



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I658050 B

(45)公告日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：105140762

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 12 月 09 日

(51)Int. Cl.：

*C07K14/725 (2006.01)**C07K16/28 (2006.01)**C12N15/12 (2006.01)**C12N5/0783 (2010.01)**A61K39/395 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2015/12/10 美國

62/265,615

2015/12/10 英國

1521746.6

(71)申請人：德商英麥提克生物技術股份有限公司 (德國) IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH (DE)

德國

(72)發明人：馬爾 安德列 MAHR, ANDREA (DE)；文史恩克 湯尼 WEINSCHENK, TONI (DE)；維比 艾尼塔 WIEBE, ANITA (DE)；史古兒 奧利佛 SCHOOR, OLIVER (DE)；弗里切 金斯 FRITSCH, JENS (DE)；辛格 哈皮特 SINGH, HARPREET (DE)

(74)代理人：李世章；彭國洋

(56)參考文獻：

US 2012/0183552A1

WO 2011/073905A1

審查人員：黃教威

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：3 共 403 頁

(54)名稱

用於抗 CLL 及其他癌症之免疫治療的新穎胜肽及胜肽組合物

NOVEL PEPTIDES AND COMBINATION OF PEPTIDES FOR USE IN IMMUNOTHERAPY AGAINST CLL AND OTHER CANCERS

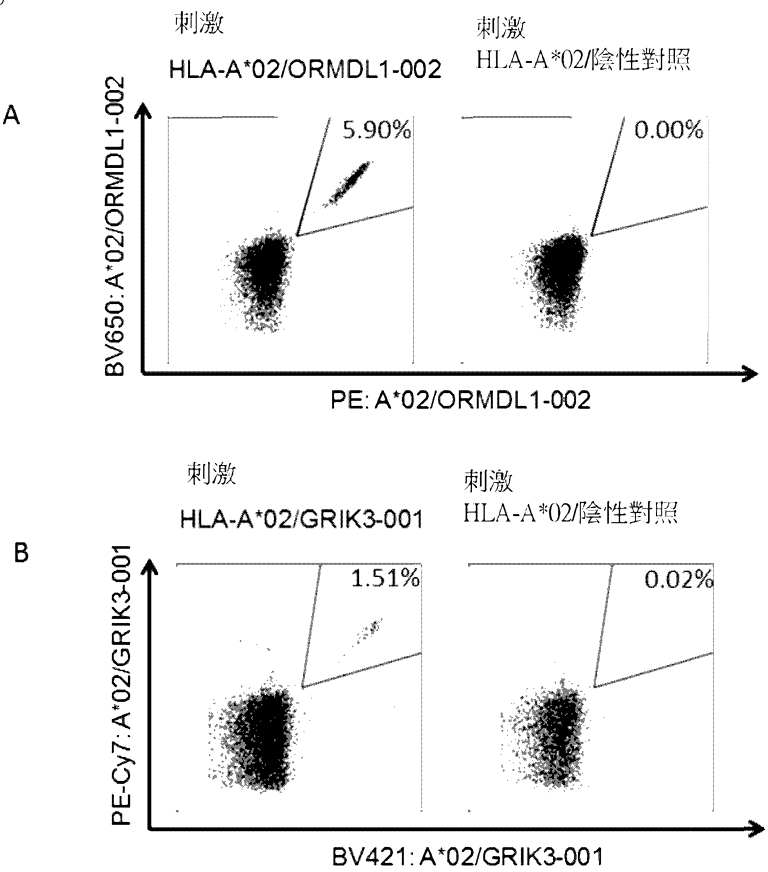
(57)摘要

本發明涉及用於免疫治療方法的肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關肽（刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激 T 細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關 T 細胞(CTL)肽表位。與主要組織相容性複合體(MHC)分子結合的肽或與此同類的肽也可能是抗體、可溶性 T 細胞受體和其他結合分子的靶標。

The present invention relates to peptides, proteins, nucleic acids and cells for use in immunotherapeutic methods. In particular, the present invention relates to the immunotherapy of cancer. The present invention furthermore relates to tumor-associated T-cell peptide epitopes, alone or in combination with other tumor-associated peptides that can for example serve as active pharmaceutical ingredients of vaccine compositions that stimulate anti-tumor immune responses, or to stimulate T cells ex vivo and transfer into patients. Peptides bound to molecules of the major histocompatibility complex (MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

指定代表圖：

圖 3



## 【發明說明書】

【中文發明名稱】用於抗CLL及其他癌症之免疫治療的新穎胜肽及胜肽組合物

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND COMBINATION OF PEPTIDES  
FOR USE IN IMMUNOTHERAPY AGAINST CLL AND OTHER CANCERS

### 【技術領域】

【0001】 本發明涉及用於免疫治療方法的肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關肽（刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激T細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關T細胞（CTL）肽表位。與主要組織相容性複合體（MHC）分子結合的肽或與此同類的肽也可能是抗體、可溶性T細胞受體和其他結合分子的靶標。

【0002】 本發明涉及數種新型肽序列及其變體，它們源自人腫瘤細胞的HLA-I類分子，可用于引發抗腫瘤免疫反應的疫苗組合物中或作為開發藥物/免疫活性化合物和細胞的目標。

### 【先前技術】

【0003】 慢性淋巴細胞性白血病（CLL）是含有形態學成熟、免疫學上不完全成熟B淋巴細胞的B細胞腫瘤。當外周血中存在至少5000個B淋巴細胞/ $\mu$ l、其中高達55%的為不成熟細胞時可確診CLL。異常B細胞顯示表達CD19、dim CD20、dim CD5、CD23、CD79a

和 dim IgM 或 dim IgD 的特徵表型 (Gribben, 2010)。

【0004】 兩種不同分期系統可用於分類CLL：Rai系統和Binet系統。Rai分期系統包括根據異常細胞進行性累積將疾病分類為五個階段(0-IV)。Binet系統根據累及位置數量使用三個階段(A、B、C)對疾病進行分(<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/CLL/Patient>)。

【0005】 CLL主要是一種老年人疾病。診斷時平均年齡散發性病例為72歲，家族性病例為58歲。男性CLL發生率高於女性，男性與女性的比例約為2:1(Cartwright et al., 2002)。

【0006】 CLL是西方世界最常見的白血病，其中大約占全部白血病病例的1/3。美國和歐洲的發病率相似，估計每年新發病例約有16,000名。CLL在白種人中比非洲人更常見，在西班牙裔和本土美國人中較罕見，在亞洲人中很少見。在亞洲血統的人群中，CLL的發生率比白種人低3倍(Gunawardana et al., 2008)。

【0007】 CLL 患者的五年總生存率約為 79% (<http://www.cancer.net/cancer-types/leukemia-chronic-lymphocytic-cll/statistics>)。個體患者的預後取決於診斷時的疾病階段和若干預後因素的發生情況。按照Rai系統，0期患者的中位生存期為10年或更長，而I/II期患者的中位生存期為7年，III/IV期患者



為 0.75 - 4 年 (Gribben, 2010)。數個因素與 CLL 預後不良相關。這些包括 ZAP-70 或 CD38 高水準表達、Ig VH 未突變狀態和細胞遺傳學畸變 del 17p 或 del 11q (Gribben, 2010)。

【0008】雖然目前 CLL 不可治癒，但是很多患者只顯示緩慢的病情進展或症狀惡化。由於患者並沒有從早期治療中獲益，因此最初方法是「觀望和等待」(Richards et al., 1999)。對於有症狀或疾病進展迅速的患者，有幾種治療方案可供選擇。這些包括化學療法、靶向治療、基於免疫的療法（如單克隆抗體、嵌合抗原受體 (CAR) 和主動免疫療法）和幹細胞移植。

【0009】用於 CLL 治療的化療藥物大多是烷化劑（如苯丁酸氮芥和環磷醯胺）或嘌呤類似物（如氟達拉濱）。德國 CLL 研究組 (GCLLSG) CCL4 表明，氟達拉濱 / 環磷醯胺組合療法優於氟達拉濱單一治療（完全緩解 (CR) 為 24% vs. 7%）(Eichhorst et al., 2006)。

【0010】Ibrutinib 和 idelalisib 是靶向作用於 B 細胞受體信號級聯中分子的激酶抑制劑。Ibrutinib 抑制 Bruton 酪氨酸激酶 (BTK)，這是一種對 B 細胞成熟重要的 src 相關細胞質酪氨酸激酶，用於初始或二線治療 (Byrd et al., 2013; O'Brien et al., 2014)。Idelalisib 是與利妥昔單抗聯合使用於難治性 CLL 的一種 PI3K- $\delta$  抑制劑 (Furman et al., 2014)。

【0011】 造血幹細胞移植 (H S C T) 可以考慮用於預後不良的患者，例如，有  $del\ 17p$  或  $p53$  突變的患者。H S C T 可以是同種異體形式，其中移植的細胞由 H L A 匹配人員捐贈，也可以是自體形式，其中在化療後再輸注患者自己的幹細胞 (S c h e t e l i g et al., 2008)。

【0012】 單克隆抗體被廣泛應用於血液惡性疾病。這是由於基於免疫細胞表面分子良好表徵和血液或骨髓腫瘤細胞可取性瞭解了合適的抗原。C L L 治療中所用的常見單克隆抗體靶向作用於 C D 20 或 C D 52。利妥昔單抗是第一個被 F D A 批准用於治療 N H L 的單克隆抗 C D 20 抗體，現已廣泛應用於 C L L 治療。與氟達拉濱/環磷醯胺組合治療相比，利妥昔單抗/氟達拉濱/環磷醯胺組合治療帶來了更高的 C R 率並提高了總生存率 (O S)，後者已成為首選治療方案 (G C L L S G C L L 8) (H a l l e k et al., 2008)。O f a t u m o m a b 靶向作用於 C D 20，用於治療難治性 C L L 患者 (W i e r d a et al., 2011)。O b i n u t u z u m a b 是與苯丁酸氮芥組合的一線治療中使用的另一種單克隆抗 C D 20 抗體 (G o e d e et al., 2014)。

【0013】 阿倫單抗是一種抗 C D 52 抗體，用於治療化療耐藥性疾病患者或存在不良預後因素（如  $del\ 17p$  或  $p53$  突變）的患者 (P a r i k h et al., 2011)。新型單克隆抗體靶向作用於 C D 37 (o t l e r t u z u m a b、B I 836826、I M G N 529 和 (177) L u - t e t u l o m a b) 或

CD40 ( d a c e t u z u m a b 和 l u c a t u m u m a b ) ，並在臨床前環境中進行了測試 ( R o b a k a n d R o b a k , 2 0 1 4 ) 。

【0014】 幾項已完成和正在進行的試驗是基於具有CD19 特異性的工程自體嵌合抗原受體 ( C A R ) 修飾的T細胞 ( M a u s e t a l . , 2 0 1 4 ) 。到目前為止，只有少數患者顯示出可檢測到或持續性的嵌合抗原受體。P o r t e r 等人和 K a l o s 等人在嵌合抗原受體 T細胞試驗中檢測到了一例部分反應 ( P R ) 和 2 例完全反應 ( C R ) ( K a l o s e t a l . , 2 0 1 1 ; P o r t e r e t a l . , 2 0 1 1 ) 。

【0015】 主動免疫治療包括以下策略：基因治療、整體修飾的腫瘤細胞疫苗、基於 D C 的疫苗和腫瘤相關抗原 ( T A A ) 衍生肽疫苗。

【0016】 基因治療方法利用自體基因修飾腫瘤細胞。這些 B - C L L 細胞用免疫(共)刺激基因(如 I L - 2 、 I L - 1 2 、 T N F -  $\alpha$  、 G M - C S F 、 C D 8 0 、 C D 4 0 L 、 L F A - 3 和 I C A M - 1 ) 轉染，以提高抗原表現和 T細胞活化 ( C a r b a l l i d o e t a l . , 2 0 1 2 ) 。雖然很容易觀察到腫瘤細胞中的特異性 T細胞應答和減少，但是免疫應答僅僅是短暫性的。

【0017】 幾項研究已經使用自體 D C 作為抗原表現細胞來引起抗腫瘤反應。D C 已經在體外載有腫瘤相關肽、全腫瘤細胞裂解物、腫瘤衍生 R N A 或 D N A 。另一種策略採用全腫瘤細胞與 D C 融合並產生 D C - B - C L L 細胞雜合物。轉染的 D C 引發 C D 4 + 和 C D 8 + T細胞應答 ( M u l l e r

et al., 2004)。載有腫瘤細胞裂解物或凋亡體的融合雜合體和DC增加腫瘤特異性CD8+ T細胞應答。顯示出臨床反應的患者IL-12血清水準增加，Tregs數量減少(Palma et al., 2008)。

【0018】不同的方法使用改變的腫瘤細胞來引發或增加CLL特異性免疫應答。本策略的一個實例是產生三瘤細胞：B-CLL細胞融合至具有抗APC特異性的抗Fc受體表達雜交瘤細胞。三瘤細胞誘在體外誘導CLL特異性T細胞應答(Kronenberger et al., 2008)。

【0019】另一種策略利用以芽孢桿菌卡介苗作為佐劑的照射自體CLL細胞充當一種疫苗。數名患者顯示白細胞水準下降或病情穩定(Hus et al., 2008)。除了分離的CLL細胞之外，在製備於血液治療單位後，使用來自CLL患者的全血作為疫苗。該疫苗引發CLL特異性T細胞反應，並在幾名患者中帶來部分臨床反應或穩定病情(Spaner et al., 2005)。

【0020】幾種TAA在CLL中過度表達並適於接種。這些包括纖維調節素(Mayr et al., 2005)、RHAMM/CD168(Giannopoulos et al., 2006)、MDM2(Mayr et al., 2006)、hTERT(Counter et al., 1995)、癌胚抗原未成熟層粘連蛋白受體蛋白質(OFAiLRP)(Siegel et al., 2003)、脂肪分化相關蛋白(Schmidt et al., 2004)、生存素(Granziero et al., 2001)、KW1至KW14(Krackhardt et al.,

2002) 以及腫瘤衍生Ig VHCDR3區域 (Harig et al., 2001; Carballido et al., 2012)。一項I期臨床試驗使用RHAMM衍生R3肽作為疫苗。6名患者中有5名可檢測到R3特異性CD8<sup>+</sup>T細胞應答 (Giannopoulos et al., 2010)。

【0021】考慮到治療癌症相關的嚴重副作用和費用，通常有必要確定可用於治療癌症的因子，尤其是CLL。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是CLL，從而更好地診斷癌症、評估預後和預測治療成功性。

【0022】癌症免疫治療代表了癌症細胞特異性靶向作用的一個選項，同時最大限度地減少副作用。癌症免疫療法利用存在的腫瘤相關抗原。

【0023】腫瘤相關抗原(TAA)的目前分類主要包括以下幾組：

a) 癌-睪丸抗原：T細胞能夠識別的最先確認的TAA屬於這一類抗原，由於其成員表達于組織學相異的人腫瘤中、正常組織中、僅在睪丸的精母細胞/精原細胞中、偶爾在胎盤中，因此，它最初被稱為癌-睪丸(CT)抗原。由於睪丸細胞不表達HLA I類和II類分子，所以，在正常組織中，這些抗原不能被T細胞識別，因此在免疫學上可考慮為具有腫瘤特異性。CT抗原大家熟知的例子是MAGE家族成員和NY-ESO-1。

b) 分化抗原：腫瘤和正常組織（腫瘤源自該組織）都含有 T A A。大多數已知的分化抗原發現於黑色素瘤和正常黑色素細胞中。許多此類黑色素細胞譜系相關蛋白參與黑色素的生物合成，因此這些蛋白不具有腫瘤特異性，但是仍然被廣泛用於癌症的免疫治療。例子包括，但不僅限於，黑色素瘤的酪氨酸酶和 M e l a n - A / M A R T - 1 或攝護腺癌的 P S A。

c) 過量表達的 T A A：在組織學相異的腫瘤中以及許多正常組織中都檢測到了基因編碼被廣泛表達的 T A A，一般表達水準較低。有可能許多由正常組織加工和潛在表現的表位低於 T 細胞識別的閾值水準，而它們在腫瘤細胞中的過量表達能夠透過打破先前確立的耐受性而引發抗癌反應。這類 T A A 的典型例子為 H e r - 2 / n e u、生存素、端粒酶或 W T 1。

d) 腫瘤特異性抗原：這些獨特的 T A A 產生于正常基因（如  $\beta$  - c a t e n i n、C D K 4 等）的突變。這些分子變化中有一些與致瘤性轉化和 / 或進展相關。腫瘤特異性抗原一般可在不對正常組織帶來自體免疫反應風險的情況下誘導很強的免疫反應。另一方面，這些 T A A 在多數情況下只與其上確認了有 T A A 的確切腫瘤相關，並且通常在許多個體腫瘤之間並不都共用 T A A。在含有腫瘤特定（相關）同種型蛋白的情況下，如果肽源自腫瘤（相關）外顯子也可能出現肽腫瘤特異性（或相關性）。

e) 由異常翻譯後修飾產生的TAA：此類TAA可能由腫瘤中既不具有特異性也不過量表達的蛋白產生，但其仍然具有腫瘤相關性（該相關性由主要對腫瘤具有活性的翻譯後加工所致）。此類TAA產生於變糖基化模式的改變，導致腫瘤產生針對MUC1的新型表位或在降解過程中導致諸如蛋白拼接的事件，這可能具有也可能不具有腫瘤特異性。

f) 腫瘤病毒蛋白：這些TTA是病毒蛋白，可在致癌過程中發揮關鍵作用，並且由於它們是外源蛋白（非人源蛋白），所以能夠激發T細胞反應。這類蛋白的例子有人乳頭狀瘤16型病毒蛋白、E6和E7，它們在宮頸癌中表達。

【0024】基於T細胞的免疫治療靶向作用于主要組織相容性複合體(MHC)分子表現的來源於腫瘤相關蛋白或腫瘤特異性蛋白的肽表位。腫瘤特異性T淋巴細胞所識別的抗原，即其表位，可以是源自所有蛋白類型的分子，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中被表達，並且與同源未變的細胞相比，其表達通常上調。

【0025】MHC分子有兩類：MHC I類和MHC II類。MHC I類分子由一條 $\alpha$ 重鏈和 $\beta$ -2-微球蛋白，MHC II類分子由一條 $\alpha$ 和一條 $\beta$ 鏈組成。其三位構造形成一個結合槽，用於與肽進行非共價相互作用。

【0026】大部分有核細胞上都可發現MHC-I類分子。他們表現主要為內源性的蛋白、缺陷核糖體產物(DRIP)和較大肽裂解生成的肽。然而，源自內體結構

或外源性來源的肽也經常在 MHC-I 類分子上發現。這種 I-類分子非經典表現方式在文獻中被稱為交叉表現 (Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990)。MHC II 類分子主要發現于專業抗原表現細胞 (APC) 上，並且主要表現，例如，在內容作用過程中由 APC 佔據並且隨後被加工的外源性或跨膜蛋白的肽。

【0027】 肽和 MHC I 類的複合體由負載相應 T 細胞受體 (TCR) 的 CD8 陽性 T 細胞進行識別，而肽和 MHC II 類分子的複合體由負載相應 TCR 的 CD4 陽性輔助 T 細胞進行識別。因此，TCR、肽和 MHC 按照 1:1:1 的化學計量呈現，這一點已是共識。

【0028】 CD4 陽性輔助 T 細胞在誘導和維持 CD8 陽性細胞毒性 T 細胞的有效反應中發揮重要作用。腫瘤相關抗原 (TAA) 衍生的 CD4 陽性 T 細胞表位的識別對開發能引發抗腫瘤免疫反應的藥物產品可能非常重要 (Gnjatic et al., 2003)。在腫瘤部位，T 輔助細胞維持著對細胞毒性 T 細胞 (CTL) 友好的細胞因子環境 (Mortara et al., 2006) 並吸引效應細胞，如 CTL、天然殺傷 (NK) 細胞、巨噬細胞和粒細胞 (Hwang et al., 2007)。

【0029】 在沒有炎症的情況下，MHC II 類分子的表達主要局限於免疫系統細胞，尤其是專業抗原表現細胞 (APC)，例如，單核細胞、單核細胞源性細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞。在癌症患者的腫瘤細胞中發現有 MHC II 類分子的表達 (Dengjel et al., 2006)。



**【發明內容】**

**【0030】** 本發明的拉長（較長）肽可作為 MHC-II 類活性表位。

**【0031】** MHC-II 類表位活化的輔助 T 細胞在編排抗腫瘤免疫的 CTL 效應子功能中發揮著重要作用。觸發 TH1 細胞反應的輔助 T 細胞表位支援 CD8 陽性殺傷 T 細胞的效應子功能，其中包括直接作用於腫瘤細胞的細胞毒性功能（該類腫瘤細胞表面顯示有腫瘤相關肽 / MHC 複合體）。這樣，腫瘤相關 T 輔助細胞表位單獨使用或與其他腫瘤相關肽結合使用可作為刺激抗腫瘤免疫反應的疫苗化合物的活性藥物成分。

**【0032】** 哺乳動物（如小鼠）模型顯示，即使沒有 CD8 陽性 T 淋巴細胞，CD4 陽性 T 細胞也能透過分泌干擾素- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) 抑制血管生成而足以抑制腫瘤的表現 (Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999)。沒有 CD4 T 細胞作為直接抗腫瘤效應因子的證據 (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014)。

**【0033】** 由於 HLA II 類分子的組成性表達通常僅限於免疫細胞，因此，直接從原發腫瘤中分離 II 類肽之前被認為是不可能的事。然而，Dengjel 等人成功地在腫瘤中直接識別了多個 MHC II 類表位 (WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1)。

**【0034】** 由於 CD8 依賴型和 CD4 依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵由 CD8+

T細胞（配體：MHC I類分子 + 肽表位）或CD4陽性T輔助細胞（配體：MHC II類分子）識別的腫瘤相關抗原對開發腫瘤疫苗非常重要。

【0035】對於MHC I類肽觸發（引發）細胞免疫反應的肽，它也必須與MHC分子結合。這一過程依賴於MHC分子的等位基因以及肽氨基酸序列的特異性多態性。MHC-I類-結合肽的長度通常為8-12個氨基酸殘基，並且在其與MHC分子相應結合溝槽相互作用的序列中通常包含兩個保守殘基（「錨」）。這樣，每個MHC的等位基因都有「結合基序」，從而確定哪些肽能與結合溝槽特異性結合。

【0036】在MHC-I類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些MHC-I類分子結合，而且它們之後還必須能被T細胞負載的特異性T細胞受體（TCR）識別。

【0037】對於被T淋巴細胞識別為腫瘤特異性抗原或相關性抗原以及用於治療的蛋白質，必須具備特殊的條件。該抗原應主要由腫瘤細胞表達，而不由正常健康組織表達，或表達數量相對較少。在一個優選的實施方案中，與正常健康組織相比，所述肽應在腫瘤細胞中過度表現。更為適宜的情況是，該相應抗原不僅出現於一種腫瘤中，而且濃度（即每個細胞的相應肽拷貝數目）高。腫瘤特異性抗原和腫瘤相關抗原往往是源自直接參與因細胞週期控制或凋亡抑制中的其功能而發生的正常細胞向腫瘤細胞轉化的蛋白。另外，這些直接導致轉化事件的蛋白的下

游靶標可能會被上調，因此可能與腫瘤間接相關。這些間接腫瘤相關抗原也可能是預防接種方法的靶標 (Singh-Jasuja et al., 2004)。至關重要的是，表位存在於抗原氨基酸序列中，以確保這種來自腫瘤相關抗原的肽（「免疫原性肽」）可導致體外或體內 T 細胞反應。

【0038】基本上，任何能與 MHC 分子結合的肽都可能充當一個 T 細胞表位。誘導體外或體內 T 細胞反應的前提是存在具有相應 TCR 的 T 細胞並且不存在對該特定表位的免疫耐受性。

【0039】因此，TAA 是基於 T 細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗）研發的起點。識別和表徵 TAA 的方法通常基於對患者或健康受試者 T 細胞的使用情況，或基於腫瘤與正常組織肽之間差別轉錄特性或差別表達模式的產生。然而，對腫瘤組織或人腫瘤細胞株中過量表達或選擇性表達的基因的識別並不提供在免疫療法中使用這些基因所轉錄抗原的準確資訊。這是因為，有著相應 TCR 的 T 細胞必須要存在而且對這個特定表位的免疫耐受性必須不存在或為最低水準，因此，這些抗原的表位只有一部分適合這種應用。因此，在本發明的一非常優選的實施例中，只選擇那些針對可發現功能性和 / 或增殖性 T 細胞情況的過量表現或選擇性表現肽，這一點非常重要。這種功能性 T 細胞被定義為在以特異性抗原刺激後能夠克隆地擴展並能夠執行效應子功能（「效應子 T 細胞」）的 T 細胞。

【0040】 在透過根據本發明的特定 T C R（例如可溶性 T C R）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於肽-M H C 的情況下，潛在肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，表現是決定因素。

【0041】 在本發明的第一方面，本發明涉及一種肽，包含選自包括 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 的組的一個氨基酸序列、或該序列的與 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 具有至少 7 7 %，優選至少 8 8 % 同源（優選至少 7 7 % 或至少 8 8 % 相同）的一種變體序列（其中所述變體與 M H C 結合和 / 或誘導 T 細胞與所述肽發生交叉反應），或其藥用鹽（其中所述肽不是潛在全長多肽）。

【0042】 本發明進一步涉及本發明的一種肽，包含選自包括 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 的組的一個序列、或與 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 具有至少 7 7 %、優選至少 8 8 % 同源性（優選為至少 7 7 % 或至少 8 8 % 相同）的一種變體，其中所述肽或其變體的總長度為 8 至 1 0 0 個、優選為 8 至 3 0 個、最優選為 8 至 1 4 個氨基酸。

【0043】 下表顯示了根據本發明的肽、它們各自的 S E Q I D N O、以及這些肽的可能源（潛在）基因。表 1 和表 2 中的所有肽均與 H L A - A \* 0 2 結合。表 2 中的肽之前在大型列表中披露，作為高通量篩查結果，錯誤率高，或使用演算法計算出，但之前與癌症毫無關聯。表 3 中的肽是可與本發明其他肽組合使用的其他肽。表 4 中

的肽還可用於診斷和 / 或治療各種其他惡性疾病，這些疾病涉及過量表達或過度表現各潛在多肽。

表 1：本發明中的肽

J = 磷酸絲氨酸

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
1	AIPPSFASIFL	3507	IGHM
2	ALHRPDVYL	3507	IGHM
3	VIAELPPKV	3507	IGHM
4	VIAELPPKVSV	3507	IGHM
5	ALIFKIASA	4214	MAP3K1
6	ALDTLEDDMTI	2222	FDFT1
7	ALLERTGYTL	10236,10492	HNRNPR, SYNCRIP
8	ALAASALPALV	6124	RPL4
9	ALCDTLITV	27033	ZBTB32
10	FVYGESVEL	27033	ZBTB32
11	ALFTFJPLTV	54665	RSBN1
12	ALGEDEITL	25909,285116	AHCTF1, AHCTF1P1
13	VVDGMPPGV	2969,2970	GTF2I, GTF2IP1
14	ALLRLLPGL	25920	COBRA1
15	ALPEVSVEA	79649	MAP7D3
16	ALPGGAAVAAV	79697	C14orf169
17	ALTKTNLQL	9750	FAM65B
18	LLGEFSIKM	9750	FAM65B
19	QVMEKLAHV	9750	FAM65B
20	ALVDPGPDFVV	546	ATRX
21	ALWAGLLTL	2208	FCER2

22	ALWDPVIEL	27340	UTP20
23	ALYLTEVFL	55024	BANK1
24	AMAGDVVYA	160365	CLECL1
25	ATYSGLESQSV	3185	HNRNPF
26	AVLLVLPLV	11322	TMC6
27	AVLGLVWLL	11322	TMC6
28	AVLHLLLSV	1535	CYBA
29	AVLQAVTAV	58155	PTBP2
30	ELLEGSEIYL	147007,23098	TMEM199, SARM1
31	ELMHGVAGV	165631	PARP15
32	FIDKFTPPV	3117,3122	HLA-DQA1, HLA-DRA
33	FIINSSNIFL	253959	RALGAPA1
34	YLPYIFPNI	253959	RALGAPA1
35	FILPSSLYL	81539	SLC38A1
36	FILTHVDQL	257106	ARHGAP30
37	FIMEGGAMVL	4174	MCM5
38	FIMEGGAMV	4174	MCM5
39	FLDALLTDV	79915	ATAD5
40	FLDEDDMSL	23141	ANKLE2
41	FLDPSLDPLL	58508,85318	MLL3, BAGE3
42	FLEEGGVVTV	5810	RAD1
43	FLLGPEALSFA	55183	RIF1
44	FLLSINDFL	157680	VPS13B
45	FLPELPADLEA	11064	CNTRL
46	YIIDSAQAV	11064	CNTRL
47	FLSDQPEPYL	160518,23258	DENND5B, DENND5A
48	FLSPQQPPLL	8621	CDK13
49	FLTDLFAQL	55671	SMEK1

50	FLFEPVVKAFL	55671	SMEK1
51	FLVEAPHDWDL	9790	BMS1
52	FLVETGFLHV	100268168,114987, 4602	WDR31, MYB
53	FLWQHVELVL	55181	SMG8
54	FLYPFPLALF	440026	TMEM41B
55	FMEPTLLML	23	ABCF1
56	FVFEAPYTL	139818	DOCK11
57	GLSEISLRL	139818	DOCK11
58	YIQQGIFSV	139818	DOCK11
59	FVFGDENGTVSL	79084	WDR77
60	FVLDHEDGLNL	4926	NUMA1
61	FVYFIVREV	285527	FRYL
62	GIIDGSPRL	80183	KIAA0226L
63	SLAHVAGCEL	80183	KIAA0226L
64	KLLESVASA	80183	KIAA0226L
65	GLDDMKANL	5079	PAX5
66	SLAGGLDDMKA	5079	PAX5
67	GLDDVTVEV	51019	CCDC53
68	GLDQQFAGLDL	1654	DDX3X
69	GLHQREIFL	9922	IQSEC1
70	FVPDTPVGV	9922	IQSEC1
71	GLKHDIARV	388512	CLEC17A
72	GLLDAGKMYV	911	CD1C
73	GLLEVISALQL	9816	URB2
74	GLLRASFLL	11344,54106	TWF2, TLR9
75	GLSIFAQDLRL	11344,54106	TWF2, TLR9
76	GLLRIPYL	23352	UBR4

77	GLLRLTWFL	11214	AKAP13
78	GLPSFLTEV	100532732,4439	MSH5-SAPCD1, MSH5
79	GLQAKIQEA	23224	SYNE2
80	VLIEDELEEL	23224	SYNE2
81	WLVGQEFEL	23224	SYNE2
82	GLQSGVDIGV	1265	CNN2
83	GQGEVLVYV	2316	FLNA
84	GVMDVN TAL	391370,6206	RPS12P4, RPS12
85	HLMLHTAAL	80012	PHC3
86	HLYPGAVTI	55103	RALGPS2
87	HQIEAVDGEEL	10567	RABAC1
88	ILDEIGADVQA	29920	PYCR2
89	ILDFGTFQL	54832	VPS13C
90	VIADLGLIRV	54832	VPS13C
91	ILDLNTYNV	5336	PLCG2
92	ILEPLNPLL	9330	GTF3C3
93	ILFNTQINI	64801	ARV1
94	ILFPLRFTL	9675	TTI1
95	ILGYMAHEHKV	6530	SLC6A2
96	ILIDKTSFV	951	CD37
97	LLFATQITL	951	CD37
98	SLIKYFLFV	951	CD37
99	ILIFHSVAL	84636	GPR174
100	ILNNEVFAI	26999	CYFIP2
101	ILVVIEPLL	23451	SF3B1
102	IQDRAVPSL	3930	LBR
103	KLGGTPAPA	5218	CDK14
104	KLILLDTPLFL	253190,94009	SERHL2, SERHL



105	KLMNDIADI	472	ATM
106	FMASHLDYL	472	ATM
107	ILYNLYDLL	472	ATM
108	VIYTLIHYI	472	ATM
109	KLWEGLTELV	10235	RASGRP2
110	LLFDHLEPMEL	10235	RASGRP2
111	KLWNVAAPLYL	92105	INTS4
112	KTLDVDATEI	3978	LIG1
113	KVPAEEVLVAV	91782	CHMP7
114	LIPEGPPQV	64224	HERPUD2
115	LLFDKLYLL	25885	POLR1A
116	LLIGATMQV	23225	NUP210
117	LLILENILL	23225	NUP210
118	RLLILENILL	23225	NUP210
119	VLPAEFFEV	23225	NUP210
120	AIDAALTSV	23225	NUP210
121	RLYEITIEV	23225	NUP210
122	LLIPVVPV	55178	RNMTL1
123	LLLAEAELLTL	57724	EPG5
124	LLLEETEKQAV	92154,9788	MTSS1L, MTSS1
125	LLLEIGEVGKLFV	23158	TBC1D9
126	LLPEGGITAI	9904	RBM19
127	LLPTAPTTV	55729	ATF7IP
128	LLSEEEYHL	9793	CKAP5
129	LLVGTLDVV	23061,23158	TBC1D9B, TBC1D9
130	LLVLIPVYL	23344	ESYT1
131	LQALEVLKI	27304	MOCS3
132	LVYEAHIMV	27250	PDCD4

133	YLLSGDISEA	27250	PDCD4
134	MLLEHGITLV	200576	PIKFYVE
135	MTAGFSTIAGSV	64078	SLC28A3
136	NLDKLWTLV	389435,6157	RPL27AP6, RPL27A
137	NLIKTVIKL	25816	TNFAIP8
138	NLLDIDAPVTV	5530	PPP3CA
139	NLTDVVEKL	120892	LRRK2
140	QIAELPATSV	401145	CCSER1
141	QILSEIVEA	10724	MGEA5
142	QLDEPAPQV	387032,80317	ZKSCAN4, ZKSCAN3
143	QLLDTYFTL	7405	UVRAG
144	QLPPFPREL	8498	RANBP3
145	SALDTITTV	3832	KIF11
146	SIIEGPIIKL	23347	SMCHD1
147	SILETVATL	253714	MMS22L
148	SIVASLITV	221188	GPR114
149	SLDNGGYI	4067	LYN
150	SLFDQPLSII	117289	TAGAP
151	SLFDSAYGA	2313	FLI1
152	SLIRILQTI	160518	DENND5B
153	SLLAELHVL	115352	FCRL3
154	SLLAELHVLTV	115352	FCRL3
155	SLMLEVPAL	1756	DMD
156	SLNIGDVQL	973	CD79A
157	SLNIRDFTM	147694,7565	ZNF548, ZNF17
158	SLPEAPLDV	29123	ANKRD11
159	SLQEEKLIYV	84668	FAM126A
160	SLSFLVPSL	9631	NUP155

161	SMDDGMINV	7011	TEP1
162	SMKDDLENV	3688	ITGB1
163	SQLDISEPYKV	3394	IRF8
164	SVHKGFAFV	101060301,3183,343 069,440563,649330	HNRNPC, HNRNPCL1
165	TLDDDLDTV	51092	SIDT2
166	TLDPNQVSL	85464	SSH2
167	TLDTSKLYV	5923	RASGRF1
168	YLLDQSFVM	5923	RASGRF1
169	TLLLGLTEV	55423	SIRPG
170	TLTRVETV	51379	CRLF3
171	TLVPPAALISI	6907	TBL1X
172	TLYDMLASI	10973	ASCC3
173	TVIENIHTI	23358	USP24
174	VLAELPIIVV	8295	TRRAP
175	FTVPRVVAV	8295	TRRAP
176	VLAEQNIIPSA	54855	FAM46C
177	VLDDRELLL	23178	PASK
178	VLFFNVQEV	57536	KIAA1328
179	VLLGLEMTL	1606	DGKA
180	LLKDGPEIGL	1606	DGKA
181	VLLSIPFVSV	94103	ORMDL3
182	VLLSVPGPPV	2264	FGFR4
183	VLMPTVYQQGV	54472	TOLLIP
184	VLSHNLYTV	50619	DEF6
185	VMDDQRDLI	972	CD74
186	VMDPTKILI	255967	PAN3
187	VMDTHLVNI	9779	TBC1D5

188	VMGDIPAAV	4678	NASP
189	VMLEMTPEL	3112,6891	HLA-DOB, TAP2
190	VVMGTVPRL	1729	DIAPH1
191	YIFDGSDGGV	5287	PIK3C2B
192	YIQEYLTLL	57674	RNF213
193	YLDLSNNRL	81793	TLR10
194	YLDNVLAEL	1840,23220	DTX1, DTX4
195	YLGGFALSV	6850	SYK
196	YLLLQTYVL	51259	TMEM216
197	YLQEVPICTL	1633	DCK
198	YLTFLPAEV	64135	IFIH1
199	YLVELSSLL	80279	CDK5RAP3
200	YMFEEVPIVI	8667	EIF3H
201	YQLELHGIEL	5698	PSMB9
202	YVDDVFLRV	10347	ABCA7
203	ALLSSQLAL	8925	HERC1
204	GLLQINDKIAL	5000	ORC4
205	GLSQANFTL	10288,10859,10990,1024,11025,11026,11027,23547,79166,79168	LILRB2, LILRB1, LILRB5, LILRA1, LILRB3, LILRA3, LILRA2, LILRA4, LILRP2, LILRA6
206	HMQDVRVLL	84824	FCRLA
207	IIADLDTTIMFA	7094,83660	TLN1, TLN2
208	ILLKTEGINL	166379	BBS12
209	ILQAELPSL	57508	INTS2
210	KLLVQDFFL	8564	KMO
211	LIDVKPLGV	134510	UBLCP1

212	NIIEAINELLV	8892	EIF2B2
213	RLLYQLVFL	3566	IL4R
214	RLQELTEKL	255394	TCP11L2
215	VMQDIVYKL	84759	PCGF1
216	WLAGDVPAA	24148	PRPF6
217	ALDEPPYLTV	51742	ARID4B
218	ALGEEWKGYVV	6194,728131	RPS6
219	ALLNLLESA	5788	PTPRC
220	ALPEILFAKV	643	CXCR5
221	ALVSTIIMV	80228	ORAI2
222	ALWELSLKI	2889	RAPGEF1
223	ALWVSQPPEI	259197	NCR3
224	AMEALVVEV	1660	DHX9
225	ILQERELLPV	1660	DHX9
226	AMNISVPQV	23387	SIK3
227	FLAEASVMTQL	1445	CSK
228	FLGGLSPGV	2968	GTF2H4
229	FLLNLQNCHL	55608	ANKRD10
230	FLQDSKVIFV	4772	NFATC1
231	FLYIRQLAI	26155,401010	NOC2L
232	FMHQIIDQV	79789	CLMN
233	GIIDINVRL	51163	DBR1
234	GLDDAEYAL	7376	NR1H2
235	GLDDLFL	8914	TIMELESS
236	GLLESGRHYL	9744	ACAP1
237	GLQENLDVVV	8881	CDC16
238	GLVETELQL	55690	PACS1
239	ILAGEMLSV	7203	CCT3

240	ILARDILEI	5714	PSMD8
241	ILGDILLKV	79831	KDM8
242	ILLGIQELL	7329	UBE2I
243	ILPTLEKELFL	79886	CAAP1
244	ILQALAVHL	54936	ADPRHL2
245	KIMDYSLLLGV	23396	PIP5K1C
246	KLDETGVAL	7155	TOP2B
247	KLKDRLPSI	81606	LBH
248	KTVEPPISQV	57466	SCAF4
249	LLPTGVFQV	51131	PHF11
250	LLVQEPDGLMV	404734,54882	ANKHD1-EIF4EBP3, ANKHD1
251	LLYDNVPGA	11262	SP140
252	NLLDPGSSYLL	5074	PAWR
253	NLWSVDGEVTV	92017	SNX29
254	QLIPKLIFL	57705	WDFY4
255	YLFEEAISM	57705	WDFY4
256	QLLPVSNVVS	55374	TMCO6
257	RIINGIIISV	84329	HVCN1
258	RLDYITAEI	10471	PFDN6
259	RLLDEQFAVL	9026	HIP1R
260	SLDDVEGMSV	80196	RNF34
261	SLVEAQGWL	161176	SYNE3
262	SLWNAGTSV	3495	IGHD
263	SQWEDIHVV	55843	ARHGAP15
264	TILDYINVV	89790,89858	SIGLEC10, SIGLEC12
265	TLLADDLEIKL	2124	EVI2B
266	TLLDQLDTQL	8678	BECN1

267	TLLDWQDSL	8289	ARID1A
268	TLLQVFHLL	63892	THADA
269	TLTDEQFLV	738	VPS51
270	TVLPVPPLSV	5430	POLR2A
271	VIRNIVEAA	100128168,10099674 7,389472,441502,623 1,643003,728937,729 188	RPS26P39, RPS26P32, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P25, RPS26P58
272	VLDELPPLI	55832,91689	CAND1, C22orf32
273	VLGEYSYLL	23431	AP4E1
274	VLLEYHIAYL	8087	FXR1
275	VLLFIEHSV	134265,7805	AFAP1L1, LAPTM5
276	VLNDGAPNV	117246	FTSJ3
277	VMILKLPFL	25929	GEMIN5
278	YLDDLLPKL	89910	UBE3B
279	YMAPEVVEA	2872	MKNK2
280	YTLDSLYWSV	81887	LAS1L

【 0 0 4 4 】 K I A A 0 2 2 6 L （ 也 稱 作 C 1 3 o r f 1 8 ） 編 碼 K I A A 0 2 2 6 樣 基 因 ， 位 於 染 色 體 1 3 q 1 4 . 1 3 上 ( R e f S e q ， 2 0 0 2 ) 。 K I A A 0 2 2 6 L 被 認 為 是 一 種 腫 瘤 抑 制 基 因 ， 在 宮 頸 癌 中 超 甲 基 化 。 K I A A 0 2 2 6 L 重 新 活 化 導 致 細 胞 生 長 、 活 力 和 集 落 形 成 下 降 ( H u i s m a n e t a l . , 2 0 1 5 ; E i j s i n k e t a l . , 2 0 1 2 ; H u i s m a n e t a l . , 2 0 1 3 ) 。 K I A A 0 2 2 6 L 的 甲 基 化 模 式 可 用 於 分 辨 前 體 病 變 和 正 常 宮 頸 癌 ( M i l u t i n e t a l . , 2 0 1 5 ) 。 K I A A 0 2 2 6 L 的 甲 基 化 模 式 不 可 用 作 宮 頸 癌 的 特 定 生 物

標誌物 (Sohrabi et al., 2014)。KIAA0226L 重新活化部分去甲基化其啟動子區域，也降低壓制性組蛋白甲基化 (Huisman et al., 2013)。

【0045】 FCRL3，也稱為 FCRH3 或 IRTA3，編碼 Fc 受體樣 3，這是免疫球蛋白受體超家族的幾種 FC 受體樣糖蛋白之一，其可能在免疫系統調節中起作用 (RefSeq, 2002)。FCRL3 在高腫瘤負荷的 Sézary 綜合症患者中的 CD4 + CD26-T 細胞上上調，這表明 FCRL3 表達與高迴圈腫瘤負荷相關 (Wysocka et al., 2014)。FCRL3 在慢性淋巴細胞白血病中上調 (Polson et al., 2006)。FCRL3 是慢性淋巴細胞白血病中具有預後相關性的潛在標誌物 (Zucchetto et al., 2011)。

表 2：本發明中的其他 肽，之前與癌症無已知的關聯。

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
281	NLLDDRGMTAL	146206	RLTPR
282	LLRDGIELV	152926	PPM1K
283	ILQPMDIHV	54832	VPS13C
284	LLSAAEPVPA	974	CD79B
285	GVATAGCVNEV	3394	IRF8
286	FLLEDLSQKL	2177	FANCD2
287	FLWEEKFNSL	10750	GRAP
288	GLAESTGLLAV	50855,84552	PARD6A, PARD6G
289	ILEEQPMDMLL	84301	DDI2
290	LANPHELSL	84301	DDI2
291	ILLNEDDLVTI	57724	EPG5



序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
292	AAALIIHHV	25942	SIN3A
293	ALDIMIPMV	4217	MAP3K5
294	ALLDQLHTLL	8202	NCOA3
295	ALLQKLQQL	122618	PLD4
296	FIAPTGHSL	23157,55752	SEPT6, SEPT11
297	FLVEPQEDTRL	8237	USP11
298	IILPVEVEV	23505	TMEM131
299	ILEENIPVL	55653	BCAS4
300	ILLNPAYDVYL	23225	NUP210
301	AASPIITLV	23225	NUP210
302	ILQDLTFVHL	2889	RAPGEF1
303	ILSQPTPSL	29028	ATAD2
304	LAIVPVNTL	23132	RAD54L2
305	LLFPQIEGIKI	26263	FBXO22
306	VVAEELENV	26263	FBXO22
307	LLLTKPTEA	5336	PLCG2
308	SLYDVSRMYV	5336	PLCG2
309	ILYGTQFVL	5336	PLCG2
310	LLSTLHLLV	64098	PARVG
311	LLVDVEPKV	100129492,6632	SNRPD1
312	LLYNSTDPTL	64005	MYO1G
313	LMADLEGLHL	8546	AP3B1
314	LMKDCEAEV	5518	PPP2R1A
315	LVYEAPETV	57448	BIRC6
316	MLLEHGITL	200576	PIKFYVE
317	NLLAHIWAL	58513	EPS15L1
318	NLQVTQPTV	100505503,40205	RPS17L, RPS17P16,

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
		7,442216,6218	RPS17P5, RPS17
319	QVIPQLQTV	6671	SP4
320	TIAPVTVAV	6671	SP4
321	RLLEFELAQL	6093	ROCK1
322	SLASIHVPL	23163	GGA3
323	SLDLFNCEV	10541,23520,6467 91,647020,723972 ,8125	ANP32B, ANP32C, ANP32BP1, ANP32AP1, ANP32A
324	SLYSALQQA	11190	CEP250
325	TLENGVPCV	23240	KIAA0922
326	VLAFLVHEL	11176	BAZ2A
327	VLIKWFPEV	54509	RHOF
328	VLLPQETAIEHL	5292	PIM1
329	VLMDGSVKL	11184	MAP4K1
330	VLMWEIYSL	695	BTK
331	VLWELAHLPTL	23358	USP24
332	VMIQHVENL	4033	LRMP
333	VTLEFPQLIRV	126382	NR2C2AP
334	YLLEEKIASL	51199	NIN
335	YLYQEQYFI	10668	CGRRF1
336	YMAVTTQEV	79840	NHEJ1
337	YMYEKESEL	22806	IKZF3
338	FLDMTNWNL	64771	C6orf106
339	GLWGTVVNI	25914	RTTN
340	KLLEEICNL	10075	HUWE1
341	LLAELPASVHA	2319	FLOT2
342	SLITPLQAV	5591	PRKDC

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
343	TLLEALDCI	158078,1915	EEF1A1P5, EEF1A1
344	VLAFFNPQV	25852	ARMC8
345	YLIEPDVELQRI	25852	ARMC8
346	VLVQVSPSL	23404	EXOSC2
347	YLGPVSPSL	4154	MBNL1
348	ALAKPPVVS	57634	EP400
349	ALATHILSL	11215	AKAP11
350	ALEDRVWEL	285025	CCDC141
351	ALSEKLARL	115106	HAUS1
352	ALVFELHYV	57705	WDFY4
353	ATPMPTPSV	55206	SBNO1
354	FIMDDPAGNSYL	8882	ZNF259
355	FIWPMLIHI	11325	DDX42
356	FLHHDQAEL	259197	NCR3
357	FLIQEIKTL	23352	UBR4
358	FLTDYLNDL	54880	BCOR
359	FMQDPMEVFV	10212	DDX39A
360	HLIDTNKIQL	55619	DOCK10
361	ILQEFESKL	2074,267004	ERCC6, PGBD3
362	ILTELGGFEV	51366	UBR5
363	ITTEVVNELYV	57222	ERGIC1
364	KMDWIFHTI	5290	PIK3CA
365	LISPLLLPV	144132	DNHD1
366	LLSETCVTI	23469	PHF3
367	NLWSLVAKV	9889	ZBED4
368	QLQPTDALLCV	125950	RAVER1
369	RLLDLENSLLGL	54899	PXK

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
370	SIFASPESV	10285	SMNDC1
371	SLADDSVLERL	23195	MDN1
372	SLFGPLPGPGPALV	9595	CYTIP
373	TLLADQGEIRV	9219	MTA2
374	VLSVITEEL	55621	TRMT1
375	VLWFKPVEL	55720	TSR1
376	VLYNQRVEEI	6730	SRP68
377	VVDGTCVAV	57589	KIAA1432
378	YILGKFFAL	8914	TIMELESS
379	YLAELVTPIL	1981	EIF4G1
380	YLDRKLLTL	6850	SYK
381	YLLEENKIKL	139818	DOCK11
382	YLLPLLQRL	55794	DDX28
383	YLLREWVNL	23019	CNOT1
384	YMIGSEVGNYL	6598	SMARCB1
385	YTIPLAIKL	128869	PIGU

表 3：用於例如個性化癌症療法的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
386	FLGDYVENL	54832	VPS13C
387	YLILSSHQL	1269	CNR2
388	GLLSALENV	1269	CNR2
389	GLAALAVHL	2175	FANCA
390	GLEERLYTA	29933	GPR132
391	FLLEREQLL	165055	CCDC138

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
392	FLWERPTLLV	79922	MRM1
393	FVMEGEPPKL	348654	GEN1
394	ILSTEIFGV	79703	C11orf80
395	ALYGKLLKL	157680	VPS13B
396	TLLGKQVTL	157680	VPS13B
397	FLPPEHTIVYI	9896	FIG4
398	FLAELPGSLSL	5326	PLAGL2
399	ALAAPDIVPAL	79886	CAAP1
400	ALFQPHLINV	10097	ACTR2
401	AMADKMDMSL	10189	ALYREF
402	LLVSNLDFGV	10189	ALYREF
403	FIMPATVADATAV	23352	UBR4
404	FLQPDLDSL	10514	MYBBP1A
405	FLVEKQPPQV	6778	STAT6
406	FLWPKEVEL	146206	RLTPR
407	FMIDASVHPTL	221960,51622	CCZ1B, CCZ1
408	FMVDNEAIYDI	10376,112714,113457,51807,7277,7278,7846,84790	TUBA1B, TUBA3E, TUBA3D, TUBA8, TUBA4A, TUBA3C, TUBA1A, TUBA1C
409	GLDAATATV	9869	SETDB1
410	GLFDGVPTTA	122618	PLD4

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
411	GLFEDVTQPGILL	23140	ZZEF1
412	ILGTEDLIVEV	79719	AAGAB
413	ILLEHGADPNL	22852	ANKRD26
414	ILSVVNSQL	80183	KIAA0226L
415	ILVTSIFFL	643	CXCR5
416	IMEDIILTL	1656	DDX6
417	IQIGEETVITV	2316	FLNA
418	IVTEIISEI	64151	NCAPG
419	LLNEILEQV	64151	NCAPG
420	KLIDDQDISISL	80208	SPG11
421	KLWTGGLDNTV	7088,7090,7091	TLE1, TLE3, TLE4
422	KQFEGTVEI	675	BRCA2
423	LLIGTDVSL	9730	VPRBP
424	LLPPLESLATV	5518	PPP2R1A
425	LLSDVRFVL	53339	BTBD1
426	LLWGNLPEI	653820,729533	FAM72B, FAM72A
427	LLYDAVHIV	2899	GRIK3
428	LMYPYIYHV	54954	FAM120C
429	NLLETKLQL	219988	PATL1
430	QLIEKNWLL	56992	KIF15
431	RMVAEIQNV	11262	SP140
432	SAVDFIRTL	9263	STK17A

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
433	SILDRDDIFV	8237	USP11
434	SIQQSIERLLV	4809	NHP2L1
435	SLFNQEVQI	100528032,2291 4,8302	KL RK1, KLRC4
436	SLFSSLEPQIQPV	23029	RBM34
437	SLEPQIQPV	23029	RBM34
438	SLFIGEKAVLL	23029	RBM34
439	SLLDLHTKV	27340	UTP20
440	SLLEQGKEPWMV	147949,163087,3 42892,374899, 84503	ZNF583, ZNF383, ZNF850, ZNF829, ZNF527
441	SLLEVNEASSV	149628	PYHIN1
442	SLNDLEKDVMLL	6597	SMARCA4
443	SLTIDGIYYV	1659	DHX8
444	SMSGYDQVL	3187,3188	HNRNPH1, HNRNPH2
445	VIIKGLEEITV	3832	KIF11
446	VILTSSPFL	10800	CYSLTR1
447	VLDDSIYLV	57565	KLHL14
448	VMNDRLYAI	57565	KLHL14
449	LLDAMNYHL	57565	KLHL14
450	VLGPGPPPL	254359	ZDHHC24
451	VLIEYNFSI	55215	FANCI

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
452	VLLSLLEKV	1130	LYST
453	SLLPLVWKI	1130	LYST
454	VLMDEGAVLTL	54596	L1TD1
455	VLPDPEVLEAV	57326	PBXIP1
456	YAAPGGLIGV	1968,255308	EIF2S3
457	YIMEPSIFNTL	51497	TH1L
458	YIQEHLLQI	10625	IVNS1ABP
459	YLDFSNNRL	51284	TLR7
460	YLEDGFAYV	5558	PRIM2
461	YLLNLNHLGL	23471	TRAM1
462	YVLPKLYVKL	100128168,1009 96747,441502,62 31,643003,64416 6,644928,644934 ,646753,728937, 729188	RPS26P39, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P20, RPS26P15, RPS26P50, RPS26P2, RPS26P25, RPS26P58
463	ALMAVVSGL	55103	RALGPS2
464	ALSDETKNNWEV	5591	PRKDC
465	FLYDEIEAEVNL	23191,26999	CYFIP1, CYFIP2
466	FLYDEIEAEV	23191,26999	CYFIP1, CYFIP2
467	IMQDFPAEIFL	25914	RTTN
468	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3



序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
469	SLDGTELQL	284114	TMEM102
470	TLTNIIHNL	94101	ORMDL1
471	VLLAAGPSAA	23225	NUP210
472	YLFESEGLVL	283431	GAS2L3
473	ALADDDFLTV	4173	MCM4
474	ALADLIEKELSV	4850	CNOT4
475	ALDDMISTL	7203	CCT3
476	ALITEVVRL	26005	C2CD3
477	ALLDQTKTLAESAL	7094	TLN1
478	AMFESSQNVLL	64328	XPO4
479	YLAHFIEGL	64328	XPO4
480	FLAEDPKVTL	60489	APOBEC3G
481	FLIDTSASM	203522,26512	DDX26B, INTS6
482	FLTDLEDLTL	26151	NAT9
483	FLTEMVHFI	93517	SDR42E1
484	FLVDGPRVQL	90204	ZSWIM1
485	GLLDCPIFL	2177	FANCD2
486	GLLDLPFRVGV	23347	SMCHD1
487	GLSDGNPSL	79684	MSANTD2
488	GVYDGEEHSV	4113	MAGEB2
489	HLANIVERL	117854,445372,5 3840	TRIM6, TRIM6-TRIM34,

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
			TRIM34
490	ILDEKPVII	23460	ABCA6
491	ILFSEDSTKLFV	84916	CIRH1A
492	ILLDDNMQIRL	5261	PHKG2
493	LIIDQADIYL	27042	DIEXF
494	LLGDSSFFL	283254	HARBI1
495	LLLDEEGTFSL	27013	CNPPD1
496	LLVEQPPLAGV	4773	NFATC2
497	LLWDVPAPSL	1388,7148	ATF6B, TNXB
498	LTAPPEALLMV	79050	NOC4L
499	NLMEMVAQL	55636	CHD7
500	QIITSVVS	5378	PMS1
501	QLALKVEGV	25896	INTS7
502	QLLDETSAIL	10915	TCERG1
503	QLYEEDTKL	10270	AKAP8
504	RLYSGISGLEL	84172	POLR1B
505	RVLEVGALQAV	25885	POLR1A
506	SLLPLDDIVRV	3708,3709	ITPR1, ITPR2
507	SLLTEQDLWTV	90806	ANGEL2
508	SVDSAPAAV	10635	RAD51AP1
509	TLQEVVTGV	55750	AGK
510	TVDVATPSV	8924	HERC2

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
511	VLAYFLPEA	4171	MCM2
512	VLISVLQAI	26999	CYFIP2
513	YLIPFTGIVGL	26001	RNF167
514	YLLDDGTLVV	8872	CDC123
515	YLMPGFIHL	168400,55510	DDX53, DDX43
516	YLPDIIKDQKA	5496	PPM1G
517	YLQLTQSEL	283237	TTC9C
518	YLTEVFLHVV	55024	BANK1
519	YLVEGRFSV	55125	CEP192
520	YLVYILNEL	51202	DDX47
521	YLYGQTTTYL	7153	TOP2A
522	YVLTQPPSV	28796,28815,28831,3537,3538	IGLV3-21, IGLV2-14, IGLJ3, IGLC1, IGLC2

【 0 0 4 6 】 本發明還一般涉及本發明的肽用於治療增殖性疾病，例如，急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌和子宮癌。

【 0 0 4 7 】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:385 組成的組。更優選的是所述肽（單獨或組合）選自包括 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:202 組成的組（見表 1）並且其

用於免疫治療 C L L、急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、  
乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、  
梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺  
癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、  
膀胱癌和子宮癌，優選為 C L L。

【 0 0 4 8 】 如示下面的表 4 A 和 B 所示，其中本發明的  
許多肽也發現於其他腫瘤中，因此也可用於其他適應症的  
免疫治療。另請參閱圖 1 和實施例 1。

【 0 0 4 9 】 表 4 A：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特  
別是其他癌性疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他  
腫瘤類型的選定肽，發現他們過量表現（特定表現）於 5 %  
以上測定的腫瘤樣本，或表現於 5 % 以上測定的腫瘤樣  
本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於 3。過度表  
現定義為與最高表現的正常樣本相比在腫瘤樣本上表現  
更高。經測試相比過度表現的正常組織有：脂肪組織、腎  
上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、乳腺、食道、眼、膽囊、  
心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁  
腺、腹膜、腦垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、  
脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
1	AIPPSFASIFL	NHL
2	ALHRPDVYL	NHL
3	VIAELPPKV	NHL
5	ALIFKIASA	AML、BRCA
7	ALLERTGYTL	HCC、NHL

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
8	ALAASALPALV	AML
9	ALCDTLITV	NHL
10	FVYGESVEL	NHL
12	ALGEDEITL	NHL、AML、黑色素瘤
13	VVDGMPPGV	NHL
14	ALLRLLPGL	NHL、AML
15	ALPEVSVEA	NHL、AML、黑色素瘤
19	QVMEKLAHV	NHL
20	ALVDPGPDFVV	NHL
21	ALWAGLLTL	NHL
22	ALWDPVIEL	NHL
24	AMAGDVVYA	NHL
25	ATYSGLESQSV	黑色素瘤
26	AVLLVLPLV	NHL
27	AVLGLVWLL	NSCLC、NHL、子宮癌
28	AVLHLLLSV	NHL、BRCA
29	AVLQAVTAV	SCLC、NHL、AML、黑色素瘤、OC、 膽囊癌、膽管癌
30	ELLEGSEIYL	NHL
32	FIDKFTPPV	NHL
33	FIINSSNIFL	NHL
35	FILPSSLYL	RCC、NHL、AML、膽囊癌、膽管癌
37	FIMEGGAMVL	AML
38	FIMEGGAMV	NHL
39	FLDALLTDV	SCLC、NHL、AML、黑色素瘤
40	FLDEDDMSL	SCLC、NHL、膀胱癌
42	FLEEGGVVTV	NHL、黑色素瘤

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
43	FLLGPEALSFA	NHL、AML
44	FLLSINDFL	黑色素瘤
45	FLPELPADLEA	NHL、黑色素瘤
46	YIIDSAQAV	NHL
48	FLSPQQPPLL	NHL
49	FLTDLFAQL	NHL
52	FLVETGFLHV	黑色素瘤
55	FMEPTLLML	NHL、膀胱癌
56	FVFEAPYTL	NHL、AML
57	GLSEISLRL	NHL、AML、黑色素瘤
58	YIQQGIFSV	NHL
59	FVFGDENGTVSL	NHL、食管癌、膀胱癌、子宮癌
60	FVLDHEDGLNL	黑色素瘤、食管癌
62	GIIDGSPRL	NHL
63	SLAHVAGCEL	NHL
64	KLLESVASA	NHL
66	SLAGGLDDMKA	NHL
67	GLDDVTVEV	HCC、NHL、黑色素瘤、食管癌、OC、膽囊癌、膽管癌
68	GLDQQFAGLDL	RCC、HCC、NHL、黑色素瘤
69	GLHQREIFL	NHL
70	FVPDTPVGV	NHL
71	GLKHDIARV	NHL
72	GLLDAGKMYV	NHL、黑色素瘤
74	GLLRASFLL	NHL、AML、BRCA
75	GLSIFAQDLRL	NHL
76	GLLRIIPYL	NHL

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
78	GLPSFLTEV	SCLC、NHL、AML、黑色素瘤
79	GLQAKIQEA	NHL、食管癌、子宮癌
80	VLIEDELEEL	NHL
81	WLVGQEFEL	NHL
82	GLQSGVDIGV	NHL
83	GQGEVLVYV	SCLC、GC、食管癌
86	HLYPGAVTI	HCC、NHL
87	HQIEAVDGEEL	GC、NHL、食管癌
88	ILDEIGADVQA	PC、NHL
89	ILDFGTFQL	NHL
91	ILDNLNTYNV	NHL
92	ILEPLNPLL	NHL
93	ILFNTQINI	SCLC、NHL、AML、黑色素瘤、OC
94	ILFPLRFTL	NSCLC、RCC、CRC、NHL、黑色素瘤、OC
96	ILIDKTSFV	NHL
97	LLFATQITL	NHL
98	SLIKYFLFV	NHL
99	ILIFHSVAL	NHL、AML
100	ILNNEVFAI	NHL、AML
101	ILVVIEPLL	NHL
102	IQDRAVPSL	AML
103	KLGGTPAPA	NHL
105	KLMNDIADI	NHL
109	KLWEGLTELV	AML
110	LLFDHLEPMEL	NHL
111	KLWNVAAPLYL	OC

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
112	KTLDVDATEI	HCC、NHL、黑色素瘤、食管癌、OC
113	KVPAEEVLVAV	NHL
116	LLIGATMQV	SCLC、NHL、AML
117	LLILENILL	NHL、AML、黑色素瘤
118	RLLILENILL	NHL
119	VLPAEFFEV	NHL、AML、膀胱癌、子宮癌
120	AIDAALTSV	NHL、AML
121	RLYEITIEV	SCLC、NHL、AML、BRCA、OC
122	LLIPVVPV	NSCLC、NHL
124	LLLEETEKQAV	RCC、HCC
125	LLLEIGEVGKLFV	NHL
126	LLPEGGITAI	NHL
127	LLPTAPTTV	NHL
130	LLVLIPVYL	NHL、黑色素瘤
133	YLLSGDISEA	NHL
136	NLDKLWTLV	GC、食管癌
137	NLIKTVIKL	NHL
138	NLLDIDAPVTV	SCLC、NHL
139	NLTDVVEKL	RCC、NHL
141	QILSEIVEA	NHL、黑色素瘤
145	SALDTITTV	NHL
146	SIIEGPPIKL	NHL、膀胱癌
147	SILETVATL	NHL、AML
148	SIVASLITV	NHL、AML
149	SLDNGGYI	NHL
150	SLFDQPLSII	NHL
151	SLFDSAYGA	AML



序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
152	SLIRILQTI	HCC
153	SLLAELHVL	NHL
154	SLLAELHVLTV	NHL
155	SLMLEVPAL	HCC、NHL
156	SLNIGDVQL	NHL
157	SLNIRDFTM	AML
158	SLPEAPLDV	NHL、AML、子宮癌
159	SLQEEKLIYV	腦癌、NHL、MCC、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌
160	SLSFLVPSL	NHL、AML、膀胱癌
161	SMDDGMINV	CRC、NHL、膽囊癌、膽管癌
162	SMKDDLENV	NSCLC、SCLC、RCC、HCC、NHL、BRCA、黑色素瘤、食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
163	SQLDISEPYKV	NHL
164	SVHKGFAFV	NSCLC、RCC、腦癌、GC、AML、食管癌、膀胱癌、子宮癌
165	TLDDDLDTV	NHL
166	TLDPNQVSL	AML
167	TLDTSKLYV	NHL
168	YLLDQSFVM	NHL
169	TLLLGLTEV	NHL、黑色素瘤
170	TLTFRVETV	NHL、黑色素瘤
172	TLYDMLASI	CRC、NHL、AML、黑色素瘤
175	FTVPRVVAV	NHL
177	VLDDRELLL	NHL
178	VLFFNVQEV	SCLC、NHL

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
179	VLLGLEMTL	NHL、食管癌
180	LLKDGPEIGL	NHL
181	VLLSIPFVSV	HCC、NHL
183	VLMPTVYQQGV	AML
185	VMDDQRDLI	AML
186	VMDPTKILI	AML、膀胱癌
187	VMDTHLVNI	NHL、膀胱癌
188	VMGDIPAAV	NHL、AML、膽囊癌、膽管癌
189	VMLEMTPEL	SCLC、PC、NHL、BRCA、黑色素瘤、 膽囊癌、膽管癌
190	VVMGTVPRL	NHL、AML
192	YIQEYLTLL	NHL
193	YLDLSNNRL	NHL
194	YLDNVLAEL	NHL
195	YLGGFALSV	NHL、AML
196	YLLLQTYVL	NHL
197	YLQEVPIITL	NHL、黑色素瘤
199	YLVELSSL	HCC、NHL、AML
200	YMFEEVPIVI	NSCLC、SCLC、CRC、HCC、NHL、 黑色素瘤、食管癌、OC、膀胱癌、膽囊 癌、膽管癌
201	YQLELHGIEL	食管癌
202	YVDDVFLRV	膀胱癌
203	ALLSSQLAL	NHL
204	GLLQINDKIAL	SCLC、RCC、HCC、黑色素瘤、OC、 膀胱癌
205	GLSQANFTL	NHL

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
207	IIADLDTTIMFA	SCLC、NHL、黑色素瘤、OC
208	ILLKTEGINL	NHL、BRCA、OC、膀胱癌
209	ILQAELPSL	NHL
210	KLLVQDFFL	HCC、NHL
211	LIDVKPLGV	NHL、BRCA、黑色素瘤
212	NIIEAINELLV	NHL、BRCA、黑色素瘤
213	RLLYQLVFL	NHL、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
214	RLQELTEKL	NHL、AML
215	VMQDIVYKL	NHL、食管癌、膀胱癌
216	WLAGDVPA A	SCLC、NHL
217	ALDEPPYLT V	NHL、黑色素瘤
218	ALGEEWKGYV V	食管癌
219	ALLNLLESA	NHL、AML、OC
220	ALPEILFAKV	NHL
221	ALVSTIIMV	NHL、AML
222	ALWELSLKI	NHL
223	ALWVSQPPEI	NHL
224	AMEALVVEV	NHL
225	ILQERELLPV	NHL、黑色素瘤、OC、膀胱癌
227	FLAEASVMTQL	NHL
228	FLGGLSPGV	NHL、食管癌
229	FLLNLQNCHL	NHL
230	FLQDSKVIFV	NHL
231	FLYIRQLAI	AML
232	FMHQIIDQV	RCC、CRC、黑色素瘤
233	GIIDINVRL	PC、NHL、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌、

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
		子宮癌、膽囊癌、膽管癌
234	GLDDAEYAL	NHL、AML、黑色素瘤、膀胱癌
235	GLDDLFL	SCLC、PC、NHL、AML、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
236	GLLESGRHYL	NHL、AML
237	GLQENLDVVV	SCLC、NHL、黑色素瘤、子宮癌
238	GLVETELQL	NHL、AML
239	ILAGEMLSV	NHL、AML、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌
240	ILARDILEI	NHL、膀胱癌
241	ILGDILLKV	AML
242	ILLGIQELL	NHL、AML
243	ILPTLEKELFL	AML
244	ILQALAVHL	NHL、AML、OC
245	KIMDYSLLLGV	SCLC、RCC、OC
246	KLDETGVAL	SCLC、NHL、AML、黑色素瘤
247	KLKDRGPSI	NHL
248	KTVEPPISQV	NHL
249	LLPTGVFQV	膀胱癌
250	LLVQEPDGLMV	SCLC、HCC、黑色素瘤、膀胱癌
251	LLYDNVPGA	NHL
252	NLLDPGSSYLL	食管癌
253	NLWSVDGEVTV	NHL
254	QLIPKLIFL	NHL、黑色素瘤
255	YLFEEAISM	NHL
257	RIINGIISV	NHL
258	RLDYITAEI	RCC、NHL、AML、黑色素瘤

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
260	SLDDVEGMSV	NHL、膽囊癌、膽管癌
261	SLVEAQGWLV	NHL
263	SQWEDIHVV	NHL、AML
264	TILDYINVV	腦癌、NHL、AML、BRCA、OC、子宮癌
265	TLLADDLEIKL	食管癌
266	TLLDQLDTQL	NHL、OC、膀胱癌
267	TLLDWQDSL	NHL、AML、黑色素瘤
268	TLLQVFHLL	NHL
269	TLTDEQFLV	NHL、AML
271	VIRNIVEAA	GC、CRC、PC、AML、食管癌
272	VLDELPPLI	SCLC、NHL
273	VLGEYSYLL	NHL
274	VLLEYHIAYL	NSCLC、SCLC、HCC、NHL、膀胱癌
275	VLLFIEHSV	NHL
276	VLNDGAPNV	NSCLC、SCLC、NHL、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
278	YLDDLLPKL	PC、NHL
280	YTLDSLYWSV	NHL
281	NLLDDRGMTAL	NHL、AML
282	LLRDGIELV	NHL、黑色素瘤、OC
283	ILQPMDIHV	NHL
284	LLSAAEPVPA	NHL
286	FLLEDLSQKL	NHL
288	GLAESTGLLAV	NHL
290	LANPHELST	AML
291	ILLNEDDLVTI	SCLC、NHL、黑色素瘤

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
292	AAALIIHHV	膀胱癌
294	ALLDQLHTLL	NHL
295	ALLQKLQQL	NHL
296	FIAPTGHSL	SCLC、NHL、AML、BRCA
297	FLVEPQEDTRL	NHL、黑色素瘤
298	IILPVEVEV	SCLC、NHL、AML、膀胱癌
299	ILEENIPVL	NHL
300	ILLNPAYDVYL	NHL、黑色素瘤
303	ILSQPTPSL	NHL、AML、黑色素瘤、OC
304	LAIVPVNTL	AML
305	LLFPQIEGIKI	NHL、黑色素瘤
306	VVAEELENV	NHL、黑色素瘤、OC
307	LLLTKPTEA	NHL
308	SLYDVSRMYV	NHL
309	ILYGTQFVL	NHL
310	LLSTLHLLV	NHL
311	LLVDVEPKV	NSCLC、SCLC、RCC、HCC、PC、NHL、AML、黑色素瘤
312	LLYNSTDPTL	NHL
313	LMADLEGLHL	黑素瘤、膀胱癌
314	LMKDCEAEV	NHL
316	MLLEHGITL	NHL
317	NLLAHIWAL	AML
320	TIAPVTVAV	NHL
321	RLLEFELAQL	SCLC、CRC、NHL、OC
322	SLASIHVPL	NHL
323	SLDLFNCEV	NHL

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
324	SLYSALQQA	NHL
325	TLENGVPCV	NHL
326	VLAFLVHEL	食管癌
327	VLIKWFPEV	NHL
328	VLLPQETAIEHL	NHL、BRCA、黑色素瘤、OC、膀胱癌
329	VLMDGSVKL	NHL
330	VLMWEIYSL	NHL
332	VMIQHVENL	NHL
333	VTLEFPQLIRV	SCLC、HCC、NHL
334	YLLEEKIASL	NHL
335	YLYQEYFI	SCLC、NHL、AML、膀胱癌
337	YMYEKESEL	NHL
338	FLDMTNWNL	HCC、NHL、黑色素瘤、OC、膀胱癌
339	GLWGTVVNI	NHL、AML、黑色素瘤、子宮癌
341	LLAELPASVHA	HCC、NHL、膀胱癌
342	SLITPLQAV	NHL、AML、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
343	TLLEALDCI	NHL、AML、黑色素瘤、食管癌
344	VLAFFNPQV	食管癌
346	VLVQVSPSL	RCC、NHL、AML、膽囊癌、膽管癌
347	YLGPVSPSL	NHL
348	ALAKPPVVS	SCLC、HCC、黑色素瘤、食管癌
349	ALATHILSL	NHL、膀胱癌
350	ALEDVWEL	NHL、食管癌
351	ALSEKLARL	HCC、NHL、AML、膀胱癌
352	ALVFELHYV	NHL
353	ATPMPTPSV	SCLC、NHL
354	FIMDDPAGNSYL	CRC、NHL、AML、黑色素瘤、食管癌、

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
		膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
357	FLIQEIKTL	NHL、OC、膀胱癌
358	FLTDYLNDL	NHL
359	FMQDPMEV FV	黑色素瘤
360	HLIDTNKIQL	NHL
362	ILTELGGFEV	NHL
363	ITTEVVNELYV	NHL、黑色素瘤
364	KMDWIFHTI	膀胱癌
365	LISPLLLPV	NHL、AML、黑色素瘤、膀胱癌
367	NLWSLVAKV	NSCLC、NHL、AML、黑色素瘤、OC
369	RLLDLENSLLGL	AML
370	SIFASPESV	黑色素瘤、食管癌、膀胱癌
371	SLADDSVLERL	RCC、HCC、NHL、AML、食管癌、膀胱癌
373	TLLADQGEIRV	NHL、黑色素瘤
374	VLSVITEEL	NHL、AML
375	VLWFKPV EL	NSCLC、HCC、NHL、黑色素瘤、食管癌
376	VLYNQ RVEEI	膀胱癌
377	VVDGTCVAV	NHL、黑色素瘤
378	YILGKFFAL	NHL、AML
379	YLAELVTPIL	NSCLC、SCLC、NHL、黑色素瘤
380	YLD RKLLTL	NHL
381	YLLEENKIKL	NHL
382	YLLPLLQRL	NHL、AML
383	YLLREWVNL	HCC、NHL
384	YMIGSEVGNYL	NHL、膀胱癌



序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
385	YTIPLAIKL	NHL、AML、BRCA、食管癌

【 0 0 5 0 】 N S C L C = 非 小 細 胞 肺 癌 ， S C L C = 小 細 胞 肺 癌 ， R C C = 腎 癌 ， C R C = 結 腸 或 直 腸 癌 ， G C = 胃 癌 ， H C C = 肝 癌 ， P C = 胰 腺 癌 ， P r C = 攝 護 腺 癌 ， 白 血 病 ， B R C A = 乳 腺 癌 ， M C C = 梅 克 爾 細 胞 癌 ， N H L = 非 霍 奇 金 淋 巴 瘤

【 0 0 5 1 】 因 此 ， 本 發 明 的 另 一 個 方 面 涉 及 根 據 S E Q I D N o . 1 、 2 、 3 、 7 、 9 、 1 0 、 1 3 、 1 4 、 1 5 、 1 9 、 2 0 、 2 1 、 2 2 、 2 4 、 2 6 、 2 7 、 2 8 、 2 9 、 3 0 、 3 2 、 3 3 、 3 5 、 3 8 、 3 9 、 4 0 、 4 2 、 4 3 、 4 5 、 4 6 、 4 8 、 4 9 、 5 5 、 5 6 、 5 7 、 5 8 、 5 9 、 6 2 、 6 3 、 6 4 、 6 6 、 6 7 、 6 8 、 6 9 、 7 0 、 7 1 、 7 2 、 7 4 、 7 5 、 7 6 、 7 8 、 7 9 、 8 0 、 8 1 、 8 2 、 8 6 、 8 7 、 8 8 、 8 9 、 9 1 、 9 2 、 9 3 、 9 4 、 9 6 、 9 7 、 9 8 、 9 9 、 1 0 0 、 1 0 1 、 1 0 3 、 1 0 5 、 1 1 0 、 1 1 2 、 1 1 3 、 1 1 6 、 1 1 7 、 1 1 8 、 1 1 9 、 1 2 0 、 1 2 1 、 1 2 2 、 1 2 5 、 1 2 6 、 1 2 7 、 1 3 0 、 1 3 3 、 1 3 7 、 1 3 8 、 1 3 9 、 1 4 1 、 1 4 5 、 1 4 6 、 1 4 7 、 1 4 8 、 1 4 9 、 1 5 0 、 1 5 3 、 1 5 4 、 1 5 5 、 1 5 6 、 1 5 8 、 1 5 9 、 1 6 0 、 1 6 1 、 1 6 2 、 1 6 3 、 1 6 5 、 1 6 7 、 1 6 8 、 1 6 9 、 1 7 0 、 1 7 2 、 1 7 5 、 1 7 7 、 1 7 8 、 1 7 9 、 1 8 0 、 1 8 1 、 1 8 7 、 1 8 8 、 1 8 9 、 1 9 0 、 1 9 2 、 1 9 3 、 1 9 4 、 1 9 5 、 1 9 6 、 1 9 7 、 1 9 9 、 2 0 0 、 2 0 3 、 2 0 5 、 2 0 7 、 2 0 8 、 2 0 9 、 2 1 0 、 2 1 1 、 2 1 2 、 2 1 3 、 2 1 4 、 2 1 5 、 2 1 6 、 2 1 7 、 2 1 9 、 2 2 0 、 2 2 1 、 2 2 2 、 2 2 3 、 2 2 4 、 2 2 5 、 2 2 7 、 2 2 8 、 2 2 9 、 2 3 0 、 2 3 3 、 2 3 4 、 2 3 5 、 2 3 6 、 2 3 7 、 2 3 8 、 2 3 9 、 2 4 0 、 2 4 2 、 2 4 4 、 2 4 6 、 2 4 7 、

2 4 8 、 2 5 1 、 2 5 3 、 2 5 4 、 2 5 5 、 2 5 7 、 2 5 8 、 2 6 0 、 2 6 1 、  
2 6 3 、 2 6 4 、 2 6 6 、 2 6 7 、 2 6 8 、 2 6 9 、 2 7 2 、 2 7 3 、 2 7 4 、  
2 7 5 、 2 7 6 、 2 7 8 、 2 8 0 、 2 8 1 、 2 8 2 、 2 8 3 、 2 8 4 、 2 8 6 、  
2 8 8 、 2 9 0 、 2 9 1 、 2 9 4 、 2 9 5 、 2 9 6 、 2 9 7 、 2 9 8 、 2 9 9 、  
3 0 0 、 3 0 3 、 3 0 5 、 3 0 6 、 3 0 7 、 3 0 8 、 3 0 9 、 3 1 0 、 3 1 1 、  
3 1 2 、 3 1 4 、 3 1 6 、 3 2 0 、 3 2 1 、 3 2 2 、 3 2 3 、 3 2 4 、 3 2 5 、  
3 2 7 、 3 2 8 、 3 2 9 、 3 3 0 、 3 3 2 、 3 3 3 、 3 3 4 、 3 3 5 、 3 3 7 、  
3 3 8 、 3 3 9 、 3 4 1 、 3 4 2 、 3 4 3 、 3 4 6 、 3 4 7 、 3 4 9 、 3 5 0 、  
3 5 1 、 3 5 2 、 3 5 3 、 3 5 4 、 3 5 7 、 3 5 8 、 3 6 0 、 3 6 2 、 3 6 3 、  
3 6 5 、 3 6 7 、 3 7 1 、 3 7 3 、 3 7 4 、 3 7 5 、 3 7 7 、 3 7 8 、 3 7 9 、  
3 8 0 、 3 8 1 、 3 8 2 、 3 8 3 、 3 8 4 和 3 8 5 中任一項所述的  
本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治  
療 N H L 。

【 0 0 5 2 】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 S E Q I D  
N o . 5 、 8 、 1 2 、 1 4 、 1 5 、 2 9 、 3 5 、 3 7 、 3 9 、 4 3 、 5 6 、  
5 7 、 7 4 、 7 8 、 9 3 、 9 9 、 1 0 0 、 1 0 2 、 1 0 9 、 1 1 6 、 1 1 7 、  
1 1 9 、 1 2 0 、 1 2 1 、 1 4 7 、 1 4 8 、 1 5 1 、 1 5 7 、 1 5 8 、 1 6 0 、  
1 6 4 、 1 6 6 、 1 7 2 、 1 8 3 、 1 8 5 、 1 8 6 、 1 8 8 、 1 9 0 、 1 9 5 、  
1 9 9 、 2 1 4 、 2 1 9 、 2 2 1 、 2 3 1 、 2 3 4 、 2 3 5 、 2 3 6 、 2 3 8 、  
2 3 9 、 2 4 1 、 2 4 2 、 2 4 3 、 2 4 4 、 2 4 6 、 2 5 8 、 2 6 3 、 2 6 4 、  
2 6 7 、 2 6 9 、 2 7 1 、 2 8 1 、 2 9 0 、 2 9 6 、 2 9 8 、 3 0 3 、 3 0 4 、  
3 1 1 、 3 1 7 、 3 3 5 、 3 3 9 、 3 4 2 、 3 4 3 、 3 4 6 、 3 5 1 、 3 5 4 、  
3 6 5 、 3 6 7 、 3 6 9 、 3 7 4 、 3 7 8 、 3 8 2 和 3 8 5 中任一項

所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療 A M L 。

【0053】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 5、28、74、121、162、208、211、212、264、296、328 和 385 中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療 B R C A 。

【0054】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 7、67、68、78、86、112、124、152、155、162、181、199、200、204、210、246、250、274、311、333、338、341、348、351、371、375 和 383 中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療 H C C 。

【0055】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 12、15、25、29、39、42、44、45、52、57、60、67、68、72、78、93、94、112、117、130、141、159、162、169、170、172、189、197、200、204、207、211、212、217、225、232、233、234、237、239、246、250、254、258、267、276、282、291、297、300、303、305、306、311、313、328、338、339、343、348、354、359、363、365、367、370、373、375、377 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療黑色素瘤。

【0056】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 27、94、122、162、164、200、274、276、311、367、375 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 NSCLC。

【0057】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 27、59、79、119、158、162、164、233、235、237、264、276 和 339 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療子宮癌。

【0058】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 29、67、93、94、111、112、200、204、207、208、219、225、244、245、264、266、282、303、306、321、328、338、357 和 367 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療卵巢癌（OC）。

【0059】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 29、35、67、161、162、188、189、200、213、233、235、239、260、276、342、346 和 354 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療膽囊癌和/或膽管癌。

【0060】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 35、68、94、124、139、162、164、197、204、232、245、258、311、346 和 371 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 RCC。

【0061】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 39、40、83、93、121、138、162、178、189、200、204、207、216、235、237、245、250、272、274、276、291、296、298、311、321、333、335、348、353 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 SCLC。

【0062】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 40、55、59、119、146、159、160、164、186、187、200、202、204、208、213、215、225、233、234、235、240、249、250、266、274、292、298、313、328、335、338、341、342、349、351、354、357、364、365、370、371、376 和 384 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療膀胱癌。

【0063】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 59、60、67、79、83、87、112、136、159、162、164、179、200、201、213、215、218、228、233、252、265、271、326、343、344、348、350、354、370、371、375 和 385 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療食管癌。

【0064】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 83、87、136、164 和 271 中任一項所述的本發

明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療胃癌（GC）。

【0065】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 88、189、233、235、271、278 和 311 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療胰腺癌（PC）。

【0066】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 94、161、172、200、232、271、321 和 354 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療結直腸癌（CRC）。

【0067】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 159 所述的本發明的肽用於治療 MCC。

【0068】 因此，本發明的另一個方面涉及本發明中肽的用途（優選聯合）用於治療選自 CLL、急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌和子宮癌組中的增殖性疾病。

【0069】 表 4B：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途。與表 4A 一樣，該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們顯示過量表現（包括特定表現）於 5% 以上測定的腫瘤樣本，或表現於 5% 以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於 3。過度表現定義為與最高表現的

正常樣本相比在腫瘤樣本上表現更高。經測試過度表現的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神經、結腸、十二指腸、食道、眼、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白細胞、胰腺、甲狀旁腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列 ID 號	序列	其他實體
5	ALIFKIASA	子宮癌
7	ALLERTGYTL	子宮癌、AML
8	ALAASALPALV	AML、HNSCC
11	ALFTFSPLTV	AML、HNSCC、NHL、NSCLC、OC、SCLC
13	VVDGMPPGV	BRCA、子宮癌
14	ALLRLLPGL	BRCA、黑色素瘤、HNSCC
15	ALPEVSVEA	食管癌
25	ATYSGLESQSV	AML
26	AVLLVLPLV	NHL、NSCLC
27	AVLGLVWLL	HNSCC
29	AVLQAVTAV	子宮癌
30	ELLEGSEIYL	CRC、BRCA、黑色素瘤、子宮癌
35	FILPSSLYL	SCLC、子宮癌
37	FIMEGGAMVL	NHL
38	FIMEGGAMV	HNSCC
40	FLDEDDMSL	HNSCC
41	FLDPSLDPLL	子宮癌
42	FLEEGGVVTV	SCLC、AML
44	FLLSINDFL	RCC、子宮癌、AML、NHL
45	FLPELPADLEA	NSCLC、子宮癌、OC

48	FLSPQQPPLL	HNSCC
49	FLTDLFAQL	NHL、黑色素瘤
51	FLVEAPHDWDL	子宮癌
55	FMEPTLLML	HNSCC
58	YIQQGIFSV	NHL、NSCLC
59	FVFGDENGTVSL	SCLC、HNSCC
67	GLDDVTVEV	AML
68	GLDQQFAGLDL	BRCA、OC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
76	GLLRIPYL	RCC
82	GLQSGVDIGV	AML、食管癌、PC
83	GQGEVLVYV	NHL
84	GVMDVNTAL	AML、HCC、HNSCC、NHL、NSCLC、GC、RCC
86	HLYPGAVTI	AML
87	HQIEAVDGEEL	PC
89	ILDFGTFQL	BRCA
90	VIADLGLIRV	黑色素瘤
91	ILDNNTYNV	AML
93	ILFNTQINI	子宮癌、HNSCC
94	ILFPLRFTL	膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
101	ILVVIEPLL	子宮癌
107	ILYNLYDLL	黑色素瘤
108	VIYTLIHYI	BRCA、黑色素瘤
111	KLWNVAAPLYL	黑色素瘤
112	KTLDVDATYEI	子宮癌
113	KVPAEEVLVAV	NHL、NSCLC
114	LIPEGPPQV	AML、HNSCC



115	LLFDKLYLL	子宮癌
118	RLLILENILL	HNSCC
119	VLPAEFFEV	SCLC
124	LLLEETEKQAV	HNSCC
125	LLLEIGEVGKLFV	BRCA
126	LLPEGGITAI	SCLC、HCC、黑色素瘤、子宮癌、HNSCC
127	LLPTAPTTV	SCLC
128	LLSEEEYHL	膀胱癌、NHL、HNSCC
130	LLVLIPVYL	子宮癌
136	NLDKLWTLV	AML、CRC、黑色素瘤、NSCLC、腦癌
138	NLLDIDAPVTV	子宮癌、AML
141	QILSEIVEA	子宮癌
145	SALDTITTV	NSCLC、RCC、GC、HCC、AML
146	SIIEGPiIKL	HNSCC
147	SILETVATL	黑色素瘤
152	SLIRILQTI	SCLC
156	SLNIGDVQL	AML
159	SLQEEKLIYV	HNSCC
160	SLSFLVPSL	子宮癌
161	SMDDGMINV	SCLC、黑色素瘤、子宮癌、AML、HNSCC
162	SMKDDLENV	PC、OC、HNSCC
164	SVHKGFAFV	CRC、黑色素瘤、HNSCC
172	TLYDMLASI	SCLC、膀胱癌、子宮癌
173	TVIENIHTI	CRC、HCC、黑色素瘤、NHL、NSCLC、OC、食管癌、GC、RCC
174	VLAELPIIVV	NSCLC、OC
176	VLAEQNIIPSA	NSCLC、SCLC、GC、黑色素瘤、NHL、HNSCC

179	VLLGLEMTL	HNSCC
181	VLLSIPFVSV	黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌
184	VLSHNLYTV	NHL
187	VMDTHLVNI	CRC、黑色素瘤、子宮癌
188	VMGDIPAAV	膀胱癌、HNSCC
189	VMLEMTPEL	HNSCC
190	VVMGTVPRL	黑色素瘤
191	YIFDGSDGGV	子宮癌
192	YIQEYLTL	SCLC、膀胱癌、AML、HNSCC
197	YLQEVPI LTL	子宮癌
198	YLTFLPAEV	BRCA、子宮癌
199	YLVELSSLL	黑色素瘤
200	YMFEEVPIVI	BRCA、HNSCC
201	YQLELHGIEL	NHL
202	YVDDVFLRV	AML、HNSCC
203	ALLSSQLAL	NHL、AML、NSCLC
204	GLLQINDKIAL	BRCA、子宮癌、AML
208	ILLKTEGINL	黑色素瘤、HNSCC
211	LIDVKPLGV	RCC、腦癌、HCC、食管癌、HNSCC
212	NIIEAINELLV	子宮癌、AML、HNSCC
215	VMQDIVYKL	HNSCC
216	WLAGDVPAA	AML、HNSCC
217	ALDEPPY LTV	AML
218	ALGEEWKGYVV	AML
221	ALVSTIIMV	腦癌
224	AMEALVVEV	AML
226	AMNISVPQV	AML、PrC、腦癌 C_CCC、HNSCC、NHL、NSCLC、OC、SCLC、子宮癌

228	FLGGLSPGV	SCLC、BRCA、子宮癌、AML、HNSCC
231	FLYIRQLAI	子宮癌
232	FMHQIIDQV	子宮癌
234	GLDDAEYAL	子宮癌、HNSCC
235	GLDDL LLLFL	BRCA、HNSCC
237	GLQENLDVVV	AML
239	ILAGEMLSV	SCLC、HCC
240	ILARDILEI	黑色素瘤
242	ILLGIQELL	BRCA
247	KLKDR LPSI	HCC
257	RIINGIISV	AML
258	RLDYITAEI	GC、子宮癌
260	SLDDVEGMSV	SCLC、HNSCC
261	SLVEAQGWLV	AML
264	TILDYINVV	HNSCC
266	TLLDQLDTQL	CRC、BRCA、子宮癌
268	TLLQVFHLL	子宮癌
269	TLTDEQFLV	BRCA
272	VLDELPLI	BRCA、子宮癌、HNSCC
273	VLGEYSYLL	NHL、HNSCC
274	VLLEYHIAYL	黑色素瘤、HNSCC
275	VLLFIEHSV	黑色素瘤
279	YMAPEVVEA	HNSCC、NHL、NSCLC、SCLC、子宮癌
280	YTLDSLYWSV	SCLC、BRCA、黑色素瘤、HNSCC
286	FLLEDLSQKL	子宮癌
289	ILEEQPMDMLL	子宮癌
293	ALDIMIPMV	AML、CRC、腦癌 C_CCC、HNSCC、黑色素瘤、NHL、NSCLC、OC、腦癌、RCC、

		SCLC、膀胱癌、子宮癌
294	ALLDQLHTLL	AML
298	IILPVEVEV	CRC、HNSCC
299	ILEENIPVL	子宮癌、AML
303	ILSQPTPSL	子宮癌
305	LLFPQIEGIKI	膀胱癌、HNSCC
306	VVAEELENV	RCC
311	LLVDVEPKV	子宮癌、HNSCC
312	LLYNSTDPTL	膀胱癌
313	LMADLEGLHL	子宮癌、AML
317	NLLAHIWAL	NHL
321	RLLEFELAQL	腦癌、PrC、子宮癌、AML、HNSCC
323	SLDLFNCEV	子宮癌、AML
324	SLYSALQQA	SCLC、子宮癌、AML
326	VLAFLVHEL	食管癌、NSCLC、RCC
327	VLIKWFPEV	子宮癌
333	VTLEFPQLIRV	BRCA
334	YLLEEKIASL	AML
335	YLYQEYFI	CRC、腦癌 C_CCC、NSCLC、子宮癌
336	YMAVTTQEV	子宮癌
339	GLWGTVVNI	HNSCC
340	KLLEEICNL	黑色素瘤、子宮癌、AML、NHL
342	SLITPLQAV	HNSCC
343	TLLEALDCI	GC、子宮癌、HNSCC
344	VLAFFENPQV	HNSCC
346	VLVQVSPSL	HNSCC
348	ALAKPPVVS	NSCLC、膀胱癌、NHL、HNSCC
349	ALATHILSL	HCC、黑色素瘤

351	ALSEKLARL	CRC、HNSCC、黑色素瘤、NSCLC、OC、PC、腦癌、RCC、子宮癌
353	ATPMPTPSV	BRCA、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
354	FIMDDPAGNSYL	腦癌、HNSCC
355	FIWPMLIHI	黑色素瘤、子宮癌
357	FLIQEIKTL	HCC
358	FLTDYLN DL	AML
359	FMQDPMEVFV	黑色素瘤、NHL、NSCLC、OC
360	HLIDTNKIQL	NHL、NSCLC
361	ILQEFESKL	AML、NHL
362	ILTELGGFEV	AML、PrC、BRCA、PC、CRC、HCC、HNSCC、黑色素瘤、NSCLC、OC、食管癌、GC、RCC、SCLC、膀胱癌、子宮癌
363	ITTEVVNELYV	BRCA
365	LISPLLLPV	SCLC、子宮癌、HNSCC
367	NLWSLVAKV	子宮癌
368	QLQPTDALLCV	子宮癌
370	SIFASPESV	子宮癌、膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
374	VLSVITEEL	SCLC、HCC、PrC、膀胱癌、子宮癌
375	VLWFKPVEL	BRCA、OC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
377	VVDGTCVAV	BRCA、子宮癌、HNSCC
378	YILGKFFAL	黑色素瘤、食管癌
379	YLAELVTPIL	HCC、BRCA、子宮癌、AML、HNSCC
383	YLLREWVNL	黑色素瘤、子宮癌
384	YMIGSEVGNYL	SCLC、子宮癌
385	YTIPLAIKL	CRC

【0070】 NSCLC = 非小細胞肺癌，SCLC = 小細胞肺癌，RCC = 腎癌，CRC = 結腸或直腸癌，GC = 胃癌，HCC = 肝癌，PC = 胰腺癌，PrC = 攝護腺癌，BRCA = 乳腺癌，NHL = 非霍奇金淋巴瘤，AML = 急性骨髓性白血病，OC = 卵巢癌，HNSCC = 頭頸部鱗狀細胞癌。

【0071】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 5、7、13、29、30、35、41、44、45、51、68、93、101、112、115、126、130、138、141、160、161、172、187、191、197、198、204、212、226、228、231、232、234、258、266、268、272、279、286、289、293、299、303、311、313、321、323、324、327、335、336、340、343、351、353、355、362、365、367、368、370、374、375、377、379、383 和 384 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療子宮癌。

【0072】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 7、8、11、25、42、44、67、82、84、86、91、94、114、136、138、145、156、161、192、202、203、204、212、216、217、218、224、226、237、257、261、293、294、299、313、321、323、324、334、340、353、358、361、362、370 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 AML。

【0073】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 8、11、14、27、38、40、48、55、59、68、84、93、94、114、118、124、126、128、146、159、161、162、164、176、179、188、189、192、200、202、208、211、212、215、216、226、228、234、235、260、264、272、273、274、279、280、293、298、305、311、321、339、342、343、344、346、348、351、353、354、362、365、370、375、377 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 HNSCC。

【0074】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 11、26、37、44、49、58、83、84、113、128、173、176、184、201、203、226、273、279、293、317、340、348、359、360 和 361 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 NHL。

【0075】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 11、58、84、26、113、136、45、145、173、174、176、203、226、279、293、326、335、348、351、359、360 和 362 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 NSCLC。

【0076】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 11、45、68、162、173、174、226、293、351、

359、362 和 375 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 OC。

【0077】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 11、35、42、59、119、126、127、152、161、172、176、192、226、228、239、260、280、293、324、362、365、374 和 384 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 SCLC。

【0078】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 13、14、30、68、89、108、125、198、200、204、228、235、242、266、269、272、280、333、353、362、363、375、377 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 BRCA。

【0079】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 14、30、49、90、107、108、111、126、136、147、161、164、173、176、181、187、190、199、208、240、274、275、280、293、340、349、351、355、359、362、378 和 383 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療黑色素瘤。

【0080】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 15、82、173、211、326、362 和 378 中任一



項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療食管癌。

【0081】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 30、136、164、173、187、266、293、298、335、351、362、363 和 385 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療CRC。

【0082】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 44、76、84、145、173、211、293、306、326、351 和 362 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療RCC。

【0083】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 68、94、181、353、370 和 375 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療膽囊癌和/或膽管癌。

【0084】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 82、87、162、351 和 362 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療PC。

【0085】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 84、145、173、176、258、343 和 362 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療GC。

【0086】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 84、126、145、173、211、239、247、349、357、362、374 和 379 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療 HCC。

【0087】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 136、211、221、226、293、321、335、351 和 354 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療腦癌。

【0088】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 128、172、188、192、293、305、312、321、348、362 和 374 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案中聯合）用於治療膀胱癌。

【0089】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 226、321、362 和 374 中任一項所述的本發明的至少一種肽（在一種優選實施方案的肽聯合）用於治療PrC。

【0090】 本發明還涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體（MHC）I或以拉長形式存在的例如長度變化的-MHC-II類分子結合的能力。

【0091】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中所述肽（每種肽）系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385的一個氨基酸序列組成。

【0092】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵。

【0093】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽為融合蛋白的一部分，特別是與 H L A - D R 抗原相關不變鏈 (I i) 的 N-端氨基酸融合，或與抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）或抗體的序列融合。

【0094】 本發明進一步涉及一種能表達和 / 或表達本發明核酸的表達載體。

【0095】 本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種治療疾病的藥用表達載體，特別是用於治療癌症。

【0096】 本發明進一步涉及本發明中肽或本發明中所述肽複合體（含有 M H C）的特定抗體以及製造這些抗體的方法。

【0097】 本發明進一步涉及本發明的 T 細胞受體 (T C R)，特別是可溶性 T C R (s T C R s) 和加工為自體或異體 T 細胞的克隆 T C R，以及製造這些 T C R 的方法和載有所述 T C R 或所述 T C R 交叉反應的 N K 細胞的製造方法。

【0098】 抗體和 T C R 是根據本發明的肽現有免疫治療用途的另外實施方案。

【0099】 本發明進一步涉及含本發明核酸或前述表達載體的一種宿主細胞。本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原表現細胞，優選為樹突細胞。

【0100】 本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0101】 本發明進一步涉及本發明中的所述方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提呈細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原表現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的 I 或 II 類 MHC 分子。

【0102】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原表現細胞由能表達含 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:385、優選為含 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:202 所述肽的一個表達載體、或一個變體氨基酸序列組成。

【0103】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化 T 細胞，其中所述 T 細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0104】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者按本發明方法製造的有效量 T 細胞。

【0105】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的核酸、本發明的表達載體、本發明的細胞、本發明的作為藥劑或製造藥劑的活化 T 淋巴細胞、T 細胞受體或抗體或其他肽 - 和 / 或肽 - MHC 結合分子的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0106】 優選情況為，所述藥劑為基於可溶性 TCR 或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0107】 本發明進一步涉及本發明中的用途，其中所述癌細胞為 CLL、急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌和子宮癌，優選為 CLL 細胞。

【0108】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷癌症，優選為 CLL。所述標誌物可以肽本身過度表現或相應基因過度表達。標誌物也可以用於預測治療成功的可能性，優選為免疫療法，最優選為靶向作用於該生物標誌物識別的相同靶標的免疫療法。例如，抗體或可溶性 TCR 可用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關肽與 MHC 複合。

【0109】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。本發明還涉及這些癌症治療中新靶點的用途。

【0110】 是否能刺激免疫反應取決於是否存在被宿主免疫系統視為異物的抗原。發現腫瘤相關抗原的存在增加了運用宿主免疫系統干預腫瘤生長的可能性。目前，針對癌症免疫治療，正在探索利用免疫系統的體液和細胞進行免疫的各種機制。

【0111】細胞免疫反應的特定元素能特異性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的T-細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是CD8陽性T細胞在這種反應中發揮重要作用，TCD8+能識別通常8至10個源白蛋白或位於細胞質的缺損核糖體產物（DRIP）的氨基酸殘基的主要組織相容性複合體（MHC）所載的肽中所含的I類分子。人MHC分子也稱為人白細胞-抗原（HLA）。

【0112】除非另有說明，否則本文使用的所有術語定義如下。

【0113】術語「T細胞反應」是指由一種肽在體外或體內誘導的效應子功能的特異性擴散和活化。對於MHC I類限制性細胞毒性T細胞，效應子功能可能為溶解肽脈衝的、肽前體脈衝的或天然肽表現的靶細胞、分泌細胞因子，優選為肽誘導的干擾素- $\gamma$ ，TNF- $\alpha$ 或IL-2，分泌效應分子，優選為肽誘導的顆粒酶或穿孔素，或脫顆粒。

【0114】本文所用「肽」這一術語，系指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 $\alpha$ -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。這些肽的長度優選為9個氨基酸，但至短可為8個氨基酸長度，至長可為10、11、12、13或14個氨基酸或更長，如果為MHC-II類肽時（本發明肽的拉長變體），至長可為15、16、17、18、19或20個氨基酸長度或更長。

【0115】 因此，「肽」這一術語應包括一系列氨基酸殘基的鹽，通常透過相鄰氨基酸的  $\alpha$ -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。首選的情況是，鹽為肽的藥用鹽，例如：氯化物或乙酸（三氟乙酸）鹽。必須注意的是，本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為該不是體內的鹽。

【0116】 術語「肽」應也包括「寡肽」。本文使用的術語「寡肽」是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的  $\alpha$ -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。寡肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要在寡肽中保持正確的表位即可。通常，寡肽長度約小於30個氨基酸殘基，約長於15個氨基酸。

【0117】 「多肽」這一術語是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的  $\alpha$ -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。多肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要保持正確的表位即可。與術語肽或寡肽相對，「多肽」這一術語是指包含多於約30個氨基酸殘基的分子。

【0118】 術語「全長多肽」是指多聚體蛋白的一種完全蛋白（氨基酸鏈）或完全亞基（氨基酸鏈）。

【0119】 一種肽、寡肽、蛋白質或編碼該分子的核苷酸如果能誘導免疫反應，則具有「免疫原性」（因此是本發明中的一種「免疫原」）。在本發明的情況下，免疫原性的更具體定義是誘導T細胞反應的能力。因此，「免疫原」是一種能夠誘導免疫反應的分子，並且在本發明的情況下，是一種能誘導T細胞反應的分子。在另一方面，所述

免疫原可以是肽，肽與MHC的複合體、和/或用於提高特异性抗體或TCR抗性的蛋白。

【0120】 I 類 T細胞「表位」要求的是一種結合至MHC I類受體上的短肽，從而形成一種三元複合體(MHC I類α鏈、β-2-微球蛋白和肽)，其可以透過T細胞負載匹配T細胞受體與具有適當親和力的MHC/肽複合物結合來識別。結合至MHC I類分子的肽的典型長度為8-14個氨基酸，最典型為9個氨基酸長度。

【0121】 在人類中，有三種編碼MHC I類分子的不同基因位點(人MHC分子也是指定的人白細胞抗原(HLA))：HLA-A、HLA-B和HLA-C。HLA-A\*01、HLA-A\*02和HLA-B\*07是可從這些基因位點表達的不同MHC I類等位元基因的實例。

【0122】 表5：HLA-A\*02和HLA-A\*24和最常見HLA-DR血清類型的表達頻率F。頻率根據Mori等人(Mori et al., 1997)使用的Hardy-Weinberg公式 $F = 1 - (1 - Gf)^2$ 改編，從美國人群範圍內的單體型頻率中推導出。由於連鎖不平衡，某些HLA-DR等位基因內的A\*02或A\*24組合與其預期單一頻率相比，可能是濃縮的或頻率較低。有關詳細資訊，請參閱Chanock等人的文獻(Chanock et al., 2004)。

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	高加索人(北美)	49.1%
A*02	非裔美國人(北美)	34.1%



等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	亞裔美國人（北美）	43.2%
A*02	拉丁美洲（北美）	48.3%
DR1	高加索人（北美）	19.4%
DR2	高加索人（北美）	28.2%
DR3	高加索人（北美）	20.6%
DR4	高加索人（北美）	30.7%
DR5	高加索人（北美）	23.3%
DR6	高加索人（北美）	26.7%
DR7	高加索人（北美）	24.8%
DR8	高加索人（北美）	5.7%
DR9	高加索人（北美）	2.1%
DR1	非裔（北）美人	13.20%
DR2	非裔（北）美人	29.80%
DR3	非裔（北）美人	24.80%
DR4	非裔（北）美人	11.10%
DR5	非裔（北）美人	31.10%
DR6	非裔（北）美人	33.70%
DR7	非裔（北）美人	19.20%
DR8	非裔（北）美人	12.10%
DR9	非裔（北）美人	5.80%
DR1	亞裔（北）美人	6.80%
DR2	亞裔（北）美人	33.80%
DR3	亞裔（北）美人	9.20%
DR4	亞裔（北）美人	28.60%
DR5	亞裔（北）美人	30.00%
DR6	亞裔（北）美人	25.10%
DR7	亞裔（北）美人	13.40%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR8	亞裔（北）美人	12.70%
DR9	亞裔（北）美人	18.60%
DR1	拉丁裔（北）美人	15.30%
DR2	拉丁裔（北）美人	21.20%
DR3	拉丁裔（北）美人	15.20%
DR4	拉丁裔（北）美人	36.80%
DR5	拉丁裔（北）美人	20.00%
DR6	拉丁裔（北）美人	31.10%
DR7	拉丁裔（北）美人	20.20%
DR8	拉丁裔（北）美人	18.60%
DR9	拉丁裔（北）美人	2.10%
A*24	菲律賓	65%
A*24	俄羅斯涅涅茨人	61%
A*24:02	日本	59%
A*24	馬來西亞	58%
A*24:02	菲律賓	54%
A*24	印度	47%
A*24	韓國	40%
A*24	斯里蘭卡人	37%
A*24	中國	32%
A*24:02	印度	29%
A*24	澳大利亞西部人	22%
A*24	美國	22%
A*24	俄羅斯薩馬拉人	20%
A*24	南美	20%
A*24	歐洲	18%

【0123】 本發明的肽，優選當如本文描述納入本發明的疫苗時與A\*02結合。疫苗還可能包括泛結合MHC II類肽。因此，本發明的疫苗可用於治療A\*02陽性患者中的癌症，但不因為這些肽的廣泛結核性而必須選擇II類MHC同種異型。

【0124】 如果本發明的A\*02肽與結合至另一等位基因例如A\*24的肽組合，與單獨的MHC I類等位基因相比，可治療更高比例的患者群體。雖然在大多數人群中，低於50%的患者可由單獨的等位基因來解決問題，但是本發明中一種含HLA-A\*24和HLA-A\*02表位的疫苗可以治療任何相關人群中至少60%的患者。具體來說，各區域中，以下比例的患者這些等位基因中的至少一個有肯定效果：美國61%、西歐62%、中國75%、韓國77%、日本86%（根據www.allele-frequencies.net計算）。

【0125】 在一項優選的實施方案中，術語「核苷酸序列」系指去氧核苷酸的雜聚物。

【0126】 編碼特定肽、寡肽或多肽的核苷酸序列可為天然核苷酸序列，也可為合成核苷酸序列。一般來說，編碼肽、多肽以及本發明蛋白的DNA片段由cDNA片段和短寡核苷酸銜接物，或一系列寡核苷酸組成，以提供一種合成基因，該基因能夠在包含源自微生物或病毒操縱子的調節元素的重組轉錄單元中被表達。

【0127】 如本文所用的術語「肽的核苷酸編碼」系指對肽進行核苷酸序列編碼，其中該肽包括與將由用於產生

T C R 的樹突細胞或另一細胞系統所表達該序列的生物系統相容的人工（人造）活化和停止密碼子。

【0128】 本文提到的核酸序列既包括單鏈核酸也包括雙鏈核酸。因此，除非本文另有所指，否則，例如對於DNA，具體的序列是該序列的單鏈DNA、該序列與其互補序列的雙工（雙鏈DNA）以及該序列的互補序列。

【0129】 「編碼區」這一術語是指在基因的天然基因組環境中天然或正常編碼該基因的表達產物的那部分基因，即，體內編碼該基因的天然表達產物的區域。

【0130】 編碼區可來自非突變（「正常」）基因、突變基因或異常基因，甚至還可以來自DNA序列，完全可在實驗室中使用本領域熟知的DNA合成方法合成。

【0131】 「表達產物」這一術語是指多肽或蛋白，它是基因和遺傳碼退化並因而編碼同樣的氨基酸所造成的任何核酸序列編碼同等物的翻譯產物。

【0132】 「片斷」這一術語，當指的是一種編碼序列時，表示包含非完整編碼區的DNA的一部分，其表達產物與完整編碼區表達產物基本上具有相同的生物學功能或活性。

【0133】 「DNA片段」這一術語是指一種DNA聚合物，以單獨的片段形式或一種較大DNA結構的組分形式存在，它們從至少分離過一次的DNA中以基本純淨的形式獲得，即不含污染性內源性材料，並且獲得的數量或濃度能夠使用標準生化方法，例如使用克隆載體，進行識

別、操縱和回收該片段及其組分核苷酸序列。此類片段以開放閱讀框架（未被內部未翻譯序列打斷）或內含子（通常表現于真核基因中）的形式存在。未翻譯DNA序列可能存在於開放閱讀框架的下游，在那裏其不會干預編碼區的操縱或表達。

【0134】「引物」這一術語表示一種短核酸序列，其可與一個DNA鏈配對，並在DNA聚合酶開始合成去氧核糖核酸鏈之處提供一個游離的3'-OH末端。

【0135】「啟動子」這一術語表示參與RNA聚合酶的結合從而啟動轉錄的DNA區域。

【0136】術語「分離」表示一種物質從其原來的環境（例如，如果是天然發生的則是天然環境）中被移走。例如，活體動物中的天然核苷酸或多肽不是分離的，但是，從天然系統中一些或所有共存物質中分離出來的核苷酸或多肽是分離的。此類多核苷酸可能是載體的一部分和/或此類多核苷酸和多肽可能是一種組合物的一部分，並且由於該載體或組合物不是其天然環境的一部分，因此它仍然是分離的。

【0137】本發明中披露的多核苷酸和重組或免疫原性多肽也可能以「純化」的形式存在。術語「純化」並非要求絕對的純度；它只是一個相對的定義，可以包括高度純化或部分純化的製劑，相關領域技術人員能理解這些術語。例如，各個從已用傳統方法純化為具有電泳同質性的cDNA庫中分離出的各種克隆物。明確考慮到將起始材料

或天然物質純化至少一個數量級，優選為兩或三個數量級，更優選為四或五個數量級。此外，明確涵蓋所述多肽的純度優選為99.999%，或至少為99.99%或99.9%；甚而適宜為以重量計99%或更高。

【0138】根據本發明公開的核酸和多肽表達產物，以及包含此類核酸和/或多肽的表達載體可能以「濃縮的形式」存在。本文使用的術語「濃縮」是指材料的濃度至少是其自然濃度的大約2、5、10、100或1000倍，有優勢的是，按重量計為0.01%，優選為至少0.1%。也明確考慮到，按重量計約為0.5%、1%、5%、10%和20%的濃縮製劑。序列、構型、載體、克隆物以及包含本發明的其他材料可有優勢地以濃縮或分離的形式存在。「活性片段」這一術語是指產生免疫反應的片段（即具有免疫原性活性），通常是一種肽、多肽或核酸序列的片段，不論是單獨或可選地與合適的佐劑一起或在載體中給予一種動物，比如哺乳動物，例如兔子或小鼠，也包括人；這種免疫反應採用的形式是在接受動物（如：人）體內刺激T細胞反應。或者，「活性片段」也可用於誘導體外T細胞反應。

【0139】本文使用的「部分 (portion)」、「節段 (segment)」、「片段 (fragment)」這幾個術語，當與多肽相關地使用時是指殘基的連續序列，比如氨基酸殘基，其序列形成一個較大序列的子集。例如，如果一個多肽以任一種肽鏈內切肽酶（如胰蛋白酶或糜蛋白酶）進行處理，則該處理獲得的寡肽會代表起始多肽的部分、節段

或片段。當與多核苷酸相關地使用時，這些術語系指用任何核酸內切酶處理所述多核苷酸產生的產物。

【0140】 根據本發明，術語「等同度百分比」或「等同百分比」，如果指的是序列，則表示在待對比序列（「被對比序列」）與所述序列或請求項的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或請求項的序列進行比較。然後根據下列公式計算等同度百分比：

$$\text{等同度百分比} = 100 [1 - (C/R)]$$

其中 C 是參考序列與被對比序列之間對準長度上參考序列與被對比序列之間的差異數量，其中

- (i) 參考序列中每個域基或氨基酸序列在被對比序列中沒有對應的對準域基或氨基酸；
- (ii) 參考序列中每個空隙，以及
- (iii) 參考序列中每個對準域基或氨基酸與被對比序列中對準域基或氨基酸不同，即構成一個差異以及
- (iiii) 必須在對準序列的第 1 位置開始對準；

【0141】 並且 R 是參考序列與被對比序列對準長度上在參考序列中產生任何空隙也計算為一個域基或氨基酸的參考序列中的域基或氨基酸數目。

【0142】 如果「被對比序列」和「參考序列」之間存在的一個對準按上述計算的等同度百分比大致等於或大於指定的最低等同度百分比，則被對比序列與參考序列具有指定的最低等同度百分比，雖然可能存在按本文上述計算的等同度百分比低於指定等同度百分比的對準。

【0143】 因此，如上所述，本發明提出了一種肽，其包括選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385群組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385具有88%同源性的其變體、或誘導與該肽發生T細胞交叉反應的一個變體。本發明所述的肽具有與主要組織相容性複合體(MHC) I 或所述肽拉長版本的II類分子結合的能力。

【0144】 在本發明中，「同源性」一詞系指兩個氨基酸序列之間的同一度(參見上文的等同度百分比，如肽或多肽序列。前文所述的「同源」是透過將理想條件下調整的兩個序列與待比較序列進行比對後確定的。此類序列同源性可透過使用ClustalW等演算法創建一個排列而進行計算。也可用使用一般序列分析軟體，更具體地說，是Vector NTI、GENETYX或由公共資料庫提供的其他工具。

【0145】 本領域技術人員能評估特定肽變體誘導的T細胞是否可與該肽本身發生交叉反應(Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997)。

【0146】 發明人用給定氨基酸序列的「變體」表示，一個或兩個氨基酸殘基等的側鏈透過被另一個天然氨基酸殘基的側鏈或其他側鏈取代而發生改變，這樣，這種肽仍然能夠以含有給定氨基酸序列(由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385組成)的肽大致同樣的方式與HLA分子結合。例如，一種肽可能被修飾以便至少維持(如沒有提高)



其能與 H L A - A \* 0 2 或 - D R 等合適 M H C 分子的結合槽相互作用和結合，以及至少維持（如沒有提高）其與活化 T 細胞的 T C R 結合的能力。

【 0 1 4 7 】 隨後，這些 T 細胞可與細胞和殺傷細胞發生交叉反應，這些細胞表達多肽（其中包含本發明中定義的同源肽的天然氨基酸序列）。正如科學文獻和資料庫（R a m m e n s e e e t a l . , 1 9 9 9 ; G o d k i n e t a l . , 1 9 9 7）中所述，H L A - A 結合肽的某些位點通常為錨定殘基，可形成一種與 H L A 結合槽的結合模序相稱的核心序列，其定義由構成結合槽的多肽鏈的極性、電物理、疏水性和空間特性確定。因此，本領域技術人員能夠透過保持已知的錨殘基來修飾 S E Q I D N o : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 提出的氨基酸序列，並且能確定這些變體是否保持與 M H C I 或 II 類分子結合的能力。本發明的變體保持與活化 T 細胞的 T C R 結合的能力，隨後，這些 T 細胞可與表達一種包含本發明定義的同源肽的天然氨基酸序列的多肽的細胞發生交叉反應並殺死該等細胞。

【 0 1 4 8 】 如果無另有說明，那麼本文公開的原始（未修飾）肽可以透過在肽鏈內的不同（可能為選擇性）位點上取代一個或多個殘基而被修飾。優選情況是，這些取代位於氨基酸鏈的末端。此取代可能是保守性的，例如，其中一個氨基酸被具有類似結構和特點的另一個氨基酸所取代，比如其中一個疏水性氨基酸被另一個疏水性氨基酸取代。更保守的取代是具有相同或類似的大小和化學性質的

氨基酸間的取代，例如，亮氨酸被異亮氨酸取代。在天然同源蛋白質家族序列變異的研究中，某些氨基酸的取代往往比其他氨基酸更具有耐受性，這些氨基酸往往表現出與原氨基酸的大小、電荷、極性和疏水性之間的相似性相關，這是確定「保守取代」的基礎。

【0149】 在本文中，保守取代定義為在以下五種基團之一的內部進行交換：基團1—小脂肪族、非極性或略具極性的殘基(A l a, S e r, T h r, P r o, G l y)；基團2—極性、帶負電荷的殘基及其醯胺(A s p, A s n, G l u, G l n)；基團3—極性、帶正電荷的殘基(H i s, A r g, L y s)；基團4—大脂肪族非極性殘基(M e t, L e u, I l e, V a l, C y s)以及基團5—大芳香殘基(P h e, T y r, T r p)。

【0150】 較不保守的取代可能涉及一個氨基酸被另一個具有類似特點但在大小上有所不同的氨基酸所取代，如：丙氨酸被異亮氨酸殘基取代。高度不保守的取代可能涉及一個酸性氨基酸被另一個具有極性或甚至具有鹼性性質的氨基酸所取代。然而，這種「激進」取代不能認為是無效的而不予考慮，因為化學作用是不完全可預測的，激進的取代可能會帶來其簡單化學原理中無法預見的偶然效果。

【0151】 當然，這種取代可能涉及普通 L-氨基酸之外的其他結構。因此，D-氨基酸可能被本發明的抗原肽中常見的 L-氨基酸取代，也仍在本公開的範圍之內。此外，非標準氨基酸（即，除了常見的天然蛋白原氨基酸）也可

以用於取代之目的，以生產根據本發明的免疫原和免疫原性多肽。

【0152】 如果在一個以上位置上的取代發現導致肽的抗原活性基本上等於或大於以下定義值，則對這些取代的組合進行測試，以確定組合的取代是否產生對肽抗原性的疊加或協同效應。肽內被同時取代的位置最多不能超過 4 個。

【0153】 基本上由本文所指氨基酸序列組成的一種肽可能有一個或兩個非錨定氨基酸（見下面錨基序相關內容）被交換，而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I 或 II 類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。在另一實施方案中，在基本上由本文所述氨基酸序列組成的肽中，一個或兩個氨基酸可與其保守交換夥伴交換（見下文），而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I 或 II 類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。

【0154】 這些基本不與 T 細胞受體互動的氨基酸殘基可透過取代其他幾乎不影響 T 細胞反應並不妨礙與相關 MHC 結合的氨基酸而得到修飾。因此，除了特定限制性條件外，本發明的肽可能為任何包括給定氨基酸序列或部分或其變體的肽（發明人所用的這個術語包括寡肽或多肽）。

表 6：根據 SEQ ID NO：2、5、8、62 和 53 的肽的變體和基序

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SEQ ID NO. 2	A	L	H	R	P	D	V	Y	L		
變體									V		
									I		
									A		
		M									
		M							V		
		M							I		
		M							A		
		A									
		A							V		
		A							I		
		A							A		
		V									
		V							V		
		V							I		
		V							A		
		T									
		T							V		
		T							I		
		T							A		
		Q									
		Q							V		
		Q							I		
		Q							A		
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

SEQ ID NO. 5	A	L	I	F	K	I	A	S	A		
變體									L		
									I		
									V		
		M									
		M							L		
		M							I		
		M							V		
		A									
		A							L		
		A							I		
		A							V		
		V									
		V							L		
		V							I		
		V							V		
		T									
		T							L		
		T							I		
		T							V		
		Q									
		Q							L		
		Q							I		
		Q							V		
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SEQ ID NO. 8	A	L	A	A	S	A	L	P	A	L	V
變體											I
											L

											A
		M									
		M									I
		M									L
		M									A
		A									
		A									I
		A									L
		A									A
		V									
		V									I
		V									L
		V									A
		T									
		T									I
		T									L
		T									A
		Q									
		Q									I
		Q									L
		Q									A

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 62	G	I	I	D	G	S	P	R	L
變體		L							V
		L							I
		L							
		L							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
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID 153	S	L	L	A	E	L	H	V	L

變體

								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



【0155】較長（拉長）的肽也可能適合。MHC I類表位（通常長度為8至11個氨基酸）可能由肽從較長的肽或包含實際表位的蛋白中加工而產生。兩側有實際表位的殘基優選為在加工過程中幾乎不影響暴露實際表位所需蛋白裂解的殘基。

【0156】本發明的肽可被拉長多達四個氨基酸，即1、2、3或4個氨基酸，可按照4:0與0:4之間的任何組合添加至任意一端。本發明的拉長組合可見表7。

表 7：本發明肽的拉長組合

C-端	N-端
4	0
3	0或1
2	0或1或2
1	0或1或2或3
0	0或1或2或3或4
N-端	C-端
4	0
3	0或1
2	0或1或2
1	0或1或2或3
0	0或1或2或3或4

【0157】拉伸/延長的氨基酸可以是所述蛋白或任何其他氨基酸的原序列肽。拉長可用于增強所述肽的穩定性或溶解性。

【0158】因此，本發明所述的表位可能與天然腫瘤相關表位或腫瘤特異性表位相同，也可能包括來自參考肽的不

超過四個殘基的不同肽，只要它們有基本相同的抗原活性即可。

【0159】 在一項替代實施方案中，肽的一邊或雙邊被拉長4個以上的氨基酸，優選最多30個氨基酸的總長度。這可形成MHC-II類結合肽。結合至MHC II類肽可透過本領域中已知的方法進行測試。

【0160】 因此，本發明提出了MHC I類表位的肽和變體，其中所述肽或抗體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸長度（即10、11、12、13、14個氨基酸，如果為拉長II類結合肽時，長度也可為15、16、17、18、19、20、21或22個氨基酸）。

【0161】 當然，本發明的肽或變體能與人主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合。肽或變體與MHC複合物的結合可用本領域內的已知方法進行測試。

【0162】 優選情況是，當本發明的肽特異性T細胞相比於取代肽受到檢測時，如果取代肽在相對於背景肽溶解度增加達到最大值的一半，則該肽濃度不超過約1 mM，優選為不超過約1  $\mu$ M，更優選為不超過約1 nM，再優選為不超過約100 pM，最優選為不超過約10 pM。也優選為，取代肽被一個以上的T細胞識別，最少為2個，更優選為3個。

【0163】 在本發明的一個特別優選實施方案中，肽系由或基本系由根據SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 385所選的氨基酸序列組成。

【0164】 基本由「...組成」系指本發明的肽，除了根據SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 385中的任一序列或其變體組成外，還含有位於其他N和/或C端延伸處的氨基酸，而它們不一定能形成作為MHC分子表位的肽。

【0165】 但這些延伸區域對有效將本發明中的肽引進細胞具有重要作用。在本發明的一實施例中，該肽為融合蛋白的一部分，含來自NCBI、GenBank登錄號X00497的HLA-DR抗原相關不變鏈（p33，以下稱為「Ii」）的80個N-端氨基酸等。在其他的融合中，本發明的肽可以被融合到本文所述的抗體、或其功能性部分，特別是融合入抗體的序列，以便所述抗體進行特異性靶向作用，或者，例如進入本文所述的樹突狀細胞特異性抗體。

【0166】 此外，該肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和/或與MHC分子結合，從而引發更強的免疫反應。肽序列的該類優化方法是本領域內所熟知的，包括，例如，反式肽鍵和非肽鍵的引入。

【0167】 在反式肽鍵氨基酸中，肽(-CO-NH-)並未連接其殘基，但是其肽鍵是反向的。這種逆向反向模擬肽(retro-inverso peptidomimetics)可透過本領域已知的方法製備，例如：Mezriere等人在(Mezriere et al., 1997)中所述的方法，以引用的方式併入本文。這種方法涉及製備包含骨架（而並非側鏈）改變的模擬肽。Mezriere等人(Mezriere et al., 1997)的研究顯示，這些類比肽有利於MHC的結合和輔助性T細胞的反應。

以  $\text{NH}-\text{CO}$  鍵替代  $\text{CO}-\text{NH}$  肽鍵的逆向反向肽大大地提高了抗水解性能。

【0168】 非肽鍵為  $-\text{CH}_2-\text{NH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$  和  $-\text{CH}_2\text{SO}-$  等。美國 4897445 號專利提出了多肽鏈中非肽鍵 ( $-\text{CH}_2-\text{NH}$ ) 的非固相合成法，該方法涉及按標準程序合成的多肽以及透過氨基醛和一種含  $\text{NaCNBH}_3$  的氨基酸相互作用而合成的非肽鍵。

【0169】 含上述序列的肽可與其氨基和/或羧基末端的其他化學基團進行合成，從而提高肽的穩定性、生物利用度、和/或親和力等。例如，苄氧羰基、丹醯基等疏水基團或叔丁氧羰基團可加入肽的氨基末端。同樣，乙醯基或 9-芴甲氧羰基可能位於肽的氨基末端。此外，疏水基團、叔丁氧羰基團或氨基團都可能被加入肽的羧基末端。

【0170】 另外，本發明中的所有肽都可能經合成而改變其空間構型。例如，可能使用這些肽的一個或多個氨基酸殘基的右旋體，通常不是其左旋體。更進一步地，本發明中肽的至少一個氨基酸殘基可被熟知的一個非天然氨基酸殘基取代。諸如此類的改變可能有助於增加本發明肽的穩定性、生物利用度和/或結合作用。

【0171】 同樣，本發明中的肽或變體可在合成肽之前或之後透過特異氨基酸的反應而進行化學修飾。此類修飾的實施例為本領域所熟知，例如，在 R. Lundblad 所著的《Chemical Reagents for Protein

Modification》(3rd ed. CRC Press, 2004) (Lundblad, 2004) 中有概述，以參考文獻的方式併入本文。雖然氨基酸的化學修飾方法無限制，但其包括（但不限於）透過以下方法修飾：醯基化、脛基化、賴氨酸吡哆基化、還原烷基化、以 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 三硝基苯基化氨基團、透過將半胱氨酸過甲酸氧化為磺基丙氨酸而對羧基團和巯基進行氨基修飾、形成易變衍生物、與其他巯基化合物形成混合二硫化合物、與馬來醯亞胺反應，與碘乙酸或碘乙醯胺羧甲基化、在鹼性 pH 值下與氰酸鹽甲氨醯化。在這方面，技術人員參考了《Current Protocols In Protein Science》(Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000)) (Coligan et al., 1995) 中第 15 章所述的在蛋白質化學修飾相關的廣泛方法。

【0172】簡言之，修飾蛋白質的精氨酸殘基等往往基於鄰二羰基化合物（如苯甲醯甲醛、2,3-丁二酮以及 1,2-烯丙二酮）的反應而形成加合物。另一個實施例是丙酮醛與精氨酸殘基的反應。半胱氨酸可在賴氨酸和組氨酸等親核位點不作隨同修飾的情況下就得到修飾。因此，有大量試劑可進行半胱氨酸的修飾。Sigma-Aldrich (<http://www.sigma-aldrich.com>) 等公司的網站含有具體試劑的資訊。

【0173】蛋白質中二硫鍵的選擇性還原也很普遍。二硫鍵可在生物製藥熱處理中形成和氧化。伍德沃德氏試劑 K

可用於修飾特定的谷氨酸殘基。N - ( 3 - 二甲氨基丙基 ) - N' - 乙基 - 碳二亞胺可用于形成賴氨酸殘基和谷氨酸殘基的分子內交聯。例如：焦碳酸二乙酯是修飾蛋白質組氨酸殘基的試劑。組氨酸也可使用 4 - 羥基 - 2 - 壬烯醛進行修飾。賴氨酸殘基與其他  $\alpha$  - 氨基團的反應，例如，有利於肽結合到蛋白 / 肽的表面或交聯處。賴氨酸聚是多 ( 乙烯 ) 乙二醇的附著點，也是蛋白質糖基化的主要修飾位點。蛋白質的蛋氨酸殘基可透過碘乙醯胺、溴乙胺、氯胺 T 等被修飾。

【0174】 四硝基甲烷和 N - 乙醯基咪唑可用於酪氨酸殘基的修飾。經二酪氨酸形成的交聯可透過過氧化氫 / 銅離子完成。

【0175】 對色氨酸修飾的最近研究中使用了 N - 溴代琥珀醯亞胺、2 - 羥基 - 5 - 硝基苄溴或 3 - 溴 - 3 - 甲基 - 2 - ( 2 - 硝基巰基 ) - 3 H - 吡啶 ( B P N S - 糞臭素 )。

【0176】 當蛋白與戊二醛、聚乙二醇二丙烯酸酯和甲醛的交聯用於配製水凝膠時，治療性蛋白和含聚乙二醇的肽的成功修飾往往可延長迴圈半衰期。針對免疫治療的變態反應原化學修飾往往透過氰酸鉀的氨基甲醯化實現。

【0177】 一種肽或變體，其中肽被修飾或含非肽鍵，優選為本發明的實施例。

【0178】 本發明的另一實施方案涉及一種非天然肽，其中所述肽系由或基本系由根據 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:385 的一個氨基酸序列組成，並經合成產生 ( 即，合

成) 為一種藥用鹽。合成產生肽的方法是本領域公知的。本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為這些體內產生的肽不是鹽。該肽的非天然鹽形式介導肽的溶解度，特別是包含所述肽的藥物組合物的情況下，例如，本文所公開的肽疫苗。為了向需治療的受試者有效地提供肽，需要肽具有充分、至少基本的溶解度。優選地，鹽為肽的藥用鹽。本發明的這些鹽包括域和域土鹽類，諸如 Hofmeister 系列的鹽，包含陰離子  $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CH}_3\text{COO}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{ClO}_4^-$ 、 $\text{I}^-$ 、 $\text{SCN}^-$  和陽離子  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Rb}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cs}^+$ 、 $\text{Li}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Ba}^{2+}$ 。特別地，鹽選自  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{NH}_4\text{Br}$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{ClO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{I}$ 、 $\text{NH}_4\text{SCN}$ 、 $\text{Rb}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{Rb}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{RbH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Rb}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{Rb}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 、 $\text{Rb}_4\text{Cl}$ 、 $\text{Rb}_4\text{Br}$ 、 $\text{Rb}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{Rb}_4\text{ClO}_4$ 、 $\text{Rb}_4\text{I}$ 、 $\text{Rb}_4\text{SCN}$ 、 $\text{K}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{KCH}_3\text{COO}$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{KBr}$ 、 $\text{KNO}_3$ 、 $\text{KClO}_4$ 、 $\text{KI}$ 、 $\text{KSCN}$ 、 $\text{Na}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NaCH}_3\text{COO}$ 、 $\text{NaCl}$ 、 $\text{NaBr}$ 、 $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{NaClO}_4$ 、 $\text{NaI}$ 、 $\text{NaSCN}$ 、 $\text{ZnCl}_2$ 、 $\text{Cs}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{Cs}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{CsH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Cs}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{CsCH}_3\text{COO}$ 、 $\text{CsCl}$ 、 $\text{CsBr}$ 、 $\text{CsNO}_3$ 、 $\text{CsClO}_4$ 、 $\text{CsI}$ 、 $\text{CsSCN}$ 、 $\text{Li}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{Li}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{LiH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Li}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{LiCH}_3\text{COO}$ 、 $\text{LiCl}$ 、

$\text{LiBr}$ 、 $\text{LiNO}_3$ 、 $\text{LiClO}_4$ 、 $\text{LiI}$ 、 $\text{LiSCN}$ 、 $\text{Cu}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Mg}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{MgBr}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ 、 $\text{MgI}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{SCN})_2$ 、 $\text{MnCl}_2$ 、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Ca}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{CaSO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{CaBr}_2$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ 、 $\text{CaI}_2$ 、 $\text{Ca}(\text{SCN})_2$ 、 $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Ba}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{BaSO}_4$ 、 $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 $\text{BaCl}_2$ 、 $\text{BaBr}_2$ 、 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ 、 $\text{BaI}_2$  和  $\text{Ba}(\text{SCN})_2$ 。特別優選為  $\text{NH}_2$  乙酸、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{NaCl}$  和  $\text{CaCl}_2$ ，例如：氯化物或乙酸鹽（三氟乙酸）鹽。

【0179】一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽聯接）可使用 Lukas 等人 (Lukas et al., 1981) 以及此處引用的參考文獻所披露的固相肽合成 Fmoc-聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基 (Fmoc) 團對 N-氨基提供臨時保護。使用 N,N-二甲基甲醯胺中的 20% 二甲基吡啶中對這種高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚（在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下）、丁基酯（在谷氨酸和天門冬氨酸的情況下）、叔丁氧羰基衍生物（在賴氨酸和組氨酸的情況下）、三苯甲基衍生物（在半胱氨酸的情況下）及 4-甲氧基-2,3,6-三甲苯磺醯基衍生物（在精氨酸的情況下），側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為 C-末端殘基，



側鏈氨基功能保護所使用的是由 4,4'-二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯醯胺（骨架單體）、雙丙烯醯乙烯二胺（交聯劑）和 N-丙烯醯肌胺酸甲酯（功能劑）構成。使用的肽-樹脂聯劑為酸敏感的 4-羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的氨基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入，但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外，它們使用被逆轉的 N,N'-二環己基碳二亞胺/1-羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或 *isotin* 測試程序監測。合成完成後，用濃度為 95% 含 50% 清道夫混合物的三氟醋酸，從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解肽。常用的清道夫混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水，準確的選擇依據合成肽的氨基酸組成。此外，固相和液相方法結合使用對肽進行合成是可能的（例如，請參閱（Bruckdorfer et al., 2004）以及本文引用的參考文獻）

【0180】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍幹後，該程序制得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道夫混合物。肽合成試劑一般可從 Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0181】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、

疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0182】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（CSPE）、反相高效液相色譜法、酸解後的氨基酸分析、快原子轟擊（FAB）質譜分析以及MALDI和ESI-Q-TOF質譜分析進行肽分析。

【0183】 為了選擇過度表現的肽，計算了表現圖，其顯示樣本中位元表現量以及複製變化。該特點使相關腫瘤實體的樣本與正常組織樣本的基線值並列。可透過計算調節線性混合效應模型（Pinheiro et al., 2015）的p值將以上每個特點併入過度表現分數中，從而透過假發現率（Benjamini and Hochberg, 1995）調整多項檢驗（參見實施例 1、圖 1）。

【0184】 對於透過質譜法對HLA配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的HLA分子進行純化並對HLA相關肽進行分離。分離的肽分開，並透過線上納米-電噴霧-電離（nanoESI）液相色譜-譜（LC-MS）實驗進行鑒定。由此產生的肽序列的驗證方法是，將CLL樣本（N = 17個A\*02陽性樣本）中記錄的自然腫瘤相關肽（TUMAP）的片段模式與相同序列相應合成參考肽的片段模式進行比較。由於這些肽被直接鑒定為原發性腫瘤HLA分子的配體，因此這些結果為來自16名CLL患者的原發癌症組織上確定肽的自然加工和表現提供了直接證據。

【0185】發現管道X P R E S I D E N T® v 2 . 1（例如，參見 U S 2 0 1 3 - 0 0 9 6 0 1 6，並在此透過引用將其整體併入本文）考慮到識別和選擇相關過量表現的候選肽疫苗，這基於與幾種不同的非癌組織和器官相比癌症或其他受感染組織的H L A限制肽水準直接相對定量結果。這透過以下方法實現：使用專有資料分析管道處理的L C - M S採集資料、結合序列識別演算法、譜聚類、計算離子、保留時間調整、充電狀態卷積以及正態化而開發無標記差異化定量方法。

【0186】為每種肽和樣本確立了表現水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量表現的肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量表現的肽已經得到確定。

【0187】對來自C L L組織樣本的H L A肽複合物進行純化，並且對H L A相關肽使用L C - M S進行分離和分析（見實施例）。本申請中包含的所有T U M A P使用原發性C L L樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性C L L上的表現。

【0188】在多個C L L和正常組織上確定的T U M A P用無標記L C - M S資料的離子計數方法進行量化。該方法假定肽的L C - M S信號區域與樣本中其豐度相關。各種L C - M S實驗中肽的所有量化信號在集中趨勢基礎上進行正常化，根據每個樣品進行平均，併合併入柱狀圖（被稱為表現圖）。表現圖整合了不同分析方法，如：蛋白資料庫檢索、譜聚類、充電狀態卷積（除電）和保留時間校準和正態化。

【0189】此外，發現平臺技術 X P R E S I D E N T ® v 2 . x (例如參見 P C T / E P 2 0 1 1 / 0 5 6 0 5 6 和 P C T / E P 2 0 1 5 / 0 7 9 8 7 3 ) 可對癌症或其他感染組織上的 M H C - 肽，優選為 H L A 限制性肽進行直接的絕對定量。簡言之，總細胞計數根據被分析的組織樣本的總 D N A 含量來計算。組織樣本中 T U M A P 的總肽量用 n a n o L C - M S / M S 測定為天然 T U M A P 的比率以及 T U M A P 同位素標記版本的已知量，稱為內部標準。T U M A P 分離效率確定方法：把肽：所有選定 T U M A P 的 M H C 在 T U M A P 分離程序儘早的時間點加入組織裂解液，並在肽分離成後完成後通過 n a n o L C - M S / M S 檢測。總細胞計數和總肽量根據每份組織樣本三次測量值來計算。所述肽特異性隔離效率計算為三次測量 10 次加標實驗的平均值（見實施例 6 和表 12）。

【0190】除了過量表現肽之外，也測試了潛在基因的 m R N A 表達。m R N A 資料通過 R N A 測序分析正常組織和癌組織獲得（見實施例 2、圖 3）。正常組織資料的額外來源是從 3000 個正常組織樣本中公開獲得的 R N A 表達資料的資料庫（L o n s d a l e , 2 0 1 3）。獲得自蛋白的肽在癌組織中顯示高表達編碼 m R N A，但是在重要正常組織中非常低或不存在，這些肽作為優選肽納入本發明。

【0191】本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量表現或只表現本發明肽的 C L L。這些肽由質譜

分析法直接顯示出，而由 H L A 分子自然表現于原發性 C L L 樣本中。

【0192】 與正常組織相比，癌症中高度過量表達肽來源的許多源基因/蛋白質（也指定為「全長蛋白」或「潛在蛋白」）- 本發明相關的「正常組織」是健康脂肪組織、腎上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、軟骨、食道、眼、膽囊、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱細胞或其他正常組織細胞，這表明腫瘤與這些源基因的高度關聯性（見實施例 2）。此外，這些肽本身也在腫瘤組織中過度表現（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自 C L L 患者的樣本），但不在正常組織中過度表現（見實施例 1）。

【0193】 H L A 結合肽能夠被免疫系統識別，特別是 T 淋巴細胞。T 細胞可破壞表現被識別 H L A / 肽複合體的細胞（如：表現衍生肽的 C L L 細胞）。

【0194】 本發明的所有肽已被證明具有刺激 T 細胞反應的能力，並過量表現，因而可用于製備本發明的抗體和 / 或 T C R，例如可溶性 T C R（參見實施例 3 和實施例 4）。此外，肽與相應的 M H C 組合時，也可用于製備本發明的抗體和 / 或 T C R，特別是 s T C R。各個方法均為技術人員所熟知，並在各個文獻中可找到。因此，本發明的肽可用于在患者中產生免疫反應，從而能夠毀滅腫瘤細胞。患者的免疫反應能夠透過直接給予患者所述肽或前體物質

(如，加長肽、蛋白或編碼這些肽的核酸)，較理想是與加強免疫原性的製劑相結合，而進行誘導。源自該治療性疫苗的免疫反應預期能夠高度特異性地對抗腫瘤細胞，因為本發明的目標肽在正常組織上表現的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良白體免疫反應的風險。

【0195】 本說明書還涉及包含一個  $\alpha$  鏈和一個  $\beta$  鏈(「 $\alpha/\beta$  TCR」)的 T 細胞受體 (TCR)。還提供了由 MHC 分子表現時可與 TCR 和抗體結合的本發明的肽。本說明書還涉及核酸、載體和用於表達 TCR 的宿主細胞和本說明書的肽；以及使用它們的方法。

【0196】 術語「T 細胞受體」(縮寫 TCR)是指一種異二聚體分子，其包含一個  $\alpha$  多肽鏈 ( $\alpha$  鏈)和一個  $\beta$  多肽鏈 ( $\beta$  鏈)，其中所述異二聚體受體能夠結合由 HLA 分子表現的肽抗原。該術語還包括所謂的  $\gamma/\delta$  TCR。

【0197】 在一個實施方案中，本說明書提供了如本文中所描述的產生 TCR 的方法，該方法包括在適於促進 TCR 表達的條件下培養能夠表達 TCR 的宿主細胞。

【0198】 另一個方面，本說明書涉及一種根據本說明書的方法，其中所述抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原表現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的 I 或 II 類 MHC 分子，或該抗原透過四聚化被載入 I 或 II 類 MHC 四聚體 / I 或 II 類 MHC 複合單體。

【0199】  $\alpha/\beta$  TCR 的  $\alpha$  和  $\beta$  鏈和  $\gamma/\delta$  TCR 的  $\gamma$  和  $\delta$  鏈通常被視為各自有兩個「結構域」，即可變和恒定結構域。

可變結構域由可變區(V)和連接區(J)的組合。可變結構域還可能包括一個前導區(L)。β和δ鏈還可能包括一個多樣區(D)。α和β恒定結構域還可能包括錨定α和β鏈至細胞膜的C末端跨膜(TM)結構域。

【0200】相對於γ/δ的TCR，如本文所用的術語「TCRγ可變域」是指無前導區(L)的TCRγV(TRGV)區與TCRγ(TRGJ)區的組合，術語TCRγ恒定結構域是指細胞外TRGC區域，或C-末端截短TRGC序列。同樣地，「TCRδ可變域」是指無前導區(L)的TCRδV(TRDV)區與TCRδD/J(TRDD/TRDJ)區的組合，術語「TCRδ恒定結構域」是指細胞外TRDC區域，或C-末端截短TRDC序列。

【0201】本說明書的TCR優選結合至肽HLA分子複合體，其具有約100 μM或更小、約50 μM或更小、約25 μM或更小或約10 μM或更小的結合親和力(KD)。更為優選的情況是具有約1 μM或更小、約100 nM或更小、約50 nM或更小或約25 nM或更小結合親和力的高親和力TCR。本發明TCR優選結合親和力範圍的非限制性示例包括約1 nM至約10 nM；約10 nM至約20 nM；約20 nM至約30 nM；約30 nM至約40 nM；約40 nM至約50 nM；約50 nM至約60 nM；約60 nM至約70 nM；約70 nM至約80 nM；約80 nM至約90 nM；以及約90 nM至約100 nM。

【0202】 與本說明書 TCR 相關，本文使用的「特異性結合」及其語法變體用於表示對  $100\mu\text{M}$  或更小的肽-HLA 分子複合體有結合親和力 (KD) 的 TCR。

【0203】 本說明書的  $\alpha/\beta$  異二聚體 TCR 可能具有其恒定結構域之間的引入二硫鍵。這種類型的優選 TCR 包括那些具有一個 TRAC 恒定域序列和 TRBC1 或 TRBC2 恒定域序列的 TCR，除非 TRAC 的蘇氨酸 48 和 TRBC1 或 TRBC2 的絲氨酸 57 被半胱氨酸殘基取代，所述半胱氨酸形成 TRAC 恒定域序列和 TCR 的 TRBC1 或 TRBC2 恒定區序列之間的二硫鍵。

【0204】 不論具有或不具有上述的引入鏈間鍵，本說明書的  $\alpha/\beta$  雜二聚體 TCR 可能具有一個 TRAC 恒定域序列和一個 TRBC1 或 TRBC2 恒定結構域序列，並且 TRAC 恒定結構域序列和 TCR 的 TRBC1 或 TRBC2 恒定結構域序列可能透過 TRAC 外顯子 2 的 Cys4 和 TRBC1 或 TRBC2 外顯子 2 的 Cys4 之間的天然二硫鍵相連。

【0205】 本說明書的 TCR 可能包括選自由放射性核素、螢光團和生物素組成組中的可檢測標記。本說明書的 TCR 可能共軛至治療活性劑，如放射性核素、化學治療劑或毒素。

【0206】 在一個實施方案中，具有在  $\alpha$  鏈中至少一個突變和/或具有在  $\beta$  鏈中至少一個突變的 TCR 與未突變 TCR 相比，已經修改了糖基化。



【0207】 在一個實施方案中，在 T C R  $\alpha$  鏈和 / 或 T C R  $\beta$  鏈中包括至少一個突變的 T C R 對肽 H L A 分子複合體有結合親和力和 / 或結合半衰期，其是包含未突變 T C R  $\alpha$  鏈和 / 或未突變 T C R  $\beta$  鏈的 T C R 的結合親和力的至少兩倍。腫瘤特異性 T C R 親和力增強及其開發依賴於存在最佳 T C R 親和力的窗口。這樣窗口的存在是根據觀察結果：H L A - A 2 限制性病原體特異性 T C R 與 H L A - A 2 限制性腫瘤相關自身抗原特異性 T C R 相比，K D 值通常大約低 10 倍。現已知，儘管腫瘤抗原可能具有免疫原性，但是因為腫瘤來自個體自身的細胞，因此僅突變蛋白質或翻譯加工改變的蛋白將被免疫系統視為外來物質。上調或過度表達（所謂的自體抗原）的抗原不一定誘導針對腫瘤的功能免疫應答：表達對這些抗原具有高度反應性的 T C R 的 T 細胞會在一種稱為中樞耐受的程序中在胸腺內被不利選擇，也就是說只有對自身抗原具有低親和力 T C R 的細胞才仍然存在。因此，本說明書的 T C R 或變體對肽的親和力可透過本領域熟知的方法來增強。

【0208】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明 T C R 的一種方法，所述方法包括：用 A 2 / 肽單體從 H L A - A \* 0 2 陰性健康供體孵育 P B M C，用四聚體 - 藻紅蛋白 (P E) 孵育 P B M C 並透過螢光啟動細胞分選 (F A C S) - C a l i b u r 方法分析分離高親和力 T 細胞。

【0209】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明 TCR 的一種方法，所述方法包括：獲得含整個人體 TCR  $\alpha\beta$  基因位點 (1.1 and 0.7 Mb) 的轉基因小鼠 (其 T 細胞表達多樣化人類 TCR，用於補償小鼠 TCR 缺乏)，用一種肽對小鼠進行免疫處理，用四聚體 - 藻紅蛋白 (PE) 孵育從轉基因小鼠中獲得的 PBMC，並透過螢光啟動細胞分選 (FACS) - Calibur 方法分析分離高親和力 T 細胞。

【0210】 一方面，為了獲得表達本說明書 TCR 的 T 細胞，編碼本說明書 TCR -  $\alpha$  和 / 或 TCR -  $\beta$  鏈的核酸被克隆入表達載體，諸如  $\gamma$  反轉錄病毒或慢病毒。重組病毒產生，然後測試功能，如抗原專一性和功能性親合力。然後，最終產品的等分試樣被用於轉導靶 T 細胞群體 (一般純化自患者的 PBMC)，在輸入患者前展開。另一方面，為了獲得表達本說明書 TCR 的 T 細胞，TCR RNA 透過本領域中已知的技術 (例如，體外轉錄系統) 合成。然後，體外合成的 TCR RNA 透過電穿孔來重新表達腫瘤特異性 TCR -  $\alpha$  和 / 或 TCR -  $\beta$  鏈被引入獲得自健康供體的初級 CD8<sup>+</sup> T 細胞。

【0211】 為了增加表達，編碼本說明書 TCR 的核酸在操作上可連接到強啟動子，例如逆轉錄病毒長末端重複序列 (LTR)、巨細胞病毒 (CMV)、鼠幹細胞病毒 (MSCV) U3、磷酸甘油酸激酶 (PGK)、 $\beta$  肌動蛋白、泛素蛋白和猿猴病毒 40 (SV40)/CD43 複合啟動子、

延伸因子 (EF) - 1a 和脾臟病灶形成病毒 (SFV) 啟動子。在一優選實施方案中，啟動子與被表達的核酸異源。除了強啟動子外，本說明書的 TCR 表達盒可能含有附加的元素，可提高轉基因表達，包括中樞多聚嘧啶區 (CPPT)，其促進了慢病毒構建體的核易位 (Follenzi et al., 2000)，和土撥鼠肝炎病毒轉錄後調控元素 (WPRE)，其透過提高 RNA 穩定性增加轉基因表達水準 (Zufferey et al., 1999)。

【0212】 本發明 TCR 的  $\alpha$  和  $\beta$  鏈可由位於分開的載體核酸進行編碼，或者可透過位於同一載體的多核苷酸編碼。

【0213】 實現高水準的 TCR 表面表達需要引入 TCR 的 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈高水準轉錄。為了實現它，本說明書的 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈可在單一的載體中被克隆入雙順反子構建體，其已被證明能夠克服這一障礙。使用 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈在之間的病毒核糖體間進入位元點 (IRES) 導致兩鏈的協同表達，因為 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈均由在翻譯過程中分成兩個蛋白質的單一轉錄物產生，從而確保了產生 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈的相等摩爾比 (Schmitt et al. 2009)。

【0214】 編碼本說明書 TCR 的核酸可以是被優化以從宿主細胞增加表達的密碼子。遺傳密碼冗餘讓一些氨基酸被一個以上的密碼子編碼，但某些密碼子沒有其他密碼子「優化」，因為匹配 tRNA 以及其他因子的相對可用性 (Gustafsson et al., 2004)。修改 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$

基因序列使得每個氨基酸被用於哺乳動物基因表達的最佳密碼子編碼，以及消除 mRNA 不穩定性基序或隱蔽剪接位元點，已顯示可顯著提高 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  基因表達 (Scholten et al., 2006)。

【0215】此外，引入的和內源性 TCR 鏈之間的錯配可能會導致獲得特異性，其構成自身免疫的顯著風險。例如，混合 TCR 二聚體的形成可能會減少可用以形成正確配對 TCR 複合體的 CD3 分子數目，因此，可以顯著降低表達所引入 TCR 的細胞的功能性親合力 (Kuball et al., 2007)。

【0216】為了減少錯配，本說明書引入的 TCR 鏈的 C-末端結構域可以進行修改以促進鏈間親和力，同時降低引入鏈與內源 TCR 配對的能力。這些策略可能包括用鼠配對物取代人類 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  C 端結構域（鼠化 C 端結構域）；透過引入第二個半胱氨酸殘基到引入 TCR 的 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈產生 C 末端結構域的第二個鏈間二硫鍵（半胱氨酸修飾）；交換 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈 C 端結構域的相互作用殘基（「杵臼結構」）；直接融合 TCR- $\alpha$  和 TCR- $\beta$  鏈可變結構域至 CD3 $\zeta$  (CD3 $\zeta$  融合) (Schmitt et al., 2009)。

【0217】在一實施方案中，宿主細胞被改變結構以表達本說明書的 TCR。在一優選實施方案中，宿主細胞為人 T 細胞或 T 細胞祖細胞。在一些實施方案中，T 細胞或 T 細胞祖細胞從癌症患者中獲得。在另一些實施方案中，T 細

胞或T細胞祖細胞從健康供體中獲得。本說明書的宿主細胞相對於待治療的患者可以為同種異體或自體的。在一實施方案中，宿主是被轉化以表達 $\alpha/\beta$  TCR的 $\gamma/\delta$  T細胞。

【0218】 「藥物組合物」是指適合在醫療機構用於人體的組合物。優選地，藥物組合物為無菌狀態，並根據GMP指南生產。

【0219】 藥物組合物包括游離形式或以一種藥用鹽形式存在的肽（也參見上文）。此處使用的「藥用鹽」系指所公開的肽的一種衍生物，其中該肽由制酸或藥劑的城鹽進行改性。例如，用與適合的酸反應的游離城（通常其中的中性藥物有一個中性-NH<sub>2</sub>基團）製備酸式鹽。適合製備酸鹽的酸包括有機酸，如：乙酸、丙酸、羥基酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、丙二酸、丁二酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、甲磺酸、苯磺酸、水楊酸等等、以及無機酸，如：鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等。相反，可在一種肽上表現的酸性基團的城鹽製劑使用藥用城基進行製備，如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺等等。

【0220】 在特別優選的實施方案中，藥物組合物包括乙酸（醋酸鹽），三氟乙酸鹽或鹽酸（氯化物）形式的肽。

【0221】 本發明中所述的藥劑優選為一種免疫治療藥劑，例如，一種疫苗。該疫苗可直接給到患者的受影響器官，也可i.d.、i.m.、s.c.、i.p. 和 i.v. 注射方式全身給藥，或體外應用到來自患者或其細胞株的細胞（隨後

再將這些細胞注入到患者中)，或體外用於從來自患者的免疫細胞的一個細胞亞群（然後再將細胞重新給予患者）。如果核酸體外注入細胞，可能有益於細胞轉染，以共同表達免疫刺激細胞因子（如白細胞介素-2）。肽可完全單獨給藥，也可與免疫刺激佐劑相結合（見下文）、或與免疫刺激細胞因子聯合使用、或以適當的輸送系統給藥（例如脂質體）。該肽也可共軛形成一種合適的載體（如鑰孔蟲血藍蛋白（KLH）或甘露）到合適的載體（參閱WO 95/18145及（Longenecker et al., 1993））。肽也可能被標記，可能是融合蛋白，或可能是雜交分子。在本發明中給出序列的肽預計能刺激CD4或CD8 T細胞。然而，在有CD4 T-輔助細胞的幫助時，CD8 T細胞刺激更加有效。因此，對於刺激CD8 T細胞的MHC-I類表位，一種雜合分子的融合夥伴或片段提供了刺激CD4陽性T細胞的適當表位。CD4-和CD8刺激表位為本領域所熟知、並包括本發明中確定的表位。

【0222】一方面，疫苗包括至少含有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385中提出的一種肽以及至少另外一種肽，優選為2至50個、更優選為2至25個、再優選為2至20個、最優選為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18個肽。肽可能從一個或多個特定TAA中衍生，並且可能與MHC I類分子結合。

【0223】 另一方面，本發明提出了一種編碼本發明中肽或肽變體的核酸（如多聚核苷酸）。多聚核苷酸可能為，例如，DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物，它們可為單鏈和/或雙鏈、或多聚核苷酸的原生或穩定形式（如：具有硫代磷酸骨架的多聚核苷酸），並且只要它編碼肽，就可能包含也可能不包含內含子。當然，多聚核苷酸只能編碼加入天然肽鍵並含有天然氨基酸殘基的肽。另一個方面，本發明提出了一種可根據本發明表達多肽的表達載體。

【0224】 對於連接多核苷酸，已經開發出多種方法，尤其是針對DNA，可透過向載體補充可連接性末端等方法進行連接。例如，可向DNA片段加入補充性均聚物軌道，之後DNA片段被插入到載體DNA。然後，透過補充性均聚物尾巴的氫鍵結合，將載體和DNA片段結合，從而形成重組DNA分子。

【0225】 含有一個或多個酶切位點的合成接頭為DNA片段與載體連接提供了另一種方法。含各種限制性核酸內切酶的合成接頭可透過多種管道購得，其中包括從國際生物技術公司（International Biotechnologies Inc, New Haven, CN, 美國）購得。

【0226】 編碼本發明多肽的DNA理想修飾方法是使用Saiki等人（Saiki et al., 1988）所採用的聚合酶鏈反應方法。此方法可用於將DNA引入合適的載體

(例如，透過設計合適的酶切位點)，也可用於本領域已知的其他有用方法修飾 DNA。如果使用病毒載體，痘病毒載體或腺病毒載體為優選。

【0227】 之後，DNA (或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA) 可能表達於合適的宿主，從而製成含本發明肽或變體的多肽。因此，可根據已知技術使用編碼本發明肽或變體的 DNA，用本文所述方法適當修飾後，構建表達載體，然後表達載體用於轉化合適宿主細胞，從而表達和產生本發明中的多肽。此類技術包括那些公開於，例如，美國專利 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 和 4,810,648。

【0228】 編碼含本發明化合物多肽的 DNA (或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA) 可能被加入到其他多種 DNA 序列，從而引入到合適的宿主中。同伴 DNA 將取決於宿主的性質、DNA 引入宿主的方式、以及是否需要保持為游離體還是要相互結合。

【0229】 一般來說，DNA 可以適當的方向和正確的表達閱讀框架附著到一種表達載體(如質粒)中。如有必要，該 DNA 可能與所需宿主所識別的相應轉錄和翻譯調節控制核苷酸序列連接，儘管表達載體中一般存在此類控制功能。然後，該載體透過標準方法被引入宿主。一般來說，並不是所有的宿主都會被載體轉化。因此，有必要選擇轉化過的宿主細胞。選擇方法包括用任何必要的控制元素向



表達載體插入一個 DNA 序列，該序列對轉化細胞中的可選擇性屬性（如抗生素耐藥性）進行編碼。

【0230】 另外，有這種選擇屬性的基因可在另外一個載體上，該載體用來協同轉化所需的宿主細胞。

【0231】 然後，本發明中的重組 DNA 所轉化的宿主細胞在本文中所述本領域技術人員熟悉的合適條件下培養足夠長的時間，從而表達之後可回收的肽。

【0232】 有許多已知的表達系統，包括細菌（如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌）、酵母（如酵母菌）、絲狀真菌（如曲黴菌）、植物細胞、動物細胞及昆蟲細胞。該系統可優選為哺乳動物細胞，如來自 ATCC 細胞生物學庫（Cell Biology Collection）中的 CHO 細胞。

【0233】 典型的哺乳動物細胞組成型表達載體質粒包括 CMV 或含一個合適的多聚 A 尾巴的 SV40 啟動子以及抗性標誌物（如新黴素）。一個實例為從 Pharmacia 公司（Piscataway，新澤西，美國）獲得的 pSVL。一種可誘導型哺乳動物表達載體的例子是 pMSG，也可以從 Pharmacia 公司獲得。有用的酵母質粒載體是 pRS403-406 和 pRS413-416，一般可從 Stratagene Cloning Systems 公司（La Jolla，CA 92037，美國）獲得。質粒 pRS403、pRS404、pRS405 和 pRS406 是酵母整合型質粒（YIp），並插入了酵母可選擇性標記物 HIS3、TRP1、LEU2 和 URA3。pRS413-416 質粒為酵母著絲粒質粒（Ycp）。基於 CMV 啟動子的載體

(如，來自於 S i g m a - A l d r i c h 公司) 提供了暫態或穩定的表達、胞漿表達或分泌，以及 F L A G 、 3 x F L A G 、 c - m y c 或 M A T N 不同組合物中的 N - 端或 C - 端標記。這些融合蛋白可用於檢測、純化及分析重組蛋白。雙標融合為檢測提供了靈活性。

【0234】 強勁的人巨細胞病毒 (C M V) 啟動子調控區使得 C O S 細胞中的組成蛋白表達水準高達 1 m g / L 。對於較弱的細胞株，蛋白水準一般低於 0.1 m g / L 。S V 4 0 複製原點的出現將導致 D N A 在 S V 4 0 複製容納性 C O S 細胞中高水準複製。例如，C M V 載體可包含細菌細胞中的 p M B 1 ( p B R 3 2 2 的衍生物) 複製原點、細菌中進行氨苄青黴素抗性選育的 鈣 - 內鹼胺酶基因、h G H p o l y A 和 f 1 的原點。含前胰島素原引導 (P P T) 序列的載體可使用抗 F L A G 抗體、樹脂和板引導 F L A G 融合蛋白分泌到進行純化的培養基中。其他與各種宿主細胞一起應用的載體和表達系統是本領域熟知眾所周知的。

【0235】 在另一個實施方案中，對本發明的兩個或更多的肽或肽變體進行編碼，因此，以一個連續順序(類似於「一串珠子」的構建體)表達。在達到目標，所述肽或肽變體可能透過連接子氨基酸的延伸處(例如 L L L L L L ) 連接或融合一起，也可能他們之間沒有任何附加的肽而被連接。這些構建體也可用於癌症治療，可誘導涉及 M H C I 和 M H C II 類分子的免疫應答。

【0236】 本發明還涉及一種宿主細胞，其以本發明的多核苷酸載體構建轉化而來。宿主細胞可為原核細胞，也可為真核細胞。在有些情況下，細菌細胞為優選原核宿主細胞，典型為大腸桿菌株，例如，大腸桿菌菌株 DH5（從 Bethesda Research Laboratories 公司（Bethesda, MD, 美國）獲得）和 RR1（從美國菌種保藏中心（ATCC, Rockville, MD, 美國），ATCC 編號 31343 獲得）。首選的真核宿主細胞包括酵母、昆蟲和哺乳動物細胞，優選為脊椎動物細胞，如：小鼠、大鼠、猴子或人成纖維細胞和結腸癌細胞株中的細胞。酵母宿主細胞包括 YPH499、YPH500 和 YPH501，一般可從 Stratagene Cloning Systems 公司（La Jolla, CA 92037, 美國）獲得。首選哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢（CHO）細胞為 ATCC 中的 CCL61 細胞、NIH 瑞士小鼠胚胎細胞 NIH/3T3 為 ATCC 中的 CRL 1658 細胞、猴腎源性 COS-1 細胞為 ATCC 中的 CRL 1650 細胞以及人胚胎腎細胞的 293 號細胞。首選昆蟲細胞為 Sf9 細胞，可用杆狀病毒表達載體轉染。有關針對表達選擇合適宿主細胞的概要，可從教科書（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）和技術人員知道的其他文獻中查到。

【0237】 含本發明 DNA 結構的適當宿主細胞的轉化可使用大家熟知的方法完成，通常取決於使用載體的類型。關於原核宿主細胞的轉化，請參見，例如，Cohen 等人的文獻 (Cohen et al., 1972) 和 (Green and Sambrook, 2012)。酵母細胞的轉化在 Sherman 等人的文章 (Sherman et al., 1986) 中進行了描述。Beggs (Beggs, 1978) 中所述的方法也很有用。對於脊椎動物細胞，轉染這些細胞的試劑等，例如，磷酸鈣和 DEAE-葡聚糖或脂質體配方，可從 Stratagene Cloning Systems 公司或 Life Technologies 公司 (Gaithersburg, MD 20877, 美國) 獲得。電穿孔也可用於轉化和/或轉染細胞，是本領域用於轉化酵母細胞、細菌細胞、昆蟲細胞和脊椎動物細胞大家熟知的方法。

【0238】 被成功轉化的細胞 (即含本發明 DNA 結構的細胞) 可用大家熟知的方法 (如 PCR) 進行識別。另外，上清液存在的蛋白可使用抗體進行檢測。

【0239】 應瞭解，本發明中的某些宿主細胞用於製備本發明中的肽，例如細菌細胞、酵母細胞和昆蟲細胞。但是，其他宿主細胞可能對某些治療方法有用。例如，抗原表現細胞 (如樹突狀細胞) 可用于表達本發明中的肽，使他們可以加載入相應的 MHC 分子中。因此，本發明提出了含本發明中核酸或表達載體的一種宿主細胞。

【0240】 在一個優選實施方案中，宿主細胞為抗原表現細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原表現細胞。2010年4月29日，美國食品和藥物管理局（FDA）批准載有含攝護腺酸性磷酸酶（PAP）的重組融合蛋白可用於治療無症狀或症狀輕微的轉移性HRPC（Rini et al., 2006; Small et al., 2006）。

【0241】 另一方面，本發明提出了一種配製一種肽及其變體的方法，該方法包括培養宿主細胞和從宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0242】 在另一個實施方案中，本發明中的肽、核酸或表達載體用於藥物中。例如，肽或其變體可製備為靜脈（i.v.）注射劑、皮下（s.c.）注射劑、皮內（i.d.）注射劑、腹膜內（i.p.）注射劑、肌肉（i.m.）注射劑。肽注射的優選方法包括s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和i.v.注射。DNA注射的優選方法為i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和i.v.注射。例如，給予50 μg至1.5 mg，優選為125 μg至500 μg的肽或DNA，這取決於具體的肽或DNA。上述劑量範圍在以前的試驗中成功使用（Walter et al., 2012）。

【0243】 用於主動免疫接種的多聚核苷酸可為基本純化形式，也可包被於載體或輸送系統。核酸可能為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。這種核酸的設計和引入方法為本領域所熟知。例如，文獻中有其概述（Teufel et al., 2005）。多核苷酸疫苗很容易製備，但這些載體誘導免疫反應的作用模式尚未完全瞭解。合適

的載體和輸送系統包括病毒 DNA 和 / 或 RNA，如基於腺病毒、牛痘病毒、逆轉錄病毒、疱疹病毒、腺相關病毒或含一種以上病毒元素的混合病毒的系統。非病毒輸送系統包括陽離子脂質體和陽離子聚合物，是 DNA 輸送所屬領域內熟知的系統。也可使用物理輸送系統，如透過「基因槍」。肽或核酸編碼的肽可以是一種融合蛋白，例如，含刺激 T 細胞進行上述 CDR 的表位。

【0244】 本發明的藥劑也可能包括一種或多種佐劑。佐劑是那些非特異性地增強或加強免疫反應的物質（例如，透過 CD8-陽性 T 細胞和輔助 T (TH) 細胞介導的對一種抗原的免疫應答，因此被視為對本發明的藥劑有用。適合的佐劑包括（但不僅限於）1018ISS、鋁鹽、AMPLIVAX®、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、鞭毛蛋白或鞭毛蛋白衍生的 TLR5 配體、FLT3 配體、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特（ALDARA®）、resiquimod、ImuFact IMP321、白細胞介素 IL-2、IL-13、IL-21、干擾素  $\alpha$  或  $\beta$ ，或其聚乙二醇衍生物、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、ISCOMs、JuvImmune®、LipoVac、MALP2、MF59、單磷醯脂 A、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、水包油和油包水乳狀液、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、OspA、PepTel® 載體系統、基於聚丙交酯複合乙交酯

[PLG] 和右旋糖苷微粒、重組人乳鐵傳遞蛋白 SRL172、病毒顆粒和其他病毒樣顆粒、YF-17D、VEGF trap、R848、 $\beta$ -葡聚糖、Pam3Cys、源白皂角苷、分支桿菌提取物和細菌細胞壁合成模擬物的 Aquila 公司的 QS21 刺激子，以及其他專有佐劑，如：Ribi's Detox、Quil 或 Superfos。優選佐劑如：弗氏佐劑或 GM-CSF。前人對一些樹突狀細胞特異性免疫佐劑（如 MF59）及其製備方法進行了描述（Allison and Krummel, 1995）。也可能使用細胞因子。一些細胞因子直接影響樹突狀細胞向淋巴組織遷移（如，TNF-），加速樹突狀細胞成熟為 T 淋巴細胞的有效抗原表現細胞（如，GM-CSF、IL-1 和 IL-4）（美國 5849589 號專利，特別以其完整引用形式併入本文），並充當免疫佐劑（如 IL-12、IL-15、IL-23、IL-7、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ ）（Gabrilovich et al., 1996）。

【0245】 據報告，CpG 免疫刺激寡核苷酸可提高佐劑在疫苗中的作用。如果沒有理論的約束，CpG 寡核苷酸可透過 Toll 樣受體（TLR）（主要為 TLR9）活化先天（非適應性）免疫系統從而起作用。CpG 引發的 TLR9 活化作用提高了對各種抗原的抗原特異性體液和細胞反應，這些抗原包括肽或蛋白抗原、活病毒或被殺死的病毒、樹突狀細胞疫苗、自體細胞疫苗以及預防性和治療性疫苗中的多糖結合物。更重要的是，它會增強樹突狀細胞的成熟和分化，導致 TH1 細胞的活化增強以及細胞毒性

T 淋巴細胞 (CTL) 生成加強，甚至 CD4 T 細胞說明的缺失。甚至有疫苗佐劑的存在也能維持 TLR9 活化作用誘發的 TH1 偏移，這些佐劑如：正常促進 TH2 偏移的明礬或弗氏不完全佐劑 (IFA)。CpG 寡核苷酸與以下其他佐劑或配方一起製備或聯合給藥時，表現出更強的佐劑活性，如微粒、納米粒子、脂肪乳或類似製劑，當抗原相對較弱時，這些對誘發強反應尤為必要。他們還能加速免疫反應，使抗原劑量減少約兩個數量級，在有些實驗中，對不含 CpG 的全劑量疫苗也能產生類似的抗體反應 (Krieg, 2006)。美國 6406705 B1 號專利對 CpG 寡核苷酸、非核酸佐劑和抗原結合使用促使抗原特異性免疫反應進行了描述。一種 CpG TLR9 拮抗劑為 Mologen 公司 (德國柏林) 的 dSLIM (雙幹環免疫調節劑)，這是本發明藥物組合物的優選成分。也可使用其他如 TLR 結合分子，如：RNA 結合 TLR7、TLR8 和 / 或 TLR9。

【0246】 其他有用的佐劑例子包括 (但不限於) 化學修飾性 CpG (如 CpR、Idera)、dsRNA 模擬物，如，Poly(I:C) 及其衍生物 (如：AmpliGen、Hiltonol、多聚-(ICLC)、多聚(IC-R)、多聚(I:C12U))、非 CpG 細菌性 DNA 或 RNA 以及免疫活性小分子和抗體，如：環磷醯胺、舒尼替單抗、貝伐單抗®、西樂葆、NCX-4016、西地那非、他達拉非、伐地那非、索拉非尼、替莫唑胺、temsirolimus、XL-999、CP-547632、帕唑帕尼、VEGF Trap、ZD2171、



A Z D 2 1 7 1、抗 - C T L A 4、免疫系統的其他抗體靶向性主要結構（如：抗 - C D 4 0、抗 - T G F  $\beta$ 、抗 - T N F  $\alpha$  受體）和 S C 5 8 1 7 5，這些藥物都可能有治療作用和 / 或充當佐劑。技術人員無需過度進行不當實驗就很容易確定本發明中有用的佐劑和添加劑的數量和濃度。

【 0 2 4 7 】 首選佐劑是抗 - C D 4 0、咪喹莫特、瑞喹莫德、G M - C S F、環磷醯胺、舒尼替尼、貝伐單抗、干擾素  $\alpha$ 、C p G 寡核苷酸及衍生物、多聚 (I : C) 及衍生物、R N A、西地那非和 P L G 或病毒顆粒的微粒製劑。

【 0 2 4 8 】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（G M - C S F，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特、resiquimod 和干擾素 -  $\alpha$ 。

【 0 2 4 9 】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（G M - C S F，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特和 resiquimod。在本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑為環磷醯胺、咪喹莫特或 resiquimod。更優選的佐劑是 Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、聚-ICLC（Hiltonol®）和抗 C D 4 0 m A B 或其組合物。

【 0 2 5 0 】 此組合藥物為非腸道注射使用，如皮下、皮內、肌肉注射，也可口服。為此，肽和其他選擇性分子在

藥用載體中分解或懸浮，優選為水載體。此外，組合物可包含輔料，如：緩衝劑、結合劑、衝擊劑、稀釋劑、香料、潤滑劑等。這些肽也可與免疫刺激物質合用，如：細胞因子。可用於此類組合物的更多輔料可在從 A. Kibbe 所著的 *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (Kibbe, 2000) 等書中獲知。此組合藥物可用於阻止、預防和/或治療腺瘤或癌性疾病。例如，EP 2 112 253 中有示例製劑。

【0251】重要的是要認識到，透過本發明的疫苗引發的免疫應答在不同的細胞階段和開發的不同階段攻擊癌症。而且不同的癌症相關信號通路被攻擊。這相對於其他疫苗的優勢，這些疫苗只針對一個或幾個靶標，這可能會導致腫瘤很容易適應於攻擊（腫瘤逃逸）。此外，並非所有的個體腫瘤都表達相同模式的抗原。因此，幾個腫瘤相關肽的組合確保了每個腫瘤都承擔至少一些靶標。該組合物以這樣的方式設計，預期每個腫瘤可表達幾種抗原並覆蓋腫瘤生長和維持所需要的幾種獨立的途徑。因此，疫苗可易於「現成的」用於較大患者群體。這意味著，預選擇接受疫苗治療的患者可限制為HLA分型，無需抗原表達的任何額外的生物標誌物評估，但仍然確保多個靶標同時被誘導的免疫應答攻擊，這對於療效很重要 (Bancheau et al., 2001; Walter et al., 2012)。

【0252】 本文所用的「支架」一詞是指與（如抗原）決定因子特異性結合的分子。在一項實施方案中，支架是能夠引導其所連接的實體（例如，（第二）抗原結合部分）至目標靶點，例如，至特定類型的腫瘤細胞或承載抗原決定簇的腫瘤基質（如根據目前申請中肽和MHC的複合體）。在另一項實施例中，支架能夠透過其靶抗原（例如T細胞受體複合體抗原）活化信號通路。支架包括但不限於抗體及其片段，抗體的抗原結合區，其包含抗體重鏈可變區和抗體輕鏈可變區，結合的蛋白包括至少一個錨蛋白重複序列基元和單域抗原結合(SDAB)分子、適體、（可溶）TCR和（經修飾的）細胞，例如同種異體或自體T細胞。為了評估某個分子是否是結合至靶點的支架，可進行結合測定。

【0253】 「特定」結合系指，與其他天然肽-MHC複合體相比，該支架與感興趣的肽-MHC複合體更好地結合，結合程度為，擁有能夠殺死承載特定靶點細胞的活性分子的支架不能夠殺死無特定靶點但表現一個或多個其他肽-MHC複合體的另一細胞。如果交叉反應性肽-MHC的肽並不是天然的，即，並非來自人HLA-多肽組，則結合至其他肽-MHC複合體是無關緊要的。評估靶細胞殺傷的測試在本領域中是公知的。它們應該含有未改變的肽-MHC表現的靶細胞（原發細胞或細胞系）或載有肽的細胞進行，以便達到天然肽-MHC的水準。

【0254】 各支架可包括一個標記，其透過確定是否存在或不存在標籤所提供的信號可檢測到結合支架。例如，該支架可用螢光染料或任何其他適用的細胞標記分子進行標記。此類標記分子是本領域中公知的。例如，透過螢光染料進行的螢光標記可透過螢光或鐳射掃描顯微術或流式細胞術提供結合適體的視覺化。

【0255】 各支架可與第二個活性分子（例如 IL-21、抗 CD3、抗 CD28）共軛。

【0256】 關於多肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在 WO 2014/071978 A1 背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0257】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見 WO 2014/191359 及其中引用的文獻）是短的單鏈核酸分子，其可以折疊為所定義的三維結構並識別特定的靶標結構。它們似乎是開發靶向治療的合適替代方法。適體已顯示可選擇性與具有高親和力和特異性的複合體靶標相結合。

【0258】 識別細胞表面分子的適體在過去十年內已經確定，並為開發診斷和治療方法提供了手段。由於適體已顯示幾乎無毒性和免疫原性，因此，它們是生物醫學應用中有前景的候選物質。事實上適體，例如攝護腺特異性膜抗原識別適體，已被成功地用於靶向治療並在體內模型的異種移植物中顯示出功能。此外，認識到特定腫瘤細胞系的適體也已確定。

【0259】可選擇DNA適體來揭示各種癌細胞的廣譜識別屬性，特別是那些來自於實體瘤的細胞，而非致瘤和主要健康細胞不被識別。如果所識別的適體不僅識別腫瘤特異性子類型，而且與一系列腫瘤相互作用，這使適體適用於作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0260】此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在納摩爾範圍內顯示出很好的親和力。

【0261】適體用於診斷和治療目的。此外，也可能顯示，一些適體被腫瘤細胞吸取，因而可作為抗癌劑靶向遞送的分子賦形劑，例如siRNA進入腫瘤細胞。

【0262】可選擇適體針對複合體的靶標，如細胞和組織以及包含、優選包括根據任何SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 385的一個序列、根據當前發明的肽複合體與MHC分子，使用細胞SELEX（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0263】本發明中的肽可用于生成和開發出針對MHC/肽複合物的特定抗體。這些抗體可用於治療，將毒素或放射性物質靶向病變組織。這些抗體的另一用途是為了成像之目的（如PET）將放射性核素靶向病變組織。這可有助於檢測小轉移灶或確定病變組織的大小和準確位置。

【0264】因此，本發明的另一方面是提出產生特異性結合至與HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性複合體(MHC)的一種重組抗體的方法，該方法包括：

用可溶形式的與HLA限制性抗原絡合的(MHC) I或II類分子對包含表達所述主要組織相容性說複合體(MHC) I或II類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；將mRNA分子與產生所述非人哺乳動物細胞的抗體分離；產生一個噬菌體顯示庫，顯示由所述mRNA分子編碼的蛋白分子；以及將至少一個噬菌體與所述噬菌體顯示庫分離，所述的至少一個噬菌體顯示所述抗體特異性地結合至與HLA限制性抗原絡合的所述人主要組織相容性說複合體(MHC) I或II類。

【0265】 本發明的另一方面提出一種抗體，其特異性結合至與一種HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性說複合體(MHC)，其中該抗體優選為多克隆抗體、單克隆抗體、雙特異性抗體和/或嵌合抗體。

【0266】 產生這種抗體和單鏈I類主要組織相容性複合物的相應方法，以及產生這些抗體的其他工具在WO 03/068201、WO 2004/084798、WO 01/72768、WO 03/070752以及出版物(Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003)中進行了披露，為了本發明之目的，所有參考文獻透過引用被完整地併入本文。

【0267】 優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20納摩爾，優選為低於10納摩爾，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0268】 本發明涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385組成的組的一個序列或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385具有88%同源性（優選為相同）的一種變體，或誘導與所述變異肽發生T細胞交叉反應的一種變體，其中，所述肽不是基本的全長多肽。

【0269】 本發明進一步涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385組成的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385具有至少88%同源性（優選為相同）的一種變體，其中所述肽或變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0270】 本發明進一步涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合的能力。

【0271】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中肽系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385的一個氨基酸序列組成。

【0272】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽（在化學上）被修飾和/或包含非肽鍵。

【0273】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽為融合蛋白的一部分，特別包括HLA-DR抗原相關不變鏈（Ii）的N-端氨基酸，或其中該肽與一種抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）融合。

【0274】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明所述肽，前提是該肽並非完整（完全）的人蛋白。

【0275】 本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0276】 本發明進一步涉及一種能表達本發明核酸的表達載體。

【0277】 本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種藥用表達載體，特別是用於治療CLL。

【0278】 本發明進一步涉及含本發明核酸或本發明表達載體的一種宿主細胞。

【0279】 本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原表現細胞，優選為樹突細胞。

【0280】 本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0281】 本發明進一步涉及本發明中的方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原表現細胞表面的I或II類MHC分子。

【0282】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原表現細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達或正在表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:385的肽或所述變體氨基酸序列。



【0283】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化 T 細胞，其中所述 T 細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞異常表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0284】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者本發明的有效量 T 細胞。

【0285】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的一種核酸、本發明的一種表達載體、本發明的一種細胞、本發明一種作為藥劑或製造藥劑的活化細胞毒性 T 淋巴細胞的用途。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0286】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中該藥劑為一種疫苗。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0287】 本發明進一步涉及本發明中的用途，其中所述癌細胞為 CLL 細胞或其他實體或血液腫瘤細胞，如急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌和子宮癌。

【0288】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的特定標誌物蛋白和生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷和 / 或判斷 CLL 的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新靶點。

【0289】本文中術語「抗體」為廣義上的定義，既包括多克隆也包括單克隆抗體。除了完整或「全部」的免疫球蛋白分子，「抗體」這一術語還包括這些免疫球蛋白分子和人源化免疫球蛋白分子的片段（如，C D R、F v、F a b 和 F c 片段）或聚合物，只要它們表現出本發明的任何期望屬性（例如，C L L 標誌物（多）肽的特異性結合、將毒素傳遞給癌症標誌物基因表達水準增加時的 C L L 細胞和 / 或抑制 C L L 標誌物多肽的活性）。

【0290】只要有可能，本發明的抗體可從商業來源購買。本發明的抗體也可能使用已知的方法制得。技術人員會瞭解全長 C L L 標誌物多肽或其片段可用于製備本發明的抗體。用於產生本發明抗體的多肽可部分或全部地由天然源經純化而得，也可利用重組 D N A 技術生產。

【0291】例如，本發明的編碼肽的 c D N A，例如，該肽為根據 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 3 8 5 多肽的肽，或其中一個變體或片段，可在原核細胞中（如：細菌）或真核細胞（如：酵母、昆蟲或哺乳動物細胞）中表達，之後，可純化重組蛋白，並用於產生一種特異性結合用於產生本發明抗體的 C L L 標誌物多肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0292】本領域的技術人員會認識到，兩種或兩種以上不同集合的單克隆抗體或多克隆抗體能最大限度地增加獲得一種含預期用途所需的特異性和親和力（例如，E L I S A 法、免疫組織化學、體內成像、免疫毒素療法）

的抗體的可能性。根據抗體的用途，用已知的方法對其期望活性進行測試（例如，ELISA法、免疫組織化學、免疫治療等；要獲取產生和測試抗體的進一步指導，請參閱，例如，Greenfield, 2014（Greenfield, 2014））。例如，該抗體可用ELISA法或免疫印跡法、免疫組織化學染色福馬林固定的癌組織或冰凍的組織切片進行檢測。在初次體外表徵後，用於治療或體內診斷用途的抗體根據已知的臨床測試方法進行檢測。

【0293】 此處使用的術語「單克隆抗體」系指從大量同質抗體中獲得的一種抗體，即，由相同的抗體組成的抗體群，但可能少量表現的自然突變除外。此處所述的單克隆抗體具體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈和/或輕鏈與從特定物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和分類型抗體的相應序列相同（同質），同時，剩餘鏈與從其他物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和子類型抗體的相應序列以及這些抗體的片段相同（同質），只要他們表現出預期的拮抗活性（美國 4816567 號專利，其在此以其整體併入）。

【0294】 本發明的單克隆抗體可能使用雜交瘤方法制得。在雜交瘤方法中，老鼠或其他適當的宿主動物，通常用免疫製劑以引發產生或能產生將特異性結合至免疫製劑的抗體。或者，淋巴細胞可在體外進行免疫。

【0295】 單克隆抗體也可由DNA重組方法制得，如：美國 4816567 號專利所述。編碼本發明單克隆抗體的

DNA 可很容易地使用傳統程序進行分離和測序（例如：透過使用能與編碼鼠抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針）。

【0296】體外方法也適用於製備單價抗體。抗體消化以產生抗體的片段，尤其是 Fab 片段，可以透過使用本領域已知的常規技術完成。例如，可以透過使用木瓜蛋白酶完成消化。木瓜蛋白酶消化的實施例在 WO 94/29348 和美國 4342566 號專利中有描述。抗體的木瓜蛋白酶消化通常產生兩種相同的抗原結合性片段，稱為 Fab 片段（每個片段都有一個抗原結合點）和殘餘 Fc 片段。胃蛋白酶處理產生一個 F(ab')<sub>2</sub> 片段和一個 pFc' 片段。

【0297】抗體片段，不論其是否附著於其他序列，均可包括特定區域或特定氨基酸殘基的插入、刪除、替換、或其他選擇性修飾，但前提是，片段的活性與非修飾的抗體或抗體片段相比沒有顯著的改變或損害。這些修飾可提供一些額外的屬性，如：刪除/添加可與二硫鍵結合的氨基酸，以增加其生物壽命、改變其分泌特性等。在任何情況下，抗體片段必須擁有生物活性的特性，如：結合活性、調節結合域的結合力等。抗體的功能性或活性區域可透過蛋白特定區域的基因突變、隨後表達和測試所表達的多肽進行確定。這些方法為本行業技術人員所熟知，可包括編碼抗體片段的核酸的特定位點基因突變。

【0298】本發明的抗體可進一步包括人源化抗體或人抗體。非人（如：鼠）抗體的人源化形式為嵌合抗體免疫

球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（如：Fv、Fab、Fab' 或抗體的其他抗原結合序列），其中包含從非人免疫球蛋白中獲得的最小序列。人源化抗體包括人免疫球蛋白（受體抗體），其中來自受體互補決定區（CDR）的殘基被來自非人物種（供體抗體）（如具有與其特異性、親和力和能力的小鼠、大鼠或兔子）CDR 的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的 Fv 框架（FR）殘基被相應的非人殘基取代。人源化抗體可能還包括既非受體抗體、也非輸入 CDR 或框架序列中發現的殘基。一般來說，人源化抗體將包括幾乎所有的至少一個、通常為二個可變域，其中，全部或幾乎全部的 CDR 區域均對應於非人免疫球蛋白的區域並且全部或幾乎全部的 FR 區域均為人免疫球蛋白相同序列的區域。理想情況是，人源化抗體還將包括至少免疫球蛋白恒定區（Fc）的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0299】 人源化非人抗體的方法為本行業所熟知。一般來說，人源化抗體具有一個或多個從非人源頭引入的氨基酸殘基。這些非人氨基酸殘基往往被稱為「輸入」殘基，通常從「輸入」可變域中獲得。人源化基本上可以透過將齧齒動物 CDR 或 CDR 序列取代為相應的人抗體序列而完成。因此，這種「人源化」抗體為嵌合抗體（美國 4816567 號專利），其中大大少於完整的人可變域被來自於非人物種的相應序列取代。在實踐中，人源化抗體通

常為人抗體，其中有些 C D R 殘基以及可能的一些 F R 殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0300】 可使用免疫後在內源性免疫球蛋白產生缺失時能產生完整人抗體的轉基因動物（如：小鼠）。例如，它被描述為，嵌合和種系突變小鼠中的抗體重鏈連接區域基因的純合性缺失導致內源性抗體生成的完全抑制。在此種系變種小鼠中人種系免疫球蛋白基因陣列的轉移在抗原挑戰後將導致人抗體的生成。人抗體也可在噬菌體展示庫中產生。

【0301】 本發明的抗體優選為透過藥用載體的形式給予受試者。通常，在製劑中使用適量的藥用鹽，以使製劑等滲。藥用載體的例子包括生理鹽水、林格氏液和葡萄糖溶液。溶液的 pH 值優選為約 5 至 8，更優選為約 7 至 7.5。此外，載體還包括緩釋製劑，如：含有抗體的固體疏水性聚合物半透性基質，其中基質為有形物品形式，如：薄膜、脂質體或微粒。本行業的技術人員熟知，某些載體可能為更優選，取決於例如，抗體的給藥途徑和濃度。

【0302】 該抗體可透過注射（如：靜脈內、腹腔內、皮下、肌肉內）或透過輸注等其他方法給予受試者、患者或細胞，確保其以有效的形式傳輸到血液中。這些抗體也可以透過瘤內或瘤周途徑給予，從而發揮局部和全身的治療作用。局部或靜脈注射為優選。

【0303】 抗體給藥的有效劑量和時間表可根據經驗確定，並且作出此類決定屬本行業的技術範圍內。本行業的

技術人員會明白，必須給予的抗體劑量根據以下因素會有所不同，例如：接受抗體的受試者、給藥途徑、使用的抗體以及其他正在使用的藥物的特定類型。單獨使用的抗體的通常口劑量可能為約  $1\text{ }\mu\text{g/kg}$  至最多  $100\text{ mg/kg}$  體重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療 CLL 後，治療抗體的療效可透過技術人員熟知的不同方法評估。例如：接受治療的受試者癌症的大小、數量和/或分佈可使用標準腫瘤成像技術進行監測。因治療而給予的抗體與不給予抗體時的病程相比，可阻止腫瘤生長、導致腫瘤縮小、和/或阻止新腫瘤的發展，這樣的抗體是一種有效治療癌症的抗體。

【0304】本發明的另一方面提出了製備識別特異性肽-MHC複合物的可溶性T細胞受體（sTCR）的一種方法。這種可溶性T細胞受體可從特異性T細胞克隆中產生，並且它們的親和力可以透過互補決定區靶向誘變而增加。為了T細胞受體選擇之目的，可以使用噬菌體展示（美國2010/0113300，（Liddy et al., 2012））。為了在噬菌體展示期間以及實際使用為藥物時穩定T細胞受體之目的，可透過非天然二硫鍵、其他共價鍵（單鏈T細胞受體）或透過二聚化結構域連接 $\alpha$ 和 $\beta$ 鏈（Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999）。T細胞受體可以連接到毒素、藥物、細胞因子（參見US 2013/0115191）、域招募效應細胞，如抗CD3域等，以便對靶細胞執行特定的功能。此外，它可能表達

於用於過繼轉移的 T 細胞。進一步的資訊可在 WO 2004/033685A1 和 WO 2004/074322A1 中找到。sTCR 的組合在 WO 2012/056407A1 中進行了描述。WO 2013/057586A1 中公開了製備的進一步的方法。

【0305】此外，可用本發明的肽和/或 TCR 或抗體或其他結合分子在活檢樣本的基礎上驗證病理師對癌症的診斷。

【0306】該抗體或 TCR 也可用於體內診斷實驗。一般來說，抗體用放射性核素標記（如： $^{111}\text{In}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{32}\text{P}$  或  $^{35}\text{S}$ ），從而可免疫閃爍掃描法使腫瘤局限化。在一實施方案中，其中的抗體或片段與兩個或兩個以上選自包括上述蛋白的組的蛋白質靶標的細胞外域結合，並且親和力值（ $K_d$ ）低於  $1 \times 10 \mu\text{M}$ 。

【0307】診斷用抗體可透過各種影像學方法使用適合檢測的探針進行標記。探針檢測方法包括但不限於，螢光、光、共聚焦和電鏡方法；磁共振成像和光譜學技術；透視、電腦斷層掃描和正電子發射斷層掃描。合適的探針包括但不限於，螢光素、羅丹明、曙紅及其它螢光團、放射性同位素、黃金、釷和其他稀土、順磁鐵、氟-18 和其他正電子發射放射性核素。此外，探針可能是雙功能或多功能的，並且用一種以上的上述方法可進行檢測。這些抗體可用所述的探針直接或間接進行標記。抗體探針的連接，包括探針的共價連接、將探針融合入抗體、以及螯合化合物的共價連接從而結合探針、以及其他本行業熟知的



方法。對於免疫組織化學方法，疾病組織樣本可能是新鮮或冷凍或可能包埋於石蠟中以及用福馬林等防腐劑固定。固定或包埋的切片包括與標記一抗和二抗接觸的樣本，其中該抗體用於檢測原位 蛋白的表達。

【0308】 本發明的另一方面包括一種體外製備活化的 T 細胞的方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人 MHC 分子進行體外連接，這些分子在合適的抗原表現細胞表面表達足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化 T 細胞，其中所述抗原為根據本發明所述的一種肽。優選情況是足夠量的抗原與抗原表現細胞一同使用。

【0309】 優選情況是，哺乳動物細胞的 TAP 肽轉運載體缺乏或水準下降或功能降低。缺乏 TAP 肽轉運載體的適合細胞包括 T2、RMA-S 和果蠅細胞。TAP 是與抗原加工相關的轉運載體。

【0310】 人體肽載入的缺陷細胞株 T2 從屬美國菌種保藏中心（ATCC，12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852，美國）目錄號 CRL1992；果蠅細胞株 Schneider 2 號株從屬 ATCC 目錄 CRL 19863；小鼠 RMA-S 細胞株 Ljunggren 等人描述過（Ljunggren and Karre, 1985）。

【0311】 優選情況是，宿主細胞在轉染前基本上不表達 MHC I 類分子。刺激因子細胞還優選為表達對 T 細胞共刺激信號起到重要作用的分子，如，B7.1、B7.2、ICAM-1 和 LFA 3 中的任一種分子。大量 MHC I 類

分子和共刺激分子的核酸序列可從 GenBank 和 EMBL 資料庫中公開獲得。

【0312】 當 MHC I 類表位用作一種抗原時，T 細胞為 CD8 陽性 T 細胞。

【0313】 如果抗原表現細胞受到轉染而表達這種表位，則優選的細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:385 的肽或變體氨基酸序列。

【0314】 可使用其他一些方法來體外生成 T 細胞。例如，自體腫瘤浸潤性淋巴細胞可用于生成 CTL。Plebanski 等人在 (Plebanski et al., 1995) 使用自體外周血淋巴細胞 (PLB) 制得 T 細胞。另外，也可能用肽或多肽脈衝處理樹突狀細胞或透過與重組病毒感染而製成自體 T 細胞。此外，B 細胞可用於製備自體 T 細胞。此外，用肽或多肽脈衝處理或用重組病毒感染的巨噬細胞可用於配製自體 T 細胞。S. Walter 等人在 (Walter et al., 2003) 中描述了透過使用人工抗原表現細胞 (aAPC) 體外活化 T 細胞，這也是生成作用於所選肽的 T 細胞的一種合適方法。在本發明中，根據生物素：鏈黴素生物化學方法透過將預製的 MHC：肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成 aAPC。該系統實現了對 aAPC 上的 MHC 密度進行精確調節，這使得可以在血液樣本中選擇地引發高或低親合力的高效抗原特异性 T 細胞反應。除了 MHC：肽複合物外，aAPC 還

應攜運含共刺激活性的其他蛋白，如耦合至表面的抗-CD28 抗體。此外，此類基於 aAPC 的系統往往需要加入適當的可溶性因子，例如，諸如白細胞介素 12 的細胞因子。

【0315】也可用同種異體細胞制得 T 細胞，在 WO 97/26328 中詳細描述了一種方法，以參考文獻方式併入本文。例如，除了果蠅細胞和 T2 細胞，也可用其他細胞來表現肽，如 CHO 細胞、杆狀病毒感染的昆蟲細胞、細菌、酵母、牛痘感染的靶細胞。此外，也可使用植物病毒（例如，參閱 Porta 等人在 (Porta et al., 1994) 中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種表現外來肽的高產系統。

【0316】被活化的 T 細胞直接針對本發明中的肽，有助於治療。因此，本發明的另一方面提出了用本發明前述方法制得的活化 T 細胞。

【0317】按上述方法製成的活化 T 細胞將會有選擇性地識別異常表達含 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO 385 氨基酸序列的多肽。

【0318】優選情況是，T 細胞透過與其含 HLA/肽複合物的 TCR 相互作用（如，結合）而識別該細胞。T 細胞是殺傷患者靶細胞方法中有用的細胞，其靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽。此類患者給予有效量的活化 T 細胞。給予患者的 T 細胞可能源自該患者，並按上述方法活化（即，它們為自體 T 細胞）。或者，T 細胞不是

源自該患者，而是來自另一個人。當然，優選情況是該供體為健康人。發明人使用「健康個人」系指一個人一般狀況良好，優選為免疫系統合格，更優選為無任何可很容易測試或檢測到的疾病。

【0319】 根據本發明，CD8-陽性T細胞的體內靶細胞可為腫瘤細胞（有時表達MHC-II類抗原）和/或腫瘤周圍的基質細胞（腫瘤細胞）（有時也表達MHC-II類抗原；（Dengjel et al., 2006））。

【0320】 本發明所述的T細胞可用作治療性組合物中的活性成分。因此，本發明也提出了一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者上述有效量的T細胞。

【0321】 發明人所用的「異常表達」的意思還包括，與正常組織表達水準相比，多肽過量表達，或該基因在從腫瘤獲得的組織中未表達而在腫瘤中表達。「過量表達」系指多肽水準至少為正常組織中的1.2倍；優選為至少為正常組織中的2倍，更優選為至少5或10倍。

【0322】 T細胞可用本領域已知的方法制得（如，上述方法）。

【0323】 T細胞繼轉移方案為本領域所熟知的方案。綜述可發現於：Gattinoni et al. 和 Morgan et al.（Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006）。

【0324】 本發明的另一個方面包括使用與MHC複合的肽，以生成T細胞受體，其核酸被克隆並被引入至宿

主細胞，優選為 T 細胞。然後，該透過基因工程改變的 T 細胞可轉給患者用於癌症治療。

【0325】 本發明的任一分子（即肽、核酸、抗體、表達載體、細胞，活化 T 細胞、T 細胞受體或編碼核酸）都有益於治療疾病，其特點在於細胞逃避免疫反應的打擊。因此，本發明的任一分子都可用作藥劑或用於製造藥劑。這種分子可單獨使用也可與本發明中的其他分子或已知分子聯合使用。

【0326】 本發明還涉及一種套件，其包括：

(a) 一個容器，包含上述溶液或凍乾粉形式的藥物組合物；

(b) 可選的第二個容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋劑或重組溶液；和

(c) 可選的 (i) 溶液使用或 (ii) 重組和 / 或凍幹製劑使用的說明。

【0327】 該套件還步包括一個或多個 (iii) 緩衝劑，(iv) 稀釋劑，(v) 過濾液，(vi) 針，或 (v) 注射器。容器最好是瓶子、小瓶、注射器或試管，可以為多用途容器。藥物組合物最好是凍幹的。

【0328】 本發明中的套件優選包含一種置於合適容器中的凍幹製劑以及重組和 / 或使用說明。適當的容器包括，例如瓶子、西林瓶（如雙室瓶）、注射器（如雙室注射器）和試管。該容器可能由多種材料製成，如玻璃或塑膠。試劑盒和 / 或容器最好有容器或關於容器的說明書，

指明重組和/或使用的方向。例如，標籤可能表明凍幹劑型將重組為上述肽濃度。該標籤可進一步表明製劑用於皮下注射。

【0329】 存放製劑的容器可使用多用途西林瓶，使得可重複給予（例如，2-6次）重組劑型。該套件可進一步包括裝有合適稀釋劑（如碳酸氫鈉溶液）的第二個容器。

【0330】 稀釋液和凍幹製劑混合後，重組製劑中的肽終濃度優選為至少  $0.15 \text{ mg/mL/肽}$  ( $=75 \mu\text{g}$ )，不超過  $3 \text{ mg/mL/肽}$  ( $=1500 \mu\text{g}$ )。該套件還可包括商業和用戶角度來說可取的其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑，過濾液、針頭、注射器和帶有使用說明書的包裝插頁。

【0331】 本發明中的套件可能有一個單獨的容器，其中包含本發明所述的藥物組合物製劑，該製劑可有其他成分（例如，其他化合物或及其藥物組合物），也可無其他成分，或者每種成分都有其不同容器。

【0332】 優選情況是，本發明的套件包括與本發明的一種製劑，包裝後與第二種化合物（如佐劑（例如GM-CSF）、化療藥物、天然產品、激素或拮抗劑、抗血管生成劑或抑制劑、凋亡誘導劑或螯合劑）或其藥物組合物聯合使用。該套件的成分可進行預絡合或每種成分在給予患者之前可放置於單獨的不同容器。該套件的成分可以是一種或多種溶液，優選為水溶液，更優選為無菌水溶液。該套件的成分也可為固體形式，加入合適的溶劑後轉換為液體，最好放置於另一個不同的容器中。

【0333】治療套件的容器可能為西林瓶、試管、燒瓶、瓶子、注射器、或任何其他盛裝固體或液體的工具。通常，當成分不只一種時，套件將包含第二個西林瓶或其他容器，使之可以單獨定量。該套件還可能包含另一個裝載藥用液體的容器。優選情況是，治療套件將包含一個設備（如，一個或多個針頭、注射器、滴眼器、吸液管等），使得可注射本發明的藥物（本套件的組合物）。

【0334】本發明的藥物配方適合以任何可接受的途徑進行肽給藥，如口服（腸道）、鼻內、眼內、皮下、皮內、肌內，靜脈或經皮給藥。優選為皮下給藥，最優選為皮內給藥，也可透過輸液泵給藥。

【0335】由於本發明的肽從 CLL 中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療 CLL。

【0336】本發明進一步涉及為個體患者製備個體化藥物的一種方法，其中包括：製造含選自預篩選 TUMAP 存儲庫至少一種肽的藥物組合物，其中藥物組合物中所用的至少一種肽選擇為適合於個體患者。在一項實施方案中，藥物組合物為一種疫苗。該方法也可以改動以產生下游應用的 T 細胞克隆物，如：TCR 隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0337】「個體化藥物」系指專門針對個體患者的治療，將僅用於該等個體患者，包括個體化活性癌症疫苗以及使用自體組織的過繼細胞療法。

【0338】如本文所述，「存儲庫」應指已經接受免疫原性預篩查和/或在特定腫瘤類型中過量表現的一組或一系列肽。「存儲庫」一詞並不暗示，疫苗中包括的特定肽已預先製造並儲存於物理設備中，雖然預期有這種可能性。明確預期所述肽可以用於新製造每種個體化疫苗，也可能被預先製造和儲存。存儲庫（例如，資料庫形式）由腫瘤相關肽組成，其在各種 HLA-A HLA-B 和 HLA-C 等位元基因 CLL 患者的腫瘤組織中高度過度表達。其可能含有包括 MHC I類和 MHC II類肽或拉長的 MHC I類肽。除了從幾種 CLL 組織中採集的腫瘤相關肽外，存儲庫還可能包含 HLA-A\*02 和 HLA-A\*24 標記肽。這些肽可對 TUMAP 誘導的 T細胞免疫進行量化比較，從而可得出疫苗抗腫瘤反應能力的重要結論。其次，在沒有觀察到來自患者「自身」抗原 TUMAP 的任何疫苗誘導的 T細胞反應時，它們可作為來自「非自身」抗原的重要陽性對照肽。第三，它還可對患者的免疫功能狀態得出結論。

【0339】存儲庫的 TUMAP 透過使用一種功能基因組學方法進行鑒定，該方法結合了基因表達分析、質譜法和 T細胞免疫學（XPresident®）。該方法確保了只選擇真實存在于高百分比腫瘤但在正常組織中不表達或僅很少量表達的 TUMAP 用於進一步分析。對於初始肽的選擇，患者 CLL 樣本和健康供體的血液以循序漸進的方法進行分析：



1. 惡性材料的 H L A 配體用質譜法確定
2. 使用全基因組信使核糖核酸 ( m R N A ) 表達分析法用於確定惡性腫瘤組織 ( C L L ) 與一系列正常器官和組織相比過度表達的基因。
3. 確定的 H L A 配體與基因表達資料進行比較。腫瘤組織上過度表現或選擇性表現的肽，優選為第 2 步中檢測到的選擇性表達或過量表達基因所編碼的考慮為多肽疫苗的合適候選 T U M A P 。
4. 文獻檢索以確定更多證據以支持確認為 T U M P 的肽的相關性
5. 過度表達在 m R N A 水準的相關性由腫瘤組織第 3 步選定的 T U M A P 重新檢測而確定，並且在健康組織上缺乏（或不經常）檢測。
6. 為了評估透過選定的肽誘導體內 T 細胞反應是否可行，使用健康供體以及 C L L 患者的人 T 細胞進行體外免疫原性測定。

【0340】一方面，在將所述肽加入存儲庫之前，對其進行篩查以瞭解免疫原性。舉例來說（但不限於此），納入存儲庫的肽的免疫原性的確定方法包括體外 T 細胞活化，具體為：用裝載肽 / M H C 複合物和抗 C D 2 8 抗體的人工抗原表現細胞反復刺激來自健康供體的 C D 8 + T 細胞。

【0341】這種方法優選用於罕見癌症以及有罕見表達譜的患者。與含目前開發為固定組分的多肽雞尾酒相反的

是，存儲庫可將腫瘤中抗原的實際表達於疫苗進行更高程度的匹配。在多目標方法中，每名患者將使用幾種「現成」肽的選定單一肽或組合。理論上來說，基於從 50 抗原肽庫中選擇例如 5 種不同抗原肽的一種方法可提供大約 170 萬種可能的藥物產品（DP）組分。

【0342】 在一方面，選擇所述肽用於疫苗，其基於個體患者的適合性，並使用本發明此處或後文所述的方法。

【0343】 HLA 表型、轉錄和肽組學資料從患者的腫瘤材料和血液樣本中收集，以確定最合適每名患者且含有「存儲庫」和患者獨特（即突變）TUMAP 的肽。將選擇的那些肽選擇性地或過度表達于患者腫瘤中，並且可能的情況下，如果用患者個體 PBMC 進行檢測，則表現出很強的體外免疫原性。

【0344】 優選的情況是，疫苗所包括的肽的一種確定方法包括：（a）識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽（TUMAP）；（b）將（a）中鑒定的肽與上述肽的存儲庫（資料庫）進行比對；且（c）從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫（資料庫）中選擇至少一種肽。例如，腫瘤樣本表現的 TUMAP 的鑒定方法有：（a1）將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及（a2）將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類 MHC 和 / 或 II 類分子的 MHC 配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的

蛋白質的 MHC 配體。優選情況是，MHC 配體的序列的確定方法是：洗脫來自腫瘤樣本分離的 MHC 分子結合肽，並測序洗脫配體。優選情況是，腫瘤樣本和正常組織從同一患者獲得。

【0345】除了使用存儲庫（資料庫）模型選擇肽以外，或作為一種替代方法，TUMAP 可能在新患者中進行鑒定，然後列入疫苗中。作為一種實施例，患者中的候選 TUMAP 可透過以下方法進行鑒定：(a1) 將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及 (a2) 將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類 MHC 和 / 或 II 類分子的 MHC 配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的 MHC 配體。作為另一實施例，蛋白的鑒定方法為可包含突變，其對於腫瘤樣本相對於個體患者的相應正常組織是獨特的，並且 TUMAP 可透過特異性靶向作用於變異來鑒定。例如，腫瘤以及相應正常組織的基因組可透過全基因組測序方法進行測序：為了發現基因蛋白質編碼區域的非同義突變，從腫瘤組織中萃取基因組 DNA 和 RNA，從外周血單核細胞 (PBMC) 中提取正常非突變基因組種系 DNA。運用的 NGS 方法只限于蛋白編碼區的重測序（外顯子組重測序）。為了這一目的，使用供應商提供的靶序列富集試劑盒來捕獲來自人樣本的外顯子 DNA，隨後使用 HiSeq2000（Illumina 公司）進行測序。此外，對腫

瘤的 mRNA 進行測序，以直接定量基因表達，並確認突變基因在患者腫瘤中表達。得到的數以百萬計的序列讀數透過軟體演算法處理。輸出列表中包含突變和基因表達。腫瘤特異性體突變透過與 P B M C 衍生的種系變化比較來確定，並進行優化。然後，為了存儲庫可能測試新確定的肽瞭解如上所述的免疫原性，並且選擇具有合適免疫原性的候選 T U M A P 用於疫苗。

【0346】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a) 用上述方法識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽 (T U M A P)；(b) 將 (a) 中鑒定的肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量表現預篩查肽的存儲庫進行比對；(c) 從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫中選擇至少一種肽；及 (d) 可選地在 (a) 中選擇至少一種新確定的肽，確認其免疫原性。

【0347】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a) 識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽 (T U M A P)；以及 (b) 在 (a) 中選擇至少一種新確定的肽，並確認其免疫原性。

【0348】 一旦選定了用於個體化肽疫苗的肽時，則產生疫苗。該疫苗優選為一種液體製劑，包括溶解於 20 - 40 % D M S O 之間，優選為約 30 - 35 % D M S O，例如，約 33 % D M S O 中的個體肽。

【0349】 列入產品的每種肽都溶於 D M S O 中。單個肽溶液濃度的選擇取決於要列入產品中的肽的數量。單肽

- D M S O 溶液均等混合，以實現一種溶液中包含所有的肽，且濃度為每肽 $\sim 2.5 \text{ mg/ml}$ 。然後該混合溶液按照 1 : 3 比例用注射用水進行稀釋，以達到在 33% D M S O 中每肽  $0.826 \text{ mg/ml}$  的濃度。稀釋的溶液透過  $0.22 \mu\text{m}$  無菌篩檢程序進行過濾。從而獲得最終本體溶液。

【0350】 最終本體溶液填充到小瓶中，在使用前儲存於  $-20^\circ\text{C}$  下。一個小瓶包含  $700 \mu\text{L}$  溶液，其中每種肽含有  $0.578 \text{ mg}$ 。其中的  $500 \mu\text{L}$ （每種肽約  $400 \mu\text{g}$ ）將用於皮內注射。

【0351】 本發明的肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於肽由 CLL 細胞產生，並且已確定這些肽在正常組織中不存在或水準較低，因此這些肽可用於診斷癌症是否存在。

【0352】 血液樣本中組織活檢物含請求項的肽，可有助於病理師診斷癌症。用抗體、質譜或其他本領域內已知的方法檢測某些肽可使病理師判斷該組織樣本為惡性的還是炎症或一般病變，也可用作 CLL 的生物標誌物。肽基團的表現使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0353】 對病變標本中肽的檢測使得能對免疫系統治療方法的利益進行判斷，特別是如果 T- 淋巴細胞已知或預計與作用機制有關。MHC 表達的缺失是一種機制，充分說明了哪些受感染的惡性細胞逃避了免疫監視。因此，肽的表現表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0354】 本發明的肽可用於分析淋巴細胞對肽的反應（如 T 細胞反應），或抗體對肽或 MHC 分子結合的肽發生的反應。這些淋巴細胞反應可以作為預後指標，決定是否採取進一步的治療。這些反應也可以用作免疫療法中的替代反應指標，旨在以不同方式誘導淋巴細胞反應，如接種蛋白疫苗、核酸、自體材料、淋巴細胞過繼轉移。基因治療中，淋巴細胞對肽發生的反應可以在副作用的評估中考慮。淋巴細胞反應監測也可能成為移植療法隨訪檢查中的一種有價值的工具，如，用於檢測移植物抗宿主和宿主抗移植物疾病。

【0355】 下列描述優選方案的實施例將對本發明進行說明，並參照隨附圖表（但是不僅限於此）。考慮到本發明的目的，文中引用的所有參考文獻透過引用的方式併入在本文中。

#### 【圖式簡單說明】

【0356】 圖 1A 至 V 顯示了正常組織（白色柱）和 CLL（黑色柱）中各種肽的過量表現。圖 1A）基因：IGHM，肽：ALHRPDVYL（SEQ ID NO.: 2）。從左到右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 腦，6 乳腺，2 軟骨，2 眼，3 膽囊，6 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，6 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，3 甲狀旁腺，1 腹膜，5 腦垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，7 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，4 小腸，9 脾，5 胃，6 睪丸，2 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，2

子宮，6 食道，17 慢性淋巴細胞白血病樣本。該肽還在 2 / 21 非霍奇金淋巴瘤樣本中檢測出。圖 1 B ) 基因：IGHM，肽：VIAELPPKV (SEQ ID No.:3)。從左到右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 腦，6 乳腺，2 軟骨，2 眼，3 膽囊，6 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，6 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，3 甲狀旁腺，1 腹膜，5 腦垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，7 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，4 小腸，9 脾，5 胃，6 睪丸，2 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，2 子宮，6 食道，17 慢性淋巴細胞白血病樣本。該肽還在 5 / 21 非霍奇金淋巴瘤樣本和 1 / 90 肺癌中檢測出。圖 1 C )，基因：IGHM，肽：VIAELPPKVS (SEQ ID No.:4)，從左到右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 腦，6 乳腺，2 軟骨，2 眼，3 膽囊，6 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，6 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，3 甲狀旁腺，1 腹膜，5 腦垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，7 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，4 小腸，9 脾，5 胃，6 睪丸，2 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，2 子宮，6 食道，17 慢性淋巴細胞白血病樣本。圖 1 D )，基因：NUP210，肽：RLYEITIEV (SEQ ID No.:121)。從左到右的樣本：1 PBMC 培養物，1 良性攝護腺，8 正常組織 (3 肺，4 脾，1 氣管)，49 癌組織 (2 腦癌，2 乳腺癌，1 結腸癌，13 白細胞白血病，13 肺癌，8 淋巴結癌，1 骨髓細

胞癌，4 卵巢癌，2 皮膚癌，1 膀胱癌，2 子宮癌）。圖 1 D 和表 4 之間的腫瘤類型相關的差異可能是由於表 4 採用更嚴格的選擇標準所致（詳情請參照表 4）。測試的正常組織系列、癌細胞系和異種移植體與圖 1 A - C 中相同。圖 1 E），基因：COBRA1，肽：ALLRLLPGL（SEQ ID No.:14）。從左到右的樣本：1 細胞系，11 癌組織（1 乳腺癌，1 結腸癌，1 頭頸癌，2 白細胞性白血病，1 肝癌，1 肺癌，2 淋巴結癌，1 髓樣細胞癌，1 皮膚癌）。圖 1 F），基因：KIAA0226L，肽：GIIDGSPRL（SEQ ID No.:62）。從左到右的樣本：2 正常組織（1 淋巴結，1 脾），18 癌組織（2 結腸癌，9 白細胞白血病，6 淋巴結癌，1 直腸癌）。圖 1 G），基因：DDX3X，肽：GLDQQFAGLDL（SEQ ID No.:68）。從左到右的樣本：1 細胞系，2 原代培養物，21 癌組織（1 膽管癌，1 腦癌，1 乳腺癌，1 頭頸癌，2 腎癌，3 白細胞性白血病，2 肝癌，2 肺癌，2 淋巴結癌，3 卵巢癌，1 直腸癌，1 皮膚癌，1 子宮癌）。圖 1 H），基因：LIG1，肽：KTLDVDATYEI（SEQ ID No.:112）。從左到右的樣本：2 細胞系，1 原代培養物，13 癌組織（1 食管癌，2 白細胞白血病，1 肝癌，3 肺癌，2 淋巴結癌，2 卵巢癌，1 皮膚癌，1 子宮癌）。圖 1 I），基因：SMCHD1，肽：SIIEGPIIKL（SEQ ID No.:146）。從左到右的樣本：14 癌組織（1 頭頸癌，3 白細胞白血病，6 肺癌，1 淋巴結癌，1 卵巢癌，2 膀胱癌）。圖 1 J），基因：MMS22L，



肽：SILETVATL (SEQ ID No.:147)。從左到右的樣本：1原代培養物，11癌組織（1結腸癌，4白細胞性白血病，1肺癌，3淋巴結癌，1骨髓細胞癌，1皮膚癌）。圖 1K），基因：FCRL3，肽：SLLAELHVL (SEQ ID No.:153)。從左到右的樣本：1細胞系，9正常組織（1淋巴結，1直腸，7脾），27癌組織（1乳腺癌，1腎癌，10白細胞性白血病，14淋巴結癌，1皮膚癌）。圖 1L），基因：FAM126A，肽：SLQEEKLIYV (SEQ ID No.:159)。從左到右的樣本：2細胞系，23癌症組織（5腦癌，1乳腺癌，1食管癌，3頭頸癌，2白細胞白血病，5肺癌，3淋巴結癌，1皮膚癌，2膀胱癌）。圖 1M），基因：HNRNPC，肽：SVHKGFAFV (SEQ ID No.:164)。從左到右的樣本：10細胞系，1原代培養物，1正常組織（1腎上腺），36癌組織（12腦癌，1結腸癌，2頭頸癌，2腎癌，3白細胞白血病，1肝癌，5肺癌，1骨髓細胞癌，1卵巢癌，1直腸癌，1皮膚癌，2胃癌，2膀胱癌，2子宮癌）。圖 1N），基因：RASGRF1，肽：TLDTSKLYV (SEQ ID No.:167)。從左到右的樣本：13癌組織（1腦癌，8白細胞白血病，4淋巴結癌）。圖 1O），基因：RASGRF1，肽：YLLDQSFVM (SEQ ID No.:168)。從左到右的樣本：16癌組織（10白細胞白血病，6淋巴結癌）。圖 1P），基因：RNF213，肽：YIQEYLTLL (SEQ ID No.:192)。從左到右的樣本：2細胞系，18癌組織（1結腸癌，1頭頸癌，1腎癌，4白

細胞白血病，5肺癌，3淋巴結癌，1骨髓細胞癌，1胃癌，1膀胱癌)。圖1Q)，基因：DCK，肽：YLQEVPIITL (SEQ ID No.:197)。從左到右的樣本：11癌組織(5白細胞白血病，4淋巴結癌，1皮膚癌，1子宮癌)。圖1R)，基因：EIF3H，肽：YMFEEVPIVI (SEQ ID No.:200)。從左到右的樣本：4細胞系，2原代培養物，34癌組織(1膽管癌，2乳腺癌，1結腸癌，1食管癌，1膽囊癌，5頭頸癌，2白細胞白血病，2肝癌，9肺癌，4淋巴結癌，2卵巢癌，1直腸癌，2皮膚癌，1膀胱癌)。圖1S)，基因：UBLCP1，肽：LIDVKPLGV (SEQ ID No.:211)。從左到右的樣本：3細胞系，23癌組織(5腦癌，1乳腺癌，1食管癌，1頭頸癌，1腎癌，3白細胞性白血病，2肝癌，2肺癌，4淋巴結癌，1卵巢癌，1攝護腺癌，1皮膚癌)。圖1T)，基因：TMCO6，肽：QLLPVSNVVS (SEQ ID No.:256)。從左到右的樣本：2原代培養物，13癌組織(2頭頸癌，3白細胞白血病，1肝癌，2肺癌，4淋巴結癌，1卵巢癌)。圖1U)，基因：MYO1G，肽：LLYNSTDPTL (SEQ ID No.:312)。從左到右的樣本：1細胞系，2原代培養物，14癌組織(1結腸癌，4白細胞白血病，2肺癌，5淋巴結癌，1卵巢癌，1膀胱癌)。圖1V)，基因：PIM1，肽：VLLPQETAELHL (SEQ ID No.:328)。從左到右的樣本：3原代培養物，27癌組織(1乳腺癌，1結腸癌，5

白細胞白血病，5 肺癌，7 淋巴結癌，2 卵巢癌，2 皮膚癌，1 胃癌，3 尿膀胱癌）。

【0357】圖2A至D顯示了本發明的源基因的代表性表達特徵，這些基因在一系列正常組織（白色柱）的 CLL 中以及17個CLL樣本（黑色柱）中高度過度表達或專門表達。從左到右的組織：6動脈，1血細胞，1腦，1心臟，2肝臟，2肺，2靜脈，1脂肪組織，1腎上腺，6骨髓，1軟骨，1結腸，1食管，2眼，2膽囊，1腎，6淋巴結，5胰腺，2腦垂體，1直腸，1唾液腺，1骨骼肌，1皮膚，1小腸，1脾，1胃，1甲狀腺，7氣管，1膀胱，1乳腺，5卵巢，3胎盤，1攝護腺，1睪丸，1胸腺，1子宮，10個慢性淋巴細胞白血病樣本。圖2A）基因符號：FCER2；圖2B）基因符號：KIAA0226L；圖2C）基因符號：PAX5；圖2D）基因符號：CLEC17A。

【0358】圖3顯示了示例性的免疫原性資料：肽特定多聚體染色(multimer staining)後流式細胞儀結果。使用披覆有抗-CD28 mAB和HLA-A\*02的人造APC來引發(prime) CD8+ T細胞，其中HLA-A\*02分別與SeqID No 1 胜肽(C，左圖)、SeqID No 5 胜肽(D，左圖)、SeqID No 32 胜肽(E，左圖)及SeqID No 220 胜肽(F、左圖)複合。在三個循環的刺激之後，藉由2D多聚體染色(2D multimer staining)進行胜肽-反應性細胞的偵測，所述2D多聚體染色伴隨著A\*02/SeqID No 1 (C)、A\*02/SeqID No 5 (D)、A\*02/SeqID

No 32 (E) 或 A\*02/SeqID No 220 (F)。右圖 (C、D、E 及 F) 顯示以不相關的 A\*02/胜肽複合物刺激的細胞之對照染色。針對 CD8+ 淋巴細胞閘管 (gate) 可用的單態細胞 (singlet cell)。布林閘 (Boolean gates) 有助於排除以對不同胜肽具特異性的多聚體所檢測到的假陽性事件。CD8+ 淋巴細胞中之特異性多聚體+細胞的頻率被指出。

### 【實施方式】

實施例

實施例 1

細胞表面表現的腫瘤相關肽的識別和定量

組織樣本

【0359】 患者的腫瘤組織獲得自：ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd (Glasgow, UK)、波恩大學醫院 (Bonn, Germany)、蒂賓根大學醫院 (Tübingen, Germany)。

【0360】 正常組織獲得自 Asterand (Detroit, MI, USA & Royston, Herts, UK)、Bio-Options Inc. (Brea, CA, USA)、BioServe (Beltsville, MD, USA)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、京都府立醫科大學 (KPUM) (Kyoto, Japan)、日內瓦大學醫院 (Geneva, Switzerland)、海德堡大學醫院 (Heidelberg, Germany)、慕尼黑大學醫院

(Munich, Germany)、蒂賓根大學醫院 (Tübingen, Germany)。

【0361】 所有患者在手術或屍檢前都獲得了書面知情同意。切除後組織立即進行冷休克處理，在分離 TUMAP 前儲存於  $-70^{\circ}\text{C}$  或以下。

#### 從組織樣本中分離 HLA 肽

【0362】 根據方案 (Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999) 略加修改，使用 HLA-A\*02 特異性抗體 BB7.2、HLA-A、HLA-B、HLA-C 特異性抗體 W6/32、CNBr 活化的瓊脂糖凝膠、酸處理和超濾方法以免疫沉澱法從實體組織中獲得了冷凍組織樣本的 HLA 肽庫。

#### 質譜分析

【0363】 獲得的 HLA 肽庫根據其疏水性用反相色譜 (nanoAcquity UPLC system, Waters) 分離，洗脫肽用裝有電噴霧源的 LTQ-velos 融合雜交質譜 (ThermoElectron) 進行了分析。肽庫被直接載入填充有  $1.7\ \mu\text{m}$  C18 反相材料 (Waters) 的分析用熔煉石英微毛細管柱 ( $75\ \mu\text{m}$  內徑 x  $250\ \text{mm}$ )，應用流速為  $400\ \text{nL}$  每分鐘。隨後，使用來自流速為  $300\ \text{nL}$  每分鐘、濃度為 10% 至 33% 溶劑 B 中的兩步 180 分鐘二元梯度法對肽進行分離。梯度由溶劑 A (含 0.1% 甲酸的水) 和溶劑 B (含 0.1% 甲酸的乙腈)。金鍍膜玻璃毛細管 (PicoTip, New Objective) 用於引入到納升電噴霧源。使用前 5 (TOP5) 策略在資料依賴模式下操作

LTQ-Orbitrap 質譜儀。簡言之，首先以高精確品質完全掃描在 orbitrap 開始一個掃描週期 ( $R = 30\,000$ )，之後用先前選定離子的動態排除技術在 orbitrap 中對 5 種含量最為豐富的前體離子進行 MS/MS 掃描 ( $R = 7500$ )。串聯質譜以 SEQUEST 和另一種手動控制器進行解讀。生成的自然肽破碎模式與合成序列相同參考肽的破碎模式進行比較後，確保了被識別的肽序列。

【0364】 無標記相對 LC-MS 定量透過離子計數（即透過 LC-MS 功能提取和分析）來進行 (Mueller et al., 2007)。該方法假定肽的 LC-MS 信號區域與樣本中其豐度相關。提取的特徵透過充電狀態去卷積和保留時間校準進行進一步處理 (Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008)。最後，所有的 LC-MS 特徵與序列鑒定結果交叉引用，以將不同樣本和組織的定量資料與肽呈遞特徵結合。定量資料根據集中資料以兩層方式進行正態化處理，以說明技術和生物學複製變異。因此，每個被識別的肽均可與定量資料相關，從而可得出樣本和組織之間的相對定量。此外，對候選肽獲得的所有定量資料進行手動檢查，以確保資料的一致性，並驗證自動化分析的準確度。對於每種肽，計算了表現圖，其顯示樣本平均表現量以及複製變化。這些特徵使 CLL 樣本與正常組織樣本的基線值並列。示範性過度表現肽的表現譜示於圖 1 中。示範性肽的表現分數見表 8。

【 0 3 6 5 】 表 8：表現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表現（+++）、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表現（++）或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表現（+）的 H L A - A \* 0 2 肽。被認為與腫瘤比較相關的一系列正常組織組包括：脂肪組織、腎上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、乳腺、食道、眼、膽囊、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號	序列	肽表現
1	AIPPSFASIFL	+++
2	ALHRPDVYL	+++
3	VIAELPPKV	+++
4	VIAELPPKVSV	+++
5	ALIFKIASA	+++
6	ALDTLEDDMTI	+++
7	ALLERTGYTL	+++
8	ALAASALPALV	+++
9	ALCDTLITV	+++
10	FVYGESVEL	+++
11	ALFTFJPLTV	+++
12	ALGEDEITL	+++
13	VVDGMPPGV	++
14	ALLRLLPGL	+
15	ALPEVSVEA	+

16	ALPGGA AVAAV	++
17	ALTKTNLQL	+++
18	LLGEFSIKM	+++
19	QVMEKLA AV	+
20	ALVDPGPDFVV	+
21	ALWAGLLTL	+++
22	ALWDPVIEL	+++
23	ALYLTEVFL	+++
24	AMAGDVVYA	+++
25	ATYSGLESQSV	+
27	AVLGLVWLL	++
28	AVLHLLLSV	+++
29	AVLQAVTAV	+++
30	ELLEGSEIYL	+
31	ELMHGVAGV	++
32	FIDKFTPPV	+++
33	FIINSSNIFL	+++
35	FILPSSLYL	+++
36	FILTHVDQL	+++
37	FIMEGGAMVL	+++
39	FLDALLTDV	+++
40	FLDEDDMSL	+
41	FLDPSLDPLL	+++
43	FLLGPEALSFA	+++
45	FLPELPADLEA	++
47	FLSDQPEPYL	++
48	FLSPQQPPLL	+++
49	FLTDLFAQL	+



50	FLFEPVVKAFL	+++
51	FLVEAPHDWDL	++
52	FLVETGFLHV	+++
53	FLWQHVELVL	+++
54	FLYPFPLALF	+++
56	FVFEAPYTL	+++
57	GLSEISLRL	+++
58	YIQQGIFSV	++
59	FVFGDENGTVSL	+++
60	FVLDHEDGLNL	++
61	FVYFIVREV	+++
62	GIIDGSPRL	+
63	SLAHVAGCEL	+++
64	KLLESVASA	++
65	GLDDMKANL	+++
66	SLAGGLDDMKA	+++
68	GLDQQFAGLDL	+++
69	GLHQREIFL	+++
70	FVPDTPVGV	++
71	GLKHDIARV	+++
72	GLLDAGKMYV	+++
73	GLLEVISALQL	+++
74	GLLRASFL	+++
76	GLLRIIPYL	++
77	GLLRLTWFL	++
78	GLPSFLTEV	+++
79	GLQAKIQEA	+++
80	VLIEDELEEL	+++

81	WLVGQEFEL	+++
82	GLQSGVDIGV	+
83	GQGEVLVYV	+
86	HLYPGAVTI	+++
88	ILDEIGADVQA	+++
89	ILDFGTFQL	+++
90	VIADLGLIRV	+++
92	ILEPLNPLL	+++
93	ILFNTQINI	+++
94	ILFPLRFTL	+++
95	ILGYMAHEHKV	+++
96	ILIDKTSFV	+
97	LLFATQITL	+
98	SLIKYFLFV	+++
99	ILIFHSVAL	+++
100	ILNNEVFAI	+
101	ILVVIEPLL	+++
102	IQDRAVPSL	+++
103	KLGGTPAPA	++
104	KLILLDTPLFL	+++
105	KLMNDIADI	+++
106	FMASHLDYL	+++
107	ILYNLYDLL	++
108	VIYTLIHYI	+
109	KLWEGLTELV	++
112	KTLDVDATEI	+++
113	KVPAEEVLVAV	+
114	LIPEGPPQV	+++

115	LLFDKLYLL	+++
116	LLIGATMQV	+++
117	LLILENILL	++
118	RLLILENILL	+++
119	VLPAEFFEV	+++
121	RLYEITIEV	++
122	LLIPVVPGV	++
123	LLLAEAELLTL	+++
124	LLLEETEKQAV	++
125	LLLEIGEVGKLFV	++
126	LLPEGGITAI	+++
127	LLPTAPTTV	+++
128	LLSEEEYHL	+++
129	LLVGTLDVV	+
130	LLVLIPVYL	+++
131	LQALEVLKI	+++
132	LVYEAHIMV	+++
133	YLLSGDISEA	+++
134	MLLEHGITLV	+++
135	MTAGFSTIAGSV	+++
137	NLIKTVIKL	+
138	NLLDIDAPVTV	++
139	NLTDVVEKL	+++
140	QIAELPATSV	+++
141	QILSEIVEA	++
142	QLDEPAPQV	+++
144	QLPPFPREL	+++
145	SALDTITTV	+++

146	SIIEGPIIKL	+++
147	SILETVATL	+++
148	SIVASLITV	+++
149	SLDNGGYYI	+++
153	SLLAELHVL	++
154	SLLAELHVLT	++
155	SLMLEVPAL	+++
157	SLNIRDFTM	+++
160	SLSFLVPSL	+++
162	SMKDDLENV	+++
163	SQLDISEPYKV	+
164	SVHKGFAFV	+++
165	TLDDDLDTV	+++
166	TLDPNQVSL	+++
167	TLDTSKLYV	+++
168	YLLDQSFVM	+++
169	TLLGLTEV	+++
170	TLTFRVETV	+++
171	TLVPPAALISI	+++
172	TLYDMLASI	+++
174	VLAELPIIVV	+++
175	FTVPRVVAV	++
176	VLAEQNIIPSA	+++
177	VLDDRELLL	+++
178	VLFFNVQEV	+++
179	VLLGLEMTL	+++
181	VLLSIPFVSV	+
182	VLLSVPGPPV	+++

185	VMDDQRDLI	+
186	VMDPTKILI	+++
187	VMDTHLVNI	+++
189	VMLEMTPEL	+++
190	VVMGTVPRL	+++
191	YIFDGSDGGV	+++
192	YIQEYLTLL	+++
193	YLDLSNNRL	+++
194	YLDNVLAEL	+
195	YLGGFALSV	+++
197	YLQEVPIITL	+++
198	YLTFLPAEV	+++
199	YLVELSSLL	+++
200	YMFEEVPIVI	+++
201	YQLELHGIEL	+++
202	YVDDVFLRV	+++
204	GLLQINDKIAL	++
205	GLSQANFTL	+
206	HMQDVRVLL	+++
208	ILLKTEGINL	++
209	ILQAELPSL	++
210	KLLVQDFFL	+++
211	LIDVKPLGV	+++
212	NIIEAINELLV	++
213	RLLYQLVFL	++
214	RLQELTEKL	+
215	VMQDIVYKL	+
217	ALDEPPYLTV	+

218	ALGEEWKGYVV	+
219	ALLNLLESA	++
221	ALVSTIIMV	+
225	ILQERELLPV	+
226	AMNISVPQV	+
227	FLAEASVMTQL	++
228	FLGGLSPGV	++
229	FLLNLQNCHL	++
231	FLYIRQLAI	+
232	FMHQIIDQV	+
234	GLDDAEYAL	+
235	GLDDLLLFL	+
236	GLLESGRHYL	+++
237	GLQENLDVVV	+
238	GLVETELQL	+
240	ILARDILEI	++
241	ILGDILLKV	+
242	ILLGIQELL	++
243	ILPTLEKELFL	+
244	ILQALAVHL	++
245	KIMDYSLLLGV	+
248	KTVEPPISQV	+
249	LLPTGVFQV	+
251	LLYDNVPGA	+
254	QLIPKLIFL	+++
255	YLFEEAISM	+
258	RLDYITAEI	++
259	RLLDEQFAVL	+

260	SLDDVEGMSV	++
261	SLVEAQGWLV	++
263	SQWEDIHV	++
264	TILDYINV	+++
266	TLLDQLDTQL	+
267	TLLDWQDSL	+
268	TLLQVFHLL	++
270	TVLPVPPLSV	+++
271	VIRNIVEAA	++
273	VLGEYSYLL	+
275	VLLFIEHSV	+
276	VLNDGAPNV	+
277	VMILKLPFL	+
278	YLDDLLPKL	++
280	YTLDSLYWSV	+
281	NLLDDRGMTAL	+++
282	LLRDGIELV	+++
283	ILQPMDIHV	+++
284	LLSAAEPVPA	+++
286	FLLEDLSQKL	+++
287	FLWEEKFNSL	+++
289	ILEEQPMDMLL	+++
290	LANPHEL	+++
291	ILLNEDDLVTI	+++
292	AAALIIHHV	+
294	ALLDQLHTLL	+
297	FLVEPQEDTRL	++
298	IILPVEVEV	+++

299	ILEENIPVL	++
300	ILLNPAYDVYL	++
302	ILQDLTFVHL	+
304	LAIVPVNTL	+++
305	LLFPQIEGIKI	+
307	LLTKPTEA	++
308	SLYDVSRMYV	+++
309	ILYGTQFVL	+
310	LLSTLHLLV	+
311	LLVDVEPKV	+
312	LLYNSTDPTL	+++
314	LMKDCEAEV	++
316	MLLEHGITL	+++
317	NLLAHIWAL	+
318	NLQVTQPTV	+++
320	TIAPVTVAV	+
322	SLASIHVPL	+++
323	SLDLFNCEV	+++
327	VLIKWFPEV	+++
328	VLLPQETAIEHL	++
329	VLMDGSVKL	+
330	VLMWEIYSL	++
331	VLWELAHLPTL	+++
332	VMIQHVENL	+++
334	YLLEEKIASL	+++
336	YMAVTTQEV	+++
337	YMYEKESEL	++
338	FLDMTNWNL	+



339	GLWGTVVNI	+
340	KLLEEICNL	++
341	LLAELPASVHA	++
342	SLITPLQAV	+++
343	TLLEALDCI	++
344	VLAFFENPQV	++
345	YLIEPDVELQRI	+
346	VLVQVSPSL	+++
347	YLGPVSPSL	+
349	ALATHILSL	++
350	ALEDRVWEL	+
351	ALSEKLARL	+
352	ALVFELHYV	+
353	ATPMPTPSV	++
354	FIMDDPAGNSYL	+
355	FIWPMLIHI	+++
356	FLHDHQAEL	+
357	FLIQEIKTL	++
358	FLTDYLNDL	+
359	FMQDPMEVFV	++
360	HLIDTNKIQL	+
362	ILTELGGFEV	+
363	ITTEVVNELYV	+
364	KMDWIFHTI	+
365	LISPLLLPV	++
367	NLWSLVAKV	++
368	QLQPTDALLCV	+
371	SLADDSVLERL	+

372	SLFGPLPGPGPALV	+
374	VLSVITEEL	++
375	VLWFKPVEL	++
377	VVDGTCVAV	+
378	YILGKFFAL	+
379	YLAELVTPIL	+
380	YLD RKLLTL	+
382	YLLPLLQRL	+++
383	YLLREWVNL	+++
384	YMIGSEVGNYL	+
385	YTIPLAIKL	+++

實施例 2

編碼本發明肽的基因的表達譜

【0366】 與正常細胞相比在腫瘤細胞上一種肽過度表現或特定表現足夠其在免疫治療中有效使用，一些肽為腫瘤特異性的，儘管存在其源蛋白也存在于正常組織中。但是，mRNA 表達譜增加了免疫治療目標肽選擇中其他級別的安全性。特別是對於具有高安全性風險的治療選擇，諸如親和力成熟的TCR，理想的目標肽將來源於對該腫瘤獨一無二且不出現于正常組織中的蛋白。

RNA 來源與製備

【0367】 手術切除組織標本按如上所述（參見實施例1）在獲得每名患者的書面知情同意後提供。手術後立即速凍腫瘤組織標本，之後在液態氮中用杵臼勻漿。使用

TRI 試劑 ( Ambion 公司 , Darmstadt , 德國 ) 之後用 RNeasy ( QIAGEN 公司 , Hilden , 德國 ) 清理從這些樣本中製備總 RNA ; 這兩種方法都根據製造商的方案進行。

【 0368 】 用於 RNASeq 實驗來自健康人體組織的總 RNA 獲得自 : Asterand ( Detroit , MI , USA & Royston , Herts , UK ) 、 BioCat GmbH ( Heidelberg , Germany ) 、 BioServe ( Beltsville , MD , USA ) 、 Geneticist Inc. ( Glendale , CA , USA ) 、 Istituto Nazionale Tumori " Pascale " ( Naples , Italy ) 、 ProteoGenex Inc. ( Culver City , CA , USA ) 、 海德堡大學醫院 ( Heidelberg , Germany ) 。

【 0369 】 用於 RNASeq 實驗來自腫瘤組織的總 RNA 獲得自 : Tissue Solutions Ltd ( 英國格拉斯哥 ) 、 波恩大學醫院 ( 德國波恩 )

【 0370 】 所有 RNA 樣品的質量和數量在 Agilent 2100 生物分析儀 ( Agilent , Waldbronn , Germany ) 上使用 RNA 6000 Pico LabChip 試劑盒 ( Agilent ) 評估。

## RNA 序列實驗

【 0371 】 通過新一代測序技術 ( RNAseq ) 由 CeGaT ( Tübingen , Germany ) 對腫瘤和正常組織的 RNA 樣本進行基因表達分析。簡言之，根據供應商的方案

(Illumina Inc., San Diego, CA, USA)，其中包括 RNA 碎片化、cDNA 轉化和測序適配器的加入，利用 Illumina HiSeq v4 試劑盒準備測序文庫。從多個樣本獲得的文庫根據製造商的說明等摩爾混合並在 Illumina HiSeq 2500 定序器上測序，產生 50bp 的單端讀數。處理的讀數使用 STAR 軟體映射至人類基因組 (GRCh38)。根據 ENSEMBL 序列資料庫的說明 (Ensembl77)，表達資料在轉錄水準設置為 RPKM (每百萬映射讀數每千碱基讀數，由 Cufflinks 軟體生成) 並在外顯子水準上設置 (總讀數，由 Bedtools 軟體生成)。外顯子讀數被歸為外顯子長度和校準尺寸，以獲得 RPKM 值。本發明的代表性源基因在 CLL 中高度過量表達的表達譜如圖 3 所示。進一步代表性基因的表達分數見表 9。

【0372】 表 9：表達分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表達 (+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表達 (++) 或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表達 (+) 的基因的肽。本基線得分根據以下相關正常組織的測量值計算：脂肪組織、腎上腺、動脈、血細胞、骨髓、腦、軟骨、結腸、食道、眼、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、胰腺、垂體、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、膀胱、靜脈。如果獲得同一組織類型幾個樣本的表達資料，則使用各樣本的算術平均值進行計算。

序列 ID 號	序列	基因表達
1	AIPPSFASIFL	++
2	ALHRPDVYL	++
3	VIAELPPKV	+++
4	VIAELPPKVS	+++
5	ALIFKIASA	+++
9	ALCDTLITV	+++
10	FVYGESVEL	+++
17	ALTKTNLQL	+++
18	LLGEFSIKM	+++
19	QVMEKLA	+++
21	ALWAGLLTL	+++
24	AMAGDVVYA	+++
31	ELMHGVAGV	+++
46	YIIDSAQAV	++
62	GIIDGSPRL	+++
63	SLAHVAGCEL	+++
64	KLLEVASA	+++
65	GLDDMKANL	+++
66	SLAGGLDDMKA	+++
71	GLKHDIARV	+++
74	GLLRASFLL	++
75	GLSIFAQDLRL	++
85	HLMLHTAAL	+
86	HLYPGAVTI	+++
91	ILDNNTYNV	+
96	ILIDKTSFV	+++
97	LLFATQITL	+++

98	SLIKYFLFV	+++
105	KLMNDIADI	++
106	FMASHLDYL	+
107	ILYNLYDLL	++
108	VIYTLIHYI	+
113	KVPAEEVLVAV	++
116	LLIGATMQV	+
117	LLILENILL	++
118	RLLILENILL	++
119	VLPAEFFEV	++
120	AIDAALTSV	++
121	RLYEITIEV	++
127	LLPTAPTTV	+
137	NLIKTVIKL	+
146	SIIEGPIIKL	+++
149	SLDNGGYYI	+++
150	SLFDQPLSII	+++
153	SLLAELHVL	+++
154	SLLAELHVLTV	+++
156	SLNIGDVQL	+++
163	SQLDISEPYKV	+++
177	VLDDRELLL	++
189	VMLEMTPEL	+++
193	YLDLSNNRL	+
195	YLGGFALSV	++
205	GLSQANFTL	+++
206	HMQDVRVLL	+++
213	RLLYQLVFL	+++

220	ALPEILFAKV	++
221	ALVSTIIMV	+
223	ALWVSQPPEI	++
235	GLDDLLLFL	+
251	LLYDNVPGA	+++
254	QLIPKLIFL	+++
255	YLFEEAISM	+++
257	RIINGIHSV	+++
262	SLWNAGTSV	++
275	VLLFIEHSV	++
284	LLSAAEPVPA	+++
285	GVATAGCVNEV	+++
286	FLLEDLSQKL	++
294	ALLDQLHTLL	+
299	ILEENIPVL	++
300	ILLNPAYDVYL	++
301	AASPIITLV	+
307	LLLTKPTEA	++
308	SLYDVSRMYV	+
309	ILYGTQFVL	++
312	LLYNSTDPTL	+
319	QVIPQLQTV	++
320	TIAPVTVAV	++
330	VLMWEIYSL	++
332	VMIQHVENL	+++
337	YMYEKESEL	+++
352	ALVFELHYV	+++
356	FLHDHQAEL	+

360	HLIDTNKIQL	+
378	YILGKFFAL	+
380	YLDRKLLTL	++

實施例 3

**MHC-I 類表現肽的體外免疫原性**

【0373】 為了獲得關於本發明 TUMAP 的免疫原性資訊，發明人使用體外 T 細胞擴增分析方法進行了研究，其中該分析方法基於使用裝載肽 / MHC 複合物和抗 CD28 抗體的人工抗原表現細胞 (aAPC) 進行反復刺激。用這種方法，發明人可顯示，本發明的 HLA-A\*0201 限制 TUMAP 具有免疫原性，這表明這些肽為對抗人 CD8+ 前體 T 細胞的 T 細胞表位 (表 10)。

**CD8+ T 細胞體外活化**

【0374】 為了用載有肽 - MHC 複合物 (pMHC) 和抗 CD28 抗體的人工抗原表現細胞進行體外刺激，發明人首先從 University clinics Mannheim, Germany 中獲取健康供體 CD8 微珠 (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany) 透過積極選擇白細胞清除術後新鮮 HLA-A\*02 產物而分離出 CD8+ T 細胞。

【0375】 PBMC 和分離出的 CD8+ 淋巴細胞使用前在 T 細胞培養基 (TCM) 中培養，培養基包括 RPMI-Glutamax (Invitrogen 公司, Karlsruhe, 德國) 並補充 10% 熱滅活人 AB 血清 (PAN-Biotech 公司，



Aidenbach, 德國)、100 U/ml 青黴素 / 100  $\mu$ g/ml 鏈黴素 (Cambrex 公司, Cologne, 德國), 1 mM 丙酮酸鈉 (CC Pro 公司, Oberdorla, 德國) 和 20  $\mu$ g/ml 慶大黴素 (Cambrex 公司)。在此步驟, 2.5 ng/ml 的 IL-7 (PromoCell 公司, Heidelberg, 德國) 和 10 U / ml 的 IL-2 (Novartis Pharma 公司, Nürnberg, 德國) 也加入 TCM。

【0376】對於 pMHC / 抗-CD28 塗層珠的生成、T 細胞的刺激和讀出, 使用每刺激條件四個不同 pMHC 分子以及每個讀出條件 8 個不同的 pMHC 分子在高度限定的體外系統中進行。

【0377】純化的共刺激小鼠 IgG2a 抗人 CD28 抗體 9.3 (Jung et al., 1987) 使用製造商 (Perbio 公司, 波恩, 德國) 推薦的 N-羥基琥珀醯亞胺生物素進行化學生物素化處理。所用珠為 5.6  $\mu$ m 的鏈黴抗生物素蛋白包裹的多聚苯乙烯顆粒 (Bangs Laboratories, 伊利諾州, 美國)。

【0378】用於陽性和陰性對照刺激物的 pMHC 分別為 A\*0201/MLA-001 (從 Melan-A/MART-1 中修飾制得的肽 ELA G I G I L T V (SEQ ID NO: 523)) 和 A\*0201/DDX5-001 (從 DDX5 中獲得的 Y L L P A I V H I (SEQ ID NO: 524))。

【0379】800.000 珠 / 200  $\mu$ l 包裹於含有 4 x 12.5 ng 不同生物素-pMHC 的 96 孔板、進行洗滌, 隨後加

人體積為  $200\ \mu\text{l}$  的  $600\ \text{ng}$  生物素抗-CD28。在  $37^\circ\text{C}$  下，在含  $5\ \text{ng/ml}$  IL-12 (PromoCell) 的  $200\ \mu\text{l}$  TCM 中共培養  $1 \times 10^6$  CD8+T 細胞與  $2 \times 10^5$  的清洗塗層珠 3 天，從而啟動刺激。之後，一半培養基與補充  $80\ \text{U/ml}$  IL-2 的新鮮 TCM 進行交換，並且培養在  $37^\circ\text{C}$  下持續 4 天。這種刺激性週期總共進行 3 次。對於使用每條件 8 種不同 pMHC 分子的 pMHC 多聚體讀出，二維組合編碼方法如前述使用 (Andersen et al., 2012)，稍作修飾，涵蓋耦合至 5 種不同的螢光染料。最後，用 Live/dead near IR 染料 (Invitrogen 公司，Karlsruhe，德國)、CD8-FITC 抗體克隆 SK1 (BD 公司，Heidelberg，德國) 和螢光 pMHC 多聚體而執行多聚體分析。對於分析，使用了配有合適鐳射儀和篩檢程序的 BD LSRII SORP 細胞儀。肽特異性細胞以占總 CD8+ 細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用 FlowJo 軟體 (Tree Star 公司，Oregon，美國) 進行評估。特定多聚體 + CD8+ 淋巴細胞的體外填裝用與陰性對照刺激組比較而進行檢測。如果健康供體中的至少一個可評價的體外刺激孔在體外刺激後發現含有特異性 CD8+ T 細胞株 (即該孔包含至少 1% 特定多聚體 + CD8+ T 細胞，並且特定多聚體 + 的百分比至少為陰性對照刺激中位數的 10 倍)，則檢測給定抗原的免疫原性。

## CLL 肽體外免疫原性

【0380】對於受到測試的 H L A - I 類肽，可透過肽特異性 T 細胞株的生成證明其體外免疫原性。T U M A P 特異性多聚體對本發明的 2 種肽染色後流式細胞儀檢測的典型結果如圖 3 所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明 2 種肽的結果匯總於表 10 A，其他的結果列於 10 B。

表 10 A：本發明中 H L A I 類肽的體外免疫原性

【0381】申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。<20 % = +；20 % - 49 % = ++；50 % - 69 % = +++；>= 70 % = ++++

Seq ID	序列	孔
427	LLYDAVHIV	++
521	YLYGQTTTYL	++

表 10 B：本發明額外 H L A I 類肽的體外免疫原性

【0382】申請人對本發明的 H L A - A \* 0 2 限制肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。提示了體外免疫原性實驗的結果。陽性孔和供體（其他可評價）的百分比概括為 <20 % = +；20 % - 49 % = ++；50 % - 69 % = +++；>= 70 % = ++++

Seq ID No	序列	陽性孔[%]
1	AIPPSFASIFL	"+++"
2	ALHRPDVYL	"+"
5	ALIFKIASA	"+++"

17	ALTKTNLQL	"+"
26	AVLLVLPLV	"+"
32	FIDKFTPPV	"++++"
49	FLTDLFAQL	"++"
54	FLYPFPLALF	"+"
56	FVFEAPYTL	"++"
57	GLSEISLRL	"+"
69	GLHQREIFL	"+"
81	WLVGQEFEL	"+"
86	HLYPGAVTI	"+"
96	ILIDKTSFV	"+"
100	ILNNEVFAI	"++"
101	ILVVIEPLL	"+"
102	IQDRAVPSL	"+"
112	KTLDVDATYEI	"+"
114	LIPEGPPQV	"+"
154	SLLAELHVLTV	"+"
192	YIQEYLTLL	"+"
197	YLQEVPIITL	"+"
200	YMFEEVPIVI	"+"
201	YQLELHGIEL	"+"
202	YVDDVFLRV	"++"
220	ALPEILFAKV	"++"
240	ILARDILEI	"+"
281	NLLDDRGMTAL	"+"
282	LLRDGIELV	"++"
307	LLLTKPTEA	"+"
320	TIAPVTVAV	"+"

322	SLASIHVPL	"+"
323	SLDLFNCEV	"+"
329	VLMDGSVKL	"+++"
332	VMIQHVENL	"+"
380	YLDRKLLTL	"++++"

實施例 4

肽的合成

【0383】 所有的肽透過使用 Fmoc 策略以標準、廣為接受的固相肽合成法合成。每個肽的身份和純度已使用質譜和 RP-HPLC 分析法確定。用凍幹法（三氟乙酸鹽）獲得白色至類白色的肽，純度為 >50%。所有的 TUMAP 優選作為三氟乙酸鹽或乙酸鹽進行給藥，其他藥用鹽形式也可以。

實施例 5

MHC 結合測定

【0384】 本發明基於 T 細胞療法的候選肽進一步測試其 MHC 結合能力（親和性）。單個肽-MHC 複合體透過 UV-配體交換產生，其中，紫外線敏感肽經紫外線照射後裂解，與分析的相關肽交換。只有能夠有效地結合並穩定肽接受 MHC 分子的候選肽才能阻止 MHC 複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定 MHC 複合物輕鏈（β2m）的檢測結果進行 ELISA 測定。檢測總體上按照 Rodenko 等人在（Rodenko et al., 2006）中描述的方法進行。

【0385】 96 孔 Maxisorp 板 (NUNC) 在室溫下在 P B S 中以 2 u g / m l 鏈黴包被過夜，用 4 倍洗滌並在 37 ° C 下在含封閉緩衝液的 2 % B S A 中封閉 1 小時。折疊的 H L A - A \* 0 2 : 0 1 / M L A - 0 0 1 單體作為標準品，涵蓋 15 - 500 n g / m l 的範圍。紫外線交換反應的肽 - M H C 單體在封閉緩衝液中稀釋 100 倍。樣本在 37 ° C 下孵育 1 小時，洗滌四次，在 37 ° C 下以 2 u g / m l H R P 綴合抗 - β 2 m 溫育 1 小時，再次洗滌，並以 N H 2 S O 4 封堵的 T M B 溶液進行檢測。在 450 n m 處測量吸收。在生成和產生抗體或其片段時和 / 或 T 細胞受體或其片段時，通常優選顯示為高交換產率（優選為高於 50 %，最優選為高於 75 %）的候選肽，這是因為它們對 M H C 分子表現出足夠的親合力，並能防止 M H C 複合物的解離。

【0386】 表 11：M H C - I 類結合分數。H L A - I 類限制肽與 H L A - A \* 0 2 : 0 1 的結合根據肽交換產量評估範圍：> 10 % = +；> 20 % = ++；> 50 = +++；> 75 % = + + + +

序列 ID	肽代碼	肽交換
1	AIPPSFASIFL	"+++"
2	ALHRPDVYL	"+++"
3	VIAELPPKV	"++"
4	VIAELPPKVSV	"+++"
5	ALIFKIASA	"+++"
6	ALDTLEDDMTI	"+++"
7	ALLERTGYTL	"+++"

8	ALAASALPALV	"+++"
9	ALCDTLITV	"+++"
10	FVYGESVEL	"+++"
11	ALFTFJPLTV	"+++"
12	ALGEDEITL	"+++"
13	VVDGMPPGV	"+++"
14	ALLRLLPGL	"+++"
15	ALPEVSVEA	"+++"
16	ALPGGAAVAAV	"++++"
17	ALTKTNLQL	"+++"
18	LLGEFSIKM	"+++"
19	QVMEKLAHV	"+++"
20	ALVDPGPDFVV	"+++"
21	ALWAGLLTL	"+++"
22	ALWDPVIEL	"+++"
23	ALYLTEVFL	"++++"
24	AMAGDVVYA	"+++"
25	ATYSGLESQSV	"++"
26	AVLLVLPLV	"+++"
27	AVLGLVWLL	"+++"
28	AVLHLLLSV	"++"
29	AVLQAVTAV	"+++"
30	ELLEGSEIYL	"+++"
31	ELMHGVAGV	"+++"
32	FIDKFTPPV	"++++"
34	YLPYIFPNI	"+++"
35	FILPSSLYL	"+++"
36	FILTHVDQL	"++++"

37	FIMEGGAMVL	"++++"
38	FIMEGGAMV	"+++"
39	FLDALLTDV	"+++"
40	FLDEDDMSL	"++"
41	FLDPSLDPLL	"+++"
42	FLEEGGVVTV	"+++"
43	FLLGPEALSFA	"++++"
44	FLLSINDFL	"++++"
45	FLPELPADLEA	"+++"
46	YIIDSAQAV	"+++"
47	FLSDQPEPYL	"++"
48	FLSPQQPPLL	"+++"
49	FLTDLFAQL	"++++"
50	FLFEPVVKAFI	"+++"
51	FLVEAPHDWDL	"++++"
52	FLVETGFLHV	"++++"
53	FLWQHVELVL	"+++"
54	FLYPFPLALF	"+++"
55	FMEPTLLML	"+++"
56	FVFEAPYTL	"+++"
57	GLSEISLRL	"++++"
58	YIQQGIFSV	"+++"
59	FVFGDENGTVSL	"+++"
60	FVLDHEDGLNL	"+++"
61	FVYFIVREV	"+++"
62	GIIDGSPRL	"+++"
63	SLAHVAGCEL	"+++"
64	KLLESVASA	"+++"



65	GLDDMKANL	"++"
66	SLAGGLDDMKA	"+++"
67	GLDDVTVEV	"++"
68	GLDQQFAGLDL	"+"
69	GLHQREIFL	"+++"
70	FVPDTPVGV	"+++"
71	GLKHDIARV	"+++"
72	GLLDAGKMYV	"+++"
73	GLLEVISALQL	"+++"
74	GLLRASFLL	"++"
75	GLSIFAQDLRL	"++"
76	GLLRIIPYL	"+++"
78	GLPSFLTEV	"+++"
79	GLQAKIQEA	"+++"
80	VLIEDELEEL	"++"
81	WLVGQEFEL	"+++"
82	GLQSGVDIGV	"+++"
83	GQGEVLVYV	"+++"
84	GVMDVNTAL	"++"
85	HLMLHTAAL	"++++"
86	HLYPGAVTI	"+++"
87	HQIEAVDGEEL	"++"
88	ILDEIGADVQA	"+++"
89	ILDFGTFQL	"+++"
90	VIADLGLIRV	"+++"
91	ILDNNTYNV	"+++"
92	ILEPLNPLL	"+++"
93	ILFNTQINI	"+++"

94	ILFPLRFTL	"+++"
95	ILGYMAHEHKV	"++"
96	ILIDKTSFV	"++++"
97	LLFATQITL	"++"
98	SLIKYFLFV	"+"
99	ILIFHSVAL	"++++"
100	ILNNEVFAI	"++++"
101	ILVVIEPLL	"+++++"
102	IQDRAVPSL	"++"
103	KLGGTPAPA	"++"
104	KLILLDTPLFL	"++++"
105	KLMNDIADI	"++"
106	FMASHLDYL	"++++"
107	ILYNLYDLL	"++++"
108	VIYTLIHYI	"++++"
109	KLWEGLTELV	"++++"
110	LLFDHLEPMEL	"++++"
111	KLWNVAAPLYL	"++++"
112	KTLDVDATYEI	"++++"
113	KVPAEEVLVAV	"++++"
114	LIPEGPPQV	"++++"
115	LLFDKLYLL	"++++"
116	LLIGATMQV	"++++"
117	LLILENILL	"++++"
118	RLLILENILL	"++++"
119	VLPAEFFEV	"++++"
120	AIDAALTSV	"++++"
121	RLYEITIEV	"+++++"

122	LLIPVVPGV	"+++"
123	LLLAEAELLTL	"++"
124	LLLEETEKQAV	"+++"
125	LLLEIGEVGKLFV	"+++"
126	LLPEGGITAI	"+++"
127	LLPTAPTTV	"+++"
128	LLSEEEYHL	"+++"
130	LLVLIPVYL	"+"
131	LQALEVLKI	"+"
132	LVYEAIIIMV	"+++"
133	YLLSGDISEA	"+++"
134	MLLEHGITLV	"++++"
135	MTAGFSTIAGSV	"+"
136	NLDKLWTLV	"++"
137	NLIKTVIKL	"+++"
138	NLLDIDAPVTV	"+++"
139	NLTDVVEKL	"+++"
140	QIAELPATSV	"+++"
141	QILSEIVEA	"++"
142	QLDEPAPQV	"++"
143	QLLDTYFTL	"+++"
145	SALDTITTV	"+++"
146	SIIEGPIIKL	"+++"
147	SILETVATL	"+++"
148	SIVASLITV	"+++"
149	SLDNGGYI	"+++"
150	SLFDQPLSII	"+++"
151	SLFDSAYGA	"+++"

152	SLIRILQTI	"+++"
153	SLLAELHVL	"+++"
154	SLLAELHVLTV	"++++"
155	SLMLEVPAL	"+++"
156	SLNIGDVQL	"+++"
157	SLNIRDFTM	"+++"
158	SLPEAPLDV	"+++"
159	SLQEEKLIYV	"+++"
160	SLSFLVPSL	"+++"
161	SMDDGMINV	"+++"
162	SMKDDLENV	"++"
163	SQLDISEPYKV	"+++"
164	SVHKGFAFV	"+++"
165	TLDDDLDTV	"++"
166	TLDPNQVSL	"++"
167	TLDTSKLYV	"+++"
168	YLLDQSFVM	"++++"
169	TLLLGLTEV	"+++"
170	TLTFRVETV	"+++"
171	TLVPPAALISI	"+++"
172	TLYDMLASI	"+++"
173	TVIENIHTI	"++"
174	VLAELPIIVV	"+++"
175	FTVPRVVAV	"+++"
176	VLAEQNIIPSA	"+++"
177	VLDDRELLL	"+++"
178	VLFFNVQEV	"+++"
179	VLLGLEMTL	"+++"

180	LLKDGPEIGL	"++"
181	VLLSIPFVSV	"+++"
182	VLLSVPGPPV	"+++"
183	VLMPTVYQQGV	"+++"
184	VLSHNLYTV	"+++"
185	VMDDQRDLI	"++"
186	VMDPTKILI	"++++"
187	VMDTHLVNI	"++++"
188	VMGDIPAAV	"++"
189	VMLEMTPEL	"+++"
190	VVMGTVPRL	"+++"
191	YIFDGSDDGV	"+++"
192	YIQEYLTLL	"+++"
193	YLDLSNNRL	"+++"
194	YLDNVLAEL	"++++"
195	YLGGFALSV	"++++"
196	YLLQTYVL	"+"
197	YLQEVPIITL	"++++"
198	YLTFLPAEV	"+++"
199	YLVELSSLL	"++++"
200	YMFEEVPIVI	"++++"
201	YQLELHGIEL	"++++"
202	YVDDVFLRV	"++++"
203	ALLSSQLAL	"+++"
204	GLLQINDKIAL	"+++"
205	GLSQANFTL	"+++"
206	HMQDVRVLL	"+++"
207	IIADLDTTIMFA	"+++"

208	ILLKTEGINL	"+++"
209	ILQAELPSL	"+++"
210	KLLVQDFFL	"+++"
211	LIDVKPLGV	"+++"
214	RLQELTEKL	"+++"
215	VMQDIVYKL	"+++"
216	WLAGDVPAAL	"+++"
217	ALDEPPYLV	"+++"
218	ALGEEWKGYVV	"++"
219	ALLNLLESA	"+++"
220	ALPEILFAKV	"+++"
221	ALVSTIIMV	"+"
222	ALWELSLKI	"+++"
223	ALWVSQPPEI	"+++"
224	AMEALVVEV	"+++"
225	ILQERELLPV	"+++"
226	AMNISVPQV	"+++"
227	FLAEASVMTQL	"+++"
228	FLGGLSPGV	"+++"
229	FLLNLQNCHL	"++++"
230	FLQDSKVIFV	"+++"
231	FLYIRQLAI	"+++"
232	FMHQIIDQV	"++++"
233	GIIDINVRL	"++"
234	GLDDAEYAL	"++"
235	GLDDLLLFL	"+++"
236	GLLESGRHYL	"+++"
237	GLQENLDVVV	"++++"

238	GLVETELQL	"+++"
239	ILAGEMLSV	"+++"
240	ILARDILEI	"+++"
241	ILGDILLKV	"+++"
242	ILLGIQELL	"+++"
243	ILPTLEKELFL	"+++"
244	ILQALAVHL	"+++"
245	KIMDYSLLLGV	"++++"
246	KLDETGVAL	"++"
247	KLKDRLPSI	"++"
248	KTVEPPISQV	"++"
249	LLPTGVFQV	"+++"
250	LLVQEPDGLMV	"+++"
251	LLYDNVPGA	"+++"
252	NLLDPGSSYLL	"+++"
253	NLWSVDGEVTV	"+++"
254	QLIPKLIFL	"+++"
255	YLFEEAISM	"+++"
256	QLLPVSNVVS	"+++"
258	RLDYITAEI	"+++"
259	RLLDEQFAVL	"+++"
260	SLDDVEGMSV	"+++"
261	SLVEAQGWL	"+++"
262	SLWNAGTSV	"+++"
263	SQWEDIHVV	"+++"
264	TILDYINVV	"+++"
265	TLLADDLEIKL	"+++"
266	TLLDQLDTQL	"++"

267	TLLDWQDSL	"+++"
268	TLLQVFHLL	"+++"
269	TLTDEQFLV	"++"
270	TVLPVPPLSV	"+++"
271	VIRNIVEAA	"++"
272	VLDELPPLI	"+++"
273	VLGEYSYLL	"+++"
274	VLLEYHIAYL	"+++"
275	VLLFIEHSV	"+++"
276	VLNDGAPNV	"+++"
277	VMILKLPFL	"++"
278	YLDDLLPKL	"+++"
279	YMAPEVVEA	"+++"
280	YTLDSLYWSV	"+++"
281	NLLDDRGMTAL	"+++"
282	LLRDGIELV	"+++"
283	ILQPMDIHV	"+++"
284	LLSAAEPVPA	"++"
285	GVATAGCVNEV	"++++"
286	FLLEDLSQKL	"+++"
287	FLWEEKFNSL	"++++"
288	GLAESTGLLAV	"+++"
289	ILEEQPMDMLL	"+++"
291	ILLNEDDLVTI	"+++"
292	AAALIIHHV	"+++"
293	ALDIMIPMV	"+++"
294	ALLDQLHTLL	"++++"
295	ALLQKLQQL	"+++"



296	FIAPTGHSL	"++"
297	FLVEPQEDTRL	"+++"
298	IILPVEVEV	"+++"
299	ILEENIPVL	"+++"
300	ILLNPAYDVYL	"+++"
301	AASPIITLV	"+++"
302	ILQDLTFVHL	"+++"
303	ILSQPTPSL	"+++"
304	LAIVPVNTL	"+"
305	LLFPQIEGIKI	"+++"
306	VVAEELENV	"++"
307	LLLTKPTEA	"+++"
308	SLYDVSRMYV	"++++"
309	ILYGTQFVL	"+++"
310	LLSTLHLLV	"+++"
311	LLVDVEPKV	"+++"
312	LLYNSTDPTL	"+++"
313	LMADLEGLHL	"+++"
314	LMKDCEAEV	"+++"
315	LVYEAPETV	"+++"
316	MLLEHGITL	"+++"
317	NLLAHIWAL	"+++"
318	NLQVTQPTV	"+++"
319	QVIPQLQTV	"+++"
320	TIAPVTVAV	"++++"
321	RLLEFELAQL	"+++"
322	SLASIHVPL	"+++"
323	SLDLFNCEV	"++++"

324	SLYSALQQA	"+++"
325	TLENGVPCV	"+++"
326	VLAFLVHEL	"++++"
327	VLIKWFPEV	"++++"
328	VLLPQETAIEHL	"++++"
329	VLMDGSVKL	"++++"
330	VLMWEIYSL	"+++"
331	VLWELAHLPTL	"+++"
332	VMIQHVENL	"+++"
333	VTLEFPQLIRV	"+++"
334	YLLEEKIASL	"+++"
335	YLYQEQYFI	"+++"
336	YMAVTTQEV	"++++"
337	YMYEKESEL	"++"
338	FLDMTNWNL	"++++"
339	GLWGTVVNI	"+++"
340	KLLEEICNL	"++++"
341	LLAELPASVHA	"+++"
342	SLITPLQAV	"+++"
344	VLAFFNPQV	"+++"
345	YLIEPDVELQRI	"+++"
346	VLVQVSPSL	"+++"
347	YLGPVSPSL	"+++"
348	ALAKPPVVS	"+++"
349	ALATHILSL	"+++"
350	ALEDRVWEL	"+++"
351	ALSEKLARL	"+++"
352	ALVFELHYV	"+++"

353	ATPMPTPSV	"++"
354	FIMDDPAGNSYL	"+++"
355	FIWPMLIHI	"+++"
356	FLHDHQAEL	"++"
357	FLIQEIKTL	"+++"
358	FLTDYLNDL	"+++"
359	FMQDPMEV FV	"+++"
360	HLIDTNKIQL	"+++"
361	ILQEFESKL	"+++"
362	ILTELG GFEV	"+++"
363	ITTEVVNELYV	"+++"
364	KMDWIFHTI	"+++"
365	LISPLLLPV	"+++"
367	NLWSLVAKV	"+++"
369	RLLDLENSLLGL	"+++"
370	SIFASPESV	"+++"
371	SLADDSVLERL	"+++"
372	SLFGPLPGPGPALV	"+++"
373	TLLADQGEIRV	"++"
374	VLSVITEEL	"+++"
375	VLWFKPVEL	"+++"
376	VLYNQRVEEI	"+++"
377	VVDGTCVAV	"+++"
378	YILGKFFAL	"+++"
379	YLAELVTPIL	"+++"
380	YLDRKLLTL	"+++"
381	YLLEENKIKL	"+++"
382	YLLPLLQRL	"++++"

383	YLLREWVNL	"++++"
384	YMIGSEVGNYL	"++++"
385	YTIPLAIKL	"+++"

實施例 6

細胞表面表現的腫瘤相關肽的絕對定量。

【0387】 粘合劑例如抗體和 / 或 T C R 的產生是一個費力的過程，其可以僅針對一些選定靶標進行。在腫瘤相關和特異性肽的情況下，選擇標準包括但不限於排除表現於細胞表面上肽的表現和濃度。除了如實施例 1 中所述肽的分離和相對定量，發明人也分析了每個細胞的絕對肽拷貝數，如 x 發明所述。實體腫瘤樣本中每個細胞的 T U M A P 拷貝數定量需要分離 T U M A P 的絕對定量、T U M A P 分離效率和分析的組織樣本細胞計數。我們的實驗方法概述在圖 4 中給出，實驗步驟描述如下。

n a n o L C - M S / M S 肽定量

【0388】 對於通過質譜法對肽的準確定量，使用內標法生成每種肽的校準曲線。內標是每種肽的雙同位素標記的變體，即，T U M A P 合成中納入 2 個同位素標記的氨基酸。它與腫瘤相關肽僅在品質上不同，但在其他的物理化學性質方面無差異 ( A n d e r s o n e t a l . , 2 0 1 2 ) 。內標被摻入到每個 M S 樣本，所有 M S 信號均標準化為內標 M S 信號，以平衡 M S 實驗之間潛在的技術差異。校準曲線用至少三種不同的矩陣繪製，即，来自于類似於常規 M S 樣本的天然樣本的 H L A 肽洗脫液，並且每個制備品以重複

MS 運行進行測量。對於評價，MS 信號被標準化為內標信號，校準曲線通過 logistic 回歸計算。對於來自組織樣本的腫瘤相關肽的定量，各樣本也摻有內標；MS 信號標準化為內標並使用該肽校正曲線進行定量。

肽/MHC 分離的效率

【0389】對於任何蛋白質純化過程，來自組織樣本蛋白的分離與相關蛋白的一定損失相關聯。為了確定 TUMAP 分離的效率，針對選定為絕對定量的所有 TUMAP 產生了肽/MHC 複合體。為了能夠天然肽 MHC/複合體與加樣物，使用了單同位素標記版本的 TUMAP，即 TUMAP 合成期間納入 1 個同位素標記的氨基酸。這些複合物被摻入新製備的組織裂解物中，例如，在 TUMAP 分離過程中最早可能時間點，然後在之後的親和純化中像天然肽 MHC/複合物被獲取。因此，測量單標記 TUMAP 的恢復可得到個體 TUMAP 分離效率相關的結論。

【0390】分離效率使用少量樣本進行分析，且這些組織樣本可比較。與此相反，個體肽之間的分離效率不同。這表明，分離效率雖然只在有限數量的樣本中進行測定，但可外推至任何其他組織制備品中。但是，由於分離效率不能從一種肽外推至其他肽，因此，有必要單獨分析每個 TUMAP。

固體、冷凍組織中細胞計數的測定

【0391】為了確定經過絕對肽定量的組織樣本的細胞數，發明人採用了 DNA 含量分析。此方法適用於不同來

源的廣泛樣本，最重要的是，冷凍樣本 (Alcose et al., 2011; Forsey and Chaudhuri, 2009; Silva et al., 2013)。在肽分離方案期間，組織樣本被加工為均勻的裂解物，從中取一小等份裂解物。樣本等分為三份，從中分離 DNA 被分離 (QiaAmp DNA Mini Kit, Qiagen, Hilden, 德國)。每次 DNA 分離的總 DNA 含量至少重複兩次使用基於螢光的 DNA 定量測定法 (Qubit dsDNA HS Assay Kit, Life Technologies, Darmstadt, 德國) 進行定量。

【0392】為了計算細胞數，生成了來自單個健康血細胞等分試樣的 DNA 標準曲線，使用一系列指定的細胞數。標準曲線用於計算每次 DNA 分離總 DNA 含量的總細胞含量。用於肽分離的組織樣本的平均總細胞計數，在考慮裂解物等份的已知體積和總裂解物體積的情況下進行推算。

每細胞的肽拷貝數

【0393】使用前述實驗的資料，發明人以總肽量除以樣本總細胞計數計算得出每個細胞的 TUMAP 拷貝數，隨後除以分離效率。選定肽的細胞拷貝數如表 12 所示。

【0394】表 12：絕對拷貝數。該表列出了 NSCLC 腫瘤樣本中絕對肽定量的結果。針對每種肽，每個細胞的中位元拷貝數表示： $<100 = +$ ； $\geq 100 = ++$ ； $\geq 1,000 = +++$ ； $\geq 10,000 = ++++$ 。提示樣本數量，其中提供評估的高品質 MS 數據。

序列號	序列	拷貝數分類	可定量的樣本數量
62	GIIDGSPRL	+	17
153	SLLAELHVL	++	17

【 0 3 9 5 】 參 考 文 獻 列 表

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bruckdorfer, T. et al., Curr.Pharm.Biotechnol.  
5 (2004): 29-43

- Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. 53 (2004): 345-357
- Chanock, S. J. et al., Hum. Immunol. 65 (2004): 1211-1223
- Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. 16 (2003a): 324-332
- Cohen, C. J. et al., J Immunol 170 (2003b): 4349-4361
- Cohen, S. N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 69 (1972): 2110-2114
- Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science (1995)
- Colombetti, S. et al., J Immunol. 176 (2006): 2730-2738
- Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res 12 (2006): 4163-4170
- Denkberg, G. et al., J Immunol 171 (2003): 2197-2207
- Falk, K. et al., Nature 351 (1991): 290-296
- Fong, L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 98 (2001): 8809-8814
- Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. 2 (1996): 1096-1103
- Gattinoni, L. et al., Nat Rev. Immunol 6 (2006):



3 8 3 - 3 9 3

Gnjatic, S. et al., Proc Natl Acad Sci U S A  
100 (2003): 8862-8867

Godkin, A. et al., Int.Immunol 9 (1997):  
905-911

Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A  
Laboratory Manual 4th (2012)

Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory  
Manual 2nd (2014)

Hwang, M. L. et al., J Immunol. 179 (2007):  
5829-5838

Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A 84  
(1987): 4611-4615

Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical  
Excipients rd (2000)

Krieg, A. M., Nat Rev Drug Discov. 5 (2006):  
471-484

Liddy, N. et al., Nat Med. 18 (2012): 980-987

Ljunggren, H. G. et al., J Exp Med. 162 (1985):  
1745-1759

Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci.  
690 (1993): 276-291

Lonsdale, J., Nat.Genet. 45 (2013): 580-585

Lukas, T. J. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A

78 (1981): 2791-2795

Lundblad, R. L., Chemical Reagents for Protein Modification 3rd (2004)

Meziere, C. et al., J Immunol 159 (1997): 3230-3237

Morgan, R. A. et al., Science 314 (2006): 126-129

Mori, M. et al., Transplantation 64 (1997): 1017-1027

Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. 12 (2006): 3435-3443

Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res 7 (2008): 51-61

Mueller, L. N. et al., Proteomics. 7 (2007): 3470-3480

Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 96 (1999): 8633-8638

Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models; August 19, 2015. Version 3.1-122. (2015)

Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787

Porta, C. et al., Virology 202 (1994): 949-955

Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics 50

(1999): 213-219

Rini, B. I. et al., Cancer 107 (2006): 67-74

Rock, K. L. et al., Science 249 (1990): 918-921

Rodenko, B. et al., Nat Protoc. 1 (2006):  
1120-1132

Saiki, R. K. et al., Science 239 (1988):  
487-491

Seeger, F. H. et al., Immunogenetics 49 (1999):  
571-576

Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual  
for Methods in Yeast Genetics (1986)

Singh-Jasuja, H. et al., Cancer  
Immunol.Immunother. 53 (2004): 187-195

Small, E. J. et al., J Clin Oncol. 24 (2006):  
3089-3094

Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. 9  
(2008): 163

Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. 62 (2005):  
1755-1762

Tran, E. et al., Science 344 (2014): 641-645

Walter, S. et al., J Immunol 171 (2003):  
4974-4978

Walter, S. et al., Nat Med. 18 (2012):  
1254-1261

Willcox, B. E. et al., Protein Sci. 8 (1999):  
2418-2423

Zaremba, S. et al., Cancer Res. 57 (1997):  
4570-4577

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

【序列表】

<110> Immatics biotechnologies GmbH

<120> 用於 CLL 和其他癌症免疫治療的新型肽和肽組合物

<130> I32935WO

<150> US 62/265,615

<151> 2015-12-10

<150> GB1521746.6

<151> 2015-12-10

<160> 524

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu

1 5 10

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu  
1 5

<210> 3  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 3

Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys Val  
1 5

<210> 4  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

<210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Leu Ile Phe Lys Ile Ala Ser Ala  
1 5

<210> 6  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Leu Asp Thr Leu Glu Asp Asp Met Thr Ile  
1 5 10

<210> 7  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 7

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

<210> 8  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 8

Ala Leu Ala Ala Ser Ala Leu Pro Ala Leu Val  
1 5 10

<210> 9  
<211> 9

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 9

Ala Leu Cys Asp Thr Leu Ile Thr Val  
1 5

<210> 10  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 10

Phe Val Tyr Gly Glu Ser Val Glu Leu  
1 5

<210> 11  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Leu Phe Thr Phe Ser Pro Leu Thr Val  
1 5 10

<210> 12  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens



<400> 12

Ala Leu Gly Glu Asp Glu Ile Thr Leu  
1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Val Val Asp Gly Met Pro Pro Gly Val  
1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Leu Leu Arg Leu Leu Pro Gly Leu  
1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Ala Leu Pro Glu Val Ser Val Glu Ala

1 5

<210> 16  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 16

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

<210> 17  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 17

Ala Leu Thr Lys Thr Asn Leu Gln Leu  
1 5

<210> 18  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 18

Leu Leu Gly Glu Phe Ser Ile Lys Met  
1 5

<210> 19  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gln Val Met Glu Lys Leu Ala Ala Val  
1 5

<210> 20  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 20

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

<210> 21  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 21

Ala Leu Trp Ala Gly Leu Leu Thr Leu  
1 5

<210> 22  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Ala Leu Trp Asp Pro Val Ile Glu Leu  
1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Leu Tyr Leu Thr Glu Val Phe Leu  
1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Ala Met Ala Gly Asp Val Val Tyr Ala  
1 5

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

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

<210> 26  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 26

Ala Val Leu Leu Val Leu Pro Leu Val  
1 5

<210> 27  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 27

Ala Val Leu Gly Leu Val Trp Leu Leu  
1 5

<210> 28  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 28

Ala Val Leu His Leu Leu Leu Ser Val  
1 5

<210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 29

Ala Val Leu Gln Ala Val Thr Ala Val  
1 5

<210> 30  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 30

Glu Leu Leu Glu Gly Ser Glu Ile Tyr Leu  
1 5 10

<210> 31  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 31

Glu Leu Met His Gly Val Ala Gly Val  
1 5

<210> 32

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

<400> 32

Phe Ile Asp Lys Phe Thr Pro Pro Val  
1 5

<210> 33  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 33

Phe Ile Ile Asn Ser Ser Asn Ile Phe Leu  
1 5 10

<210> 34  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 34

Tyr Leu Pro Tyr Ile Phe Pro Asn Ile  
1 5

<210> 35  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 35

Phe Ile Leu Pro Ser Ser Leu Tyr Leu  
1 5

<210> 36  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 36  
  
Phe Ile Leu Thr His Val Asp Gln Leu  
1 5

<210> 37  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 37  
  
Phe Ile Met Glu Gly Gly Ala Met Val Leu  
1 5 10

<210> 38  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 38



Phe Ile Met Glu Gly Gly Ala Met Val  
1 5

<210> 39  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 39

Phe Leu Asp Ala Leu Leu Thr Asp Val  
1 5

<210> 40  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 40

Phe Leu Asp Glu Asp Asp Met Ser Leu  
1 5

<210> 41  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 41

Phe Leu Asp Pro Ser Leu Asp Pro Leu Leu  
1 5 10

<210> 42  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 42

Phe Leu Glu Glu Gly Gly Val Val Thr Val  
1 5 10

<210> 43  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 43

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

<210> 44  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 44

Phe Leu Leu Ser Ile Asn Asp Phe Leu  
1 5

<210> 45  
<211> 11

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 45

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

<210> 46  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 46

Tyr Ile Ile Asp Ser Ala Gln Ala Val  
1 5

<210> 47  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 47

Phe Leu Ser Asp Gln Pro Glu Pro Tyr Leu  
1 5 10

<210> 48  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 48

Phe Leu Ser Pro Gln Gln Pro Pro Leu Leu  
1 5 10

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Phe Leu Thr Asp Leu Phe Ala Gln Leu  
1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

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

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Phe Leu Val Glu Ala Pro His Asp Trp Asp Leu

1 5 10

<210> 52  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 52

Phe Leu Val Glu Thr Gly Phe Leu His Val  
1 5 10

<210> 53  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 53

Phe Leu Trp Gln His Val Glu Leu Val Leu  
1 5 10

<210> 54  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 54

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

<210> 55  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 55

Phe Met Glu Pro Thr Leu Leu Met Leu  
1 5

<210> 56  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 56

Phe Val Phe Glu Ala Pro Tyr Thr Leu  
1 5

<210> 57  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly Leu Ser Glu Ile Ser Leu Arg Leu  
1 5

<210> 58  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Tyr Ile Gln Gln Gly Ile Phe Ser Val  
1 5

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Phe Val Phe Gly Asp Glu Asn Gly Thr Val Ser Leu  
1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Phe Val Leu Asp His Glu Asp Gly Leu Asn Leu  
1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Phe Val Tyr Phe Ile Val Arg Glu Val  
1 5

<210> 62  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 62

Gly Ile Ile Asp Gly Ser Pro Arg Leu  
1 5

<210> 63  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 63

Ser Leu Ala His Val Ala Gly Cys Glu Leu  
1 5 10

<210> 64  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 64

Lys Leu Leu Glu Ser Val Ala Ser Ala  
1 5



<210> 65  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 65

Gly Leu Asp Asp Met Lys Ala Asn Leu  
1 5

<210> 66  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 66

Ser Leu Ala Gly Gly Leu Asp Asp Met Lys Ala  
1 5 10

<210> 67  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 67

Gly Leu Asp Asp Val Thr Val Glu Val  
1 5

<210> 68

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

<400> 68

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

<210> 69  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 69

Gly Leu His Gln Arg Glu Ile Phe Leu  
1 5

<210> 70  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 70

Phe Val Pro Asp Thr Pro Val Gly Val  
1 5

<210> 71  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 71

Gly Leu Lys His Asp Ile Ala Arg Val  
1 5

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Gly Leu Leu Asp Ala Gly Lys Met Tyr Val  
1 5 10

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

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

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu  
1 5

<210> 75  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 75

Gly Leu Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu  
1 5 10

<210> 76  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 76

Gly Leu Leu Arg Ile Ile Pro Tyr Leu  
1 5

<210> 77  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 77

Gly Leu Leu Arg Leu Thr Trp Phe Leu  
1 5

<210> 78  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 78

Gly Leu Pro Ser Phe Leu Thr Glu Val  
1 5

<210> 79  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 79

Gly Leu Gln Ala Lys Ile Gln Glu Ala  
1 5

<210> 80  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 80

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

<210> 81  
<211> 9

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 81

Trp Leu Val Gly Gln Glu Phe Glu Leu  
1 5

<210> 82  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 82

Gly Leu Gln Ser Gly Val Asp Ile Gly Val  
1 5 10

<210> 83  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 83

Gly Gln Gly Glu Val Leu Val Tyr Val  
1 5

<210> 84  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 84

Gly Val Met Asp Val Asn Thr Ala Leu  
1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

His Leu Met Leu His Thr Ala Ala Leu  
1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

His Leu Tyr Pro Gly Ala Val Thr Ile  
1 5

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

His Gln Ile Glu Ala Val Asp Gly Glu Glu Leu

1 5 10

<210> 88  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 88

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

<210> 89  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 89

Ile Leu Asp Phe Gly Thr Phe Gln Leu  
1 5

<210> 90  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 90

Val Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ile Arg Val  
1 5 10



<210> 91  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 91

Ile Leu Asp Leu Asn Thr Tyr Asn Val  
1 5

<210> 92  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 92

Ile Leu Glu Pro Leu Asn Pro Leu Leu  
1 5

<210> 93  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 93

Ile Leu Phe Asn Thr Gln Ile Asn Ile  
1 5

<210> 94  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Ile Leu Phe Pro Leu Arg Phe Thr Leu  
1 5

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Ile Leu Gly Tyr Met Ala His Glu His Lys Val  
1 5 10

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Ile Leu Ile Asp Lys Thr Ser Phe Val  
1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Leu Leu Phe Ala Thr Gln Ile Thr Leu  
1 5

<210> 98  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 98

Ser Leu Ile Lys Tyr Phe Leu Phe Val  
1 5

<210> 99  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 99

Ile Leu Ile Phe His Ser Val Ala Leu  
1 5

<210> 100  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 100

Ile Leu Asn Asn Glu Val Phe Ala Ile  
1 5

<210> 101  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 101

Ile Leu Val Val Ile Glu Pro Leu Leu  
1 5

<210> 102  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 102

Ile Gln Asp Arg Ala Val Pro Ser Leu  
1 5

<210> 103  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 103

Lys Leu Gly Gly Thr Pro Ala Pro Ala  
1 5

<210> 104

<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 104

Lys Leu Ile Leu Leu Asp Thr Pro Leu Phe Leu  
1 5 10

<210> 105  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 105

Lys Leu Met Asn Asp Ile Ala Asp Ile  
1 5

<210> 106  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 106

Phe Met Ala Ser His Leu Asp Tyr Leu  
1 5

<210> 107  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 107

Ile Leu Tyr Asn Leu Tyr Asp Leu Leu  
1 5

<210> 108  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 108  
  
Val Ile Tyr Thr Leu Ile His Tyr Ile  
1 5

<210> 109  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 109  
  
Lys Leu Trp Glu Gly Leu Thr Glu Leu Val  
1 5 10

<210> 110  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 110

Leu Leu Phe Asp His Leu Glu Pro Met Glu Leu  
1 5 10

<210> 111  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 111

Lys Leu Trp Asn Val Ala Ala Pro Leu Tyr Leu  
1 5 10

<210> 112  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 112

Lys Thr Leu Asp Val Asp Ala Thr Tyr Glu Ile  
1 5 10

<210> 113  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 113

Lys Val Pro Ala Glu Glu Val Leu Val Ala Val  
1 5 10

<210> 114  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 114

Leu Ile Pro Glu Gly Pro Pro Gln Val  
1 5

<210> 115  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 115

Leu Leu Phe Asp Lys Leu Tyr Leu Leu  
1 5

<210> 116  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 116

Leu Leu Ile Gly Ala Thr Met Gln Val  
1 5

<210> 117  
<211> 9



<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 117

Leu Leu Ile Leu Glu Asn Ile Leu Leu  
1 5

<210> 118  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 118

Arg Leu Leu Ile Leu Glu Asn Ile Leu Leu  
1 5 10

<210> 119  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 119

Val Leu Pro Ala Glu Phe Phe Glu Val  
1 5

<210> 120  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 120

Ala Ile Asp Ala Ala Leu Thr Ser Val  
1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Arg Leu Tyr Glu Ile Thr Ile Glu Val  
1 5

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Leu Leu Ile Pro Val Val Pro Gly Val  
1 5

<210> 123

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Leu Leu Leu Ala Glu Ala Glu Leu Leu Thr Leu

1 5 10

<210> 124  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 124

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

<210> 125  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 125

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

<210> 126  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 126

Leu Leu Pro Glu Gly Gly Ile Thr Ala Ile  
1 5 10

<210> 127  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 127

Leu Leu Pro Thr Ala Pro Thr Thr Val  
1 5

<210> 128  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 128

Leu Leu Ser Glu Glu Glu Tyr His Leu  
1 5

<210> 129  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 129

Leu Leu Val Gly Thr Leu Asp Val Val  
1 5

<210> 130  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Leu Leu Val Leu Ile Pro Val Tyr Leu  
1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Leu Gln Ala Leu Glu Val Leu Lys Ile  
1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Leu Val Tyr Glu Ala Ile Ile Met Val  
1 5

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Tyr Leu Leu Ser Gly Asp Ile Ser Glu Ala  
1 5 10

<210> 134  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 134

Met Leu Leu Glu His Gly Ile Thr Leu Val  
1 5 10

<210> 135  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 135

Met Thr Ala Gly Phe Ser Thr Ile Ala Gly Ser Val  
1 5 10

<210> 136  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 136

Asn Leu Asp Lys Leu Trp Thr Leu Val  
1 5

<210> 137  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 137

Asn Leu Ile Lys Thr Val Ile Lys Leu  
1 5

<210> 138  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 138

Asn Leu Leu Asp Ile Asp Ala Pro Val Thr Val  
1 5 10

<210> 139  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 139

Asn Leu Thr Asp Val Val Glu Lys Leu  
1 5

<210> 140

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

<400> 140

Gln Ile Ala Glu Leu Pro Ala Thr Ser Val  
1 5 10

<210> 141  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 141

Gln Ile Leu Ser Glu Ile Val Glu Ala  
1 5

<210> 142  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 142

Gln Leu Asp Glu Pro Ala Pro Gln Val  
1 5

<210> 143  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens



<400> 143

Gln Leu Leu Asp Thr Tyr Phe Thr Leu  
1 5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

Gln Leu Pro Pro Phe Pro Arg Glu Leu  
1 5

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Ser Ala Leu Asp Thr Ile Thr Thr Val  
1 5

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

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

<210> 147  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 147

Ser Ile Leu Glu Thr Val Ala Thr Leu  
1 5

<210> 148  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 148

Ser Ile Val Ala Ser Leu Ile Thr Val  
1 5

<210> 149  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 149

Ser Leu Asp Asn Gly Gly Tyr Tyr Ile  
1 5

<210> 150  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 150

Ser Leu Phe Asp Gln Pro Leu Ser Ile Ile  
1 5 10

<210> 151  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 151

Ser Leu Phe Asp Ser Ala Tyr Gly Ala  
1 5

<210> 152  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 152

Ser Leu Ile Arg Ile Leu Gln Thr Ile  
1 5

<210> 153  
<211> 9

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 153

Ser Leu Leu Ala Glu Leu His Val Leu  
1 5

<210> 154  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 154

Ser Leu Leu Ala Glu Leu His Val Leu Thr Val  
1 5 10

<210> 155  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 155

Ser Leu Met Leu Glu Val Pro Ala Leu  
1 5

<210> 156  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 156

Ser Leu Asn Ile Gly Asp Val Gln Leu  
1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Ser Leu Asn Ile Arg Asp Phe Thr Met  
1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Ser Leu Pro Glu Ala Pro Leu Asp Val  
1 5

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Ser Leu Gln Glu Glu Lys Leu Ile Tyr Val

1 5 10

<210> 160  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 160

Ser Leu Ser Phe Leu Val Pro Ser Leu  
1 5

<210> 161  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 161

Ser Met Asp Asp Gly Met Ile Asn Val  
1 5

<210> 162  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 162

Ser Met Lys Asp Asp Leu Glu Asn Val  
1 5

<210> 163  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 163

Ser Gln Leu Asp Ile Ser Glu Pro Tyr Lys Val  
1 5 10

<210> 164  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 164

Ser Val His Lys Gly Phe Ala Phe Val  
1 5

<210> 165  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 165

Thr Leu Asp Asp Asp Leu Asp Thr Val  
1 5

<210> 166  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Thr Leu Asp Pro Asn Gln Val Ser Leu  
1 5

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Thr Leu Asp Thr Ser Lys Leu Tyr Val  
1 5

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Tyr Leu Leu Asp Gln Ser Phe Val Met  
1 5

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169



Thr Leu Leu Leu Gly Leu Thr Glu Val  
1 5

<210> 170  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 170

Thr Leu Thr Phe Arg Val Glu Thr Val  
1 5

<210> 171  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 171

Thr Leu Val Pro Pro Ala Ala Leu Ile Ser Ile  
1 5 10

<210> 172  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 172

Thr Leu Tyr Asp Met Leu Ala Ser Ile  
1 5

<210> 173  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 173

Thr Val Ile Glu Asn Ile His Thr Ile  
1 5

<210> 174  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 174

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

<210> 175  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 175

Phe Thr Val Pro Arg Val Val Ala Val  
1 5

<210> 176

<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 176

Val Leu Ala Glu Gln Asn Ile Ile Pro Ser Ala  
1 5 10

<210> 177  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 177

Val Leu Asp Asp Arg Glu Leu Leu Leu  
1 5

<210> 178  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 178

Val Leu Phe Phe Asn Val Gln Glu Val  
1 5

<210> 179  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 179

Val Leu Leu Gly Leu Glu Met Thr Leu  
1 5

<210> 180  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 180

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

<210> 181  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 181

Val Leu Leu Ser Ile Pro Phe Val Ser Val  
1 5 10

<210> 182  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 182

Val Leu Leu Ser Val Pro Gly Pro Pro Val  
1 5 10

<210> 183  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 183

Val Leu Met Pro Thr Val Tyr Gln Gln Gly Val  
1 5 10

<210> 184  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 184

Val Leu Ser His Asn Leu Tyr Thr Val  
1 5

<210> 185  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 185

Val Met Asp Asp Gln Arg Asp Leu Ile  
1 5

<210> 186  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 186

Val Met Asp Pro Thr Lys Ile Leu Ile  
1 5

<210> 187  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 187

Val Met Asp Thr His Leu Val Asn Ile  
1 5

<210> 188  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 188

Val Met Gly Asp Ile Pro Ala Ala Val  
1 5

<210> 189  
<211> 9

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 189

Val Met Leu Glu Met Thr Pro Glu Leu  
1 5

<210> 190  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 190

Val Val Met Gly Thr Val Pro Arg Leu  
1 5

<210> 191  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 191

Tyr Ile Phe Asp Gly Ser Asp Gly Gly Val  
1 5 10

<210> 192  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 192

Tyr Ile Gln Glu Tyr Leu Thr Leu Leu  
1 5

<210> 193

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Tyr Leu Asp Leu Ser Asn Asn Arg Leu  
1 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Tyr Leu Asp Asn Val Leu Ala Glu Leu  
1 5

<210> 195

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Tyr Leu Gly Gly Phe Ala Leu Ser Val



1 5

<210> 196  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 196

Tyr Leu Leu Leu Gln Thr Tyr Val Leu  
1 5

<210> 197  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 197

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

<210> 198  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 198

Tyr Leu Thr Phe Leu Pro Ala Glu Val  
1 5

<210> 199  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 199

Tyr Leu Val Glu Leu Ser Ser Leu Leu  
1 5

<210> 200  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 200

Tyr Met Phe Glu Glu Val Pro Ile Val Ile  
1 5 10

<210> 201  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 201

Tyr Gln Leu Glu Leu His Gly Ile Glu Leu  
1 5 10

<210> 202  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Tyr Val Asp Asp Val Phe Leu Arg Val  
1 5

<210> 203

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Ala Leu Leu Ser Ser Gln Leu Ala Leu  
1 5

<210> 204

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Gly Leu Leu Gln Ile Asn Asp Lys Ile Ala Leu  
1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu  
1 5

<210> 206  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 206

His Met Gln Asp Val Arg Val Leu Leu  
1 5

<210> 207  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 207

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

<210> 208  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 208

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

<210> 209  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 209

Ile Leu Gln Ala Glu Leu Pro Ser Leu  
1 5

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

Lys Leu Leu Val Gln Asp Phe Phe Leu  
1 5

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

Leu Ile Asp Val Lys Pro Leu Gly Val  
1 5

<210> 212

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

<400> 212

Asn Ile Ile Glu Ala Ile Asn Glu Leu Leu Val  
1 5 10

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

<400> 213

Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu  
1 5

<210> 214  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 214

Arg Leu Gln Glu Leu Thr Glu Lys Leu  
1 5

<210> 215  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 215

Val Met Gln Asp Ile Val Tyr Lys Leu  
1 5

<210> 216  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 216  
  
Trp Leu Ala Gly Asp Val Pro Ala Ala  
1 5

<210> 217  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 217  
  
Ala Leu Asp Glu Pro Pro Tyr Leu Thr Val  
1 5 10

<210> 218  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 218

Ala Leu Gly Glu Glu Trp Lys Gly Tyr Val Val  
1 5 10

<210> 219  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 219

Ala Leu Leu Asn Leu Leu Glu Ser Ala  
1 5

<210> 220  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 220

Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val  
1 5 10

<210> 221  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 221

Ala Leu Val Ser Thr Ile Ile Met Val  
1 5



<210> 222  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 222

Ala Leu Trp Glu Leu Ser Leu Lys Ile  
1 5

<210> 223  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 223

Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile  
1 5 10

<210> 224  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 224

Ala Met Glu Ala Leu Val Val Glu Val  
1 5

<210> 225  
<211> 10

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 225

Ile Leu Gln Glu Arg Glu Leu Leu Pro Val  
1 5 10

<210> 226  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 226

Ala Met Asn Ile Ser Val Pro Gln Val  
1 5

<210> 227  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 227

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

<210> 228  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 228

Phe Leu Gly Gly Leu Ser Pro Gly Val  
1 5

<210> 229

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Phe Leu Leu Asn Leu Gln Asn Cys His Leu  
1 5 10

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 230

Phe Leu Gln Asp Ser Lys Val Ile Phe Val  
1 5 10

<210> 231

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231

Phe Leu Tyr Ile Arg Gln Leu Ala Ile

1 5

<210> 232  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 232

Phe Met His Gln Ile Ile Asp Gln Val  
1 5

<210> 233  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 233

Gly Ile Ile Asp Ile Asn Val Arg Leu  
1 5

<210> 234  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 234

Gly Leu Asp Asp Ala Glu Tyr Ala Leu  
1 5

<210> 235  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 235

Gly Leu Asp Asp Leu Leu Leu Phe Leu  
1 5

<210> 236  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 236

Gly Leu Leu Glu Ser Gly Arg His Tyr Leu  
1 5 10

<210> 237  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 237

Gly Leu Gln Glu Asn Leu Asp Val Val Val  
1 5 10

<210> 238  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 238

Gly Leu Val Glu Thr Glu Leu Gln Leu  
1 5

<210> 239

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 239

Ile Leu Ala Gly Glu Met Leu Ser Val  
1 5

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Ile Leu Ala Arg Asp Ile Leu Glu Ile  
1 5

<210> 241

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Ile Leu Gly Asp Ile Leu Leu Lys Val  
1 5

<210> 242  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 242

Ile Leu Leu Gly Ile Gln Glu Leu Leu  
1 5

<210> 243  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 243

Ile Leu Pro Thr Leu Glu Lys Glu Leu Phe Leu  
1 5 10

<210> 244  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 244

Ile Leu Gln Ala Leu Ala Val His Leu  
1 5

<210> 245  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 245

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

<210> 246  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 246

Lys Leu Asp Glu Thr Gly Val Ala Leu  
1 5

<210> 247  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 247

Lys Leu Lys Asp Arg Leu Pro Ser Ile  
1 5

<210> 248



<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 248

Lys Thr Val Glu Pro Pro Ile Ser Gln Val  
1 5 10

<210> 249  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 249

Leu Leu Pro Thr Gly Val Phe Gln Val  
1 5

<210> 250  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 250

Leu Leu Val Gln Glu Pro Asp Gly Leu Met Val  
1 5 10

<210> 251  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 251

Leu Leu Tyr Asp Asn Val Pro Gly Ala  
1 5

<210> 252

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Asn Leu Leu Asp Pro Gly Ser Ser Tyr Leu Leu  
1 5 10

<210> 253

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Asn Leu Trp Ser Val Asp Gly Glu Val Thr Val  
1 5 10

<210> 254

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 254

Gln Leu Ile Pro Lys Leu Ile Phe Leu  
1 5

<210> 255  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 255

Tyr Leu Phe Glu Glu Ala Ile Ser Met  
1 5

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

<400> 256

Gln Leu Leu Pro Val Ser Asn Val Val Ser Val  
1 5 10

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

<400> 257

Arg Ile Ile Asn Gly Ile Ile Ile Ser Val  
1 5 10

<210> 258  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 258

Arg Leu Asp Tyr Ile Thr Ala Glu Ile  
1 5

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

<400> 259

Arg Leu Leu Asp Glu Gln Phe Ala Val Leu  
1 5 10

<210> 260  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 260

Ser Leu Asp Asp Val Glu Gly Met Ser Val  
1 5 10

<210> 261  
<211> 10

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 261

Ser Leu Val Glu Ala Gln Gly Trp Leu Val  
1 5 10

<210> 262  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 262

Ser Leu Trp Asn Ala Gly Thr Ser Val  
1 5

<210> 263  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 263

Ser Gln Trp Glu Asp Ile His Val Val  
1 5

<210> 264  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 264

Thr Ile Leu Asp Tyr Ile Asn Val Val  
1 5

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 265

Thr Leu Leu Ala Asp Asp Leu Glu Ile Lys Leu  
1 5 10

<210> 266

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 266

Thr Leu Leu Asp Gln Leu Asp Thr Gln Leu  
1 5 10

<210> 267

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 267

Thr Leu Leu Asp Trp Gln Asp Ser Leu

1 5

<210> 268  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 268

Thr Leu Leu Gln Val Phe His Leu Leu  
1 5

<210> 269  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 269

Thr Leu Thr Asp Glu Gln Phe Leu Val  
1 5

<210> 270  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 270

Thr Val Leu Pro Val Pro Pro Leu Ser Val  
1 5 10

<210> 271  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 271

Val Ile Arg Asn Ile Val Glu Ala Ala  
1 5

<210> 272  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 272

Val Leu Asp Glu Leu Pro Pro Leu Ile  
1 5

<210> 273  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 273

Val Leu Gly Glu Tyr Ser Tyr Leu Leu  
1 5

<210> 274  
<211> 10  
<212> PRT



<213> Homo sapiens

<400> 274

Val Leu Leu Glu Tyr His Ile Ala Tyr Leu  
1 5 10

<210> 275

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 275

Val Leu Leu Phe Ile Glu His Ser Val  
1 5

<210> 276

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 276

Val Leu Asn Asp Gly Ala Pro Asn Val  
1 5

<210> 277

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 277

Val Met Ile Leu Lys Leu Pro Phe Leu  
1 5

<210> 278  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 278

Tyr Leu Asp Asp Leu Leu Pro Lys Leu  
1 5

<210> 279  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 279

Tyr Met Ala Pro Glu Val Val Glu Ala  
1 5

<210> 280  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 280

Tyr Thr Leu Asp Ser Leu Tyr Trp Ser Val  
1 5 10

<210> 281  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 281

Asn Leu Leu Asp Asp Arg Gly Met Thr Ala Leu  
1 5 10

<210> 282  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 282

Leu Leu Arg Asp Gly Ile Glu Leu Val  
1 5

<210> 283  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 283

Ile Leu Gln Pro Met Asp Ile His Val  
1 5

<210> 284

<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 284

Leu Leu Ser Ala Ala Glu Pro Val Pro Ala  
1 5 10

<210> 285  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 285

Gly Val Ala Thr Ala Gly Cys Val Asn Glu Val  
1 5 10

<210> 286  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 286

Phe Leu Leu Glu Asp Leu Ser Gln Lys Leu  
1 5 10

<210> 287  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 287

Phe Leu Trp Glu Glu Lys Phe Asn Ser Leu  
1 5 10

<210> 288

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Gly Leu Ala Glu Ser Thr Gly Leu Leu Ala Val  
1 5 10

<210> 289

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

Ile Leu Glu Glu Gln Pro Met Asp Met Leu Leu  
1 5 10

<210> 290

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 290

Leu Ala Asn Pro His Glu Leu Ser Leu  
1 5

<210> 291  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 291

Ile Leu Leu Asn Glu Asp Asp Leu Val Thr Ile  
1 5 10

<210> 292  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 292

Ala Ala Ala Leu Ile Ile His His Val  
1 5

<210> 293  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 293

Ala Leu Asp Ile Met Ile Pro Met Val  
1 5

<210> 294  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 294

Ala Leu Leu Asp Gln Leu His Thr Leu Leu  
1 5 10

<210> 295  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 295

Ala Leu Leu Gln Lys Leu Gln Gln Leu  
1 5

<210> 296  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 296

Phe Ile Ala Pro Thr Gly His Ser Leu  
1 5

<210> 297  
<211> 11

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 297

Phe Leu Val Glu Pro Gln Glu Asp Thr Arg Leu  
1 5 10

<210> 298  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 298

Ile Ile Leu Pro Val Glu Val Glu Val  
1 5

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

<400> 299

Ile Leu Glu Glu Asn Ile Pro Val Leu  
1 5

<210> 300  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens



<400> 300

Ile Leu Leu Asn Pro Ala Tyr Asp Val Tyr Leu  
1 5 10

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 301

Ala Ala Ser Pro Ile Ile Thr Leu Val  
1 5

<210> 302

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 302

Ile Leu Gln Asp Leu Thr Phe Val His Leu  
1 5 10

<210> 303

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 303

Ile Leu Ser Gln Pro Thr Pro Ser Leu

1 5

<210> 304  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 304

Leu Ala Ile Val Pro Val Asn Thr Leu  
1 5

<210> 305  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 305

Leu Leu Phe Pro Gln Ile Glu Gly Ile Lys Ile  
1 5 10

<210> 306  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 306

Val Val Ala Glu Glu Leu Glu Asn Val  
1 5

<210> 307  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 307

Leu Leu Leu Thr Lys Pro Thr Glu Ala  
1 5

<210> 308  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 308

Ser Leu Tyr Asp Val Ser Arg Met Tyr Val  
1 5 10

<210> 309  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 309

Ile Leu Tyr Gly Thr Gln Phe Val Leu  
1 5

<210> 310  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 310

Leu Leu Ser Thr Leu His Leu Leu Val  
1 5

<210> 311

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

Leu Leu Val Asp Val Glu Pro Lys Val  
1 5

<210> 312

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 312

Leu Leu Tyr Asn Ser Thr Asp Pro Thr Leu  
1 5 10

<210> 313

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 313

Leu Met Ala Asp Leu Glu Gly Leu His Leu  
1 5 10

<210> 314  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 314

Leu Met Lys Asp Cys Glu Ala Glu Val  
1 5

<210> 315  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 315

Leu Val Tyr Glu Ala Pro Glu Thr Val  
1 5

<210> 316  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 316

Met Leu Leu Glu His Gly Ile Thr Leu  
1 5

<210> 317  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 317

Asn Leu Leu Ala His Ile Trp Ala Leu  
1 5

<210> 318  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 318

Asn Leu Gln Val Thr Gln Pro Thr Val  
1 5

<210> 319  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 319

Gln Val Ile Pro Gln Leu Gln Thr Val  
1 5

<210> 320

<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 320

Thr Ile Ala Pro Val Thr Val Ala Val  
1 5

<210> 321  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 321

Arg Leu Leu Glu Phe Glu Leu Ala Gln Leu  
1 5 10

<210> 322  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 322

Ser Leu Ala Ser Ile His Val Pro Leu  
1 5

<210> 323  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 323

Ser Leu Asp Leu Phe Asn Cys Glu Val  
1 5

<210> 324  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 324  
  
Ser Leu Tyr Ser Ala Leu Gln Gln Ala  
1 5

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

<400> 325  
  
Thr Leu Glu Asn Gly Val Pro Cys Val  
1 5

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

<400> 326



Val Leu Ala Phe Leu Val His Glu Leu  
1 5

<210> 327  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 327

Val Leu Ile Lys Trp Phe Pro Glu Val  
1 5

<210> 328  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 328

Val Leu Leu Pro Gln Glu Thr Ala Glu Ile His Leu  
1 5 10

<210> 329  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 329

Val Leu Met Asp Gly Ser Val Lys Leu  
1 5

<210> 330  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 330

Val Leu Met Trp Glu Ile Tyr Ser Leu  
1 5

<210> 331  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 331

Val Leu Trp Glu Leu Ala His Leu Pro Thr Leu  
1 5 10

<210> 332  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 332

Val Met Ile Gln His Val Glu Asn Leu  
1 5

<210> 333  
<211> 11

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 333

Val Thr Leu Glu Phe Pro Gln Leu Ile Arg Val  
1 5 10

<210> 334  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 334

Tyr Leu Leu Glu Glu Lys Ile Ala Ser Leu  
1 5 10

<210> 335  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 335

Tyr Leu Tyr Gln Glu Gln Tyr Phe Ile  
1 5

<210> 336  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 336

Tyr Met Ala Val Thr Thr Gln Glu Val  
1 5

<210> 337

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 337

Tyr Met Tyr Glu Lys Glu Ser Glu Leu  
1 5

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 338

Phe Leu Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu  
1 5

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 339

Gly Leu Trp Gly Thr Val Val Asn Ile

1 5

<210> 340  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 340

Lys Leu Leu Glu Glu Ile Cys Asn Leu  
1 5

<210> 341  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 341

Leu Leu Ala Glu Leu Pro Ala Ser Val His Ala  
1 5 10

<210> 342  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 342

Ser Leu Ile Thr Pro Leu Gln Ala Val  
1 5

<210> 343  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 343

Thr Leu Leu Glu Ala Leu Asp Cys Ile  
1 5

<210> 344  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 344

Val Leu Ala Phe Glu Asn Pro Gln Val  
1 5

<210> 345  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 345

Tyr Leu Ile Glu Pro Asp Val Glu Leu Gln Arg Ile  
1 5 10

<210> 346  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 346

Val Leu Val Gln Val Ser Pro Ser Leu  
1 5

<210> 347

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

Tyr Leu Gly Pro Val Ser Pro Ser Leu  
1 5

<210> 348

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 348

Ala Leu Ala Lys Pro Pro Val Val Ser Val  
1 5 10

<210> 349

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 349

Ala Leu Ala Thr His Ile Leu Ser Leu  
1 5

<210> 350  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 350

Ala Leu Glu Asp Arg Val Trp Glu Leu  
1 5

<210> 351  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 351

Ala Leu Ser Glu Lys Leu Ala Arg Leu  
1 5

<210> 352  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 352

Ala Leu Val Phe Glu Leu His Tyr Val  
1 5



<210> 353  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 353

Ala Thr Pro Met Pro Thr Pro Ser Val  
1 5

<210> 354  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 354

Phe Ile Met Asp Asp Pro Ala Gly Asn Ser Tyr Leu  
1 5 10

<210> 355  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 355

Phe Ile Trp Pro Met Leu Ile His Ile  
1 5

<210> 356

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

<400> 356

Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu  
1 5

<210> 357  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 357

Phe Leu Ile Gln Glu Ile Lys Thr Leu  
1 5

<210> 358  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 358

Phe Leu Thr Asp Tyr Leu Asn Asp Leu  
1 5

<210> 359  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 359

Phe Met Gln Asp Pro Met Glu Val Phe Val  
1 5 10

<210> 360  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 360  
  
His Leu Ile Asp Thr Asn Lys Ile Gln Leu  
1 5 10

<210> 361  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 361  
  
Ile Leu Gln Glu Phe Glu Ser Lys Leu  
1 5

<210> 362  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 362

Ile Leu Thr Glu Leu Gly Gly Phe Glu Val  
1 5 10

<210> 363  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 363

Ile Thr Thr Glu Val Val Asn Glu Leu Tyr Val  
1 5 10

<210> 364  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 364

Lys Met Asp Trp Ile Phe His Thr Ile  
1 5

<210> 365  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 365

Leu Ile Ser Pro Leu Leu Leu Pro Val  
1 5

<210> 366  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 366

Leu Leu Ser Glu Thr Cys Val Thr Ile  
1 5

<210> 367  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 367

Asn Leu Trp Ser Leu Val Ala Lys Val  
1 5

<210> 368  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 368

Gln Leu Gln Pro Thr Asp Ala Leu Leu Cys Val  
1 5 10

<210> 369  
<211> 12

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 369

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

<210> 370  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 370

Ser Ile Phe Ala Ser Pro Glu Ser Val  
1 5

<210> 371  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 371

Ser Leu Ala Asp Asp Ser Val Leu Glu Arg Leu  
1 5 10

<210> 372  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 372

Ser Leu Phe Gly Pro Leu Pro Gly Pro Gly Pro Ala Leu Val  
1 5 10

<210> 373

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 373

Thr Leu Leu Ala Asp Gln Gly Glu Ile Arg Val  
1 5 10

<210> 374

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 374

Val Leu Ser Val Ile Thr Glu Glu Leu  
1 5

<210> 375

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 375

Val Leu Trp Phe Lys Pro Val Glu Leu

1 5

<210> 376  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 376

Val Leu Tyr Asn Gln Arg Val Glu Glu Ile  
1 5 10

<210> 377  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 377

Val Val Asp Gly Thr Cys Val Ala Val  
1 5

<210> 378  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 378

Tyr Ile Leu Gly Lys Phe Phe Ala Leu  
1 5



<210> 379  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 379

Tyr Leu Ala Glu Leu Val Thr Pro Ile Leu  
1 5 10

<210> 380  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 380

Tyr Leu Asp Arg Lys Leu Leu Thr Leu  
1 5

<210> 381  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 381

Tyr Leu Leu Glu Glu Asn Lys Ile Lys Leu  
1 5 10

<210> 382  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 382

Tyr Leu Leu Pro Leu Leu Gln Arg Leu  
1 5

<210> 383

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 383

Tyr Leu Leu Arg Glu Trp Val Asn Leu  
1 5

<210> 384

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 384

Tyr Met Ile Gly Ser Glu Val Gly Asn Tyr Leu  
1 5 10

<210> 385

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 385

Tyr Thr Ile Pro Leu Ala Ile Lys Leu  
1 5

<210> 386  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 386

Phe Leu Gly Asp Tyr Val Glu Asn Leu  
1 5

<210> 387  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 387

Tyr Leu Ile Leu Ser Ser His Gln Leu  
1 5

<210> 388  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 388

Gly Leu Leu Ser Ala Leu Glu Asn Val  
1 5

<210> 389  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 389

Gly Leu Ala Ala Leu Ala Val His Leu  
1 5

<210> 390  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 390

Gly Leu Glu Glu Arg Leu Tyr Thr Ala  
1 5

<210> 391  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 391

Phe Leu Leu Glu Arg Glu Gln Leu Leu  
1 5

<210> 392

<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 392

Phe Leu Trp Glu Arg Pro Thr Leu Leu Val  
1 5 10

<210> 393  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 393

Phe Val Met Glu Gly Glu Pro Pro Lys Leu  
1 5 10

<210> 394  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 394

Ile Leu Ser Thr Glu Ile Phe Gly Val  
1 5

<210> 395  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 395

Ala Leu Tyr Gly Lys Leu Leu Lys Leu  
1 5

<210> 396  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 396  
  
Thr Leu Leu Gly Lys Gln Val Thr Leu  
1 5

<210> 397  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 397  
  
Phe Leu Pro Pro Glu His Thr Ile Val Tyr Ile  
1 5 10

<210> 398  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 398

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

<210> 399  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 399

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

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

<400> 400

Ala Leu Phe Gln Pro His Leu Ile Asn Val  
1 5 10

<210> 401  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 401

Ala Met Ala Asp Lys Met Asp Met Ser Leu  
1 5 10

<210> 402  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 402

Leu Leu Val Ser Asn Leu Asp Phe Gly Val  
1 5 10

<210> 403  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 403

Phe Ile Met Pro Ala Thr Val Ala Asp Ala Thr Ala Val  
1 5 10

<210> 404  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 404

Phe Leu Gln Pro Asp Leu Asp Ser Leu  
1 5

<210> 405  
<211> 10



<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 405

Phe Leu Val Glu Lys Gln Pro Pro Gln Val  
1 5 10

<210> 406  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 406

Phe Leu Trp Pro Lys Glu Val Glu Leu  
1 5

<210> 407  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 407

Phe Met Ile Asp Ala Ser Val His Pro Thr Leu  
1 5 10

<210> 408  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 408

Phe Met Val Asp Asn Glu Ala Ile Tyr Asp Ile  
1 5 10

<210> 409

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 409

Gly Leu Asp Ala Ala Thr Ala Thr Val  
1 5

<210> 410

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 410

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

<210> 411

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 411

Gly Leu Phe Glu Asp Val Thr Gln Pro Gly Ile Leu Leu

1 5 10

<210> 412  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 412

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

<210> 413  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 413

Ile Leu Leu Glu His Gly Ala Asp Pro Asn Leu  
1 5 10

<210> 414  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 414

Ile Leu Ser Val Val Asn Ser Gln Leu  
1 5

<210> 415  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 415

Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu  
1 5

<210> 416  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 416

Ile Met Glu Asp Ile Ile Leu Thr Leu  
1 5

<210> 417  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 417

Ile Gln Ile Gly Glu Glu Thr Val Ile Thr Val  
1 5 10

<210> 418  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 418

Ile Val Thr Glu Ile Ile Ser Glu Ile  
1 5

<210> 419

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 419

Leu Leu Asn Glu Ile Leu Glu Gln Val  
1 5

<210> 420

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 420

Lys Leu Ile Asp Asp Gln Asp Ile Ser Ile Ser Leu  
1 5 10

<210> 421

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 421

Lys Leu Trp Thr Gly Gly Leu Asp Asn Thr Val  
1 5 10

<210> 422  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 422

Lys Gln Phe Glu Gly Thr Val Glu Ile  
1 5

<210> 423  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 423

Leu Leu Ile Gly Thr Asp Val Ser Leu  
1 5

<210> 424  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 424

Leu Leu Pro Pro Leu Glu Ser Leu Ala Thr Val  
1 5 10

<210> 425  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 425

Leu Leu Ser Asp Val Arg Phe Val Leu  
1 5

<210> 426  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 426

Leu Leu Trp Gly Asn Leu Pro Glu Ile  
1 5

<210> 427  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 427

Leu Leu Tyr Asp Ala Val His Ile Val  
1 5

<210> 428

<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 428

Leu Met Tyr Pro Tyr Ile Tyr His Val  
1 5

<210> 429  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 429

Asn Leu Leu Glu Thr Lys Leu Gln Leu  
1 5

<210> 430  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 430

Gln Leu Ile Glu Lys Asn Trp Leu Leu  
1 5

<210> 431  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens



<400> 431

Arg Met Val Ala Glu Ile Gln Asn Val  
1 5

<210> 432  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 432  
  
Ser Ala Val Asp Phe Ile Arg Thr Leu  
1 5

<210> 433  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 433  
  
Ser Ile Leu Asp Arg Asp Asp Ile Phe Val  
1 5 10

<210> 434  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 434

Ser Ile Gln Gln Ser Ile Glu Arg Leu Leu Val  
1 5 10

<210> 435  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 435

Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile  
1 5

<210> 436  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 436

Ser Leu Phe Ser Ser Leu Glu Pro Gln Ile Gln Pro Val  
1 5 10

<210> 437  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 437

Ser Leu Glu Pro Gln Ile Gln Pro Val  
1 5

<210> 438  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 438

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

<210> 439  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 439

Ser Leu Leu Asp Leu His Thr Lys Val  
1 5

<210> 440  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 440

Ser Leu Leu Glu Gln Gly Lys Glu Pro Trp Met Val  
1 5 10

<210> 441  
<211> 11

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 441

Ser Leu Leu Glu Val Asn Glu Ala Ser Ser Val  
1 5 10

<210> 442  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 442

Ser Leu Asn Asp Leu Glu Lys Asp Val Met Leu Leu  
1 5 10

<210> 443  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 443

Ser Leu Thr Ile Asp Gly Ile Tyr Tyr Val  
1 5 10

<210> 444  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 444

Ser Met Ser Gly Tyr Asp Gln Val Leu  
1 5

<210> 445

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 445

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

<210> 446

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 446

Val Ile Leu Thr Ser Ser Pro Phe Leu  
1 5

<210> 447

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 447

Val Leu Asp Asp Ser Ile Tyr Leu Val

1 5

<210> 448  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 448

Val Met Asn Asp Arg Leu Tyr Ala Ile  
1 5

<210> 449  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 449

Leu Leu Asp Ala Met Asn Tyr His Leu  
1 5

<210> 450  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 450

Val Leu Gly Pro Gly Pro Pro Pro Leu  
1 5

<210> 451  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 451

Val Leu Ile Glu Tyr Asn Phe Ser Ile  
1 5

<210> 452  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 452

Val Leu Leu Ser Leu Leu Glu Lys Val  
1 5

<210> 453  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 453

Ser Leu Leu Pro Leu Val Trp Lys Ile  
1 5

<210> 454  
<211> 11  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 454

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

<210> 455

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 455

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

<210> 456

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 456

Tyr Ala Ala Pro Gly Gly Leu Ile Gly Val  
1 5 10

<210> 457

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 457



Tyr Ile Met Glu Pro Ser Ile Phe Asn Thr Leu  
1 5 10

<210> 458  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 458

Tyr Ile Gln Glu His Leu Leu Gln Ile  
1 5

<210> 459  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 459

Tyr Leu Asp Phe Ser Asn Asn Arg Leu  
1 5

<210> 460  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 460

Tyr Leu Glu Asp Gly Phe Ala Tyr Val  
1 5

<210> 461  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 461

Tyr Leu Leu Asn Leu Asn His Leu Gly Leu  
1 5 10

<210> 462  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 462

Tyr Val Leu Pro Lys Leu Tyr Val Lys Leu  
1 5 10

<210> 463  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 463

Ala Leu Met Ala Val Val Ser Gly Leu  
1 5

<210> 464

<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 464

Ala Leu Ser Asp Glu Thr Lys Asn Asn Trp Glu Val  
1 5 10

<210> 465  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 465

Phe Leu Tyr Asp Glu Ile Glu Ala Glu Val Asn Leu  
1 5 10

<210> 466  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 466

Phe Leu Tyr Asp Glu Ile Glu Ala Glu Val  
1 5 10

<210> 467  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 467

Ile Met Gln Asp Phe Pro Ala Glu Ile Phe Leu  
1 5 10

<210> 468  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 468  
  
Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val  
1 5

<210> 469  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 469  
  
Ser Leu Asp Gly Thr Glu Leu Gln Leu  
1 5

<210> 470  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 470

Thr Leu Thr Asn Ile Ile His Asn Leu  
1 5

<210> 471  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 471

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

<210> 472  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 472

Tyr Leu Phe Glu Ser Glu Gly Leu Val Leu  
1 5 10

<210> 473  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 473

Ala Leu Ala Asp Asp Asp Phe Leu Thr Val  
1 5 10

<210> 474  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 474

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

<210> 475  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 475

Ala Leu Asp Asp Met Ile Ser Thr Leu  
1 5

<210> 476  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 476

Ala Leu Ile Thr Glu Val Val Arg Leu  
1 5

<210> 477  
<211> 14

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 477

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

<210> 478  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 478

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

<210> 479  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 479

Tyr Leu Ala His Phe Ile Glu Gly Leu  
1 5

<210> 480  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 480

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

<210> 481

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 481

Phe Leu Ile Asp Thr Ser Ala Ser Met  
1 5

<210> 482

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 482

Phe Leu Thr Asp Leu Glu Asp Leu Thr Leu  
1 5 10

<210> 483

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 483

Phe Leu Thr Glu Met Val His Phe Ile



1 5

<210> 484  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 484

Phe Leu Val Asp Gly Pro Arg Val Gln Leu  
1 5 10

<210> 485  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 485

Gly Leu Leu Asp Cys Pro Ile Phe Leu  
1 5

<210> 486  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 486

Gly Leu Leu Asp Leu Pro Phe Arg Val Gly Val  
1 5 10

<210> 487  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 487

Gly Leu Ser Asp Gly Asn Pro Ser Leu  
1 5

<210> 488  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 488

Gly Val Tyr Asp Gly Glu Glu His Ser Val  
1 5 10

<210> 489  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 489

His Leu Ala Asn Ile Val Glu Arg Leu  
1 5

<210> 490  
<211> 9  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 490

Ile Leu Asp Glu Lys Pro Val Ile Ile  
1 5

<210> 491

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 491

Ile Leu Phe Ser Glu Asp Ser Thr Lys Leu Phe Val  
1 5 10

<210> 492

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 492

Ile Leu Leu Asp Asp Asn Met Gln Ile Arg Leu  
1 5 10

<210> 493

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 493

Leu Ile Ile Asp Gln Ala Asp Ile Tyr Leu  
1 5 10

<210> 494  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 494

Leu Leu Gly Asp Ser Ser Phe Phe Leu  
1 5

<210> 495  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 495

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

<210> 496  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 496

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

<210> 497  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 497

Leu Leu Trp Asp Val Pro Ala Pro Ser Leu  
1 5 10

<210> 498  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 498

Leu Thr Ala Pro Pro Glu Ala Leu Leu Met Val  
1 5 10

<210> 499  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 499

Asn Leu Met Glu Met Val Ala Gln Leu  
1 5

<210> 500

<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 500

Gln Ile Ile Thr Ser Val Val Ser Val  
1 5

<210> 501  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 501

Gln Leu Ala Leu Lys Val Glu Gly Val  
1 5

<210> 502  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 502

Gln Leu Leu Asp Glu Thr Ser Ala Ile Thr Leu  
1 5 10

<210> 503  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 503

Gln Leu Tyr Glu Glu Pro Asp Thr Lys Leu  
1 5 10

<210> 504  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 504

Arg Leu Tyr Ser Gly Ile Ser Gly Leu Glu Leu  
1 5 10

<210> 505  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 505

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

<210> 506  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 506

Ser Leu Leu Pro Leu Asp Asp Ile Val Arg Val  
1 5 10

<210> 507  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 507

Ser Leu Leu Thr Glu Gln Asp Leu Trp Thr Val  
1 5 10

<210> 508  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 508

Ser Val Asp Ser Ala Pro Ala Ala Val  
1 5

<210> 509  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 509

Thr Leu Gln Glu Val Val Thr Gly Val  
1 5



<210> 510  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 510

Thr Val Asp Val Ala Thr Pro Ser Val  
1 5

<210> 511  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 511

Val Leu Ala Tyr Phe Leu Pro Glu Ala  
1 5

<210> 512  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 512

Val Leu Ile Ser Val Leu Gln Ala Ile  
1 5

<210> 513  
<211> 11

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 513

Tyr Leu Ile Pro Phe Thr Gly Ile Val Gly Leu  
1 5 10

<210> 514  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 514

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

<210> 515  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 515

Tyr Leu Met Pro Gly Phe Ile His Leu  
1 5

<210> 516  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 516

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

<210> 517

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 517

Tyr Leu Gln Leu Thr Gln Ser Glu Leu  
1 5

<210> 518

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 518

Tyr Leu Thr Glu Val Phe Leu His Val Val  
1 5 10

<210> 519

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 519

Tyr Leu Val Glu Gly Arg Phe Ser Val

1 5

<210> 520  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 520

Tyr Leu Val Tyr Ile Leu Asn Glu Leu  
1 5

<210> 521  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 521

Tyr Leu Tyr Gly Gln Thr Thr Thr Tyr Leu  
1 5 10

<210> 522  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 522

Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val  
1 5

<210> 523  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 523

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val  
1 5 10

<210> 524  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 524

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile  
1 5



申請日: 105/12/09

C07K 14/725 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/12 (2006.01)

C12N 5/0783 (2010.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

I658050

## 【發明摘要】

IPC分類:

【中文發明名稱】用於抗CLL及其他癌症之免疫治療的新穎胜肽及胜肽組合物

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND COMBINATION OF PEPTIDES FOR  
USE IN IMMUNOTHERAPY AGAINST CLL AND OTHER CANCERS

## 【中文】

本發明涉及用於免疫治療方法的肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關肽（刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激 T 細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關 T 細胞 (CTL) 肽表位。與主要組織相容性複合體 (MHC) 分子結合的肽或與此同類的肽也可能是抗體、可溶性 T 細胞受體和其他結合分子的靶標。

## 【英文】

The present invention relates to peptides, proteins, nucleic acids and cells for use in immunotherapeutic methods. In particular, the present invention relates to the immunotherapy of cancer. The present invention furthermore relates to tumor-associated T-cell peptide epitopes, alone or in combination with other tumor-associated peptides that can for example serve as active pharmaceutical ingredients of vaccine compositions that stimulate anti-tumor immune responses, or to stimulate T cells ex vivo and transfer into patients. Peptides bound to molecules of the major histocompatibility complex (MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

【指定代表圖】第（ 3A ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

## 【發明申請專利範圍】

- 【第1項】 一種肽，其由 SEQ ID NO:86 的氨基酸序列所組成，或其一種藥用鹽。
- 【第2項】 根據請求項 1 所述的肽，其中所述肽有能力與一 MHC-I 類分子結合，且其中所述肽與 MHC 結合時能夠被 CD8 T 細胞識別。
- 【第3項】 根據請求項 1 或 2 所述的肽，其中所述肽包含非肽鍵。
- 【第4項】 根據請求項 1 或 2 所述的肽，其中所述肽為一融合蛋白的部分，包含 HLA-DR 抗原相關不變鏈 (Ii) 的 N-端氨基酸。
- 【第5項】 一種核酸，編碼根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽。
- 【第6項】 一種表達載體，可表達根據請求項 5 所述的核酸。
- 【第7項】 一種重組宿主細胞，其包括根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽、根據請求項 5 所述的核酸或根據請求項 6 所述的表達載體，其中所述宿主細胞非為人類胚胎幹細胞。
- 【第8項】 根據請求項 7 所述的宿主細胞，其中所述細胞為一抗原提呈細胞。
- 【第9項】 根據請求項 7 或 8 所述的宿主細胞，其中所



述細胞為一樹突狀細胞。

【第10項】 一種製備根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽的方法，該方法包括培養根據請求項 7 至 9 任一項所述的宿主細胞，其提呈根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽或表達根據請求項 5 所述的核酸或包含根據請求項 6 所述的表達載體，以及從該宿主細胞或其培養基中分離出所述肽。

【第11項】 一種體外製備活化的 T 淋巴細胞的方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人 I 類 MHC 分子進行體外接觸足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化 T 細胞，這些人 I 類 MHC 分子在合適的抗原表現細胞表面或人工類比的抗原表現細胞結構表面上表達，其中所述抗原為請求項 1 至 4 任一項所述的肽。

【第12項】 一種根據請求項 11 所述的方法製成的活化 T 淋巴細胞，其有選擇性地識別提呈一種包含請求項 1 至 4 任一項給定氨基酸序列的多肽的細胞。

【第13項】 一種根據請求項 12 所述活化毒性 T 淋巴細胞在製備用於殺滅患者體內靶向細胞之藥物的用途，其中該些靶向細胞異常地表現和/或提呈一種包含請求項 1 至 4 任一項給定的氨基酸序列的多肽。

【第14項】 一種根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽用於產生與開發抗體的非治療性用途，該些抗體特異性

地識別該肽。

【第15項】 一種抗體，特異性結合至一種請求項1至4任一項所述的肽。

【第16項】 根據請求項15所述的抗體，其中該抗體係一單株抗體。

【第17項】 一種根據請求項1至4任一項所述的肽、根據請求項5所述的核酸、根據請求項6所述的表達載體、根據請求項7至9任一項所述的細胞、根據請求項12所述的活化T淋巴細胞或根據請求項15或16所述的抗體在製備一種藥劑的用途，其中該藥劑具有抗癌活性。

【第18項】 一種根據請求項1至4任一項所述的肽、根據請求項5所述的核酸、根據請求項6所述的表達載體、根據請求項7至9任一項所述的細胞、根據請求項12所述的活化T淋巴細胞或根據請求項15或16所述的抗體在製備一種藥劑的用途，其中該藥劑具有抵抗一種選自下列所構成之群組的癌症的活性：急性骨髓性白血病、膽管癌、腦癌、乳腺癌、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌、CLL和其他腫瘤，這些腫瘤過度表達自其衍

生 SEQ ID No. 86 的肽的蛋白。

【第19項】 一種藥盒套件，包括：

(a) 一容器，包含一藥物組合物，其含有根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽、根據請求項 5 所述的核酸、根據請求項 6 所述的表達載體、根據請求項 7 至 9 任一項所述的細胞、根據請求項 12 所述的活化 T 淋巴細胞或根據請求項 15 或 16 所述的抗體之溶液或凍幹形式；

(b) 一第二容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋劑或重組溶液；和/或

(c) (i)使用溶液或(ii)重組和/或使用凍乾粉劑型的說明書。

【第20項】 根據請求項 19 所述的藥盒套件，進一步包括一個或多個(iii)緩衝劑、(iv)稀釋劑、(v)過濾液、(vi)針、或(v)注射器。

【第21項】 一種可溶性或膜結合 T 細胞受體，其與 HLA 配體反應，其中所述配體相同於 SEQ ID NO: 86 的氨基酸序列。

【第22項】 一種藥物組合物，其包括至少一種活性成分，該成分選自下列組成的群組：

a) 根據請求項 1 至 4 任一項所述的肽；

b) 根據請求項 5 所述的核酸；

- c) 根據請求項 6 所述的表達載體；
- d) 根據請求項 7 至 9 任一項所述的細胞；
- e) 根據請求項 12 所述的活化 T 淋巴細胞；
- f) 根據請求項 15 或 16 所述的抗體。