C	C	C	C
115															C						
116								B	B		A	B	C			B	A	B	C	C	
117				C	B										C						
118				C	B										C						
119		C																			
121					A								C	C		C		C			
122																					
123		C	C			B							C	C	B	B				B	C
124		C	C			B							C	C	B	B				B	C
125		C	C			B							C	C	B	B				B	C
126			C							C	C	B	C		B	B			B		
127																				C	
128					C							B				C					
129					B		B								C						
130					B		B								C						
131	B																				
132													C		C						
133						C															
134					B				C			B	C	C		B		A	C	B	B
135						C	C								C	C					
136															C						
137																					
138		B	A	C	B	B			C				C	C	A	A		B	C	B	
139							B					C	B								
140																					
141																					
142		C	B		B	B			C				B	C	A	A		C	C		
144					C										C						
145					C	C									C	C		B			
146					B										C						
147															C						
148										C											
149										C											
150														C			A				
151			C			A			B												
152			C			A			B												
153																					
155			C																B	C	
156	C	C	A		A	B							C	C	C	B		B	C	C	
157	B								B		C							C			
158	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
159	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
161					C													B			
162		C	B		A	C				C			C	B	C	B		C	C		
164		B	B	C	A	B		B		B			B	B	B	A	C	C	A	B	

SEQ CD NO:	AKK (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН (N = 66)	ПНKK (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
165															C						
166															C						
167									C				C	B							
168		C								C			B		C	C			C	A	
169																					
170			C	C	A	C				C			C	C	C	B		B			
171		B	C			C								B	C	C			C	C	
172		C	B			A						C							C	C	
173		C	B			A						C							C	C	
174		B	B		C	A				C			B	B	C	C	C	C		C	
96	C		C			C				B			B		B		C	C		C	
176																					
177												B									
178									A			C		C							
180		C		A				C	B	A	C		C		C	C		C	C	C	
181	C						B						C						A	C	
182								C													
183																	C		C		
184																					
185	C							C		C			C						C		
186													C	C	C					C	
187	C		C			C			A			C	C		C	C		C	C	C	
188		C	B	B		B				B					B	B					
189																					
190																					
191					A								C	C		C					
192									B				C	B	C	A			C	B	C
193			C			B															
194		B	A	C	A	B			C	B			B		B	A		A	B	B	
195																					
196																					
197															C						
198									C												
199		C	B			B											C	C			
200												A									
202			C																		
203	C	C	A		C	C			C	C	C		B	C		A		C	C	B	
204																					
205									C											C	
206						C									C						
207			C			C	C		C												
208						C			C					B	C	A					C
209														B	B	C					
210		B	A		B	B			C	C			B	B	B	A		B	B	B	
211	B	B	A		B	C			C	C			A	B	B	A		B	B	A	
212														C			C				
213														C			C				
214		B	A		B	B				C			B	C	B	A		A	C	B	
216	C	B	A		B	B			C				B	B	C	B		B	C	B	
217														C							
218		C						C													
219		C	C																C	C	
220															C			B			
221	B												C						C		
222	B												C						C		
223												C									

SEQ CD NO:	AKK (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ M (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН N = 66	ПНKK H (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
224																В					
225	С								С				С			С				С	
226	С	В	А	С	А	В							В	В	А	А		С	В	В	
227			С													С				С	
228							А														
229						С										А					
230	В								В		С							С			
231	В								В		С							С			
232	С	В	А	С	А	В			С	С			В	А	В	А		А	В	А	
233		В	С			В															
234		С	С												С	С			С		
235					А											С					
236																					
237	С	А	А	С	А	А			С	В			В	А	А	А		А	В	А	
238		С	С			В				С			С					В			
240								С	С					С		В					
241	С	В	С			С							С	А	В	С			С	С	
242	С	С				С					С		С	В	С	В				С	
243						С								С							
244		В	В		С	А				С			В	В	С	С	С	С		С	
247		С	С	С			А														
249						С														В	
250	С								А	С	С		В	В		С		С		В	
251	С	В	А	С	А	В			С	С			А	В	В	А		А	В	А	
253		С								В	В		С			С	С	С		С	
255														С		В					
256				С											В				С		
258								С													
259			С	С								С			В				В		
262	С								В				С				В				
263																В					
264		С	А			С							С		С				В	С	
265																		С			
266					С				В												
267				С								С			С						
268																					
269		С	А	А		С		В		С			В		В		С	В	С	С	
270														С		С					
271															С	А					
272												В			С			С	С		
273	С	С	В		А	С			С				С	С	В	А		А	С	В	
274				С						С			С								
276														А		С				С	А
277		С			С										С				С		
278		В										С			С				С		
279						С															
282																С		С	С		
283																С		С	С		
284																С					
285													С								
286														В		С			С		В
287																					
288	С	С	В		В	С			С				В	С	В	А		А	С	В	
289															С					С	
291			С			С							С			С			С	В	
292									С		С		С							В	

SEQ CD NO:	AKK (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ M (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН N = 66	ПНKK H (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
293									C		C		C							B	
294		C										C				C					
295																B				C	
296			C			C	C		C												
297				C				C		C			B			C			C	C	
298													C								
300									A		A		B			A				B	
301									C				C								
302							B														
304																					
305		C	B		C	A										B			C		
306	C		C	C	B				B				C			C	C	B	C	C	
307				C									C	C	C				C	C	
309				B										C	C	C					
312														C							
313	C																				C
314							B														
315				C																	
316																C					
317																B					C
319					B																
320	C	B	B		B	B							B	B	B	A		C	C	A	
341									B				C							C	
342		C	C		C	C													C		
343								C				B									
344		B	B		A	B				C			B	B	A	A		B	B	A	
345		B	B		A	B				C			B	B	A	A		B	B	A	
346		C	B		B	B			C				B	C	A	A		C	C		
347																					C
348		B	A		A	C				C			C	B	C	A		B	B	B	
349															C	B					
350															C	C					
351																					
352		C	C	C		C									C		C	C			
353	C	B	A	C	A	A			C	B			B	B	A	A		B	B	A	
354	C	B	A	C	B	B				B			B	B	A	A		B	B	A	
355		A	A		B	B	B	C		C			C	C	C		C	A	C		
356							C	B							C						
357		C	B	C	C	C				B					C				A	C	
358	C		C			C				B			B		B		C	C		C	
359	C				B									C						C	
360		C	C		B	C							C	C						B	
361		C	C		C					C			C			B		C	B	C	
363		C	C	C		C			B						C						
364		B	A	C	C	B							B	C	A	A		C	B	C	
365									C												
366	C	B	A	C	B	B							C	B	A	A		C	B	A	C
367																					
368																C					
369	C	B	A		B	B							B	C	B	C		B	B	B	
371						C		B					C		C						
372		B	A	C	A	C				C		C	C	B	B	C		A	B	C	
373									C												
374		C	C			B							C	C	B	B				B	C
375										B			C								
376		C	C		C	C				C			C	B	C	B					

SEQ CD NO:	АКК (N = 79)	УКСМ (N = 408)	ПКШ М (N = 307)	ХГК (N = 36)	ДВВЛ (N = 48)	ПККПШ (N = 521)	ХКН N = 66	ПНKK H (N = 291)	ГНСЗ (N = 534)	МЕЗО (N = 87)	ФХПГ (N = 184)	АКПЗ (N = 498)	САРК (N = 263)	МШ (N = 473)	АКШ (N = 415)	ГГПЯ (N = 156)	КЦЗ (N = 513)	ТИМ (N = 120)	ЕКМ (N = 546)	КСМ (N = 57)	УВМ (N = 80)
377	C												C								
378		C	A			C								C	C	C			C	C	
379						C															
380		C	C			C							C	C	C	B			C	B	C
382																C					
383																					
385				C	B										C						
386			C		C	C							C		B	B			C	C	
387									B		B		C	C		C					
388						C															
389		C	B			B											C	C			
390	C	B	A	C	B	B				A			B	B	A	A		B	C	B	
391	C	B	A		B	B							B	C	B	C		B	B	B	
392	B	B	A	C	B	B				C		A	B	B	B	A		B	C	B	
393														C			A				
394		B	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	B	
395													C		C	B					
396									A		B		C	C							C
397		A	A	C	A	A			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
398		A	A	C	A	A			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
399							B	A		C				C	C		A				B
400		B	B		B	A				C			C	C	A				C	C	
401		B	B		B	A				C			C	C	A				C	C	
402	C	A	A	A	C	A	C	A		A	C	C	A	B	A	B	B	B	A	A	
403		C	B		B	B									B	B					
404		C	B		B	B									B	B					
405		C	B		B	B									B	B					
406		C	B	C	C	C				B					C				A	C	
407	C	A	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
408		B	A		B	B							B	C	B	A		B	B	B	
409		B	A		B	B							C	C	B	B		B	C		
410	C	A	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
412	C	B	A	C	B	B				A			B	B	A	A		B	C	B	
413															C						
414									A				C			C					
415	C	C	B		C	C			C				C	B	B	C		C	C	C	
416									C												
417	C	B	A	B		B				C			B	B	A	A			B	B	

ПРИКЛАД 3

Імуногенність *in vitro* презентованих МНС I класу пептидів

- Щоб отримати інформацію стосовно імуногенності TUMAP за цим винаходом, автори винаходу провели дослідження з використанням примування Т-клітин *in vitro* на основі повторної стимуляції CD8+Т-клітин штучними антиген-презентуючими клітинами (штучними АПК), навантаженими комплексами пептид/МНС і антитілами проти CD28. У такий спосіб була показана імуногенність TUMAP за цим винаходом, рестрикованих за HLA-A*02:01, що продемонструвало, що ці пептиди є епітопами Т-клітин, проти яких в організмі людини існують попередники CD8+Т-клітин (Таблиця 9).

Примування CD8+Т-клітин *in vitro*

- Для проведення стимуляції *in vitro* штучними антиген-презентуючими клітинами, завантаженими комплексом пептид-МНС (pMHC) та антитілами проти CD28, спочатку були виділені CD8+Т-клітини зі свіжих продуктів лейкофезу HLA-A*02 шляхом позитивного відбору з використанням анти-CD8 мікрогранул (Miltenyi Biotec, Бергш-Гладбах, Німеччина) здорових донорів, отриманих із Клініки Університету міста Мангейм, Німеччина, після одержання інформованої згоди.

МКПК і виділені CD8+-лімфоцити інкубували аж до використання в Т-клітинному середовищі (TCM), що складається з RPMI-Glutamax (Invitrogen, Карлсруе, Німеччина) з додаванням 10 %

термічно інактивованої АВ-сироватки людини (PAN-Biotech, Ейденбах, Німеччина), 100 Од/мл пеніциліну/100 мкг/мл стрептоміцину (Cambrex, Кельн, Німеччина), 1 мМ пірувату натрію (CC Pro, Обердорла, Німеччина), 20 мкг/мл гентаміцину (Cambrex). Цитокини у концентраціях 2,5 нг/мл ІЛ-7 (PromoCell, Гейдельберг, Німеччина) та 10 Од/мл ІЛ-2 (Novartis Pharma, Нюрнберг, Німеччина) також додавалися до ТСМ на цьому етапі культивування.

Приготування міросфер, покритих рМНС і антитілами проти CD28, Т-клітинні стимуляції та зчитування виконувалися у добре вивченій системі *in vitro* з використанням чотирьох різних молекул рМНС для кожної стимуляції і 8 різних молекул рМНС для кожної умови зчитування.

Очищені костимулювальні антитіла мишачого IgG2a проти CD28 людини Ab 9.3 (Jung et al., 1987) були хімічно біотинільовані за допомогою сульфо-N-гідроксисукцинімідобіотину, як рекомендовано виробником (Perbio, Бонн, Німеччина). Використовували полістирольні гранули діаметром 5,6 мкм, покриті стрептавідином (Bangs Laboratories, Іллінойс, США).

рМНС, використаними як позитивний і негативний контроль, були A*0201/MLA-001 (пептид ELAGIGILTV (SEQ ID NO. 418) з модифікованого Melan-A/MART-1) та A*0201/DDX5-001 (YLLPAIVHI з DDX5 (SEQ ID NO. 419), відповідно).

У 96-лункові планшети вносили 800 000 мікрогранул/200 мкл у присутності $4 \times 12,5$ нг різних біотинільованих комплексів рМНС, промивали та додавали 600 нг біотинільованих антитіл проти CD28 в об'ємі 200 мкл. Стимуляція була проведена в планшетах на 96 лунок шляхом спільного інкубування 1×10^6 CD8+Т-клітин із 2×10^5 промитих мікрогранул з покриттям у 200 мкл ТСМ з доданням 5 нг/мл ІЛ-12 (PromoCell) протягом 3 днів за температури 37 °С. Половина середовища була потім замінена свіжим ТСМ з доданням 80 Од/мл ІЛ-2, та інкубування продовжували 4 дні за 37 °С. Цей цикл стимуляцій був виконаний загалом три рази. Для зчитування з рМНС-мультимерів з використанням 8 різних молекул рМНС для кожної умови зчитування застосовувалося двомірне структурне кодування як описано раніше (Andersen et al., 2012) з невеликими модифікаціями, які стосуються зв'язування з п'ятьма різними флуорохромами. Нарешті, був проведений аналіз мультимерів за допомогою забарвлювання клітин барвником для визначення їхньої життєздатності Live/dead у близькому ІК-діапазоні (Invitrogen, Карлсруе, Німеччина), клону антитіл CD8-FITC SK1 (BD, Гейдельберг, Німеччина) і флуоресцентних рМНС-мультимерів. Для аналізу використовували цитометр BD LSRII SORP, обладнаний відповідними лазерами і фільтрами. Пептидо-специфічні клітини були розраховані як відсоток від загальної кількості CD8-позитивних клітин. Оцінка результатів мультимерного аналізу була виконана за допомогою комп'ютерної програми FlowJo (Tree Star, Орегон, США). Примування *in vitro* специфічних мультимер-позитивних CD8+ лімфоцитів було визначене порівнянням зі стимуляціями негативних контролів. Імуногенність для даного антигену визначалася, якщо було виявлено, що принаймні одна оцінювана *in vitro* стимульована лунка одного здорового донора містить специфічні CD8+Т-клітини після стимуляції *in vitro* (тобто коли ця лунка містила хоча б 1 % специфічних мультимер-позитивних серед CD8+Т-клітин та відсоток специфічних мультимер-позитивних клітин був принаймні в 10 разів більше медіанного значення стимуляцій відповідних негативних контролів).

Імуногенність *in vitro* для пептидів різних видів раку

Для перевірених пептидів HLA І класу імуногенність *in vitro* можна продемонструвати генерацією пептидо-специфічних Т-клітинних ліній. Типові результати цитометрії після TUMAP-специфічного мультимерного забарвлення для 2 пептидів за винаходом показані на Фігурі 3, разом із відповідними негативними контролями. Результати для 5 пептидів за винаходом зведені у Таблицю 12А. Типові результати проточної цитометрії після TUMAP-специфічного мультимерного забарвлення для 7 пептидів за винаходом показані на Фігурах 4 і 5, разом із відповідними негативними контролями. Результати для 74 пептидів за винаходом зведені у Таблицю 12Б.

Таблиця 8А

Імуногенність in vitro пептидів HLA класу I за винаходом
 Типові результати експериментів по визначенню імуногенності
 in vitro, проведених подавцем заявки, для пептидів за винаходом.
 <20 % = +; 20 % – 49 % = ++; 50 % – 69 % = +++; >= 70 % = ++++

Seq ID	Послідовність	лунки
393	KYIEAIQWI	++
399	SYIDVLPEF	++
400	KYLEKYYNL	++
407	VYGIRLEHF	+++
414	MYPYIYHVL	++

Таблиця 12Б

Імуногенність in vitro пептидів HLA класу I за винаходом
 Типові результати експериментів по визначенню імуногенності
 in vitro, проведених подавцем заявки, для пептидів за винаходом.
 <20 % = +; 20 % – 49 % = ++; 50 % – 69 % = +++; >= 70 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Позитивні лунки [%]
2	ALYGKLLKL	++++
7	AAAAKVPEV	+
8	KLGPFLNA	+++
9	FLGDYVENL	+
17	ILHEHHIFL	+
43	LLWAGPVTA	++++
322	ALVSGGVAQA	+
331	AIWKELISL	++
96	YYTQYSQTI	+
98	VFPRLHNVLF	+
99	QYILAVPVL	+++
102	VYPFENFEF	+++
103	NYIPVKNGKQF	+
104	SYLTWHQQI	+
105	IYNETITDLL	+
106	IYNETVRDLL	+
107	KYFPYLVVI	++
109	LFITGGQFF	++
110	SYPKIIIEF	++
111	VYVQILQKL	+
112	IYNFVESKL	+++
114	QYLDGTWSL	+++
115	RYLNKSFVL	+
119	VYRVYVTTF	+++
120	GYIEHFSLW	++
122	EYQARIPEF	++
132	RYPALFPVL	+
137	EYLNCSYF	+
139	IFGIFPNQF	++
140	RYLINSYDF	+++
142	VYVDDIYVI	++++
144	VFASLPGLF	++
155	IYKWITDNF	++
156	YYMELTKLLL	+
157	DYIPASGFALF	+

Таблиця 12Б

Імуногенність in vitro пептидів HLA класу I за винаходом
 Типові результати експериментів по визначенню імуногенності
 in vitro, проведених подавцем заявки, для пептидів за винаходом.
 <20 % = +; 20 % – 49 % = ++; 50 % – 69 % = +++; >= 70 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Позитивні лунки [%]
158	IYEETRGVLKVF	+
160	RYGDGGSSF	+
161	KYPDIVQQF	+
162	KYTSYLAF	+
163	RYLTISNLQF	+
164	HYVPATKVF	+
166	FYTLPFHLI	++++
167	RYGFYYVEF	++++
168	RYLEAALRL	+++
170	QYPFHVPLL	+++
171	NYEDHFPLL	++
172	VFIFKGNEF	+
174	VYEKNGYIYF	++++
175	LYSPVPFTL	+
177	VYFKAGLDVF	+
179	TYIPVGLGRLL	+++
180	KYLQVVGMF	+
181	VYPPYLYNL	++++
182	AYAQLGYLLF	+++
186	VFTTSSNIF	+
190	LYSELTETL	++++
277	FYTFPFQQL	+++
344	EYNSDLHQF	+
345	EYNSDLHQFF	++
349	QYSIISNVF	++
350	KYGNFIDKL	+++
351	IFHEVPLKF	++
353	TYGKIDLGF	+
354	VYNEQIRDLL	+
356	NYMPGQLTI	+
358	YYSEVPVKL	++++
359	NYGVLHVTF	+
360	VFSPDGHLF	++
363	SYAELGTTI	+
365	VFIDHPVHL	+
366	QYLELAHSL	++
367	LYQDHMQYI	++
371	AYSHLRYVF	++
380	VYTGIDHHW	+

ПРИКЛАД 4

Синтез пептидів

- 5 Усі пептиди були синтезовані стандартним і широко використовуваним методом твердофазного синтезу пептидів за стратегією Fmoc. Ідентичність і чистоту кожного окремого пептиду визначали методами мас-спектрометрії і аналітичної ЗФ-ВЕРХ. Пептиди одержували у вигляді білих або брудно-білих ліофілізатів (солей фторацетатів) чистотою >50 %. Усі TUMAP переважно вводять у вигляді трифторацетатних солей або ацетатних солей, використання
- 10 інших солей також можливе.

ПРИКЛАД 5

Аналіз зв'язування з МНС

Пептиди-кандидати для Т-клітинної терапії за цим винаходом були додатково перевірені на здатність зв'язуватися з МНС (афінність). Окремі комплекси пептид-МНС були отримані УФ-індукованим обміном лігандів, за якого УФ-чутливі пептиди розщеплюються під дією УФ-випромінювання, і аналізується продукт обміну з пептидом, що вивчається. Тільки пептиди-кандидати, які здатні ефективно зв'язуватися з пептид-сприйнятливими молекулами МНС і стабілізувати їх, попереджають дисоціацію комплексів із МНС. Для визначення виходу реакції обміну проводили аналіз методом ELISA на основі виявлення легких ланцюгів ($\beta 2m$) стабілізованих комплексів із МНС. Аналіз проводили згідно з загальним описом у роботі Rodenko і співавт. (Rodenko et al., 2006).

96-лункові планшети MAXISorp (NUNC) були покриті протягом ночі розчином 2 мкг/мл стрептавідину у PBS при кімнатній температурі, 4 рази промиті і заблоковані протягом 1 год. при 37 °C у 2 % розчині БСА, що містить блокувальний буфер. Ренатуровані мономери HLA-A*02:01/MLA-001 використовувались як стандарти, охоплюючи діапазон 15–500 нг/мл. Мономерні комплекси пептид-МНС, продукти реакції обміну, що протікає під дією УФ-випромінювання, розводили у 100 разів у блокувальному буфері. Зразки інкубували протягом 1 год. за температури 37 °C, промивали чотири рази, інкубували з 2 мкг/мл кон'югованих із пероксидазою хрину антитіл проти $\beta 2m$ протягом 1 год. за температури 37 °C, знову промивали і визначали з розчином ТМБ, реакцію зупиняли за допомогою NH_2SO_4 . Поглинання вимірювали при 450 нм. Пептиди-кандидати, що демонстрували високий вихід реакції обміну (переважно вище 50 %, найбільш переважно вище 75 %) є зазвичай переважними для синтезу і продукції антитіл або їх фрагментів і (або) рецепторів Т-клітин або їх фрагментів, оскільки вони показують достатню авідність до молекул МНС і попереджають дисоціацію комплексів МНС.

Таблиця 13

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу Зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*02 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
1	PLWGGKVFYL	++
2	ALYGKLLKL	+++
3	TLLGKQVTL	+++
4	ELAEIVFKV	+++
5	SLFGQEVYC	+++
6	FLDPAQRDL	+++
7	AAAAKVPEV	+++
8	KLGPFLNLA	+++
9	FLGDYVENL	++
10	KTLDVFNIL	++
11	GVLKVFLNV	++
12	GLIYEETRGV	++
13	VLRDNIQGI	+++
14	LLDHLSFINKI	++
16	HLYNNEEQV	++
17	ILHEHHIFL	+++
18	YVLNEEDLQKV	+++
19	TLLPTVLT	+++
20	ALDGHLYAI	+++
21	SLYHRVLLY	++++
22	MLSDLTLQL	++++
23	AQTVVVIKA	+
24	FLWNGEDSAL	+++
25	IQADDFRTL	++
26	KVDGVVIQL	+++
27	KVFGDLQDV	+++
28	TLYSMDLMKV	+++
29	TLCNKTFTA	+++

Таблиця 13

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*02 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
31	ALSDETKNNWEV	++++
32	ILADEAFFSV	+++
33	LLLPLLPPLSPSLG	+++
35	YVLPKLYVKL	++
36	KLYGIEIEV	++++
37	ALINDILGELVKL	+++
38	KMQEDLVTI	+++
39	ALMAVVSGI	+++
40	SLLALPQDLQA	+++
41	FVLPLVVTI	+++
42	VLSPFILTI	+++
43	LLWAGPVTA	+++
44	GLLWQIIKV	++
45	VLGPTPELV	+++
46	SLAKHGIVAL	+++
47	GLYQAQVNI	+++
48	TLDHKPVTV	++
49	LLDESKLTI	+++
50	EYALLYHTI	++
51	LLLDGDFTI	+++
52	ELLSSIFFI	+++
53	SLLSHVIVA	+++
54	FINPKGNIWLL	+++
55	IASAIVNEL	++
56	KILDLTRVI	++
57	VLISSTVRI	++
58	ALDDSLTSL	++
59	ALTKILAEL	+++
60	FLIDTSASM	++
61	HLPDFVKQL	++
62	SLFNQEVQI	+++
63	TLSSERDFAL	+
64	GLSSSSYEL	++
65	KLDGICWQV	+++
66	FITDFYTTV	+++
67	GVIETVTSL	++
69	GIYDGILHSI	+++
70	GLFSQHFNI	+++
71	GLITVDIAL	+++
72	GMIGFQVLL	+++
74	ILDETLENI	++
75	ILDNVKNLL	+++
76	ILLDESNFNHFL	+++
77	IVLSTIASV	+++
78	LLWGHPRVA	+++
79	SLVPLQILL	++++
80	TLDEYLTYL	+++
81	VLFLGKLLV	++
82	VLLRVLIL	++

Таблиця 13

Показники зв'язування з молекулами МНС І класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA І класу, з HLA-A*02 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
83	ELLEYPQL	+++
84	FLEEEITRV	+++
85	STLDGSLHAV	+++
87	YLTEVFLHVV	+++
88	ILLNTEDLASL	+++
89	YLVAHNLLL	+++
90	GAVAEVLSSI	+
91	SSLEPQIQPV	+
92	LLRGPPVARA	++
93	SLLTQPIFL	+++
321	SLWFKPEEL	+++
322	ALVSGGVAQA	+++
323	ILSVVNSQL	+++
324	AIFDFCPSV	++++
325	RLLPKVQEV	++
326	SLLPLVWKI	+++
327	SIGDIFLKY	+++
328	SVDSAPAAV	++
329	FAWEPSFRDQV	++
330	FLWPKEVEL	+++
331	AIWKELISL	+++
333	GTFLEGVAK	+++
334	GRADALRVL	+++
335	VLLAAGPSAA	++
336	GLMDGSPHFL	++
337	KVLGKIEKV	+++
338	LLYDGKLSSA	++
339	VLGPGPPPL	++
340	SVAKTILKR	++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС І класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA І класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
96	YYTQYSQTI	++++
97	TYTFLKETF	++++
98	VFPRLHNVLF	+++
99	QYILAVPVL	++++
100	VYIESRIGTSTSF	+++
102	VYPFENFEF	+++
103	NYIPVKNGKQF	+++
104	SYLTWHQQI	++++
105	IYNETITDLL	+++
106	IYNETVRDLL	+++
107	KYFPYLVVI	+++
108	PYLVVIHTL	+++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
109	LFITGGQFF	++++
110	SYPKIIEEF	+++
111	VYVQILQKL	+++
112	IYNFVESKL	+++
113	IYSFHTLSF	+++
114	QYLDGTWSL	++++
115	RYLNKSFVL	+++
116	AYVIAVHLF	++++
117	IYLSDLTYI	+++
118	KYLNSVQYI	+++
119	VYRVYVTTF	+++
120	GYIEHFSLW	++++
121	RYGLPAAWSTF	+++
122	EYQARIPEF	+++
123	VYTPVLEHL	++
124	TYKDYVDLF	+
125	VFSRDFGLLVF	+++
127	QYFTGNPLF	+++
128	VYPFDWQYI	++++
129	KYIDYLMTW	++++
131	EYLDRIQLFF	+++
132	RYPALFPVL	++++
133	KYLEDMKTYF	+++
134	AYIPTPIYF	+++
135	VYEAMVPLF	++++
136	IYPEWPVVFF	+++
137	EYLHNCSYF	++++
138	VYNAVSTSF	++
139	IFGIFPNQF	+++
140	RYLINSYDF	++++
141	SYNGHLTIWF	+++
142	VYVDDIYVI	+++
143	KYIFQLNEI	+++
144	VFASLPGFLF	++++
145	VYALKVRTI	+++
146	NYYERIHAI	+++
147	LYLAFPLAF	+++
148	SYGTVSQIF	++++
149	SYGTVSQI	++++
152	KFFDDLGDLELF	++
153	VYVPFGGKSMITF	++++
154	VYGVPTPHF	++++
155	IYKWITDNF	++++
156	YYMELTKLLL	++++
157	DYIPASGFALF	+++
158	IYEETRGLKVF	+++
159	IYEETRGLV	+++
160	RYGDGGSSF	+++
161	KYPDIVQQF	+++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
162	KYTSYLAF	++
163	RYLTISNLQF	++++
164	HYVPATKVF	+++
165	EYFTPLLSGQF	+++
166	FYTLPFHLI	++++
167	RYGFYYVEF	+++
168	RYLEAALRL	+++
169	NYITGKGDVF	+++
170	QYPFHVPLL	++++
171	NYEDHFPLL	+++
172	VFIFKGNEF	++++
173	QYLEKYYNL	++++
174	VYEKNGYIYF	+++
175	LYSPVPFTL	+++
176	FYINGQYQF	+++
177	VYFKAGLDVF	+++
178	NYSSAVQKF	+++
179	TYIPVGLGRLL	+++
180	KYLQVVGMF	+++
181	VYPPYLNLY	+++
182	AYAQLGYLLF	++++
183	PYLQDVPRI	+++
184	IYSVGAFENF	++++
185	QYLVHVNDL	++++
186	VFTTSSNIF	++++
187	AYAANVHYL	++++
188	GKTFNEF	+++
190	LYSELTETL	+++
191	TYPDGTYGRIF	+++
192	RYSTFSEIF	+++
193	LYLENNAQTQF	+++
194	VYQSLSNSL	+++
195	AYIKGGWIL	+++
196	GYIRGSWQF	++++
197	IFTDIFHYL	++++
198	DYVGFTLKI	++
199	SYLNHLNNL	+++
200	VFIHHLPQF	+++
201	GYNPNRVFF	+++
202	RYVEGIVSL	+++
204	EYLSTCSKL	+++
205	VYPVVLNQL	+++
206	NYLDVATFL	++++
207	LYSDAFKFIVF	+++
208	TYLEKIDGF	++++
209	AFIETPIPLF	++++
210	IYAGVGEFSF	++++
211	VFKSEGAYF	++++
212	SYAPPSEDLF	++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
213	SYAPPEDLFL	++
214	KYLMELTLI	+++
215	SYVASFFLL	++
216	FYVNVKEQF	+++
217	IYISNSIYF	++++
218	LYSELNKWSF	+++
219	SYLKAVFNL	+++
220	SYSEIKDFL	++++
221	KYIGNLDLL	++++
223	TFITQSPLL	++++
224	PYFFANQEF	+++
225	TYTNTLERL	+++
226	MYLKLVLQF	++
227	IYRFITERF	+++
228	IYQYVADNF	+++
229	IYQFVADSF	+++
230	TYGMVMVTF	+++
231	AFADVSVKF	++++
232	YYLSDSPLL	+++
233	QYLTAALHNL	+++
234	SYLPAIWLL	+++
235	VYKDSIYYI	+++
236	VYLPKIPSW	+++
237	KYVGQLAVL	+++
239	VYAIFRILL	+++
240	YYFFVQEKI	+++
241	SYVKVLHHL	+++
242	VYGEPRELL	+++
243	SYLELANTL	+++
244	VHFEDTGKTLLF	+++
245	LYPQLFVVL	+++
246	KYLSVQLTL	++
247	SFTKTSPNF	+++
248	AFPTFSVQL	++++
249	RYHPTTCTI	++++
250	KYPDIASPTF	++
251	VYTKALSSL	+++
252	AFGQETNVPLNMF	++++
253	IYGFFNENF	+++
254	KYLESSATF	+++
255	VYQKIILKF	+++
256	VFGKSAYLF	+++
257	IFIDNSTQPLHF	+++
258	AYAQLGYLL	+++
259	YFIKSPPSQLF	++
260	VYMNVMTRL	++++
261	GYIKLINFI	++++
262	VYSSQFETI	++++
263	RYILENHDF	+++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
264	LYTETRLQF	++++
265	SYLNEAFSF	++++
266	KYTDWTEFL	+++
267	SFLNIEKTEILF	++
268	IFITKALQI	++
269	QYPYLQAFF	+++
270	YYSQESKVLYL	+++
271	RFLMKSYSF	++++
272	RYVFPLPYL	++++
273	IYGEKLQFIF	+++
274	KQLDIANYELF	++++
275	KYGTLDVTF	++++
276	QYLDVLHAL	++++
277	FYTFPFQQL	+++
279	VWLPASVLF	+++
280	TYNPNLQDKL	++++
281	NYSPGLVSLIL	+++
282	NYLVDPVTI	+++
283	EYQEIFQQL	+++
284	DYLKDPVTI	+++
285	VYVGDALLHAI	+++
286	SYGTILSHI	++++
287	IYNPNLLTASKF	+++
288	VYPDTVALTF	++
289	FFHEGQYVF	++++
290	KYGDFKLLEF	++++
291	YYLGSGRETF	+++
292	FYPQINTF	++++
293	VYPHFSTTNLI	++++
294	RFPVQGTVTF	+++
295	SYLVIHERI	+++
296	SYQVIFQHF	++++
297	TYIDTRTVF	++++
298	AYKSEVVYF	++++
299	KYQYVLNEF	+++
300	TYPSQLPSL	+++
301	KFDDVTMLF	++++
302	LYLPVHYGF	+++
303	LYSVIKEDF	+++
304	EYNEVANLF	+++
305	NYENKQYLF	++++
306	VYPAEQPQI	+++
307	GYAFTLPLF	+++
308	TFDGHGVFF	+++
309	KYYRQTLLF	++
310	IYAPTLLVF	+++
311	EYLQNLNHI	++++
312	SYTSVLSRL	+++
313	KYTHFIQSF	++++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС І класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA І класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
314	RYFKGDYSI	+++
315	FYIPHVPVSF	+++
316	VYFEGSDFKF	+++
317	VFDTSIAQLF	+++
318	TYSNSAFQYF	+++
319	KYSDVKNLI	++++
341	SYLTQHQR	+++
342	NYAFLHRTL	+++
343	NYLGGTSTI	+++
344	EYNSDLHQF	+++
345	EYNSDLHQFF	+++
347	VYAEVNSL	+++
348	IYLEHTESI	+++
349	QYSIISNVF	+++
350	KYGNFIDKL	+++
351	IFHEVPLKF	+++
352	QYGGDLTNTF	+++
353	TYGKIDLGF	+++
354	VYNEQIRDLL	+++
355	IYVTGGHLF	+++
356	NYMPGQLTI	++++
357	QFITSTNTF	++++
358	YYSEVPVKL	+++
359	NYGVLHVTF	++++
360	VFSPDGHLF	+++
361	TYADIGGLDNQI	+++
362	VYNYAEQTL	++
363	SYAELGTTI	++
364	KYLNENQLSQL	+++
365	VFIDHPVHL	++++
366	QYLELAHSL	+++
367	LYQDHMQYI	++
368	KYQNVKHNL	+++
369	VYTHEVVTL	+++
370	RFIGIPNQF	+++
371	AYSHLRYVF	++
372	VYVIEPHSMEF	+++
373	GYISNGELF	+++
374	VFLPRVTEL	++
375	KYTDYILKI	+++
376	VYTPVASRQSL	+++
377	QYTPHSHQF	+++
378	VYIAELEKI	+++
379	VFIAQGYTL	++++
380	VYTGIDHHW	++++
381	KYPASSSVF	+++
382	AYLPPLQQVF	+++
383	RYKPGEPITF	+++
384	RYFDVGLHNF	+++

Таблиця 14

Показники зв'язування з молекулами МНС I класу зв'язування пептидів, рестрикованих за молекулами HLA I класу, з HLA-A*24 було класифіковане за виходом реакції обміну пептидів: <20 % = +; 20 % - 49 % = ++; 50 % - 75 % = +++; >= 75 % = ++++

Seq ID	Послідовність	Обмін пептидів
385	QYIEELQKF	+++
386	TFSDVEAHF	+++
387	KYTEKLEEI	+++
388	IYGEKTYAF	+++

ПРИКЛАД 6

Абсолютне кількісне визначення рівнів пухлино-асоційованих пептидів, презентованих на поверхні клітин

Отримання зв'язувачів, таких як антитіла і (або) ТКР, є трудомістким процесом, який можна провести лише для обмеженої кількості вибраних мішеней. У випадку пухлино-асоційованих і пухлино-специфічних пептидів критерії вибору включають, але не обмежуються ними, винятковість презентації і щільність пептиду, презентованого на поверхні клітини. На додаток до виділення і відносного кількісного визначення пептидів, як описано у Прикладі 1, автори цього винаходу проаналізували абсолютну кількість копій пептиду на одну клітину як описано. Підрахунок числа копій пептиду TUMAP на одну клітину в зразках солідних пухлин потребує абсолютного кількісного визначення пептидів TUMAP, визначення ефективності виділення TUMAP і числа клітин на зразку тканини, що аналізується.

Кількісне визначення пептидів методом наноPX-МС/МС

Для точного кількісного визначення пептидів методом мас-спектрометрії для кожного пептиду була побудована калібрувальна крива з використанням методу внутрішнього стандарту. Внутрішнім стандартом є подвійно мічений ізотоп версії кожного пептиду, тобто дві мічені ізотопом амінокислоти були введені під час синтезу TUMAP. Він відрізняється від пухлино-асоційованого пептиду лише своєю масою, але не має відмінностей у інших фізико-хімічних властивостях (Anderson et al., 2012). Внутрішній стандарт вводили як стандартну добавку у кожний зразок для МС, і усі МС сигнали були нормалізовані відносно МС сигналу внутрішнього стандарту для згладжування можливих технічних флуктуацій між результатами МС вимірювань.

Калібрувальні криві були зняті принаймні у трьох різних матрицях, тобто елюатах пептиду HLA з природних зразків, подібних до звичайних зразків для МС, і кожний препарат пройшов вимірювання у двох прогонах на мас-спектрометрі. Для оцінки МС сигнали були нормалізовані відносно сигналу внутрішнього стандарту, а калібрувальну криву розраховували методом логістичного регресійного аналізу.

Для кількісного визначення пухлино-асоційованих пептидів із зразків тканини у відповідні зразки також вводили внутрішній стандарт як стандартну добавку; здійснювали нормалізацію МС сигналів відносно сигналу внутрішнього стандарту і кількісне визначення за допомогою калібрувальної кривої пептиду.

Ефективність виділення комплексів пептид/МНС

Як і для кожного процесу очищення білків, виділення білків із зразків тканини пов'язано з певними втратами білка, що вивчається. Для визначення ефективності виділення TUMAP були отримані комплекси пептид-МНС для всіх пептидів TUMAP, вибраних для абсолютного кількісного визначення. Щоб розрізнити комплекси пептид-МНС, до яких вводили стандартні добавки, і комплекси з природними пептидами, були використані версії TUMAP із однократним міченням ізотопом, тобто одна мічена ізотопом амінокислота була введена під час синтезу TUMAP. Ці комплекси були додані як стандартні добавки до свіжеприготованих лізатів тканин, тобто у найранішій можливій точці процедури виділення TUMAP, а потім уловлені у вигляді комплексів природний пептид-МНС у подальшому афінному очищенні. Таким чином, вимірювання ступеня вилучення однократно мічених TUMAP дозволяє зробити висновки щодо ефективності виділення індивідуальних природних TUMAP.

Ефективність виділення аналізували на низькій кількості зразків, і її значення були зіставні для цих зразків тканин. Навпаки, ефективність виділення індивідуальних пептидів є різною. Це наводить на думку, що ефективність виділення, хоча й визначена лише у невеликій кількості

зразків тканин, можна екстраполювати на будь-який інший тканинний препарат. Однак є необхідним аналізувати кожний TUMAP індивідуально, оскільки ефективність виділення неможливо екстраполювати з одного зразка на інші.

Визначення числа клітин у твердій замороженій тканині

Щоб визначити число клітин у зразках тканин, для яких проводили підрахунок абсолютної кількості пептиду, автори винаходу застосували аналіз вмісту ДНК. Цей метод є застосовним до широкого діапазону зразків різного походження і, що найбільш важливо, до заморожених зразків (Alcoser et al., 2011; Forsey and Chaudhuri, 2009; Silva et al., 2013). Під час стандартної процедури виділення пептидів із зразка тканини отримували гомогенний лізат, із якого відбирали невелику аліквоту. Аліквоту ділили на три частини, із яких виділяли ДНК (набір QiaAmp DNA Mini, Qiagen, Хільден, Німеччина). Сумарний вміст ДНК у кожному зразку виділеної ДНК кількісно визначали флуоресцентним методом кількісного визначення ДНК (набір для кількісного визначення Qubit dsDNA HS, Life Technologies, Дармштадт, Німеччина) щонайменше у двох повторних вимірюваннях.

Для розрахунку кількості клітин будували стандартну криву для ДНК на основі аліквот індивідуальних здорових клітин крові, з діапазоном визначених кількостей клітин. Стандартну криву використовували для розрахунку загального вмісту клітин із сумарного вмісту ДНК у кожному зразку виділеної ДНК. Середнє значення загального числа клітин у зразку тканини, який використовували для виділення пептидів, екстраполювали з урахуванням відомого об'єму аліквот лізату і загального об'єму лізату.

Кількість копій пептиду на одну клітину

Використовуючи дані згаданих вище експериментів, автори винаходу розраховували кількість копій TUMAP на одну клітину, розділивши загальну кількість пептиду на загальне число клітин у зразку, з наступним діленням на ефективність виділення. Кількість копій клітин для вибраних пептидів наведена у Таблиці 15.

Таблиця 15

Абсолютні кількості копій. У таблиці наведені результати абсолютного кількісного визначення у зразках пухлин. Медіанні кількості копій на клітину наведені для кожного пептиду: <100 = +; >=100 = ++; >=1000 +++; >=10 000 = ++++. Наводиться кількість зразків, для яких є в наявності оцінювані високоякісні дані MC.

SEQ ID NO:	Код пептиду	Кількість копій на клітину (медіана)	Кількість зразків
70	DNMT3B-001	++	16
323	KIAA0226L-002	++	19
325	ZNF-003	++	14

Список посилань

- Aalto, Y. et al., Leukemia 15 (2001): 1721-1728
- Abaan, O. D. et al., Cancer Res 73 (2013): 4372-4382
- Accardi, L. et al., Int.J Cancer 134 (2014): 2742-2747
- Adams, D. J. et al., Mol.Cell Biol 25 (2005): 779-788
- Agha-Hosseini, F. et al., Med.J Islam Repub.Iran 29 (2015): 218
- Agostini, M. et al., Oncotarget. 6 (2015): 32561-32574
- Akiyama, Y. et al., Oncol.Rep. 31 (2014): 1683-1690
- Al-haidari, A. A. et al., Int.J Colorectal Dis. 28 (2013): 1479-1487
- Alcoser, S. Y. et al., BMC.Biotechnol. 11 (2011): 124
- Allison, J. P. et al., Science 270 (1995): 932-933
- Alonso, C. N. et al., Leuk.Res. 36 (2012): 704-708
- Amaro, A. et al., Cancer Metastasis Rev 33 (2014): 657-671
- American Cancer Society, (2015), www.cancer.org
- Ammirante, M. et al., Nature 464 (2010): 302-305
- Ampie, L. et al., Front Oncol. 5 (2015): 12
- An, C. H. et al., Hum.Pathol. 43 (2012): 40-47
- Andersen, R. S. et al., Nat.Protoc. 7 (2012): 891-902
- Anderson, N. L. et al., J Proteome.Res 11 (2012): 1868-1878
- Appay, V. et al., Eur.J Immunol. 36 (2006): 1805-1814
- Arai, E. et al., Int.J Cancer 137 (2015): 2589-2606

- Armitage, J. O., Blood 110 (2007): 29-36
- Armstrong, C. M. et al., Am.J Clin Exp.Urol. 3 (2015): 64-76
- Asahara, S. et al., J Transl.Med. 11 (2013): 291
- Atcheson, E. et al., Biosci.Rep. 31 (2011): 371-379
- 5 Avigan, D. et al., Clin Cancer Res. 10 (2004): 4699-4708
- Azevedo, R. et al., J Control Release 214 (2015): 40-61
- Baek, J. M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 461 (2015): 334-341
- Baker, M. et al., PLoS.One. 8 (2013): e62516
- Banchereau, J. et al., Cell 106 (2001): 271-274
- 10 Bankovic, J. et al., Lung Cancer 67 (2010): 151-159
- Barlin, J. N. et al., Neoplasia. 17 (2015): 183-189
- Batliner, J. et al., Mol.Immunol. 48 (2011): 714-719
- Battistella, M. et al., J Cutan.Pathol. 41 (2014): 427-436
- Beatty, G. et al., J Immunol 166 (2001): 2276-2282
- 15 Becker, M. A. et al., Mol.Cancer Ther. 14 (2015): 973-981
- Beggs, J. D., Nature 275 (1978): 104-109
- Benada, J. et al., Biomolecules. 5 (2015): 1912-1937
- Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B (Methodological), Vol.57 (1995): 289-300
- 20 Bentz, S. et al., Digestion 88 (2013): 182-192
- Berard, A. R. et al., Proteomics. 15 (2015): 2113-2135
- Berman, R. S. et al., National Cancer Institute: PDQ(R) Colon Cancer Treatment (2015a)
- Berman, R. S. et al., National Cancer Institute: PDQ(R) Rectal Cancer Treatment (2015b)
- Berndt, S. I. et al., Nat Commun. 6 (2015): 6889
- 25 Bie, L. et al., PLoS.One. 6 (2011): e25631
- Bill, K. L. et al., Lab Invest (2015)
- Binsky-Ehrenreich, I. et al., Oncogene 33 (2014): 1006-1016
- Black, J. D. et al., Toxins.(Basel) 7 (2015): 1116-1125
- Bo, H. et al., BMC.Cancer 13 (2013): 496
- 30 Bockelman, C. et al., Cancer Biol Ther. 13 (2012): 289-295
- Boeva, V. et al., PLoS.One. 8 (2013): e72182
- Bogdanov, K. V. et al., Tsitologiya 50 (2008): 590-596
- Bogni, A. et al., Leukemia 20 (2006): 239-246
- Boldt, H. B. et al., Endocrinology 152 (2011): 1470-1478
- 35 Bormann, F. et al., Mol.Genet.Genomics 286 (2011): 279-291
- Boulter, J. M. et al., Protein Eng 16 (2003): 707-711
- Braumuller, H. et al., Nature (2013)
- Bray, F. et al., Int J Cancer 132 (2013): 1133-1145
- Brenner, S. et al., Cancer Lett. 356 (2015): 517-524
- 40 Bridgewater, J. et al., J Hepatol. 60 (2014): 1268-1289
- Brocker, E. B. et al., Int.J Cancer 41 (1988): 562-567
- Brossart, P. et al., Blood 90 (1997): 1594-1599
- Bruckdorfer, T. et al., Curr.Pharm.Biotechnol. 5 (2004): 29-43
- Bryant, N. L. et al., J Neurooncol. 101 (2011): 179-188
- 45 Burgess, A. W. et al., Exp.Cell Res 317 (2011): 2748-2758
- Butler, J. E. et al., J Immunol. 182 (2009): 6600-6609
- Butterfield, L. H. et al., Clin Cancer Res 12 (2006): 2817-2825
- Butterfield, L. H. et al., Clin Cancer Res 9 (2003): 5902-5908
- Byrd, J. C. et al., N.Engl.J Med. 369 (2013): 32-42
- 50 Byrns, M. C. et al., J Steroid Biochem.Mol.Biol 125 (2011): 95-104
- Cai, C. J. et al., Sichuan.Da.Xue.Xue.Bao.Yi.Xue.Ban. 41 (2010): 941-945
- Camoses, M. J. et al., PLoS.One. 7 (2012): e49819
- Cao, S. et al., J Virol. 89 (2015): 713-729
- Cao, W. et al., J Biol Chem 282 (2007): 18922-18928
- 55 Carballido, E. et al., Cancer Control 19 (2012): 54-67
- Carbonnelle-Puscian, A. et al., Leukemia 23 (2009): 952-960
- Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. 53 (2004): 345-357
- Carlsten, M. et al., Cancer Res 67 (2007): 1317-1325
- Carr, J. C. et al., Surgery 152 (2012): 998-1007
- 60 Carr, J. C. et al., Ann.Surg.Oncol 20 Suppl 3 (2013): S739-S746

- Cassoni, P. et al., *J Neuroendocrinol.* 16 (2004): 362-364
 Catellani, S. et al., *Blood* 109 (2007): 2078-2085
 Cavard, C. et al., *J Pathol.* 218 (2009): 201-209
 Chae, Y. K. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 37117-37134
 5 Chang, Y. S. et al., *Cancer Chemother.Pharmacol.* 59 (2007): 561-574
 Chanock, S. J. et al., *Hum.Immunol.* 65 (2004): 1211-1223
 Chapiro, J. et al., *Radiol.Med.* 119 (2014): 476-482
 Che, J. et al., *Tumour.Biol* 36 (2015): 6559-6568
 Chen, H. S. et al., *Zhonghua Gan Zang.Bing.Za Zhi.* 11 (2003): 145-148
 10 Chen, H. W. et al., *Mol.Carcinog* 52 (2013): 647-659
 Chen, J. et al., *Cancer Chemother.Pharmacol.* 75 (2015): 1217-1227
 Chen, R. S. et al., *Oncogene* 28 (2009): 599-609
 Chen, W. L. et al., *BMC.Cancer* 12 (2012): 273
 Chen, Y. et al., *Am.J Physiol Lung Cell Mol.Physiol* 306 (2014): L797-L807
 15 Cheong, S. C. et al., *Oral Oncol* 45 (2009): 712-719
 Chinwalla, V. et al., *Oncogene* 22 (2003): 1400-1410
 Chisholm, K. M. et al., *PLoS.One.* 7 (2012): e30748
 Choi, H. H. et al., *Oncotarget.* 6 (2015a): 19721-19734
 Choi, H. H. et al., *Oncotarget.* 6 (2015b): 11779-11793
 20 Chudnovsky, Y. et al., *Cell Rep.* 6 (2014): 313-324
 Cicek, M. et al., *PLoS.One.* 6 (2011): e17522
 Cipriano, R. et al., *Oncotarget.* 4 (2013): 729-738
 Cipriano, R. et al., *Mol.Cancer Res* 12 (2014): 1156-1165
 Cohen, C. J. et al., *J Mol Recognit.* 16 (2003a): 324-332
 25 Cohen, C. J. et al., *J Immunol* 170 (2003b): 4349-4361
 Cohen, S. N. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 69 (1972): 2110-2114
 Cohen, Y. et al., *Hematology.* 19 (2014): 286-292
 Coligan, J. E. et al., *Current Protocols in Protein Science* (1995)
 Colombetti, S. et al., *J Immunol.* 176 (2006): 2730-2738
 30 Coosemans, A. et al., *Anticancer Res* 33 (2013): 5495-5500
 Cotterchio, M. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0125273
 Counter, C. M. et al., *Blood* 85 (1995): 2315-2320
 Courtial, N. et al., *FASEB J* 26 (2012): 523-532
 Crawford, H. C. et al., *Curr.Pharm.Des* 15 (2009): 2288-2299
 35 Cribier, B. et al., *Br.J Dermatol.* 144 (2001): 977-982
 Cui, D. et al., *Oncogene* 33 (2014): 2225-2235
 Dahlman, K. B. et al., *PLoS.One.* 7 (2012): e34414
 Dai, X. et al., *J Virol.* 88 (2014): 12694-12702
 de Kruijf, E. M. et al., *BMC.Cancer* 12 (2012): 24
 40 De, S. et al., *Cancer Res* 69 (2009): 8035-8042
 Dedes, K. J. et al., *Sci.Transl.Med.* 2 (2010): 53ra75
 Dengjel, J. et al., *Clin Cancer Res* 12 (2006): 4163-4170
 Denker, G. et al., *J Immunol* 171 (2003): 2197-2207
 Dhanoa, B. S. et al., *Hum.Genomics* 7 (2013): 13
 45 Ding, M. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 7686-7700
 Donnard, E. et al., *Oncotarget.* 5 (2014): 9199-9213
 Drayton, R. M. et al., *Clin Cancer Res* 20 (2014): 1990-2000
 Drutskaya, M. S. et al., *IUBMB.Life* 62 (2010): 283-289
 Du, C. et al., *Gastric.Cancer* 18 (2015): 516-525
 50 Du, H. et al., *Protein Pept.Lett.* 16 (2009): 486-489
 Duffy, M. J. et al., *Clin Cancer Res* 15 (2009): 1140-1144
 Dufour, C. et al., *Cancer* 118 (2012): 3812-3821
 Economopoulou, P. et al., *Ann.Transl.Med.* 4 (2016): 173
 Ehlken, H. et al., *Int.J Cancer* 108 (2004): 307-313
 55 Eichhorst, B. F. et al., *Blood* 107 (2006): 885-891
 Eijssink, J. J. et al., *Int.J Cancer* 130 (2012): 1861-1869
 Eisele, G. et al., *Brain* 129 (2006): 2416-2425
 Elbelt, U. et al., *J Clin Endocrinol.Metab* 100 (2015): E119-E128
 Elsnerova, K. et al., *Oncol Rep.* (2016)
 60 Emens, L. A., *Expert.Rev.Anticancer Ther.* 12 (2012): 1597-1611

- Engelmann, J. C. et al., PLoS.Comput.Biol 11 (2015): e1004293
- Enguita-German, M. et al., World J Hepatol. 6 (2014): 716-737
- Er, T. K. et al., J Mol.Med.(Berl) (2016)
- Eruslanov, E. et al., Clin.Cancer Res. 19 (2013): 1670-1680
- 5 Espiard, S. et al., Endocrinol.Metab Clin North Am. 44 (2015): 311-334
- Estey, E. H., Am.J Hematol. 89 (2014): 1063-1081
- Etcheverry, A. et al., BMC.Genomics 11 (2010): 701
- Faget, J. et al., Oncoimmunology 2 (2013): e23185
- Falk, K. et al., Nature 351 (1991): 290-296
- 10 Fang, M. et al., Mol.Cell Biol 33 (2013): 2635-2647
- Fang, Y. et al., Tumour.Biol 33 (2012): 2299-2306
- Farrell, A. S. et al., Mol.Cancer Res 12 (2014): 924-939
- Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.11 [Internet], (2013), <http://globocan.iarc.fr>
- 15 Fernandez-Calotti, P. X. et al., Haematologica 97 (2012): 943-951
- Fevre-Montange, M. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. 65 (2006): 675-684
- Finocchiaro, G. et al., Ann.Transl.Med. 3 (2015): 83
- Fiorito, V. et al., Biochim.Biophys.Acta 1839 (2014): 259-264
- Fokas, E. et al., Cell Death.Dis. 3 (2012): e441
- 20 Fong, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98 (2001): 8809-8814
- Ford-Hutchinson, A. W., Eicosanoids 4 (1991): 65-74
- Forsey, R. W. et al., Biotechnol.Lett. 31 (2009): 819-823
- Fremont, S. et al., EMBO Rep. 14 (2013): 364-372
- Fritz, P. et al., Pathol.Res Pract. 208 (2012): 203-209
- 25 Fuge, O. et al., Res Rep.Urol. 7 (2015): 65-79
- Fujita, H. et al., J Histochem.Cytochem. 63 (2015): 217-227
- Fukuyama, R. et al., Oncogene 27 (2008): 6044-6055
- Furman, R. R. et al., N.Engl.J Med. 370 (2014): 997-1007
- Furukawa, T. et al., Sci.Rep. 1 (2011): 161
- 30 Gabrielson, M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 469 (2016): 1090-1096
- Gabrielson, M. et al., Oncol Rep. 29 (2013): 1268-1274
- Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. 2 (1996): 1096-1103
- Galazis, N. et al., Gynecol.Endocrinol. 29 (2013): 638-644
- Gandhi, A. V. et al., Ann Surg.Oncol 20 Suppl 3 (2013): S636-S643
- 35 Gao, M. et al., Diagn.Pathol. 8 (2013): 205
- Garbe, C. et al., J Invest Dermatol. 100 (1993): 239S-244S
- Garcia-Irigoyen, O. et al., Hepatology 62 (2015): 166-178
- Gattinoni, L. et al., Nat Rev.Immunol 6 (2006): 383-393
- Gazy, I. et al., Mutat.Res Rev Mutat.Res 763 (2015): 267-279
- 40 Gelsi-Boyer, V. et al., Mol.Cancer Res 3 (2005): 655-667
- Ghosh, A. et al., Int.J Biol Sci. 12 (2016): 30-41
- Giannopoulos, K. et al., Leukemia 24 (2010): 798-805
- Giannopoulos, K. et al., Int.J Oncol 29 (2006): 95-103
- Gnjatic, S. et al., Proc Natl.Acad.Sci.U.S.A 100 (2003): 8862-8867
- 45 Godkin, A. et al., Int.Immunol 9 (1997): 905-911
- Goede, V. et al., N.Engl.J Med. 370 (2014): 1101-1110
- Gonda, T. J. et al., Expert.Opin.Biol Ther. 8 (2008): 713-717
- Goni, M. H. et al., Anticancer Res 13 (1993): 1155-1160
- Granziero, L. et al., Blood 97 (2001): 2777-2783
- 50 Green, J. et al., Cochrane.Database.Syst.Rev (2005): CD002225
- Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual 4th (2012)
- Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual 2nd (2014)
- Grimm, M. et al., J Transl.Med. 12 (2014): 208
- Grinberg-Rashi, H. et al., Clin Cancer Res 15 (2009): 1755-1761
- 55 Grivas, P. D. et al., Semin.Cancer Biol 35 (2015): 125-132
- Gruel, N. et al., Breast Cancer Res 16 (2014): R46
- Gunawardana, C. et al., Br.J Haematol. 142 (2008): 606-609
- Guo, P. et al., Onco.Targets.Ther. 8 (2015a): 73-79
- Guo, T. et al., Int.J Cancer (2016)
- 60 Guo, Z. et al., Tumour.Biol 36 (2015b): 3583-3589

- Guo, Z. et al., *Tumour.Biol* 36 (2015c): 4777-4783
 Guyonnet, Duperat, V et al., *Biochem.J* 305 (Pt 1) (1995): 211-219
 Hallek, Michael et al., *ASH Annual Meeting Abstracts* 112 (2008): 325
 Halon, A. et al., *Arch.Gynecol.Obstet.* 287 (2013): 563-570
 5 Handkiewicz-Junak, D. et al., *Eur.J Nucl.Med.Mol.Imaging* (2016)
 Hapgood, G. et al., *Blood* 126 (2015): 17-25
 Harig, S. et al., *Blood* 98 (2001): 2999-3005
 Hayette, S. et al., *Oncogene* 19 (2000): 4446-4450
 He, H. et al., *Diagn.Mol.Pathol.* 21 (2012): 143-149
 10 He, M. et al., *J Dig.Dis.* 12 (2011): 393-400
 Heerma van Voss, M. R. et al., *Histopathology* 65 (2014): 814-827
 Heishima, K. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0137361
 Hill, S. J. et al., *Genes Dev.* 28 (2014): 1957-1975
 Hinrichs, C. S. et al., *Nat.Biotechnol.* 31 (2013): 999-1008
 15 Hirahata, M. et al., *Cancer Med.* (2016)
 Hirano, Y. et al., *Genes Cells* 11 (2006): 1295-1304
 Hlavac, V. et al., *Medicine (Baltimore)* 93 (2014): e255
 Holla, S. et al., *Mol.Cancer* 13 (2014): 210
 Holtl, L. et al., *Clin.Cancer Res.* 8 (2002): 3369-3376
 20 Hong, L. et al., *Hum.Pathol.* 45 (2014): 2423-2429
 Honore, B. et al., *Exp.Cell Res* 294 (2004): 199-209
 Horig, H. et al., *Cancer Immunol Immunother.* 49 (2000): 504-514
 Hu, X. T. et al., *Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi.* 30 (2008): 515-518
 Hu, X. T. et al., *Oncol Rep.* 22 (2009): 1247-1252
 25 Huang, P. Y. et al., *Leuk.Lymphoma* 55 (2014): 2085-2092
 Huang, Y. et al., *Clin Epigenetics.* 8 (2016): 9
 Huang, Y. et al., *PLoS.One.* 8 (2013a): e82519
 Huang, Y. et al., *Cell Biosci.* 3 (2013b): 16
 Huang, Y. X. et al., *Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao.* 29 (2009): 1329-1332
 30 Hubertus, J. et al., *Oncol Rep.* 25 (2011): 817-823
 Huisman, C. et al., *Mol.Ther.* (2015)
 Huisman, C. et al., *Mol.Oncol* 7 (2013): 669-679
 Hung, C. F. et al., *Immunol.Rev* 222 (2008): 43-69
 Hus, I. et al., *Oncol Rep.* 20 (2008): 443-451
 35 Hussein, S. et al., *Sci.Rep.* 5 (2015): 15752
 Huu, N. T. et al., *FEBS J* 282 (2015): 4727-4746
 Hwang, M. L. et al., *J Immunol.* 179 (2007): 5829-5838
 Ihn, H. J. et al., *Exp.Biol Med.(Maywood.)* 240 (2015): 1690-1697
 Ilm, K. et al., *Mol.Cancer* 14 (2015): 38
 40 Imai, K. et al., *Br.J Cancer* 104 (2011): 300-307
 Inoue, K. et al., *Subcell.Biochem.* 85 (2014): 17-40
 Ishida, T. et al., *Leukemia* 20 (2006): 2162-2168
 Ishizone, S. et al., *Cancer Sci.* 97 (2006): 119-126
 Iunusova, N. V. et al., *Izv.Akad.Nauk Ser.Biol* (2014): 448-455
 45 Iunusova, N. V. et al., *Izv.Akad.Nauk Ser.Biol* (2013): 284-291
 Iwakawa, R. et al., *Carcinogenesis* 36 (2015): 616-621
 Jager, D. et al., *Cancer Res* 60 (2000): 3584-3591
 Jaiswal, A. S. et al., *Bioorg.Med.Chem Lett.* 24 (2014): 4850-4853
 Januchowski, R. et al., *Biomed.Pharmacother.* 67 (2013): 240-245
 50 Januchowski, R. et al., *Biomed.Pharmacother.* 68 (2014): 447-453
 Jelinek, J. et al., *PLoS.One.* 6 (2011): e22110
 Jenne, D. E. et al., *Am.J Hum.Genet.* 69 (2001): 516-527
 Jiang, H. et al., *Int.J Mol.Med.* 35 (2015a): 1374-1380
 Jiang, H. et al., *Exp.Ther.Med.* 8 (2014a): 769-774
 55 Jiang, H. N. et al., *PLoS.One.* 8 (2013): e67637
 Jiang, L. et al., *Cell Cycle* 14 (2015b): 2881-2885
 Jiang, L. et al., *Oncotarget.* 5 (2014b): 7663-7676
 Jiang, Y. et al., *Mol.Cell* 53 (2014c): 75-87
 Jiao, X. L. et al., *Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci.* 18 (2014): 509-515
 60 Johnson, M. A. et al., *Growth Horm.IGF.Res* 24 (2014): 164-173

- Jones, R. T. et al., *Urol.Clin North Am.* 43 (2016): 77-86
- Ju, W. et al., *Oncol.Res.* 18 (2009): 47-56
- Jung, G. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 84 (1987): 4611-4615
- Junttila, M. R. et al., *Cell Cycle* 7 (2008): 592-596
- 5 Kachakova, D. et al., *J BUON.* 18 (2013): 660-668
- Kadeh, H. et al., *Asian Pac.J Cancer Prev.* 16 (2015): 6609-6613
- Kalikin, L. M. et al., *Genomics* 57 (1999): 36-42
- Kalos, M. et al., *Sci.Transl.Med.* 3 (2011): 95ra73
- Kang, Y. K. et al., *Cancer Res* 68 (2008): 7887-7896
- 10 Kanthan, R. et al., *J Oncol* 2015 (2015): 967472
- Kanzaki, H. et al., *Oncol Rep.* 18 (2007): 1171-1175
- Kanzaki, H. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* 134 (2008): 211-217
- Kanzawa, M. et al., *Pathobiology* 80 (2013): 235-244
- Karim, H. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* 411 (2011): 156-161
- 15 Karrman, K. et al., *Br.J Haematol.* 144 (2009): 546-551
- Kasiappan, R. et al., *Mol.Cancer* 9 (2010): 311
- Katkoori, V. R. et al., *PLoS.One.* 7 (2012): e30020
- Kato, S. et al., *Int.J Oncol* 29 (2006): 33-40
- Kaufman, H. L. et al., *Clin Cancer Res* 14 (2008): 4843-4849
- 20 Kayser, G. et al., *Pathology* 43 (2011): 719-724
- Kelavkar, U. et al., *Curr.Urol.Rep.* 3 (2002): 207-214
- Kelavkar, U. P. et al., *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 82 (2007): 185-197
- Khanna, A. et al., *Int.J Cancer* 138 (2016): 525-532
- Khanna, A. et al., *Cancer Res* 73 (2013): 6548-6553
- 25 Khatamianfar, V. et al., *BMJ Open.* 2 (2012)
- Kibbe, A. H., *Handbook of Pharmaceutical Excipients* rd (2000)
- Kim, D. S. et al., *J Proteome.Res* 9 (2010a): 3710-3719
- Kim, H. S. et al., *Korean J Intern.Med.* 25 (2010b): 399-407
- Kim, J. et al., *J Biol Chem* 286 (2011): 43294-43300
- 30 Kim, J. H. et al., *J Prev.Med.Public Health* 49 (2016): 61-68
- Kim, J. W. et al., *Cancer Sci.* 100 (2009): 1468-1478
- Kim, J. Y. et al., *BMB.Rep.* 47 (2014a): 451-456
- Kim, K. et al., *Mol.Cancer Res* 6 (2008): 426-434
- Kim, S. M. et al., *Int.J Cancer* 134 (2014b): 114-124
- 35 Kim, Y. D. et al., *Int.J Mol.Med.* 29 (2012): 656-662
- Kindla, J. et al., *Cancer Biol Ther.* 11 (2011): 584-591
- Kirschner, L. S. et al., *Horm.Cancer* 7 (2016): 9-16
- Kitchen, M. O. et al., *Epigenetics.* 11 (2016): 237-246
- Kiyomitsu, T. et al., *Mol.Cell Biol* 31 (2011): 998-1011
- 40 Kleylein-Sohn, J. et al., *J Cell Sci.* 125 (2012): 5391-5402
- Klopfleisch, R. et al., *J Proteome.Res* 9 (2010): 6380-6391
- Knollman, H. et al., *Ther.Adv.Urol.* 7 (2015a): 312-330
- Knollman, H. et al., *Ther.Adv.Urol.* 7 (2015b): 312-330
- Kocer, B. et al., *Pathol.Int.* 52 (2002): 470-477
- 45 Kohnz, R. A. et al., *ACS Chem Biol* 10 (2015): 1624-1630
- Kohonen-Corish, M. R. et al., *Oncogene* 26 (2007): 4435-4441
- Koido, S. et al., *World J Gastroenterol.* 19 (2013): 8531-8542
- Kong, D. S. et al., *Oncotarget.* (2016)
- Krackhardt, A. M. et al., *Blood* 100 (2002): 2123-2131
- 50 Krieg, A. M., *Nat Rev.Drug Discov.* 5 (2006): 471-484
- Kronenberger, K. et al., *J Immunother.* 31 (2008): 723-730
- Krupenko, S. A. et al., *Cell Growth Differ.* 13 (2002): 227-236
- Kubota, T. et al., *Cell Cycle* 12 (2013): 2570-2579
- Kuchenbaecker, K. B. et al., *Nat Genet.* 47 (2015): 164-171
- 55 Kuefer, M. U. et al., *Oncogene* 22 (2003): 1418-1424
- Kumar, A. et al., *Cell Biochem.Biophys.* 67 (2013): 837-851
- Kumar, R. et al., *DNA Repair (Amst)* 15 (2014): 54-59
- Kunimoto, K. et al., *J Cell Physiol* 220 (2009): 621-631
- Kuwada, M. et al., *Cancer Lett.* 369 (2015): 212-221
- 60 Landi, D. et al., *Cancer* 118 (2012): 4670-4680

- Lanier, M. H. et al., *Mol.Biol Cell* 26 (2015): 4577-4588
- Lee, D. G. et al., *Curr.Cancer Drug Targets.* 11 (2011): 966-975
- Lee, J. H. et al., *Ann.Surg.* 249 (2009a): 933-941
- Lee, K. Y. et al., *Yonsei Med.J* 50 (2009b): 60-67
- 5 Lee, M. A. et al., *BMC.Cancer* 14 (2014a): 125
- Lee, S. Y. et al., *Eur.J Cancer* 50 (2014b): 698-705
- Lee, W. C. et al., *J Immunother.* 28 (2005): 496-504
- Lei, N. et al., *Oncol Rep.* 32 (2014): 1689-1694
- Leitlinie Endometriumkarzinom, 032/034, (2008)
- 10 Leitlinie Magenkarzinom, 032-009OL, (2012)
- Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 030/099, (2014)
- Leonetti, M. D. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 109 (2012): 19274-19279
- Leung, J. et al., *Immune.Netw.* 14 (2014): 265-276
- Li, J. et al., *Mol.Biol Rep.* 41 (2014): 8071-8079
- 15 Li, J. et al., *Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi.* 18 (2015a): 16-22
- Li, J. et al., *Tumour.Biol* (2016)
- Li, J. F. et al., *Zhonghua Wei Chang Wai Ke.Za Zhi.* 15 (2012a): 388-391
- Li, L. et al., *Pharmacogenet.Genomics* 22 (2012b): 105-116
- Li, W. Q. et al., *Carcinogenesis* 34 (2013): 1536-1542
- 20 Li, Y. et al., *Cancer Biol Ther.* 16 (2015b): 1316-1322
- Li, Y. et al., *Cancer Epidemiol.* 39 (2015c): 8-13
- Li, Y. F. et al., *Int.J Biol Sci.* 8 (2012c): 1168-1177
- Liang, Y. C. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 38046-38060
- Liao, W. et al., *Oncotarget.* 5 (2014): 10271-10279
- 25 Liddy, N. et al., *Nat Med.* 18 (2012): 980-987
- Lin, C. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 8434-8453
- Lin, J. C. et al., *RNA.* 20 (2014): 1621-1631
- Lin, Y. W. et al., *Eur.J Cancer* 45 (2009): 2041-2049
- Lin, Z. et al., *Diagn.Pathol.* 8 (2013): 133
- 30 Lindqvist, B. M. et al., *Epigenetics.* 7 (2012): 300-306
- Linhares, N. D. et al., *Eur.J Med.Genet.* 57 (2014): 643-648
- Linher-Melville, K. et al., *Mol.Cell Biochem.* 405 (2015): 205-221
- Linkov, F. et al., *Eur.Cytokine Netw.* 20 (2009): 21-26
- Listerman, I. et al., *Cancer Res* 73 (2013): 2817-2828
- 35 Liu, C. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol.* 8 (2015): 7446-7449
- Liu, L. et al., *Biochem.J* 451 (2013a): 55-60
- Liu, M. et al., *Asian Pac.J Cancer Prev.* 14 (2013b): 6281-6286
- Liu, Q. et al., *Med.Oncol* 31 (2014a): 882
- Liu, T. et al., *DNA Repair (Amst)* 11 (2012): 131-138
- 40 Liu, W. J. et al., *Leuk.Lymphoma* 55 (2014b): 2691-2698
- Liu, X. et al., *Mol.Biol Rep.* 41 (2014c): 7471-7478
- Ljunggren, H. G. et al., *J Exp.Med.* 162 (1985): 1745-1759
- Leonart, M. E. et al., *Oncol Rep.* 16 (2006): 603-608
- Llovet, J. M. et al., *N.Engl.J Med.* 359 (2008): 378-390
- 45 Lobito, A. A. et al., *J Biol Chem* 286 (2011): 18969-18981
- Loddo, M. et al., *J Pathol.* 233 (2014): 344-356
- Lollini, P. L. et al., *Int.J Cancer* 55 (1993): 320-329
- Longenecker, B. M. et al., *Ann N.Y.Acad.Sci.* 690 (1993): 276-291
- Lonsdale, J., *Nat.Genet.* 45 (2013): 580-585
- 50 Lu, G. et al., *Cancer Cell* 26 (2014): 222-234
- Lucas, S. et al., *Int.J Cancer* 87 (2000): 55-60
- Luhrig, S. et al., *Cell Div.* 8 (2013): 3
- Luis, Espinoza J. et al., *Cancer Sci.* 104 (2013): 657-662
- Lukas, T. J. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 78 (1981): 2791-2795
- 55 Lukka, H. et al., *Clin Oncol (R Coll.Radiol.)* 14 (2002): 203-212
- Luna, B. et al., *Mol.Neurobiol.* 52 (2015): 1341-1363
- Lundblad, R. L., *Chemical Reagents for Protein Modification 3rd* (2004)
- Ma, J. et al., *Pathol.Oncol Res* 19 (2013a): 821-832
- Ma, L. D. et al., *Zhongguo Shi Yan.Xue.Ye.Xue.Za Zhi.* 21 (2013b): 1429-1434
- 60 Ma, T. et al., *Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi.* 94 (2014): 3005-3007

- Maggioni, A. et al., *Protein Expr.Purif.* 101 (2014): 165-171
 Mahomed, F., *Oral Oncol* 47 (2011): 797-803
 Mantel, A. et al., *Exp.Dermatol.* 23 (2014): 573-578
 Mantia-Smaldone, G. M. et al., *Hum.Vaccin.Immunother.* 8 (2012): 1179-1191
 5 Marchio, C. et al., *J Clin Pathol.* 63 (2010): 220-228
 Marechal, R. et al., *Clin Cancer Res* 15 (2009): 2913-2919
 Marine, J. C., *Nat Rev Cancer* 12 (2012): 455-464
 Markus, M. A. et al., *Genomics* 107 (2016): 138-144
 Marten, A. et al., *Cancer Immunol.Immunother.* 51 (2002): 637-644
 10 Martin, R. W. et al., *Cancer Res* 67 (2007): 9658-9665
 Martinez, I. et al., *Eur.J Cancer* 43 (2007): 415-432
 Marzec, K. A. et al., *Biomed.Res Int.* 2015 (2015): 638526
 Mason, C. C. et al., *Leukemia* (2015)
 Massari, F. et al., *Cancer Treat.Rev.* 41 (2015): 114-121
 15 Massoner, P. et al., *PLoS.One.* 8 (2013): e55207
 Matsueda, S. et al., *World J Gastroenterol.* 20 (2014): 1657-1666
 Matsuura, N. et al., *Nihon Rinsho* 53 (1995): 1643-1647
 Maus, M. V. et al., *Blood* 123 (2014): 2625-2635
 Mayr, C. et al., *Exp.Hematol.* 34 (2006): 44-53
 20 Mayr, C. et al., *Blood* 105 (2005): 1566-1573
 McGilvray, R. W. et al., *Int.J Cancer* 127 (2010): 1412-1420
 Medeiros, A. C. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 3 (1994): 331-333
 Mehta, J. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0120622
 Mei, J. Z. et al., *Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao.* 27 (2007): 887-889
 25 Mencia, N. et al., *Biochem.Pharmacol.* 82 (2011): 1572-1582
 Mendoza-Maldonado, R. et al., *PLoS.One.* 5 (2010): e13720
 Meziere, C. et al., *J Immunol* 159 (1997): 3230-3237
 Migliorini, D. et al., *J Clin Invest* 121 (2011): 1329-1343
 Milutin, Gasperov N. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0129452
 30 Missero, C. et al., *Exp.Dermatol.* 23 (2014): 143-146
 Miyagi, Y. et al., *Clin Cancer Res* 7 (2001): 3950-3962
 Miyamoto, K. et al., *Int.J Cancer* 116 (2005): 407-414
 Mohanraj, L. et al., *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 6 (2011): 166-177
 Mohelnikova-Duchonova, B. et al., *Cancer Chemother.Pharmacol.* 72 (2013): 669-682
 35 Molina, J. R. et al., *Mayo Clin Proc.* 83 (2008): 584-594
 Morgan, R. A. et al., *Science* 314 (2006): 126-129
 Mori, M. et al., *Transplantation* 64 (1997): 1017-1027
 Morin, P. J., *Cancer Res* 65 (2005): 9603-9606
 Morita, T. et al., *Int.J Cancer* 109 (2004): 525-532
 40 Mortara, L. et al., *Clin Cancer Res.* 12 (2006): 3435-3443
 Moser, J. J. et al., *J Neurosci.Res* 85 (2007): 3619-3631
 Mou, X. et al., *Sci.Rep.* 4 (2014): 6138
 Moulton, H. M. et al., *Clin Cancer Res* 8 (2002): 2044-2051
 Mueller, L. N. et al., *J Proteome.Res* 7 (2008): 51-61
 45 Mueller, L. N. et al., *Proteomics.* 7 (2007): 3470-3480
 Mukhopadhyay, P. et al., *Biochim.Biophys.Acta* 1815 (2011): 224-240
 Muller, M. R. et al., *Blood* 103 (2004): 1763-1769
 Mumberg, D. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 96 (1999): 8633-8638
 Nagashio, R. et al., *Sci.Rep.* 5 (2015): 8649
 50 Naito, T. et al., *J Biol Chem* 290 (2015): 15004-15017
 Nakajima, H. et al., *Cancer Sci.* 105 (2014): 1093-1099
 Nakano, K. et al., *Exp.Cell Res* 287 (2003): 219-227
 Nakarai, C. et al., *Clin Exp.Med.* 15 (2015): 333-341
 Nakashima, A. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* 361 (2007): 218-223
 55 National Cancer Institute, (5-6-2015), www.cancer.gov
 Nguyen, M. H. et al., *Int.J Oncol* 41 (2012): 1285-1296
 Ni, I. B. et al., *Hematol.Rep.* 4 (2012): e19
 Ni, L. et al., *J Cell Biochem.* 106 (2009): 920-928
 Nobusawa, S. et al., *Brain Tumor Pathol.* 31 (2014): 229-233
 60 O'Brien, S. et al., *Lancet Oncol* 15 (2014): 48-58

- O'Geen, H. et al., PLoS.Genet. 3 (2007): e89
- Obama, K. et al., Clin Cancer Res 14 (2008): 1333-1339
- Oehler, V. G. et al., Blood 114 (2009): 3292-3298
- Ogasawara, N. et al., J Biochem. 149 (2011): 321-330
- 5 Ogbomo, H. et al., Neoplasia. 10 (2008): 1402-1410
- Ogiso, Y. et al., Cancer Res 62 (2002): 5008-5012
- Oh, Y. et al., J Biol.Chem 287 (2012): 17517-17529
- Okabe, N. et al., Int.J Oncol 46 (2015): 999-1006
- Okuno, K. et al., Exp.Ther Med. 2 (2011): 73-79
- 10 Olkhanud, P. B. et al., Cancer Res 69 (2009): 5996-6004
- Olszewski-Hamilton, U. et al., Biomark.Cancer 3 (2011): 31-40
- Orentas, R. J. et al., Front Oncol 2 (2012): 194
- Orzol, P. et al., Histol.Histopathol. 30 (2015): 503-521
- Ouyang, M. et al., BMC.Cancer 15 (2015): 132
- 15 Ozawa, H. et al., Ann.Surg.Oncol 17 (2010): 2341-2348
- Ozeki, N. et al., Int.J Mol.Sci. 17 (2016)
- Palma, M. et al., Cancer Immunol Immunother. 57 (2008): 1705-1710
- Palmer, D. H. et al., Hepatology 49 (2009): 124-132
- Palomba, M. L., Curr.Oncol Rep. 14 (2012): 433-440
- 20 Pan, J. et al., Leuk.Res 36 (2012): 889-894
- Pannu, V. et al., Oncotarget. 6 (2015): 6076-6091
- Parikh, R. A. et al., Genes Chromosomes.Cancer 53 (2014): 25-37
- Parikh, S. A. et al., Blood 118 (2011): 2062-2068
- Parisi, M. A., Am.J Med.Genet.C.Semin.Med.Genet. 151C (2009): 326-340
- 25 Park, E. et al., Mol.Cell 50 (2013): 908-918
- Park, M. J. et al., Immunol.Invest 40 (2011): 367-382
- Park, Y. R. et al., Cancer Genomics Proteomics. 13 (2016): 83-90
- Parplys, A. C. et al., DNA Repair (Amst) 24 (2014): 87-97
- Pasmant, E. et al., Mol.Med. 17 (2011): 79-87
- 30 Patil, A. A. et al., Oncotarget. 5 (2014): 6414-6424
- Pattabiraman, D. R. et al., Leukemia 27 (2013): 269-277
- Pawar, S. et al., J Ovarian.Res 7 (2014): 53
- Payne, S. R. et al., Prostate 69 (2009): 1257-1269
- Peng, B. et al., Mol.Biosyst. 11 (2015): 105-114
- 35 Pequeux, C. et al., Cancer Res 62 (2002): 4623-4629
- Perrais, M. et al., J Biol Chem 276 (2001): 15386-15396
- Petrini, I., Ann.Transl.Med. 3 (2015): 82
- Phan, G. Q. et al., Cancer Control 20 (2013): 289-297
- Phe, V. et al., BJU.Int. 104 (2009): 896-901
- 40 Piasecka, D. et al., Postepy Biochem. 61 (2015): 198-206
- Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>) (2015)
- Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787
- Porta, C. et al., Virology 202 (1994): 949-955
- 45 Porter, D. L. et al., N.Engl.J Med. 365 (2011): 725-733
- Potapenko, I. O. et al., Mol.Oncol 9 (2015): 861-876
- Przybyl, J. et al., Int.J Biochem.Cell Biol 53 (2014): 505-513
- Qian, M. X. et al., Cell 153 (2013): 1012-1024
- Qiu, J. et al., Leukemia 17 (2003): 1891-1900
- 50 Quinn, D. I. et al., Urol.Oncol. (2015)
- Qureshi, R. et al., Cancer Lett. 356 (2015): 321-331
- Rainer, J. et al., Mol.Endocrinol. 26 (2012): 178-193
- Raja, S. B. et al., J Cell Sci. 125 (2012): 703-713
- Rajadhyaksha, A. M. et al., Am.J Hum.Genet. 87 (2010): 643-654
- 55 Rajkumar, T. et al., BMC.Cancer 11 (2011): 80
- Rakic, M. et al., Hepatobiliary.Surg.Nutr. 3 (2014): 221-226
- Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics 50 (1999): 213-219
- Ramsay, R. G. et al., Expert.Opin.Ther.Targets. 7 (2003): 235-248
- RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002),
60 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>

- Reid-Lombardo, K. M. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 20 (2011): 1251-1254
- Reinisch, W. et al., *J Immunother.* 25 (2002): 489-499
- Reinmuth, N. et al., *Dtsch.Med.Wochenschr.* 140 (2015): 329-333
- Religio, A. et al., *PLoS.Genet.* 10 (2014): e1004338
- 5 Rendon-Huerta, E. et al., *J Gastrointest.Cancer* 41 (2010): 52-59
- Resende, C. et al., *Helicobacter.* 16 Suppl 1 (2011): 38-44
- Richards, S. et al., *J Natl.Cancer Inst.* 91 (1999): 861-868
- Ricke, R. M. et al., *Cell Cycle* 10 (2011): 3645-3651
- Rincon, R. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 4299-4314
- 10 Rini, B. I. et al., *Curr.Opin.Oncol.* 20 (2008): 300-306
- Rini, B. I. et al., *Cancer* 107 (2006): 67-74
- Riordan, J. D. et al., *PLoS.Genet.* 9 (2013): e1003441
- Ritter, A. et al., *Cell Cycle* 14 (2015): 3755-3767
- Robak, T. et al., *Expert.Opin.Biol.Ther* 14 (2014): 651-661
- 15 Roca, H. et al., *PLoS.One.* 8 (2013): e76773
- Rock, K. L. et al., *Science* 249 (1990): 918-921
- Rodenko, B. et al., *Nat Protoc.* 1 (2006): 1120-1132
- Rodini, C. O. et al., *Int.J Oncol* 40 (2012): 1180-1188
- Rodriguez, F. J. et al., *J Neuropathol.Exp.Neurol.* 67 (2008): 1194-1204
- 20 Romanuik, T. L. et al., *BMC.Med.Genomics* 3 (2010): 43
- Ronchi, C. L. et al., *Neoplasia.* 14 (2012): 206-218
- Rouanne, M. et al., *Crit Rev Oncol Hematol.* 98 (2016): 106-115
- Rucki, A. A. et al., *World J Gastroenterol.* 20 (2014): 2237-2246
- Rudland, P. S. et al., *Am.J Pathol.* 176 (2010): 2935-2947
- 25 Rutkowski, M. J. et al., *Mol Cancer Res* 8 (2010): 1453-1465
- Ryu, B. et al., *PLoS.One.* 2 (2007): e594
- S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 032-010OL, (2013)
- S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 020/007, (2011)
- S3-Leitlinie maligne Ovarialtumore, 032-035OL, (2013)
- 30 S3-Leitlinie Mammakarzinom, 032-045OL, (2012)
- S3-Leitlinie Melanom, 032-024OL, (2013)
- S3-Leitlinie Prostatakarzinom, 043/022OL, (2014)
- S3-Leitlinie Zervixkarzinom, 032/033OL, (2014)
- Sadeque, A. et al., *BMC.Med.Genomics* 5 (2012): 59
- 35 Saeki, M. et al., *PLoS.One.* 8 (2013): e67326
- Safarpour, D. et al., *Arch.Pathol.Lab Med.* 139 (2015): 612-617
- Saiki, R. K. et al., *Science* 239 (1988): 487-491
- Salim, H. et al., *Genes Chromosomes.Cancer* 52 (2013): 895-911
- Salman, B. et al., *Oncoimmunology.* 2 (2013): e26662
- 40 Sandoval, J. et al., *J Clin Oncol* 31 (2013): 4140-4147
- Sangro, B. et al., *J Clin Oncol* 22 (2004): 1389-1397
- Sankaranarayanan, P. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0121396
- Santarasci, V. et al., *Eur.J Immunol.* 44 (2014): 654-661
- Sarma, S. N. et al., *Environ.Toxicol.Pharmacol.* 32 (2011): 285-295
- 45 Sasao, T. et al., *Reproduction.* 128 (2004): 709-716
- Satija, Y. K. et al., *Int.J Cancer* 133 (2013): 2759-2768
- Sato, N. et al., *Genes Chromosomes.Cancer* 49 (2010): 353-367
- Savaskan, N. E. et al., *Ann.Anat.* 192 (2010): 309-313
- Savaskan, N. E. et al., *Curr.Neuropharmacol.* 13 (2015): 258-265
- 50 Sawada, G. et al., *Oncol Rep.* 30 (2013): 1971-1975
- Schetelig, J. et al., *J Clin Oncol* 26 (2008): 5094-5100
- Scheurer, B. et al., *Immunopharmacology* 38 (1997): 167-175
- Schmidt, S. M. et al., *Cancer Res* 64 (2004): 1164-1170
- Schreiber, M. et al., *J Biol Chem* 273 (1998): 3509-3516
- 55 Seeger, F. H. et al., *Immunogenetics* 49 (1999): 571-576
- Seidl, C. et al., *Invest New Drugs* 28 (2010): 49-60
- Seppanen, M. et al., *Acta Obstet.Gynecol.Scand.* 87 (2008): 902-909
- Shareef, M. M. et al., *Arab.J Gastroenterol.* 16 (2015): 105-112
- Sharma, R. K. et al., *Clin Exp.Metastasis* 33 (2016): 263-275
- 60 Sharpe, D. J. et al., *Oncotarget.* 5 (2014): 8803-8815

- Shen, C. et al., *Cancer Res* 73 (2013): 3393-3401
- Shen, Y. et al., *Oncotarget*. 6 (2015a): 20396-20403
- Shen, Y. et al., *Cancer Cell Microenviron*. 2 (2015b)
- Sherman, F. et al., *Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics* (1986)
- 5 Sherman, S. K. et al., *Surgery* 154 (2013): 1206-1213
- Shi, M. et al., *World J Gastroenterol*. 10 (2004): 1146-1151
- Shi, Z. et al., *Tumour.Biol* 36 (2015): 8519-8529
- Shimizu, F. et al., *Lab Invest* 83 (2003): 187-197
- Shioji, G. et al., *J Hum.Genet*. 50 (2005): 507-515
- 10 Showel, M. M. et al., *F1000Prime.Rep*. 6 (2014): 96
- Siegel, S. et al., *Blood* 102 (2003): 4416-4423
- Siew, Y. Y. et al., *Int.Immunol*. 27 (2015): 621-632
- Silva, L. P. et al., *Anal.Chem*. 85 (2013): 9536-9542
- Silvestris, F. et al., *Adv.Exp.Med.Biol* 714 (2011): 113-128
- 15 Singh, V. et al., *Curr.Cancer Drug Targets*. 13 (2013): 379-399
- Singh-Jasuja, H. et al., *Cancer Immunol.Immunother*. 53 (2004): 187-195
- Skawran, B. et al., *Mod.Pathol*. 21 (2008): 505-516
- Small, E. J. et al., *J Clin Oncol*. 24 (2006): 3089-3094
- Smetsters, S. et al., *Fam.Cancer* 11 (2012): 661-665
- 20 Smith, P. et al., *Clin Cancer Res* 13 (2007): 4061-4068
- Sohrabi, A. et al., *Asian Pac.J Cancer Prev*. 15 (2014): 6745-6748
- Song, H. R. et al., *Mol.Carcinog* 52 Suppl 1 (2013): E155-E160
- Sonora, C. et al., *J Histochem.Cytochem*. 54 (2006): 289-299
- Spaner, D. E. et al., *Cancer Immunol Immunother*. 54 (2005): 635-646
- 25 Srivastava, N. et al., *Cancer Manag.Res*. 6 (2014): 279-289
- Stacey, S. N. et al., *Nat Commun*. 6 (2015): 6825
- Stahl, M. et al., *Ann.Oncol*. 24 Suppl 6 (2013): vi51-vi56
- Stangel, D. et al., *J Surg.Res* 197 (2015): 91-100
- Stein, U., *Expert.Opin.Ther.Targets*. 17 (2013): 1039-1052
- 30 Steinberg, R. L. et al., *Urol.Oncol* (2016a)
- Steinberg, R. L. et al., *Urol.Oncol* (2016b)
- Steinway, S. N. et al., *PLoS.One*. 10 (2015): e0128159
- Stenman, G. et al., *Cell Cycle* 9 (2010): 2986-2995
- Stevanovic, S. et al., *J Clin Oncol* 33 (2015): 1543-1550
- 35 Stintzing, S., *F1000Prime.Rep*. 6 (2014): 108
- Stratakis, C. A. et al., *DNA Seq*. 9 (1998): 227-230
- Struyf, S. et al., *Am.J Pathol*. 163 (2003): 2065-2075
- Sturm, M. et al., *BMC.Bioinformatics*. 9 (2008): 163
- Su, Z. et al., *Cancer Res*. 63 (2003): 2127-2133
- 40 Subhash, V. V. et al., *BMC.Cancer* 15 (2015): 550
- Sui, Y. et al., *Oncogene* 26 (2007): 822-835
- Sukocheva, O. A. et al., *World J Gastroenterol*. 21 (2015): 6146-6156
- Sun, S. et al., *Gene* 584 (2016): 90-96
- Sun, W. et al., *World J Gastroenterol*. 19 (2013): 2913-2920
- 45 Sutherland, C. L. et al., *Blood* 108 (2006): 1313-1319
- Suzuki, N. et al., *J Orthop.Res* 32 (2014): 915-922
- Tabares-Seisdedos, R. et al., *Mol.Psychiatry* 14 (2009): 563-589
- Takahashi, M. et al., *Int.J Oncol* 27 (2005): 1483-1487
- Takatsu, H. et al., *J Biol Chem* 286 (2011): 38159-38167
- 50 Takayama, M. A. et al., *Genes Cells* 5 (2000a): 481-490
- Takayama, T. et al., *Cancer* 68 (1991): 2391-2396
- Takayama, T. et al., *Lancet* 356 (2000b): 802-807
- Taketani, T. et al., *Cancer Res* 62 (2002): 33-37
- Tang, C. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol*. 7 (2014): 4782-4794
- 55 Tatenhorst, L. et al., *J Neuropathol.Exp.Neurol*. 63 (2004): 210-222
- Taverniti, V. et al., *Nucleic Acids Res* 43 (2015): 482-492
- Taylor, M. et al., *Breast Cancer Res* 9 (2007): R46
- Terabayashi, T. et al., *PLoS.One*. 7 (2012): e39714
- Teufel, R. et al., *Cell Mol Life Sci*. 62 (2005): 1755-1762
- 60 Thakkar, J. P. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev*. 23 (2014): 1985-1996

- Tian, Y. et al., *Diagn.Pathol.* 9 (2014): 42
 Ting, L. et al., *DNA Repair (Amst)* 9 (2010): 1241-1248
 Toda, M. et al., *Meta Gene* 2 (2014): 686-693
 Toomey, P. G. et al., *Cancer Control* 20 (2013): 32-42
 5 Torelli, G. F. et al., *Haematologica* 99 (2014): 1248-1254
 Tran, E. et al., *Science* 344 (2014): 641-645
 Tsujikawa, T. et al., *Int.J Cancer* 132 (2013): 2755-2766
 Tumova, L. et al., *Mol.Cancer Ther.* 13 (2014): 812-822
 Urata, Y. N. et al., *Sci.Rep.* 5 (2015): 13676
 10 Ushiku, T. et al., *Histopathology* 61 (2012): 1043-1056
 Utrera, R. et al., *EMBO J* 17 (1998): 5015-5025
 Vainio, P. et al., *Am.J Pathol.* 178 (2011a): 525-536
 Vainio, P. et al., *Oncotarget.* 2 (2011b): 1176-1190
 Valque, H. et al., *PLoS.One.* 7 (2012): e46699
 15 van de Klundert, M. A. et al., *PLoS.One.* 7 (2012): e48940
 Van Ginkel, P. R. et al., *Biochim.Biophys.Acta* 1448 (1998): 290-297
 van Muijen, G. N. et al., *Recent Results Cancer Res* 139 (1995): 105-122
 Van, Seuningen, I et al., *Biochem.J* 348 Pt 3 (2000): 675-686
 Vater, I. et al., *Leukemia* 29 (2015): 677-685
 20 Ventela, S. et al., *Oncotarget.* 6 (2015): 144-158
 Verreman, K. et al., *Biochem.J* 439 (2011): 469-477
 Vici, P. et al., *J Exp.Clin Cancer Res* 33 (2014): 29
 Von Hoff, D. D. et al., *N.Engl.J Med.* 369 (2013): 1691-1703
 von Rundstedt, F. C. et al., *Transl.Androl Urol.* 4 (2015): 244-253
 25 Wallrapp, C. et al., *Ann.Oncol* 10 Suppl 4 (1999): 64-68
 Walsh, M. D. et al., *Mod.Pathol.* 26 (2013): 1642-1656
 Walter, S. et al., *J Immunol* 171 (2003): 4974-4978
 Walter, S. et al., *Nat Med.* 18 (2012): 1254-1261
 Walton, E. L. et al., *Biology.(Basel)* 3 (2014): 578-605
 30 Wan, W. et al., *World J Surg.Oncol* 12 (2014): 185
 Wang, C. et al., *Nucleic Acids Res* 43 (2015a): 4893-4908
 Wang, C. Q. et al., *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.Oral Radiol.* 117 (2014a): 353-360
 Wang, D. et al., *Chin Med.Sci.J* 14 (1999a): 107-111
 Wang, G. et al., *Tumour.Biol* 36 (2015b): 1055-1065
 35 Wang, G. H. et al., *Oncol Lett.* 5 (2013a): 544-548
 Wang, H. et al., *Carcinogenesis* 30 (2009a): 1314-1319
 Wang, J. et al., *Ann.Surg.Oncol* 22 (2015c): 685-692
 Wang, J. et al., *J Exp.Clin Cancer Res* 34 (2015d): 13
 Wang, J. W. et al., *Oncogene* 23 (2004): 4089-4097
 40 Wang, L. et al., *J Cutan.Pathol.* 42 (2015e): 361-367
 Wang, L. et al., *Mol.Biol Rep.* 38 (2011a): 229-236
 Wang, L. et al., *Diagn.Pathol.* 8 (2013b): 190
 Wang, N. et al., *Arch.Gynecol.Obstet.* 283 (2011b): 103-108
 Wang, Q. et al., *Cell* 138 (2009b): 245-256
 45 Wang, Q. et al., *BMC.Cancer* 11 (2011c): 271
 Wang, Q. et al., *Onco.Targets.Ther.* 8 (2015f): 1971-1977
 Wang, Q. et al., *PLoS.One.* 8 (2013c): e61640
 Wang, R. et al., *Mol.Cell Biochem.* 405 (2015g): 97-104
 Wang, S. et al., *J Cell Sci.* 120 (2007): 567-577
 50 Wang, W. Z. et al., *J Exp.Clin Cancer Res* 29 (2010): 140
 Wang, X. W. et al., *Gut Liver* 8 (2014b): 487-494
 Wang, X. Z. et al., *Oncogene* 18 (1999b): 5718-5721
 Wang, Y. et al., *Cancer Cell* 26 (2014c): 374-389
 Wang, Y. P. et al., *Ai.Zheng.* 27 (2008): 243-248
 55 Wang, Z. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* 141 (2015h): 1353-1361
 Wang, Z. et al., *Oncotarget.* (2016)
 Wang, Z. et al., *Glycobiology* 22 (2012): 930-938
 Watanabe, N. et al., *J Biol Chem* 278 (2003): 26102-26110
 Watts, C. A. et al., *Chem Biol* 20 (2013): 1399-1410
 60 Wells, J. et al., *J Biol Chem* 284 (2009): 29125-29135

- Weng, Y. R. et al., *Carcinogenesis* 35 (2014): 1389-1398
- Wheler, J. J. et al., *BMC.Cancer* 15 (2015): 442
- Whitaker, H. C. et al., *Oncogene* 33 (2014): 5274-5287
- Wierda, W. G. et al., *Blood* 118 (2011): 5126-5129
- 5 Wierinckx, A. et al., *Endocr.Relat Cancer* 14 (2007): 887-900
- Wilhelm, S. M. et al., *Cancer Res* 64 (2004): 7099-7109
- Willcox, B. E. et al., *Protein Sci.* 8 (1999): 2418-2423
- Williams, G. L. et al., *Cell Cycle* 6 (2007): 1699-1704
- Wilson, P. M. et al., *Nat Rev.Clin Oncol* 11 (2014): 282-298
- 10 Wilzen, A. et al., *Int.J Oncol* 34 (2009): 697-705
- Wittig, B. et al., *Hum.Gene Ther.* 12 (2001): 267-278
- Wlcek, K. et al., *Cancer Biol Ther.* 11 (2011): 801-811
- Wong, R. P. et al., *Pigment Cell Melanoma Res* 25 (2012): 213-218
- World Cancer Report, (2014)
- 15 World Health Organization, (2014), <http://www.who.int/en/>
- Wu, J. et al., *ACS Chem Biol* 8 (2013): 2201-2208
- Wu, Y. et al., *Cancer Lett.* 356 (2015): 646-655
- Xie, B. et al., *Pathol.Oncol Res* 19 (2013): 611-617
- Xie, C. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* 445 (2014): 263-268
- 20 Xiong, D. et al., *Carcinogenesis* 33 (2012): 1797-1805
- Xu, X. et al., *Oncogene* 26 (2007): 7371-7379
- Xu, X. et al., *J Biol Chem* 289 (2014): 8881-8890
- Xue, J. H. et al., *Acta Pharmacol.Sin.* 32 (2011): 1019-1024
- Yamada, T. et al., *Br.J Cancer* 108 (2013): 2495-2504
- 25 Yamashita, J. et al., *Acta Derm.Venereol.* 92 (2012): 593-597
- Yamazoe, S. et al., *J Exp.Clin Cancer Res* 29 (2010): 53
- Yan-Chun, L. et al., *Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol.* (2015)
- Yan-Fang, T. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0126566
- Yang, J. J. et al., *Haematologica* 99 (2014a): e11-e13
- 30 Yang, L. et al., *J Biol Chem* 291 (2016): 3905-3917
- Yang, L. et al., *PLoS.One.* 10 (2015a): e0133896
- Yang, T. T. et al., *Sci.Rep.* 5 (2015b): 14096
- Yang, Y. et al., *Oncol Lett.* 9 (2015c): 1833-1838
- Yang, Y. et al., *PLoS.One.* 9 (2014b): e97578
- 35 Yang, Y. M. et al., *Cancer Sci.* 102 (2011): 1264-1271
- Yao, Y. et al., *Cell Physiol Biochem.* 35 (2015): 983-996
- Ye, B. G. et al., *Oncotarget.* (2016)
- Yeh, I. et al., *Nat.Comm.* 6 (2015): 7174
- Yeh, S. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 97 (2000): 11256-11261
- 40 Yonezawa, S. et al., *Pathol.Int.* 49 (1999): 45-54
- Yoshimaru, T. et al., *Nat Commun.* 4 (2013): 2443
- Yoshimaru, T. et al., *Sci.Rep.* 4 (2014): 7355
- Young, A. et al., *BMC.Cancer* 14 (2014): 808
- Yu, C. J. et al., *Int.J Cancer* 69 (1996): 457-465
- 45 Yu, H. et al., *Nat Chem Biol* 11 (2015a): 847-854
- Yu, T. et al., *Cell Res* 24 (2014): 1214-1230
- Yu, X. et al., *Tumour.Biol* 36 (2015b): 967-972
- Yuan, M. et al., *Oncotarget.* 5 (2014): 2820-2826
- Zaganjor, E. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 111 (2014): 10568-10573
- 50 Zamuner, F. T. et al., *Mol.Cancer Ther.* 14 (2015): 828-834
- Zaremba, S. et al., *Cancer Res.* 57 (1997): 4570-4577
- Zavala-Zendejas, V. E. et al., *Cancer Invest* 29 (2011): 1-11
- Zekri, A. R. et al., *BMC.Res Notes* 1 (2008): 106
- Zeng, B. et al., *Curr.Cancer Drug Targets.* 13 (2013a): 103-116
- 55 Zeng, S. et al., *Eur.J Cancer* 49 (2013b): 3752-3762
- Zeng, X. et al., *Ai.Zheng.* 26 (2007): 1080-1084
- Zeng, X. X. et al., *Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci.* 19 (2015): 4353-4361
- Zhan, W. et al., *PLoS.One.* 10 (2015): e0142596
- Zhang, B. et al., *J Huazhong.Univ Sci.Technolog.Med.Sci.* 30 (2010a): 322-325
- 60 Zhang, G. et al., *BMC.Cancer* 14 (2014): 310

Zhang, J. et al., Theor.Biol Med.Model. 9 (2012a): 53
 Zhang, Q. et al., Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi. 13 (2010b): 612-616
 Zhang, W. et al., Clin Cancer Res 7 (2001): 822s-829s
 Zhang, W. et al., Biochem.J (2016)
 5 Zhang, X. et al., EMBO J 30 (2011): 2177-2189
 Zhang, X. et al., Med.Oncol 32 (2015): 148
 Zhang, X. et al., Int.J Med.Sci. 10 (2013a): 1795-1804
 Zhang, Y. et al., Gene 497 (2012b): 93-97
 Zhang, Y. et al., J Ovarian.Res 6 (2013b): 55
 10 Zhao, J. et al., Int.J Med.Sci. 11 (2014a): 1089-1097
 Zhao, J. G. et al., FEBS Lett. 588 (2014b): 4536-4542
 Zhen, T. et al., Oncotarget. 5 (2014): 3756-3769
 Zheng, M. et al., Breast Cancer Res Treat. 148 (2014): 423-436
 Zheng, M. Z. et al., J Transl.Med. 5 (2007): 36
 15 Zhong, M. et al., Mol.Cancer Res 8 (2010): 1164-1172
 Zhong, T. et al., Biomed.Pharmacother. 69 (2015): 317-325
 Zhou, X. et al., J Cancer Res Clin Oncol 141 (2015): 961-969
 Zhou, Y. et al., Front Biosci.(Landmark.Ed) 16 (2011): 1109-1131
 Zhou, Z. et al., Gastroenterology 147 (2014): 1043-1054
 20 Zhu, H. H. et al., Asian Pac.J Trop.Med. 7 (2014): 488-491
 Zhu, J. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 8 (2015a): 9479-9486
 Zhu, P. et al., Oncol Lett. 10 (2015b): 1487-1494
 Zigelboim, I. et al., J Clin Oncol 27 (2009): 3091-3096
 Zimmerman, K. M. et al., Mol.Cancer Res 11 (2013): 370-380
 25 Zocchi, M. R. et al., Blood 119 (2012): 1479-1489
 Zou, J. X. et al., Mol.Cancer Res 12 (2014): 539-549
 Zou, T. T. et al., Oncogene 21 (2002): 4855-4862

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Пептид, що має довжину до 30 амінокислот, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 323, або його фармацевтично прийнятна сіль.
- 35 2. Пептид за п. 1, де згаданий пептид має загальну довжину до 16 амінокислот.
3. Пептид за п. 1 або 2, де згаданий пептид складається з амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 323.
4. Пептид за будь-яким з пп. 1-3, де згаданий пептид є модифікованим і/або містить непептидні зв'язки.
- 40 5. Пептид за будь-яким із пп. 1-4, де згаданий пептид є частиною злитого білка, зокрема який містить N-термінальні амінокислоти антигенасоційованого інваріантного ланцюга (Ii) HLA-DR.
6. Т-клітинний рецептор, що реагує з лігандом HLA, де згаданий ліганд складається з амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 323.
7. Т-клітинний рецептор за п. 6, де згаданий Т-клітинний рецептор є розчинним або зв'язаним з мембраною.
- 45 8. Т-клітинний рецептор за п. 6 або 7, де згаданий Т-клітинний рецептор має додаткову ефекторну функцію, таку, яку несе імуностимулюючий домен або токсин.
9. Т-клітинний рецептор за будь-яким з пп. 6-8, де ліганд являє собою частину комплексу пептид-МНС.
- 50 10. Нуклеїнова кислота, що кодує пептид за будь-яким з пп. 1-5 або ТРК за будь-яким з пп. 6-9.
11. Нуклеїнова кислота за п. 10, де згадана нуклеїнова кислота зв'язана з гетерологічною послідовністю промотору або з вектором експресії, здатним експресувати згадану нуклеїнову кислоту.
12. Рекombінантна клітина-хазяїн, що містить пептид за будь-яким з пп. 1-5 або нуклеїнову кислоту, або вектор експресії за п. 10 або 11.
- 55 13. Рекombінантна клітина-хазяїн за п. 12, де згадана клітина-хазяїн є антигенпрезентуючою клітиною, такою як дендритна клітина.
14. Пептид за будь-яким з пп. 1-5, нуклеїнова кислота або вектор експресії за п. 10 або 11, або клітина-хазяїн за п. 12 або 13 для застосування у медицині для лікування раку.

15. Спосіб отримання пептиду за будь-яким з пп. 1-5 або Т-клітинного рецептора за будь-яким з пп. 6-9, що включає культивування клітини-хазяїна за п. 12 або 13, яка презентує пептид за будь-яким з пп. 1-5 або експресує нуклеїнову кислоту або вектор експресії за п. 10 або 11, і виділення згаданого пептиду або згаданого Т-клітинного рецептора з клітини-хазяїна або її культурального середовища.

16. Активованій Т-лімфоцит, отриманий згідно зі способом, що включає контактування Т-клітин *in vitro* з навантаженими антигенами молекулами МНС людини I або II класу, що експресуються на поверхні відповідної антигенпрезентуючої клітини, протягом періоду часу, достатнього для активації згаданих Т-клітин шляхом набуття ними специфічності до антигену, в якому згаданий антиген є пептидом за будь-яким з пп. 1-4, який селективно розпізнає клітину, яка презентує поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, визначену в будь-якому з пп. 1-4.

17. Застосування пептиду за будь-яким з пп. 1-5, нуклеїнової кислоти або вектора експресії за п. 10 або 11, клітини за п. 12 або 13 або активованого Т-лімфоцита за п. 16 у діагностиці і/або лікуванні раку або у виробництві лікарського засобу проти раку.

18. Застосування за п. 17, де згаданий рак вибраний з групи, що складається з гліобластоми, раку молочної залози, колоректального раку, нирково-клітинної карциноми, хронічного лімфоцитарного лейкозу, гепатоцелюлярної карциноми, недрібноклітинного і дрібноклітинного раку легенів, неходжкінської лімфоми, гострого мієлоїдного лейкозу, раку яєчника, раку підшлункової залози, раку передміхурової залози, раку стравоходу, включаючи рак шлунково-стравохідного сполучення, раку жовчного міхура і холангіокарциноми, меланому, раку шлунка, раку яєчка, раку сечового міхура або раку матки та інших пухлин, які виявляють надмірну експресію білка, з якого отриманий пептид з послідовністю SEQ ID NO: 323.

19. Терапевтичний комплект, що містить:

контейнер, що містить фармацевтичну композицію, яка містить пептид(и) за будь-яким з пп. 1-5, Т-клітинний рецептор за будь-яким з пп. 6-9, нуклеїнову(и) кислоту(и) або вектор(и) експресії за п. 10 або 11, клітину(и) за п. 12 або 13, або активований(и) Т-лімфоцит(и) за п. 16, у розчині або у ліофілізованій формі.

20. Терапевтичний комплект за п. 19, який додатково містить другий контейнер, що містить розріджувач або розчин для відновлення ліофілізованої композиції.

21. Терапевтичний комплект за п. 19 або 20, який додатково містить принаймні ще один пептид, що містить послідовність, вибрану з групи від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 417.

22. Терапевтичний комплект за будь-яким з пп. 19-21, який додатково містить інструкції із (i) застосування розчину або (ii) відновлення і/або застосування ліофілізованої композиції.

23. Спосіб отримання персоналізованої протиракової вакцини, де згаданий спосіб включає: а) ідентифікацію пухлиноасоційованих пептидів (TUMAP), які презентуються зразком пухлини від згаданого конкретного пацієнта; б) порівняння пептидів, ідентифікованих на етапі а), з пептидами зі сховища, які пройшли попередній скринінг на імуногенність і/або на надмірну презентацію у пухлинах у порівнянні з нормальними тканинами; в) вибір пептиду зі сховища, який відповідає TUMAP, ідентифікованому у пацієнта; і г) виготовлення персоналізованої вакцини на основі етапу в); при цьому згаданий пептид зі сховища являє собою пептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 323, за будь-яким з пп. 1-4.

24. Спосіб за п. 23, де згадані TUMAP ідентифікують за допомогою:

а1) порівняння даних експресії зі зразка пухлини з даними експресії зі зразка нормальної тканини, що відповідає типу тканини зразка пухлини, для ідентифікації білків, які надмірно експресуються або аберантно експресуються у зразку пухлини; і

а2) проведення кореляції даних експресії з послідовностями лігандів МНС, зв'язаних із молекулами МНС I класу і/або II класу, в зразку пухлини для ідентифікації лігандів МНС, отриманих із білків, що надмірно експресуються або аберантно експресуються пухлиною.

25. Спосіб за п. 23 або 24, де послідовності лігандів МНС ідентифікуються елююванням зв'язаних пептидів із молекулами МНС, виділених із зразка пухлини, і секвенуванням елюованих лігандів.

26. Спосіб за будь-яким з пп. 23-25, де нормальна тканина, що відповідає типу тканини зразка пухлини, отримана від того самого пацієнта.

27. Спосіб за будь-яким із пп. 21-25, де імуногенність пептидів, включених до сховища, визначають методом, що включає аналіз імуногенності *in vitro*, контроль імунного статусу пацієнта щодо зв'язування індивідуальних пептидів з молекулами HLA, забарвлювання МНС-мультимерами, аналіз методом ELISPOT і/або внутрішньоклітинне забарвлювання цитокінів.

28. Спосіб за будь-яким з пп. 23-27, що додатково включає ідентифікацію принаймні однієї мутації, що є унікальною для зразка пухлини, по відношенню до відповідної нормальної тканини

конкретного пацієнта, і вибір пептиду, який корелює з мутацією, для включення до складу вакцини або для отримання засобів клітинної терапії.

29. Спосіб за п. 28, де згадана принаймні одна мутація ідентифікується методом повногеномного секвенування.

5 30. Фармацевтична композиція, що містить принаймні один активний інгредієнт, вибраний з групи, що складається з:

а) пептиду, що містить послідовність SEQ ID NO: 323, де згаданий пептид має загальну довжину до 30 амінокислот;

б) Т-клітинного рецептора, що реагує з пептидом і/або комплексом пептид-MHC за а);

10 в) злитого білка, що містить пептид за а) і від 1 до 80 N-термінальних амінокислот антигенасоційованого інваріантного ланцюга (Ii) HLA-DR; г) нуклеїнової кислоти, що кодує будь-який з інгредієнтів від а) до в), або вектора експресії, що містить згадану нуклеїнову кислоту;

д) клітини-хазяїна, що містить вектор експресії за г);

15 е) активованого Т-лімфоцита, отриманого згідно зі способом, що включає контактування Т-клітин in vitro з пептидом за а), що експресується на поверхні відповідної антигенпрезентуючої клітини, протягом періоду часу, достатнього для активації згаданої Т-клітини шляхом набуття нею специфічності до антигену, а також способу перенесення цих активованих Т-клітин в організми аутологічних або інших пацієнтів;

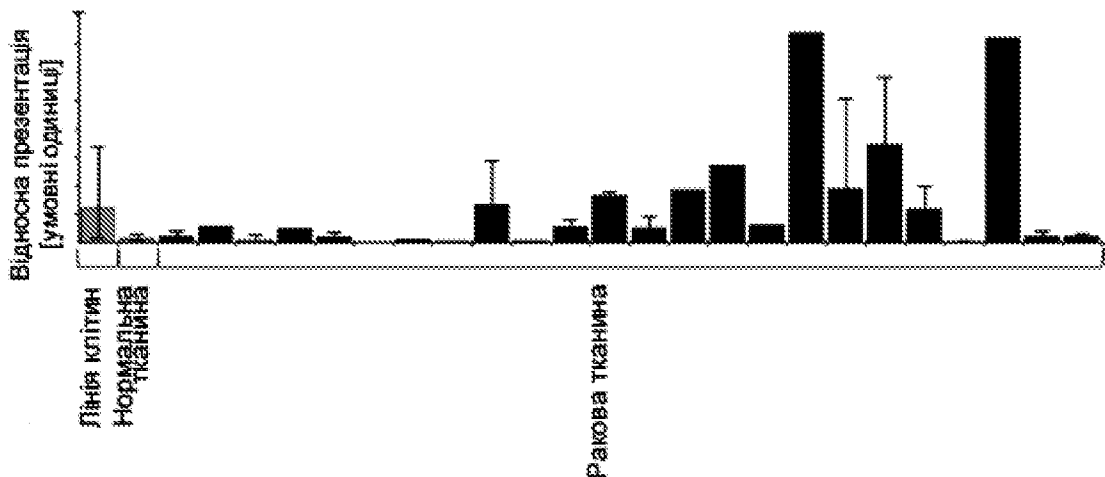
20 є) розчинного Т-клітинного рецептора, що реагує з пептидом і/або комплексом пептид-MHC за а) і/або клітиною, що презентує пептид за а), і потенційно модифікованої злиттям з імуноактивуючими доменами або токсинами;

ж) кон'югованого або міченого пептиду або каркасу за будь-яким з підпунктів від а) до є) і фармацевтично прийняттого носія.

25 31. Фармацевтична композиція за п. 30, яка додатково містить фармацевтично прийнятні допоміжні речовини і/або стабілізатори.

Пептид: LLLPLLPLSPSLG (A*02)

SEQ ID NO: 33

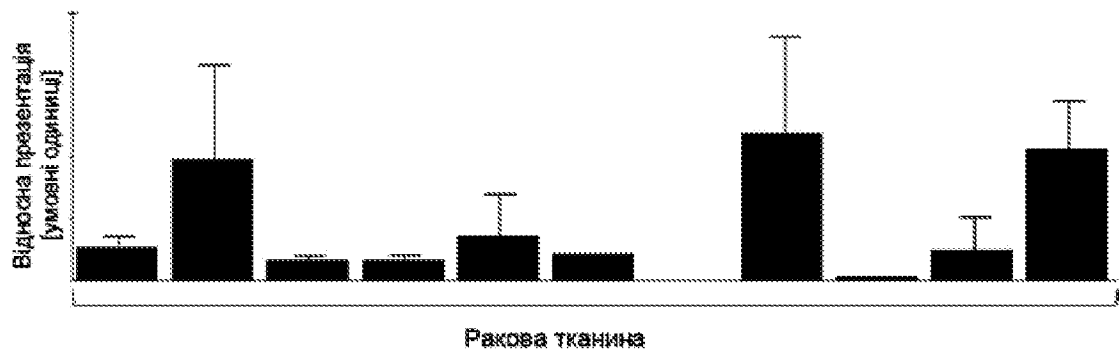


Пептид, виявлений на:

1 ліній клітин (1 підшлункова залоза), 1 нормальній тканині (1 щитоподібна залоза), 22 ракових тканинах (5 раків головного мозку, 1 рак молочної залози, 1 рак товстої кишки, 1 рак стравоходу, 1 рак жовчного міхура, 1 рак печінки, 10 раків легень, 1 рак підшлункової залози, 1 рак шлунка) (зліва направо)

Фігура 1А

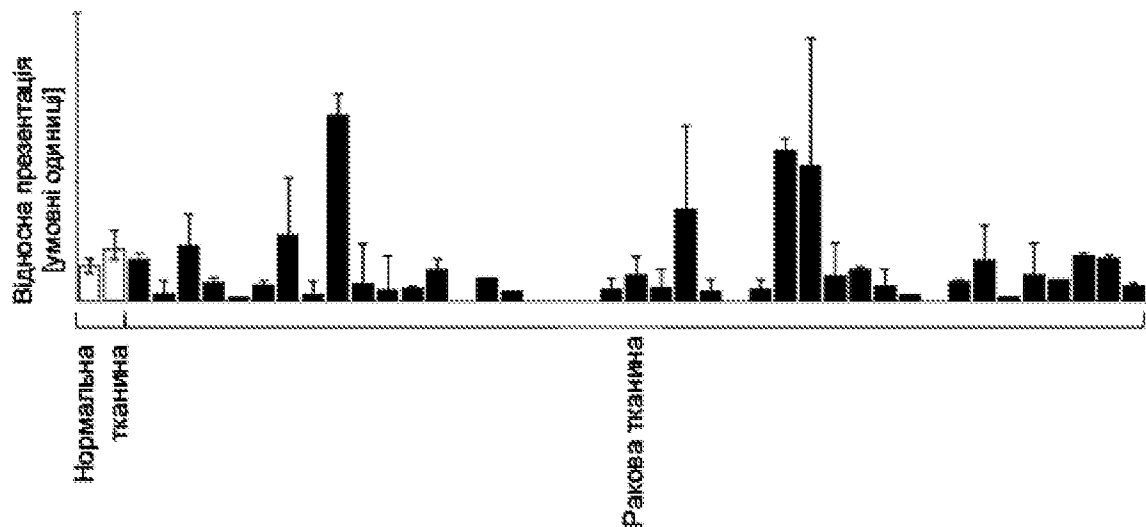
Пептид: NYIPVKNGKQF (A*24)
SEQ ID NO: 103



Пептид, виявлений на:
 11 ракових тканинах (1 рак головного мозку, 1 рак печінки, 8 раків легенів, 1 рак передміхурової залози) (зліва направо)

Фігура 1B

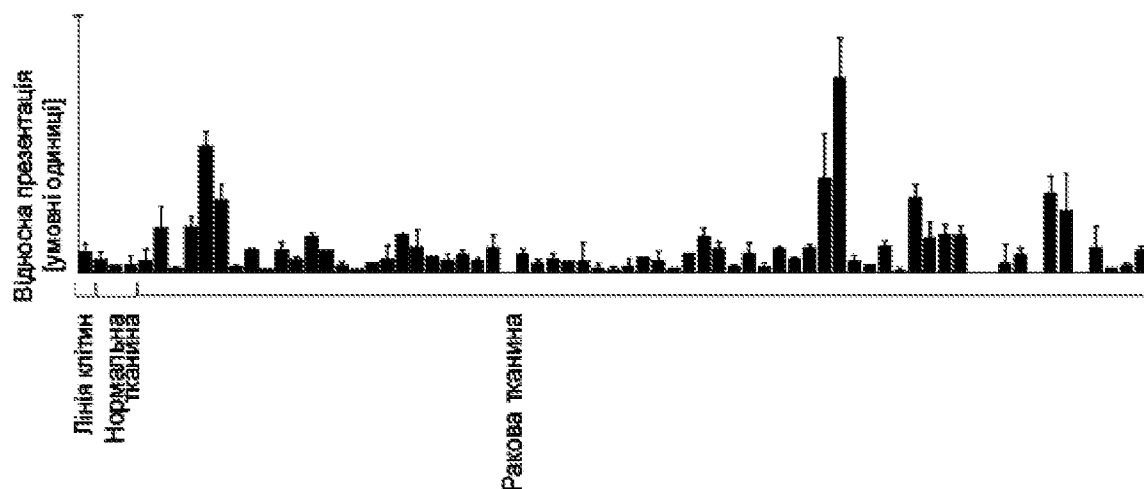
Пептид: EYLDRIGQLFF (A*24)
SEQ ID NO: 131



Пептид, виявлений на:
 2 нормальних тканинах (1 нирка, 1 легень), 41 раковій тканині (2 раки головного мозку, 1 рак нирки, 3 раки печінки, 29 раків легенів, 2 раки передміхурової залози, 4 раки шлунка) (зліва направо)

Фігура 1C

Пептид: FYINGQYQF (A*24)
SEQ ID NO: 176

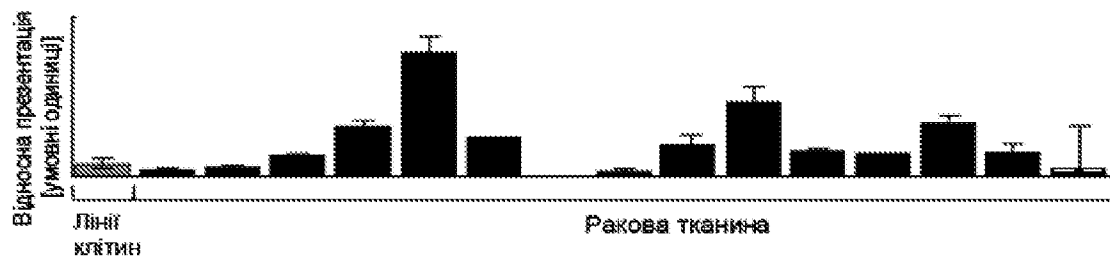


Пептид, виявлений на:

1 доброякісній гіперплазії передміхурової залози, 3 нормальних тканинах (1 нирка, 1 пілофіз, 1 шкіра), 67 ракових тканинах (4 раки головного мозку, 2 раки печінки, 42 раки легенів, 12 раків передміхурової залози, 7 раків шлунка) (зліва направо)

Фігура 1D

Пептид: HLYNNEEQV (A*02)
SEQ ID NO: 16

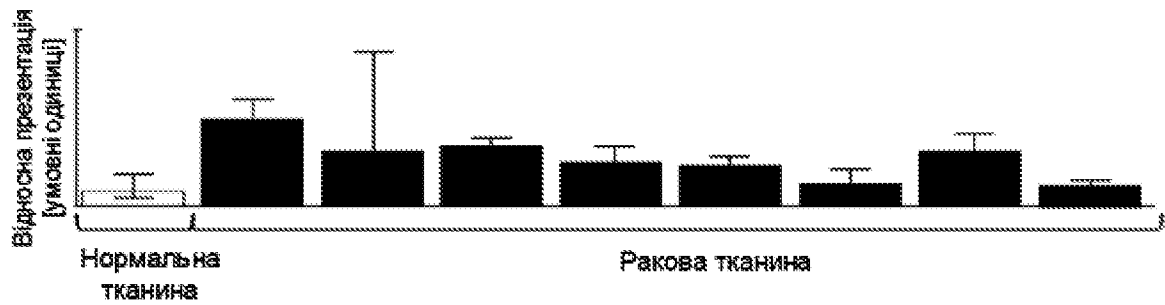


Пептид, виявлений на:

1 ліній клітин (підшлункова залоза), 15 ракових тканина (1 рак жовчних протоків, 1 рак стравоходу, 6 раків печінки, 5 раків легенів, 2 раки сечового міхура) (зліва направо)

Фігура 1E

Пептид: YVLPKLYVKL (A*02)
SEQ ID NO: 35



Пептид, виявлений на:
 1 нормальній тканині (1 зразок лейкоцитів), 8 ракових тканинах (1 рак голови та шиї, 3 раки лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак жовчного міхура, 1 рак товстої кишки, 1 рак лімфатичних вузлів) (зліва направо)

Фігура 1F

Пептид: SLLALPQDLQA (A*02)
SEQ ID NO: 40



Пептид, виявлений на:
 21 раковій тканині (1 рак жовчних протоків, 1 рак молочної залози, 3 раки товстої кишки, 1 рак прямої кишки, 6 раків легень, 2 раки яєчника, 1 рак передміхурової залози, 3 раки сечового міхура, 3 раки матки) (зліва направо)

Фігура 1G

Пептид: VLSPFILTL (A*02)
SEQ ID NO: 42

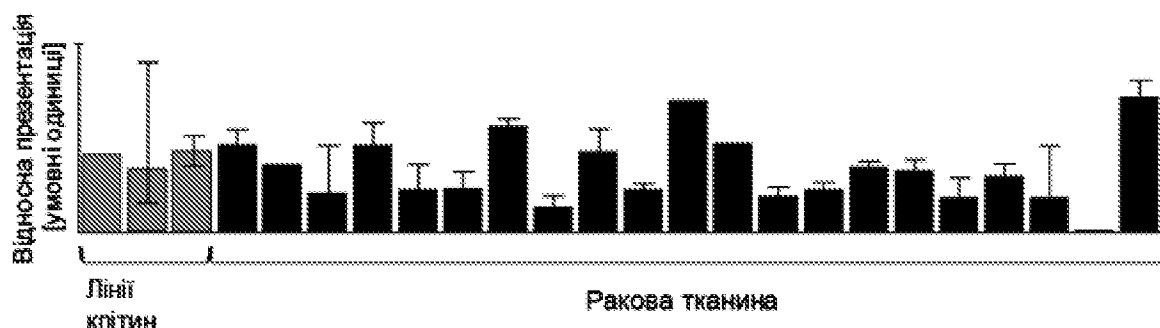


Пептид, виявлений на:

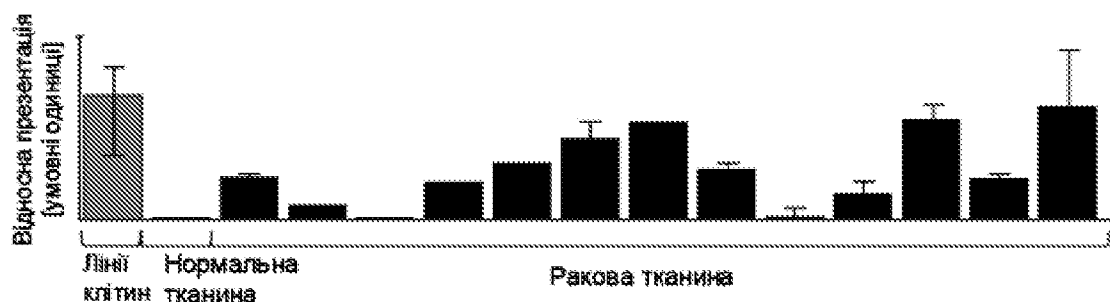
18 ракових тканинах (1 рак лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак молочної залози, 1 рак нирки, 6 раків легень, 3 раки лімфатичних вузлів, 2 раки яєчника, 2 раки сечового міхура, 1 рак матки) (зліва направо)

Фігура 1H

Пептид: SLLSHVIVA (A*02)
SEQ ID NO: 53



Пептид: FITDFYTTV (A*02)
SEQ ID NO: 66

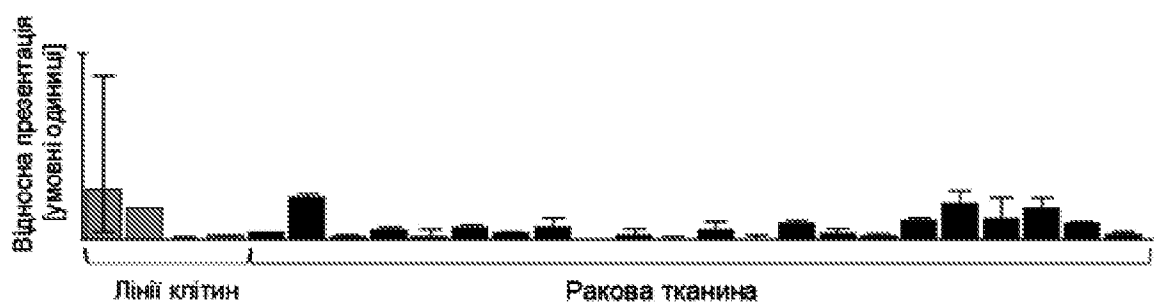


Пептид, виявлений на:

1 ліній клітин (1 шкіра), 1 нормальній тканині (1 товста кишка), 13 ракових тканинах (1 рак голови та шиї, 6 раків головного мозку, 1 рак товстої кишки, 1 рак печінки, 2 раки шкіри, 2 раки сечового міхура) (зліва направо)

Фігура 1J

Пептид: RLLPKVQEV (A*02)
SEQ ID NO: 325



Пептид, виявлений на:

4 ліній клітин (2 зразки клітин крові, 1 нирка, 1 товста кишка), 22 ракових тканинах (1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак молочної залози, 1 рак стравоходу, 4 раки товстої кишки, 1 рак прямої кишки, 10 раків легенів, 2 раки яєчника, 1 рак шлунка, 1 рак сечового міхура) (зліва направо)

Фігура 1K

Пептид: VLGPGPPPL (A*02)
SEQ ID NO: 339



Пептид, включенный на:

4 ліній клітин (1 нирка, 1 підшлункова залоза), 19 ракових тканинах (4 раки лейкоцитів, 1 рак мієлоїдних клітин, 1 рак кісткового мозку, 2 раки головного мозку, 1 рак печінки, 2 раки легень, 6 раків лімфатичних вузлів, 1 рак шкіри, 1 рак матки) (зліва направо)

Φίρσα 1Ε

Пептид: VYVQILQKL (A*24)
SEQ ID NO: 111



Пептид, выделенный из:

1 нормальній тканині (1 печінка), 32 ракових тканинах (4 раки печінки, 24 раки легенів, 6 раків шлунка) (зліва направо)

Φίλητα 134

Пептид: IYSFHTLSF (A*24)
SEQ ID NO: 113



Пептид, виявлений на:
 28 ракових тканинах (1 рак передміхурової залози, 1 рак головного мозку, 25 раків легенів, 2 раки шлунка) (зліва направо)

Фігура 1N

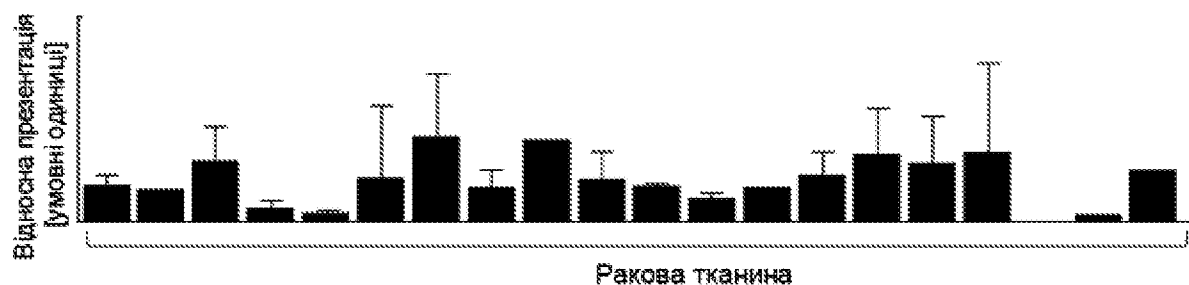
Пептид: RYLKSFVL (A*24)
SEQ ID NO: 115



Пептид, виявлений на:
 1 нормальній тканині (1 шлунок), 25 ракових тканинах (1 рак головного мозку, 2 раки печінки, 17 раків легенів, 2 раки передміхурової залози, 3 раки шлунка) (зліва направо)

Фігура 1O

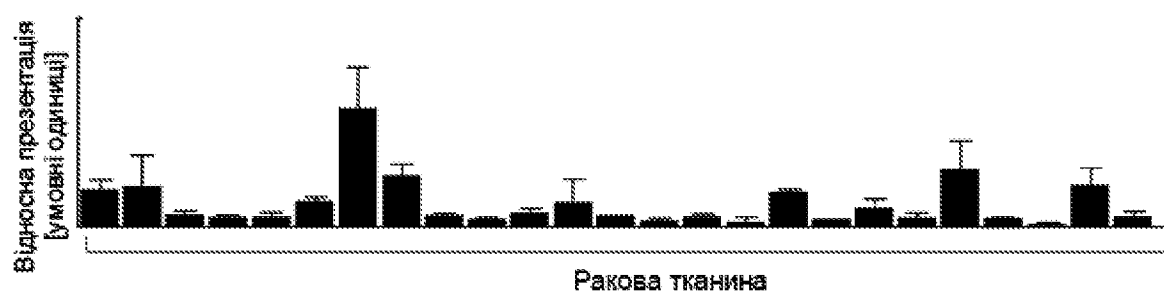
Пептид: RYGLPAAWSTF (A*24)
SEQ ID NO: 121



Пептид, виявлений на:
 20 ракових тканинах (2 раки печінки, 17 раків легенів, 1 рак шлунка) (зліва направо)

Фігура 1P

Пептид: VYALKVRTI (A*24)
SEQ ID NO: 145



Пептид, виявлений на:
 25 ракових тканинах (25 раків легенів) (зліва направо)

Фігура 1Q

Пептид: SYGTVSQIF (A*24)
SEQ ID NO: 148

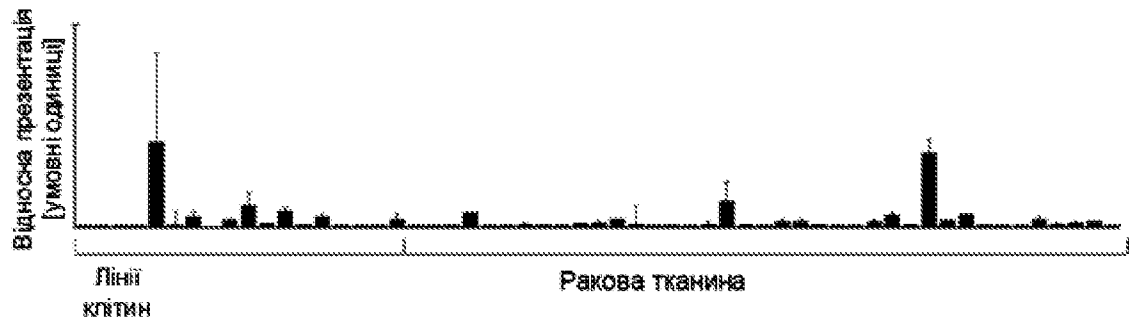


Пептид, виявлений на:

5 нормальних тканинах (1 печінка, 3 легені, 1 гіпофіз), 100 ракових тканинах (10 раків головного мозку, 4 раки печінки, 74 раки легенів, 1 рак передміхурової залози, 11 раків шлунка) (зліва направо)

Фігура 1R

Пептид: IYKWITDNF (A*24)
SEQ ID NO: 155

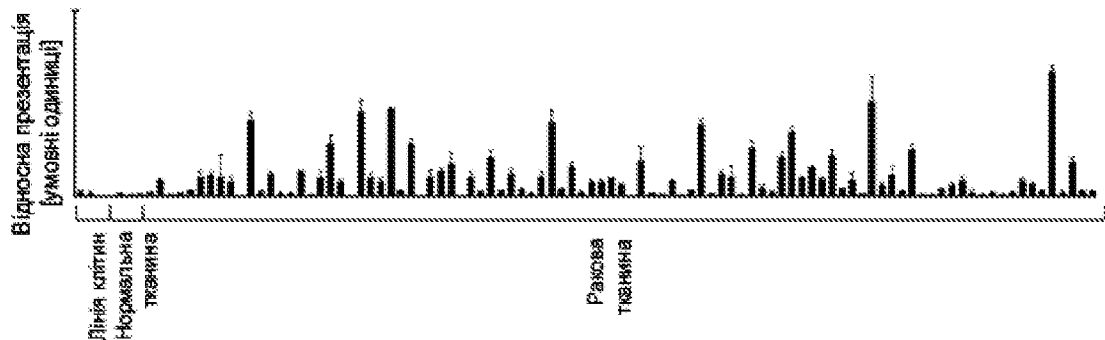


Пептид, виявлений на:

4 нормальних тканинах (4 нирки), 53 ракових тканинах (10 раків головного мозку, 1 рак печінки, 26 раків легенів, 1 рак передміхурової залози, 15 раків шлунка) (зліва направо)

Фігура 1S

Пептид: KYTSYLAF (A*24)
SEQ ID NO: 162



Пептид, виявлений на:

3 лінійні клітини (3 передміхурові залози), 4 нормальних тканинах (1 печінка, 1 легень, 1 підшлункова залоза, 1 шлунок), 95 ракових тканинах (1 рак нирки, 5 раків печінки, 71 рак легень, 2 раки передміхурової залози, 16 раків шлунка) (зліва направо)

Фігура 1T

Пептид: EYFTPLLSGQF (A*24)
SEQ ID NO: 165



Пептид, виявлений на:

10 ракових тканинах (10 раків легень) (зліва направо)

Фігура 1U

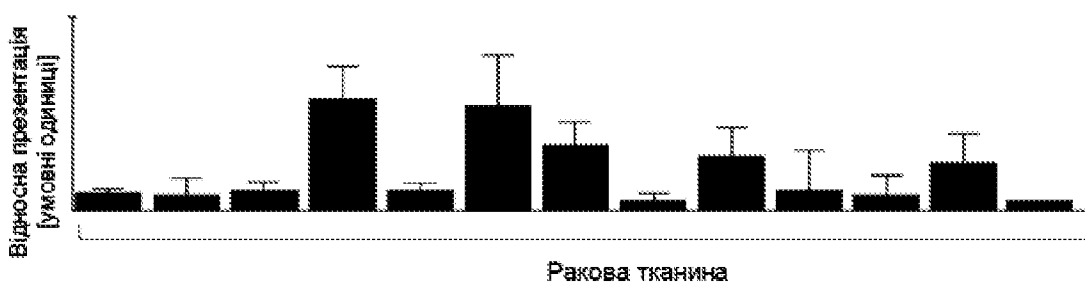
Пептид: LYSPVPFTL (A*24)
SEQ ID NO: 175



Пептид, виявлений на:
 42 ракових тканинах (4 раки головного мозку, 1 рак печінки, 30 раків легень, 7 раків шлунка)
 (зліва направо)

Фігура 1V

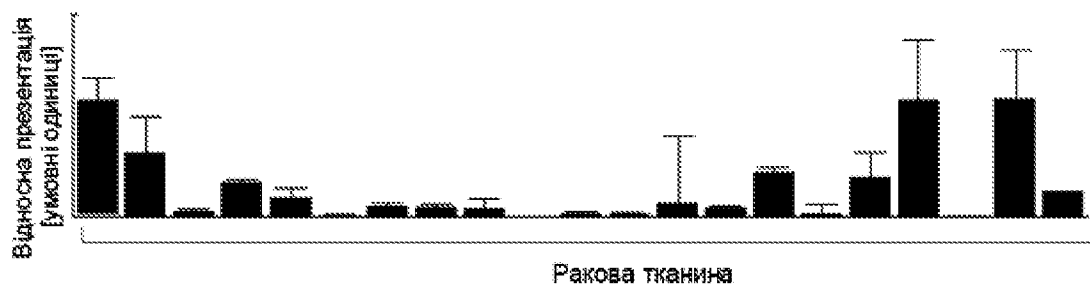
Пептид: EYnSDLHQFF (A*24)
SEQ ID NO: 345



Пептид, виявлений на:
 13 ракових тканинах (3 раки головного мозку, 10 раків легень) (зліва направо)

Фігура 1W

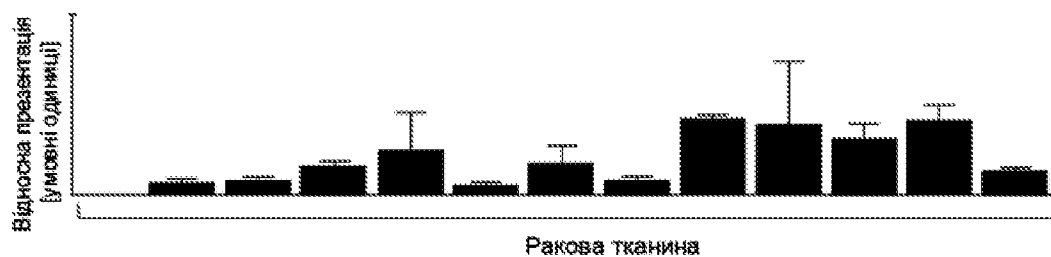
Пептид: IYVIPQRHF (A*24)
SEQ ID NO: 346



Пептид, виявлений на:
 21 раковій тканині (3 раки головного мозку, 1 рак нирки, 1 рак печінки, 14 раків легень, 2 раки шлунка) (зліва направо)

Фігура 1X

Пептид: VYNEQIRDLL (A*24)
SEQ ID NO: 354



Пептид, виявлений на:
 13 ракових тканинах (1 рак головного мозку, 11 раків легень, 1 рак шлунка) (зліва направо)

Фігура 1Y

Пептид: VFSPDGHFLF (A*24)
SEQ ID NO: 360

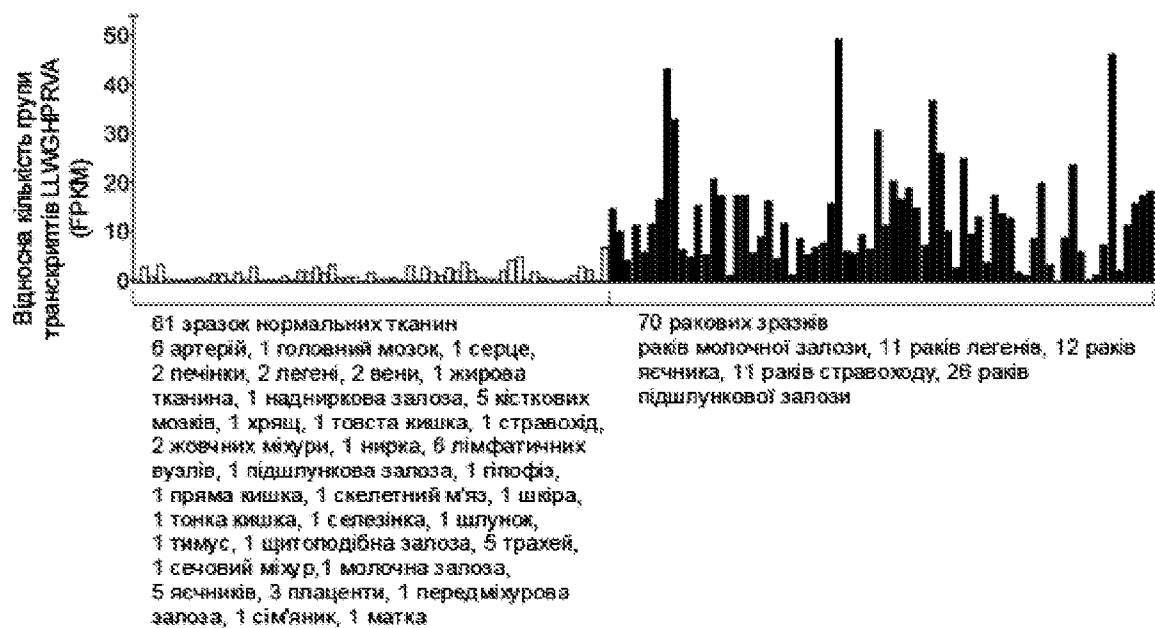


Пептид, виявлений на:

33 ракових тканинах (4 раки печінки, 27 раків легенів, 1 рак передміхурової залози, 1 рак шлунка)
(зліва направо)

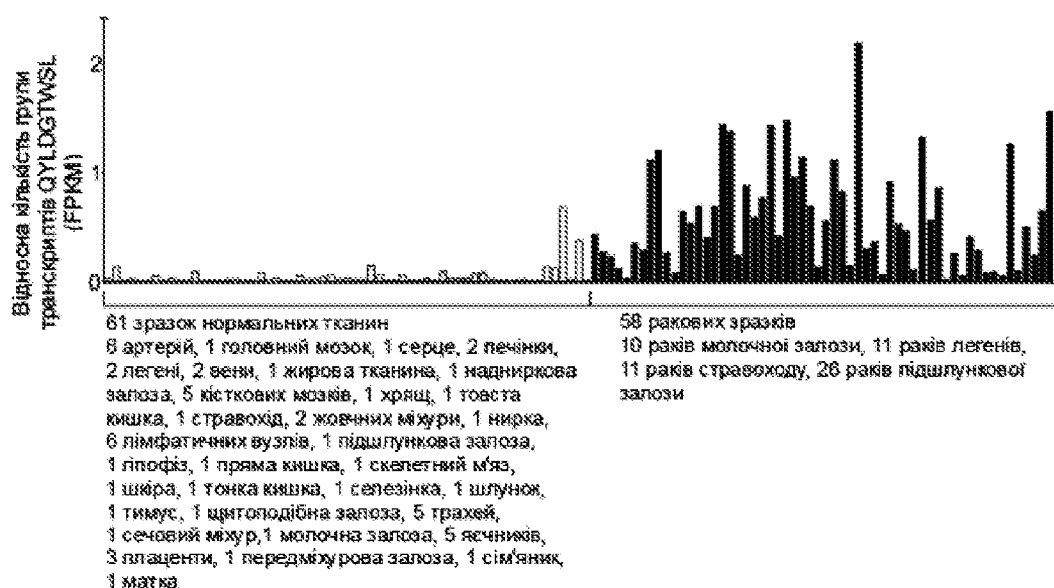
Фігура 1Z

Ген: MXRA5
Пептид: LLWGHPRVA
SEQ ID NO: 78



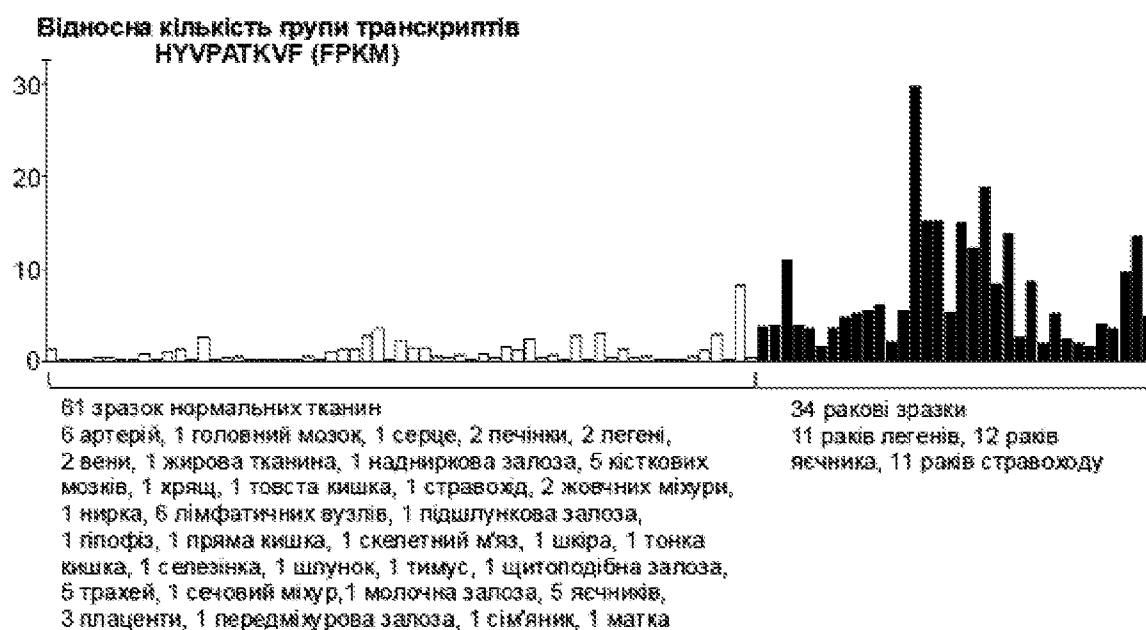
Фігура 2A

Ген: KIF26B
Пептид: QYLDGTWSL
SEQ ID NO: 114



Фігура 2B

Ген: IL4I1
Пептид: HYVPATKVF
SEQ ID NO: 164



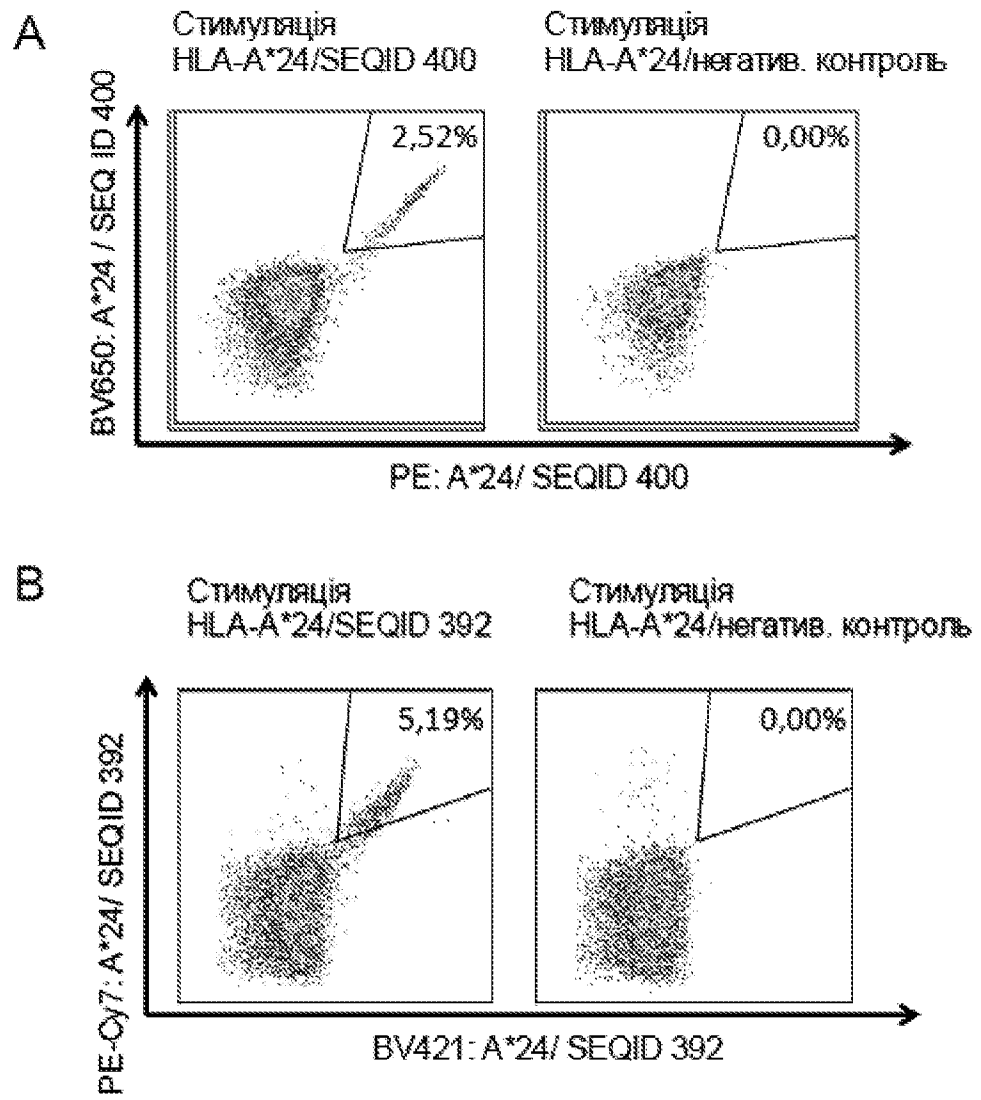
Фігура 2C

Ген: TP63
Пептид: LYLENNAQTQF
SEQ ID NO: 193

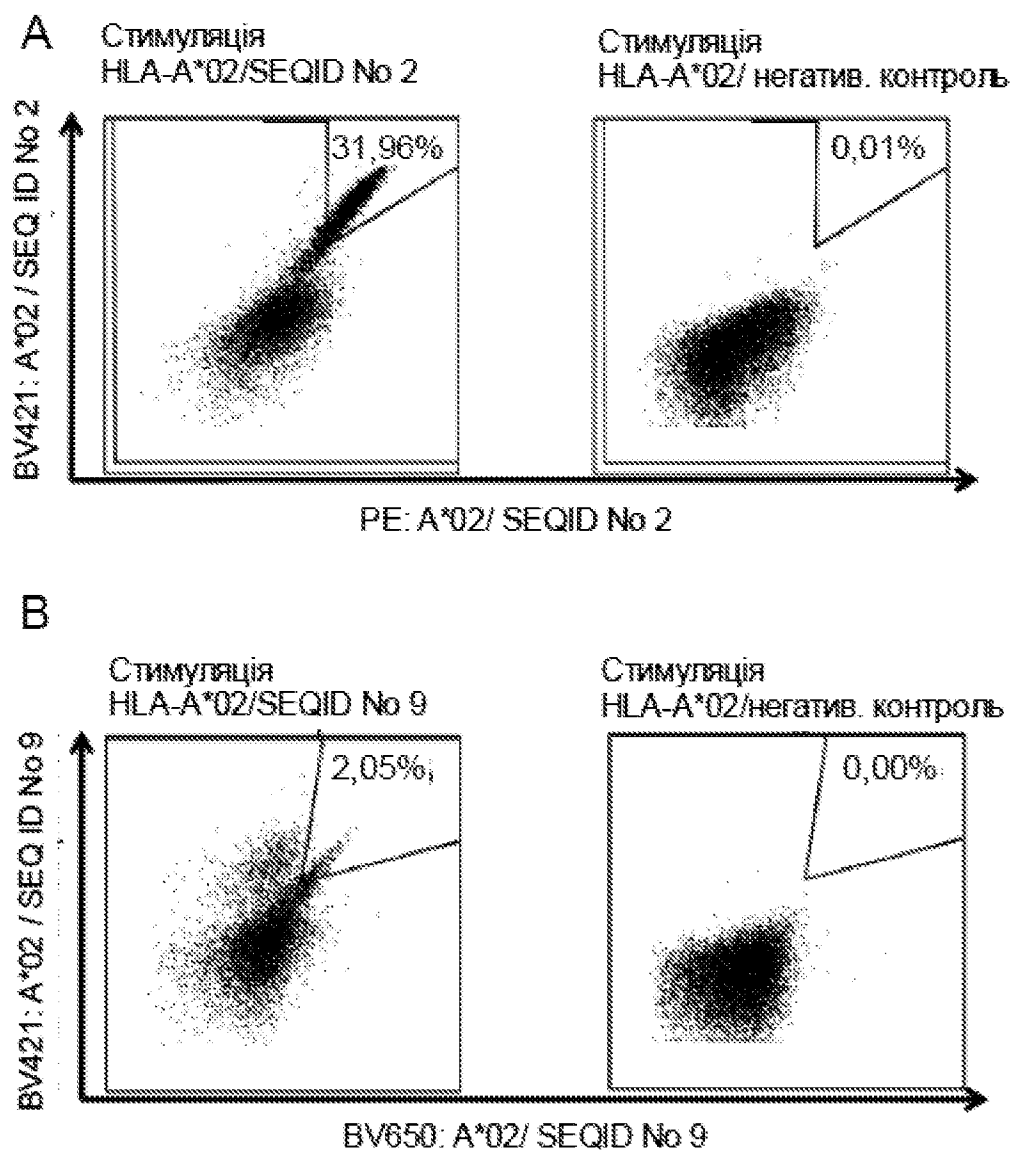
Відносна кількість групи транскриптів LYLENNAQTQF (FPKM)



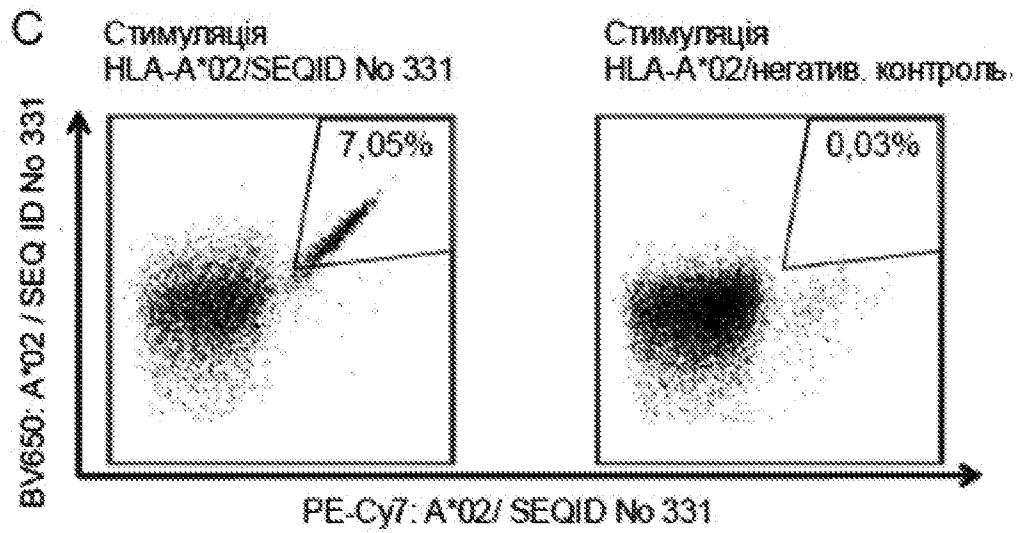
Фігура 2D



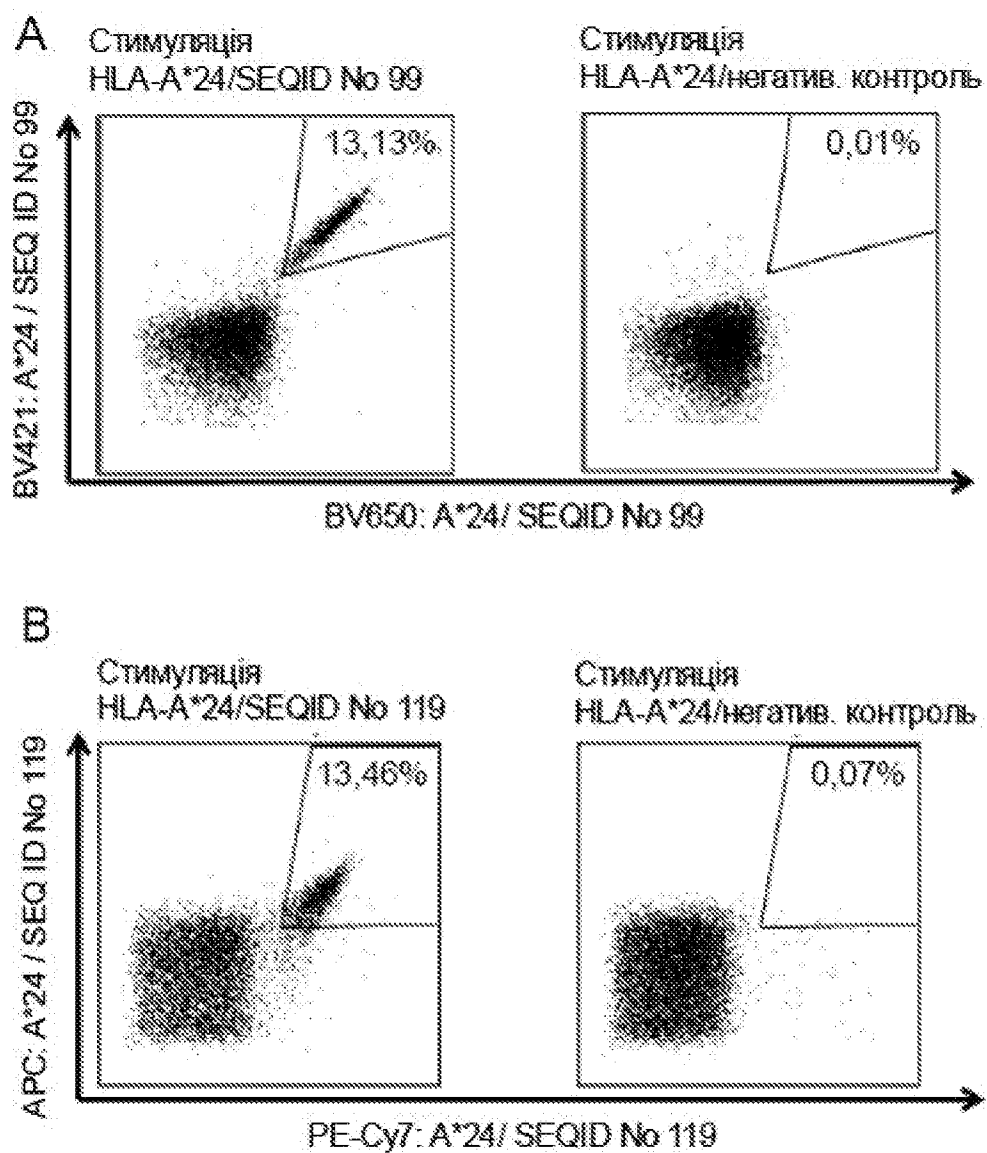
Фігура 3



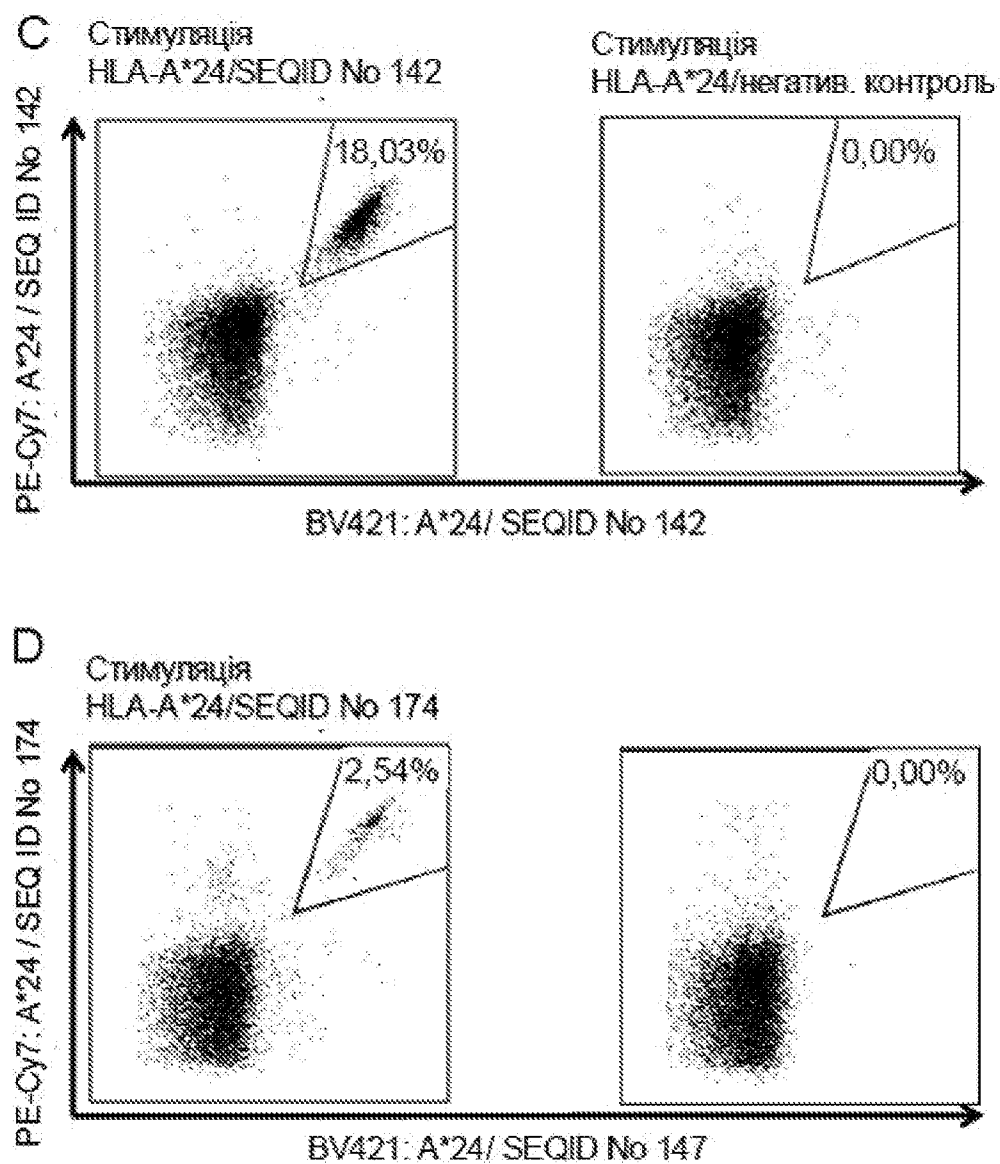
Фігура 4



Фігура 4 (продовж.)



Фігура 5



Фігура 5 (продовж.)