



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0099175  
(43) 공개일자 2024년06월28일

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>A61K 39/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>A61K 39/0011 (2023.05)<br/>A61K 39/001188 (2023.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7012038</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2022년10월10일<br/>심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년04월11일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/078084</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2023/061931<br/>국제공개일자 2023년04월20일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>PCT/EP2021/078022 2021년10월11일<br/>유럽특허청(EPO)(EP)<br/>PCT/EP2022/050135 2022년01월05일<br/>유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인<br/>비온테크 에스이<br/>독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12<br/>트론-트란슬라셔날레 온콜로지 안 데어 유니버시티<br/>태츠메디진 데어 요하네스 구텐베르크-유니버시티<br/>트 마인츠 게마인뉘치게 게엠베하<br/>독일 55131 마인츠 프라일리그라트슈트라쎄 12</p> <p>(72) 발명자<br/>자힌, 우구르<br/>독일 마인츠 55116 필립-폰-자베른-플라츠 1<br/>베버, 다비트<br/>독일 비스바덴 65189 하젠가르텐슈트라쎄 32에이<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>파도특허법인유한회사</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

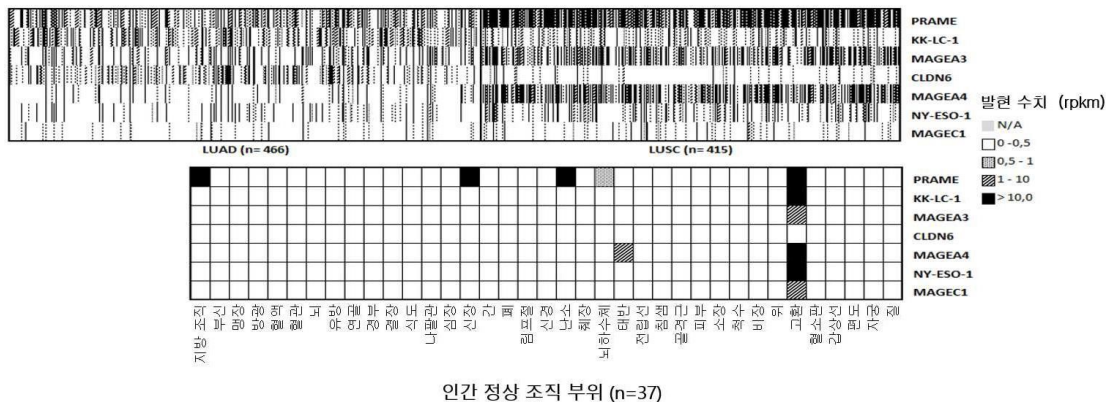
전체 청구항 수 : 총 83 항

(54) 발명의 명칭 폐암에 대한 치료학적 RNA

(57) 요약

본 발명은 폐암, 특히 비-소-세포 폐 암종 (NSCLC)을 치료하기 위한 RNA 분야에 관한 것이다. 폐암은 여성에서 3 번째로 가장 빈번한 악성 종양이고, 남성에서는 2 번째로 가장 빈번한 악성 종양이다. NSCLC는 전체 폐암의 약 85%를 차지한다. 본 발명은 폐암을 치료하기 위한 조성물, 용도 및 방법을 개시한다. 본원에 개시된 치료학적 RNA의 폐암 환자에서의 투여시 종양 크기 감소, 진행성 질환까지의 진행 시간 연장 및/또는 종양의 전이 및/또는 재발로부터 보호, 궁극적으로 생존 시간의 연장을 달성할 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

**A61K 39/001189** (2023.05)

**A61K 39/00119** (2023.05)

**A61K 9/0019** (2013.01)

**A61P 35/00** (2018.01)

**A61K 2039/5152** (2023.05)

**A61K 2039/5156** (2023.05)

**A61K 2039/53** (2013.01)

**A61K 2039/86** (2018.08)

(72) 발명자

**발터, 카리나**

독일 마인츠 55124 마인처 슈트라세 137비

**바레아 룰단, 디아나**

독일 알스하임 67577 인 텐 바인게르텐 1

**쿠너, 루프레흐트**

독일 오스트필덴 73760 넬링거 슈트라세 26

**하인, 메라니**

독일 마인크 55129 힌터 데어 헤케 52

**수잔, 마르틴**

독일 마인츠 55129 마인처 슈트라세 79

**키슬러, 베레나**

독일 운텐하임 55278 노르텔스하이머 베크 12

**크란츠, 레나 마린**

독일 호프하임 암 타우누스 65719 로르스바허 슈트  
라세 9

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 아미노산 서열을 암호화하는 RNA를 하나 이상 포함하는 조성물 또는 의학적 조제물:

- (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 번역원성 변이체, 또는 CLDN6의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 번역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 번역원성 변이체, 또는 PRAME의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

- (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 번역원성 변이체, 또는 CLDN6의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 번역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 번역원성 변이체, 또는 PRAME의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및
- (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 개별 RNA에 의해 암호화된, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) (i)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (i)의 아미노산 서열이 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (ii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (ii)의 아미노산 서열이 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (iii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (iii)의 아미노산 서열이 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (iv)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (iv)의 아미노산 서열이 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (v)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (v)의 아미노산 서열이 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (vi)의 아미노산 서열이 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산

서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,:

- (i) 서열번호 4의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- (ii) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- (iii) 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- (iv) 서열번호 16의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- (v) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA; 및
- (vi) 서열번호 24의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA

를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 하나 이상의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여되는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 각각의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여되는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열이 헬퍼 에피토프, 바람직하게는 파상풍 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 14

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- (ii) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열이 서열번호 33의 아미노산 서열, 또는 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 야생형 암호화 서열과 비교해 G/C 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 상기 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가가 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열은 변경하지 않는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 야생형 암호화 서열과 비교해 G/C 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 상기 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가가 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열은 변경하

지 않는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 5' 캡  $m_2^{7,2'-0}$ Gppp(5')G를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 5' 캡  $m_2^{7,2'-0}$ Gppp(5')G를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열이 MHC 분자, 바람직하게는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당하는 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열이 서열번호 31의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 폴리-A 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 폴리-A 서열을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 폴리-A 서열이 뉴클레오티드를 적어도 100개 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리-A 서열이 서열번호 37의 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 또는 이로 구성된, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 지질로서, 고체로서 또는 이들의 조합으로 제형화되는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 주사용으로 제형화되는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 정맥 투여용으로 제형화되는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 리포플렉스 입자로 제형화되거나 또는 제형화될 것인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA 리포플렉스 입자가 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 수득가능한, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA 하나 이상이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 함께 리포플렉스 입자로 공동-제형화되거나 또는 제형화될 것인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 37

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 각각의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 함께 리포플렉스 입자로 공동-제형화되거나 또는 제형화될 것인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 조성물인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 39

제38항에 있어서, 상기 약학적 조성물이 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 추가로 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 40

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 의학적 조제물이 키트인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 41

제40항에 있어서, RNA들이 분리된 바이얼들에 수용된, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 폐암을 치료 또는 예방하기 위한 상기 조성물 또는 의학적 조제물의 사용 설명서를 추가로 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 용도를 위한 것인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 44

제43항에 있어서, 상기 약학적 용도가 질환 또는 장애에 대한 치료학적 또는 예방학적 처치를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 45

제44항에 있어서, 상기 질환 또는 장애에 대한 치료학적 또는 예방학적 처치가 폐암의 치료 또는 예방을 포함하는, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 인간에 투여하기 위한 것인, 조성물 또는 의학적 조제물.

#### 청구항 47

하기 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA를 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 폐암을 치료하는 방법:

(i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;

(ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;

(iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;

(iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및

(v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및

(vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.

#### 청구항 48

제47항에 있어서,

- (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 번역원성 변이체, 또는 CLDN6의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 번역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 번역원성 변이체, 또는 PRAME의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및
- (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA를 투여하는 것을 포함하는, 방법.

#### 청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 별개의 RNA에 의해 암호화된, 방법.

#### 청구항 50

제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) (i)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- (ii) (i)의 아미노산 서열이 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 51

제47항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) (ii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- (ii) (ii)의 아미노산 서열이 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 52

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) (iii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- (ii) (iii)의 아미노산 서열이 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 53

제47항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) (iv)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호

15 또는 16의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (iv)의 아미노산 서열이 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 54

제47항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (v)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (v)의 아미노산 서열이 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 55

제47항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) (vi)의 아미노산 서열이 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 56

제47항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서,:

- (i) 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
  - (ii) 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
  - (iii) 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
  - (iv) 서열번호 16의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
  - (v) 서열번호 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA; 및
  - (vi) 서열번호 24의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA
- 를 투여하는 것을 포함하는, 방법.

#### 청구항 57

제47항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 하나 이상의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여되는, 방법.

#### 청구항 58

제47항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 각각의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여되는, 방법.

#### 청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서, 상기 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열이 헬퍼 에피토프, 바람직하게는 과상풍 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 포함하는, 방법.

#### 청구항 60

제57항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열이 서열번호 33의 아미노산 서열, 또는 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 61

제47항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 야생형 암호화 서열과 비교해 G/C 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 상기 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가가 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열은 변경하지 않는, 방법.

#### 청구항 62

제47항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 야생형 암호화 서열과 비교해 G/C 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 상기 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가가 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열은 변경하지 않는, 방법.

#### 청구항 63

제47항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G를 포함하는, 방법.

#### 청구항 64

제47항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G를 포함하는, 방법.

#### 청구항 65

제47항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함하는, 방법.

#### 청구항 66

제47항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함하는, 방법.

#### 청구항 67

제47항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 하나 이상의 아미노산 서열이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 68

제47항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 각각의 아미노산 서열이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 69

제67항 또는 제68항에 있어서, 상기 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열이 MHC 분자, 바람직하게

는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당하는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 70

제67항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA가 서열번호 32의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 32의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는

(ii) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열이 서열번호 31의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 71

제47항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는, 방법.

#### 청구항 72

제47항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는, 방법.

#### 청구항 73

제47항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 RNA가 폴리-A 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 74

제47항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 RNA가 폴리-A 서열을 포함하는, 방법.

#### 청구항 75

제73항 또는 제74항에 있어서, 상기 폴리-A 서열이 뉴클레오타이드를 적어도 100개 포함하는, 방법.

#### 청구항 76

제73항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리-A 서열이 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 또는 이로 구성된, 방법.

#### 청구항 77

제47항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 주사에 의해 투여되는, 방법.

#### 청구항 78

제47항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 정맥내 투여에 의해 투여되는, 방법.

#### 청구항 79

제47항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, RNA가 리포플렉스 입자로 제형화되는, 방법.

#### 청구항 80

제47항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA 리포플렉스 입자가 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 수득가능한, 방법.

#### 청구항 81

제79항 또는 제80항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 함께 리포플렉스 입자로 공동 제형화되는, 방법.

## 청구항 82

제79항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, (i), (ii), (iii), (iv), (v) 또는 (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 각각의 RNA가 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 함께 리포플렉스 입자로 공동 제형화되는, 방법.

## 청구항 83

제47항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체가 인간인, 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 폐암, 특히 비-소-세포 폐 암종 (NSCLC)을 치료하기 위한 RNA 분야에 관한 것이다. 폐암은 여성에서 3번째로 가장 빈번한 악성 종양이고, 남성에서는 2번째로 가장 빈번한 악성 종양이다. NSCLC는 전체 폐암의 약 85%를 차지하고 있다.

[0002] 본 발명은 폐암을 치료하기 위한 조성물, 용도 및 방법을 개시한다. 본원에 개시된 치료학적 RNA를 폐암 환자에게 투여시 종양 크기를 줄이고, 진행성 질환까지의 진행 시간을 연장하고, 및/또는 종양의 전이 및/또는 재발로부터 보호하고, 궁극적으로 생존 시간을 연장할 수 있다.

### 발명의 내용

[0003] 본 발명은 일반적으로 각각의 아미노산 서열이 종양 항원, 이의 면역원성 변이체 또는 종양 항원의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질을 포함하는, 아미노산 서열 세트, 즉 백신 항원을 암호화하는 RNA, 즉 백신 RNA를 투여하는 것을 포함하는 개체에 대한 면역치료학적 처치를 망라한다. 즉, 백신 항원은 개체에서 종양 항원에 대하여 면역 반응을 유도하기 위한 종양 항원의 에피토프를 포함한다. 백신 항원을 암호화하는 RNA는 표적 항원 (종양 항원) 또는 이의 가공 산물을 표적으로 하는 면역 반응을 유도, 즉, 자극, 감각화 및/또는 증폭하기 위한 항원을 (적절한 표적 세포에 의한 폴리뉴클레오티드 발현 후) 제공하기 위해 투여된다. 일 구현예에서, 본 발명에 따라 유도되는 면역 반응은 T 세포-매개 면역 반응이다. 일 구현예에서, 면역 반응은 항암, 특히 항-비-소-세포 폐 암종 (NSCLC)에 대한 면역 반응과 같은 항-폐암 면역 반응이다.

[0004] 본원에 기술된 백신은 수여체의 세포에 도입시 해당 단백질로 번역될 수 있는 단일 가닥 RNA를 활성 성분으로서 포함한다. 항원 서열을 암호화하는 야생형 서열 또는 코돈-최적화된 서열과 더불어, RNA는 안정성 및 번역 효율과 관련하여 RNA의 최대 효과를 달성하기 위해 최적화된 하나 이상의 구조 요소 (5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 폴리(A)-꼬리)를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, RNA는 이들 요소들을 모두 함유한다. 일 구현예에서,  $\beta$ -S-ARCA(D1)(m<sub>2</sub><sup>7,2'-0</sup>GppSpG)가 RNA 약물 물질의 5'-말단에 특이적인 캡핑 구조로서 이용될 수 있다. 5'-UTR 서열로서, 인간  $\alpha$ -글로빈 mRNA의 5'-UTR 서열이 선택적으로 번역 효율을 높이기 위해 최적화된 Kozak 서열과 함께 이용될 수 있다. 3'-UTR 서열로서, 더 높은 최대 단백질 수준 및 mRNA 존속 연장을 보장하기 위해 암호화 서열과 폴리(A)-꼬리 사이에 배치되는, "스플리트의 아미노 말단 인핸서"(AES) mRNA (F로 지칭됨) 및 미토콘드리아 암호화된 12S 리보솜 RNA (I로 지칭됨)로부터 유래한 2종의 서열 요소 (FI 요소)의 조합이, 이용될 수 있다. 이들 요소는 RNA 안정성을 부여하는 서열 및 전체 단백질의 발현을 강화하는 서열에 대한 생체의 선별 공정에 의해 동정되었다 (WO 2017/060314 참조, 원용에 의해 본원에 포함됨). 아울러, 아데노신 잔기 30개로 이루어진 가닥과 그 다음으로 뉴클레오티드 10개로 이루어진 링커 서열 (랜덤 뉴클레오티드) 및 다시 아데노신 잔기 70개로 이루어진 뉴클레오티드 110개 길이의 폴리(A)-꼬리도 이용될 수 있다. 이러한 폴리(A)-꼬리 서열은 RNA 안정성과 번역 효율을 강화하기 위해 고안되었다.

[0005] 일 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함한다. 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 백신 서열, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단에 직접 또는 링커를 통해 이격되어

융합될 수 있다. 선택적으로, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 항원성 펩타이드 또는 단백질 및 MITD를 아래에 추가로 기술한 바와 같이 연결할 수 있다. 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 암호화된 RNA일 수 있다. 일 구현예에서, 항원-표적화 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열에 대한 암호화 RNA와 함께 적용된다. 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 항원-암호화 RNA에 대해 전술한 안정성 및 번역 효율 (5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 폴리(A)-꼬리)과 관련한 RNA의 효능을 최대화하기 위해 최적화된 구조 요소를 함유할 수 있다.

[0006] 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 헬퍼 에피토프를 포함한다. 일 구현예에서, 헬퍼 에피토프는 클로스트리듐 테타니 (*Clostridium tetani*)의 파상풍 독소이드 (TT)로부터 유래한, 파상풍 독소이드-유래일 수 있으며, 예를 들어, 이로부터 유래한 P2P16 아미노산 서열일 수 있다. 이들 서열은 감각화 중에 종양-비특이적인 T 세포의 도움을 제공함으로써 자기-항원에 대한 면역 반응을 효과적으로 유도하는 자기-관용 기전을 극복하도록 뒷받침할 수 있다. 파상풍 독소이드 중쇄는 MHC 클래스 II 대립유전자에 무차별적으로 결합할 수 있으며 파상풍 백신을 접종받은 거의 모든 개체들에서 CD4+ 기억 T 세포를 유도할 수 있는 에피토프를 포함하고 있다. 아울러, TT 헬퍼 에피토프와 종양-관련 항원의 조합은 감각화 중에 CD4+ 매개 T-세포의 보조를 제공함으로써 종양-관련 항원을 단독 적용한 경우와 비교해 면역 자극을 개선하는 것으로 알려져 있다. CD8+ T 세포 자극 위험을 줄이기 위해, 무차별적으로 결합하는 헬퍼 에피토프를 함유한 것으로 알려진 펩타이드 서열 2종을 이용함으로써, 가능한 많은 수의 MHC 클래스 II 대립유전자들에 대해, 예를 들어, P2 및 P16에 대해 결합성을 보장할 수 있다.

[0007] 아울러, sec (방출 신호 펩타이드) 및/또는 MITD (MHC 클래스 I 수송 도메인)는 각각의 요소들이 N-말단 또는 C-말단 태그로서 각각 번역되는 방식으로 항원-암호화 영역 및/또는 헬퍼 에피토프-암호화 영역에 융합될 수 있다. 인간 MHC 클래스 I 복합체 (HLA-B51, 일배체형 A2, B27/B51, Cw2/Cw3)를 암호화하는 서열로부터 유래한 융합-단백질 태그는 항원 가공 및 제시를 개선하는 것으로 입증된 바 있다. Sec는 발생 초기 폴리펩타이드 사슬이 소포체로 이동하는 것을 안내하는 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 78 bp 단편에 해당할 수 있다. MITD는 MHC 클래스 I 수송 도메인이라고도 하는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당할 수 있다. 자신의 방출 신호 펩타이드 및 막관통 도메인을 가진 CLDN6과 같은 항원은 융합 태그를 첨가할 필요가 없을 수 있다. 융합 단백질에서 흔히 이용되는 바와 같이 아미노산 글리신 (G) 및 세린 (S)으로 구성된 주로 짧은 링커 펩타이드를 암호화하는 서열이 GS/링커로 이용될 수 있다.

[0008] 백신 RNA는 리포솜과 복합물을 형성하여, 정맥내 (i.v.) 투여를 위한 혈청-안정적인 RNA-리포플렉스 (RNA(LIP))를 구축할 수 있다. 여러가지 RNA 조합을 이용할 경우, RNA들은 각각 리포솜과 복합체로 형성되어 정맥내 (i.v.) 투여를 위한 혈청-안정적인 RNA-리포플렉스 (RNA(LIP))로 구축될 수 있다. RNA(LIP)는 림프 기관내 항원-제시 세포 (APC)를 표적으로 하므로, 면역 시스템을 효과적으로 자극하게 된다.

[0009] RNA 리포플렉스 입자는 에탄올 중의 지질 용액을 물 또는 적합한 수 상에 주입함으로써 수득할 수 있는 리포솜을 이용해 제조할 수 있다. 일 구현예에서, 수 상은 산성 pH를 가진다. 일 구현예에서, 수 상은 아세트산을, 예를 들어, 약 5 mM의 함량으로 포함한다. 리포솜은 리포솜을 RNA와 혼합함으로써 RNA 리포플렉스 입자를 제조하는데 이용할 수 있다. 일 구현예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 하나 이상의 양이온성 지질과 하나 이상의 추가적인 지질을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA)을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 추가적인 지질은 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA)을 포함하고, 하나 이상의 추가적인 지질은 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다. 일 구현예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA) 및 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질 : 하나 이상의 추가적인 지질의 물비는 약 2:1이다. 일 구현예에서, 생리학적 pH에서, RNA 리포플렉스 입자의 양 전하 : 음 전하의 전하 비는 약 1.6:2 내지 약 1:2, 또는 약 1.6:2 내지 약 1.1:2이다. 특정 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자의 양 전하 : 음 전하의 전하 비는 생리학적 pH에서 약 1.6:2.0, 약 1.5:2.0, 약 1.4:2.0, 약 1.3:2.0, 약 1.2:2.0, 약 1.1:2.0, 또는 약 1:2.0이다.

[0010] 일 구현예에서, 백신 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열에 대한 암호화 RNA와 함께 리포플렉스 입자로서 공동-제형화된다.

[0011] 일 측면에서, 본 발명은 하기 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA를 포함하는, 조성물 또는 의학적 조

제물에 관한 것이다:

- [0012] (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0013] (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0014] (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0015] (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0016] (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (Preferentially Expressed Antigen In Melanoma, PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0017] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하기 아미노산 서열들 중 하나 또는 둘다를 추가로 암호화한다:
- [0018] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0019] (vii) 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (New York esophageal squamous cell carcinoma-1, NY-ESO-1), 이의 면역원성 변이체, NY-ESO-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0020] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 추가로 하기 서열을 암호화한다:
- [0021] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0022] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하기 서열을 암호화한다:
- [0023] (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0024] (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0025] (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0026] (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0027] (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0028] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0029] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 별개의 RNA들에 의해 암호화된다.
- [0030] 일 구현예에서,
- [0031] (i) (i)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0032] (ii) (i)의 아미노산 서열은 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0033] 일 구현예에서,

- [0034] (i) (ii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0035] (ii) (ii)의 아미노산 서열은 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] 일 구현예에서,
- [0037] (i) (iii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0038] (ii) (iii)의 아미노산 서열은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0039] 일 구현예에서,
- [0040] (i) (iv)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0041] (ii) (iv)의 아미노산 서열은 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0042] 일 구현예에서,
- [0043] (i) (v)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0044] (ii) (v)의 아미노산 서열은 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0045] 일 구현예에서,
- [0046] (i) (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0047] (ii) (vi)의 아미노산 서열은 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0048] 일 구현예에서,
- [0049] (i) (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0050] (ii) (vii)의 아미노산 서열은 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열, 또는 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0051] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 하나 이상의 아미노산 서열은 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 하나 이상의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여된다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나 및/또는 각각의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여된다. 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 헬퍼 에피토프, 바람직하게는 과상표 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 포함한다. 일 구현예에서,
- [0052] (i) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드

드 서열을 포함하거나; 및/또는

- [0053] (ii) 번역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 서열번호 33의 아미노산 서열, 또는 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0054] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)의 하나 이상의 아미노산 서열은 야생형 암호화 서열과 비교해 GC 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가는 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열을 변경하진 않는다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)의 각각 아미노산 서열은 야생형 암호화 서열과 비교해 GC 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가는 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열을 변경하진 않는다.
- [0055] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 변형된 RNA, 특히 안정화된 mRNA이다. 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하나 이상의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 각각의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 각각의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드는 독립적으로 슈도우리딘 ( $\psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 ( $m_1\psi$ ) 및 5-메틸-우리딘 ( $m_5U$ )으로부터 선택된다.
- [0056] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}Gppp(5')G$ 를 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}Gppp(5')G$ 를 포함한다.
- [0057] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 5' UTR을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 5' UTR을 포함한다.
- [0058] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 하나 이상의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 MHC 분자, 바람직하게는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서,
- [0059] (i) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0060] (ii) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0061] 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 일 구현예에서,
- [0062] (i) 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 RNA는 서열번호 30의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 30의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0063] (ii) 방출 신호 펩타이드는 서열번호 29의 아미노산 서열, 또는 서열번호 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0064] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 3' UTR을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열

에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 3' UTR을 포함한다.

- [0065] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 폴리-A 서열은 뉴클레오타이드를 적어도 100개 포함한다. 일 구현예에서, 폴리-A 서열은 서열번호 37의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 또는 이로 구성된다.
- [0066] 일 구현예에서, RNA는 액체로서 제형화되거나, 고체로서 제형화되거나, 또는 이들의 조합이다. 일 구현예에서, RNA는 주사용으로 제형화된다. 일 구현예에서, RNA는 정맥내 투여용으로 제형화된다.
- [0067] 일 구현예에서, RNA는 리포플렉스 입자로 제형화되거나, 또는 리포플렉스 입자로 제형화될 것이다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 수득가능하다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 리포플렉스 입자로서 공동-제형화되거나, 또는 공동-제형화될 것이다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 각각의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 리포플렉스 입자로서 공동-제형화되거나, 또는 공동-제형화될 것이다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 약 4:1 내지 약 16:1, 약 6:1 내지 약 14:1, 약 8:1 내지 약 12:1 또는 약 10:1의 비율로 리포플렉스 입자로서 공동-제형화되거나, 또는 공동-제형화될 것이다.
- [0068] 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 하기를 포함한다:
- [0069] (i) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0070] (ii) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0071] (iii) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0072] (iv) 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0073] (v) 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및
- [0074] (vi) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA.
- [0075] 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 하기를 포함한다:
- [0076] (i) 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
- [0077] (ii) 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
- [0078] (iii) 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
- [0079] (iv) 서열번호 16의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA;
- [0080] (v) 서열번호 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA; 및
- [0081] (vi) 서열번호 24의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA.
- [0082] 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 약학적 조성물이다. 일 구현예에서, 약학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 추가로 포함한다.
- [0083] 일 구현예에서, 의학적 조제물은 키트이다. 일 구현예에서, RNA는 개별 바이얼 내에 존재한다.
- [0084] 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 폐암을 치료 또는 예방하기 위한 조성물 또는 의학적 조제물의 사용 설명서를 추가로 포함한다.
- [0085] 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 약학적 용도를 위한 것이다. 일 구현예에서, 약학적 용도는 질환 또는 장애에 대한 치료학적 처치 또는 예방학적 처치를 포함한다. 일 구현예에서, 질환 또는 장애에 대한 치료학적 또는 예방학적 처치는 폐암 치료 또는 예방을 포함한다. 일 구현예에서, 조성물 또는 의학적 조제물은 인간에 투여하기 위한 것이다.
- [0086] 다른 측면에서, 본 발명은 하기 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA를 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 폐암을 치료하는 방법에 관한 것이다:

- [0087] (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0088] (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0089] (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0090] (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0091] (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0092] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하기 아미노산 서열 중 하나 또는 둘다를 추가로 암호화한다:
- [0093] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0094] (vii) 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (NY-ESO-1), 이의 면역원성 변이체, NY-ESO-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0095] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 추가로 하기 서열을 암호화한다:
- [0096] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0097] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열을 암호화한다:
- [0098] (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0099] (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0100] (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0101] (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열;
- [0102] (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열; 및
- [0103] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열.
- [0104] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)의 각각 아미노산 서열은 개별 RNA들에 의해 암호화된다.
- [0105] 일 구현예에서,
- [0106] (i) (i)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0107] (ii) (i)의 아미노산 서열은 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0108] 일 구현예에서,
- [0109] (i) (ii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 7

또는 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0110] (ii) (ii)의 아미노산 서열은 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0111] 일 구현예에서,

[0112] (i) (iii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0113] (ii) (iii)의 아미노산 서열은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0114] 일 구현예에서,

[0115] (i) (iv)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0116] (ii) (iv)의 아미노산 서열은 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] 일 구현예에서,

[0118] (i) (v)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0119] (ii) (v)의 아미노산 서열은 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0120] 일 구현예에서,

[0121] (i) (vi)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0122] (ii) (vi)의 아미노산 서열은 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0123] 일 구현예에서,

[0124] (i) (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

[0125] (ii) (vii)의 아미노산 서열은 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열, 또는 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0126] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 하나 이상의 아미노산 서열은 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나, 및/또는 하나 이상의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여된다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 포함하거나, 및/또는 각각의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 공동-투여된다. 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 헬퍼 에피토프, 바람직하게는 파상풍 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 포함한다. 일 구현예에서,

[0127] (i) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는

- [0128] (ii) 면역 반응을 파괴하는 아미노산 서열은 서열번호 33의 아미노산 서열, 또는 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0129] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)의 하나 이상의 아미노산 서열은 야생형 암호화 서열과 비교해 GC 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가는 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열을 변경하지 않는다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)의 각각 아미노산 서열은 야생형 암호화 서열과 비교해 GC 함량이 증가되거나 및/또는 코돈-최적화된 암호화 서열에 의해 암호화되고, 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량 증가는 바람직하게는 암호화된 아미노산 서열의 서열을 변경하지 않는다.
- [0130] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 변형된 RNA, 특히 안정화된 mRNA이다. 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하나 이상의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 각각의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 하나 이상의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드는 독립적으로 슈도우리딘 ( $\psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\psi$ ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 선택된다.
- [0131] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G를 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 5' 캡  $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G를 포함한다.
- [0132] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 5' UTR을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 5' UTR을 포함한다.
- [0133] 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 하나 이상의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 또는 (vii)에서 각각의 아미노산 서열은 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 MHC 분자, 바람직하게는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당하는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서,
- [0134] (i) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0135] (ii) 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0136] 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 일 구현예에서,
- [0137] (i) 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 RNA는 서열번호 30의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 30의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0138] (ii) 방출 신호 펩타이드는 서열번호 29의 아미노산 서열, 또는 서열번호 또는 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0139] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 3' UTR을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 3' UTR을

포함한다.

- [0140] 일 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 각각의 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 폴리-A 서열은 뉴클레오티드를 적어도 100개 포함한다. 일 구현예에서, 폴리-A 서열은 서열번호 37의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하거나 또는 이로 구성된다.
- [0141] 일 구현예에서, RNA는 주사용으로 제형화된다. 일 구현예에서, RNA는 정맥내 투여용으로 제형화된다.
- [0142] 일 구현예에서, RNA는 리포플렉스 입자로 제형화된다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 수득가능하다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 리포플렉스 입자로서 공동-제형화된다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 각각의 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 리포플렉스 입자로서 공동-제형화된다. 일 구현예에서, (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) 및/또는 (vii)의 아미노산 서열을 암호화하는 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 약 4:1 내지 약 16:1, 약 6:1 내지 약 14:1, 약 8:1 내지 약 12:1, 또는 약 10:1의 비율로 리포플렉스 입자로서 공동-제형화된다.
- [0143] 일 구현예에서, 본 방법은 하기를 투여하는 것을 포함한다:
- [0144] (i) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0145] (ii) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0146] (iii) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0147] (iv) 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0148] (v) 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및
- [0149] (vi) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA.
- [0150] 일 구현예에서, 본 방법은 하기를 투여하는 것을 포함한다:
- [0151] (i) 서열번호 4의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- [0152] (ii) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- [0153] (iii) 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- [0154] (iv) 서열번호 16의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA;
- [0155] (v) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA; 및
- [0156] (vi) 서열번호 24의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA.
- [0157] 일 구현예에서, 개체는 인간이다.
- [0158] 일 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 방법에 이용하기 위한 본원에 기술된 RNA, 예를 들어,
- [0159] (i) claudin 6 (CLDN6), 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0160] (ii) Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0161] (iii) 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0162] (iv) 흑색종 항원 4 (MAGE-A4), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및
- [0163] (v) 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME), 이의 면역원성 변이체, 또는 PRAME의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA;
- [0164] 및 선택적으로, 하기 중 하나를 제공한다:

- [0165] (vi) 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA; 및/또는
- [0166] (vii) 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (NY-ESO-1), 이의 면역원성 변이체, NY-ESO-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA.
- [0167] 이용하기 위한 RNA에 대한 구현예들은, 예를 들어, 본 발명의 조성물 또는 의학적 조제물 또는 본 발명의 방법에 대해 본원에 기술된 바와 동일하다.

### 도면의 간단한 설명

- [0168] **도 1: NSCLC 종양 881종 및 정상 조직 부위 37종에서 표적 유전자의 RNA 발현 강도.**
- 발현 수치는 폐 선암종 (LUAD), 폐 편평 세포암 (LUSC) 및 정상 조직 부위에 대한 RNA 서열 데이터로부터 리드 /rpm (reads per kilobase million)로 계산하였다.
- 도 2: NSCLC 종양 881종에서 표적을 발현하는 종양 % 및 누적 커버리지.**
- 양성 종양들에서 RNA 서열 발현 데이터 및 컷오프는 개별 표적 발현 종양 % 및 표적 조합에 의해 달성되는 누적 커버리지를 비교하기 위해 포함하였다. 상단 숫자는 존재, 부재 및 표적-발현 수치를 나타낸다. 표적은 누적 커버리지를 높이기 위해 추가된 최고치 순서로 좌에서 우측 방향으로 순위를 매겼다.
- 도 3: NSCLC 종양 881종에서 4가지 표적 세트에 따른 표적 적어도 2종, 3종 또는 그 이상을 발현하는 종양의 비율.**
- 5 코어 표적 세트는 표적 5개 중 적어도 2개를 가진 종양의 약 60%를 망라하는 최소 표적 세트로서 KK-LC-1, MAGEA3, PRAME, MAGEA4 및 CLDN6을 포함한다. 6 표적 세트 2개는 MAGEC1 또는 NY-ESO-1을 포함한다. 7 표적 세트는 주어진 표적들을 모두 포함한다.
- 도 4: NSCLC 및 기타 폐 종양 164종 및 정상 조직 부위 43종에서 표적 RNA의 발현.**
- 발현 수치는 폐 선암종 (LUAD), 폐 편평 세포암 (LUSC), 기타 폐 종양 및 정상 조직 부위에 대한 정량적인 실시간 PCR 데이터로부터 계산하였다. 표준화된 발현 수치는 임의 단위 (a.u.)로 나타낸다.
- 도 5: NSCLC 및 기타 폐 종양 164종에서 표적을 발현하는 종양의 % 및 누적 커버리지.**
- 양성 종양들에서 qRT-PCR 발현 데이터 및 컷오프는 개별 표적 발현 종양 % 및 표적 조합에 의해 달성되는 누적 커버리지를 비교하기 위해 포함하였다. 상단 숫자는 존재, 부재 및 표적-발현 수치를 나타낸다. 표적은 누적 커버리지를 높이기 위해 추가된 최고치 순서로 좌에서 우측 방향으로 순위를 매겼다.
- 도 6: NSCLC 종양 및 기타 폐 종양 164종에서 4가지 서로 다른 표적 세트에 따른 표적 적어도 2종, 3종 또는 그 이상을 발현하는 종양의 비율.**
- 5 코어 표적 세트는 표적 5개 중 적어도 2개를 가진 종양의 약 60%를 망라하는 최소 표적 세트로서 KK-LC-1, MAGEA3, PRAME, MAGEA4 및 CLDN6을 포함한다. 6 표적 세트 2개는 MAGEC1 또는 NY-ESO-1을 포함한다. 7 표적 세트는 주어진 표적들을 모두 포함한다.
- 도 7: MAGEA3-, KK-LC-1-, CLDN6-, NY-ESO-1-, MAGEA4-, PRAME- 및 MAGEC1-암호화 RNA에 의한 비장에서 항원-특이적인 T 세포의 유도**
- MAGEA3, KK-LC-1, CLDN6, NY-ESO-1, MAGEA4, PRAME 및 MAGEC1을 암호화하는 RNA의 리포플렉스 제형으로 면역화한 마우스 비장에서 T 세포 작동자에 대한 IFN- $\gamma$  ELISPOT 분석. 최종 면역화한 후 5일차에 수득한 비장 세포를 각 인간 단백질을 망라하는 펩타이드 풀 또는 무관한 대조군 펩타이드로 재-자극하였다. MAGEC1 RNA의 경우, 비장 세포 자극은 MAGEC1에 대한 항원-암호화 RNA 또는 음성 대조군으로서 무관한 RNA가 전기영동으로 도입된, 배양한 마우스 BMDC를 이용해 수행하였다. 돛트는 개개 동물을 표시하고; 가로 막대는 동물 3마리의 평균  $\pm$  SD를 나타낸다.
- 도 8: KKL1, CLDN6 (A) 및 PRAME (B)에 대항하여 백신-유도된 CD8<sup>+</sup> 및 CD4<sup>+</sup> T-세포 반응.** 백신 접종 (V1) 전 및 백신 8회 접종 후 (FU) 환자 W05YAH (A) 및 AW8VMT (B)의 생체의 T 세포 반응을, PBMC를 개개 TAA PepMix로 펄싱한 후 측정하였다. 음성 대조군, PBMC/세포 단독: 배지와 함께 배양한 PBMC; 양성 대조군, 항-CD3 항체와

함께 배양한 PBMC.

**도 9: RT-qPCR에 의한 유전자 발현 분석 공정에 대한 개괄.**

**도 10: 인간 HLA-형질전환된 A2/DR1 마우스에서 BNT116에 의한 드 노보 항원-특이적인 CD8<sup>+</sup> T 세포 유도.**

1일, 8일 및 15일에, C57BL/6 A2/DR1 마우스에 2  $\mu$ g MAGE-A3 RNA-LPX (RBL003.3 [연구-등급], n=5) (A), 또는 PRAME, CLDN6, KK-LC-1, MAGE-A4, 또는 MAGE-C1 RNA-LPX (n = 3 /군) (B) (RBL012.2, RBL005.3, RBL007.2, RBL027.2, 또는 RBL035.2 [CTM], 각각)를 IV로 3회 백신 접종하였다. 20일차에 헬퍼 에피토프 P2P16을 망라하는 BNT116 펩타이드 믹스, 또는 P2P16P17 펩타이드 믹스로 생체외 재 자극한 후 비장 세포의 IFN- $\gamma$  생산으로 ELISpot에 의해 항원-특이적인 T 세포의 유도를 분석하였다. 대조군은 무관련 인간 사이토메갈로바이러스 (hCMV) pp65<sub>495-504</sub> 펩타이드로 재 자극하였다. 개개 데이터 포인트는 마우스 1마리 당 트리플리케이트의 평균을 나타낸다. 수직선 및 오차 막대는 각 군의 평균  $\pm$  SEM을 나타낸다. PRAME PepMix로 면역화된 PRAME RNA-LPX 군의 경우 마우스 1마리의 비장 세포를 재-자극한 결과, IFN- $\gamma$  스팟 개수는 매우 많아 계수할 수 없었다. 통계학적 분석 (B)을 수행하기 위해 스팟 1,700개로 가정하였다. 동족 또는 무관련 펩타이드 믹스로 재-자극한 군들 간의 통계학적 유의성을 일원식 반복 측정 ANOVA 및 듀넷의 다중 비교 검정에 의해 결정하였다. 참조: 스팟 카운트 민감성에 (A) 및 (B)에서 데이터 세트 간에 차이가 있었으며, 절대 수치는 비교할 수 없었다. \*p  $\leq$  0.05, \*\*p  $\leq$  0.01, \*\*\*\*p < 0.0001.

ANOVA = 분산분석; CTM = 임상 시험 자료; ELISpot = 효소-연계된 면역 흡착 스팟; hCMV = 인간 사이토메갈로바이러스; IFN = 인터페론; IV = 정맥내; RNA-LPX = 리보핵산 리포플렉스.

출처: Study No. R-21-0164 (A), R-21-0358 (B).

**도 11: 단일 주사로 투여된 BNT116에 의한 인간 HLA-형질전환 A2/DR1 마우스에서 항원-특이적인 T 세포의 드 노보 유도.**

C57BL/6 A2/DR1 마우스 (n = 6 /군)에, 먼저 제형화한 다음 혼합하거나 (공정 1) 또는 먼저 혼합한 다음 제형화한 (공정 2) BNT116 RNA 6종 모두의 혼합물 (PRAME [RBL012.2], CLDN6 [RBL005.3], KK-LC-1 [RBL007.2], MAGE-3 [RBL003.3], MAGE-A4 [RBL027.2] 및 MAGE-C1 [RBL035.2])을, 1일, 8일 및 15일에 3번 IV에 의해 백신 접종하였다. 공정 1에 따른 BNT116을 투여받는 마우스에는 마우스 당 10.8  $\mu$ g을 투여하고, 공정 2에 따른 BNT116을 투여받는 마우스에는 마우스 당 9.2  $\mu$ g을 투여하였다. 20일차에 헬퍼 에피토프 P2P16을 망라하는 BNT116 펩타이드 믹스 또는 P2P16P17 펩타이드 믹스로 생체외 재-자극한 후 비장 세포의 IFN- $\gamma$  생산으로 항원-특이적인 T 세포의 유도를 ELISpot에 의해 분석하였다. 대조군 세포는 무관련 인간 사이토메갈로바이러스 (hCMV) pp65<sub>495-504</sub> 펩타이드로 재 자극하였다. 개개 데이터 포인트는 마우스 1마리 당 트리플리케이트의 평균을 나타낸다. 수직선 및 오차 막대는 각 군의 평균  $\pm$  SEM을 나타낸다. 이상치는 Grubbs의 이상치 검정에 따라 제거하였다 ( $\alpha$  = 0.05; PRAME에서 제거된 이상치, 공정 2; KK-LC-1, 공정 1 및 2; MAGE-A3, 공정 2; MAGE-A4, 공정 2; 대조군, 공정 1). 통계학적 유의성은 언페어드, 양측 검정 (unpaired, two-tailed t test)에 의해 결정하였다. \*\*p  $\leq$  0.01. 유의한 차이만 표시하였다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

**서열 설명**

[0169]

[0170] 하기 표는 본 발명에서 참조한 구체적인 서열들의 목록을 제공한다.

| 서열 설명    |                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열<br>번호 | 설명                 | 서열                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| CLDN6    |                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 1        | CLDN6<br>(아미노산)    | MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWE<br>GLWMSCVVQSTGQMCKVYDSSLALPQDLQAARALCVIALLVLFGLLVY<br>LAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLPVCWTAHAIIRDFYNPLV<br>AEAQKRELGASLYLGWAASGLLLGGGLLCCTCPSSGGSQGPSHYMARYSTS<br>APAISRGPSSEYPTKNYV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 2        | CLDN6 융합<br>(아미노산) | MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWE<br>GLWMSCVVQSTGQMCKVYDSSLALPQDLQAARALCVIALLVLFGLLVY<br>LAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLPVCWTAHAIIRDFYNPLV<br>AEAQKRELGASLYLGWAASGLLLGGGLLCCTCPSSGGSQGPSHYMARYSTS<br>APAISRGPSSEYPTKNYVGGSGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKR<br>GGGKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 3        | CLDN6 (CDS)        | AUGGCCUCUGCCGGAUGCAGAUCCUGGGCGUGGUGCUGACCCUGC<br>UGGGCUGGGUGAAUGGCCUGGUGAGCUGUGCCUGCCCAUGUGGA<br>AGGUGACAGCCUUCAUUGGCAACAGCAUUGUGGUGGCCAGGUGGU<br>GUGGGAGGGCCUGUGGAUGAGCUGUGUGGUGCAGAGCACAGGCCA<br>GAUGCAGUGCAAGGUGUAUGACAGCCUGCUGGCCUGCCUCAGGAC<br>CUCCAGGCCGCCAGAGCCUGUGUGUGAUUGCCUGCUGGUGGGCC<br>UGUUUGGCCUGCUGGUGUACCUGGCUGGAGCCAAGUGCACCACCUG<br>UGUGGAGGAGAAGGACAGCAAGGCCAGACUGGUGCUGACCUCUGGC<br>AUUGUGUUUGUGAUCUCUGGCGUGCUGACCCUGAUCCUGUGUGC<br>UGGACAGCCCAUGCCAUCAUCAGAGACUUCUACAACCCUCUGGUGGC<br>CGAGGCCCAGAAAAGAGAGCUGGGAGCCAGCCUGUACCUGGGCUGG<br>GCCGCCUCUGGCCUUCUUCUGCUGGGAGGAGGACUGCUGUGCUGCA<br>CCUGCCCCUCUGGCGGCAGCCAGGGCCCCAGCCACUACAUGGCCAGA<br>UACAGCACCUUGCCCCUGCCAUCAGCAGAGGCCCCUUCUGAGUACCC<br>CACCAAGAACUAUGUG |

[0171]

|         |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4       | CLDN6 (RNA)          | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGGCCUCUGCCGGAUUGCAGAUCCUGGGCGUGGUGCUGA<br>CCCUUGCUGGGCUGGGUGAAUGGCCUGGUGAGCUGUGCCCUGCCCAU<br>GUGGAAGGUGACAGCCUUCAUUGGCAACAGCAUUGUGGUGGCCAG<br>GUGGUGUGGGAGGGCCUGUGGAUGAGCUGUGUGGUGCAGAGCACA<br>GGCCAGAUGCAGUGCAAGGUGUAUGACAGCCUGCUGGCCUGCCUC<br>AGGACCUCAGGCCGCCAGAGCCUGUGUGUGAUUGCCUGCUGGU<br>GGCCUGUUGGCCUGCUGGUGUACCUGGCUGGAGCCAAGUGCACC<br>ACCUUGUGUGGAGGAGAAGGACAGCAAGGCCAGACUGGUGCUGACCU<br>CUGGCAUUGUGUUUGUGAUCUCUGGCGUGCUGACCCUGAUCCCUG<br>UGUGCUGGACAGCCAUGCCAUCAUCAGAGACUUCUACAACCCUCUG<br>GUGGCCGAGGCCAGAAAAGAGAGCUGGGAGCCAGCCUGUACCUGG<br>GCUGGGCCGCCUCUGGCCUUCUUCUGCUGGGAGGAGGACUGCUGUG<br>CUGCACCUGCCCCUCUGGCGGCAGCCAGGGCCCCAGCCACUACAUGGC<br>CAGAUACAGCACCUCUGCCCCUGCCAUCAGCAGAGGCCCUUCUGAGU<br>ACCCACCAAGAACUAUGUGGGGAGGAUCCGGUGGUGGGCGGCAGCGG<br>CGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAAGUUCAUCGGCAUCA<br>CCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGGCGGCAAAAA<br>GAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCU<br>ACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACAGGGCGCUCAG<br>GGCAAGAAACUGUGACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUA<br>GCUGCCCCUUCGCGUCCUGGGUACCCGAGUCUCCCCGACCUCGG<br>GUCCAGGUAUGCUCCACCUCACCUGCCCCACUACCACCUCUGCU<br>AGUUCAGACACCUCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUAAAACGCUU<br>AGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCA<br>AUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCAGGGUUGGUCAA<br>UUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGU<br>CGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA |
| KK-LC-1 |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 5       | KK-LC-1<br>(아미노산)    | MNFYLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPSSSGLINSN<br>TDNNLAVYDLSDILNPFHSIARQKRILVNLMSVENKLVELEHTLLSKGFR<br>GASPHRKST                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 6       | KK-LC-1 융합<br>(아미노산) | MNFYLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPSSSGLINSN<br>TDNNLAVYDLSDILNPFHSIARQKRILVNLMSVENKLVELEHTLLSKGFR<br>GASPHRKSTGGSGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKKM<br>TNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQGAQGKKL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

[0172]

|        |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7      | KK-LC-1 (CDS)    | AUGAACUUUUUACCUGCUGCUUGCCAGCAGCAUUCUGUGCGCCUGA<br>UUGUGUUUUUGGAAAUACAGAAGAUUUCAGAGAAACACAGGAGAAA<br>UGUCUUCCAAUUAACAGCUCUGGCUCUGGUGAGACCUUCUUCUUC<br>UGGACUGAUCAAUCCAACACAGACAACAAUCUGGCUGUGUACGAU<br>CUGUCCAGAGACAUUCUGAAACAAUUUCCUCACUCAAUUGCAAGAC<br>AGAAAAGAAUUCUGGUGAAUCUGUCAAUUGGUGGAAAACAAACUGG<br>UGGAACUGGAACACACACUUCUGAGCAAAGGAUUCAGAGGAGCUUC<br>UCCUCACAGAAAUCCACA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 8      | KK-LC-1 (RNA)    | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGAACUUUUUACCUGCUGCUUGCCAGCAGCAUUCUGUGCG<br>CCUGAUUUGUGUUUUUGGAAAUACAGAAGAUUUCAGAGAAACACAG<br>GAGAAAUGUCUUCCAAUUAACAGCUCUGGCUCUGGUGAGACCUUC<br>UUCUUCUGGACUGAUCAAUCCAACACAGACAACAAUCUGGCUGUG<br>UACGAUCUGUCCAGAGACAUUCUGAACAAUUUCCUCACUCAAUUG<br>CAAGACAGAAAAGAAUUCUGGUGAAUCUGUCAAUUGGUGGAAAACA<br>AACUGGUGGAACUGGAACACACACUUCUGAGCAAAGGAUUCAGAGG<br>AGCUUCUCCUCACAGAAAUCCACAGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGC<br>AGCGGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAAGUUAUCG<br>GCAUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGCGG<br>CAAAAAGAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAACAGCACCA<br>AGAUCUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGC<br>GCUCAGGGCAAGAAACUGUGACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCA<br>AUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCGA<br>CCUCGGGUCCCAGGUUUGCUCCACCUCACCUGCCCCACUACCACC<br>UCUGCUAGUUCAGACACCUCCTCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUAAA<br>ACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCU<br>UUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCAGGGUU<br>GGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUA<br>GCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUA<br>UGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA |
| MAGEA3 |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 9      | MAGEA3<br>(아미노산) | MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSTLVEVTLG<br>EVPAAESPDPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEGPSTFPDLE<br>SEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSK<br>ASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYIFATCLGLSYDGLLDGNQIMPKAGLLIIVLA<br>IIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGRSILGDPKLLTQHFVQENYLEYRQ<br>VPGSDPACYEFLWGPRLVETSYVKVLHMHMVKISGGPHISYPPLHEWVLR<br>GEE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

[0173]

|    |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 | MAGEA3<br>융합<br>(아미노산) | MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMPLEQRSQHCKPE<br>EGLARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQS<br>PQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAE<br>LVHFLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELM<br>EVDPIGHLIYIFATCLGLSYDGLLDNQIMPKAGLLIIVLAIAREGDCAPEEKI<br>WEELSVLEVFEGREDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFL<br>WGPRALVETSYVKVLHMHMVKISGGPHISYPPLHEWVLRGEEGGSGGGGS<br>GGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGKGMTNSVDDALINSTKIYSYFP<br>SVISKVNQGAQGGKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVA<br>TVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVDVSLTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 11 | MAGEA3<br>(CDS)        | AUGCCCUUGAACAGCGCUCACAGCACUGCAAACUGAGGAGGGCCU<br>UGAAGCAAGGGCGAAGCUCUGGGGUUGGUCGGUGACAAGCACCC<br>GCCACUGAGGAACAGGAAGCCGCGUCUAGCUCAUCAACCCUGGUUG<br>AAGUGACACUGGGCGAAGUGCCUGCUGCGGAGAGUCCAGACCCUCC<br>CAGUCCCCUCAAGGCGCUUCUAGCCUGCCUACCACGAUGAACUACCC<br>ACUGUGGUCACAGAGCUAUGAGGACAGUUCCAAUCAAGAAGAAGAA<br>GGCCCGUCUACCUUCCCCGAUCUUGAGUCCGAGUUCAGGGCGGCUU<br>GUCCCGGAAGGUGGCAGAGCUCGUGCACUUCUCCUGUUGAAGUUAU<br>CGAGCCGGGAGCCUGUCACUAAGGCCGAAUUGCUGGGCUCUGUAG<br>UGGGGAAUUGGCAGUAUUUCUCCCCGUGAUCUUCAGCAAAGCCUC<br>CAGCAGCCUGCAAUUGGUGUUCGUAUUGAACUGAUGGAAGUAGA<br>UCCGAUUGGGCAUCUGUACAUCUUCGACAUUGUCUGGGACUGUCC<br>UAUGACGGACUGCUCGGGGAUAACCAGAUUAUGCCGAAAGCCGGUC<br>UGCUGAUCAUAGUUCUGCCAUAUUGCCAGAGAGGGAGAUUGUGC<br>UCCAGAGGAGAAGAUUGGGAGGAUUGUCUGUGCUGGAGGUCUU<br>UGAGGGUAGGGAGGACAGCAUUCUGGCGAUCCCAAGAAACUCCUG<br>ACCCAGCACUUUGUCCAGGAGAAUACCUCGAAUACAGACAGGUUCC<br>AGGCAGUGACCCUGCUUGCUACGAGUCCUUGGGGACCCGUGCA<br>UUGGUAGAGACAAGCUAUGUCAAGUGCUGACCAUAUGGUGAAG<br>AUUUCUGGAGGACCACAUCAUAGUUACCCACCCUUCUAGAGUGGG<br>UUCUGCGCGAAGGGGAGGAG |

[0174]

|    |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12 | MAGEA3<br>(RNA) | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUC<br>UGGCGCCCUUGGCCUGACAGAGACAUGGCCCGGAAGCGGGCUCUCU<br>GGAGGAGGCGGCUCCGGAGGCAUGCCCCUGAACAGCGCUCACAGCA<br>CUGCAAACCUAGAGGAGGGCCUUGAAGCAAGGGGCGAAGCUCUGGGG<br>UUGGUCGGUGCACAAGCACCCGCCACUGAGGAACAGGAAGCCGCGUC<br>UAGCUCAUCAACCCUGGUUGAAGUGACACUGGGCGAAGUGCCUGCU<br>GCGGAGAGUCCAGACCCUCCCCAGUCCCCUCAAGGCGCUUCUAGCCU<br>GCCUACCACGAUGAACUACCCACUGUGGUCACAGAGCUAUGAGGACA<br>GUUCCAUAAGAAGAAGAAGGCCCGUCUACCUUCCCCGAUCUUGA<br>GUCCGAGUUUCAGGCCGCUUGUCCCGAAGGUGGCAGAGCUCGUG<br>CACUUUCUCCUGUUGAAGUAUCGAGCCCGGGAGCCUGUCACUAAGG<br>CCGAAAUGCUGGGCUCUGUAGUGGGGAUUUGGCAGUAUUUCUCC<br>CCGUGAUCUUCAGCAAAGCCUCCAGCAGCCUGCAAUUGGUGUUCGG<br>UAUUGAACUGAUGGAAGUAGAUCCGAUUGGGCAUCUGUACAUCUU<br>UGCGACAUGUCUGGGACUGUCCUAUGACGGACUGCUCGGGGAUAA<br>CAGAUUAUGCCGAAAGCCGGUCUGCUGAUCAUAGUUCUGCCAUA<br>UUGCCAGAGAGGGAGAUUGUGCUCCAGAGGAGAAGAUUGGGAGG<br>AAUUGUCUGUGCUGGAGGUCUUUGAGGGUAGGGAGGACAGCAUUC<br>UCGGCGAUCCCAAGAAACUCCUGACCCAGCACUUUGUCCAGGAGA<br>UACCUCGAAUACAGACAGGUUCCAGGCAGUGACCCUGCUUGCUACG<br>AGUCCUUUGGGGACCCCGUGCAUUGGUAGAGACAAGCUAUGUCA<br>AGUGCUGACCAUAUGGUGAAGAUUUCUGGAGGACCACACUAGU<br>UACCCACCCUUCUAGAGUGGGUUCUGCGCGAAGGGGAGGAGGGAG<br>GAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCGCAAGAAGCAGUACAUAAGGC<br>CAACAGCAAGUUAUCGGCAUACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGG<br>GGCAAACGGGGAGGCGGCAAAAAGAUACCAACAGCGUGGACGACG<br>CCUGAUACAACAGCACCAAGAUUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUC<br>AGCAAAGUGAACAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGCUCUAGCG<br>GAGGGGGAGGCUCCUGGCGGGGGAUCUAGCAUCGUGGGAAUUG<br>UGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGG<br>UGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGG<br>CAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCAGGGCAGCGACG<br>UGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAA<br>UGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCGAGUCUCCCCGAC<br>CUCGGGUCCCAGGUUUGCUCCACCUCCACCUGCCCCACUACCACCU<br>CUGCUAGUUCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUAAAA<br>CGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCU<br>UAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCAGGGUUG<br>GUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGC<br>CGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUUG<br>ACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA |
|    | MAGEA4          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

[0175]

|    |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 13 | MAGEA4<br>(아미노산)       | MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQKSQHCPEEGVEAQEEAL<br>GLVGAQAPTTEEQEAASVSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGASALPT<br>TISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKVDELAHFLLRKYR<br>AKELVTKAEMLERVIKRYKRCFPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTL<br>VTCLGLSYDGLLGNNQIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGV<br>YDGREHTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGPRALA<br>ETSYVKVLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEEGV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 14 | MAGEA4<br>융합<br>(아미노산) | MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQKSQHCPEEGVEAQEEAL<br>GLVGAQAPTTEEQEAASVSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGASALPT<br>TISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKVDELAHFLLRKYR<br>AKELVTKAEMLERVIKRYKRCFPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTL<br>VTCLGLSYDGLLGNNQIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGV<br>YDGREHTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGPRALA<br>ETSYVKVLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEEGVGGSGGGSGGKKQY<br>IKANSKFITELKKLGSGGKRGSGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVN<br>QGAQGGKLGSSGGGGSPGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRR<br>KSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVDVSLTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 15 | MAGEA4<br>(CDS)        | AUGCUGCCUCUGUCUGUGGGCCUGUGGGUGCCAAUUGCCAGCUGC<br>UGCCUGCCUCUGCUGCCUGCUGCCUGACCAGAGUGAUGUCUUC<br>UGAGCAGAAGUCUCAGCACUGCAAGCCUGAGGAGGGAGUGGAGGCC<br>CAGGAGGAGGCCUGGGCCUGGUGGGAGCCCAGGCCCAACAACAGA<br>GGAGCAGGAGGCGUCUGUGAGCAGCAGCAGCCUCUGGUGCCUGGC<br>ACACUGGAGGAGGUGCCUGCUGCUGAGUCUGCUGGACCUCUCAGU<br>CUCCUCAGGGAGCCUCUGCCUGCCUACAACAUCAGCUUCACAU<br>UGGAGACAGCCCAUUGAGGGCAGCAGCAGCCAGGAGGAGGAGGGCC<br>CAAGCACCUCUCCUGAUGCCGAGAGCCUGUUCAGAGAGGCCUGAGC<br>AACAAGGUGGAUGAGCUGGCCACUUUCUGCUGAGAAAGUACAGAG<br>CCAAGGAGCUGGUGACAAAGGCUGAAAUGCUGGAAAGAGUGAUCA<br>AGAAUUAACAAGAGAUUCUUCCUGUGAUCUUUGGCAAAGCCUCUG<br>AAUCUCUGAAGAUGAUCUUUGGCAUUGAUGUGAAGGAAGUGGACC<br>CUGCCAGCAACACCUACACCCUGGUGACCUGCCUGGGCCUGAGCUAU<br>GAUGGCCUGCUGGGCAACAUCAGAUUCUUCCAAGACAGGCCUGC<br>UGAUCAUUGUGCUGGGCACAUCUUGCAUGGAGGGAGAUUCUGCCU<br>CUGAGGAGGAGAUUCUGGGAGGAGCUGGGAGUGAUGGGAGUGUAU<br>GAUGGCAGAGAACACACAGUGUAUGGAGAACCAGAAAACUGCUGA<br>CCCAGGAUUGGGUGCAGGAAAUAUCCUGGAGUACAGACAGGUGCC<br>UGGCAGCAAUCCUGCCAGAUUGAGUUCUGUGGGGACCAAGAGCU<br>CUGGCUGAAACAUCUUAUGUGAAAGUGCUGGAGCAUGUGGUGAGA<br>GUGAAUGCCAGAGUGAGAAUUGCCUACCCUUCUCUGAGAGAGGCUG<br>CUCUGCUGGAGGAGGAGGAGGGAGUG |

[0176]

|       |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 16    | MAGEA4<br>(RNA) | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGCUGCCUCUGUCUGUGGGCCUGUGGGUGCCAAUUGCCC<br>AGCUGCUGCCUGCCUGCCUGCCUGCCUGACCAGAGUGAUCAUG<br>UCUUCUGAGCAGAAGUCUCAGCACUGCAAGCCUGAGGAGGGAGUGG<br>AGGCCCAGGAGGAGGCCUGGGCCUGGUGGGAGCCAGGCCCAACA<br>ACAGAGGAGCAGGAGGCCUGCUGUGAGCAGCAGCAGCCUCUGGUGC<br>CUGGCACACUGGAGGAGGUGCCUGCUGCUGAGUCUGCUGGACCUCC<br>UCAGUCUCCUCAGGGAGCCUCUGCCUGCCUACAACAAUCAGCUUCA<br>CAUGCUGGAGACAGCCAAUGAGGGCAGCAGCAGCCAGGAGGAGGA<br>GGGCCCAAGCACCUCUCCUGAUGCCGAGAGCCUGUUCAGAGAGGCC<br>UGAGCAACAAGGUGGAUGAGCUGGCCACUUUCUGCUGAGAAAGUA<br>CAGAGCCAAGGAGCUGGUGACAAAGGCUGAAAUGCUGGAAAGAGU<br>GAUCAAGAAUACAAGAGAUGCUUUCUGUGAUCUUUGGCAAAGCC<br>UCUGAAUCUCUGAAGAUGAUCUUUGGCAUUGAUGUGAAGGAAGUG<br>GACCCUGCCAGCAACACCUACACCCUGGUGACCUGCCUGGGCCUGAG<br>CUAUGAUGGCCUGCUGGGCAACAAUCAGAUUUUCCCAAGACAGGC<br>CUGCUGAUCAUUGUGCUGGGCACAAUUGCCAUGGAGGGAGAUUCU<br>GCCUCUGAGGAGGAGAUUCUGGGAGGAGCUGGGAGUGAUGGGAGUG<br>UAUGAUGGCAGAGAACACAGUGUAUGGAGAACCCAGAAAACUGC<br>UGACCCAGGAUUGGGUGCAGGAAAAUACCUGGAGUACAGACAGG<br>UCCUGGCAGCAAUCCUGCCAGAUAGAGUUCUGUGGGGACCAAG<br>AGCUCUGGCUGAAACAUCUUAUGUGAAAGUGCUGGAGCAUGUGGU<br>GAGAGUGAAUGCCAGAGUGAGAAUUGCCUACCCUUCUCUGAGAGAG<br>GCUCGUCUGCUGGAGGAGGAGGAGGGAGUGGGAGGAUCCGGUGGU<br>GGCGGCAGCGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAAGU<br>UCAUCGGCAUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGG<br>AGGCGGCAAAAAGAUAGCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAACA<br>GCACCAAGAUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAAC<br>CAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGCUCUAGCGAGGGGGAGGCU<br>CUCCUGGCGGGGGAUCUAGCAUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGG<br>CAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGA<br>UGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCA<br>GGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAG<br>CCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCC<br>UUUCCCGUCCUGGGUACCCGAGUCUCCCCGACCUCGGGUCCCAGG<br>UAUGCUCACCACCUCACCGUCCCCACUACCAACCUCUGCUAGUUCAG<br>ACACCUCCAAGCAGCAGCAUUGCAGCUAAAACGCUUAGCCUAGC<br>CACACCCACGGAACAGCAGUGAUUAACCUUAGCAAUAAACGA<br>AAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGC<br>CAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUUGACUAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAA |
| PRAME |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

[0177]

|    |                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17 | PRAME<br>(아미노산)    | MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPPRLVELAGQSLKDEALIAIALELLPREL<br>FPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMMKGQHLHLETFKAVL<br>DGLDVLLAQEVRRRWKLQVLDLRKNSHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPE<br>AAQPMTKKRKVDGLSTAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRK<br>KNVLRCLCKKLIKIFAMPMPQDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFS<br>PYLGQMINLRRLLSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFSLQCLQALYVDSL<br>FLRGRDQLLRHVMNPLETSLITNCRLESGDVMHLSQSPSVLSVLSLGSV<br>MLTDVSPEPLQALLERASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTL<br>FYGNSISISALQSLQLHIGLSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAYLHARL<br>RELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYDPEILPCFMPN                                                                                                                                                                                                   |
| 18 | PRAME 융합<br>(아미노산) | MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGGGGGGSGGMERRRLWGSIQSR<br>YISMSVWTSPPRLVELAGQSLKDEALIAIALELLPRELFPPLFMAAFDGRH<br>SQTLMAMVQAWPFTCLPLGVLMMKGQHLHLETFKAVLDGLDVLLAQEVRP<br>RRWKLQVLDLRKNSHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVD<br>GLSTAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKKNVLRCLCKKLIKIF<br>AMPMPQDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFSPLYGQMINLRRLL<br>SHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFSLQCLQALYVDSLFFLRGRDQLLRHV<br>MNPLETSLITNCRLESGDVMHLSQSPSVLSVLSLGSVMLTDVSPEPLQAL<br>LERASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLFYGNSISISALQSL<br>QLHIGLSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMV<br>WLSANPCPHCGDRTFYDPEILPCFMPNNGSGGGGGSGGKKQYIKANSKF<br>IGITELKLGKKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFSPVSKVNQGAQGGK<br>KLGSSGGGGSPGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKG<br>GSYSQAASSDSAQGSVDLSLA |

[0178]

|    |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 19 | PRAME (CDS) | AUGGAACGAAGGCGUUUGUGGGGUUCCAUAUCAGAGCCGAUACAUC<br>AGCAUGAGUGUGGACAAGCCACGGAGACUUGUGGAGCUGGCAG<br>GGCAGAGCCUGCUGAAGGAUGAGGCCUGGCAUUGCCGCCUGGA<br>GUUGCUGCCAGGGAGCUGUUCGCCACUGUUAUGGCAGCCUUU<br>GACGGGAGACACAGCCAGACCCUGAAGGCAAUGGUGCAGGCCUGGC<br>CUUACCCUGCCUCCUUGGGAGUGCUGAUGAAGGGACAACAUCUU<br>CACCUGGAGACCUUCAAAGCUGUGCUUGAUGGACUUGAUGUCUCC<br>UUGCCAGGAGGUUCGCCCAGGAGGUGGAAACUUAAGUGCUGGA<br>UUUACGGAAGAACUCUCAUCAGGACUUCUGGACUGUAUGGUCUGG<br>AAACAGGGCCAGUCUGUACUUAUUCAGAGCCAGAAGCAGCUCAGC<br>CCAUGACAAAGAAGCGAAAAGUAGAUGGUUUGAGCACAGAGGCAGA<br>GCAGCCCUUAUUCAGUAGAGGUGCUGUAGACCUGUUCCUCAAG<br>GAAGGUGCCUGUGAUGAAUUGUUCUCCUACCUCUAUGAGAAAGUG<br>AAGCGAAAGAAAAUUGUACUACGCCUGUGCUGUAAGAAGCUGAAGA<br>UUUUUGCAAUGCCCAUGCAGGAUAUCAAGAUGAUCCUGAAAAUGG<br>UGCAGCUGGACUCUAUUGAAGAUUUGGAAGUGACUUGUACCUGGA<br>AGCUACCCACCUUGGCGAAAUUUCUCCUUAACUGGGCCAGAUGAU<br>UAAUCUGCGUAGACUCCUCCUCCCAUCCAUGCAUCUCCUACA<br>UUUCCCCGAGAAGGAGGAACAGUAUAUCGCCAGUUCACCUCA<br>GUUCCUCAGUCUGCAGUGCCUCCAGGCUCUCUAUGUGGACUUA<br>UUUUUCCUUAAGAGGCCGCCUGGAUCAGUUGCUCAGGCACGUGAUGA<br>ACCCCUUGGAAACCCUCUAUAACUAAUCGCCGCCUUUCGGAAGGG<br>GAUGUGAUGCAUCUGUCCAGAGUCCAGCGUCAGUCAGCUAAGUG<br>UCCUGAGUCUAAGUGGGGUCAUGCUGACCGAUGUAAGUCCGAGCC<br>CCUCCAAGCUCUGCUGGAGAGAGCCUCUGCCACCCUCCAGGACCUGG<br>UCUUUGAUGAGUGUGGGAUCAGGAUGAUCAGCUCCUUGCCUCCU<br>GCCUCCCCUGAGCCACUGCUCUCCAGCUUACAACCUUAAGCUUCACG<br>GGAAUCCAUCUCCAUAUCUGCCUUGCAGAGUCCUUGCAGCACCUC<br>AUCGGGCGUGAGCAAUCUGACCCACGUGCUGUAUCCUGUCCCCUGG<br>AGAGUUUAUGAGGACAUCUAGGUACCCUCCACCUUGGAGAGGCUUGC<br>CUAUCUGCAUGCCAGGCUCAGGGAGUUGCUGUGAGUUGGGGCG<br>GCCAGCAUGGUCUGGCUUAGUGCCAACCCUGUCCUCACUGUGGG<br>GACAGAACCUUCAUGACCCGAGCCCAUCCUGUGCCCCUGUUUCAU<br>GCCUAAC |
|----|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

[0179]

|    |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 20 | PRAME (RNA) | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCUGAUCCUGCUGUC<br>UGGCGCCCUGGCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGCGGCU<br>GGAGGAGGCGGCUCCGGAGGCAUGGAACGAAGGCGUUUGUGGGU<br>UCCAUUCAAGAGCCGAUACAUCAGCAUGAGUGUGUGGACAAGCCAC<br>GGAGACUUGUGGAGCUGGCAGGGCAGAGCCUGCUGAAGGAUGAGG<br>CCUGGCCAUUGCCGCCUGGAGUUGCUGCCAGGGAGCUGUCCCCG<br>CCACUGUUAUGGCAGCCUUUGACGGGAGACACAGCCAGACCCUGAA<br>GGCAAUGGUGCAGGCCUGGCCUUCACCUGCCUCCUCUGGGAGUGC<br>UGAUGAAGGGACAACAUCUUCACCUGGAGACCUCAAAGCUGUGCU<br>UGAUGGACUUGAUGUGCUCCUUGCCCAGGAGGUUCGCCCCAGGAGG<br>UGGAAACUUAAGUGCUGGAUUUACGGAAGAACUCUCAUCAGGACU<br>UCUGGACUGUAUGGUCUGGAAACAGGGCCAGUCUGUACUCAUUUC<br>AGAGCCAGAAGCAGCUCAGCCAUAGACAAAGAAGCGAAAAGUAGAU<br>GGUUUGAGCACAGAGGCAGAGCAGCCUUCAUUCCAGUAGAGGUGC<br>UCGUAGACCUGUUCUCAAGGAAGGUGCCUGUGAUGAAUUGUUCU<br>CCUACCUCAUUGAGAAAGUGAAGCGAAAGAAAAUAGUACUACGCCU<br>GUGCUGUAAGAAGCUGAAGAUUUUUGCAAUGCCCAUGCAGGAUUA<br>CAAGAUGAUCCUGAAAAUGGUGCAGCUGGACUCUAUUGAAGAUUU<br>GGAAGUGACUUGUACCUGGAAGCUACCCACCUUGGCGAAAUUUUCU<br>CCUUAACCUGGGCCAGAUGAUUAAUCUGCGUAGACUCCUCCUCUCCA<br>CAUCCAUGCAUCUUCUACAUUUCCCCGGAGAAGGAGGAACAGUAU<br>AUCGCCAGUUCACCUCUCAGUUCUCCAGUCUGCAGUGCCUCCAGGC<br>UCUCUAUGUGGACUCUUUAUUUUUCCUAGAGGCCGCCUGGAUCA<br>GUUGCUCAGGCACGUGAUGAACCCUUGGAAACCCUCUAAUAACU<br>AACUGCCGGCUUUCGGAAGGGGAUGUGAUGCAUCUGCCAGAGUC<br>CCAGCGUCAGUCAGCUAAGUGUCCUGAGUCUAGUGGGGUAUGCU<br>GACCGAUGUAAGUCCCGAGCCCUCAAGCUCUGCUGGAGAGAGCCU<br>CUGCCACCCUCCAGGACCUGGUCUUUGAUGAGUGUGGGAUCACGGA<br>UGAUCAGCUCUUGCCUCCUGCCUUCUCCUGAGCCACUGCUCUCCAGC<br>UUACAACCUUAAGCUUCUACGGGAUUCCAUCUCCAUAUCUGCCUU<br>GCAGAGUCUCCUGCAGCACCUCUACUGGGCUGAGCAAUCUGACCCACG<br>UGCUGUAUCCUGUCCCCUGGAGAGUUAUGAGGACAUCUAGGUAC<br>CCUCCACCUGGAGAGGCUUGCCUACUGCAUGCCAGGCUCAGGGAG<br>UUGCUGUGUGAGUUGGGGCGGCCAGCAUGGUCUGGCUUAGUGCC<br>AACCCUGUCCUACUGUGGGGACAGAACCUCUUAUGACCCGGAGCC<br>CAUCCUGUGCCCCUGUUCAUGCCUACGGAGGAUCCGGUGGUGGC<br>GGCAGCGGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAAGUUA<br>UCGGCAUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGG<br>CGGCAAAAAGAUAGCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAACAGCA<br>CCAAGAUUCACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAG<br>GGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGCUCUAGCGAGGGGGAGGCUCUC<br>CUGGCGGGGGAUCUAGCAUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAG<br>UGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGU<br>GCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCC |
|----|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

[0180]

|        |                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|        |                     | GCCAGCUCUGAUAGCGCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUA<br>GUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUU<br>CCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAU<br>GCUCCCACCUCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUCCAGACA<br>CCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUAAAACGCUUAGCCUAGCCAC<br>ACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAA<br>GUUUUAACUAAGCUAUACUAACCCAGGGUUGGUCAAUUUCUGGCCA<br>GCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAA                                                                                                                                                      |
| MAGEC1 |                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 21     | MAGEC1<br>(아미노산)    | MLTNVISRYTGYPVIFRKAREFIEILFGISLREVPDDSYVFNLTDLTSEGCL<br>SDEQGMSSQNRLILILSIIFIKGTYASEEVIWDVLSGIGVRAGREHFAGGEPRE<br>LLTKVWVQEHYLEYREVPNSSPPRYEFLWGPRAHSEVIKRVVEFLAMLKN<br>TVPITFPSSYKDALKDVEERAQAIIDTTDDSTATESASSSVMSPSFSSE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 22     | MAGEC1 융합<br>(아미노산) | MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGSGGGSGGMLTNVISRYTGYP<br>VIFRKAREFIEILFGISLREVPDDSYVFNLTDLTSEGCLSDEQGMSSQNRLI<br>LILSIIFIKGTYASEEVIWDVLSGIGVRAGREHFAGGEPRELLTKVWVQEHYLE<br>YREVPNSSPPRYEFLWGPRAHSEVIKRVVEFLAMLKNTVPITFPSSYKDAL<br>KDVEERAQAIIDTTDDSTATESASSSVMSPSFSSEGGSGGGSGGKKQYIK<br>ANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQ<br>GAQGKKLGSSGGGGSPGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKS<br>SGGKGGSYSQAASSDSAQGS DVSLTA                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 23     | MAGEC1<br>(CDS)     | AUGCUGACGAAUGUCAUCAGCAGGUACACGGGCUACUUCCUGUGA<br>UCUUCAGGAAAGCCCGUGAGUUAUAGAGAUACUUUUUGGCAUUU<br>CCUGAGAGAAGUGGACCCUGAUGACUCCUAUGUCUUUGUAAACAC<br>AUUAGACCUCACCUCUGAGGGGUGUCUGAGUGAUGAGCAGGGCAU<br>GUCCAGAACCGCCUCCUGAUUCUUAUUCUGAGUAUCAUCUUAUA<br>AAGGGCACCUAUGCCUCUGAGGAGGUCAUCUGGGGAUGUGCUGAGU<br>GGAAUAGGGGUGCGUGCUGGGAGGGAGCACUUUGCCUUUGGGGAG<br>CCCAGGGAGCUCUCACUAAAGUUUGGGUGCAGGAACAUUACCUAG<br>AGUACCGGGAGGUGCCCAAUUCUUCUCCUCCGUAACGAUUCCU<br>GUGGGGUCCAAGAGCUCAUUCAGAAGUCAUUAAGAGGAAAGUAGU<br>AGAGUUUUUGGCAUGCUAAAGAAUACCGUCCUAUUACCUUUCCA<br>UCCUCUUAACAAGGAUGCUUUGAAAGAUUGGAGGAGAGAGCCCAG<br>GCCAUAAUUGACACCACAGAUGAUUCGACUGCCACAGAAAGUGCAA<br>GCUCCAGUGUCAUGUCCCCAGCUUUUCUUCUGAG |

[0181]

|          |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 24       | MAGEC1<br>(RNA)          | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUC<br>UGGCGCCCUGGCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGCGGCUCU<br>GGAGGAGGCGGCUCGCCGAGGCAUGCUGACGAAUGUCAUCAGCAGGU<br>ACACGGGCUACUUUCCUGUGAUUCUUCAGGAAAGCCCGUGAGUUAU<br>AGAGAUACUUUUUGGCAUUUCCUGAGAGAAAGUGGACCCUGAUGA<br>CUCCUAUGUCUUUGUAAACACAUUAGACCUCACCUCUGAGGGGUGU<br>CUGAGUGAUGAGCAGGGCAUGUCCAGAACCGCCUCCUGAUUCUUA<br>UUCUGAGUAUCAUCUUAUAAAGGGCACCUAUGCCUCUGAGGAGGU<br>CAUCUGGGAUGUGCUGAGUGGAAUAGGGGUGCGUGCUGGGAGGGA<br>GCACUUUGCCUUUGGGGAGCCCAGGGAGCUCCUCACUAAAGUUUGG<br>GUGCAGGAACAUUACCUAGAGUACCGGGAGGUGCCAAUUCUUCUC<br>CUCCUCGUUACGAAUUCUGUGGGGUCCAAGAGCUCAUUCAGAAGU<br>CAUUAAGAGGAAAGUAGUAGAGUUUUUGGCAUGCUAAAGAAUAC<br>CGUCCCUAUUACCUUUCUACUCCUCUUAACAGGAUGCUUUGAAAGAU<br>GUGGAGGAGAGAGCCCAGGCCAUAAUUGACACCACAGAUAGAUUCGA<br>CUGCCACAGAAAGUGCAAGCUCCAGUGUCAUGUCCCCCAGCUUUUCU<br>UCUGAGGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCGGCAAGAAGCAG<br>UACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUAUCUGGCAUCACCGAGCUGAAGAA<br>GCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGCGGCAAAAGAUAGACCAACAGC<br>GUGGACGACGCCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCAUACAGCUACUCCCC<br>CAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACGAGGCGCUCAGGGCAAGAAACUG<br>GGCUUAGCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGAUUCAGCAUCG<br>UGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCGGUGGUGGUGAUCG<br>GAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGG<br>CAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGG<br>GCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCA<br>UGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGUACCCCGAGUC<br>UCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCACCUCACCUGCCCCAC<br>UCACCACCUCUGCUAGUUCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGC<br>AGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUG<br>AUUAACCUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAAACUAAGCUAUACUAAAC<br>CCAGGGUUGGUCAAUUUCUGGCCAGCCACACCAGACCUGGUCCAG<br>AGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAGCAUAGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA |
| NY-ESO-1 |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 25       | NY-ESO-1<br>(아미노산)       | MQAEGRTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRG<br>AGAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLPMPF<br>ATPMEAEELARRSLAQDAPPLPVPVGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLS<br>ISSCLQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 26       | NY-ESO-1<br>융합<br>(아미노산) | MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMQAEGRTGGST<br>GDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGG<br>APRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLPMPFATPMEAEELARRSL<br>AQDAPPLPVPVGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISCLQLSLLMWI<br>TQCFLPVFLAQPPSGQRRGSGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGG<br>KRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGG<br>PGGGSSIVIGIVAGLAVLAVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSD<br>SAQGSVSLTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 27       | NY-ESO-1<br>(CDS)        | AUGCAGGCCGAGGGCAGAGGAACAGGCGGCAGCACAGGCGACGCAG<br>AUGGACCAGGCGGCCUGGAAUCCUGAUGGCCAGGCGGCAUUGC<br>UGGGGGACCAGGAGAAGCUGGCGCCACAGGCGGGAGAGGACCUAGA<br>GGAGCUGGAGCCGCUAGAGCUUCUGGACCUGGGGGAGGCGCCCUA<br>GAGGACCACAUGGAGGCGUGCCAGCGGCCUGAAUGGCUGCUGCAG<br>AUGCGGCGCCAGAGGCCUGAGAGCCGCGUGCUGGAAUUCUACCUG<br>GCCAUGCCCUUGCCACCCCAUGGAAGCCGAGCUGGCCAGAAGAUC<br>CCUGGCUCAGGACGCUCCUCCUCUGCCUGUGCCCGGCGUGCUGCUGA<br>AAGAAUUCACCGUGUCCGGCAACAUCCUGACCAUCAGACUGACAGCC<br>GCCGAUCACAGACAGCUCCAGCUGAGCAUCAGCUCUUGCCUGCAGCA<br>GCUGAGCCUGCUGAUGUGGAUCACCCAGUGCUUUCUGCCCGUGUUC<br>CUGGCCAGCCACCCAGCGGACAGAGAAGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

[0182]

[0183]

|      |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 28   | NY-ESO-1<br>(RNA) | GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC<br>GCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUC<br>UGGGCCCCUGGCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGCGGCUCU<br>GGAGGAGGCGGCUCCGGAGGCAUGCAGGCCGAGGGCAGAGGAACAG<br>GCGGCAGCACAGGCGACGCAGAUGGACCAGGCGGCCUGGAAUCCCU<br>GAUGGCCCAGGCGGCAUUGCUGGGGGACCAGGAGAAGCUGGCGCCA<br>CAGGCGGGAGAGGACCUAGAGGAGCUGGAGCCGCUAGAGCUUCUGG<br>ACCUGGGGGAGGCGCCCUAGAGGACCACAUGGAGGCGCUGCCAGCG<br>GCCUGAAUGGCUGCUGCAGAUUGCGGCGCCAGAGGCCUGAGAGCCG<br>GCUGCUGGAAUUCUACCUUGGCCAUGCCCUUCGCCACCCCAUGGAAG<br>CCGAGCUGGCCAGAAGAUCUCCUGGCUCAGGACGCUCUCCUCUGCCU<br>GUGCCCGGCGUGCUGCUGAAAGAAUUCACCGUGUCCGGCAACAUC<br>UGACCAUCAGACUGACAGCCGCCGAUCACAGACAGCUCCAGCUGAGC<br>AUCAGCUCUUGCCUGCAGCAGCUGAGCCUGCUGAUGUGGAUACCC<br>AGUGCUUUCUGCCCGUGUCCUGGCCCAGCCACCCAGCGGACAGAGA<br>AGGGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCGGCAAGAAGCAGUACA<br>UCAAGGCCAACAGCAAGUUCUUCGGAUCACCGAGCUGAAGAAGCU<br>GGGAGGGGGCAAACGGGGAGGCGGCAAAAAGAUACCAACAGCGUG<br>GACGACGCCUGAUCAACAGCACCAAGAUUCACAGCUACUCCCCAG<br>CGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGC<br>UCUAGCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGGAUCUAGCAUCGUG<br>GGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGA<br>GCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCA<br>AGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCAGGGC<br>AGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUG<br>CACGCAUUGCUAGCUGCCCCUUCUCCGUCUCCUGGGUACCCGAGUCUC<br>CCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCACCUCACCUGCCCCACUC<br>ACCACCUCUGCUAGUUCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGC<br>UCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUU<br>AACCUUUAAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCA<br>GGGUUGGUCAAUUCUGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGU<br>CGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>GCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA |
| Sec  |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 29   | sec<br>(아미노산)     | MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 30   | sec (CDS)         | AUGAGAGUGAUGGCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCG<br>CCCUGGCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| MITD |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 31   | MITD<br>(아미노산)    | IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGS<br>D<br>VSLTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

[0184]

|                     |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 32                  | MITD (CDS)      | AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUG<br>AUCGGAGCCGUGGUGGCCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCG<br>GAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCC<br>CAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCC                                                                                                                      |
| P2P16 epitope       |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 33                  | P2P16<br>(아미노산) | KKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVI<br>SKVNQGAQGKKL                                                                                                                                                                                                                                    |
| 34                  | P2P16 (CDS)     | AAGAAGCAGUACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUCAUCGGCAUCACCGA<br>GCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGCGGCAAAAAGAU<br>GACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCUACA<br>GCUACUUCGCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGC<br>AAGAAACUG                                                                                      |
| 5'-UTR (hAg-Kozak)  |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 35                  | 5'-UTR          | AACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 3'-UTR (FI element) |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 36                  | 3'-UTR          | CUGGUACUGCAUGCAGCAGCAUUGCUAGCUGCCCCUUCUCCGUCCUGGG<br>UACCCCGAGUCUCCCCGACCUCGGGUCCAGGUUAGCUCCACCUCUCC<br>ACCUGCCCCACUACCACCUCUGCUAGUCCAGACACCUCUCCCAAGCAC<br>GCAGCAAUGCAGCUCAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGA<br>AACAGCAGUGAUUAACCUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGC<br>UAUACUAACCCAGGGUUGGUCAAUUCGUGCCAGCCACACC |
| A30L70              |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 37                  | A30L70          | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA                                                                                                                                                                      |

#### 상세한 설명

본 발명은 아래에서 상세히 설명되지만, 본 발명의 내용이 변경될 수 있어 본 발명에 기술된 구체적인 방법, 프로토콜 및 시약으로 한정되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 발명에 사용된 용어들은 구체적인 구현예를 기술하기 위한 목적일 뿐, 첨부된 청구항에 의해서만 한정되는 본 발명의 범위를 제한하고자 하는 것은 아닌 것으로 이해되어야 한다. 달리 정의되지 않은 한, 본 발명에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어들은 당해 기술 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 의미와 동일한 의미를 가진다.

바람직하게는, 본 발명에 사용된 용어들은 "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", H.G.W. Leuenberger, B. Nagel, and H. Kolbl, Eds., Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Switzerland, (1995)에 언급된 바와 같이 정의된다.

본 발명의 실시에는, 달리 언급되지 않은 한, 본 기술 분야의 문헌에 언급된 통상적인 화학, 생화학, 세포 생물학, 면역학 및 재조합 DNA 기법 방법들이 채택될 것이다 (예를 들어, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, J. Sambrook et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989 참조).

이하, 본 발명의 요소들을 설명한다. 이들 요소는 구체적인 구현예를 들어 열거되지만, 임의의 방식 및 임의의 수로 조합하여 부가적인 구현예를 구성할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 다양하게 기술된 실시예 및 구현예들은 본 발명을 명시적으로 기술된 구현예로만 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 이러한 설명은 명시적으로 기술된 구현예들이 임의의 복수의 기술된 요소들과 조합된 구현예들을 기술하고 이를 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 아울러, 언급된 모든 요소들에 대한 임의의 순열 및 조합도 문맥상 달리 지시되지 않은 한 이러한 설명에 의해 개시된 것으로 간주되어야 한다.

용어 "약"은 대략적으로 또는 거의를 의미하며, 본 발명에 언급된 수치 값 또는 범위의 맥락에서, 일 구현예에서, 언급되거나 또는 청구된 수치 값 또는 범위에 대한  $\pm 20\%$ ,  $\pm 10\%$ ,  $\pm 5\%$  또는  $\pm 3\%$ 를 의미한다.

개시 내용을 설명하는 문맥에 (특히 청구항의 맥락에서) 사용된 용어 관사 ("a" 및 "an" 및 "the") 및 비슷한 표현은, 본원에서 달리 명시되지 않거나 또는 문맥상 명확하게 상충하지 않은 한, 단수 및 복수의 의미를 모두 포괄하는 것으로 해석되어야 한다. 본 발명에서 수치 값들에 대한 범위 언급은 주로 범위에 속하는 각각의 개별 값들을 각각 기술하는 약칭적인 방식을 적용한 것으로 의도된다. 본원에서 달리 언급되지 않은 한, 각각의 개별 값은 본원에 각각 언급된 것처럼 명세서에 포함된다. 본 발명에 기술된 모든 방법들은, 본원에서 달리 언급되지 않거나 또는 문맥상 명확하게 상충하지 않은 한, 임의의 적정 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 모

든 예, 또는 예시적인 표현 (예, "와 같은")은 주로 개시 내용을 잘 설명하기 위한 것일 뿐, 청구항의 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다. 명세서에서 어떤 표현도 개시 내용을 실시하는데 필수적인 임의의 청구되지 않은 요소들을 지칭하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0193] 명확하게 달리 명시되지 않은 한, 용어 "포함하는"은 본 발명의 맥락에서 "포함하는"에 의해 열거된 목록의 구성 요소와 더불어, 추가적인 구성 요소들이 선택적으로 존재할 수 있음을 나타내기 위해 사용된다. 그러나, 본 발명의 구체적인 구현예로서, 용어 "포함하는"은 추가적인 구성 요소들이 존재하지 않을 경우도 포괄하는 것으로 고려되며, 즉 이러한 구현예의 경우 "포함하는"은 "로 이루어진"의 의미인 것으로 이해되어야 한다.

[0194] 몇몇 문헌들이 본 명세서의 전체 내용에서 인용된다. 본원에 인용된 전술한 또는 후술한 각각의 문헌 (모든 특허, 특허 출원, 과학 간행물, 제조사의 명세서, 설명서 등)은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 본원에서 어떠한 것도 본 발명이 이러한 기술 내용을 선행할 자격이 없다는 인정으로서 해석되어서는 안된다.

[0195] **정의**

[0196] 이하, 본 발명의 모든 측면들에 적용되는 정의들을 제시한다. 아래 용어들은 달리 언급되지 않은 한 후술한 의미를 가진다. 정의되지 않은 임의의 용어들은 당해 기술 분야에서 이해되는 의미를 가진다.

[0197] 본원에 사용된 바와 같이, "감소한다", "낮춘다", "저해한다" 또는 "손상시킨다"와 같은 용어들은, 수준 측면에서 전체적인 감소 또는 전체적인 감소를 유발하는 능력, 바람직하게는 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 75% 또는 그 이상의 전체적인 감소 또는 전체적인 감소를 유발하는 능력을 의미한다. 이들 용어는 완전한 또는 본질적으로 완전한 저해, 즉 0으로의 감소 또는 본질적으로 0까지의 감소를 망라한다.

[0198] "증가시킨다", "강화한다" 또는 "초과한다"와 같은 용어들은 바람직하게는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 500% 또는 그 이상의 증가 또는 강화에 대한 것이다.

[0199] 본원에 사용된 바와 같이, "생리학적 pH"는 pH 약 7.5를 지칭한다.

[0200] 용어 "이온 강도"는 특정 용액 내 상이한 종류의 이온 종의 수와 이들 각각의 전하 간의 수학적 관계를 나타낸다. 즉, 이온 강도 I는 하기 식으로 수학적으로 표시된다:

$$I = \frac{1}{2} \cdot \sum_i z_i^2 \cdot c_i$$

[0201]

[0202] 상기 식에서, c는 특정 이온 종의 몰 농도이고, z는 그 전하의 절대값이다. 합계 Σ는 용액 내 모든 다양한 유형의 이온 (i)에 대해 취해진다.

[0203] 본 개시내용에 따르면, 일 구현예에서 용어 "이온 강도"는 1가 이온의 존재에 관한 것이다. 2가 이온, 특히 2가 양이온의 존재와 관련하여, 이의 농도 또는 유효 농도 (유리 이온의 존재)는 킬레이트체의 존재로 인해 일 구현예에서 RNA의 분해를 방지할만큼 충분히 낮다. 일 구현예에서, 2가 이온의 농도 또는 유효 농도는 RNA 뉴클레오타이드 간의 포스포다이에스테르 결합을 가수분해하기 위한 촉매학적 수준보다 낮다. 일 구현예에서, 유리 2가 이온의 농도는 20 μM 이하이다. 일 구현예에서, 유리 2가 이온은 없거나 또는 본질적으로 없다.

[0204] 용어 "냉동 (freezing)"은 통상적으로 열을 제거하면서 액체를 고형화하는 것이다.

[0205] 용어 "동결건조하는 (lyophilizing)" 또는 "동결건조 (lyophilization)"는 물질을 냉동한 다음 주위 압력을 감소시켜 물질 중의 동결된 매질을 고체 상으로부터 기체 상으로 직접 승화시키는 것에 의한 물질의 냉동-건조 (freeze-drying)를 지칭한다.

[0206] 용어 "분무-건조"는 용기 (분무 건조기) 내에서 분무된 (분사된) 유체와 (가열된) 기체를 혼합함으로써 물질을 분무-건조시키는 것을 지칭하며, 이때 형성된 액체로부터 용매가 증발되어 건조 분말이 생성된다.

[0207] 용어 "동결보호제"는 활성 성분을 냉동 단계 중에 보호하기 위해 제형에 첨가되는 물질을 지칭한다.

[0208] 용어 "동결건조보호제 (lyoprotectant)"는 건조 단계 동안에 활성 성분을 보호하기 위해 제형에 첨가되는 물질에 관한 것이다.

[0209] 용어 "재구성한다"는 건조된 생성물에 물과 같은 용매를 첨가하여 이를 원래의 액체 상태와 같은 액체 상태로

되돌리는 것이다.

- [0210] "단리된"은 자연적인 상태에서부터 달라지거나 또는 취해지는 것을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 본래 존재하는 핵산 또는 펩타이드는 "단리된" 것이 아니며, 자연적인 상태에서 함께 존재하는 물질로부터 일부 또는 완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩타이드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 비-천연 환경, 예를 들어 숙주 세포에 존재할 수 있거나, 또는 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있다.
- [0211] 용어 "재조합"은 본 발명의 맥락에서 "유전자 조작을 통해 만들어지는" 것을 의미한다. 바람직하게는, 본 발명의 맥락에서, "재조합 대상체"는 자연적으로 생성되지 않는 것이다.
- [0212] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "자연 생성"은 물체가 자연에서 발견될 수 있다는 것을 의미한다. 예를 들어, 유기체 (바이러스 포함)에 존재하고 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 인간에 의해 의도적으로 변형되지 않은 펩타이드 또는 핵산은 자연 생성이다. 용어 "자연에서 발견"은 "천연에 존재하는"을 의미하고, 공지된 물체뿐만 아니라 자연계에서 아직 발견되거나 및/또는 단리되지 않았지만 천연 공급원으로부터 향후 발견되거나 및/또는 단리될 수 있는 물체를 포함한다.
- [0213] 본 발명의 맥락에서, 용어 "입자"는 분자 또는 분자 복합체에 의해 형성되는 구조화된 실체 (structured entity)에 관한 것이다. 일 구현예에서, 용어 "입자"는 마이크로- 또는 나노-크기의 구조, 예컨대 마이크로- 및 나노-크기의 콤팩트 구조에 관한 것이다.
- [0214] 본 발명의 맥락에서, 용어 "RNA 리포플렉스 입자"는 지질, 특히 양이온성 지질과 RNA를 함유한 입자에 관한 것이다. 양으로 하전된 리포솜과 음으로 하전된 RNA 간의 정전기적 상호작용으로 인해 RNA 리포플렉스 입자의 복합체화와 자발적인 형성이 이루어진다. 양으로 하전된 리포솜은 일반적으로 양이온성 지질, 예를 들어 DOTMA, 그리고 추가적인 지질, 예를 들어 DOPE를 이용해 합성할 수 있다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 나노 입자이다.
- [0215] 미립자 제형에서, 각각의 RNA 종 (예, 서로 다른 백신 항원을 암호화하는 RNA들)이 개별 미립자 제형으로 각각 제형화하는 것이 가능하다. 이 경우, 각각의 개별 미립자 제형은 RNA 1종을 함유할 것이다. 개별 미립자 제형들은 별개의 엔티티로, 예를 들어 분리된 용기 안에 제공될 수 있다. 이러한 제형은 각각의 RNA 종을 분리하여 (전형적으로, RNA-함유 용액의 형태로 각각) 입자-형성제와 함께 제공하여, 입자를 형성하게 함으로써 수득가능하다. 각각의 입자들은 입자가 형성될 때 (개별 미립자 제형) 제공된 특정 RNA 종만 함유할 것이다. 일 구현예에서, 약학적 조성물과 같은 조성물은 개개 입자 제형을 하나보다 더 많이 포함한다. 개개 약학적 조성물은 혼성 미립자 제형들로서 언급된다. 본 발명에 따른 혼성 미립자 제형은 전술한 바와 같이 개개 미립자 제형들을 각각 형성한 다음 개개 미립자 제형들을 혼합하는 단계에 의해 수득가능하다. 혼합 단계에 의해 RNA-함유 입자들의 혼성 집단을 포함하는 제형이 수득될 수 있다 (예시로서, 예를 들어, 제1 입자 집단은 백신 항원을 암호화하는 RNA를 함유하고, 제2 입자 집단은 다른 백신 항원을 암호화하는 RNA를 함유할 수 있음). 개별 미립자 집단들은 개별 미립자 제형들의 혼성 집단이 수용된 하나의 용기에 함께 존재할 수 있다. 대안적으로, 약학적 조성물의 서로 다른 RNA 종들 (예, 백신 항원을 암호화하는 RNA 및 다른 백신 항원을 암호화하는 RNA)을 조합된 미립자 제형으로서 함께 제형화하는 것도 가능하다. 이러한 제형은 여러가지 RNA 종들로 된 조합 제형 (전형적으로 조합 용액)을 입자-형성제와 함께 제공하여 입자 형성을 가능하게 함으로써, 수득가능하다. 혼성 미립자 제형과는 대조적으로, 조합된 미립자 제형은 전형적으로 RNA 종을 2종 이상 포함하는 입자들을 포함할 것이다. 조합된 미립자 조성물에서, 여러가지 RNA 종들이 전형적으로 단일한 입자에 함께 존재한다.
- [0216] 본원에 사용된 바와 같이, "나노입자"는 RNA 및 하나 이상의 양이온성 지질을 포함하고 정맥내 투여에 적합한 평균 직경을 가진 입자를 지칭한다.
- [0217] 용어 "평균 직경"은 소위 누적 알고리즘을 이용한 데이터 분석 및 동적 광 산란 (dynamic light scattering, DLS)에 의해 측정되는 입자의 평균 유체역학적 직경을 지칭하며, 그 결과로서 길이 치수를 가진 소위  $Z_{\text{평균}}$ 과 무차원적인 다분산 지수 (PI)가 제공된다 (Koppel, D., J. Chem. Phys. 57, 1972, pp 4814-4820, ISO 13321). 여기서, 입자에 대한 "평균 직경", "직경" 또는 "크기"는  $Z_{\text{평균}}$ 의 값과 동의어로 사용된다.
- [0218] 용어 "다분산 지수"는 본원에서 입자의, 예를 들어 나노입자의 앙상블의 크기 분포의 척도로서 사용된다. 다분산 지수는 소위 누적 분석에 의한 동적 광 산란 측정에 기반하여 계산한다.
- [0219] 용어 "에탄올 주입 기술"은 지질을 포함하는 에탄올 용액을 바늘을 통해 수용액에 빠르게 주입하는 공정을 지칭한다. 이러한 행위는 용액 전체로 지질을 분산시키고, 지질 구조 형성, 예를 들어 지질 소포 (vesicle) 형성,

예컨대 리포솜 형성을 촉진한다. 일반적으로, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 콜로이드 리포솜 분산액에 투입함으로써 수득가능하다. 에탄올 주입 기술을 사용하여, 이러한 콜로이드 리포솜 분산액이, 일 구현예에서, 하기와 같이 형성된다: 지질, 예컨대 DOTMA와 같은 양이온성 지질 및 추가적인 지질을 포함하는 에탄올 용액을 교반 중인 수용액에 주입한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자는 압출 (extrusion) 단계 없이 수득가능하다.

[0220] "압출하는" 또는 "압출"이라는 용어는 고정된 단면 프로파일을 가진 입자의 생성을 지칭한다. 특히, 이는 입자를 규정된 기공을 가지는 필터를 통해 강제로 통과시키는 입자의 크기 축소를 의미한다.

[0221] 본원에 사용된 바와 같이, "설명 자료" 또는 "설명서"는 본 발명의 조성물 및 방법의 유용성을 공지하기 위해 이용할 수 있는 출판물, 기록, 도표 또는 임의의 다른 표현 매체를 포괄한다. 본 발명의 키트의 설명 자료는, 예를 들어, 본 발명의 조성물이 수용된 용기에 고정되거나 또는 조성물이 수용된 용기와 함께 운반될 수 있다. 대안적으로, 설명 자료는 용기와는 별도로, 설명 자료와 조성물을 사용자가 함께 이용하고자 하는 의도로 이송될 수 있다.

[0222] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "백신"은 개체에 접종시 면역 반응을 유발하는 조성물을 지칭한다. 일부 구현예에서, 유도된 면역 반응은 치료학적 면역을 제공한다.

[0223] 폐암은 폐 암종이라고도 하며, 폐 조직에서 통제되지 않은 세포 증식을 특징으로 하는 악성 폐 종양이다. 이의 증식은 인근 조직이나 또는 신체의 다른 부위로 전이됨으로써 폐 외부로 퍼질 수 있다. 폐암은 여성에서 3번째로 가장 흔한 악성이고 남성에서는 2번째로 가장 흔한 악성으로, 남성에서는 암 관련 사망의 가장 흔한 요인이고, 여성에서는 유방암 다음으로 2번째로 가장 흔하다. 폐암은 암종, 즉 상피 세포로부터 기원한 악성이다. 폐암종은 조직병리학자가 현미경 검경을 통해 관찰한 악성 세포의 크기와 외형에 따라 분류한다. 치료학적 목적에서는 크게 2가지 유형으로 구분한다: 비-소-세포 폐 암종 (NSCLC)과 소-세포 폐 암종 (SCLC). NSCLC의 주요 서브타입 3종은 선암종, 편평-세포 암종 및 거대-세포 암종이다. 희귀 서브타입으로는 폐 장 선암종 (pulmonary enteric adenocarcinoma)이 있다.

[0224] 폐암의 거의 40%가 말초 폐 조직으로부터 통상적으로 기원하는 선 암종이다. 편평-세포 암종은 폐암의 약 30%를 유발한다. 이는 전형적으로 주 기관 (large airway)에 인접한 위치에서 발생한다. 종양의 중앙부에는 중공과 관련된 세포 사멸이 흔히 관찰된다. 폐암의 거의 9%가 거대-세포 암종이다. 이것은 암 세포가 크고 과도한 세포질, 거대 핵 및 뚜렷한 핵소체를 가지고 있어, 그렇게 명명되었다.

[0225] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "공동-투여된" 또는 "공동-투여" 또는 유사 표현은 2종 이상의 물질을 함께, 동시에 또는 본질적으로 동일 시점에, 단일 제형의 일부로서 또는 동일하거나 또는 다른 경로를 통해 투여되는 복수의 제형으로서 투여하는 것을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, "본질적으로 동일 시점에"는 상호 약 1분 이내, 5분 이내, 10분 이내, 15분 이내, 30분 이내, 1시간 이내, 2시간 이내 또는 6시간 이내를 의미한다.

[0226] 본 발명은 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열 (참조 서열) 각각에 대해 특정한 수준의 동일성을 가진 핵산 서열 및 아미노산 서열을 기술한다.

[0227] 핵산 서열 2종 간의 "서열 동일성"은 서열들 간에 동일한 뉴클레오타이드의 %를 나타낸다. 아미노산 서열 2종 간의 "서열 동일성"은 서열들 간에 동일한 아미노산의 %를 나타낸다.

[0228] 용어 "% 동일한", "동일성 %" 또는 유사 용어는 특히 비교할 서열들을 최적으로 정렬하였을 때 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 %를 나타내는 것으로 의도된다. 이러한 %는 순전히 통계이며, 서열 2종 간의 차이는 비교할 서열의 전체 길이에 무작위로 분포할 수 있지만, 반드시 그런 것은 아니다. 서열 2종 간의 비교는 통상적으로, 대응하는 서열들의 국소 영역을 식별하기 위해, "분절" 또는 "비교 창"과 관련하여, 최적으로 정렬한 후, 서열을 비교함으로써 이루어진다. 비교하기 위한 최적의 정렬은 수동으로 또는 Smith and Waterman, 1981, *Ads App. Math.* 2, 482에 따른 국소 상동성 알고리즘, Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443에 따른 국소 상동성 알고리즘, Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 2444에 따른 유사성 검색 알고리즘, 또는 이러한 알고리즘을 활용한 컴퓨터 프로그램 (GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N 및 TFASTA, Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)을 보조적으로 이용해, 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, 서열 2종 간의 동일성 %는 미국 국립 생물공학 정보 센터 (NCBI) 웹사이트에서 이용가능한 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 이용해 결정한다 (예를 들어, [blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch&BLAST\\_SPEC=blast2seq&LINK\\_LOC=align2seq](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq)). 일부 구현예에서, NCBI 웹사이트에서 BLASTN 알고리즘에 적용되는 알고리즘 매개변수로는 (i) 예상 역치 10; (ii) 문

자 크기 28; (iii) 질의 범위에서 최대 매칭 0; (iv) 매치/미스매치 스코어 1, -2; (v) 갭 코스트 선형 (Gap Costs set to Linear); 및 (vi) 저 복잡성 영역에 대한 필터 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, NCBI 웹사이트에서 BLASTP 알고리즘에 적용되는 알고리즘 매개변수로는 (i) 예상 역치 10; (ii) 문자 크기 3; (iii) 질의 범위에서 최대 매칭 0; (iv) 매트릭스 BLOSUM62; (v) 갭 코스트 존재: 11 연장: 1; 및 (vi) 조건부 조합 점수 매트릭스 조정 (conditional compositional score matrix adjustment)을 포함한다.

[0229] 동일성 %는 비교 서열에서 대응되는 동일 위치의 개수를 결정하고, 이를 비교한 위치 개수 (예를 들어, 참조 서열에서의 위치 개수)로 나눈 후 여기에 100을 곱하여 구한다.

[0230] 일부 구현예에서, 동일성 정도는 참조 서열의 전장의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100% 영역에 대해 제시된다. 예를 들어, 만일 참조 핵산 서열이 뉴클레오타이드 200개로 이루어진다면, 동일성 정도는 뉴클레오타이드, 일부 구현예에서, 연속적인 뉴클레오타이드 적어도 약 100개, 적어도 약 120개, 적어도 약 140개, 적어도 약 160개, 적어도 약 180개 또는 약 200개에 대해 제시된다. 일부 구현예에서, 동일성 정도는 참조 서열의 전장에 대해 제시된다.

[0231] 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열 각각에 대해 특정한 동일성 수준을 가진 핵산 서열 또는 아미노산 서열은 주어진 서열의 하나 이상의 기능적인 특성을 가질 수 있으며, 예를 들어, 일부 경우에 주어진 서열과 기능적으로 동등하다. 한가지 중요한 특성은 특히 개체에 투여할 경우 면역원성 특성을 포함한다. 일부 구현예에서, 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열에 대해 특정 수준의 동일성을 가진 핵산 서열 또는 아미노산 서열은 주어진 서열에 대해 기능적으로 동등하다.

[0232] RNA

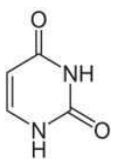
[0233] 본원에서, 용어 "RNA"는 리보뉴클레오타이드 잔기를 포함하는 핵산 분자에 관한 것이다. 바람직한 구현예에서, RNA는 모두 또는 주로 리보뉴클레오타이드 잔기를 함유한다. 본원에 사용된 바와 같이 "리보뉴클레오타이드"는  $\beta$ -D-리보푸라노실기의 2'-위치에 하이드록실기를 가진 뉴클레오타이드를 지칭한다. RNA는 비-제한적으로, 이중 가닥 RNA, 단일 가닥 RNA, 단리된 RNA, 예컨대 부분적으로 정제된 RNA, 본질적으로 순수한 RNA, 합성 RNA, 재조합 생산된 RNA, 뿐만 아니라 하나 이상의 뉴클레오타이드의 부가, 결손, 치환 및/또는 변경에 의해 자연 생성 RNA와는 상이한 변형된 RNA를 포함한다. 이러한 변경은 비-뉴클레오타이드 물질을 내부 RNA 뉴클레오타이드 또는 RNA의 말단(들)에 첨가하는 것을 지칭할 수 있다. RNA의 뉴클레오타이드는 비-표준 뉴클레오타이드, 예를 들어 화학 합성 뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드일 수 있는 것으로 또한 본원에서 고려된다. 본원의 경우, 이들 변경된 RNA는 자연-생성 RNA의 유사체로 간주된다.

[0234] 본 발명의 특정 구현예에서, RNA는 펩타이드 또는 단백질을 암호화하는 RNA 전사체와 관련한 메신저 RNA (mRNA)이다. 당해 기술 분야에서 확립된 바와 같이, mRNA는 일반적으로 5' 비번역 영역 (5'-UTR), 펩타이드 암호화 영역 및 3' 비번역 영역 (3'-UTR)을 가진다. 일부 구현예에서, RNA는 시험관내 전사 또는 화학 합성을 통해 제조된다. 일 구현예에서, mRNA는 DNA 주형을 이용한 시험관내 전사에 의해 제조되며, 여기서 DNA는 데옥시리보뉴클레오타이드를 함유한 핵산을 지칭한다.

[0235] 일 구현예에서, RNA는 시험관내 전사된 RNA (IVT-RNA)이고, 적절한 DNA 주형의 시험관내 전사에 의해 수득할 수 있다. 전사를 통제하기 위한 프로모터는 임의의 RNA 중합효소에 대한 임의의 프로모터일 수 있다. 시험관내 전사를 위한 DNA 주형은 핵산, 특히 cDNA를 클로닝하고, 이를 시험관내 전사에 적절한 벡터에 도입함으로써 수득할 수 있다. cDNA는 RNA의 역전사에 의해 수득할 수도 있다.

[0236] 일 구현예에서, RNA는 변형된 뉴클레오시드를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, RNA는 하나 이상의 (예를 들어, 모든) 우리딘 대신 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

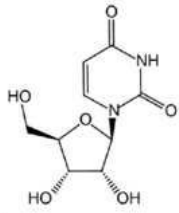
[0237] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "우리딘"은 RNA 핵산에서 생길 수 있는 뉴클레오베이스들 중 하나를 지칭한다. 우리딘의 구조는 다음과 같다:



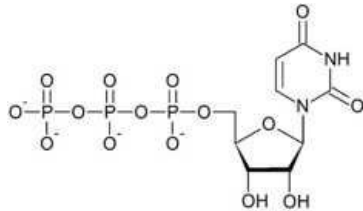
[0238]

[0239] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "우리딘"은 RNA에서 생길 수 있는 뉴클레오시드들 중 하나를 지칭한다. 우리딘

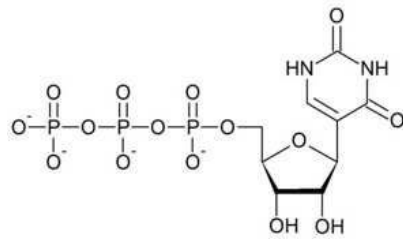
구조는 다음과 같다:



UTP (우리딘 5'-트리포스페이트)는 하기 구조를 가진다:

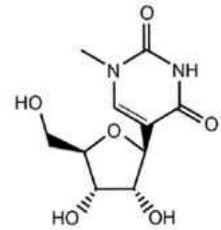


슈도-UTP (슈도우리딘 5'-트리포스페이트)는 하기 구조를 가진다:

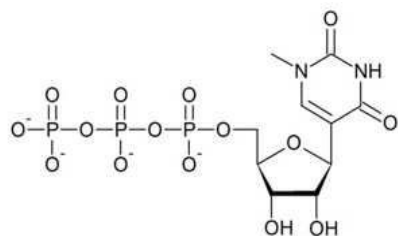


"슈도우리딘"은 우라실이 질소-탄소 글리코시드 결합 대신 탄소-탄소 결합을 통해 펜토스 고리에 결합된, 변형된 뉴클레오시드, 즉 우리딘 이성질체의 일 예이다.

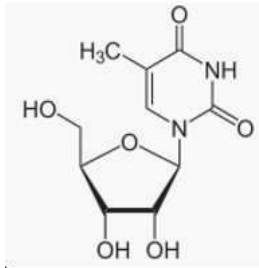
변형된 뉴클레오시드에 대한 다른 예는 하기 구조를 가진 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)이다:



N1-메틸-슈도-UTP는 하기 구조를 가진다:



[0250] 변형된 뉴클레오타이드에 대한 또 다른 예는 하기 구조를 가지는 5-메틸-우리딘 (m5U)이다:



[0251]

[0252] 일부 구현예에서, 본원에 언급된 RNA에서 하나 이상의 우리딘은 변형된 뉴클레오타이드로 치환된다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 변형된 우리딘이다.

[0253] 일부 구현예에서, 우리딘을 치환하는 변형된 우리딘은 슈도우리딘 ( $\psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\psi$ ) 또는 5-메틸-우리딘 (m5U)이다.

[0254] 일부 구현예에서, RNA에서 우리딘 하나 이상, 예를 들어 모든 우리딘을 치환하는 변형된 뉴클레오타이드는 3-메틸-우리딘 (m<sup>3</sup>U), 5-메톡시-우리딘 (mo<sup>5</sup>U), 5-아자-우리딘, 6-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-우리딘 (s<sup>2</sup>U), 4-티오-우리딘 (s<sup>4</sup>U), 4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-하이드록시-우리딘 (ho<sup>5</sup>U), 5-아미노알릴-우리딘, 5-할로-우리딘 (예를 들어, 5-요오도-우리딘 또는 5-브로모-우리딘), 우리딘 5-옥시아세트산 (cmo<sup>5</sup>U), 우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스테르 (mcmo<sup>5</sup>U), 5-카르복시메틸-우리딘 (cm<sup>5</sup>U), 1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 (chm<sup>5</sup>U), 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 메틸 에스테르 (mchm<sup>5</sup>U), 5-메톡시카르보닐메틸-우리딘 (mcm<sup>5</sup>U), 5-메톡시카르보닐메틸-2-티오-우리딘 (mcm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 5-아미노메틸-2-티오-우리딘 (nm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 5-메틸아미노메틸-우리딘 (mm<sup>5</sup>U), 1-에틸-슈도우리딘, 5-메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 (mm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 5-메틸아미노메틸-2-셀레노-우리딘 (mm<sup>5</sup>se<sup>2</sup>U), 5-카바모일메틸-우리딘 (ncm<sup>5</sup>U), 5-카르복시메틸아미노메틸-우리딘 (cmnm<sup>5</sup>U), 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 (cmnm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-타우리노메틸-우리딘 ( $\tau$ m<sup>5</sup>U), 1-타우리노메틸-슈도우리딘, 5-타우리노메틸-2-티오-우리딘 ( $\tau$ m<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 1-타우리노메틸-4-티오-슈도우리딘, 5-메틸-2-티오-우리딘 (m<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 1-메틸-4-티오-슈도우리딘 (m<sup>1</sup>s<sup>4</sup> $\psi$ ), 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 3-메틸-슈도우리딘 (m<sup>3</sup> $\psi$ ), 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 다이하이드로우리딘 (D), 다이하이드로슈도우리딘, 5,6-다이하이드로우리딘, 5-메틸-다이하이드로우리딘 (m<sup>5</sup>D), 2-티오-다이하이드로우리딘, 2-티오-다이하이드로슈도우리딘, 2-메톡시-우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, N1-메틸-슈도우리딘, 3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘 (acp<sup>3</sup>U), 1-메틸-3-(3-아미노-3-카르복시프로필)슈도우리딘 (acp<sup>3</sup> $\psi$ ), 5-(이소펜테닐아미노메틸)우리딘 (inm<sup>5</sup>U), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2-티오-우리딘 (inm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U), 알파-티오-우리딘, 2'-O-메틸-우리딘 (Um), 5,2'-O-다이메틸-우리딘 (m<sup>5</sup>Um), 2'-O-메틸-슈도우리딘 ( $\psi$ m), 2-티오-2'-O-메틸-우리딘 (s<sup>2</sup>Um), 5-메톡시카르보닐메틸-2'-O-메틸-우리딘 (mcm<sup>5</sup>Um), 5-카바모일메틸-2'-O-메틸-우리딘 (ncm<sup>5</sup>Um), 5-카르복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸-우리딘 (cmnm<sup>5</sup>Um), 3,2'-O-다이메틸-우리딘 (m<sup>3</sup>Um), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2'-O-메틸-우리딘 (inm<sup>5</sup>Um), 1-티오-우리딘, 테옥시티미딘, 2'-F-ara-우리딘, 2'-F-우리딘, 2'-OH-ara-우리딘, 5-(2-카르보메톡시비닐)우리딘, 5-[3-(1-E-프로페닐아미노)우리딘 또는 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 기타 변형된 우리딘 중 임의의 하나 이상일 수 있다.

[0255] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 하나 이상의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 각각의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 하나 이상의 우리딘 대신 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 각 우리딘 대신 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

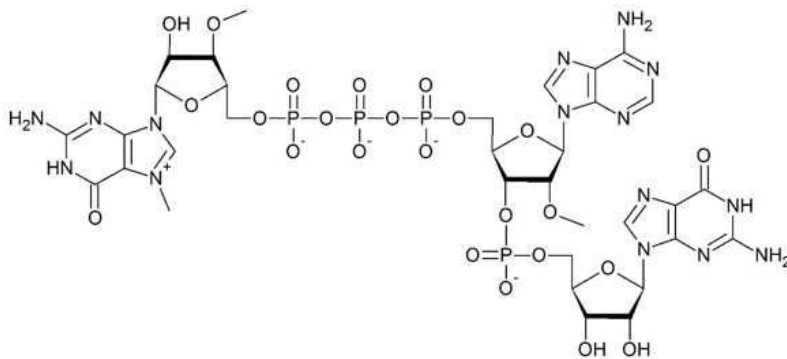
[0256] 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 독립적으로 슈도우리딘 ( $\psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\psi$ ) 및 5-메틸-

우리딘 (m5U)으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘 ( $\Psi$ )을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ )을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 변형된 뉴클레오타이드를 2가지 타입 이상 포함할 수 있으며, 변형된 뉴클레오타이드는 독립적으로 슈도우리딘 ( $\Psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘 ( $\Psi$ )과 N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ )을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘 ( $\Psi$ )과 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ )과 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘 ( $\Psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다.

[0257] 일 구현예에서, RNA는 다른 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나, 또는 추가의 변형된 뉴클레오타이드, 예를 들어 변형된 시티딘을 포함한다. 예를 들어, 일 구현예에서, RNA에서 시티딘이 5-메틸시티딘으로 일부 또는 완전히, 바람직하게는 완전히 치환된다. 일 구현예에서, RNA는 5-메틸시티딘, 및 슈도우리딘 ( $\Psi$ ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 선택되는 하나 이상을 포함한다. 일 구현예에서, RNA는 5-메틸시티딘 및 N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ )을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 각각의 시티딘 대신 5-메틸시티딘을 포함하고, 각 우리딘 대신 N1-메틸-슈도우리딘 (m1 $\Psi$ )을 포함한다.

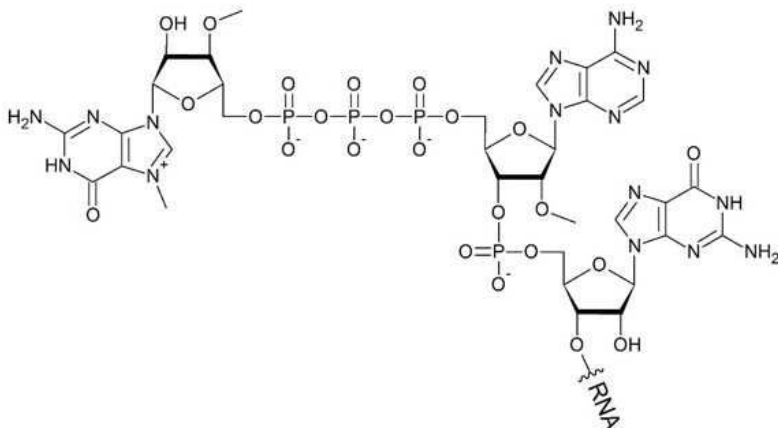
[0258] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 RNA는 5'-캡 (cap)을 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명의 RNA는 캡이 달리지 않은 5'-트리포스페이트를 포함하지 않는다. 일 구현예에서, RNA는 5'-캡 유사체에 의해 변형될 수 있다. 용어 "5'-캡"은 mRNA 분자의 5'-말단에서 발견되는 구조를 지칭하는데, 이는 일반적으로 5' → 5' 트리포스페이트 결합을 통해 mRNA에 연결된 구아노신 뉴클레오타이드로 구성된다. 일 구현예에서, 이 구아노신은 7번 위치에서 메틸화된다. RNA에 5'-캡 또는 5'-캡 유사체의 부가는, 5'-캡을 RNA 가닥으로 동시-전사를 통해 발현하는 시험관내 전사에 의해 달성되거나, 또는 캡핑 효소를 이용하여 전사 후 RNA에 부착될 수 있다.

[0259] 일부 구현예에서, RNA에 대한 빌딩 블록 캡은 하기 구조를 가진  $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$  (때때로  $m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ 로 지칭됨)이다:



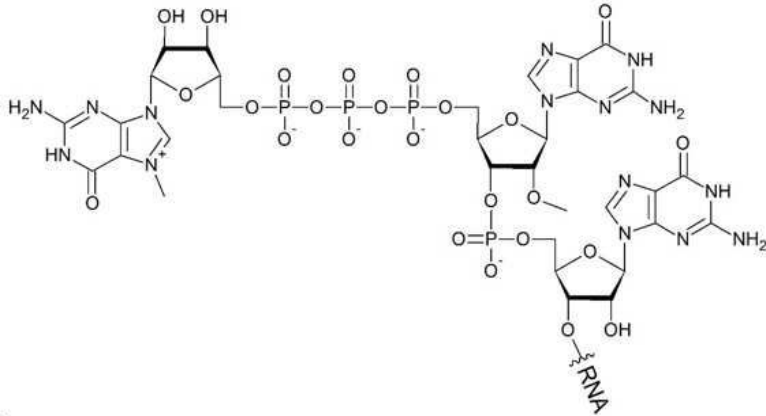
[0260] .

[0261] RNA 및  $m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ 를 포함하는 Cap1 RNA에 대한 예는 다음과 같다:



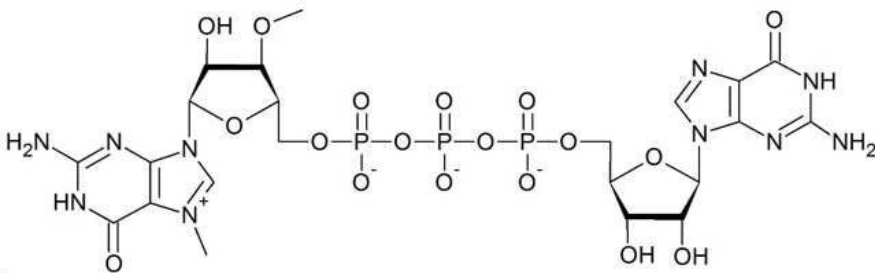
[0262] .

[0263] (캡 유사체가 아닌) Cap1 RNA에 대한 다른 예는 다음과 같다:



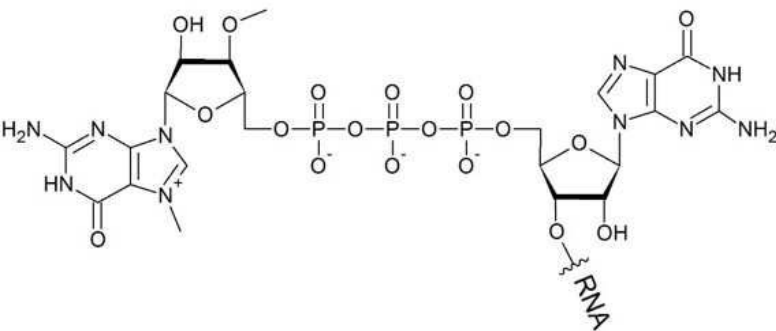
[0264] .

[0265] 일부 구현예에서, RNA는, 일 구현예에서, 하기 구조를 가진 캡 유사체 역방향 캡 (ARCA Cap ( $m_2^{7,3'0}$ G(5')ppp(5')G))을 이용해 "Cap0" 구조로 변형된다:



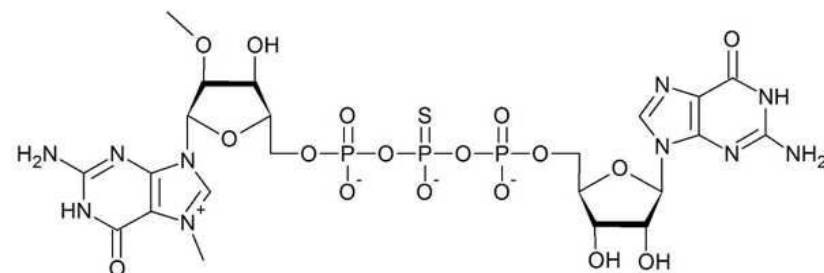
[0266] .

[0267] RNA 및  $m_2^{7,3'0}$ G(5')ppp(5')G를 포함하는 Cap0 RNA에 대한 예는 다음과 같다:



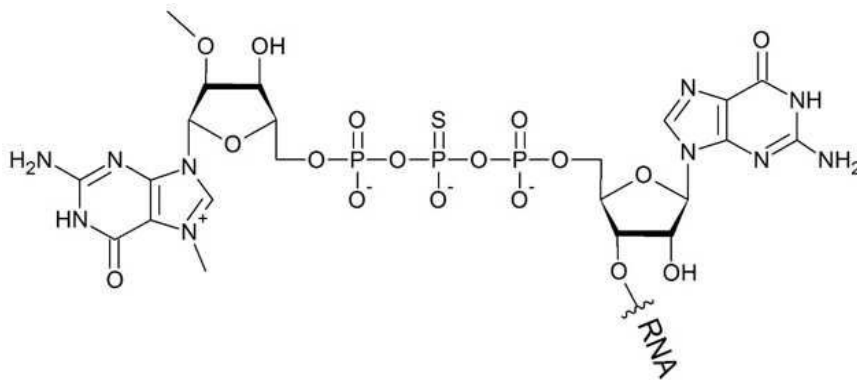
[0268] .

[0269] 일부 구현예에서, "Cap0" 구조는 하기 구조를 가진 캡 유사체  $\beta$ -S-ARCA ( $m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G)를 이용해 만들어진다:



[0270] .

[0271]  $\beta$ -S-ARCA ( $m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G) 및 RNA를 포함하는 Cap0 RNA에 대한 예는 다음과 같다:



[0272]

[0273] 특히 바람직한 캡은 5'-cap  $m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 RNA는 5'-cap  $m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 각각의 RNA는 5'-cap  $m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G를 포함한다.  $\beta$ -S-ARCA 또는 " $\beta$ -S-ARCA(D1)"의 "D1" 부분입체이성질체는  $\beta$ -S-ARCA ( $\beta$ -S-ARCA(D2))의 D2 부분입체이성질체와 비교해 HPLC 컬럼에서 처음에 용출되는  $\beta$ -S-ARCA의 부분입체이성질체이며, 따라서 체류 시간이 짧다 (WO 2011/015347 참조, 원용에 의해 본원에 포함됨).  $\beta$ -S-ARCA(D1)( $m_2^{7,2'0}$ GppSpG)가 특히 바람직한 캡이다.

[0274]

일부 구현예에서, 본 발명에 따른 RNA는 5'-UTR 및/또는 3'-UTR을 포함한다. 용어 "비-번역 영역" 또는 "UTR"은 DNA 분자에서 전사되지만 아미노산 서열로 번역되지 않는 영역, 또는 mRNA 분자와 같은 RNA 분자에서 대응되는 영역을 의미한다. 비-번역 영역 (UTR)은 오픈 리딩 프레임의 5' (상류)(5'-UTR) 및/또는 오픈 리딩 프레임의 3' (하류)(3'-UTR)에 존재할 수 있다. 5'-UTR은, 존재한다면, 단백질-암호화 영역의 개시 코돈의 상류, 5'-말단에 위치한다. 5'-UTR은, (존재한다면) 5'-캡의 하류이며, 예를 들어 5'-캡에 바로 인접하여 위치한다. 3'-UTR은, 존재한다면, 단백질-암호화 영역의 종결 코돈의 하류, 3' 말단에 위치하지만, 용어 "3'-UTR"은 바람직하게는 폴리(A) 서열을 포함하지 않는다. 따라서, 3'-UTR은 (존재한다면) 폴리(A) 서열의 상류이며, 예를 들어 폴리(A) 서열에 바로 인접하게 위치한다.

[0275]

특히 바람직한 5'-UTR은 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특히 바람직한 3'-UTR은 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0276]

일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 5'-UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 5'-UTR을 포함한다.

[0277]

일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3'-UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3'-UTR을 포함한다.

[0278]

일부 구현예에서, 본 발명에 따른 RNA는 3'-폴리(A) 서열을 포함한다.

[0279]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리-A 꼬리" 또는 "폴리-A 서열"은 전형적으로 RNA 분자의 3'-말단에 위치한 아데닐레이트 잔기들로 구성된 불연속적인 또는 연속적인 서열을 지칭한다. 폴리-A 꼬리 또는 폴리-A 서열은 당해 기술 분야의 당업자들에게 알려져 있으며, 본원에 기술된 RNA에서 3' UTR 다음에 올 수 있다. 연속적인 폴리-A 꼬리는 연이은 아데닐레이트 잔기들로 특징된다. 사실상 연속적인 폴리-A 꼬리가 전형적이다. 본원에 기술된 RNA는 전사 후 주형-독립적인 RNA 중합효소에 의해 RNA의 유리 3'-말단에 부착된 폴리-A 꼬리를 가지거나, 또는

DNA에 의해 암호화되고 주형-의존적인 RNA 중합효소에 전사되는 폴리-A 꼬리를 가질 수 있다.

- [0280] 뉴클레오타이드 A가 약 120개인 폴리-A 꼬리가 형질감염된 진핵생물 세포에서 RNA 수준에서만 아니라 폴리-A 꼬리의 상류 (5')에 존재하는 오픈 리딩 프레임으로부터 번역되는 단백질 수준에도 유의한 효과를 가진 것으로 입증되어 있다 (*Holtkamp et al.*, 2006, *Blood*, vol. 108, pp. 4009-4017).
- [0281] 폴리-A 꼬리는 임의 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 A 뉴클레오타이드를 적어도 약 20개, 적어도 30개, 적어도 약 40개, 적어도 약 80개 또는 적어도 약 100개, 그리고 최대 약 500개, 최대 약 400개, 최대 약 300개, 최대 약 200개 또는 최대 약 150개 포함하며, 특히 A 뉴클레오타이드를 약 120개 포함한다. 이러한 맥락에서, "로 본질적으로 구성된다"는 폴리-A 꼬리에서 대부분의 뉴클레오타이드, 전형적으로 폴리-A 꼬리에서 뉴클레오타이드 개수의 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%가 A 뉴클레오타이드인 것을 의미하지만, 나머지 뉴클레오타이드가 U 뉴클레오타이드 (우리틸레이트), G 뉴클레오타이드 (구아닐레이트) 또는 C 뉴클레오타이드 (시티딜레이트) 등의 A 뉴클레오타이드 이외의 다른 뉴클레오타이드인 경우도 허용된다. 이러한 맥락에서, "로 구성된다"는 폴리-A 꼬리의 모든 뉴클레오타이드, 즉 폴리-A 꼬리에서 뉴클레오타이드 개수의 100%가 A 뉴클레오타이드인 것을 의미한다. 용어 "A 뉴클레오타이드" 또는 "A"는 아데닐레이트를 지칭한다.
- [0282] 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 암호화 가닥에 대한 상보적인 가닥에서 반복적인 dT 뉴클레오타이드 (데옥시티미딜레이트)를 포함하는 DNA 주형을 토대로, RNA 전사 중에, 예를 들어 시험관내 전사되는 RNA의 제조 중에 부착된다. 폴리-A 꼬리를 암호화하는 DNA 서열 (암호화 가닥)은 폴리(A) 카세트라고 지칭된다.
- [0283] 일부 구현예에서, 폴리(A) 카세트는 dA 뉴클레오타이드로 본질적으로 구성된 DNA의 암호화 가닥에 존재하지만, 뉴클레오타이드 4종 (dA, dC, dG 및 dT)의 무작위 서열이 사이에 산재한다. 이러한 무작위 서열은 뉴클레오타이드 5-50개, 10-30개 또는 10-20개 길이일 수 있다. 이러한 카세트는 WO 2016/005324 A1에 개시되어 있으며, 이는 원용에 의해 본원에 포함된다. WO 2016/005324 A1에 개시된 임의의 폴리(A) 카세트를 본 발명에 이용할 수 있다. 본질적으로 dA 뉴클레오타이드로 구성되지만 뉴클레오타이드 4종 (dA, dC, dG, dT)이 균등하게 분포되고 예를 들어 뉴클레오타이드 5-50개 길이의 무작위 서열이 사이에 산재한, 폴리(A) 카세트는, DNA 수준에서, *E. coli*에서 플라스미드 DNA의 일정한 증폭성을 나타내며, RNA 수준에서, RNA 안정성 및 번역 효율을 뒷받침하는 측면에서 유의한 특성과 여전히 연관되어 있다. 이에, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 분자에 함유된 폴리-A 꼬리는 본질적으로 A 뉴클레오타이드로 구성되지만, 뉴클레오타이드 4종 (A, C, G, U)으로 된 무작위 서열이 사이에 산재되어 있다. 이러한 무작위 서열은 뉴클레오타이드 5-50개, 10-30개 또는 10-20개 길이일 수 있다.
- [0284] 일부 구현예에서, 3' 말단에서 A 뉴클레오타이드 이외의 다른 뉴클레오타이드가 폴리-A 꼬리 측면에 위치하지 않으며, 즉, 폴리-A 꼬리는 3' 말단에서 A 이외의 다른 뉴클레오타이드에 의해 가려지거나 또는 이것으로 이어지지 않는다.
- [0285] 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 37의 서열을 포함한다.
- [0286] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드를 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 80개 또는 적어도 100개에서 최대 500개, 최대 400개, 최대 300개, 최대 200개 또는 최대 150개 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 80개 또는 적어도 100개에서 최대 500개, 최대 400개, 최대 300개, 최대 200개 또는 최대 150개로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 80개 또는 적어도 100개에서 최대 500개, 최대 400개, 최대 300개, 최대 200개 또는 최대 150개로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 37에 나타난 폴리-A 꼬리르 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드를 적어도 100개 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드를 약 150개 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 뉴클레오타이드를 약 120개 포함한다.
- [0287] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA는 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 RNA는 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리-A 꼬리를 포함한다.
- [0288] 본 발명의 맥락에서, 용어 "전사"는 DNA 서열에서 유전자 코드가 RNA로 전사되는 공정을 지칭한다. 이후, RNA는

펩타이드 또는 단백질로 번역될 수 있다.

- [0289] 본 발명에서, 용어 "전사"는 "시험관내 전사"를 포함하며, 여기서 용어 "시험관내 전사"는 RNA, 특히 mRNA가 무세포성 시스템에서, 바람직하게는 적절한 세포 추출물을 이용해 시험관내에서 합성하는 공정을 지칭한다. 바람직하게는, 클로닝 벡터가 전사체 제조에 이용된다. 이들 클로닝 벡터는 일반적으로 전사 벡터로서 지칭되며, 본 발명에 따라 용어 "벡터"에 망라된다. 본 발명에서, 본 발명에 이용되는 RNA는 바람직하게는 시험관내 전사된 RNA (IVT-RNA)이고, 적절한 DNA 주형의 시험관내 전사에 의해 수득할 수 있다. 전사를 통제하기 위한 프로모터는 임의의 RNA 중합효소에 대한 임의의 프로모터일 수 있다. RNA 중합효소에 대한 구체적인 예는 T7, T3 및 SP6 RNA 중합효소이다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 시험관내 전사는 T7 또는 SP6 프로모터에 의해 통제된다. 시험관내 전사용 DNA 주형은 핵산, 특히 cDNA를 클로닝한 다음 시험관내 전사에 적절한 벡터에 도입함으로써 수득할 수 있다. cDNA는 RNA의 역 전사에 의해 수득할 수도 있다.
- [0290] RNA와 관련하여, 용어 "발현" 또는 "번역"은 mRNA 가닥이 아미노산 서열의 조립을 지시하여 펩타이드 또는 단백질을 만드는, 세포의 리보솜에서 이루어지는 공정을 지칭한다.
- [0291] 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA의 투여 후, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화하여 투여한 후, RNA의 적어도 일부는 표적 세포로 전달된다. 일 구현예에서, RNA의 적어도 일부가 표적 세포의 세포기질로 전달된다. 일 구현예에서, RNA는 표적 세포에 의해 번역되어 이것이 암호화하는 펩타이드 또는 단백질로 만들어진다. 일 구현예에서, 표적 세포는 비장 세포이다. 일 구현예에서, 표적 세포는 비장내 전문적인 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포이다. 일 구현예에서, 표적 세포는 수지상 세포 또는 대식 세포이다. 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 이러한 표적 세포에 전달하기 위해 이용할 수 있다. 이에, 본 발명은 또한 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자를 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 RNA를 표적 세포에 전달하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, RNA는 표적 세포의 세포기질로 전달된다. 일 구현예에서, RNA는 표적 세포에 의해 번역되어 RNA에 암호화된 펩타이드 또는 단백질로 만들어진다.
- [0292] 본원에 따라, 용어 "RNA가 암호화한다"는 RNA가 표적 조직의 세포내에서와 같은 적절한 환경에 놓인다면, 아미노산의 조립을 지시해 번역 중에 이것이 암호화하는 펩타이드 또는 단백질을 생산하는 것을 의미한다. 일 구현예에서, RNA는 펩타이드 또는 단백질의 번역을 허용하는 세포성 번역 기구와 상호작용할 수 있다. 세포는 세포내에서 (예를 들어, 세포질 및/또는 핵 안에서) 암호화된 펩타이드 또는 단백질을 생산할 수 있거나, 암호화된 펩타이드 또는 단백질을 방출할 수 있거나, 또는 이를 그 표면에서 생산할 수 있다.
- [0293] 본원에서, 용어 "펩타이드"는 올리고펩타이드 및 폴리펩타이드를 포함하며, 펩타이드 결합을 통해 서로 연결된 연속적인 아미노산 약 2개 이상, 약 3개 이상, 약 4개 이상, 약 6개 이상, 약 8개 이상, 약 10개 이상, 약 13개 이상, 약 16개 이상, 약 20개 이상에서 최대 약 50개, 약 100개 또는 약 150개를 포함하는 물질을 지칭한다. 용어 "단백질"은 거대 펩타이드, 특히 아미노산 약 151개 이상의 펩타이드를 지칭하지만, 용어 "펩타이드" 및 "단백질"은 본원에서 통상적으로 동의어로 사용된다.
- [0294] 용어 "항원"은 면역 반응을 야기할 수 있는 에피토프를 포함하는 물질에 관한 것이다. 용어 "항원"은 특히 단백질 및 펩타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 항원은 면역계 세포, 예컨대 수지상 세포 또는 대식세포와 같은 항원 제시 세포에 의해 제시된다. 항원 또는 이의 가공 처리 생성물, 예컨대 T 세포 에피토프는 일 구현예에서 T 또는 B 세포 수용체, 또는 면역글로불린 분자, 예를 들어 항체에 의해 결합된다. 따라서, 항원 또는 이의 가공 처리 생성물은 항체 또는 T-리프구 (T-세포)와 특이적으로 반응할 수 있다. 일 구현예에서, 항원은 질환-관련 항원 (disease-associated antigen), 예를 들어 종양 항원이고, 에피토프는 이러한 항원으로부터 유래한다.
- [0295] 용어 "질환-관련 항원"은 질환과 연관된 임의의 항원을 지칭하는 가장 넓은 의미로 사용된다. 질환-관련 항원은 숙주의 면역계를 자극하여 질환에 대해 세포성 항원-특이적인 면역 반응 및/또는 체액성 항체 반응을 유발하는 에피토프를 가진 분자이다. 따라서, 질환-관련 항원 또는 이의 에피토프는 치료 목적으로 사용될 수 있다. 질환-관련 항원은 암, 전형적으로 종양과 연관될 수 있다.
- [0296] 용어 "종양 항원"은 세포질, 세포 표면 및 세포 핵으로부터 유래할 수 있는 암 세포의 구성성분을 지칭한다. 특히, 이는 종양 세포의 세포내에서 또는 종양 세포 상에 표면 항원으로서 생산되는 항원을 지칭한다.
- [0297] 본원에 개시된 종양 항원은 CLDN6 (서열번호 1), KK-LC-1 (서열번호 5), MAGE-A3 (서열번호 9), MAGE-A4 (서열번호 13), PRAME (서열번호 17), MAGE-C1 (서열번호 21) 또는 NY-ESO-1 (서열번호 25)일 수 있다.
- [0298] 용어 "에피토프"는 면역계에 의해 인지되는 항원과 같은 분자의 부분 또는 단편을 지칭한다. 예를 들어, 에피토프는 T 세포, B 세포 또는 항체에 의해 인지될 수 있다. 항원의 에피토프는 항원의 연속 또는 불연속 부분을 포



호화하는 RNA, 및 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1) 백신 항원을 암호화하는 RNA를 포함한다. 마찬가지로, 본원에 기술된 방법은 claudin 6 (CLDN6) 백신 항원을 암호화하는 RNA, Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종 항원 4 (MAGE-A4) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 및 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1) 백신 항원을 암호화하는 RNA와 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (NY-ESO-1) 백신 항원을 암호화하는 RNA 중 하나 또는 둘다를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법은 claudin 6 (CLDN6) 백신 항원을 암호화하는 RNA, Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종 항원 4 (MAGE-A4) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 및 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1) 백신 항원을 암호화하는 RNA를 투여하는 것을 포함한다.

[0307] **CLDN6 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0308] 인간 claudin 6 유전자 (CLDN6)는 16번 염색체에 위치하며, 아미노산 220개로 이루어진 단백질을 암호화하는 2종의 이소형을 가지고 있다. CLDN6는 종들 간에 고도로 보존되어 있으며, 27종 이상으로 이루어진 claudin 군에 속한다. 일반적으로, CLDN6를 비롯한 claudin은 상피 장벽을 조절하는데 중요하고, 밀착 연결 분자 군에 속한다. CLDN6는 막관통 도메인 4개, 세포외 루프 2개, 세포내 N- 및 C-말단 및 PDZ-결합 도메인을 가지고 있으며, 표피 세포에서 투과성 장벽과 상피-통과 저항 (trans-epithelial resistance)을 유지하는데 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 아울러, CLDN6는 정상적인 배반포 형성에 필수적인 것으로 보인다. 일 구현예에서, CLDN6는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0309] claudin 6 (CLDN6) 백신 항원은 CLDN6, 이의 면역원성 변이체, 또는 CLDN6의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있다. CLDN6 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나, 또는 서열번호 3 또는 4의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0310] **KK-LC-1 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0311] Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1), 또한 암/고환 항원 83, CT83, CXorf61은 암/고환 항원 군으로부터 유래한 단백질 및 종양 항원이다. KK-LC-1은 아미노산 113개 길이를 가진다. KK-LC-1은 건강한 세포 (면역 특권 정자세포는 제외)에서 종양 항원으로 거의 발견되지 않지만, 종종 다양한 종양들, 예를 들어 비-소 세포성 폐암에서 발견된다. 일 구현예에서, KK-LC-1은 서열번호 5에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0312] Kita-kyushu 폐암 항원 1 (KK-LC-1) 백신 항원은 KK-LC-1, 이의 면역원성 변이체, 또는 KK-LC-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. KK-LC-1 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 7 또는 8의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0313] **MAGE-A3 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0314] 인간 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3) 유전자는 흑색종-관련 항원 유전자 계열의 구성원이다. 이 계열의 구성원은 서로 50-80%의 서열 동일성을 가진 단백질들을 암호화한다. MAGEA 유전자들은 염색체 위치 Xq28에 몰려있다. 이들 유전자는 선천성 이상각화증과 같은 일부 유전성 장애와 연루되어 있다. 건강한 세포에서 MAGE-A3의 정상적인 기능은 알려져 있지 않다. 일 구현예에서, MAGE-A3는 서열번호 9에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0315] 흑색종 항원 A3 (MAGE-A3) 백신 항원은 MAGE-A3, 이의 면역원성 변이체, 또는 MAGE-A3의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산

서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. MAGE-A3 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 11 또는 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나 또는; 및/또는 (ii) 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0316] **MAGE-A4 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0317] 인간 흑색종 항원 4 (MAGE-A4) 유전자는 MAGEA 유전자 계열에 속하는 구성원이다. 이 계열의 구성원은 서로 50-80%의 서열 동일성을 가진 단백질들을 암호화한다. MAGEA 유전자들은 염색체 위치 Xq28에 몰려있다. 이들 유전자는 선천성 이상각화증과 같은 일부 유전성 장애와 연루되어 있다. 일 구현예에서, MAGE-A4는 서열번호 13에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0318] 흑색종 항원 4 (MAGE-A4) 백신 항원은 MAGE-A4, 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-A4의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. MAGE-A4 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 15 또는 16의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13 또는 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0319] **PRAME 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0320] 흑색종에서 선호적으로 발현되는 인간 항원 (PRAME) 유전자는 22번 염색체에 위치하며, 이소형은 8개이고 이중 7종은 아미노산 509개로 이루어진 동일한 단백질을 암호화하지만, 8번째 이소형은 처음 아미노산 16개가 결핍되어 있다. FLAG-태그 또는 GFP-태그가 달린 PRAME를 이용한 위치화 연구에서 이 단백질의 핵 위치화가 시사되었다. 아울러, PRAME는 세포자살 및 세포 증식에 중요한 역할을 담당한다. 추가적인 기능성 연구에서, PRAME는 레티노익산 수용체 신호전달을 저해하여, 세포자살 및 분화에서 그 역할을 발휘한다. PRAME는 32종의 PRAME-유사 유전자 및 슈도유전자로 이루어진 멀티유전자 계열에 속한다. PRAME와 가장 비슷한 단백질-암호화 단백질은 (blast 소프트웨어 패키지의 blast 커맨드를 이용해) 이 단백질에 대해 53% 상동성을 가진다. RT-qPCR에 기반한 상세한 분석에서 고환, 부고환 및 자궁에서 PRAME의 고 발현성이 확인되었다. 일 구현예에서, PRAME는 서열번호 17에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0321] 흑색종에서 선호적으로 발현되는 항원 (PRAME) 백신 항원은 PRAME, 이의 번역원성 변이체, 또는 PRAME의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. PRAME 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0322] **MAGE-C1 백신 항원의 분자 구조 및 기능**

[0323] 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1), 또한 암/고환 항원 7 (CT7)은 암/고환 항원 군으로부터 유래한 인간 종양 항원이다. MAGE-C1은 아미노산 1,142개 길이이고, 분자량은 123,643 Da이다. 이는 세린 최대 4개, S63, S207, S382 및 S1063에서 인산화된다. MAGE-C1은 항-세포자살 특징을 가지고 있으며 NY-ESO-1에 결합한다. 이는 (면역-특권 정자세포를 제외한) 건강한 세포에서는 발생하지 않지만, 종양, 예를 들어 다발성 골수종에서 흔히 발현된다. 이는 악성 형질세포에 의해 생성된다. 일 구현예에서, MAGE-C1은 서열번호 21에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0324] 흑색종 항원 C1 (MAGE-C1) 백신 항원은 MAGE-C1, 이의 번역원성 변이체, 또는 MAGE-C1의 번역원성 단편 또는 이의 번역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. MAGE-C1 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 23 또는 24의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%,

95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21 또는 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0325] NY-ESO-1 백신 항원의 분자 구조 및 기능

[0326] 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (NY-ESO-1), 또한 암/고환 항원 1, LAGE2 또는 LAGE2B는 인간에서 CTAG1B 유전자에 의해 암호화되는 단백질이다. CTAG1B는 X 염색체의 긴 아암 (Xq28)에 위치한다. 이 유전자는 아미노산 180개의 폴리펩타이드를 암호화하며, 출생시까지 인간 태아 고환에서 배아 발달 중에 18주까지 발현된다. 이는 또한 성체 고환의 정세포 및 일차 정모세포에서 강하게 발현되지만, 감수분열 후 세포 또는 고환 체세포에서는 발현되지 않는다. NY-ESO-1은 mRNA 및 단백질 수준에서 다양한 악성 종양들에서 발현되지만 정상 성체 조직에서는 고환 생식 세포에서만 제한된, 암 고환 항원 (CTA)의 계열에 속한다. 일 구현예에서, NY-ESO-1은 서열번호 25에 따른 아미노산 서열을 가진다.

[0327] 뉴욕 식도 편평 세포암-1 (NY-ESO-1) 백신 항원은 NY-ESO-1, 이의 면역원성 변이체, NY-ESO-1의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열, 또는 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. NY-ESO-1 백신 항원을 암호화하는 RNA는 (i) 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 27 또는 28의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있거나; 및/또는 (ii) 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열, 또는 서열번호 25 또는 26의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.

[0328] 클로스트리듐 테타니의 과상풍 독소이드로부터 유래한 아미노산 서열은 감작화 중에 T 세포 보조를 제공함으로써 자기-항원에 대해 면역 반응을 효과적으로 구축하기 위해 자기-관용 기전을 극복하기 위해 채택될 수 있다.

[0329] 과상풍 독소이드 중쇄는 MHC 클래스 II 대립유전자에 무차별적으로 결합할 수 있으며 거의 대부분의 과상풍 백신 접종된 개체에서  $CD4^{+}$  기억 T 세포를 유도할 수 있는 에피토프를 포함하고 있는 것으로 알려져 있다. 아울러, 과상풍 독소이드 (TT) 헬퍼 에피토프와 종양-관련 항원의 조합이 종양-관련 항원을 단독으로 제공한 경우와 비교해, 감작화 중에  $CD4^{+}$ -매개 T 세포의 보조를 제공함으로써 면역 자극을 개선하는 것으로 알려져 있다.  $CD8^{+}$  T 세포가 종양 항원-특이적인 T 세포 반응의 의도한 유도과 경쟁할 수 있는 과상풍 서열에 의해 자극될 위험을 줄이기 위해,  $CD8^{+}$  T-세포 에피토프를 함유한 것으로 알려진 과상풍 독소이드의 전체 단편 C를 이용하지 않는다. 가능한 많은 MHC 클래스 II 대립유전자에 결합할 수 있도록, 무차별적으로 결합하는 헬퍼 에피토프를 함유한 펩타이드 서열 2종을 대신 선택하였다. 생체외 실험 데이터를 기반으로, 잘-알려진 에피토프 p2 (QYIKANSKFIGITEL; TT<sub>830-844</sub>) 및 p16 (MTNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQGAQG; TT<sub>578-609</sub>)을 선택하였다. p2 에피토프는 항-흑색종 활성을 부스팅하기 위해 임상 시험에서 펩타이드 백신 접종에 이미 사용되고 있다.

[0330] 현재 비-임상 데이터 (미공개)에는, 종양 항원 + 무차별적으로 결합하는 과상풍 독소이드 서열 둘다 암호화하는 RNA 백신이 종양 항원을 겨냥하는 강화된  $CD8^{+}$  T-세포 반응과 관용성 파괴 개선을 유도하는 것으로, 밝혀졌다. 종양 항원-특이적인 서열과 인 프레임으로 융합된 서열을 함유한 백신으로 접종된 환자들의 면역모니터링 데이터에서, 선택한 과상풍 서열이 거의 모든 환자들에서 과상풍-특이적인 T 세포 반응을 유발할 수 있는 것으로, 드러났다.

[0331] 특정 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 직접 또는 링커, 예를 들어 아미노산 서열 GSGGGGSGG를 가진 링커를 통해 항원성 펩타이드 또는 단백질, 즉, CLDN6 (서열번호 1), KK-LC-1 (서열번호 5), MAGE-A3 (서열번호 9), MAGE-A4 (서열번호 13), PRAME (서열번호 17), MAGE-C1 (서열번호 21) 또는 NY-ESO-1 (서열번호 25), 이들의 변이체 또는 이들의 단편과 융합된다.

[0332] 면역 관용을 파괴하는 이러한 아미노산 서열은 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단에 (그리고, 선택적으로 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열의 N-말단에, 이 경우 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열과 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 직접 융합되거나, 또는 링커, 예를 들어 아미노산 서열 GSSGGGGSPGGGSS를 가진 링커를 통해 융합될 수 있음) 위치하지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 본원에 정의된 바와 같이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 바람직하게는 T 세포 반응을 개선한다. 일 구현예

에서, 본원에 정의된 바와 같이 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 과상풍 독소이드-유래 헬퍼 서열 p2 및 p16 (P2P16)로부터 유래한 서열, 특히 서열번호 33의 아미노산 서열 또는 이의 기능성 변이체를 포함하는 서열을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 서열번호 33의 아미노산 서열, 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열, 또는 서열번호 33의 아미노산 서열 또는 서열번호 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일한 아미노산 서열의 기능성 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함한다.

[0333] 과상풍 독소이드 헬퍼 에피토프와 융합된 항원 RNA를 이용하는 대신, 종양-항원 RNA를 TT 헬퍼 에피토프를 코딩하는 별개의 RNA와 함께 백신 접종 중에 동시 투여할 수 있다. 여기서, TT 헬퍼 에피토프를 코딩하는 RNA는 조제하기 전 각각의 항원-암호화 RNA에 추가될 수 있다. 이런 방식으로, 주어진 APC에 2가지 화합물을 전달하기 위해 항원을 암호화하는 RNA 및 헬퍼 에피토프를 암호화하는 RNA 둘다를 포함하는 혼성 리포플렉스 나노입자를 제조한다.

[0334] 이에, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 과상풍 독소이드-유래 헬퍼 서열 p2 및 p16 (P2P16)을 암호화하는 RNA를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 본원에 기술된 방법은 과상풍 독소이드-유래 헬퍼 서열 p2 및 p16 (P2P16)을 암호화하는 RNA를 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0335] 따라서, 추가적인 측면은 하기를 포함하는 리포플렉스 입자와 같은 입자를 포함하는 약학적 조성물과 같은 조성물에 관한 것이다:

[0336] (i) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 및

[0337] (ii) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA.

[0338] 이러한 조성물은 백신 항원, 즉 질환-관련 항원에 대항하여 면역 반응을 유도하는 방법에 유용하다.

[0339] 추가적인 측면은 하기를 포함하는 리포플렉스 입자와 같은 입자를 투여하는 것을 포함하는 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다:

[0340] (i) 백신 항원을 암호화하는 RNA, 및

[0341] (ii) 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA.

[0342] 일 구현예에서, 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열은 헬퍼 에피토프, 바람직하게는 과상풍 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 포함한다

[0343] 일 구현예에서, 백신 항원을 암호화하는 RNA는 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열을 암호화하는 RNA와 약 4:1 내지 약 16:1, 약 6:1 내지 약 14:1, 약 8:1 내지 약 12:1, 또는 약 10:1의 비율로 함께 리포플렉스 입자와 같은 입자로서 공동-제형화된다.

[0344] 특정 구현예에 따르면, 신호 펩타이드는 항원성 펩타이드 또는 단백질, 예를 들어, MAGE-A3 (서열번호 9), PRAME (서열번호 17), MAGE-C1 (서열번호 21) 또는 NY-ESO-1 (서열번호 25), 이들의 변이체 또는 이들의 단편에 직접 또는 링커, 예를 들어 아미노산 서열 GGSGGGSGG를 가진 링커를 통해 융합된다.

[0345] 이러한 신호 펩타이드는, 아미노산 약 15-30개 길이이고 바람직하게는 비-제한적으로 항원성 펩타이드 또는 단백질의 N-말단에 위치하는, 서열이다. 본원에 정의된 바와 같이 신호 펩타이드는 바람직하게는 RNA에 의해 암호화된 바와 같은 항원성 펩타이드 또는 단백질을 지정된 세포 구획, 바람직하게는 세포 표면, 소포체 (ER) 또는 엔도솜-리소솜 구획으로 수송할 수 있게 한다. 일 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같이 신호 펩타이드 서열은 비-제한적으로 인간 MHC 클래스 I 복합체 (HLA-B51, 일배체형 A2, B27/B51, Cw2/Cw3)를 암호화하는 서열로부터 유래한 신호 펩타이드 서열을 포함하며, 바람직하게는 발생 초기 폴리펩타이드 사슬을 소포체로 전위하는 것을 안내하는 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 78 bp 단편에 해당하며, 특히 서열번호 29의 아미노산 서열 또는 이의 기능성 변이체를 포함하는 서열을 포함한다.

[0346] 일 구현예에서, 신호 서열은 서열번호 29의 아미노산 서열, 서열번호 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80%의 동일성을 가진 아미노산 서열, 또는 서열번호 29의 아미노산 서열 또는 서열번호 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80%의 동일성을 가진 아미노산 서열의 기능성 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 신호 서열은 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0347] 이러한 신호 펩타이드는 바람직하게는 암호화된 항원성 펩타이드 또는 단백질의 방출을 촉진하기 위해 이용된다. 더 바람직하게는, 본원에 정의된 바와 같이 신호 펩타이드는 본원에 정의된 바와 같이 암호화된 항원성 펩타이드 또는 단백질과 융합된다.
- [0348] 이에, 특히 바람직한 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 항원성 펩타이드 또는 단백질 및 신호 펩타이드를 암호화하는 하나 이상의 암호화 영역을 포함하고, 신호 펩타이드는 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질에, 더 바람직하게는 본원에 기술된 바와 같이 항원성 펩타이드 또는 단백질의 N-말단에 융합된다.
- [0349] 특정 구현예에 따르면, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 항원성 펩타이드 또는 단백질, 예를 들어, MAGE-A3 (서열번호 9), MAGE-A4 (서열번호 13), PRAME (서열번호 17), MAGE-C1 (서열번호 21) 또는 NY-ESO-1 (서열번호 25), 이들의 변이체 또는 이들의 단편에 직접 또는 링커를 통해 융합된다.
- [0350] 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 이러한 아미노산 서열은 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단에 (그리고, 선택적으로 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열의 C-말단에, 이 경우 면역 관용을 파괴하는 아미노산 서열과 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 직접 융합되거나, 또는 링커, 예를 들어 아미노산 서열 GSSGGGSPGGGSS를 가진 링커를 통해 융합될 수 있음) 위치하지만, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0351] 본원에 정의된 바와 같이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 바람직하게는 항원 가공 및 제시를 개선한다. 일 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 비-제한적으로 인간 MHC 클래스 I 복합체 (HLA-B51, 일배체형 A2, B27/B51, Cw2/Cw3), 특히 서열번호 31의 아미노산 서열 또는 이의 기능성 변이체를 포함하는 서열로부터 유래한 서열을 포함한다.
- [0352] 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열, 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80%의 동일성을 가진 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열 또는 서열번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80%의 동일성을 가진 아미노산 서열의 기능성 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0353] 이러한 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 바람직하게는 암호화된 항원성 펩타이드 또는 단백질의 항원 가공 및/또는 제시를 촉진하기 위해 이용된다. 더 바람직하게는, 본원에 정의된 바와 같이 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 본원에 정의된 바와 같이 암호화된 항원성 펩타이드 또는 단백질과 융합된다.
- [0354] 이에, 특히 바람직한 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 항원성 펩타이드 또는 단백질 및 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열을 암호화하는 하나 이상의 코딩 영역을 포함하고, 이러한 항원 가공 및/또는 제시를 강화하는 아미노산 서열은 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질에, 더 바람직하게는 본원에 기술된 바와 같이 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단으로 융합된다.
- [0355] 이하, 백신 RNA에 대한 구현예들을 기술하며, 요소들의 설명에 사용된 일부 용어들은 다음과 같은 의미를 가진다:
- [0356] **hAg-Kozak:** 번역 효율을 높이기 위해 최적화된 Kozak 서열을 가진 인간  $\alpha$ -글로빈 mRNA의 5'-UTR 서열.
- [0357] **sec/MITD:** 항원 가공 및 제시를 개선하는 것으로 입증된 바 있는, 인간 MHC 클래스 I 복합체 (HLA-B51, 일배체형 A2, B27/B51, Cw2/Cw3)를 암호화하는 서열로부터 유래한 융합-단백질 태그. Sec는 발생 초기 폴리펩타이드 사슬을 소포체로 전위하는 것을 안내하는 방출 신호 펩타이드를 암호화하는 78 bp 단편에 해당한다. MITD는 MHC 클래스 I 수송 도메인으로도 지칭되는 MHC 클래스 I 분자의 막관통 및 세포질 도메인에 해당한다.
- [0358] **항원:** 각각의 종양 항원을 암호화하는 서열.
- [0359] **글리신-세린 링커 (GS):** 융합 단백질에 대해 일반적으로 사용되는 아미노산 글리신 (G) 및 세린 (S)으로 주로 이루어진 짧은 링커 펩타이드를 암호화하는 서열.
- [0360] **P2P16:** 면역 관용을 파괴하기 위한 파상풍 독소이드-유래 헬퍼 에피토프를 암호화하는 서열.
- [0361] **FI 요소:** 3'-UTR은 "스플리트의 아미노 말단 인핸서" (AES) mRNA (F로 지칭됨) 및 미토콘드리아에서 암호화된 12S 리소솜 RNA (I로 지칭됨)로부터 유래한 서열 2종의 조합이다. 이는 RNA 안정성을 부여하고 전체 단백질 발현을 증대시키는 서열에 대한 생체의 선별 공정에 의해 동정되었다.

- [0362] **A30L70:** 수지상 세포에서 번역 효율 및 RNA 안정성을 강화하도록 설계된 아데노신 잔기 30개, 뉴클레오타이드 10개 길이의 링커 서열 및 다시 아데노신 잔기 70개로 순차적으로 구성된, 뉴클레오타이드 110개 길이의 폴리(A)-꼬리.
- [0363] 일 구현예에서, 특히, CLDN6 (서열번호 1) 또는 KK-LC-1 (서열번호 5)의 경우, 본원에 기술된 백신 RNA는 하기 구조를 가진다:
- [0364] beta-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-항원-GS(2)-P2P16-FI-A30L70
- [0365] 일 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 하기 구조를 가진다:
- [0366] 항원-GS(2)-P2P16
- [0367] 일 구현예에서, 특히 MAGE-A4 (서열번호 13)의 경우, 본원에 기술된 백신 RNA는 하기 구조를 가진다:
- [0368] beta-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-항원-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD-FI-A30L70
- [0369] 일 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 하기 구조를 가진다:
- [0370] 항원-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD
- [0371] 일 구현예에서, 특히 MAGE-A3 (서열번호 9), PRAME (서열번호 17), MAGE-C1 (서열번호 21) 또는 NY-ESO-1 (서열번호 25)의 경우, 본원에 기술된 백신 RNA는 하기 구조를 가진다:
- [0372] beta-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-sec-GS(1)-항원-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD-FI-A30L70
- [0373] 일 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 하기 구조를 가진다:
- [0374] sec-GS(1)-항원-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD
- [0375] 일 구현예에서, hAg-Kozak는 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다른 구현예들에서, 항원은 CLDN6 (서열번호 1)의 아미노산 서열, KK-LC-1 (서열번호 5)의 아미노산 서열, MAGE-A3 (서열번호 9)의 아미노산 서열, MAGE-A4 (서열번호 13)의 아미노산 서열, PRAME (서열번호 17)의 아미노산 서열, MAGE-C1 (서열번호 21)의 아미노산 서열 및 NY-ESO-1 (서열번호 25)의 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, sec는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함한다. CLDN6, KK-LC-1 및 MAGE-A4의 경우, 내인성 신호 펩타이드가 존재하며, 따라서 서열번호 1, 5 및 13에는 추가적인 신호 펩타이드를 추가하지 않아도 된다. 일 구현예에서, P2P16은 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, MITD는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, GS(1)는 아미노산 서열 GSGGGGSGG를 포함한다. 일 구현예에서, GS(2)는 아미노산 서열 GSGGGGSGG를 포함한다. 일 구현예에서, GS(3)는 아미노산 서열 GSSGGGGSPGGGSS를 포함한다. 일 구현예에서, FI은 서열번호 36의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일 구현예에서, A30L70은 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0376] 아미노산 서열 (펩타이드 또는 단백질)을 참조하여 "단편"은 아미노산 서열의 일부분, 즉 N-말단 및/또는 C-말단에서 잘려진 아미노산 서열을 나타낸 서열을 지칭한다. C-말단에서 잘려진 단편 (N-말단 단편)은 예를 들어 오픈 리딩 프레임의 3'-말단이 결핍된 말단절단된 오픈 리딩 프레임의 번역을 통해 획득가능하다. N-말단에서 잘려진 단편 (C-말단 단편)은, 말단 절단된 오픈 리딩 프레임이 번역 개시에 이용되는 개시 코돈을 포함하는 한, 예를 들어 오픈 리딩 프레임의 5'-말단이 결핍된 말단절단된 오픈 리딩 프레임의 번역을 통해 획득가능하다. 아미노산 서열의 단편은, 예를 들어, 아미노산 서열로부터 유래한 아미노산 잔기들을 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%로 포함한다. 아미노산 서열의 단편은, 바람직하게는, 아미노산 서열로부터 유래한 연속적인 아미노산을 적어도 6개, 특히 적어도 8개, 적어도 12개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 50개 또는 적어도 100개 포함한다.
- [0377] 본원에서, "변이체"는 하나 이상의 아미노산 변형으로 인해 부모 (parent) 아미노산 서열과는 차이가 있는 아미노산 서열을 의미한다. 부모 아미노산 서열은 자연 생성 또는 야생형 (WT) 아미노산 서열일 수 있거나, 또는 야생형 아미노산 서열의 변형된 버전일 수 있다. 바람직하게는, 변이체 아미노산 서열은 부모 아미노산 서열과 비교해 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어 부모 아미노산 서열과 비교해 1개 내지 약 20개, 바람직하게는 1개 내지 약 10개 또는 1개 내지 약 5개의 아미노산 변형을 가진다.
- [0378] 본원에서 "야생형" 또는 "WT" 또는 "천연 (native)"은 대립유전자 변이를 비롯해 자연계에서 발견되는 아미노산 서열을 의미한다. 야생형 아미노산 서열, 펩타이드 또는 단백질은 의도적으로 변형되지 않은 아미노산 서열을

가진다.

- [0379] 본 발명의 목적에서, 아미노산 서열 (펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)의 "변이체"는 아미노산 삽입 변이체, 아미노산 부가 변이체, 아미노산 결손 변이체 및/또는 아미노산 치환 변이체를 포함한다. 용어 "변이체"는 돌연변이, 스포라싱 변이체, 번역 후 수정된 변이체, 입체구조 (conformation), 이소형, 대립유전자 변이체, 종 변이체 및 종 상동체 (species homolog), 특히 자연적으로 생성되는 것을 모두 포괄한다. 용어 "변이체"는 특히 아미노산 서열의 단편을 포괄한다.
- [0380] 아미노산 삽입 변이체는 특정 아미노산 서열에 하나 또는 2 이상의 아미노산의 삽입을 포함한다. 삽입이 존재하는 아미노산 서열의 경우, 수득되는 산물에 대한 적절한 스크리닝을 이용한 무작위 삽입도 가능하지만, 아미노산 서열 내 특정 부위에 하나 이상의 아미노산 잔기를 삽입한다. 아미노산 부가 변이체는 하나 이상의 아미노산, 예를 들어 아미노산 1개, 2개, 3개, 5개, 10개, 20개, 30개, 50개 또는 그보다 많은 수의 아미노- 및/또는 카르복시-말단 융합을 포함한다. 아미노산 결손 변이체는 서열에서 하나 이상의 아미노산의 제거, 예를 들어 아미노산 1개, 2개, 3개, 5개, 10개, 20개, 30개, 50개 또는 그 이상의 제거를 특징으로 한다. 결손은 단백질의 임의 위치에 존재할 수 있다. 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단에 결손을 포함하는 아미노산 결손 변이체는 N-말단 및/또는 C-말단 절단형 변이체 (truncation variant)로도 지칭된다. 아미노산 치환 변이체는 서열에서 하나 이상의 잔기를 제거하고 그 위치에 다른 잔기를 삽입하는 것을 특징으로 한다. 상동적인 단백질들 또는 펩타이드들 간에 비-보존된 아미노산 서열 내 위치에 변형이 존재하거나, 및/또는 아미노산을 유사한 특성의 다른 아미노산으로 치환하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 펩타이드 및 단백질 변이체에서 아미노산 변경은 보존적인 아미노산 변경, 즉 유사하게 하전 또는 비-하전된 아미노산으로 치환하는 것이다. 보존적인 아미노산 변경은 측쇄가 비슷한 아미노산들로 구성된 동일 계열의 다른 아미노산으로의 치환을 수반한다. 자연 생성 아미노산은 일반적으로 4가지 계열로 나뉜다: 산성 아미노산 (아스파르트레이트, 글루타메이트), 염기성 아미노산 (라이신, 아르기닌, 히스티딘), 비-극성 아미노산 (알라닌, 발린, 루신, 이소루신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 및 비-하전된 극성 아미노산 (글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신). 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신은 때때로 방향족 아미노산으로 함께 분류된다. 일 구현예에서, 보존적인 아미노산 치환은 다음과 같은 군 내 치환을 포함한다:
- [0381] 글리신, 알라닌;
- [0382] 발린, 이소루신, 루신;
- [0383] 아스파르트산, 글루탐산;
- [0384] 아스파라긴, 글루타민;
- [0385] 세린, 트레오닌;
- [0386] 라이신, 아르기닌; 및
- [0387] 페닐알라닌, 티로신.
- [0388] 바람직하게는, 주어진 아미노산 서열과 주어진 아미노산 서열에 대한 변이체 아미노산 서열 간의 유사성, 바람직하게는 동일성 정도는 적어도 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 것이다. 유사성 또는 동일성 정도는 바람직하게는 참조 아미노산 서열의 전장에 대해 적어도 약 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100%에 해당하는 아미노산 영역에 대해 제공된다. 예를 들어, 참조 아미노산 서열이 아미노산 200개로 구성된다면, 유사성 또는 동일성 정도는 바람직하게는 아미노산, 일부 구현예에서 연속적인 아미노산 적어도 약 100개, 적어도 약 120개, 적어도 약 140개, 적어도 약 160개, 적어도 약 180개 또는 약 200개에 대해 제시된다. 바람직한 구현예에서, 유사성 또는 동일성 정도는 참조 아미노산 서열의 전장에 대해 제시된다.
- [0389] "서열 유사성"은 보존적인 아미노산 치환을 나타내거나 또는 동일한 아미노산의 %를 나타낸다. 아미노산 서열 2종 간의 "서열 동일성"은 서열들 간에 동일한 아미노산의 %를 나타낸다.
- [0390] 일 구현예에서, 아미노산 서열 (펩타이드 또는 단백질)의 단편 또는 변이체는 바람직하게는 "기능성 단편" 또는 "기능성 변이체"이다. 아미노산 서열의 "기능성 단편" 또는 "기능성 변이체"라는 용어는 이것이 기원한 아미노산 서열과 동일한 또는 비슷한 한가지 이상의 기능적 특성을 발휘하는 임의의 단편 또는 변이체를 의미하며, 즉 기능적 균등물이다. 항원 또는 항원성 서열과 관련하여, 구체적인 한가지 기능은 단편 또는 변이체의 기원이 되는 아미노산 서열에 의해 구현되는 하나 이상의 면역원성 활성이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "기능성 단

편" 또는 "기능성 변이체"는, 특히, 부모 분자 또는 서열의 아미노산 서열과 비교해 하나 이상의 아미노산이 변형된 아미노산 서열을 포함하지만, 부모 분자 또는 서열의 한가지 이상의 기능을 여전히 충족할 수 있는, 예를 들어 면역 반응을 유도하는, 변이체 분자 또는 서열을 의미한다. 일 구현예에서, 부모 분자 또는 서열의 아미노산 서열 내 변형은 분자 또는 서열의 특징을 현저하게 바꾸지 않거나 또는 영향을 미치지 않는다. 다른 구현예에서, 기능성 단편 또는 기능성 변이체의 기능이 저하될 순 있지만 여전히 현저한 수준으로 존재하며, 예를 들어, 기능성 변이체의 면역원성이 부모 분자 또는 서열에 대해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%일 수 있다. 그러나, 다른 구현예에서, 기능성 단편 또는 기능성 변이체의 면역원성이 부모 분자 또는 서열과 비교해 강화될 수도 있다.

[0391] 명시된 아미노산 서열 (펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)"로부터 유래한" 아미노산 서열 (펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)은 제1 아미노산 서열의 기원을 참조한다. 바람직하게는, 특정 아미노산 서열로부터 유래한 아미노산 서열은 이 특정 서열 또는 이의 단편과 동일한, 본질적으로 동일한 또는 상동적인 아미노산 서열을 가진다. 특정 아미노산 서열로부터 유래한 아미노산 서열은 이 특정 서열 또는 이의 단편의 변이체일 수 있다. 예를 들어, 당해 기술 분야의 당업자라면, 본원에서 이용하기 적합한 항원이, 이의 기원이 되는 자연 생성 또는 본래의 서열과 서열상 차이는 있지만 본래의 서열의 바람직한 활성을 유지하도록 변형될 수 있는 것임을, 이해할 것이다.

[0392] 본원에 기술된 펩타이드 및 단백질 항원 (CLDN6 단백질, KK-LC-1 단백질, MAGE-A3 단백질, MAGE-A4 단백질, PRAME 단백질, MAGE-C1 단백질 및 NY-ESO-1 단백질)은 항원, 즉 백신 항원을 암호화하는 RNA의 투여에 의해 개체에 제공되는 경우, 바람직하게는 개체에서 T 세포의 자극, 감작화 및/또는 증폭이 달성된다. 이러한 자극, 감작 및/또는 증폭된 T 세포는 바람직하게는 표적 항원, 특히 병에 걸린 세포, 조직 및/또는 장기에 의해 발현되는 표적 항원, 즉 질환-관련 항원을 겨냥한다. 따라서, 백신 항원은 질환-관련 항원, 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 이러한 단편 또는 변이체는 질환-관련 항원과 면역학적으로 동등하다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "항원의 단편" 또는 "항원의 변이체"는, 특히 병에 걸린 세포, 조직 및/또는 장기의 표면 상에 발현되었을 경우, 자극, 감작 및/또는 증폭된 T 세포가 질환-관련 항원을 표적으로 하는 T 세포의 자극, 감작 및/또는 증폭을 달성하는 물질을 의미한다. 따라서, 본 발명에 따라 투여되는 백신 항원은 질환-관련 항원에 해당할 수 있거나 또는 이를 포함할 수 있거나, 질환-관련 항원의 단편에 해당하거나 또는 이를 포함할 수 있거나, 또는 질환-관련 항원 또는 이의 단편에 대해 상동적인 항원에 해당하거나 또는 이를 포함할 수 있다. 만일 본 발명에 따라 투여되는 백신 항원이 질환-관련 항원의 단편 또는 질환-관련 항원의 단편에 대해 상동적인 아미노산 서열을 포함한다면, 이러한 단편 또는 아미노산 서열은 질환-관련 항원의 에피토프 또는 질환-관련 항원의 에피토프에 상동적인 서열을 포함할 수 있으며, T 세포가 상기 에피토프에 결합한다. 따라서, 본원에 따라, 항원은 질환-관련 항원의 면역원성 단편 또는 질환-관련 항원의 면역원성 단편에 상동적인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본원에 따른 "항원의 면역원성 단편"은 바람직하게는 T 세포를 자극, 감작 및/또는 증폭할 수 있는 항원의 단편을 지칭한다. 바람직하게는, (질환-관련 항원과 유사한) 백신 항원은 T 세포에 의해 결합하기 위한 관련 에피토프를 제공한다. 또한, 바람직하게는, (질환-관련 항원과 유사한) 백신 항원은 T 세포에 의해 결합하기 위한 관련 에피토프를 제공하기 위해 항원-제시 세포와 같은 세포의 표면 상에 발현된다. 본 발명에 따른 백신 항원은 재조합 항원일 수 있다.

[0393] 용어 "면역학적으로 동등한"은 면역학적으로 동등한 아미노산 서열과 같은 면역학적으로 동등한 분자가 동일한 또는 기본적으로 동일한 면역학적 특성을 나타내거나 및/또는 예를 들어 면역학적 효과의 유형과 관련하여 동일한 또는 기본적으로 동일한 면역학적 효과를 발휘하는 것을 의미한다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "면역학적으로 동등한"은 바람직하게는 항원 또는 항원 변이체의 면역학적 효과 또는 특성과 관련하여 사용된다. 예를 들어, 아미노산 서열이, 참조 아미노산 서열에 결합하거나 또는 참조 아미노산 서열을 발현하는 세포에 결합하는 T 세포에 노출되었을 때, 참조 아미노산 서열과의 반응 특이성을 가진 면역 반응, 특히 T 세포의 자극, 감작 및/또는 증폭을 유도한다면, 그 아미노산 서열은 참조 아미노산 서열과 면역학적으로 동등한 것이다. 따라서, 항원과 면역학적으로 동등한 분자는 동일한 또는 기본적으로 동일한 특성을 나타내거나 및/또는 T 세포를 표적화하는 항원으로서 T 세포의 자극, 감작 및/또는 증폭과 관련하여 동일한 또는 기본적으로 동일한 효과를 발휘한다.

[0394] 본원에 사용된 바와 같이, "활성화" 또는 "자극"은 검출가능한 세포 증식을 유도하도록 충분히 자극된 T 세포의 상태를 지칭한다. 활성화는 또한 유도된 사이토카인 생산, 및 검출가능한 작동자 기능과 관련있을 수 있다. 용어 "활성화된 T 세포"는 그 중에서도 세포 분열 중인 T 세포를 지칭한다.

[0395] 용어 "감작"은 T 세포가 이의 특이적인 항원과 최초로 접촉하여 작동자 T 세포로의 분화를 유발하는 과정을 지

칭한다.

[0396] 용어 "클론 증폭" 또는 "증폭"은 특정 실체가 증폭되는 과정을 의미한다. 본 발명의 맥락에서, 이 용어는 바람직하게는 림프구가 항원에 의해 자극받아 증폭되고, 그 항원을 인지하는 특정 림프구가 증폭되는 면역학적 반응 맥락에서 사용된다. 바람직하게는, 클론 증폭은 림프구의 분화로 이어진다.

[0397] 리포플렉스 입자

[0398] 백신 항원을 암호화하는 RNA는 입자로서, 예를 들어, 단백질 및/또는 지질 입자로서 제형화되어 투여할 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 RNA 리포플렉스 입자 내에 존재할 수 있다. RNA 리포플렉스 입자 및 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 조성물은 비경구 투여한 후, 특히 정맥내 투여한 후 표적 조직으로 RNA를 전달하는데 유용하다. RNA 리포플렉스 입자는 에탄올 중의 지질 용액을 물 또는 적절한 수상에 주입함으로써 수득할 수 있는 리포솜을 이용해 제조할 수 있다. 일 구현예에서, 수 상은 산성 pH를 가진다. 일 구현예에서, 수 상은 아세트산을, 예를 들어, 약 5 mM의 함량으로 포함한다. 일 구현예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 하나 이상의 양이온성 지질과 하나 이상의 추가적인 지질을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA) 및/또는 1,2-다이올레오일-3-트리메틸암모늄-프로판 (DOTAP)을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 추가적인 지질은 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE), 콜레스테롤 (Chol) 및/또는 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DOPC)을 포함한다. 일 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA)을 포함하고, 하나 이상의 추가적인 지질은 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다. 일 구현예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA) 및 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다. 리포솜은 리포솜을 RNA와 혼합함으로써 RNA 리포플렉스 입자를 제조하는 데 이용할 수 있다.

[0399] 비장을 표적화하는 RNA 리포플렉스 입자는 WO 2013/143683에 언급되어 있으며, 본원에 원용에 의해 포함된다. 순 음전하를 가진 RNA 리포플렉스 입자를 이용하여, 항원-제시 세포와 같은 비장 조직 또는 비장 세포, 구체적으로 수지상 세포를 선호적으로 표적화할 수 있는 것으로 밝혀져 있다. 이에, RNA 리포플렉스 입자를 투여한 후, 비장에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 이루어진다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 비장에서 RNA를 발현시키기 위해 활용할 수 있다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자를 투여한 후, 폐 및/또는 간에서의 RNA 축적 및/또는 RNA 발현은 발생하지 않거나, 또는 본질적으로 발생하지 않는다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자를 투여한 후, 비장내 전문적인 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생한다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 이러한 항원 제시 세포에서 RNA를 발현시키기 위해 이용할 수 있다. 일 구현예에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포 및/또는 대식 세포이다.

[0400] RNA 리포플렉스 입자 직경

[0401] 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자는, 일 구현예에서 약 200 nm 내지 약 1000 nm, 약 200 nm 내지 약 800 nm, 약 250 내지 약 700 nm, 약 400 내지 약 600 nm, 약 300 nm 내지 약 500 nm 또는 약 350 nm 내지 약 400 nm 범위의 평균 직경을 가진다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 250 nm 내지 약 700 nm 범위의 평균 직경을 가진다. 다른 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 300 nm 내지 약 500 nm 범위의 평균 직경을 가진다. 예시적인 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 평균 직경이 약 400 nm이다.

[0402] 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자는 약 0.5 미만, 약 0.4 미만 또는 약 0.3 미만의 다분산 지수를 나타낸다. 예를 들어, RNA 리포플렉스 입자는 약 0.1 내지 약 0.3 범위의 다분산 지수를 나타낼 수 있다.

[0403] 지질

[0404] 일 구현예에서, 본원에 기술된 지질 용액, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 양이온성 지질을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 "양이온성 지질"은 순 양전하를 가진 지질을 지칭한다. 양이온성 지질은 지질 매트릭스에 대한 정전기적 상호작용에 의해 음으로 하전된 RNA에 결합한다. 일반적으로, 양이온성 지질은 친유성 모이어티, 예컨대 스테롤, 아실 또는 다이아실 쇄를 가지며, 지질의 헤드(head) 기는 전형적으로 양의 전하를 가진다. 양이온성 지질의 예로는 1,2-다이-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA), 다이메틸다이옥타데실암모늄 (DDAB); 1,2-다이올레오일-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTAP); 1,2-다이올레오일-3-다이메틸암모늄-프로판 (DODAP); 1,2-다이아실옥시-3-다이메틸암모늄 프로판; 1,2-다이알킬옥시-3-다이메틸암모늄 프로판; 다이옥타데실다이메틸 암모늄 클로라이드 (DODAC), 2,3-다이(테트라데코시)프로필-(2-하이드록시에틸)-다이메틸아자늄

(DMRIE), 1,2-다이미리스토일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (DMEPC), 1,2-다이미리스토일-3-트리메틸암모늄 프로판 (DMTAP), 1,2-다이올레일옥시프로필-3-다이메틸-하이드록시에틸 암모늄 브로마이드 (DORIE), 및 2,3-다이올레오일옥시-N-[2(스페르민 카르복사미드)에틸]-N,N-다이메틸-1-프로판아름 트리플루오로아세테이트 (DOSPA) 등이 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. DOTMA, DOTAP, DODAC 및 DOSPA가 바람직하다. 특정 구현예에서, 양이온성 지질은 DOTMA 및/또는 DOTAP이다.

[0405] RNA 리포플렉스 입자의 물리적 안정성 및 전체 양전하 대 음전하 비율을 조정하기 위해 추가적인 지질이 혼입될 수 있다. 특정 구현예에서, 추가적인 지질은 중성 지질이다. 본원에 사용된 바와 같이 "중성 지질"은 순 전하가 0인 지질을 지칭한다. 중성 지질의 예로는 1,2-다이-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE), 1,2-다이올레오일-sn-글리세로 3-포스포콜린 (DOPC), 다이아실포스파티딜 콜린, 다이아실포스파티딜 에탄올 아민, 세라미드, 스펅고마이엘린, 세팔린, 콜레스테롤, 및 세레브로사이드 (cerebroside) 등이 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 구체적인 구현예에서, 추가적인 지질은 DOPE, 콜레스테롤 및/또는 DOPC이다.

[0406] 특정 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 양이온성 지질과 추가적인 지질 둘 다 포함한다. 예시적인 구현예에서, 양이온성 지질은 DOTMA이고, 추가적인 지질은 DOPE이다. 이론으로 결부시키고자 것은 아니지만, 하나 이상의 추가적인 지질의 양과 비교해 하나 이상의 양이온성 지질의 양은 중요한 RNA 리포플렉스 입자 특징, 예컨대 RNA의 전하, 입자 크기, 안정성, 조직 선택성 및 생물활성에 영향을 미칠 수 있다. 즉, 일부 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질 대 하나 이상의 추가적인 지질의 몰비는 약 10:0 내지 약 1:9, 약 4:1 내지 약 1:2, 또는 약 3:1 내지 약 1:1이다. 특정 구현예에서, 이러한 몰비는 약 3:1, 약 2.75:1, 약 2.5:1, 약 2.25:1, 약 2:1, 약 1.75:1, 약 1.5:1, 약 1.25:1 또는 약 1:1일 수 있다. 예시적인 구현예에서, 하나 이상의 양이온성 지질 : 하나 이상의 추가적인 지질의 몰비는 약 2:1이다.

[0407] 전하 비

[0408] 본원의 RNA 리포플렉스 입자의 전하는 하나 이상의 양이온성 지질에 존재하는 전하와 RNA에 존재하는 전하의 합이다. 전하 비는 하나 이상의 양이온성 지질에 존재하는 양전하 대 RNA에 존재하는 음전하의 비이다. 하나 이상의 양이온성 지질에 존재하는 양전하 대 RNA에 존재하는 음전하의 전하 비는 하기 식에 의해 계산된다: 전하 비 = [(양이온성 지질 농도 (mol)) \* (양이온성 지질에서 양전하의 총 개수)] / [(RNA 농도 (mol)) \* (RNA의 음전하의 총 개수)]. RNA의 농도 및 하나 이상의 양이온성 지질의 함량은 당해 기술 분야의 당업자에 의해 통상적인 방법을 사용하여 결정할 수 있다.

[0409] 일 구현예에서, 생리학적 pH에서 RNA 리포플렉스 입자에서 양전하 대 음전하의 전하 비는 약 1.6:2 내지 약 1:2, 또는 약 1.6:2 내지 약 1.1:2이다. 구체적인 구현예에서, 생리학적 pH에서 RNA 리포플렉스 입자에서 양전하 대 음전하의 전하 비는 약 1.6:2.0, 약 1.5:2.0, 약 1.4:2.0, 약 1.3:2.0, 약 1.2:2.0, 약 1.1:2.0, 또는 약 1:2.0이다.

[0410] 이러한 전하 비를 가진 RNA 리포플렉스 입자는 비장 조직 또는 비장 세포, 예를 들어 항원-제시 세포, 특히 수지상 세포를 우선적으로 표적화하는데 이용할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이에, 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자를 투여한 후, 비장에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 이루어진다. 따라서, 본원의 RNA 리포플렉스 입자는 비장에서 RNA를 발현시키기 위해 이용할 수 있다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 투여 후, 폐 및/또는 간에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생되지 않거나 또는 본질적으로 발생되지 않는다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 투여 후, 비장에서 전문적인 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 이루어진다. 따라서, 본원의 RNA 리포플렉스 입자는 이러한 항원 제시 세포에서 RNA를 발현시키기 위해 이용할 수 있다. 일 구현예에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포 및/또는 대식세포이다.

[0411] A. 염 및 이온 강도

[0412] 본 발명에서, 본원에 기술된 조성물은 염화나트륨과 같은 염을 포함할 수 있다. 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, 염화나트륨은 하나 이상의 양이온성 지질과 혼합되기 전, RNA를 예비 컨디셔닝하기 위한 이온성 삼투질농도제로서 기능한다. 특정 구현예는 본원에서 염화나트륨에 대한 대안적인 유기 또는 무기 염을 고려한다. 대안적인 염으로는 비-제한적으로, 염화칼륨, 인산이칼륨, 인산일칼륨, 아세트산칼륨, 중탄산칼륨, 황산칼륨, 아세트산 칼륨, 인산이나트륨, 인산일나트륨, 아세트산나트륨, 중탄산나트륨, 황산나트륨, 아세트산나트륨, 염화리튬, 염화마그네슘, 인산마그네슘, 염화칼슘, 및 에틸렌다이아민테트라아세트산 (EDTA)의 나트륨염을 포함한다.

[0413] 일반적으로, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 조성물은 바람직하게는 0 mM 내지 약 500 mM, 약 5

mM 내지 약 400 mM, 또는 약 10 mM 내지 약 300 mM 범위의 농도로 염화나트륨을 포함한다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 조성물은 이러한 염화나트륨 농도에 상응하는 이온 강도를 포함한다.

[0414] **B. 안정화제**

[0415] 본원에 기술된 조성물은 제품 품질의 실질적인 손실, 특히 동결, 동결건조, 분무-건조 또는 동결, 동결건조 또는 분무 건조된 조성물의 보관과 같은 보관 중에 RNA 활성의 실질적인 손실을 방지하기 위해 안정화제를 포함할 수 있다.

[0416] 일 구현예에서, 안정화제는 탄수화물이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "탄수화물"은 단당류, 이당류, 삼당류, 올리고당류 및 다당류를 지칭하며 이를 망라한다.

[0417] 본원의 구현예들에서, 안정화제는 만노스, 글루코스, 슈크로스 또는 트레할로스이다.

[0418] 본원에 따라, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자 조성물은 조성물의 안정성, 특히 RNA 리포플렉스 입자의 안정성 및 RNA의 안정성에 적합한 안정화제 농도를 가진다.

[0419] **C. pH 및 완충제**

[0420] 본 발명에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자 조성물은 RNA 리포플렉스 입자의 안정성, 특히 RNA의 안정성에 적합한 pH를 가진다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자 조성물은 약 5.5 내지 약 7.5의 pH를 가진다.

[0421] 본 발명에서, 완충제를 포함하는 조성물이 제공된다. 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, 완충제의 사용은 조성물의 제조, 저장 및 사용시 조성물의 pH를 유지한다. 본 발명의 특정 구현예에서, 완충제는 중탄산나트륨, 인산일나트륨, 인산이나트륨, 인산일칼륨, 인산이칼륨, [트리스(하이드록시메틸)메틸아미노]프로판설폰산 (TAPS), 2-(비스(2-하이드록시에틸)아미노)아세트산 (Bicine), 2-아미노-2-(하이드록시메틸)-프로판-1,3-다이올 (Tris), N-(2-하이드록시-1,1-비스(하이드록시메틸)에틸)글리신 (Tricine), 3-[[1,3-디하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-일]아미노]-2-하이드록시프로판-1-설폰산 (TAPSO), 2-[4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일]에탄설폰산 (HEPES), 2-[[1,3-디하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-일]아미노]에탄-설폰산 (TES), 1,4-피페라진디에탄설폰산 (PIPES), 다이메틸아르신산, 2-모르폴린-4-일에탄설폰산 (MES), 3-모르폴리노-2-하이드록시프로판설폰산 (MOPSO), 또는 포스페이트 완충화된 염수 (PBS)일 수 있다. 다른 적합한 완충제는 염 형태의 아세트산, 염 형태의 시트르산, 염 형태의 붕산 및 염 형태의 인산일 수 있다.

[0422] 일 구현예에서, 완충제는 HEPES이다.

[0423] 일 구현예에서, 완충제는 약 2.5 mM 내지 약 15 mM의 농도를 가진다.

[0424] **D. 킬레이트제**

[0425] 본 발명의 특정 구현예는 킬레이트제의 사용을 고려한다. 킬레이트제는 금속 이온과 적어도 2개의 배위 공유 결합을 형성하여 안정한 수용성 착물을 형성할 수 있는 화학적 화합물을 지칭한다. 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, 킬레이트제는 유리 2가 이온의 농도를 감소시키는데, 그렇지 않으면 이는 본원에서 가속화된 RNA 분해를 유도할 수 있다. 적합한 킬레이트제에 대한 예로는 에틸렌다이아민테트라아세트산 (EDTA), EDTA의 염, 데스페리옥사민 B (desferrioxamine B), 데페록사민 (deferoxamine), 다이티오카르브 나트륨 (dithiocarb sodium), 페니실라민 (penicillamine), 펜테테이트 칼슘 (pentetate calcium), 펜토트산 (pentetic acid)의 나트륨 염, 수시머 (succimer), 트리엔틴 (trientine), 니트릴로트리아세트산 (nitrilotriacetic acid), 트랜스-다이아미노사이클로헥산테트라아세트산 (trans-diaminocyclohexanetetraacetic acid, DCTA), 다이에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 비스(아미노에틸)글리콜에테르-N,N',N'-테트라아세트산, 이미노다이아세트산, 시트르산, 타르타르산, 푸마르산 또는 이들의 염을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 특정 구현예에서, 킬레이트제는 EDTA 또는 EDTA의 염이다. 예시적인 구현예에서, 킬레이트제는 EDTA 디소듐 이수화물이다.

[0426] 일부 구현예에서, EDTA는 약 0.05 mM 내지 약 5 mM의 농도이다.

[0427] **E. 본 발명의 조성물의 물리적인 상태**

[0428] 구현예들에서, 본 발명의 조성물은 액체 또는 고체이다. 고체에 대한 비-제한적인 예로는 냉동된 형태 또는 동결건조된 형태를 포함한다. 바람직한 구현예에서, 조성물은 액체이다.

[0429] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물은 본원에 기술된 바와 같이 백신 항원을 암호화하는 RNA, HEPES와 같은 완

층제, DOTMA와 같은 양이온성 지질, DOPE와 같은 헬퍼 지질, EDTA와 같은 안정화제, 염화나트륨과 같은 삼투질 물질, 슈크로스과 같은 동결보호제, 및 주사용수와 같은 용매를 포함한다. 일부 구현예에서, DOTMA와 같은 양이온성 지질 및 DOPE와 같은 헬퍼 지질은 RNA를 복합체화한다. 일부 구현예에서, DOTMA와 같은 양이온성 지질 및 DOPE와 같은 헬퍼 지질은 RNA와 RNA 리포플렉스 입자를 형성한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물은 본원에 기술된 바와 같이 백신 항원을 암호화하는 RNA, HEPES, DOTMA, DOPE, EDTA, 염화나트륨, 슈크로스 및 주사용수를 포함한다.

[0430] 본 발명의 약학적 조성물

[0431] 본원에 기술된 물질은 약학적 조성물 또는 의약제로 투여할 수 있으며, 임의의 적절한 약학적 조성물 형태로 투여할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 약학적 조성물은 개체에 폐암에 대해 면역 반응을 유발하기 위한 면역원성 조성물이다. 예를 들어, 일 구현예에서, 면역원성 조성물은 백신이다.

[0432] 본 발명의 모든 측면들에 대한 일 구현예에서, 백신 항원을 암호화하는 RNA와 같이 본원에 기술된 성분들은 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며 선택적으로 하나 이상의 보강제, 안정화제 등을 포함할 수 있는, 약학적 조성물 형태로 투여할 수 있다. 일 구현예에서, 약학적 조성물은 치료학적 또는 예방학적 치료를 위한 것이고, 예를 들어 폐암을 치료 또는 예방하는데 이용하기 위한 것이다.

[0433] 본원에 기술된 RNA, 예를 들어, RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 치료학적 또는 예방학적 치료를 위한 약학적 조성물 또는 의약제로서 또는 이를 제조하기에 유용하다.

[0434] 본 발명의 조성물은 임의의 적절한 약학적 조성물 형태로 투여할 수 있다.

[0435] 용어 "약학적 조성물"은 바람직하게는 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제와 함께 치료학적으로 유효한 물질을 포함하는 제형에 관한 것이다. 이러한 약학적 조성물은 개체에 약학적 조성물을 투여함으로써 질환 또는 장애를 치료, 예방하거나 또는 중증도를 낮추는데 유용하다. 약학적 조성물은 또한 약제학적 제형으로서 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 본 발명의 맥락에서, 약학적 조성물은 본원에 기술된 RNA, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA를 포함한다.

[0436] 본 발명의 약학적 조성물은 바람직하게는 하나 이상의 보강제를 포함하거나, 또는 하나 이상의 보강제와 함께 투여할 수 있다. 용어 "보강제"는 면역 반응을 연장, 강화 또는 촉진하는 화합물에 관한 것이다. 보강제는 이종적인 화합물들의 군 (heterogeneous group of compounds), 예를 들어 오일 에멀전 (예를 들어, 프로인트 보강제), 미네랄 화합물 (예, 명반 (alum)), 박테리아 생성물 (예, 보르테텔라 페르투스 독소) 또는 면역-자극 복합체를 포함한다. 보강제에 대한 예로는 LPS, GP96, CpG 올리고데옥시뉴클레오타이드, 성장 인자 및 사이토카인, 예를 들어 모노카인, 림포카인, 인터루킨, 케모카인을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 케모카인은 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, INF $\alpha$ , INF- $\gamma$ , GM-CSF, LT- $\alpha$ 일 수 있다. 추가의 공지된 보강제는 수산화알루미늄, 프로인트 보강제 또는 오일, 예컨대 Montanide<sup>®</sup> ISA51이다. 본원에서 사용하기 적합한 다른 보강제는 Pam3Cys와 같은 리포펩타이드를 포함한다.

[0437] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 일반적으로 "약제학적 유효량"으로 그리고 "약제학적으로 허용가능한 조제물"로 적용된다.

[0438] 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 약학적 조성물의 활성 성분의 작용과 상호작용하지 않는 물질의 무독성을 지칭한다.

[0439] 용어 "약제학적 유효량"은 단독으로 또는 추가 용량과 함께 원하는 반응 또는 원하는 효과를 달성하는 양을 지칭한다. 특정 질환을 치료하는 경우, 원하는 반응은 바람직하게는 질환 과정의 저해에 관한 것이다. 이는 질환의 진행 속도의 저하, 특히 질환의 진행을 중단 또는 역전을 포함한다. 질환의 치료에서 원하는 반응은 또한 질환 또는 병태의 발병의 지연 또는 발병의 방지일 수 있다. 본원에 기술된 조성물의 유효량은 치료할 병태, 질환의 중증도, 연령, 생리학적 상태, 키 및 체중 등의 환자의 개별 매개변수, 치료 지속기간, 동반 요법의 유형 (존재하는 경우), 구체적인 투여 경로 및 유사 인자에 따라 결정될 것이다. 이에, 본원에 기술된 조성물의 투여 용량은 이러한 다양한 매개변수에 따라 결정될 수 있다. 환자에서 반응이 초기 용량으로 불충분할 경우에, 이보다 더 고 용량 (또는 다른 더 국소 투여 경로에 의해 달성되는 효과적으로 더 높은 용량)으로 사용할 수도 있다.

[0440] 일부 구현예에서, 유효량은 종양/병변의 축소를 야기하기에 충분한 양을 포함한다. 일부 구현예에서, 유효량은 종양의 증식 속도를 늦추는데 (예, 종양 증식 억제) 충분한 양이다. 일부 구현예에서, 유효량은 종양 발병을 지

연시키는데 충분한 양이다. 일부 구현예에서, 유효량은 종양 재발을 방지 또는 지연시키는데 충분한 양이다. 일부 구현예에서, 유효량은 종양 증식 및/또는 크기 및/또는 전이가 감소되거나, 지연되거나, 개선되거나 및/또는 방지되도록, 종양에 대해 개체의 면역 반응을 높이기 위해 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, (예, mRNA를 포함하는 조성물의) 유효량의 투여는 (i) 암 세포 수를 감소시키고; (ii) 종양 크기를 감소시키고; (iii) 암 세포가 말초 장기로 침투하는 것을 저해하고, 지연시키고, 어느 정도 늦추고, 정지시킬 수 있고; (iv) 전이를 저해 (예를 들어, 어느 정도 서행 및/또는 차단 또는 방지)하고; (v) 종양 증식을 저해하고; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지하고; 및/또는 (vii) 암과 관련한 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화할 수 있다.

[0441] 본 발명의 약학적 조성물은 염, 완충제, 보존제 및 선택적으로 기타 치료학적 물질을 함유할 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 하나 이상 포함한다.

[0442] 본 발명의 약학적 조성물에 이용하기 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 클로로부탄올, 파라벤 및 티메로살 등이 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0443] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "부형제"는 본 발명의 약학적 조성물에 존재할 수 있지만 활성 성분이 아닌 물질을 지칭한다. 부형제에 대한 예로는 담체, 결합제, 희석제, 윤활제, 증점제, 계면활성제, 보존제, 안정화제, 유화제, 완충제, 향미제 또는 착색제 등이 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0444] 용어 "희석제"는 희석하거나 및/또는 묽게 만드는 물질이다. 또한, 용어 "희석제"는 유체, 액체 또는 고체 현탁물 및/또는 혼합 매질 중 임의의 하나 이상을 포함한다. 적합한 희석제에 대한 예로는 에탄올, 글리세롤 및 물 등이 있다.

[0445] 용어 "담체"는 약학적 조성물의 투여를 용이하게 하거나, 강화하거나 또는 가능하게 하기 위해 활성 성분과 조합되는 천연, 합성, 유기, 무기일 수 있는 성분을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 담체는 개체에 투여하기 적합한 하나 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질일 수 있다. 적합한 담체로는 멸균수, 링거 (Ringer), 링거 락테이트, 멸균 염화나트륨 용액, 등장성 식염수, 폴리알킬렌 글리콜, 수소화 나프탈렌, 특히 생체적합한 락티드 폴리머, 락티드/글리콜라이드 코폴리머 또는 폴리옥시에틸렌/폴리옥시-프로필렌 코폴리머 등이 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 일 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 등장성 식염수를 포함한다.

[0446] 치료학적 용도를 위한 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제는 약제학 분야에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985)에 기재되어 있다.

[0447] 약제학적 담체, 부형제 또는 희석제는 의도한 투여 경로 및 표준 약학 실무에 따라 선택할 수 있다.

[0448] 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로

[0449] 일 구현예에서, 본원에 기술된 약학적 조성물은 정맥내로, 동맥내로, 피하로, 진피내로, 골수강내 또는 근육내로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 국소 투여 또는 전신 투여용으로 제형화된다. 전신 투여는 위장관을 통한 흡수를 수반하는 장내 (enteral) 투여, 또는 비경구 (parenteral) 투여를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 "비경구 투여"는 위장관을 통하는 것 이외의 임의의 방식으로, 예를 들어 정맥내 주사에 의한 투여를 지칭한다. 바람직한 구현예에서, 약학적 조성물은 전신 투여용으로 제형화된다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 전신 투여는 정맥내 투여에 의해 이루어진다.

[0450] 본 발명의 약학적 조성물의 용도

[0451] 본원에 기술된 RNA, 예를 들어, RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 개체에 RNA에 의해 암호화된 아미노산 서열 제공시 치료학적 또는 예방학적 효과가 달성되는 질환의 치료학적 처치 또는 예방학적 처치에 이용될 수 있다.

[0452] 용어 "질환"은 개체의 신체에 영향을 미치는 비정상적인 상태를 지칭한다. 질환은 종종 특이적인 증상 및 징후와 연관된 의학적 상태로 해석된다. 질환은 감염성 질환과 같이 원래 외부 공급원으로부터 기원한 인자에 의해 유발될 수 있거나, 또는 자가면역 질환과 같은 내부 기능장애에 의해 유발될 수도 있다. 인간에서, "질환"은 종종 앓고 있는 개체에 통증, 기능장애, 고통, 사회적 문제 또는 사망을 야기하거나, 또는 개체와 접촉한 개체에 유사한 문제를 야기하는 임의의 상태를 지칭하기 위해 보다 광범위하게 사용된다. 이러한 더 넓은 의미에서, 이

는 때때로 상해, 불능, 장애, 증후군, 감염, 고립된 증상, 일탈 행위 및 구조 및 기능의 비정상적 변화를 포함하며, 다른 맥락에서 그리고 다른 목적에서 이는 구분가능한 카테고리로 간주될 수 있다. 다수의 질환과 접촉 및 생활하는 것이 삶에 대한 관점과 개인의 성격을 바꿀 수 있으므로, 질환은 일반적으로 개체에 신체적으로뿐만 아니라 감정적으로도 영향을 미친다.

[0453] 본 발명의 맥락에서, 용어 "처치", "치료" 또는 "치료학적 개입"은 질환 또는 장애와 같은 병태를 퇴치할 목적으로 개체를 관리 및 돌보는 것을 의미한다. 이 용어는 증상 또는 합병증을 완화하거나, 질환, 장애 또는 병태의 진행을 지연시키거나, 증상 및 합병증을 완화 또는 경감하거나, 및/또는 질환, 장애 또는 병태를 치유 또는 해소하거나, 아울러 병태를 방지하기 위해, 치료학적으로 유효한 화합물의 투여 등의, 개체가 앓고 있는 소정의 병태에 대한 전 범위 처치를 포괄하는 것으로 의도되며, 이때 방지하는 질환, 병태 또는 장애와 싸우기 위한 목적으로 개체를 관리 및 돌보는 것으로서 이해되어야 하며, 증상 또는 합병증의 개시를 방지하기 위한 활성 화합물의 투여를 포함한다.

[0454] 용어 "치료학적 처치"는 개체의 건강 상태를 개선하거나 및/또는 개체의 수명을 연장 (증가)하는 임의의 처치를 의미한다. 이러한 처치는 개체에서 질환의 소거, 개체에서 질환 발달의 정지 또는 서행, 개체에서 질환 발달의 저해 또는 서행, 개체에서 증상의 빈도 또는 중증도 감소, 및/또는 질환을 현재 앓고 있거나 이전에 걸린 적 있는 개체에서 재발 감소일 수 있다.

[0455] 용어 "예방학적 처치" 또는 "예방적 처치"는 개체에서 질환 발생을 방지하고자 의도하는 모든 처치를 의미한다. 용어 "예방학적 처치" 또는 "예방적 처치"는 본원에서 상호 호환적으로 사용된다.

[0456] 용어 "대상" 및 "개체"는 본원에서 상호 호환적으로 사용된다. 이들 용어는, 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)에 걸릴 수 있거나 또는 취약할 수 있으나, 질환 또는 장애에 걸렸거나 또는 걸리지 않았을 수 있는, 인간 또는 기타 포유류 (예, 마우스, 랫, 토끼, 개, 고양이, 소, 돼지, 양, 말 또는 영장류)를 의미한다. 다수의 구현예들에서, 개체는 인간이다. 달리 명시되지 않은 한, 용어 "대상" 및 "개체"는 특정 연령을 지칭하지 않으며, 따라서 성인, 노인, 어린이 및 신생아를 망라한다. 본 발명의 구현예에서, "대상" 또는 "개체"는 "환자"이다.

[0457] 용어 "환자"는 치료하고자 하는 대상 또는 개체, 구체적으로 질환에 걸린 대상 또는 개체를 의미한다.

[0458] 본 발명의 일 구현예에서, 목표는 하나 이상의 종양 항원을 발현하는 암 세포에 대해 면역 반응을 제공하여, 하나 이상의 종양 항원을 발현하는 세포를 수반한 암 질환을 치료하고자 하는 것이다. 일 구현예에서, 암은 폐암이다. 일 구현예에서, 암은 비-소 세포성 폐암, 예를 들어, 진행성 또는 전이된 비-소 세포성 폐암, 예로 비-편평 및 편평 세포암이다. 일 구현예에서, 암은 절제불가한 III 기 또는 전이성 IV 기 NSCLC이다. 일 구현예에서, 종양 항원은 CLDN6, KK-LC-1, MAGE-A3, MAGE-A4, PRAME, 및 선택적으로 MAGE-C1 및 NY-ESO-1 중 하나 또는 둘다이다.

[0459] RNA를 포함하는 약학적 조성물은 개체에 투여하여 치료학적이거나 또는 부분적 또는 완전히 보호될 수 있는 면역 반응을 개체에서 RNA에 의해 암호화된 하나 이상의 항원 또는 하나 이상의 에피토프에 대해 발생시킬 수 있다. 당해 기술 분야의 당업자는 면역요법 및 백신접종의 원리 중 하나가, 치료할 질환에 대해 면역학적으로 관련있는 항원 또는 에피토프로 개체를 면역화함으로써 질환에 대해 면역보호 반응을 구축한다는 점에 기반함을 알 것이다. 이에, 본원에 기술된 약학적 조성물은 면역 반응을 유도 또는 강화하는데 적용가능하다. 따라서, 본원에 기술된 약학적 조성물은 항원 또는 에피토프를 수반하는 질환, 특히 폐암의 예방학적 및/또는 치료학적 처치에 유용하다.

[0460] 본원에 사용된 바와 같이 "면역 반응"은 항원 또는 항원을 발현하는 세포에 대해 일체화된 신체 반응을 지칭하며, 세포성 면역 반응 및/또는 체액성 면역 반응을 지칭한다. 세포성 면역 반응은 항원을 발현하는 세포에 대한 세포성 반응을 포함하나 이로 제한되지 않으며, 클래스 I 또는 클래스 II MHC 분자를 이용해 항원을 제시하는 것을 특징으로 한다. 세포성 반응은 감염된 세포 또는 암 세포에서 세포자살을 유도하는 면역 반응 또는 살상 세포 (세포독성 T 세포, CD8+ T 세포 또는 CTL로도 지칭됨)를 조절함으로써 중추적인 역할을 하는 헬퍼 T 세포 (CD4+ T 세포로도 지칭됨)로 분류될 수 있는 T 림프구에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물의 투여는 하나 이상의 종양 항원을 발현하는 암 세포에 대한 항-종양성 CD8+ T 세포 반응의 자극을 수반한다. 구체적인 구현예로서, 종양 항원은 클래스 I MHC 분자를 이용해 제시된다.

[0461] 본 발명은 보호, 방지, 예방 및/또는 치료학적일 수 있는 면역 반응을 고려한다. 본원에 사용된 바와 같이, "면역 반응을 유도한다 [또는 유도하는]"는 유도되기 전에는 특정 항원에 대한 면역 반응이 존재하지 않았음을 나타낼 수 있거나, 또는 유도 전 특정 항원에 대해 기저 수준의 면역 반응이 존재하고 유도 후 강화되었음을 나타

낼 수 있다. 따라서, "면역 반응을 유도한다 [또는 유도하는]"는 "면역 반응을 강화한다 [또는 강화하는]"를 포함한다.

[0462] 용어 "면역요법"은 면역 반응을 유도 또는 강화함으로써 질환 또는 병태를 치료하는 것에 관한 것이다. 용어 "면역요법"은 항원 면역화 또는 항원 백신접종을 포함한다.

[0463] 용어 "면역화" 또는 "백신접종"은 예를 들어 치료학적 또는 예방학적 이유로 면역 반응을 유도할 목적으로 개체에 항원을 투여하는 과정을 나타낸다.

[0464] 일 구현예에서, 본 발명은 비장 조직을 표적화하는 본원에 기술된 바와 같은 RNA 리포플렉스 입자를 투여하는 구현예를 구상한다. RNA는 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 항원 또는 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 암호화한다. RNA는 비장 내 항원-제시 세포, 예를 들어 수지상 세포에 의해 흡수되어 펩타이드 또는 단백질을 발현한다. 항원-제시 세포에 의한 선택적인 처리 및 제시 후, 항원 또는 에피토프에 대해 면역 반응이 발생되어 항원 또는 에피토프를 수반하는 질환에 대한 예방학적 및/또는 치료학적 치료가 달성된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자에 의해 유도된 면역 반응은 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포 및/또는 대식세포에 의한 항원 또는 이의 단편, 예컨대 에피토프의 제시, 및 이러한 제시로 인한 세포독성 T 세포의 활성화를 포함한다. 예를 들어, RNA 또는 가공 산물에 의해 암호화되는 펩타이드 또는 단백질은 항원 제시 세포 상에서 발현되는 주 조직적합성 복합체 (MHC) 단백질을 통해 제시될 수 있다. 이어서, MHC 펩타이드 복합체는 T 세포 또는 B 세포와 같은 면역 세포에 의해 인지되어 이의 활성화를 유도할 수 있다.

[0465] 이에, 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA 리포플렉스 입자의 RNA는 투여 후 비장으로 전달되고 및/또는 비장에서 발현된다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 비장 항원 제시 세포를 활성화하기 위해 비장으로 전달된다. 따라서, 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자를 투여한 후, RNA 전달 및/또는 항원 제시 세포에서 RNA 발현이 이루어진다. 항원 제시 세포는 전문적인 항원 제시 세포 또는 비-전문 항원 제시 세포일 수 있다. 전문 항원 제시 세포는 수지상 세포 및/또는 대식세포, 보다 더 바람직하게는 비장 수지상 세포 및/또는 비장 대식세포일 수 있다.

[0466] 이에, 본 발명은 면역 반응, 바람직하게는 폐암에 대해 면역 반응을 유도하거나 또는 강화하기 위한 본원에 기술된 바와 같은 RNA 리포플렉스 입자 또는 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0467] 일 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이 RNA 리포플렉스 입자 또는 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 약학적 조성물을 전신 투여하면, 폐 및/또는 간에서가 아니라 비장에서 RNA 리포플렉스 입자 또는 RNA의 표적화 및/또는 축적이 달성된다. 일 구현예에서, RNA 리포플렉스 입자는 비장에서 RNA를 방출하고 및/또는 세포가 비장으로 들어간다. 일 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이 RNA 리포플렉스 입자 또는 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 약학적 조성물의 전신 투여는 RNA를 비장에서 항원 제시 세포에 전달한다. 구체적 구현예에서, 비장에서 항원 제시 세포는 수지상 세포 또는 대식세포이다.

[0468] 용어 "대식세포"는 단핵구의 분화에 의해 생성된 식세포 (phagocytic cell) 아군을 지칭한다. 염증, 면역 사이토카인 또는 미생물 생산물에 의해 활성화된 대식세포는 외래 병원체를 비-특이적으로 포식하고 가수분해 및 산화 공격에 의해 대식세포에서 살상하여, 병원체의 분해를 야기한다. 분해된 단백질로부터 유래한 펩타이드는 대식세포 세포 표면에 나열되어 여기서 T 세포에 의해 인지될 수 있으며, B 세포 표면에서 항체와 직접 상호작용하여, T 및 B 세포 활성화와 추가로 면역 반응의 자극을 야기할 수 있다. 대식세포는 항원 제시 세포의 유형에 속한다. 일 구현예에서, 대식세포는 비장 대식세포이다.

[0469] 용어 "수지상 세포" (DC)는 항원 제시 세포의 유형에 속하는 식세포의 또 다른 하위유형을 지칭한다. 일 구현예에서, 수지상 세포는 조혈 골수 전구 세포로부터 유래한다. 이들 전구 세포는 먼저 미성숙 수지상 세포로 전환된다. 이들 미성숙 세포는 높은 식세포 활성 및 낮은 T 세포 활성화 잠재력을 특징으로 한다. 미성숙 수지상 세포는 바이러스 및 박테리아와 같은 병원체에 대해 주위 환경을 지속적으로 샘플링한다. 일단 이들이 제시가능한 항원과 접촉하게 되면, 이는 성숙한 수지상 세포로 활성화되고 비장 또는 림프절로 이동하기 시작한다. 미성숙 수지상 세포는 병원체를 포식하여 이의 단백질을 작은 조각으로 분해하고, 성숙되면 그의 세포 표면에 이들 단편을 MHC 분자를 이용하여 제시한다. 동시에, 이들은 T 세포 활성화에서 보조-수용체로서 작용하는 세포-표면 수용체, 예컨대 CD80, CD86 및 CD40을 상향 조절하여, T 세포를 활성화하는 능력을 크게 강화한다. 이들은 또한 수지상 세포가 혈류를 통해 비장으로 또는 림프계를 통해 림프절로 이동하도록 유도하는 화학주성 (chemotactic) 수용체인 CCR7을 상향 조절한다. 여기서 이들은 항원-제시 세포로서 작용하고, 비-항원 특이적인 공동-자극 신호와 함께 이들 항원을 제시함으로써 헬퍼 T 세포 및 킬러 T 세포뿐 아니라 B 세포를 활성화한다.

즉, 수지상 세포는 T 세포- 또는 B 세포-관련 면역 반응을 능동적으로 유도할 수 있다. 일 구현예에서, 수지상 세포는 비장 수지상 세포이다.

- [0470] 용어 "항원 제시 세포" (APC)는 세포 표면 상에 (또는 표면에) 하나 이상의 항원 또는 항원 단편을 나열하거나, 획득되거나 및/또는 제시할 수 있는 다양한 세포들 중 한 세포이다. 항원-제시 세포는 전문적인 항원 제시 세포와 비-전문 항원 제시 세포로 구분할 수 있다.
- [0471] 용어 "전문적인 항원 제시 세포"는 나이브 T 세포와의 상호작용에 필요한 주 조직적합성 복합체 클래스 II (MHC 클래스 II) 분자를 구성적으로 발현하는 항원 제시 세포를 지칭한다. T 세포가 항원 제시 세포의 막 상에서 MHC 클래스 II 분자 복합체와 상호작용할 경우, 항원 제시 세포는 공동-자극 분자를 생산하여 T 세포의 활성화를 유도한다. 전문적인 항원 제시 세포는 수지상 세포 및 대식세포를 포함한다.
- [0472] 용어 "비-전문 항원 제시 세포"는 MHC 클래스 II 분자를 구성적으로 발현하지 않지만, 인터페론- $\gamma$ 와 같은 특정 사이토카인에 의한 자극시 발현하는 항원 제시 세포에 관한 것이다. 예시적인, 비-전문 항원 제시 세포는 섬유모세포, 흉선 상피 세포, 갑상선 상피 세포, 신경교 세포, 췌장 베타 세포 또는 혈관 내피 세포를 포함한다.
- [0473] "항원 처리"는 항원을 항원 단편에 해당하는 가공 산물로 분해 (예를 들어, 단백질의 펩타이드로의 분해)하여 항원 제시 세포와 같은 세포에 의해 특이적인 T 세포에 제시하기 위해 이러한 단편 하나 이상이 MHC 분자에 부착되는 (예, 결합을 통해) 것을 지칭한다.
- [0474] 용어 "항원을 수반하는 질환" 또는 "에피토프를 수반하는 질환"은 항원 또는 에피토프가 연루된 임의 질환, 예를 들어 항원 또는 에피토프의 존재를 특징으로 하는 질환을 지칭한다. 항원 또는 에피토프를 수반하는 질환은 암 질환 또는 간단히 암일 수 있다. 전술한 바와 같이, 항원은 질환-관련 항원, 예를 들어, 종양-관련 항원일 수 있으며, 에피토프는 이러한 항원으로부터 유래할 수 있다.
- [0475] 용어 "암 질환" 또는 "암"은 전형적으로 통제되지 않는 세포 증식을 특징으로 하는 개체에서의 생리학적 상태를 지칭하거나 나타낸다. 암에 대한 예로는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 보다 구체적으로, 이러한 암에 대한 예로는 골암, 혈액암, 폐암, 간암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문 부위의 암, 위암, 결장암, 유방암, 전립선암, 자궁암, 성 및 생식 기관의 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 방광암, 신장암, 신세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신생물, 신경외배엽암 (neuroectodermal cancer), 척수 축 종양, 신경교종, 수막종 및 뇌하수체 선종을 포함한다. 본원에 기술된 조성물 및 방법으로 치료가능할 수 있는 구체적인 한가지 형태는 폐암이다. 일 구현예에서, 암은 비-소 세포성 폐암, 예를 들어, 진행성 또는 전이성 비-소 세포성 폐암, 예를 들어 비-편평 세포암 및 편평 세포암이다. 일 구현예에서, 암은 절제불가능한 3기 또는 전이성 4기 NSCLC이다. 본원에 따른 용어 "암"은 암 전이를 또한 포괄한다.
- [0476] 본원의 치료에 대한 구체적인 구현예들
- [0477] 일 구현예에서, 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 정맥내 (IV) 주사를 통해 투여된다.
- [0478] 일 구현예에서, 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 20  $\mu\text{g}$  내지 200  $\mu\text{g}$ , 예를 들어, 30  $\mu\text{g}$  내지 100  $\mu\text{g}$ , 예를 들어 60  $\mu\text{g}$  내지 90  $\mu\text{g}$ 의 용량으로 투여된다. 예를 들어, 본원에 기술된 RNA는 약 30  $\mu\text{g}$ , 40  $\mu\text{g}$ , 50  $\mu\text{g}$ , 60  $\mu\text{g}$ , 70  $\mu\text{g}$ , 80  $\mu\text{g}$  또는 90  $\mu\text{g}$ 의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0479] 일 구현예에서, 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 MAGEA3를 암호화하는 RNA, CLDN6를 암호화하는 RNA, KK-LC-1을 암호화하는 RNA, PRAME를 암호화하는 RNA, MAGE-A4를 암호화하는 RNA 및 MAGE-C1을 암호화하는 RNA를 동일 몰량으로 포함한다.
- [0480] 일 구현예에서, 본원에 기술된 치료는 사이클을 1회 이상 포함한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 치료는 사이클을 수회, 예를 들어, 사이클 3회 이상, 사이클 4회 이상, 사이클 5회 이상, 사이클 6회 이상, 사이클 7회 이상, 사이클 8회 이상, 사이클 9회 이상, 사이클 10회 이상, 사이클 11회 이상, 사이클 12회 이상, 사이클 13회 이상, 사이클 14회 이상, 사이클 15회 이상으로 포함한다. 일 구현예에서, 사이클의 기간은 14-28일, 예를 들어 약 21일이다.
- [0481] 일 구현예에서, 본원에 기술된 치료는 사이클 1회 이상, 예를 들어, 사이클 2회를 포함하고, 여기서 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 사이클의 서로 다른 일자에 수회로 투여된다. 예를

들어, 사이클의 기간은 21일일 수 있으며, RNA는 사이클의 1일, 8일 및 15일차에 투여할 수 있다.

- [0482] 일 구현예에서, 본원에 기술된 치료는 사이클을 1회 이상, 예를 들어, 사이클을 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회 또는 그 이상으로 포함하고, 여기서 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA는 사이클의 단 하루만 투여된다. 예를 들어, 사이클의 기간은 21일일 수 있으며, RNA는 사이클의 1일차에 투여할 수 있다.
- [0483] 일 구현예에서, 본원에 기술된 치료는 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA를 사이클 (예를 들어, 사이클의 기간은 21일 수 있으며 RNA는 사이클의 1일, 8일 및 15일차에 투여될 수 있음)의 여러 일차에 수회 투여한 다음 본원에 기술된, 예를 들어 RNA 리포플렉스 입자로서 제형화된 RNA를 사이클의 단 하루 (예를 들어, 사이클의 기간은 21일 수 있으며 RNA는 사이클의 1일차에 투여될 수 있음)에만 투여하는, 사이클 1회 이상, 예를 들어 사이클 2회를 포함하는, 수회 사이클을 포함한다.
- [0484] 일 구현예에서, 환자는 1차 및 2차 사이클의 1일, 8일 및 15일차에 RNA를 투여받고, 3차 사이클부터는 1일차에만 RNA를 투여받는다. 이러한 구현예에서, 1차 사이클의 1일차에 RNA 투여량은 60  $\mu$ g일 수 있고, 이후 모든 적용시 (1차 사이클의 8일 및 15일차, 2차 사이클의 1일, 8일 및 15일차, 그리고 3차 사이클부터) RNA 투여량은 90  $\mu$ g일 수 있다.
- [0485] 일 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 단일요법으로 투여된다. 일 구현예에서, 이전 요법에는 적합할 경우 하나 이상의 PD 1/PD-L1 저해제 및 한가지 플라티늄-기반의 화학요법 용법, 및 하나의 추가적인 전신 요법이 포함된다.
- [0486] 본 발명에서 참조한 문헌 및 연구에 대한 인용은 이들 중 어느 것이 관련 선행 기술임을 인정하는 것으로 의도하는 것은 아니다. 이들 문헌의 내용에 관한 모든 진술은 출원인이 이용할 수 있는 정보에 기초한 것이며, 이들 문헌의 내용의 정확성에 대한 어떠한 인정으로 해석되는 것은 아니다.
- [0487] 아래 기술은 당해 기술 분야의 당업자가 다양한 구현예를 제조 및 이용할 수 있도록 제시된다. 구체적인 장치, 기술 및 적용에 대한 기술은 단지 예로서 제공된다. 본원에 기술된 예에 대한 다양한 수정들이 당해 기술 분야의 당업자들에게 용이하게 명백할 것이며, 본원에 정의된 일반적인 원리는 다양한 구현예들의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않으면서 다른 예 및 응용에도 적용될 수 있다. 따라서, 다양한 구현예들은 본원에 기술되고 제시된 예들로 제한되는 것으로 의도되지 않으며, 청구항에 따른 범위에 부합한다.
- [0488] **실시예**
- [0489] **실시예 1: 비-소 세포성 폐암의 치료에 이용하기 위한 면역원성 표적 세트의 동정**
- [0490] 전임상 연구 범위는 2가지 목표에 집중하였다: (1) 비-소 세포성 폐암에서 유용한 면역원성 표적 세트의 동정; (2) 백신 접종시 표적-특이적인 면역 반응과 요법이 유용할 가능성이 높은 적절한 암 환자 선별.
- [0491] 초기 표적 발견 접근법에서는, 가장 빈번하고 종양-특이적으로 발현되는 표적 유전자를 선별하기 위해 비-소 세포성 폐암과 건강한 조직에 대한 RNA 서열 데이터를 조사하였다. 이들 표적은 상당 수의 종양에서 발현되어야 하고, 뇌 및 심장과 같은 필수 장기에서는 약하게 발현되거나 또는 발현되지 않고, 종양과 비교해 낮은 수준으로 발현되거나 생식 또는 부인과 조직을 제외한 기타 인간 조직에서는 발현되지 않아야 한다. 전술한 기준을 토대로 한 유전자 선별 및 필터링은 표적이 제한된 독성 (필수 장기에서는 나타나지 않음)을 가지면서 면역원성 (자기-항원으로 인지되지 않음)을 유도할 수 있는 확률을 높이는 것을 목표로 한다. 표적들은 비-소 세포성 폐암의 주요 서브타입 2종, 폐 선암종과 편평 세포 암종에 대해 평가하고, 최종적으로 양쪽 질환 서브타입을 다루기 위해 선별하였다.
- [0492] 모든 인 실리코 분석을 공개적으로 이용가능한 데이터 (GTEx, Genotype-Tissue Expression project (Nature genetics 45, 580-585 (2013)) 및 TCGA, The Cancer Genome Atlas (Nature 489, 519-525 (2012); Campbell, J. D. et al., Nat. Genet. 48, 607-616 (2016); Nature 511, 543-550 (2014)) 및 독점 RNA-Seq 유전자 발현 데이터를 이용해 수행하였다. RNA 리드들을 hg19 참조 게놈 및 트랜스크립톰에 대해 정렬하고, UCSC 공지된 유전자 전사체 및 엑손 좌표와 비교한 다음 RPKM 유닛에 대해 표준화하여, 유전자 발현을 결정하였다 (Mortazavi, A. et al., Nature methods 5, 621-628 (2008); Langmead, B. et al., Genome biology 10, R25; (2009)). 표적들은 종양 및 정상 조직에서 발현을 비교해 선별하고, 종양 코호트들에 대해 높은 커버리지 (coverage)를 달성하도록 선별하였다. 표적-발현 종양은 발현 수치 > 1 rpkm으로 정의하였다.
- [0493] Fluidigm Biomark™ Platform을 이용해 qRT-PCR 분석하기 위해, 신선 냉동한 원발성 폐암 조직 샘플 164종을

이용하였다. 43종의 서로 다른 조직 타입으로부터 입수한 신선 냉동한 정상 조직 샘플 총 91종을 qRT-PCR 분석에 이용하였다. 조직에서 Qiagen RNeasy Lipid Tissue Mini Kit를 제조사의 지침에 따라 이용해 RNA를 단리하였다. RNA는 TAKARA - PrimeScript™ RT Reagent Kit와 gDNA Eraser를 제조사의 지침에 따라 이용해 제1 가닥 cDNA 합성에 의해 cDNA로 변환하였다. Fluidigm 검출 시스템을 이용한 qRT-PCR 분석은 제조사의 지침에 따라 수행하였다. 하우스키핑 유전자 HPRT1, HMBS 및 TBP에 대해 표준화한 후, 상대적인 RNA 발현을  $\Delta\Delta Ct$  계산으로 정량하였다. 30 (PCR에 이용된 사이클 최대 횟수)에서 정상 조직 샘플의 HPRT1 하우스키핑 유전자 수치의 평균을 제한 것에 해당하는 교정자 (calibrator) 18.2를 본 분석에 사용하였다. 본 분석에 사용된 프라이머들을 표 1에 열거한다. 여러가지 cDNA 합성을 비롯한 기술적인 레플리케이트는, 중위수 발현 수치 (median expression value)를 이용함으로써 종합하였다. 정상 조직에서 대상 유전자의 상대적인 발현은 동일한 조직 타입의 조직 샘플 2종 이상을 분석하였을 경우 중위수 발현 수치로 나타내었다. 표적-발현 종양은 중요한 정상 조직에서의 발현 강도에 따른 특정 컷오프에 의해 정의하였다 (표 1).

표 1: qRT-PCR 분석에 사용된 올리고뉴클레오티드

| 전사체      | 정방향 프라이머<br>서열              | 역방향 프라이머 서열                 | 발현 컷오프 (a.u.) |
|----------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|
| CLDN6    | ACTCGGCCTAGGAATT<br>TCCCT   | CAGAGGCCATGGCGAG<br>G       | 3000          |
| KK-LC-1  | GTGTGCCTTGATTGTC<br>TTCTGG  | CCTGGCTATTGAGTGTG<br>GG     | 1000          |
| MAGEA3*  | CGGTGAGGAGGCAAG<br>GTTC     | AATGGAGACCCACTGGC<br>AGAT   | 1000          |
| MAGEA4   | GCACCAAAGGAGAAG<br>ATCTGCC  | TGTCAAGGCCTTCCTCA<br>GGCT   | 1000          |
| MAGEC1   | GACCTATCCAGTCTTC<br>AAGGTGC | AGGGGGTTTGTCTTCTG<br>GGA    | 1000          |
| NY-ESO-1 | CGTGCCAGGGGTGCT<br>TCT      | TCTGCAGCAGTCAGTCG<br>GATAG  | 1000          |
| PRAME    | GCAGTATATCGCCCAG<br>TTCAC   | GGTTCATCACGTGCCTG<br>AGC    | 30000         |
| HPRT1    | TGACACTGGCAAAAC<br>AATGCA   | GGTCCTTTTACCAGCA<br>AGCT    | N/A           |
| HMBS     | AGCCCAAGTGCAGAG<br>AAAGT    | GGATGATGGCACTGAA<br>CTCC    | N/A           |
| TBP      | GAGCCAAGAGTGAAG<br>AACAGTC  | GCTCCCCACCATATTCTG<br>AATCT | N/A           |

\* MAGEA3 에 대한 프라이머는 매우 높은 서열 상동성으로 인해 MAGEA5 및 MAGEA6 전사체도 검출함.

종양 및 정상 조직에서 RNA-Seq Data를 이용한 NSCLC 표적 유전자의 발현 분석

정상 조직 샘플 3809종과 폐 선암종 (LUAD) 466종 및 편평 세포 폐 암종 (LUSC) 415종을 비롯한 비-소-세포 폐 암종 (NSCLC) 881종 샘플에 대한 공공 및 사내 구축된 RNA-Seq 유전자 발현 데이터를 이용해 발현 히트맵을 작성하였다 (도 1). NSCLC 조직들 중 큰 비율에서 대부분의 표적에 대해 강한 RNA 발현이 검출되었고, 고환 및 태반과 같은 소수의 정상 조직에서만 검출되었다. 고환 및 태반을 제외하고는, 추가적인 임상 시험에서 면밀한 관찰이 필요한 PRAME RNA 발현이 부신, 신장, 난소 및 뇌하수체에서도 검출되었다.

백신 접근법에 의해 잠재적으로 해결가능할 수 있는 NSCLC 환자의 비율을 계산하기 위해, 개개 표준에 대해 종양의 %를 계산하고, 표적 조합에 대해 누적 커버리지를 계산하였다 (도 2). 예를 들어, MAGEA3 단독은 종양의 66%에서 발현되었다. 표적 4종 추가시 하나 이상의 표적을 발현하는 종양의 최대 85%까지 커버리지가 증가하였다. 표적 MAGEC1 및 NY-ESO-1의 추가 가치를 검사하기 위해, 표적 2종 이상, 3종 이상 또는 그 이상을 발현하는 종양의 비율을 계산하였다 (도 3). 종양의 비율은 표적의 수가 더 많은 세트에서 증가하였으며, 예를 들어 표적 4종 이상을 발현하는 종양이 10% 더 높았으며, 이는 MAGEC1, NY-ESO-1 또는 둘다와 같이 표적을 추가하는 것이

유용함을 의미한다.

[0499] qRT-PCR 데이터를 이용한 종양 및 정상 조직에서 NSCLC 표적 유전자의 발현 분석

[0500] NSCLC 및 정상 조직에서 표적의 발현을 독립적인 방법 및 환자 코호트를 이용해 검증하기 위해, qRT-PCR 분석을 Fluidigm Biomark™ 플랫폼을 이용해 수행하였다. NSCLC 및 기타 폐 종양 164종 및 정상 조직 부위 43종의 RNA 발현 강도를 이용해 발현 히트맵을 작성하였다 (도 4). 다수의 폐 종양 조직들에서 강한 RNA 발현이 검출되었고, 고환 및 태반, 부고환 및 자궁과 같은 소수의 정상 조직에서만 검출되었다.

[0501] 백신 방식으로 해결할 가능성이 있을 수 있는 NSCLC 환자의 백분율을 계산하기 위해, 개개 표적에 의한, 그리고 표적 조합들에 의한 누적 커버리지를 종양 %로 계산하였다 (도 5). 예를 들어, MAGEA3 단독은 종양의 56%에서 발현되었다. 표적 4종 추가시 하나 이상의 표적을 발현하는 종양이 최대 80%까지 커버리지가 증가하였다. 표적 MAGEC1 및 NY-ESO-1의 추가 가치를 검사하기 위해, 표적 2종 이상, 3종 이상 또는 그 이상을 발현하는 종양의 분율을 계산하였다 (도 6). 종양 분율은 표적 개수가 더 많은 세트들에서 증가하였으며, 예를 들어 표적 4종 이상을 발현하는 종양이 10% 더 높았으며, 이는 MAGEC1, NY-ESO-1 또는 둘다와 같이 표적을 추가하는 것이 유용함을 의미한다.

[0502] 결론

[0503] 본 연구의 목적은 면역요법의 표적을 조사하고 선별하고자 하는 것이었다. 정상 및 종양 조직의 트랜스크립톰 데이터를 비교하기 위해, 항원 KK-LC-1, MAGEA3, PRAME, MAGEA4, CLDN6, MAGEC1 및 NY-ESO-1을 비-소 세포성 폐암에 대한 재조합 RNA 백신 개발의 표적으로 선정하였다.

[0504] RNA-Seq 데이터 및 qRT-PCR 데이터는 2가지 서브타입 즉 폐 선암종과 편평 세포암에서 표적 7종이 풍부하게 발현됨을 보여주었다. 표적 7종 중 하나 이상을 발현하는 종양의 분율을 토대로 보면, NSCLC 환자 5명 중 최대 4명이 백신화 방식이 유익할 수 있다. 종양에서 발현 빈도가 낮은 표적 MAGEC1 및 NY-ESO-1에 대한 백신 접종은, 표적 2종 이상을 발현하는 환자의 분율 증가 측면에서, 그리고 이전에 관찰된 면역원성으로 인해 유익할 수 있다. 정상 조직들에서 대부분의 표적의 전사 프로파일은 백신 접종시 심각한 장기 독성 위험을 나타내지 않았다.

[0505] 실시예 2: 항원-특이적인 T 세포의 생체내 유도

[0506] 본 실험의 목적은 전술한 GMP-조건 하에 제작한 MAGEA3, KK-LC-1, CLDN6, NY-ESO-1, MAGEA4 및 PRAME를 암호화하는 RNA 배지에 의한 항원-특이적인 T 세포의 생체내 유도를 검증하고, R&D 조건에서 제작한 MAGEC1을 암호화하는 시험관내 전사된 RNA의 면역원성을 조사하고자 하는 것이었다. RNA는 리포솜-제형화된 RNA-LPX를 정맥내 (i.v.) 주사하여 마우스에서 생체내 검사하였다. 항원 서열에 가공 및 제시 강화 도메인을 삽입하였다. 회사에서는 리보솜으로의 전위를 용이하게 하기 위해 분비 도메인을 제조된 단백질의 N-말단에 구축하였고, C-말단에는 인간 MHC-분자의 막관통 도메인과 세포질 부분을 MHC-클래스 II 제시를 강화하기 위해 인-프레임으로 융합하였다. 본 실험을 위해, 인간 HLA-A\*0201 및 HLA-DRB1\*01 분자를 발현하지만, 내인성, 즉 뮤라인, MHC 클래스 I 및 클래스 II 분자는 발현하지 않도록 조작된 형질전환 A2/DR1 마우스를 이용해, HLA-제한 에피토프에 대해 반응성인 T 세포의 유도를 조사하였다. A2/DR1 마우스는 T 세포 면역원성과 가장 빈번한 인간 MHC-대립유전자를 나열하는 모델과 비슷하다.

[0507] 인간 MHC-형질전환 마우스 (A2/DR1 마우스)를 이용해, 생체내 HLA-제한 에피토프에 대해 반응성인 T 세포의 구축에 대해 조사하였다. 마우스 3-5마리로 구성된 군 7종에 대해, 전술한 항원을 암호화하는 RNA-LPX를 후술한 리포솜을 이용해 1일, 8일, 15일 및 22일에 3 또는 4회 i.v. 주사해 면역화하였다. 추가로 5일 후 20일 또는 27일차에 동물을 안락사시키고, 비장을 취해 비장 세포의 단일 세포 현탁물을 준비하였다. 이용한 RNA-LPX의 면역원성을 각각의 펩타이드들로 구성된 풀로 재 자극한 비장 세포를 이용해 검사하였다. MAGEC1 RNA의 경우, 시험관내 전사된 MAGEC1 RNA가 전기천공에 의해 주입된 골수-유래 수지상 세포 (BMDC)로 재 자극한 비장 세포를 이용해, 면역원성을 조사하였다. 특이적인 T 세포의 IFN- $\gamma$  방출을 ELISPOT 분석을 통해 확인하였다. ConA는 분석의 기능성을 검사하기 위한 양성 대조군으로 이용하였다. 음성 대조군으로는 배지 단독 및 무관한 펩타이드 또는 T 세포에 의해 인지되지 않는 무관한 항원을 암호화하는 시험관내 전사된 RNA를 이용하였다.

[0508] 검사물

[0509] RNA-LPX 제형을 위한 리포솜

[0510] 명칭: L1

- [0511] 내용물: 1.8 mg/ml DOTMA 및 1.0 mg/ml DOPE
- [0512] 명칭: L2
- [0513] 내용물: 1.8 mg/ml DOTMA 및 1.0 mg/ml DOPE
- [0514] 명칭: L3
- [0515] 내용물: 0.4 mg/ml DOTMA 및 0.23 mg/ml DOPE
- [0516] **시험관내 전사한 RNA**
- [0517] 명칭: MAGEA3
- [0518] 농도: 0.04 mg RNA/ml
- [0519] 명칭: KK-LC-1
- [0520] 농도: 0.5 mg RNA/ml
- [0521] 명칭: CLDN6
- [0522] 농도: 0.5 mg RNA/ml
- [0523] 명칭: NY-ESO-1
- [0524] 농도: 0.5 mg RNA/ml
- [0525] 명칭: MAGEA4
- [0526] 농도: 0.5 mg RNA/ml
- [0527] 명칭: PRAME
- [0528] 농도: 0.5 mg RNA/ml
- [0529] 명칭: MAGEC1
- [0530] RNA-LPX를 제조하기 위해, 검사물을 해동하고, 모든 시약은 주위 온도 (15-25℃)로 평형화하였다. 모든 물질은 RNase-free였다. RNA 원액, 물, 1.5 mM NaCl 및 리포솜을 이용해, 여분의 마우스 한마리를 포함하여 최대 5마리 (200  $\mu$ l/마우스)에 주사하였다. RNA가 든 바이얼을 준비하고, 물을 첨가한 다음 희석한 RNA를 볼텍싱하고, 그 후 1.5 M NaCl을 첨가한 다음 다시 볼텍싱하였다. 제조된 혼합물에 리포솜을 첨가해, 충전 비 1.3:2 (리포솜:RNA)로 RNA-LPX 등장성 용액의 각각의 양을 수득하고, 시험관을 2-4회 상하 뒤집어 10분간 주위 온도에서 인큐베이션하였다. 수득한 용액은 약간 불투명한 RNA-LPX 분산물이었다. 제조된 RNA-LPX 분산물의 입자 크기는 광자-상관 분광학 (photon-correlation spectroscopy)으로 조사하였다.
- [0531] **검사 시스템**
- [0532] 종: 마우스
- [0533] 계통: HLA-A2.1+/+/HLA-DR1+/+ 더블 형질전환, H-2 class I ( $\beta$ 2m0)-/class II (IA  $\beta$ b0)-KO 마우스
- [0534] 사육 시설: BioNTech SE 동물 시설
- [0535] 성별: 수컷/암컷
- [0536] 나이: 6-41주령
- [0537] 동물 수: 33마리
- [0538] **동물 관리**
- [0539] **일반적인 정보**
- [0540] 마우스는 BioNTech SE의 동물 시설에서 섹션 0에 명시된 바와 같이 사육하였다. 모든 실험과 프로토콜은 지역 기관 (동물 복지 검사 위원회 - 라인란트-팔라티네이트 규제 기관 번호 23 177-07/G 14-12-088)으로부터 승인 받았으며, FELASA 권고안에 따르고 EC 지침 2010/63/EU에 준하여 수행하였다. 건강 상태가 양호한 동물 1마리만

검사 절차용으로 선택하였다. 실험 동물 집단 관리 시스템 PyRAT (Scionics Computer Innovation GmbH, Dresden, Germany)을 보조적으로 사용해, 각 동물을 도착 또는 출생시 등록하고, 안락사까지 추적하였다. 각 케이지에는 마우스 계통, 성별, 출생일 및 케이지 당 동물 수를 나타낸 케이지 카드를 부착하였다. 실험 개시 시점에, 프로젝트 및 허가 번호, 실험 시작 및 상세한 개입 내용 등의 추가적인 정보를 추가하였다. 식별이 필요할 경우에는 동물에 귀 표시로 임의로 번호를 매겼다.

#### [0541] 사육 조건 및 관리

[0542] 마우스는 BioNTech SE의 동물 시설에서 개별 환기되는 케이지에 넣어 장벽 및 특정 병원체 결핍 조건 하에, 케이지 당 동물 최대 5마리씩, 사육하였다 (Sealsafe GM500 IVC Green Line, TECNIPLAST, Hohenpei Benberg, Germany; 500 cm). 케이지 및 동물 유닛의 온도와 상대 습도는 각각 20-24°C 및 45-55%로 유지하였으며, 케이지 안의 공기는 75회/h 비율로 교체하였다. 케이지에는 탈피된 사시나무 조각으로 제작된 먼지가 없는 침구 (Abedd LAB & VET Service GmbH, Vienna, Austria, product code: LTE E-001)를 두었으며, 매주 교체하였다. 자동멸균한 ssniff M-Z 사료 (sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany; product code: V1124) 및 자동멸균한 수돗물을 자유롭게 이용가능하도록 제공하였고, 매주 적어도 1회 교체하였다. 모든 재료는 사용하기 전 자동멸균하였다.

#### [0543] 동물 모니터링 및 관찰

[0544] 일상적인 동물 모니터링은 매일 수행하였고, 죽은 동물에 대한 검사와 사료 및 물 공급에 대한 관리를 포함하였다. 각 동물의 건강을 체중, 털 상태, 활동, 체온, 거동, 임상 징후, 자상, 싸운 징후 및 호흡과 관련하여 매주 적어도 1회 면밀히 평가하였다.

#### [0545] 실험의 엔드포인트/종료 기준

[0546] 동물은 독일 동물 복지법 4조 및 GV-SOLAS의 권고안에 따라 경추 파열에 의해 안락사시켰다. 실험은 실험 21일차 또는 27일차에 종료하였다.

#### [0547] 치료 일정, 투여 경로 및 투여량

#### [0548] 표 2: 실험 설정.

| 군 | 처리      |     | 일정<br>[투여 일자] | 처리 당 용량<br>[μg] | 경로   | 동물 수 |
|---|---------|-----|---------------|-----------------|------|------|
|   | RNA     | 리포솜 |               |                 |      |      |
| 1 | MAGEA3  | L3  | 1, 8, 15      | 2               | i.v. | 5    |
| 2 | KK-LC-1 | L2  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 5    |
| 3 | CLDN6   | L2  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 5    |
| 4 | NY-ESO  | L1  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 3    |
| 5 | MAGEA4  | L2  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 5    |
| 6 | PRAME   | L2  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 5    |
| 7 | MAGEC1  | L2  | 1, 8, 15, 22  | 30              | i.v. | 5    |

[0549] 각 검사물의 제형을 고정 부피 200 μl로 이소플루란 마취 하에 안와-후방으로 주사하였다.

#### [0551] 샘플 수집 및 처리

#### [0552] 비장 세포

[0553] 안락사 후 비장을 적출하고, 단일 세포 현탁물을 다음과 같이 준비하였다: 적출한 장기를 주사기의 플런저를 사용해 70 μm 세포 메쉬를 통해 압착해 세포를 장기에서 시험관으로 해리시켰다. 이를 PBS로 행군 후 세포 펠릿을 적혈구 세포용해 완충제와 함께 인큐베이션하고, PBS로 행군 다음 70 μm 세포 메쉬를 통해 다시 압착하였다. 그 후 세포를 배지에 재현탁한 다음 계수하였다.

#### [0554] IFN-γ ELISPOT 분석

- [0555] IFN- $\gamma$  ELISPOT 분석을 이용해 항원-특이적인 T 세포의 유도에 대한 지표로서 시험관내 재-자극된 T 세포의 IFN- $\gamma$  방출을 측정하였다.
- [0556] 펩타이드 준비
- [0557] 이송 후, 펩타이드 모두 세포 배양 등급의 DMSO에 최종 농도 1-2 mg/ml로 용해하였다. 이 펩타이드 용액에서 2 또는 4  $\mu$ l (4  $\mu$ g)를 취해 1.5 ml 시험관으로 옮기고, 배지로 1,000  $\mu$ l까지 채워 최종 농도 4  $\mu$ g/ml로 만들었다. 펩타이드 용액 100  $\mu$ l를 단일 비장 세포 단일 세포 현탁물 100  $\mu$ l이 든 웰에 각각 파이프트로 옮겼다 (웰 당 펩타이드 최종 농도: 2  $\mu$ g/ml).
- [0558] 비장 세포
- [0559] 200  $\mu$ l 중의 단리한 비장 세포  $5 \times 10^5$  개/웰을 96웰 플레이트에서 각각의 인간 단백질을 망라하는 펩타이드 풀 (15 mer, 아미노산 11개 중첩; 2  $\mu$ g/ml)로 약 20시간 동안 37°C에서 자극하였다. 펩타이드 대조군으로, 비장 세포를 2  $\mu$ g/ml 파상풍 독소이드 유래 펩타이드 (P2, P16 및 P17)뿐 아니라 무관한 CMV 펩타이드와 함께 인큐베이션하였다. MAGEC1 RNA의 경우, 비장 세포 자극은 골수에서 단리한 전기천공 배양한 마우스 BMDC를 이용해 수행하였다. 배양한 마우스 BMDC에 MAGEC1에 대한 항원-암호화 RNA를 전기천공으로 도입하고, 음성 대조군으로서 GAGEC2를 암호화하는 RNA를 전기천공으로 도입하였다. 전기천공한 BMDC 세포 총  $5 \times 10^4$  개/웰을 100  $\mu$ l로 이용해 비장 세포  $5 \times 10^5$  개와 20시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 전체 군에서 비장 세포는 음성 대조군으로서 배지 단독과 또는 내부 양성 대조군 검사로서 2  $\mu$ g/ml ConA와 함께 인큐베이션하여, 분석의 기능성을 확인하였다. 스팟 개수를 계수하고, ImmunoSpot® S5 Versa ELISPOT Analyzer, ImmunoCapture™ Image Acquisition software, 및 ImmunoSpot® Analysis software Version 5 (C.T.L.; Cellular Technologies Ltd.)를 이용해 분석하였다.
- [0560] 결과
- [0561] 최종 RNA-LPX 주사 후 5일차에 면역화된 A2/DR1 마우스에서 수득한 비장 세포에서, 생체내 항원-특이적인 T 세포의 유도를 ELISPOT 분석에 의해 확인하였다. RNA 면역원성을 검사하기 위해, 비장 세포를 각각의 인간 단백질들을 망라하는 펩타이드 풀 (15 mer, 아미노산 11개 중첩) 또는 전기천공된 BMDC로 재 자극하였다.
- [0562] 비장 세포를, 면역화된 마우스로부터 유래한 전기천공된 BMDC 또는 펩타이드 풀로 재 자극한 결과, 특이적인 면역원성이 확인되었다 (도 7). MAGEA3-, KK-LC-1-, CLDN6-, NY-ESO-1-, MAGEA4-, PRAME- 및 MAGEC1-암호화 RNA-LPX에 의해 유도된 IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> 스팟 카운트는 각 대조군으로 재 자극한 경우와 비교해 유의하게 더 높았다. 모든 ELISPOT 플레이트들에서, 음성 대조군 배지 단독은 비장 세포가 유래한 동물과 무관하게 최소한의 스팟 개수만 유도하였고; 양성 대조군으로서 ConA는 ELISPOT 분석에서 더 높은 스팟 개수를 유도한 바, 예상한 바와 같이 단리한 비장 세포에서 기능성 T 세포의 존재가 검증되었다.
- [0563] 결론
- [0564] 본 실험은 임상 시험에 이용하기 위해 제작한 폐암 항원 MAGEA3, KK-LC-1, CLDN6, NY-ESO-1, MAGEA4 및 PRAME, 그리고 R&D 조건에서 제작한 MAGEC1 RNA의 면역원성을 검증하기 위해 설계하였다. 수득한 데이터는, 모든 생산 배치들이 A2/DR1 마우스에서 인간 HLA-A02 백그라운드에 면역원성임을, 입증하였다. 요컨대, 데이터는, RNA 7종 모두 환자에서 항원-특이적인 T 세포를 유도하기 위해 면역치료학적 방식으로 이용될 수 있음을, 시사한다.
- [0565] 실시예 3: 생체내 항원-특이적인 T 세포의 유도
- [0566] 종양-관련 항원 (TAA)을 암호화하는 RNA의 면역원성을 결정하기 위해, 환자에서 백신 접종하기 전 그리고 접종한 후 혈액 샘플에서 IFN- $\gamma$ -ELISPOT 분석을 이용해 T 세포 반응을 분석하였다.
- [0567] IFN- $\gamma$  ELISpot
- [0568] IFN- $\gamma$  특이 항체 (ELISpotPro kit Mabtech)로 사전-코팅된 Multiscreen 필터 플레이트 (Merck Millipore)를 PBS로 행군 다음 2% 인간 혈청 알부민 (CSL-Behring)을 함유한 X-VIVO 15 (Lonza)로 1-5시간 동안 차단 처리하였다. 생체의 T-세포 반응을 분석하기 위해, CD4- 또는 CD8-고갈된 PBMC  $3 \times 10^5$  세포/웰 + CD8<sup>+</sup> 또는 CD4<sup>+</sup> T-세포  $3 \times 10^4$  /웰을 각각 CD8 작동자 및 CD4 작동자로 이용하였다. 검사는 트리플리케이트 또는 두플리케이트로 수행하였으며, 양성 대조군과 음성 대조군, 즉 각각 항-CD3 및 배지 단독과 함께 인큐베이션한 PBMC를

포함하였다. 스팟을, ExtrAvidin 알칼라인 포스파타제 ALP가 직접 접합된 2차 항체 및 BCIP/NBT 기질 (ELISpotPro kit, Mabtech)을 이용해 가시화하였다. 플레이트를 AID Classic Robot ELISPOT Reader로 스캐닝하고, AID ELISPOT 7.0 소프트웨어로 분석하였다.

[0569] 백신 접종된 환자 W05YAH의 경우, 드 노보 백신-유도된 KKLC1 및 CLDN6에 대한  $CD4^{+}$  및  $CD8^{+}$  T 세포 반응이 생체의 ELISPOT 분석을 통해 처치 후 샘플에서 검출되었다 (도 8A). 백신 접종된 환자 AW8VMT의 경우, 드 노보 백신-유도된 PRAME에 대한  $CD4^{+}$  및  $CD8^{+}$  T 세포 반응이 생체의 ELISPOT 분석을 통해 처치 후 샘플에서 검출되었다 (도 8B).

[0570] 실시예 4: 비-소 세포성 폐암 환자의 임상 종양 샘플의 후향 코호트에서 면역조직화학 염색법을 이용한 PD-L1 발현 분석과 조합한, RT-qPCR을 이용한 종양-관련 항원 (TAA)에 대한 조사

[0571] 배경기술, 목적, 실험 설계

[0572] 폐암 프로젝트에서 표적들은 유전자 발현을 평가하기 위해 여러가지 방법들을 이용한 여러 출처들에 기반하여 선정하였다. TCGA (The Cancer Genome Atlas)는 고 처리 NGS에 의해 구축한 RNASeq 데이터를 집계한 반면, RT-qPCR (역전사-정량적인 실시간 증합효소 연쇄 반응)은 더 민감하고 특이적인 분석을 이용해 사실을 검증하기 위해 더 소규모 코호트에 대해 이용하였다. 데이터세트는 평가한 서브타입들에서 서로 다른 TAA (종양-관련 항원) 빈도 프로파일과 커버리지를 보였으며, 이는 데이터세트에서 예상된 변동 한계 내였다. 이들 데이터세트는 선택된 TAA의 발현을 넘어선 데이터를 포함하진 않았다. 데이터를 보강하기 위해 샘플 ~200종으로 구성된 코호트를 임상 루틴으로부터 입수해, TAA뿐 아니라 PD-L1 발현에 대해서도 분석하였다. 임상 데이터로부터 돌연변이 데이터를 수집하였다.

[0573] 실험의 목적은 폐 선암종, 폐 편평 세포암 및 거대 세포 신경내분비 암종 샘플 세트에서 TAA 및 PD-L1 발현에 대한 데이터를 구축하는 것이었다. 핵심적인 질문은 일반적으로 (하나 이상의 발현된) 선택 TAA로, 그리고 PD-L1 발현 및/또는 유발 돌연변이와 조합하여 분석한 샘플의 커버리지 %였다.

[0574] 본 연구는 먼저 샘플 200종을 수집하고자 하였으며, 이중 가능한 거대 세포 신경내분비 암종 (LCNEC) 샘플을 더 많이, 그리고 폐 선암종 (LUAD) 샘플과 폐 편평 세포암 (LUSC) 샘플은 동일한 수로 수집하였다. 가능한 경우, TAA 발현에서 차이를 분석하는 원발성 종양 샘플과 쌍으로 전이를 분석하였다. 전체 샘플들에 대해 PD-L1 발현을 IHC IVD로 평가하였다. 샘플은 서브타입 및/또는 바이오마커 프로파일에 의해 정의된 군에서 선택 TAA를 이용한 커버리지를 위한 것이었다.

[0575] 재료 및 방법

[0576] 역전사-정량적인 실시간 증합효소 연쇄 반응 (RT-qPCR)

[0577] 한 단계 RT-qPCR에서, 역전사 및 qPCR을 하나의 반응으로 조합하였다. 특이적인 역방향 전사는 특이적인 역방향 프라이머를 사용해 이루어지고, 이후 PCR 증폭은 DNA 증합효소를 이용해 진행된다. 분석하기 위해, 분석 믹스, 효소 믹스 (역전사효소, DNA 증합효소, 완충제 및 dNTP 함유) 및 물을 함유한 마스터 믹스를 준비하였다. 마스터 믹스를 96웰 플레이트의 웰들에 분배하고, RNA 샘플과 적절한 대조군 (PC 및 NC)을 추가하였다. 검사는 개별 분석/표적 3종을 함유한 트리플렉스 분석 믹스 3종을 포함하였다. 검출하기 위해 다양한 형광 염료 (FAM, HEX, ATTO647N)를 이용한 가수분해 프로브 기법을 채택해, 트리플렉스 반응의 분석들을 구분하였다. RT-qPCR은 BioRad의 CFX96 장치에서 수행하였다. 환자 분석을 위해 수행한 RT-qPCR에는 추후 한가지 키트 로트에서 입수한 시약만 사용한다 (서로 다른 키트 로트의 시약들을 혼용하진 않음).

[0578] PD-L1 면역조직화학

[0579] 본 과정에서, 환자의 종양 샘플을 단편으로 제공하여 PD-L1 분석에 이용하였다. 단편은 환자 ID 및 바이오샘플링 ID를 포함한 벤치마크 준수 라벨로 PD-L1 염색 (PD-L1 (SP263) Assay (Ventana))에 대해 표지하였다. 염색 과정을 완료한 후 모든 슬라이드는 단편을 표시하기 위해 인쇄된 데이터매트릭스 코드 라벨로 라벨링하였다.

[0580] 염색된 단편은 저장하기 위해 SOP-010-165\_Axio Scan.Z1 - Slidescanner 또는 비슷한 장치에서 상세히 언급된 바와 같이 단편 스캐너로 (전체 슬라이드 이미징) 디지털 처리하였다. 아울러, 단편 라벨의 이미지도 디지털 처리한 슬라이드 파일의 일부로 저장하였다. 디지털 처리한 단편 이미지에는 단편 ID에 상응하는 파일명을 자동적으로 할당하였다.

[0581] 염색한 단편을 토대로, 샘플의 PD-L1 점수를 병리학자에 의해 결정하였다. 반-정량 분석에서 종양 비율 점수

(TPS: 종양 세포 수/활력 종양 세포 수), 면역 세포 점수 (IC+: PD-L1 염색된 종양 관련 면역 세포) 및 종합한 양성도 점수 (CPS: 양성 종양 세포, 림프구 및 대식세포의 수/생존 세포 수 x100)의 %는 염색한 환자 단편으로 추정하여야 한다.

#### [0582] 검사물

[0583] 포르말린-고정된 및 파라핀-포매된 (FFPE) 조직 샘플에 대해 단편화를 수행하였다. IHC 분석을 위해 유리 슬라이드 위에 3  $\mu$ m 단편을 탑재하고, 후속적인 핵산 단리를 위해 10  $\mu$ m 단편 ("컬 (cur1)")을  $\mu$ l 시험관에 넣었다.

[0584] 코호트 크기는 검체 200개를 목표로 하였다. LCNEC 및 전이 및 이용가능한 경우 이의 원발성 종양에 우선 순위를 두었다. 코호트에는 LUSC 샘플과 LUAD 샘플을 동일한 개수로 포함되게 하였다. 최종 코호트는 원발성 종양 검체 170개와 전이 검체 18개로 구성되었다. 검체 총 4개는 증폭가능한 RNA 양 부족으로 인해 잘못된 측정값으로 철회하였다 (원발성 2종, 전이성 샘플 2종). 일부 서브타입들은 본 범위에 포함하지 않았으며, 개별 분석에서 제외하였다. 즉, 관련 코호트는 폐 선암종 (LUAD) 원발성 74종 및 LUAD 전이 13종, 폐 편평 세포암 (LUSC) 59종, 그리고 거대 세포 신경내분비 암종 (LCNEC) 26종으로 구성되었다. 검체가 10종 미만으로 작은 군 (서브타입에 따른 원발성/전이)은 결론에 고려하지 않았다.

[0585] 하기 재료 및 장치를 이용하였다:

| 항목                               | ID                      | 공급사 / 물품 번호                                | Lot# / Serial #                                                            |
|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| BioRad CFX96                     | 109-01                  | BioRad / 1854096 (중단)                      | Base Serial Number<br>CT023866<br>Optical Head Serial Number<br>785BR15721 |
| BioRad CFX96                     | 109-02                  | BioRad / 1854096 (중단)                      | Base Serial Number<br>CT025007<br>Optical Head Serial Number<br>785BR19388 |
| CFX Manager Software             | n/A                     | BioRad / 장치와 함께 번들로 제공                     | Version 3.1.1517.0823                                                      |
| 뉴클레아제 비-함유 물                     | 00383                   | Thermo Fisher Scientific / AM9939 (Ambion) | 2009041                                                                    |
| UltraPlex™ 1-Step ToughMix® (4X) | 00650                   | VWR, 733-2848 (Quanta)                     | 66175074<br>66171686                                                       |
| Assay Mix 1 Lot 3a               | AM1_MAGEA4_MAGEC1_CALM2 | BioNTech Diagnostics, MolDx                | 210104DaWe01                                                               |
| Assay Mix 2 Lot 3a               | AM2_CT83_PRAME_HUWE1    | BioNTech Diagnostics, MolDx                | 210104DaWe01                                                               |
| Assay Mix 3 Lot3a                | AM3_CLDN6_MAGEA3_MRPL19 | BioNTech Diagnostics, MolDx                | 210127DaWe03                                                               |
| 인간 전체 참조 RNA                     | 00408                   | Agilent / 750500                           | 201230DaWe02(6404812) (Lot 3)                                              |
| 양성 대조군 (PC)                      | NA                      | BioNTech Diagnostics, MolDx                | 210104DaWe02 (Lot 3a)                                                      |

#### [0586] RT-qPCR에 의한 유전자 발현 분석

[0587] 환자 FFPE 종양 샘플로부터 추출한 RNA로 종양-관련 항원 CLDN6, CT83, MAGEA3, MAGEA4, MAGEC1 및 PRAME의 mRNA 발현을 분석하였다. 이를 위해, 유전자-특이적인 RT-qPCR 분석을 개발하였으며, 향후 R&D 분석에 이용할 예정이다.

#### [0588] RNA 추출

[0589] 확립된 사전-분석 과정은 1x10  $\mu$ m FFPE 조직 단편으로부터 RNXtract® RNA E추출 키트 (BioNTech Diagnostics GmbH)를 IFU에 따라 이용해 전체 RNA를 추출하는 것으로 시작한다. 간략하게는, 조직 단편을 수성 완충제에서 80℃까지 가열해 파라핀을 제거한 다음 프로테아제 K를 이용해 세포용해하였다. 그 후, RNA를 비드에 촉진 완충제 조건 하에 결합시키고, 비드를 결합으로부터 각 단계에서 상층액을 제거하기 전 자기력으로 고정하였으며, 각 단계 사이에는 3번의 세척 단계를 두었으며, 마지막 용출시에도 자기력으로 고정하였다.

#### [0590] RT-qPCR

[0591] 추출된 RNA를 한 단계 RT-qPCR을 통해 분석하였으며, mRNA를 먼저 상보적인 DNA (DNA)로 전사한 다음 유전자-

및 이소형-특이적인 프라이머 및 프로브를 이용해 qPCR에 의해 증폭하였다. RT-qPCR은 CFX96 장치 (Bio-Rad)에서 수행하였다. 확립한 양성 및 음성 대조군 (PC 및 NC)은 각각 RT-qPCR 실행에서 분석하여 실행 유효성을 확인하였으며, 또한 PC의 경우에는 분석에 교정자 (calibrator)로서 이용하였다. 유효 실행만 분석하였다. RT-qPCR 분석은 반응 당 표적 3건을 분석할 수 있도록 트리플렉스 분석으로 확립하였다. 한 반응에서 분석들은 프로브에 대한 서로 다른 형광 염료에 의해 구분하였다 (FAM, HEX 및 ATTO647N, 아래 표 참조). 1차 분석 결과물은 각 표적에 대한 Cq (quantification cycle)이며, 이는 신호가 백그라운드 신호보다 높게 지정된 역치와 교차하는 포인트이다. Cq는 PCR 증폭하기 전 샘플내 표적 분자들의 양 측정값이다. 샘플 당 각 분석에 대해 3회 측정으로 수행하고, 중위수 Cq를 계산에 이용하였다. 각 샘플에서 분석하기 위해서는 충분한 분석물 (= 증폭가능한 RNA)이 존재하여야 한다. 이를 위해 참조 유전자 (RG) 3종: CALM2, HUWE1 및 MRPL19의 발현 수준을 RNA 양에 대한 서로게이트 (surrogate)로 이용하였다. RG 3종의 중위수 Cq 평균을 계산하고, 여기서 "조합 참조" (CombRef)로 명명하였으며, 이는 여러가지 RNA 입력량에 대한 표적 유전자 발현의 표준화에도 이용하였다. 이를 위해, CombRef를 표적의 중위수 Cq에서 제하여 각 표적의 표준화된 상대적인 발현 = delta Cq (dCq)을 구하였다. 실행 간 또는 장치 간 편차를 보완하기 위해, dCq<sub>샘플</sub>에서 dCq<sub>PC</sub>를 제함으로써 샘플의 dCq를 교정자로서 PC의 dCq에 대해 추가로 표준화하여, 최종 검사 결과를 delta delta Cq (ddCq)로 구하였다. 미리 지정된 컷오프에 따라, 표적의 (반-) 정량적인 ddCq 값은 양성 또는 음성으로 추가로 분류할 수 있다. ddCq 컷오프는 정상 폐 및 기타 정상 조직에서의 유전자 발현과 비교해 폐암 샘플의 발현 분석을 기반으로 정의하였다.

[0593] **확립한 분석 믹스:**

| 분석 믹스 | FAM    | HEX    | ATTO674N |
|-------|--------|--------|----------|
| 1     | MAGEA4 | MAGEC1 | CALM2    |
| 2     | CT83   | PRAME  | HUWE1    |
| 3     | CLDN6  | MAGEA3 | MRPL19   |

[0594]

[0595] **ddCq 결과 계산**

[0596]  $\text{CombRef} = (\text{중위수 Cq [CALM2]} + \text{중위수 Cq [HUWE1]} + \text{중위수 Cq [MRPL19]}) / 3$

[0597]  $\text{dCq}_{\text{샘플}} = (\text{중위수 Cq [표적}_{\text{샘플}}] - [\text{CombRef}_{\text{샘플}}])$

[0598]  $\text{dCq}_{\text{PC}} = (\text{중위수 Cq [표적}_{\text{PC}}] - [\text{CombRef}_{\text{PC}}])$

[0599]  $\text{ddCq} = \text{dCq}_{\text{샘플}} - \text{dCq}_{\text{PC}}$

[0600] **공정 흐름**

[0601] 도 9는 공정의 개괄을 도시한다.

[0602] **결과**

[0603] RT-qPCR에 의해 확인한 TAA 발현은 검체 188건 중 184건에서 측정되었다. 일부 검체의 서브타입은 본 범위 안에 있지 않거나, 또는 특정 서브타입에 대해 결론을 도출하기에는 개수가 적어, 목표한 서브타입 즉 폐 선암종 (LUAD), 폐 편평 세포암 (LUSC) 및 거대 세포 신경내분비 암종 (LCNEC)에 대한 분석에만 집중하였다. 전이는 LUAD에서만 충분한 수준으로 확보되었다.

[0604] 특정 TAA의 발현 빈도는 종양의 서브타입에 따라 다르고, 또한 원발성 종양과 전이 간에도 차이가 있었다. CLDN6은 LUSC 또는 LCNEC 종양 20건 중 약 1건에서만 발현이 나타났었지만, 전체 종양에 대한 커버리지 최대화에는 여전히 기여하였다. 일부 TAA, 즉 MAGEA4 및 CT83은 LUAD 원발성 종양보다는 전이에서 더 빈번한 것으로 드러났다. 이는 추가적인 선별 없이도 전이를 다룰 수 있게 하였다.

[0605] 상당히 다른 조직임에도 불구하고 신경내분비 암종도 커버되었다.

표 3: 종양 타입에 따른 TAA 빈도

|        |          | n=  | MAGEA4 | MAGEC1 | CT83 | PRAME | CLDN6 | MAGEA3 |
|--------|----------|-----|--------|--------|------|-------|-------|--------|
| LUAD   | 전이       | 13  | 54%    | 23%    | 92%  | 23%   | 15%   | 54%    |
|        | 원발성      | 74  | 24%    | 26%    | 74%  | 28%   | 36%   | 43%    |
| LUSC   | 원발성      | 59  | 83%    | 34%    | 39%  | 56%   | 5%    | 80%    |
| LCNEC  | 원발성      | 26  | 38%    | 54%    | 27%  | 38%   | 4%    | 85%    |
| 통합     | 원발성      | 159 | 48%    | 33%    | 53%  | 40%   | 19%   | 64%    |
| 전체 코호트 | 원발성 + 전이 | 184 | 49%    | 32%    | 56%  | 53%   | 33%   | 64%    |

표 4: 조사한 TAA 6종을 이용한 종양의 커버리지. TAA 1종, 2종 및 최대 6종을 동시에 발현하는 종양의 %를 나타낸다.

선택한 TAA 6종은 폐암 종양에 대해 넓은 커버리지를 나타내었다. 원발성 LUAD의 82%가 이 코호트에서의 설정에 의해 커버되는 반면, 해당 전이에 대한 커버리지는 100%이었다. LUSC 및 LCNEC는 커버리지가 92% 또는 심지어 98%이었다. 중요한 것은 모든 하위군들이 표적 2종으로는 >60% 커버리지를, 표적 3종으로는 약 50%의 커버리지가 달성된다는 점이었다.

|        |          | 1    | 2   | 3   | 4   | 5   | 6  |
|--------|----------|------|-----|-----|-----|-----|----|
| LUAD   | 전이       | 100% | 77% | 54% | 23% | 8%  | 0% |
|        | 원발성      | 82%  | 62% | 45% | 26% | 15% | 3% |
| LUSC   | 원발성      | 98%  | 88% | 64% | 34% | 10% | 2% |
| LCNEC  | 원발성      | 92%  | 65% | 54% | 27% | 4%  | 4% |
| 통합     | 원발성      | 96%  | 77% | 57% | 31% | 11% | 3% |
| 전체 코호트 | 원발성 + 전이 | 91%  | 73% | 54% | 29% | 11% | 2% |

표 5: PD-L1 발현 분석

한가지 추가적인 의문은 샘플에서 TAA 커버리지를 최대화할 수 있는 추가적인 제한 매개변수를 적용 가능한가였다. 이를 위해, 전체 샘플을 PD-L1 발현에 대해 분석하였다. PD-L1 데이터 또는 돌연변이 데이터 (임상 루틴으로부터 이용가능한 경우)를 이용해 TAA 발현에 대해 수득한 서브세트를 분석하였다.

|       |     |                |    | TAA 빈도: |        |      |       |       |        |
|-------|-----|----------------|----|---------|--------|------|-------|-------|--------|
|       |     | PD-L1<br>(TPS) | n= | MAGEA4  | MAGEC1 | CT83 | PRAME | CLDN6 | MAGEA3 |
| LCNEC | 원발성 | ≥0             | 26 | 38%     | 54%    | 27%  | 38%   | 4%    | 85%    |
|       |     | <10            | 19 | 47%     | 47%    | 26%  | 37%   | 0%    | 84%    |
|       |     | ≥10            | 7  | 14%     | 71%    | 29%  | 43%   | 14%   | 86%    |
|       |     | <50            | 23 | 39%     | 52%    | 22%  | 39%   | 0%    | 83%    |
|       |     | ≥50            | 3  | 33%     | 67%    | 67%  | 33%   | 33%   | 100%   |
| LUAD  | 원발성 | ≥0             | 74 | 24%     | 26%    | 74%  | 28%   | 36%   | 43%    |
|       |     | <10            | 40 | 30%     | 30%    | 80%  | 25%   | 35%   | 40%    |
|       |     | ≥10            | 34 | 18%     | 21%    | 68%  | 32%   | 38%   | 47%    |
|       |     | <50            | 54 | 28%     | 28%    | 74%  | 28%   | 35%   | 39%    |
|       |     | ≥50            | 20 | 15%     | 20%    | 75%  | 30%   | 40%   | 55%    |
|       | 전이  | ≥0             | 13 | 54%     | 23%    | 92%  | 23%   | 15%   | 54%    |
|       |     | <10            | 6  | 50%     | 33%    | 83%  | 33%   | 33%   | 67%    |
|       |     | ≥10            | 7  | 57%     | 14%    | 100% | 14%   | 0%    | 43%    |
|       |     | <50            | 8  | 50%     | 25%    | 88%  | 25%   | 25%   | 50%    |
|       |     | ≥50            | 5  | 60%     | 20%    | 100% | 20%   | 0%    | 60%    |
| LUSC  | 원발성 | ≥0             | 46 | 80%     | 37%    | 46%  | 54%   | 4%    | 76%    |
|       |     | <10            | 29 | 83%     | 41%    | 55%  | 59%   | 3%    | 83%    |
|       |     | ≥10            | 17 | 76%     | 29%    | 29%  | 47%   | 6%    | 65%    |
|       |     | <50            | 34 | 82%     | 41%    | 50%  | 56%   | 3%    | 79%    |
|       |     | ≥50            | 12 | 75%     | 25%    | 33%  | 50%   | 8%    | 67%    |
|       | 전이  | ≥0             | 1  | 100%    | 0%     | 0%   | 100%  | 0%    | 0%     |
|       |     | <10            | 1  | 100%    | 0%     | 0%   | 100%  | 0%    | 0%     |
|       |     | ≥10            | 0  | -/-     | -/-    | -/-  | -/-   | -/-   | -/-    |
|       |     | <50            | 1  | 100%    | 0%     | 0%   | 100%  | 0%    | 0%     |
|       |     | ≥50            | 0  | -/-     | -/-    | -/-  | -/-   | -/-   | -/-    |

[0613]

|       |     | 적어도 주어진 TAA 개수에 의해 커버되는 종양의 % |     |      |      |     |     |     |     |
|-------|-----|-------------------------------|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|
|       |     | PD-L1 (TPS)                   | n = | 1    | 2    | 3   | 4   | 5   | 6   |
| LCNEC | 원발성 | ≥0                            | 26  | 92%  | 65%  | 54% | 27% | 4%  | 4%  |
|       |     | <10                           | 19  | 95%  | 63%  | 53% | 32% | 0%  | 0%  |
|       |     | ≥10                           | 7   | 86%  | 71%  | 57% | 14% | 14% | 14% |
|       |     | <50                           | 23  | 91%  | 65%  | 52% | 26% | 0%  | 0%  |
|       |     | ≥50                           | 3   | 100% | 67%  | 67% | 33% | 33% | 33% |
| LUAD  | 원발성 | ≥0                            | 74  | 82%  | 62%  | 45% | 26% | 15% | 3%  |
|       |     | <10                           | 40  | 83%  | 60%  | 43% | 30% | 20% | 5%  |
|       |     | ≥10                           | 34  | 82%  | 65%  | 47% | 21% | 9%  | 0%  |
|       |     | <50                           | 54  | 80%  | 63%  | 43% | 26% | 17% | 4%  |
|       |     | ≥50                           | 20  | 90%  | 60%  | 50% | 25% | 10% | 0%  |
|       | 전이  | ≥0                            | 13  | 100% | 77%  | 54% | 23% | 8%  | 0%  |
|       |     | <10                           | 6   | 100% | 83%  | 67% | 33% | 17% | 0%  |
|       |     | ≥10                           | 7   | 100% | 71%  | 43% | 14% | 0%  | 0%  |
|       |     | <50                           | 8   | 100% | 75%  | 50% | 25% | 13% | 0%  |
|       |     | ≥50                           | 5   | 100% | 80%  | 60% | 20% | 0%  | 0%  |
| LUSC  | 원발성 | ≥0                            | 46  | 98%  | 85%  | 65% | 37% | 11% | 2%  |
|       |     | <10                           | 29  | 97%  | 90%  | 76% | 48% | 10% | 3%  |
|       |     | ≥10                           | 17  | 100% | 76%  | 47% | 18% | 12% | 0%  |
|       |     | <50                           | 34  | 97%  | 88%  | 71% | 44% | 9%  | 3%  |
|       |     | ≥50                           | 12  | 100% | 75%  | 50% | 17% | 17% | 0%  |
|       | 전이  | ≥0                            | 1   | 100% | 100% | 0%  | 0%  | 0%  | 0%  |
|       |     | <10                           | 1   | 100% | 100% | 0%  | 0%  | 0%  | 0%  |
|       |     | ≥10                           | 0   | -/-  | -/-  | -/- | -/- | -/- | -/- |
|       |     | <50                           | 1   | 100% | 100% | 0%  | 0%  | 0%  | 0%  |
|       |     | ≥50                           | 0   | -/-  | -/-  | -/- | -/- | -/- | -/- |

**실시예 5: 인간화된 MHC 마우스 모델에서 BNT116에 의해 유도된 생체내 항원-특이적인 T 세포 증폭**

생체내 RNA-LPX에 의한 종양 항원-특이적인 T 세포의 드 노보 유도가 인간화된 MHC 마우스 모델에서 BNT116를 이용하여 입증되었다. BNT116은 RNA-LPX 6종을 포함하며, RNA-LPX 각각에서 RNA는 단일 가닥, 5'-캡 달린 비-뉴클레오타이드-변형된 우리딘-함유 mRNA이었다. RNA는 RBL003.3 (서열번호 12, MAGEA3 암호화), RBL005.3 (서열번호 4, CLDN6 암호화), RBL007.2 (서열번호 8, KK-LC-1 암호화), RBL012.2 (서열번호 20, PRAME 암호화), RBL027.2 (서열번호 16, MAGE-A4 암호화) 및 RBL035.2 (서열번호 24, MAGE-C1 암호화)를 포함하였다.

HLA-A\*0201 및 -DRB1\*01에 대해 형질전환이고 내인성 MHC 클래스 I 및 II가 결핍된 A2/DR1 마우스를 가장 빈번한 인간 HLA 대립유전자 (즉, HLA-A2.1 및 HLA-DR1)에 대한 T 세포 면역원성을 조사하기 위한 모델로 이용하였다.

MAGE-A3, CLDN6, KK-LC-1, PRAME, MAGE-A4 또는 MAGE-C1 (각각 RBL003.3, RBL005.3, RBL007.2, RBL012.2, RBL027.2, 또는 RBL035.2 [RBL003.3: 연구-등급 물질; 그외 모든 RNA들: 임상 시험 물질])을 암호화하는 RNA-LPX를 1일, 8일 및 15일차에 3번 IV로 A2/DR1 마우스에 백신 접종하였다. 20일차에 비장 세포를, 각각의 BNT116 항원의 전장을 망라하는 펩타이드 믹스 또는 헬퍼 에피토프 P2P16을 망라하는 P2P16P17 펩타이드로 생체의 재 자극하였다. 효소-연계된 면역 흡착 스팟 (ELISpot) 분석으로 IFN- $\gamma$  생산을 측정하였다. 대조군은 무관한 인간 사이토메갈로바이러스 (hCMV) pp65<sub>495-504</sub> 펩타이드로 재 자극하였다. 마우스의 전반적인 건강 상태 및 안녕을 활동, 신체 상태 및 신체 이상을 세심하게 관찰하여 모니터링하였다. 개체 체중도 실험 1일, 8일, 15일 및 20일차에 모든 마우스에서 측정하였다.

검사물-관련 사망도, 신체 체중에 대한 부정적인 효과도 없었다. KK-LC-1 RNA-LPX로 처리된 마우스 한마리가 신체 상태가 좋지 않은 것으로 관찰되어, 7일차에 희생시켜야 하였다. 이는 검사물과는 관련 없고, 공격적인 케이지 공동 사육 동물에 의해 물린 것과 관련 있었으며, 여러개의 염증성 상해로 진행되었다. 부검에서도 아무런 소견이 없었다.

BNT116 항원 6종 전체에 대해 백신 접종시, 항원-특이적인 T 세포 면역이 구축되었다. MAGE-A3, PRAME 및 CLDN6

RNA-LPX에 의해 유도되고 동족 펩타이드 믹스로 재 자극된 T 세포에 의해 생산된 IFN- $\gamma$  스팟의 개수는 무관련 대조군 펩타이드로 재 자극한 경우에 동일한 마우스의 T 세포에 의해 생산된 IFN- $\gamma$  스팟 개수보다 통계학적으로 유의하게 더 많았다. KK-LC-1, MAGE-A4 및 MAGE-C1 RNA-LPX에 대한 반응으로 IFN- $\gamma$ 를 방출하는 T 세포의 개수는 대조군과 비교해 명확하게 증가하였지만, 통계학적 유의성에 도달하진 못하였다.

[0621] BNT116으로 면역화한 마우스에서 유래한 비장 세포를 P2P16P17 펩타이드 믹스로 재 자극함으로써 유도된 IFN- $\gamma$  방출은 대조군 펩타이드로 재 자극한 동일 마우스의 비장 세포와 비교해 명백하게 더 많았으며, 이는 이들 헬퍼 에피토프에 대항하는 항원-특이적인 CD4<sup>+</sup> T 세포 반응이 유도되었음을 의미한다 (도 10).

[0622] RNA-LPX 백신 접종에 의해 유도된 T 세포 기능성이 생체내 세포독성 분석에서 추가로 입증되었으며, 표적으로 MAGE-A3를 이용한 경우 공지된 HLA-A\*0201-특이적인 펩타이드로 펄스 처리된 표지된 비장 세포는 유도된 항원-특이적인 CD8<sup>+</sup> T 세포에 의해 효율적으로 세포용해되었다.

[0623] 이들 결과는, 임상 등급의 BNT116로 백신 접종으로 BNT116 암호화된 항원에 대해 항원-특이적이고 세포 독성 T 세포를 드 노보로 효과적으로 유도할 수 있음을, 입증해준다.

[0624] **실시예 6: 진행성 비-소 세포성 폐암 환자에서 BNT116 단독 또는 조합물의 안전성, 내약성 및 예비 효능을 평가하는 임상 시험**

[0625] BNT116에 대한 최초 인간 (FIH) 시험은 BNT116 단일 요법에 대해, 아울러 세미플리맵과 BNT116 조합 또는 도세탁셀과 BNT116 조합에 대해, 안전성 프로파일과 안전한 용량을 확립하고자 하는 목적으로, 진행성 또는 전이된 비-소 세포성 폐암 (NSCLC) 환자를 대상으로 수행하였다. 본 시험은 단일 요법 및 조합 요법에서 용량을 검증하기 위해 몇가지 코호트들로 구성하였다.

[0626] 목표 및 개입은 다음과 같다:

| 목표                         | 개입/치료                                                     |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 실험: 코호트 1 - BNT116 단일요법    | 생물학적 제제: BNT116<br>정맥내 주사                                 |
| 실험: 코호트 2 - BNT116 + 세미플리맵 | 생물학적 제제: BNT116<br>정맥내 주사<br><br>생물학적 제제: 세미플리맵<br>정맥내 주입 |
| 실험: 코호트 3 - BNT116 + 도세탁셀  | 생물학적 제제: BNT116<br>정맥내 주사<br><br>Drug: 도세탁셀<br>정맥내 주입     |
| 실험: 코호트 4 - BNT116 + 세미플리맵 | 생물학적 제제: BNT116<br>정맥내 주사<br><br>생물학적 제제: 세미플리맵<br>정맥내 주입 |

[0627]

[0628] 결과 측정은 다음과 같다:

[0629] 1차 결과 측정:

- [0630] 1. 1차 사이클 동안의 용량-제한 독성 (DLT) 발생 [시간대: 1차 사이클 (21일) 동안 평가]
- [0631] 2. 국립 암 연구소-CTCAE (이상 사례에 대한 공통 용어 기준)(NCI-CTCAE) v5.0에 따라 관계, 중증성 및 병기에 따라 기록한 자의적인 치료-유발 이상 사례 (TEAE)의 발생 [시간대: 최대 27개월]
- [0632] 2차 결과 측정:
- [0633] 1. 고형 종양에서 반응 평가 기준 (RECIST) v1.1에 따른 최상의 전체 반응 (BOR)으로서 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR)을 보인 환자의 수를 효능 분석 세트의 환자 수로 나눈 것으로 정의되는 전체 반응률 (ORR) [시간대: 최대 27개월]
- [0634] 2. RECIST v1.1에 따라 최초 반응시부터 최초 객관적인 종양 진행시까지의 시간으로서 정의되는 반응 지속 기간 (DoR) [시간대: 최대 27개월]
- [0635] 3. RECIST v1.1에 따라 BOR로서 CR 또는 PR 또는 안정한 질환 (SD)을 가진 환자 수를 효능 분석 세트의 환자 수로 나눈 것으로 정의되는 질환 통제율 (DCR) [시간대: 최대 27개월]
- [0636] 4. RECIST v1.1에 따라 최초 안정한 질환 또는 반응시부터 최초 객관적인 종양 진행시까지의 시간으로서 정의되는 질환 통제 지속 기간 [시간대: 최대 27개월]
- [0637] 5. RECIST v1.1에 따라 최초 시험 치료시부터 최초 객관적인 종양 진행 또는 임의 이유로 인한 사망 중 먼저 발생한 현상까지의 시간으로서 정의되는 무진행 생존성 (PFS) [시간대: 최대 48개월]
- [0638] 6. 최초 시험 치료시부터 임의 이유로 인한 사망시까지의 시간으로서 정의되는 전체 생존성 (OS)[시간대: 최대 48개월]
- [0639] 기준은 다음과 같다:
- [0640] 주요 포함 기준:
- [0641] ● 환자는 조직학적으로 절제불가한 3기 또는 전이성 4기 NSCLC로 확정되고 RECIST v1.1에 따라 측정가능한 질병을 가지고 있어야 한다. 참고: 코호트 1의 환자들은 측정가능한 질환이 있어야 하는 것은 아니다.
- [0642] ● 코호트 2 및 4의 환자들은 추가적인 항-PD-1 요법에 내약성일 수 있어야 하고 (즉, 독성으로 인해 항-PD-1 (anti-programmed death protein 1) / PD-L1 (programmed death ligand 1)을 영구적으로 중단하지 않았음), 임의의 이전 PD-1/PD-L1-관련 독성으로부터 1등급 또는 0등급으로 회복되었거나 또는 안정한 호르몬 대체 요법 중이어야 한다.
- [0643] ● 코호트 2 및 3의 환자들은 ECOG-PS (Eastern Cooperative Oncology Group performance status)가  $\leq 1$  이어야 한다. 코호트 1 및 4에서 ECOG-PS가 0-2인 환자들은 적격자이다.
- [0644] 코호트별 포함 기준:
- [0645] 코호트 1:
- [0646] ● 환자의 이전 요법에는 적어도 PD-1/PD-L1 저해제 및 플라티늄-기반의 화학요법 용법뿐 아니라 다른 계통의 전신 요법 한가지가 포함되어있어야 한다 (만일 환자가 플라티늄-기반의 화학요법 및/또는 PD-1/PD-L1 저해제 및/또는 다른 계통의 전신 요법에 대해 후보가 아닌 경우에는 제외).
- [0647] 코호트 2:
- [0648] ● 환자는 종양에서 종양 비율 점수 (TPS)  $\geq 50\%$ 로 PD-L1 발현이 있어야 한다 (본 시험에 합류하기 전 현지에서 결정).
- [0649] ● 환자는 다음 중 하나로 진행성 질환을 가지고 있어야 한다:
- [0650] 1. 진행성 또는 전이 단계의 NSCLC: PD-1/PD-L1 저해제 요법 중이거나 또는 1차 치료로서 이러한 치료를 종료한지 6개월 이내이거나, 또는
- [0651] 2. 본 시험에 등록하기 전 적어도 3개월간 단일요법을 받을 적 있는, PD-1/PD-L1 저해제를 이용한 진행 중인 보조 요법에 불응성임 (즉, 처음 조합 요법 이후).
- [0652] 코호트 3:

- [0653] ● 환자의 이전 요법에는 적어도 PD-1/PD-L1 저해제 및 플라티늄-기반의 화학요법 용법이 포함되었어야 한다 (만일 환자가 플라티늄-기반의 화학요법 및/또는 PD-1/PD-L1 저해제에 대해 후보가 아닌 경우에는 제외).
- [0654] 코호트 4:
- [0655] ● 진행성 또는 전이 단계의 NSCLC에 대해 1차 치료로서 화학요법에 대한 후보가 아닌 환자는 PD-L1 발현이 종양 세포에서 TPS  $\geq 1\%$ 으로 확인되면 등록할 수 있다.
- [0656] 주요 제외 기준:
- [0657] ● NSCLC에 대해 능동적인 전신 치료 중인 경우.
- [0658] ● 승인된 표적 요법이 이용가능한 유발 돌연변이가 존재하는 경우.
- [0659] ● 면역-관련 이상 사례 위험을 시사할 수 있는 전신 면역억제 치료제를 이용한 치료가 필요한 중대한 자가면역 질환이 진행 중이거나 또는 (과거 5년 이내에) 최근 증거가 있는 경우. 참고: 자가면역-관련 갑상선 기능 항진증, 자가면역-관련 갑상선 기능 저하증을 가지고 있으나 관해 상태이거나 또는 갑상선-대체 호르몬을 안정한 용량으로 투여 중이거나, 백반증 또는 건선을 앓고 있는 환자는 포함될 수 있다.
- [0660] ● 선별 기간에 현재 신규 또는 증식 중인 뇌 또는 척수 전이에 대한 증거가 있는 경우, 연수막 질환자는 예외이다. 알려진 뇌 또는 척수 전이가 있는 환자는 다음에 해당할 경우에는, 적격자일 수 있다:
- [0661] ● 뇌 또는 척추 골 전이에 대해 방사성 요법 또는 다른 적절한 요법을 받은 경우, 그리고
- [0662] ● 현재의 뇌 병변에 기인한 것일 수 있는 신경학적 증상이 없는 경우, 그리고
- [0663] ● 고지에 입각한 동의서에 서명하기 전 4주 이내에 컴퓨터 단층촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상 (MRI) 스캔에서 안정적인 뇌 또는 척추 질환이 확인된 경우 (적어도 4주 간격의 2번 스캔에서 안정적인 병변이 검증됨), 그리고
- [0664] ● 시험 치료제를 1차 투여하기 전 14일 이내에 뇌 또는 척추 전이를 치료하기 위한 스테로이드 요법을 요하지 않는 경우. 참고: 임박 골절 (imminent fracture) 또는 척추 압박이 예상되지 않는 한 척추 골 전이 (즉, 척추뼈).
- [0665] ● 전신성 면역 억제:
- [0666] ● 현재 만성 전신성 스테로이드 약물요법 (프레드니솔론  $\leq 5$  mg/day에 상응하는 용량 허용) 중인 경우; 부신 또는 뇌하수체 부전으로 인해 프레드니솔론을 생리학적 대체 용량으로 이용 중인 환자는 적격임.
- [0667] ● 시험에 등록하기 전 과거 3개월 이내에 임상적으로 관련있는 전신 면역 억제를 받은 경우.
- [0668] ● 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)에 대해 혈청 양성 병력이 있고, CD4+ T-세포 (CD4+) 수치가  $<350$  세포/ $\mu\text{L}$ 이고, 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS)-을 정의하는 기회 감염 병력이 있는 것으로 알려진 경우
- [0669] ● 이전에 비장적출술을 받은 경우.
- [0670] **실시예 7: 단일 주사로 투여된 BNT116에 의한 인간 HLA-형질전환 A2/DR1 마우스에서 항원-특이적인 T 세포의 드 노보 유도.**
- [0671] 임상 개발 목적에서는 BNT116 제품 6종을 모두 단일 주사 또는 주입으로 투여하는 것이 순차적으로 주사 또는 주입하는 경우와 비교해 유리할 것이다. 주사 또는 주입 횟수 감소는 환자의 신체적 및 생리학적 부담을 낮출 것이며, 적용에 필요한 시간을 단축시킬 것이다. 실시예 5에서, 본 발명자들은, 인간 HLA-형질전환 마우스에 BNT116 RNA-LPX 백신을 각각 별도로 투여하였을 경우 (각 마우스에 특정 BNT116 항원 1종을 암호화하는 RNA로 구성된 백신을 투여함) 암호화된 BNT116 항원에 대해 특이적인 T 세포의 드 노보 유도가 촉진되었다는 것을, 확정하였다. BNT116 제품들의 조합물을 모두 단일 주사로 투여하는 것이 여전히 항원 6종 모두에 대해 측정가능한 면역성을 유도할 수 있는지를 조사하기 위해, 다음 공정 2가지 중 한가지에 따라 주사용 BNT116 혼합물 2가지를 준비하였다: RNA를 먼저 RNA-LPX로 제형화한 다음 혼합하거나 (공정 1) 또는 RNA들을 먼저 혼합한 다음 RNA-LPX로 제형화함 (공정 2).
- [0672] C57BL/6 A2/DR1 마우스 ( $n = 6/\text{군}$ )에 공정 1 또는 공정 2에 따라 제조한 BNT116 RNA 6종으로 구성된 혼합물 (PRAME [RBL012.2], CLDN6 [RBL005.3], KK-LC-1 [RBL007.2], MAGE-3 [RBL003.3], MAGE-A4 [RBL027.2] 및 MAGE-C1 [RBL035.2])을 1일, 8일 및 15일에 IV로 3번 백신 접종하였다. 20일차에 BNT116 펩타이드 믹스 또는

헬퍼 에피토프 P2P16을 망라하는 P2P16P17 펩타이드 믹스로 생체외 재 자극한 후 IFN- $\gamma$ 의 생산을 통해 항원-특이적인 T 세포의 유도를 ELISpot에 의해 분석하였다. 대조군 웰은 무관련 인간 사이토메갈로바이러스 (hCMV) pp65495-504 펩타이드로 재 자극하였다.

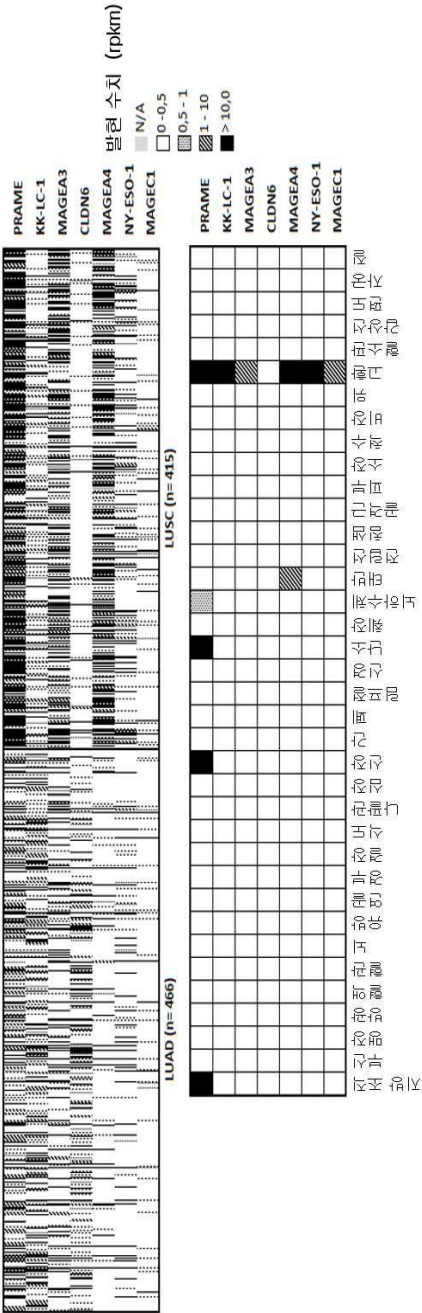
[0673] 마우스의 전반적인 건강 상태 및 안녕을 활동, 신체 상태 및 신체 이상을 세심하게 관찰하여 모니터링하였다. 개체 체중도 실험 1일, 8일, 13일, 15일 및 20일차에 모든 마우스에서 측정하였다. 검사물-관련 사망은 없었다. 공정 2에 따른 BNT116 혼합물을 투여받은 군에서는 마우스 1마리에서 8일차에 체중 감소가 나타났지만 (치료 개시 시점의 초기 체중의 84%), 이후 2일 이내에 빨리 회복되었다.

[0674] BNT116 혼합물 2가지 모두 각각 백신 접종시 항원 6종 모두에 대해 항원-특이적인 T 세포 면역을 유발하였다 (도 11A). 실시예 5에 언급된 결과와 마찬가지로, PRAME, CLDN6 및 MAGE-A4에 대한 반응이 MAGE-A3, MAGE-C1 및 KK-LC-1에 대한 반응보다 더 우세하였다. 전체 면역 반응은 서로 다른 공정으로 제조된 BNT116 혼합물 2종 간에 매우 비슷하였지만, 개개 항원을 표적화하는 면역 반응은 공정 1에 따라 제조한 BNT116 혼합물로 유도한 경우에 더 강하였다 (도 11B). 투여량은 2가지 군들 간에 비록 차이가 있지만 거의 동일한 것으로 볼 수 있으므로, 공정 1에 따라 제조한 BNT116 혼합물이 이 마우스 모델에서는 BNT116-특이적인 T 세포를 유도하는 효능이 약간 더 우수할 수 있다.

[0675] 이들 결과는, 모든 BNT116 제품을 단일 주사로 조합한 백신 접종이 BNT116-암호화된 항원 인지시 IFN- $\gamma$ 를 생산하는 항원-특이적인 T 세포를 드 노보 유도하는데 매우 적합하다는 것을, 입증해준다.

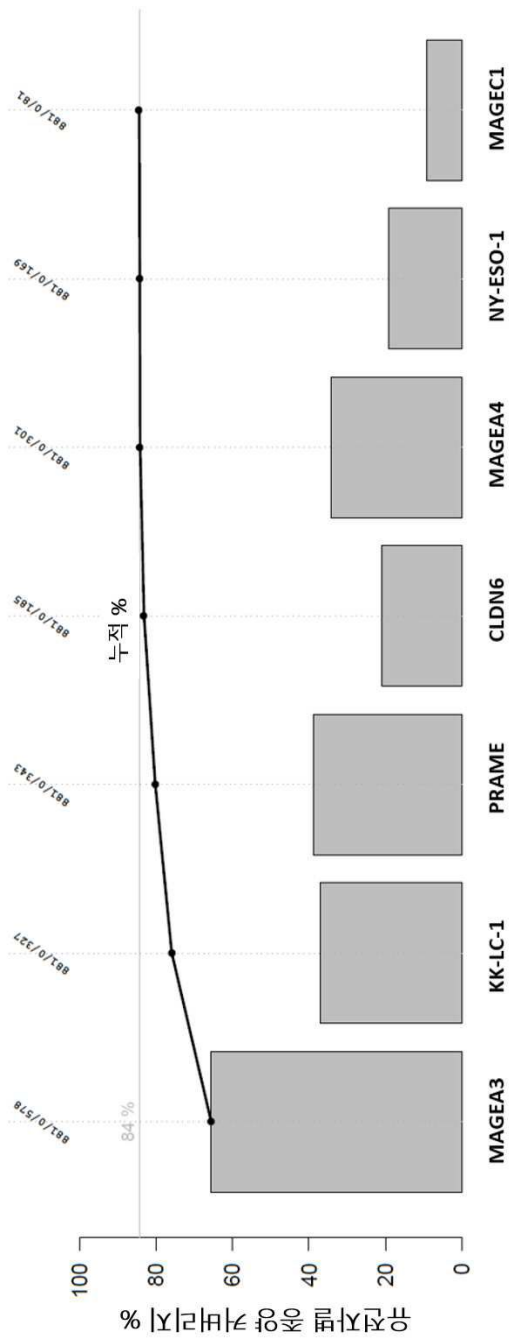
도면

도면1

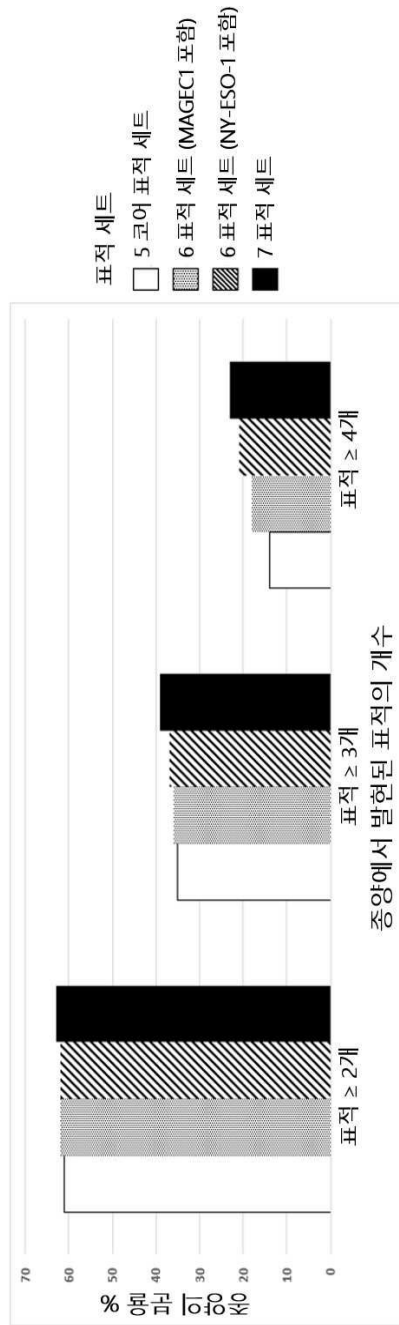


인간 정상 조직 범위 (n=37)

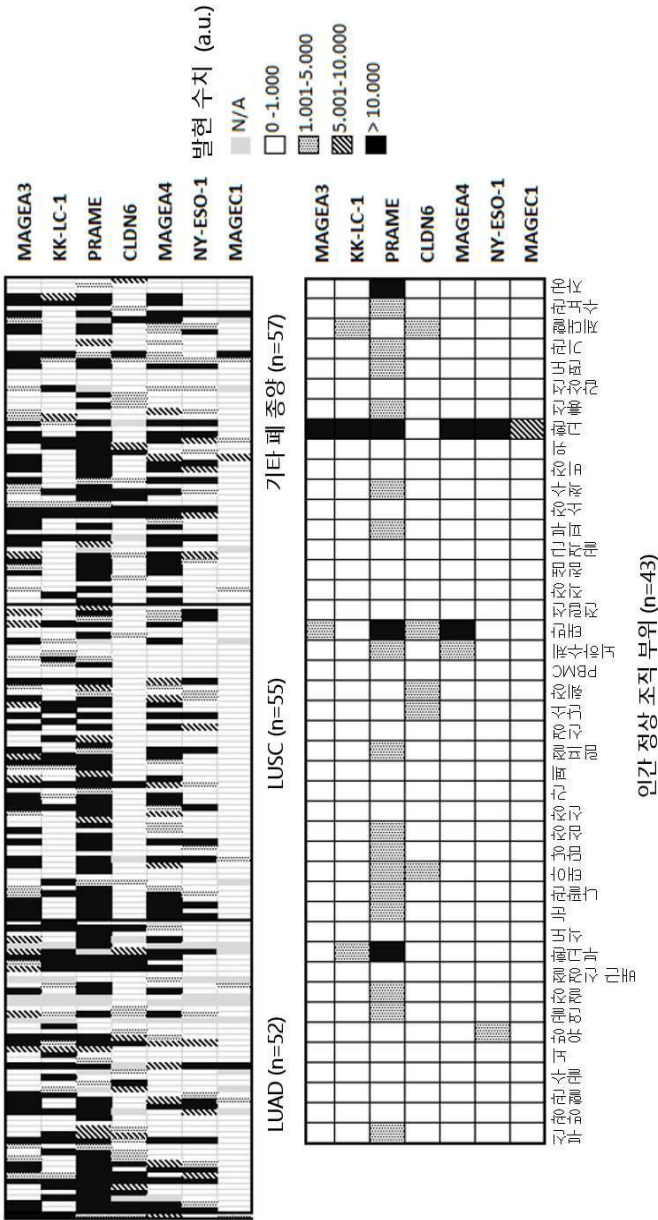
도면2



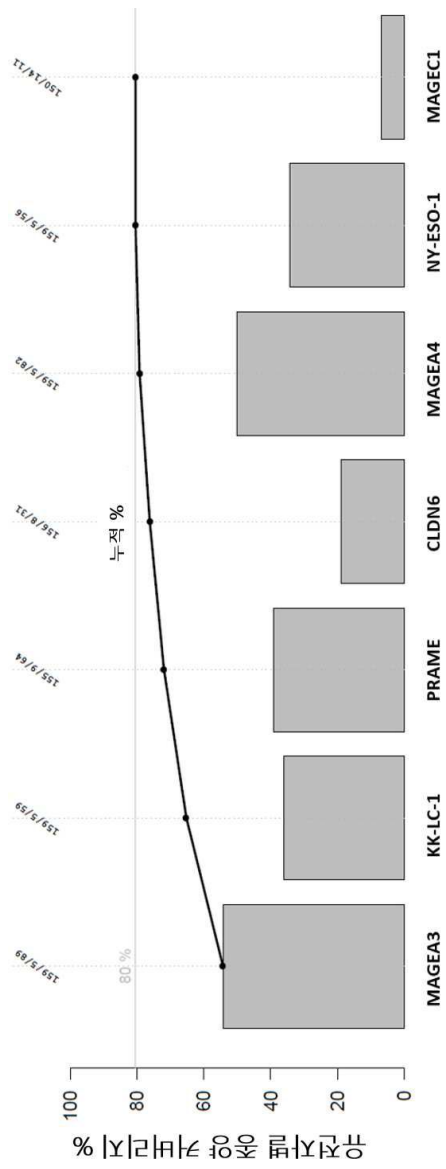
도면3



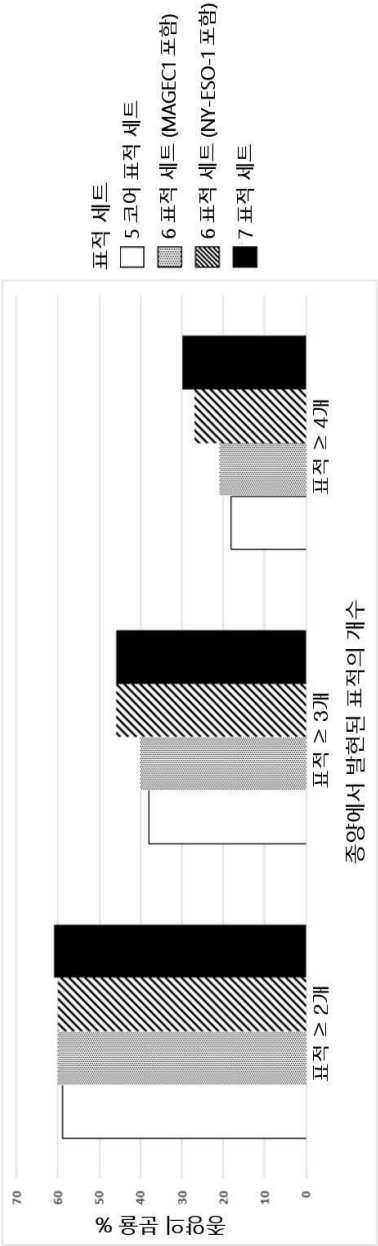
도면4



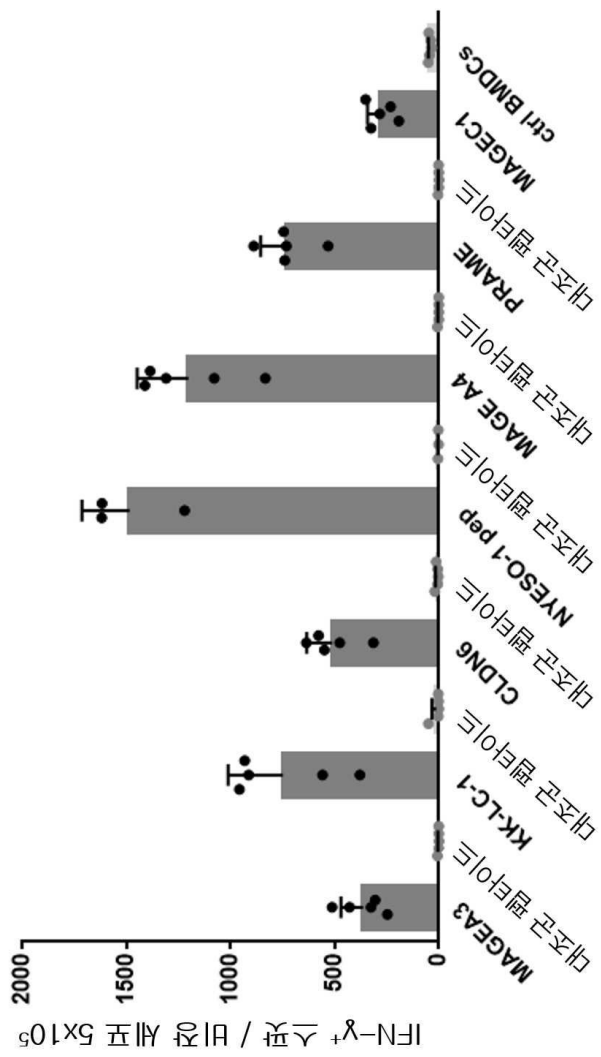
도면5



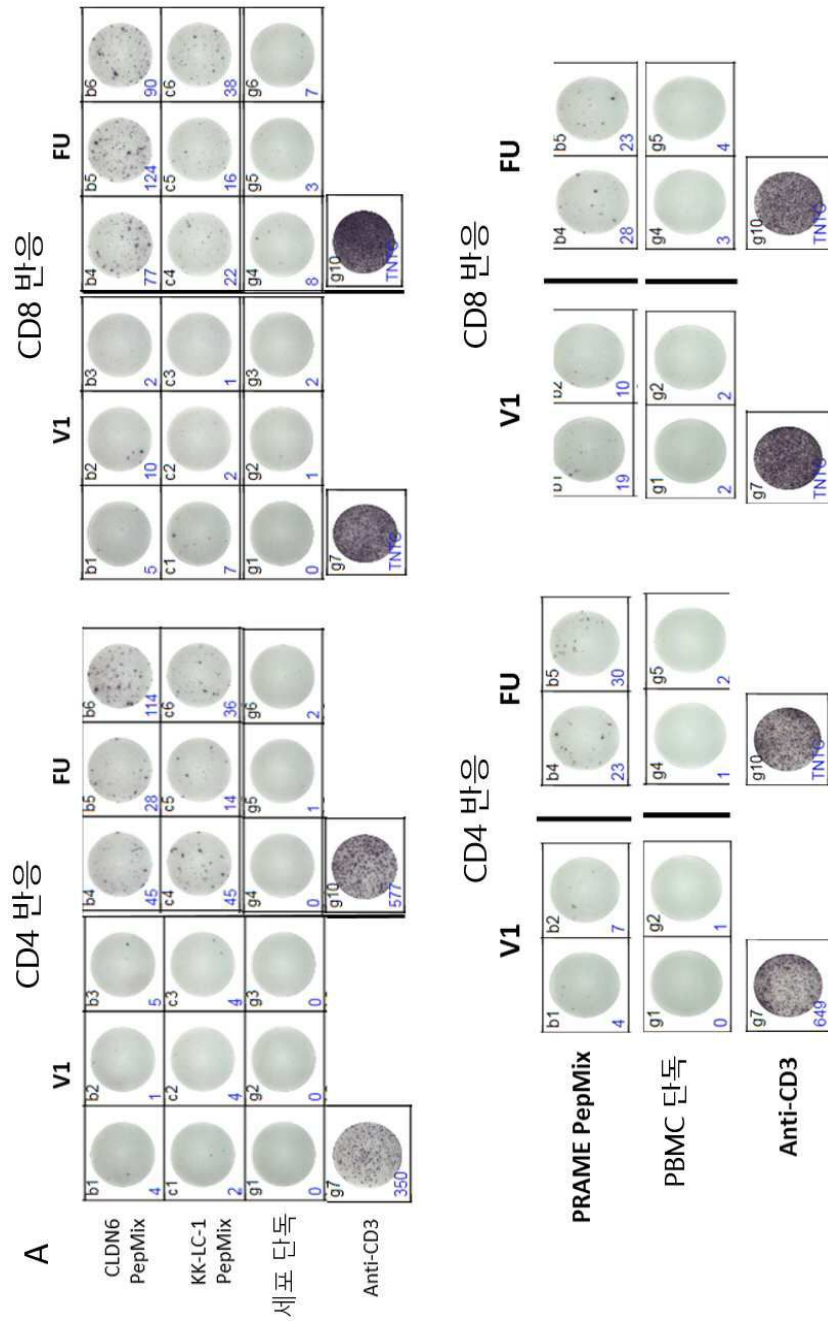
도면6



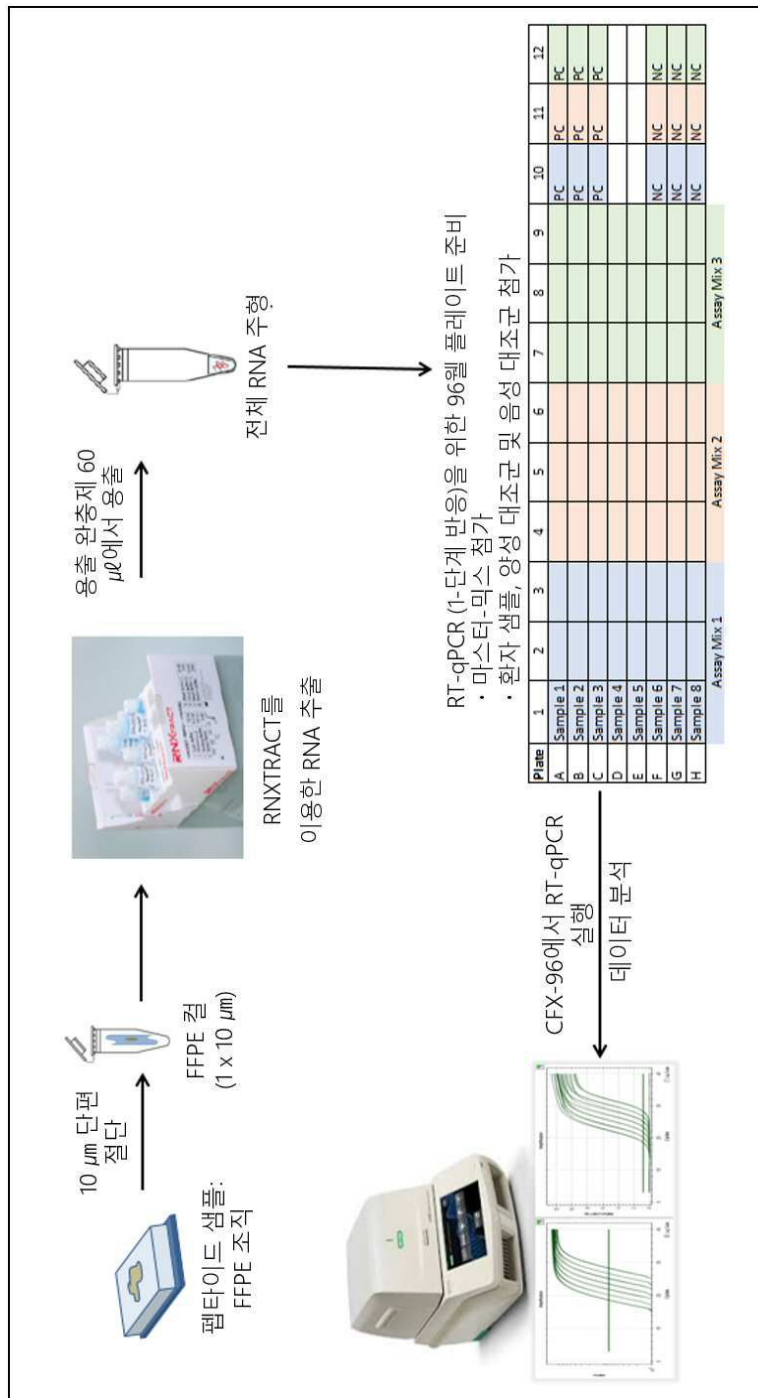
도면7



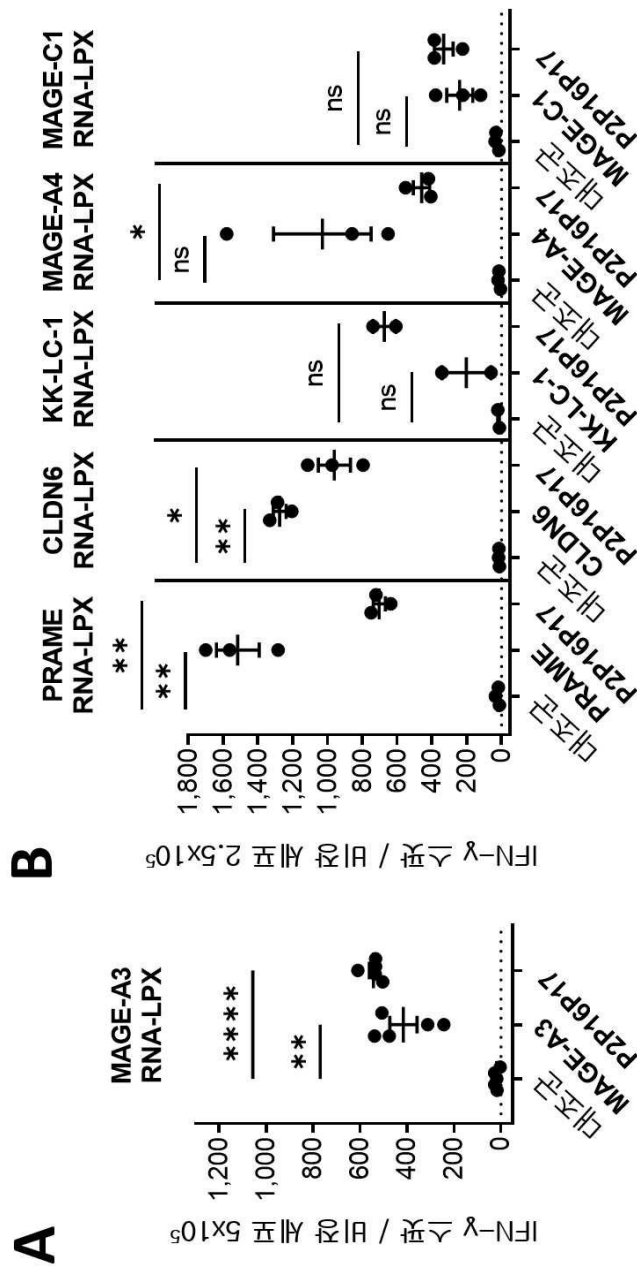
도면8



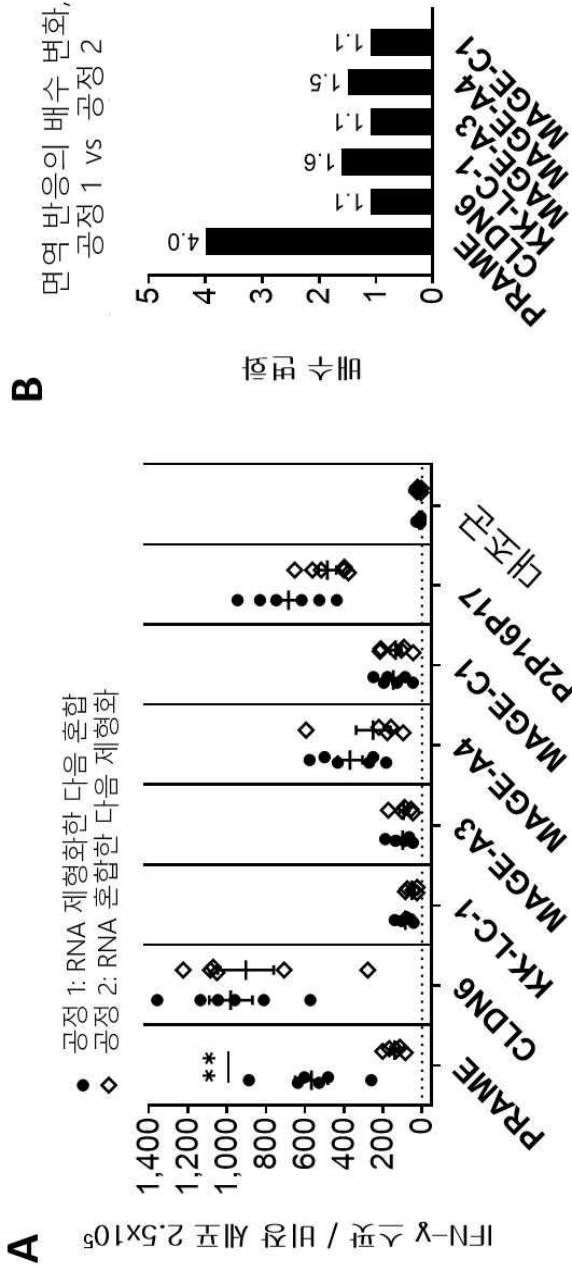
도면9



도면10



도면11



## 서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.