



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113939310 A

(43) 申请公布日 2022.01.14

(21) 申请号 202080040129.9

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(22) 申请日 2020.03.30

代理人 武晶晶

(30) 优先权数据

62/827,018 2019.03.30 US

(51) Int.Cl.

A61K 39/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C07K 14/705 (2006.01)

2021.11.29

G12N 5/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/025796 2020.03.30

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/205778 EN 2020.10.08

(71) 申请人 百欧恩泰美国公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 罗伯特·安格 维克拉姆·朱内贾

理查德·盖诺

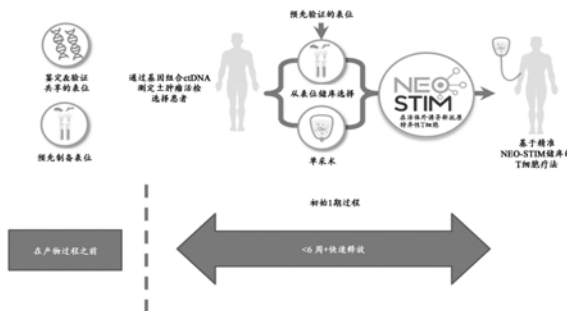
权利要求书6页 说明书198页 附图51页

(54) 发明名称

用于制备T细胞组合物的组合物和方法及其用途

(57) 摘要

本文中提供了用于制备T细胞组合物的组合物和方法以及其用途,包括通过施用由包含来自表位序列的文库的表位序列的肽诱导的T细胞而治疗有需要的受试者中的癌症的方法,其中所述文库中的每个表位序列:与由HLA等位基因编码的蛋白质匹配并且与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合,根据免疫原性测定是免疫原性的,根据质谱测定是由抗原呈递细胞呈递的,并且根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。



1. 一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法,包括:
 - (a) 从表位序列的文库中选择至少一个表位序列,其中所述文库中的每个表位序列与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质匹配;和
 - (b) 使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包括包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽的抗原呈递细胞(APC)接触,其中选择的所述至少一个表位序列中的每一个都满足以下标准中的至少两个或三个:
 - (i) 与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合,
 - (ii) 根据免疫原性测定是免疫原性的,
 - (iii) 根据质谱测定是由APC呈递的,以及
 - (iv) 根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。
2. 如权利要求1所述的方法,其中
 - (a) 选择的所述至少一个表位序列包含突变,并且所述方法包括鉴定所述受试者的编码具有所述突变的所述表位的癌细胞;
 - (b) 选择的所述至少一个表位序列在由所述受试者的癌细胞过度表达的蛋白质内,并且所述方法包括鉴定所述受试者的过度表达包含所述表位的所述蛋白质的癌细胞;或者
 - (c) 所述至少一个表位序列包含由处于肿瘤微环境中的细胞表达的蛋白质。
3. 如权利要求1或2所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括不是由所述受试者的癌细胞表达的表位。
4. 如权利要求3所述的方法,其中不是由所述受试者的癌细胞表达的所述表位是由所述受试者的处于肿瘤微环境中的细胞表达。
5. 如权利要求1-4中的任一项所述的方法,其中与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位以根据结合测定的500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。
6. 如权利要求1-4中的任一项所述的方法,其中与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位通过利用在计算机上实施的MHC表位预测程序被预测为以500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。
7. 如权利要求1-6中的任一项所述的方法,其中根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于15Da、10Da或5Da,或者小于10,000或5,000百万分率(ppm)。
8. 如权利要求1-7中的任一项所述的方法,其中根据免疫原性测定是免疫原性的所述表位根据多聚体测定或功能测定是免疫原性的。
9. 如权利要求8所述的方法,其中所述多聚体测定包括流式细胞术分析。
10. 如权利要求8或9所述的方法,其中所述多聚体测定包括检测与包含选择的所述至少一个表位序列和匹配的所述HLA等位基因的肽-MHC多聚体结合的T细胞,其中所述T细胞已经被包括肽的APC刺激,所述肽包含选择的所述至少一个表位序列。
11. 如权利要求10所述的方法,其中根据所述多聚体测定,当(i) 检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺细胞的至少0.1%或0.01%或0.005%时,以及(iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,

所述表位是免疫原性的。

12. 如权利要求11所述的方法,其中根据所述多聚体测定,当在来自相同起始样品的六次刺激中的至少一次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时,所述表位是免疫原性的。

13. 如权利要求11或12所述的方法,其中所述对照样品包含已经被APC刺激的T细胞,所述APC (i) 不包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽, (ii) 包括衍生于与选择的所述至少一个表位序列不同的蛋白质的肽,或 (iii) 包括具有随机序列的肽。

14. 如权利要求10-13中的任一项所述的方法,其中所述T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多天。

15. 如权利要求10-14中的任一项所述的方法,其中在包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC存在下,抗原特异性T细胞已经被扩充至少5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、500倍或1,000倍或更多倍。

16. 如权利要求8所述的方法,其中所述功能测定包括免疫测定。

17. 如权利要求8或16所述的方法,其中所述功能测定包括检测具有IFN γ 或TNF α 的细胞内染色或CD107a和/或CD107b的细胞表面表达的T细胞,其中所述T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激。

18. 如权利要求17所述的方法,其中根据所述功能测定,当 (i) 检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时, (ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.1%或0.01%或0.005%时,以及 (iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,所述表位是免疫原性的。

19. 如权利要求1-18中的任一项所述的方法,其中根据所述细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的所述T细胞是已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激并且杀死呈递所述表位的细胞的T细胞。

20. 如权利要求19所述的方法,其中由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量为由所述T细胞杀死的不呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高。

21. 如权利要求19所述的方法,其中由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量为由已经被如下APC刺激的T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高:所述APC (i) 不包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽, (ii) 包括衍生于与选择的所述至少一个表位序列不同的蛋白质的肽,或 (iii) 包括具有随机序列的肽。

22. 如权利要求19所述的方法,其中由所述T细胞杀死的呈递突变表位的细胞数量是由所述T细胞杀死的呈递对应野生型表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高。

23. 如权利要求1-22中的任一项所述的方法,其中根据所述细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的T细胞是根据所述细胞毒性测定被刺激为特异性细胞毒性的T细胞。

24. 如权利要求1-23中的任一项所述的方法,其中所述方法包括利用循环肿瘤DNA测定

或基因组合来选择所述受试者。

25. 如权利要求1-24中的任一项所述的方法,其中所述T细胞来自所述受试者的生物样品。

26. 如权利要求25所述的方法,其中所述T细胞来自所述受试者的外周血单核细胞(PBMC)样品或者所述受试者的白细胞去除术样品。

27. 如权利要求1-24中的任一项所述的方法,其中所述T细胞是同种异体T细胞。

28. 如权利要求1-27中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的每一个都满足以下标准中的每一个标准:

(i) 与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合,

(ii) 根据免疫原性测定是免疫原性的,

(iii) 根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的,以及

(iv) 根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

29. 如权利要求1-28中的任一项所述的方法,其中所述一种或多种肽中的至少一种是合成肽或从核酸序列表达的肽。

30. 如权利要求1-29中的任一项所述的方法,其中所述方法包括鉴定由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质,或鉴定所述受试者的基因组中的HLA等位基因。

31. 如权利要求1-30中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列是从表1A-1F、表2A-2C、表3、表4A-4M、表5、表6、表7、表8、表11、表12、表13和表14的一个或多个表位序列进行选择。

32. 如权利要求1-31中的任一项所述的方法,其中所述方法包括在体外或在活体外将与所述一种或多种肽接触的所述T细胞扩充以获得对与MHC蛋白质络合的选择的所述至少一个表位序列特异性的T细胞群。

33. 如权利要求1-32中的任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括将所述T细胞群施用于所述受试者。

34. 如权利要求1-33中的任一项所述的方法,其中包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质由所述受试者的癌细胞表达。

35. 如权利要求1-34中的任一项所述的方法,其中包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质由所述受试者的处于所述肿瘤微环境中的细胞表达。

36. 如权利要求1-34中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括突变。

37. 如权利要求1-36中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自所述受试者的癌细胞过度表达的蛋白质、来自组织特异性蛋白质、来自癌性睾丸蛋白质、包括驱动突变、包括抗药性突变、包括肿瘤特异性突变、是病毒表位、是次要组织相容性表位、来自RAS蛋白质、来自GATA3蛋白质、来自EGFR蛋白质、来自BTK蛋白质、来自p53蛋白质、来自TMPRSS2::ERG融合多肽,或来自Myc蛋白质。

38. 如权利要求1-37中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的至少一个来自自由选自以下的基因编码的蛋白质:ANKRD30A、COL10A1、CTCF、PPIAL4G、POTEE、DLL3、MMP13、SSX1、DCAF4L2、MAGEA4、MAGEA11、MAGEC2、MAGEA12、PRAME、CLDN6、EPYC、KLK3、KLK2、KLK4、TGM4、POTEG、RLN1、POTEH、SLC45A2、TSPAN10、PAGE5、CSAG1、PRDM7、TG、

TSHR、RSPH6A、SCXB、HIST1H4K、ALPPL2、PRM2、PRM1、TNP1、LELP1、HMGB4、AKAP4、CETN1、UBQLN3、ACTL7A、ACTL9、ACTRT2、PGK2、C2orf53、KIF2B、ADAD1、SPATA8、CCDC70、TPD52L3、ACTL7B、DMRTB1、SYCN、CELA2A、CELA2B、PNLIPRP1、CTRC、AMY2A、SERPINI2、RBPJL、AQP12A、IAPP、KIRREL2、G6PC2、AQP12B、CYP11B1、CYP11B2、STAR、CYP11A1和MC2R。

39. 如权利要求1-38中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的至少一个来自组织特异性蛋白质,所述组织特异性蛋白质在所述受试者的靶组织中的表达水平是所述组织特异性蛋白质在不同于所述靶组织的多个非靶组织中的每个组织中的表达水平的至少2倍高。

40. 如权利要求1-39中的任一项所述的方法,其中使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽接触包括使所述T细胞与呈递所述表位的APC接触。

41. 如权利要求40所述的方法,其中呈递所述表位的所述APC包括包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽,或者编码包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽的聚核酸。

42. 如权利要求1-41中的任一项所述的方法,其中所述方法包括从包含抗原呈递细胞(APC)和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14+细胞和CD25+细胞,从而形成包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群。

43. 如权利要求42所述的方法,其中所述免疫细胞群来自所述受试者的生物样品。

44. 如权利要求42或43所述的方法,其中所述方法进一步包括 (b) 将包含第一APC群和T细胞的所述CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在

(i) FMS-样酪氨酸激酶3受体配体 (FLT3L) 和

(ii) (A) 包含选择的所述至少一个表位序列的多肽或 (B) 编码所述多肽的多核苷酸存在下温育第一时间段;从而形成包含受刺激的T细胞的细胞群。

45. 如权利要求44所述的方法,其中所述方法进一步包括 (c) 将所述包含受刺激的T细胞的细胞群扩充,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,其中所述肿瘤抗原特异性T细胞包含对复合物特异性的T细胞,所述复合物包含 (i) 选择的所述至少一个表位序列和 (ii) 由所述受试者的癌细胞或APC表达的MHC蛋白质。

46. 如权利要求45所述的方法,其中步骤 (b) 和 (c) 在少于28天中进行。

47. 如权利要求42-46中的任一项所述的方法,其中在包含肿瘤抗原特异性T细胞的所述扩充的细胞群中CD8+肿瘤抗原特异性T细胞占CD8+T细胞的总数量的分数为在所述生物样品中CD8+肿瘤抗原特异性T细胞占CD8+T细胞的总数量的分数的至少两倍高。

48. 如权利要求42-47中的任一项所述的方法,其中在包含肿瘤抗原特异性T细胞的所述扩充的细胞群中CD4+肿瘤抗原特异性T细胞占CD4+T细胞的总数量的分数为在所述生物样品中CD4+肿瘤抗原特异性T细胞占CD4+T细胞的总数量的分数的至少两倍高。

49. 如权利要求42-48中的任一项所述的方法,其中在包含肿瘤抗原特异性T细胞的所述扩充的细胞群中至少0.1%的所述CD8+T细胞是源于初始CD8+T细胞的CD8+肿瘤抗原特异性T细胞。

50. 如权利要求42-49中的任一项所述的方法,其中在包含肿瘤抗原特异性T细胞的所述扩充的细胞群中至少0.1%的所述CD4+T细胞是源于初始CD4+T细胞的CD4+肿瘤抗原特异

性T细胞。

51. 如权利要求42-50中的任一项所述的方法,其中扩充包括:

(A) 使所述包含受刺激的T细胞的细胞群与第二成熟APC群接触,其中所述第二成熟APC群

(i) 已经与FLT3L一起温育并且

(ii) 呈递选择的所述至少一个表位序列;以及

(B) 将所述包含受刺激的T细胞的细胞群扩充第二时间段,从而形成扩充的T细胞群。

52. 如权利要求51所述的方法,其中在使所述包含受刺激的T细胞的细胞群与所述第二成熟APC群接触之前,所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。

53. 如权利要求51所述的方法,其中扩充进一步包括(C) 使所述扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触,其中所述第三成熟APC群(i) 已经与FLT3L一起温育并且(ii) 呈递选择的所述至少一个表位序列;以及(D) 将所述扩充的T细胞群扩充第三时间段,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群。

54. 如权利要求53所述的方法,其中在使所述扩充的T细胞群与所述第三成熟APC群接触之前,所述第三成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。

55. 如权利要求42-54中的任一项所述的方法,其中所述生物样品是外周血样品、白细胞去除术样品或单采术样品。

56. 如权利要求42-55中的任一项所述的方法,进一步包收获所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,冷冻保存所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,或制备包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物。

57. 如权利要求42-56中的任一项所述的方法,其中温育包括将所述包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FLT3L和编码所述多肽的RNA存在下温育第一时间段。

58. 如权利要求42-57中的任一项所述的方法,进一步包括将包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物施用于患有癌症的人类受试者。

59. 如权利要求58所述的方法,其中所述患有癌症的人类受试者是从其获得所述生物样品的人类受试者。

60. 如权利要求42-59中的任一项所述的方法,其中所述多肽是8至50个氨基酸长度。

61. 如权利要求42-60中的任一项所述的方法,其中所述多肽包含选择的所述表位序列中的至少两个,每个都由患有癌症的人类受试者的癌细胞表达。

62. 如权利要求42-61中的任一项所述的方法,其中耗尽进一步包括从所述包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD19+细胞。

63. 如权利要求42-62中的任一项所述的方法,其中耗尽进一步包括从所述包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD11b+细胞。

64. 如权利要求1-63中的任一项所述的方法,其中所述方法包括从获自受试者的包含癌细胞的第一生物样品产生癌细胞核酸,以及从获自相同受试者的包含非癌细胞的第二生物样品产生非癌细胞核酸。

65. 如权利要求1-64中的任一项所述的方法,其中由所述受试者的HLA等位基因编码的所述蛋白质是由选自以下的HLA等位基因编码的蛋白质:HLA-A01:01、HLA-A02:01、HLA-

A03:01、HLA-A11:01、HLA-A24:01、HLA-A30:01、HLA-A31:01、HLA-A32:01、HLA-A33:01、HLA-A68:01、HLA-B07:02、HLA-B08:01、HLA-B15:01、HLA-B44:03、HLA-C07:01和HLA-C07:02。

66. 如权利要求1-65中的任一项所述的方法,其中所述方法包括鉴定包含选择的所述至少一个表位序列并且由所述受试者的癌细胞表达的一种或两种或更多种不同的蛋白质。

67. 如权利要求1-66中的任一项所述的方法,其中所述方法包括通过测量在所述癌细胞中编码一种或两种或更多种不同的蛋白质的RNA水平而鉴定包含选择的所述至少一个表位序列并且由所述受试者的癌细胞表达的所述一种或两种或更多种不同的蛋白质。

68. 如权利要求1-67中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个具有8至12个氨基酸的长度。

69. 如权利要求1-68中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个具有13-25个氨基酸的长度。

70. 如权利要求1-69中的任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括在施用于所述受试者之前从扩充的T细胞群中选择一个或多个细胞亚群。

71. 如权利要求1-70中的任一项所述的方法,其中在所述T细胞培养物中诱发免疫应答包括在与所述肽接触时从所述T细胞培养物中诱导细胞因子或IL2产生,其中所述细胞因子是干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF) α (α)和/或 β (β)或其组合。

72. 如权利要求1-71中的任一项所述的方法,其中所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对负载有选择的所述至少一个表位序列的细胞或表达包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质的癌细胞是细胞毒性的。

73. 如权利要求1-72中的任一项所述的方法,其中所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对表达包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质的癌症相关细胞是细胞毒性的。

74. 如权利要求1-73中的任一项所述的方法,其中选择的所述至少一个表位由癌细胞表达,并且选择的附加表位由癌症相关细胞表达。

75. 如权利要求74所述的方法,其中选择的所述附加表位在癌症相关成纤维细胞上表达。

76. 如权利要求75所述的方法,其中选择的所述附加表位从表8中选择。

用于制备T细胞组合物的组合物和方法及其用途

交叉引用

[0001] 本申请要求2019年3月30日提交的美国临时申请号62/827,018的权益,该美国临时申请通过引用以其整体并入本文中。

背景技术

[0002] 采用淋巴细胞的过继免疫疗法或过继细胞疗法 (ACT) 是将基因修饰的T淋巴细胞转移至受试者以治疗疾病。过继免疫疗法还有待实现其治疗众多疾病的潜力,包括癌症、感染性疾病、自身免疫性疾病、炎症疾病和免疫缺陷。然而,大多数(如果不是全部)过继免疫疗法都需要T细胞活化和扩充步骤来产生临床有效的治疗剂量的T细胞。获得患者细胞以及在活体外活化、扩充和回收有效数量的用于ACT的细胞的现有策略是持久繁琐且固有复杂的过程,并且造成严重的挑战。因此,仍然需要开发用于在较短时间段内扩充和诱导具有有利表型和功能的抗原特异性T细胞的组合物和方法。

发明内容

[0003] 本文中提供了一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法,所述方法包括:从表位序列的文库中选择至少一个表位序列,其中所述文库中的每个表位序列与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质匹配;以及使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽接触,其中选择的所述至少一个表位序列中的每一个都被预先验证为满足以下标准中的至少三个:与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞 (APC) 呈递的、以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

[0004] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列包含突变,并且所述方法包括鉴定所述受试者的编码具有所述突变的表位的癌细胞;选择的所述至少一个表位序列在由所述受试者的癌细胞过度表达的蛋白质内,并且所述方法包括鉴定所述受试者的过度表达包含所述表位的蛋白质的癌细胞;或者所述至少一个表位序列包含由处于肿瘤微环境中的细胞表达的蛋白质。

[0005] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括不是由所述受试者的癌细胞表达的表位。

[0006] 在一些实施方案中,不是由所述受试者的癌细胞表达的所述表位是由所述受试者的处于肿瘤微环境中的细胞表达。

[0007] 在一些实施方案中,与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位以根据结合测定的500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。

[0008] 在一些实施方案中,与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位通过利用在计算机上实施的MHC表位预测程序被预测为以500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。

[0009] 在一些实施方案中,在计算机上实施的所述MHC表位预测程序是NetMHCpan。在一

些实施方案中,在计算机上实施的所述MHC表位预测程序是4.0版NetMHCpan。

[0010] 在一些实施方案中,根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于15Da、10Da或5Da,或者小于10,000或5,000百万分率(ppm)。

[0011] 在一些实施方案中,根据免疫原性测定是免疫原性的表位根据多聚体测定或功能测定是免疫原性的。

[0012] 在一些实施方案中,所述多聚体测定包括流式细胞术分析。

[0013] 在一些实施方案中,所述多聚体测定包括检测与包含选择的所述至少一个表位序列和匹配的所述HLA等位基因的肽-MHC多聚体结合的T细胞,其中所述T细胞已经被包括肽的APC刺激,所述肽包含选择的所述至少一个表位序列。

[0014] 在一些实施方案中,根据所述多聚体测定,当(i)检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺细胞的至少0.1%或0.01%或0.005%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,所述表位是免疫原性的。

[0015] 在一些实施方案中,根据所述多聚体测定,当在来自相同起始样品的六次刺激中的至少一次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时,所述表位是免疫原性的。

[0016] 在一些实施方案中,所述对照样品包含已经被如下APC刺激的T细胞:所述APC(i)不包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽,(ii)包括衍生于与选择的所述至少一个表位序列不同的蛋白质的肽,或(iii)包括具有随机序列的肽。

[0017] 在一些实施方案中,所述T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多天。

[0018] 在一些实施方案中,在包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC存在下,抗原特异性T细胞已经被扩充至少5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、500倍或1,000倍或更多倍。

[0019] 在一些实施方案中,所述功能测定包括免疫测定。

[0020] 在一些实施方案中,所述功能测定包括检测具有IFN γ 或TNF α 的细胞内染色或CD107a和/或CD107b的细胞表面表达的T细胞,其中所述T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激。

[0021] 在一些实施方案中,根据所述功能测定,当(i)检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.1%或0.01%或0.005%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,所述表位是免疫原性的。

[0022] 在一些实施方案中,根据所述细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的T细胞是已经被包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽的APC刺激并且杀死呈递所述表位的细胞的T细胞。

[0023] 在一些实施方案中,由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量为由所述T细胞杀死的不呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、

100、500或1,000倍高。

[0024] 在一些实施方案中,由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量为由已经被如下APC刺激的T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高:所述APC (i) 不包括包含选择的所述至少一个表位序列的肽, (ii) 包括衍生于与选择的所述至少一个表位序列不同的蛋白质的肽,或 (iii) 包括具有随机序列的肽。

[0025] 在一些实施方案中,由所述T细胞杀死的呈递突变表位的细胞数量为由所述T细胞杀死的呈递对应野生型表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高。

[0026] 在一些实施方案中,根据所述细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的T细胞是根据所述细胞毒性测定被刺激为特异性细胞毒性的T细胞。

[0027] 在一些实施方案中,所述方法包括利用循环肿瘤DNA测定来选择所述受试者。

[0028] 在一些实施方案中,所述方法包括利用基因组合来选择所述受试者。

[0029] 在一些实施方案中,所述T细胞来自所述受试者的生物样品。

[0030] 在一些实施方案中,所述T细胞来自所述受试者的单采术或白细胞去除术样品。

[0031] 在一些实施方案中,所述T细胞是同种异体T细胞。

[0032] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的每一个都被预先验证为满足以下标准中的每一标准:与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞 (APC) 呈递的、以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

[0033] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽中的至少一种是合成肽或从核酸序列表达的肽。

[0034] 在一些实施方案中,所述方法包括鉴定由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质,或鉴定所述受试者的基因组中的HLA等位基因。

[0035] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列是从表1A-1F、表2A-2C、表3、表4A-4M、表5、表6、表7、表8、表11、表12、表13和表14的一个或多个表位序列进行选择。

[0036] 在一些实施方案中,所述方法包括在体外或在活体外将与所述一种或多种肽接触的T细胞扩充以获得对与MHC蛋白质络合的选择的所述至少一个表位序列特异性的T细胞群。

[0037] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括将所述T细胞群施用于所述受试者。

[0038] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质由所述受试者的癌细胞表达。

[0039] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质由所述受试者的处于所述肿瘤微环境中的细胞表达。

[0040] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括突变。

[0041] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括肿瘤特异性突变。

[0042] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自所述受试者的癌细胞过度表达的蛋白质。

- [0043] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括驱动突变。
- [0044] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括抗药性突变。
- [0045] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自组织特异性蛋白质。
- [0046] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自癌性睾丸蛋白质。
- [0047] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个是病毒表位。
- [0048] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个是次要组织相容性表位。
- [0049] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自RAS蛋白质。
- [0050] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自GATA3蛋白质。
- [0051] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自EGFR蛋白质。
- [0052] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自BTK蛋白质。
- [0053] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自p53蛋白质。
- [0054] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自TMPRSS2::ERG融合多肽。
- [0055] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个来自Myc蛋白质。
- [0056] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的至少一个来自自由选自以下的基因编码的蛋白质:ANKRD30A、COL10A1、CTCF、PPIAL4G、POTEE、DLL3、MMP13、SSX1、DCAF4L2、MAGEA4、MAGEA11、MAGEC2、MAGEA12、PRAME、CLDN6、EPYC、KLK3、KLK2、KLK4、TGM4、POTEG、RLN1、POTEH、SLC45A2、TSPAN10、PAGE5、CSAG1、PRDM7、TG、TSHR、RSPH6A、SCXB、HIST1H4K、ALPPL2、PRM2、PRM1、TNP1、LELP1、HMGB4、AKAP4、CETN1、UBQLN3、ACTL7A、ACTL9、ACTRT2、PGK2、C2orf53、KIF2B、ADAD1、SPATA8、CCDC70、TPD52L3、ACTL7B、DMRTB1、SYCN、CELA2A、CELA2B、PNLIPRP1、CTRC、AMY2A、SERPINI2、RBPJL、AQP12A、IAPP、KIRREL2、G6PC2、AQP12B、CYP11B1、CYP11B2、STAR、CYP11A1和MC2R。
- [0057] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的至少一个来自组织特异性蛋白质,所述组织特异性蛋白质在所述受试者的靶组织中的表达水平为所述组织特异性蛋白质在不同于所述靶组织的多个非靶组织中的每个组织中的表达水平的至少2倍高。
- [0058] 在一些实施方案中,使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽接触包括使所述T细胞与呈递所述表位的APC接触。
- [0059] 在一些实施方案中,呈递所述表位的APC包括包含选择的所述至少一个表位序列

的一种或多种肽,或者编码包含选择的所述至少一个表位序列的一种或多种肽的聚核酸。

[0060] 在一些实施方案中,所述方法包括从包含抗原呈递细胞(APC)和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14⁺细胞和CD25⁺细胞,从而形成包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群。

[0061] 在一些实施方案中,所述免疫细胞群来自所述受试者的生物样品。

[0062] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括(b)将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FMS-样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)和(A)包含选择的所述至少一个表位序列的多肽或(B)编码所述多肽的多核苷酸存在下温育第一时间段;从而形成包含受刺激的T细胞的细胞群。

[0063] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括(c)将所述包含受刺激的T细胞的细胞群扩充,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,其中所述肿瘤抗原特异性T细胞包含对包含(i)选择的所述至少一个表位序列和(ii)由所述受试者的癌细胞或APC表达的MHC蛋白质的复合物特异性的T细胞。

[0064] 在一些实施方案中,所述T细胞在少于28天中进行扩充。

[0065] 在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中CD8⁺肿瘤抗原特异性T细胞占CD8⁺T细胞的总数量的分数为在所述生物样品中CD8⁺肿瘤抗原特异性T细胞占CD8⁺T细胞的总数量的分数的至少两倍高。

[0066] 在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中CD4⁺肿瘤抗原特异性T细胞占CD4⁺T细胞的总数量的分数为在所述生物样品中CD4⁺肿瘤抗原特异性T细胞占CD4⁺T细胞的总数量的分数的至少两倍高。

[0067] 在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中至少0.1%的所述CD8⁺T细胞是源于初始CD8⁺T细胞的CD8⁺肿瘤抗原特异性T细胞。

[0068] 在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中至少0.1%的所述CD4⁺T细胞是源于初始CD4⁺T细胞的CD4⁺肿瘤抗原特异性T细胞。

[0069] 在一些实施方案中,扩充包括使包含受刺激的T细胞的细胞群与第二成熟APC群接触,其中所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育并且呈递选择的所述至少一个表位序列;以及将包含受刺激的T细胞的细胞群扩充第二时间段,从而形成扩充的T细胞群。

[0070] 在一些实施方案中,在使包含受刺激的T细胞的细胞群与所述第二成熟APC群接触之前,所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。

[0071] 在一些实施方案中,扩充进一步包括(C)使所述扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触,其中所述第三成熟APC群(i)已经与FLT3L一起温育并且(ii)呈递选择的所述至少一个表位序列;以及(D)将所述扩充的T细胞群扩充第三时间段,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群。

[0072] 在一些实施方案中,在使所述扩充的T细胞群与所述第三成熟APC群接触之前,所述第三成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。

[0073] 在一些实施方案中,所述生物样品是外周血样品、白细胞去除术样品或单采术样品。

[0074] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括收获包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,冷冻保存所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,或制备包含所述包含

肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物。

[0075] 在一些实施方案中,温育包括将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FLT3L和编码所述多肽的RNA存在下温育第一时间段。

[0076] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物施用于患有癌症的人类受试者。

[0077] 在一些实施方案中,所述患有癌症的人类受试者是从其获得所述生物样品的人类受试者。

[0078] 在一些实施方案中,所述多肽是8至50个氨基酸长度。

[0079] 在一些实施方案中,所述多肽包含选择的所述表位序列中的至少两个,每个都由患有癌症的人类受试者的癌细胞表达。

[0080] 在一些实施方案中,从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14+细胞和CD25+细胞包括使所述包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群与CD14结合剂和CD25结合剂接触。

[0081] 在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD19+细胞。

[0082] 在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD11b+细胞。

[0083] 在一些实施方案中,所述方法包括从受试者的包含癌细胞的第二生物样品产生癌细胞核酸,以及从获自相同受试者的包含非癌细胞的第二生物样品产生非癌细胞核酸。

[0084] 在一些实施方案中,由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质是由选自以下的HLA等位基因编码的蛋白质:HLA-A01:01、HLA-A02:01、HLA-A03:01、HLA-A11:01、HLA-A24:01、HLA-A30:01、HLA-A31:01、HLA-A32:01、HLA-A33:01、HLA-A68:01、HLA-B07:02、HLA-B08:01、HLA-B15:01、HLA-B44:03、HLA-C07:01和HLA-C07:02。

[0085] 在一些实施方案中,所述方法包括鉴定包含选择的所述至少一个表位序列并且由所述受试者的癌细胞表达的一种或两种或更多种不同的蛋白质。

[0086] 在一些实施方案中,所述方法包括通过测量在癌细胞中编码一种或两种或更多种不同的蛋白质的RNA水平而鉴定包含选择的所述至少一个表位序列并且由所述受试者的癌细胞表达的一种或两种或更多种不同的蛋白质。

[0087] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个具有8至12个氨基酸的长度。

[0088] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个具有13-25个氨基酸的长度。

[0089] 在一些实施方案中,所述方法包括从所述受试者的癌细胞和非癌细胞分离基因组DNA或RNA。

[0090] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括点突变或由点突变编码的序列。

[0091] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括由neoORF突变编码的序列。

[0092] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括由基因融

合突变编码的序列。

[0093] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的一个或多个包括由得失位突变编码的序列。

[0094] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括由剪接位点突变编码的序列。

[0095] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的至少两个来自相同的蛋白质。

[0096] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的至少两个包括重叠序列。

[0097] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位序列中的至少两个来自不同的蛋白质。

[0098] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽包括至少2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多种肽。

[0099] 在一些实施方案中,所述受试者的癌细胞是实体癌的癌细胞。

[0100] 在一些实施方案中,所述受试者的癌细胞是白血病或淋巴瘤的癌细胞。

[0101] 在一些实施方案中,所述突变是在多个癌症患者中发生的突变。

[0102] 在一些实施方案中,所述MHC是I类MHC。

[0103] 在一些实施方案中,所述MHC是II类MHC。

[0104] 在一些实施方案中,所述T细胞是CD8 T细胞。

[0105] 在一些实施方案中,所述T细胞是CD4 T细胞。

[0106] 在一些实施方案中,所述T细胞是细胞毒性T细胞。

[0107] 在一些实施方案中,所述T细胞是记忆T细胞。

[0108] 在一些实施方案中,所述T细胞是初始T细胞。

[0109] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在施用于所述受试者之前从扩充的T细胞群中选择一个或多个细胞亚群。

[0110] 在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱发免疫应答包括在与所述肽接触时从所述T细胞培养物中诱导IL2产生。

[0111] 在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱发免疫应答包括在与所述肽接触时从所述T细胞培养物中诱导细胞因子产生,其中所述细胞因子是干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF) α (α) 和/或 β (β) 或其组合。

[0112] 在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱发免疫应答包括诱导所述T细胞培养物以杀死表达所述肽的细胞。

[0113] 在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱发免疫应答包括检测在所述T细胞培养物中的Fas配体、颗粒酶、穿孔素、IFN、TNF或其组合的表达。

[0114] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的所述一种或多种肽被纯化。

[0115] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的所述一种或多种肽被冻干。

[0116] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的所述一种或多种肽处于溶液中。

[0117] 在一些实施方案中,包含选择的所述至少一个表位序列的所述一种或多种肽存在于储藏条件中,以至所述肽的完整性 $\geq 99\%$ 。

[0118] 在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对负载有选择的所述至少一个表位序列的细胞是细胞毒性的。

[0119] 在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对表达包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质的癌细胞是细胞毒性的。

[0120] 在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对表达包含选择的所述至少一个表位序列的蛋白质的癌症相关细胞是细胞毒性的。

[0121] 在一些实施方案中,选择的所述至少一个表位由癌细胞表达,并且选择的附加表位由癌症相关细胞表达。

[0122] 在一些实施方案中,选择的所述附加表位在癌症相关成纤维细胞上表达。

[0123] 在一些实施方案中,选择的所述附加表位从表8中进行选择。

[0124] 本文中还提供了药物组合物,所述药物组合物包含通过本文中提供的方法产生的T细胞。

[0125] 本文中还提供了多肽文库,所述多肽文库包括表位序列或编码所述多肽的多核苷酸,其中所述文库中的每个表位序列与由HLA等位基因编码的蛋白质匹配;并且其中所述文库中的每个表位序列被预先验证为满足以下标准中的至少三个:与由患有待治疗的癌症的受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的、和/或根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

[0126] 本文中还提供了治疗受试者中的癌症的方法,包括向所述受试者施用(i)包含G12R RAS表位的多肽或(ii)编码所述多肽的多核苷酸;其中:(a)所述G12R RAS表位是vvgaRgvgk并且所述受试者表达由HLA-A03:01等位基因编码的蛋白质;(b)所述G12R RAS表位是eyklvvvgaR并且所述受试者表达由HLA-A33:03等位基因编码的蛋白质;(c)所述G12R RAS表位是vvvgaRgvgk并且所述受试者表达由HLA-A11:01等位基因编码的蛋白质;或者(d)所述G12R RAS表位是aRgvgksa1并且所述受试者表达由选自HLA-C07:02、HLA-B39:01和HLA-C07:01中的HLA-等位基因编码的蛋白质。

附图说明

[0127] 图1A是本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法的示意图。

[0128] 图1B是本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法的示意图。

[0129] 图2是离线表征共享表位的示例性方法的示意图。

[0130] 图3A描绘了数据,其显示计算机上表位预测鉴定的源于根据质谱所示的RAS G12D突变的多个新抗原。

[0131] 图3B描绘了数据,其显示计算机上表位预测鉴定的源于根据质谱所示的RAS G12V突变的多个新抗原。

[0132] 图3C描绘了数据,其显示计算机上表位预测鉴定的源于根据质谱所示的RAS G12C突变的多个新抗原。

[0133] 图3D描绘了数据,其显示计算机上表位预测鉴定的源于根据质谱所示的RAS G12R突变的多个新抗原。

[0134] 图4A描绘了数据,其显示共享的新抗原表位的呈递可以直接通过质谱法来确认并且在限定的患者群中RAS新抗原是可靶向的。

[0135] 图4B显示内源处理的突变RAS肽表位VVVGAVGVGK(顶部)及其对应的重肽(底部)的MS/MS谱的完整图。用包含RAS^{G12V}突变肽的多肽和HLA-A*03:01基因二者对293T细胞进行慢病毒转导。

[0136] 图4C显示内源处理的突变RAS肽表位VVVGAVGVGK(顶部)及其对应的重肽(底部)的MS/MS谱的完整图。用编码HLA-A*03:01基因的慢病毒载体对天然表达RAS^{G12V}突变的SW620细胞进行转导。

[0137] 图4D显示内源处理的突变RAS肽表位VVVGAVGVGK(顶部)及其对应的重肽(底部)的MS/MS谱的完整图。天然表达RAS^{G12V}突变和HLA-A*03:01基因二者的NCI-H441细胞用于此实验。

[0138] 图4E显示内源处理的GATA3 neoORF肽表位SMLTGPPARV的MS/MS谱的完整图。内源性肽谱示于顶部子图中,而对应的轻合成肽谱图示于底部子图中。

[0139] 图5描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-A11:01和HLA-A03:01上的RAS G12新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0140] 图6描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-A11:01上的RAS G12V新抗原的从头CD8 T细胞应答。如饼形图中所示,描绘了在3个独立的健康供体中被诱导对抗HLA-A11:01上的RAS G12V新抗原的各个T细胞克隆物的频率。

[0141] 图7描绘了数据,其显示在活体外产生的RAS^{G12V}-活化的T细胞可以杀死靶细胞。表达GFP的A375靶细胞被负载2 μ M RAS^{G12V}抗原、野生型RAS抗原,或者没有肽作为对照GFP+细胞。RAS^{G12V}-特异性CD8 T细胞(效应细胞)与对照细胞或靶细胞以0.05:1比率一起进行温育。在效应细胞存在下,相比于呈递RAS^{野生型}抗原或不呈递抗原的对照细胞,靶细胞更易于被溶解和耗尽。在左图中示出按照无肽的靶细胞生长归一化的特定细胞的杀死的图。代表性图像示于右边。

[0142] 图8描绘了数据,其显示本文中提供的用HLA-11:01上的RAS G12V新抗原而非对应的野生型抗原预致敏、活化和扩充RAS G12V-特异性T细胞的示例性方法通过使用所示的效应细胞:靶细胞比率和增大肽浓度而将T细胞诱导成细胞毒性的。

[0143] 图9描绘了数据,其显示本文中提供的用一轮(1x刺激)或两轮(2x刺激)的FLT3L-处理的呈递具有RAS^{G12V}突变的表位的PBMC预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法将T细胞诱导成细胞毒性的,如在将这些T细胞与用编码HLA-A*11:01基因的慢病毒载体转导的SW620细胞(天然表达RAS^{G12V}突变)共同培养之后通过AnnexinV阳性细胞随着时间测量的。

[0144] 图10描绘了在将天然表达RAS^{G12V}突变和HLA-A*03:01基因二者的NCI-H441细胞与已经用包含具有RAS^{G12V}突变的表位的肽预致敏和活化和扩充的T细胞以所示的效应细胞:靶细胞比率共同培养之后,AnnexinV阳性细胞随着时间的图。

[0145] 图11A描绘了在用TCR转导的Jurkat细胞存在下温育之后IL-2浓度(pg/mL)相对于RAS-G12V野生型或突变肽负载的靶细胞(A375-A11:01)的图,所述TCR与结合至由HLA-A11:01等位基因编码的MHC的RAS-G12V表位结合。

[0146] 图11B描绘了在用TCR转导的PBMC与具有天然G12V和HLA-A11:01的5,000个SNGM细胞在效应细胞:靶细胞比率的范围内共同培养之后,AnnexinV阳性细胞随着时间的图。

[0147] 图11C描绘了在用TCR转导的Jurkat细胞存在下温育之后IL-2浓度(pg/mL)相对于RAS-G12V野生型或突变肽负载的靶细胞(A375-A03:01)的图,所述TCR与结合至由HLA-A03:01等位基因编码的MHC的RAS-G12V结合。

[0148] 图11D描绘了在用TCR转导的PBMC与具有天然G12V和HLA-A03:01的细胞以0.75:1的效应细胞:靶细胞比率共同培养之后AnnexinV阳性细胞随着时间的图(顶部),以及在将TCR转导的PBMC与具有天然G12V和HLA-A03:01的细胞以0.75:1的效应细胞:靶细胞比率共同培养24小时之后IFN γ 浓度(pg/mL)的图。

[0149] 图12A描绘了在与用TCR转导的Jurkat细胞共同培养之后IL-2浓度(pg/mL)相对于与增高量的所示RAS-G12V突变肽接触的FLT3L处理的PBMC的图,所述TCR与结合至由HLA-A11:01等位基因编码的MHC的有下划线的RAS-G12V表位结合。

[0150] 图12B描绘了数据,其显示在体外使用来自健康供体的PBMC(顶部)和在体内使用以所述肽免疫的HLA-A11:01转基因小鼠(底部),来自图12A的所示RAS-G12V突变肽的免疫原性。

[0151] 图13描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-02:01上的RAS G12V新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0152] 图14描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-A68:01上的RAS G12新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0153] 图15描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-B07:02上的RAS G12新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0154] 图16描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-B08:01上的RAS G12新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0155] 图17描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-C08:02上的RAS G12D新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0156] 图18描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗RAS新抗原的从头CD4T细胞应答。

[0157] 图19A描绘了数据,其示出流式细胞术数据,表明可以在进一步扩充抗原特异性T细胞之前使用富集过程。通过利用磁性辅助的细胞分离(MACS;Miltenyi)而将上调4-1BB的细胞富集。被多聚体染色的T细胞在刺激的第14天通过MACS进行富集。此方法能够富集多个抗原特异性T细胞群。

[0158] 图19B描绘了量化图19A中的结果的示例性条形图。

[0159] 图20显示了实验的总结,表明预测的GATA3 neoORF表位具有强亲和力($<500\text{nM}$)、持久稳定性(>0.5 小时),并且/或者可以通过质谱分析从来自表达GATA3 neoORF的细胞的HLA分子洗脱的表位进行检测。

[0160] 图21描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞

的示例性方法诱导对抗HLA-A02:01、HLA-A03:01、HLA-A11:01、HLA-B07:02和HLA-B08:01上的GATA3neoORF新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0161] 图22描绘了数据,其表明在活体外产生的GATA3 neoORF表位活化的T细胞可以杀死靶细胞。表达GFP的293T靶细胞负载有2 μ M GATA3 neoORF抗原,或者未经负载作为对照GFP+细胞。GATA3-neoORF-特异性CD8 T细胞(效应细胞)与对照细胞或靶细胞以1:10比率一起温育。在效应细胞存在下,相比于不呈递GATA3新抗原的对照细胞,靶细胞更易于溶解和耗尽。GFP+细胞在100小时内的图示于顶部图中。示出了在GATA3新抗原活化的CD8细胞存在下对照(左下图像)和靶GFP+细胞(右下图像)的图像。

[0162] 图23描绘了在GATA3新抗原转导的HEK 293T细胞相对于未经转导的HEK 293T细胞中肝靶细胞的胱天蛋白酶-3阳性分数的比较的图。两种不同的GATA3诱导的健康供体PBMC与GATA3新抗原转导的HEK 293T细胞或未经转导的HEK 293T细胞(作为阴性对照组)共同培养。

[0163] 图24描绘了流式细胞术数据,其显示在培养20天(包括两次刺激)之后GATA3 neoORF特异性肽对抗原特异性CD4+T细胞的诱导。抗原特异性T细胞通过在与GATA3 neoORF肽(右)相对于无肽(左)一起温育之后IFN γ 和/或TNF α 的增大进行检测。

[0164] 图25A描绘了以下步骤的示意图:通过发现和验证存在于来自人类供体的前列腺癌细胞系或前列腺组织中的肽,以及产生经验证的肽以供组织的经验证的肽文库。

[0165] 图25B描述了数据,其显示在体外产生表位特异性CD8T细胞。在前列腺癌特异性蛋白质中通过利用T细胞表位预测软件对肽进行预测。

[0166] 图25C描绘了数据,其显示在活体外产生的KLK4表位活化的T细胞是免疫原性的并且杀死靶细胞。表达GFP的293T靶细胞被负载2 μ M KLK4抗原(LLANGRMPTV),或者未被负载作为对照GFP+细胞。KLK4特异性CD8 T细胞(效应细胞)与对照细胞或靶细胞以1:10比率一起温育。在效应细胞存在下,相比于不表达KLK4的对照细胞,靶细胞生长更易于控制。还示出了GFP+细胞在100小时内的图(底部)。示出了在KLK4活化的CD8细胞存在下对照(左下图像)和靶GFP+细胞(右下图像)的图像。

[0167] 图26描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-02:01上的BTK C481S新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0168] 图27描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对抗HLA-02:01上的EGFR T790M新抗原的从头CD8 T细胞应答。

[0169] 图28A描绘了本文中提供的应用T细胞疗法的示例性方法的示意图。

[0170] 图28B描绘了本文中提供的应用T细胞疗法的示例性方法的示意图。

[0171] 图29描绘了在计算机上T细胞表位预测的示例性方法的示意图。对于给定的n命中数和5,000个假目标,确定PPV,评级靠前的n个肽命中什么分数。

[0172] 图30描绘了利用在计算机上表位预测的MHC配体组(ligandome)的等位基因覆盖率的示意图。

[0173] 图31描绘了比较在计算机上T细胞表位预测模型的示意图。

[0174] 图32描绘了示意图,其显示通过利用在计算机上T细胞表位预测和本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法对免疫原性的肽进行鉴定和验证。

[0175] 图33描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞

的示例性方法可以诱导和扩充多个新抗原CD8+T细胞群。所示数据是来自黑素瘤患者样品的代表性数据。

[0176] 图34描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法在相同患者中产生三个CD4+群。所示数据是来自黑素瘤患者样品的代表性数据。

[0177] 图35描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法在全部黑素瘤患者样品中重复地显示T细胞诱导。

[0178] 图36描绘了来自黑素瘤患者样品的代表性数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导对突变表位高特异性的T细胞。

[0179] 图37描绘了来自黑素瘤患者样品的代表性数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法诱导高功能性T细胞。

[0180] 图38描绘了数据,其显示本文中提供的用于预致敏、活化和扩充抗原特异性T细胞的示例性方法将CD8+T细胞诱导成可以杀死肿瘤细胞。

具体实施方式

[0181] 虽然许多表位具有与MHC分子结合的可能性,但是当通过实验测试时少数能够与MHC分子结合。虽然许多表位还具有可由MHC分子(其可以例如通过质谱法进行检测)呈递的可能性,但是仅选择数量的这些表位可以被呈递并且通过质谱法进行检测。虽然许多表位还具有免疫原性的可能性,但是当通过实验测试时许多这些表位不是免疫原性的,尽管被证实由抗原呈递细胞呈递。许多表位还具有将T细胞活化而变成细胞毒性的可能性,但是已被证实由抗原呈递细胞呈递并且/或者是免疫原性的许多表位仍然不能将T细胞活化成细胞毒性。

[0182] 本文中提供了包含T细胞表位的抗原,所述抗原已经被鉴定并且验证为与一种或多种MHC分子结合、由一种或多种MHC分子呈递、是免疫原性的、并且能够将T细胞活化成细胞毒性的。经验证的抗原以及编码这些抗原的多核苷酸可以用于制备用于治疗用途的抗原特异性T细胞。在一些实施方案中,经验证的抗原以及编码这些抗原的多核苷酸可以被预先生产和储藏以用于生产用于治疗用途的T细胞的方法中。例如,经验证的抗原以及编码这些抗原的多核苷酸可以被快速地预先生产或生产以快速地制备用于患者的治疗性T细胞组合物。通过利用具有T细胞表位的经验证的抗原,可以生产免疫原例如具有HLA结合活性的肽或编码此类肽的RNA。多种免疫原可以在文库中进行鉴定、验证和预先生产。在一些实施方案中,肽可以以适合于储藏、归档以及用于在适合的时间对适合的患者进行药理学干预的规模进行生产。

[0183] 一些(若非全部)癌症具有作为免疫疗法的潜在靶标的抗原。每种肽抗原可以被呈递用于在与特异性HLA编码的MHC分子相关的抗原呈递细胞上进行T细胞活化。在另一方面,本文中提供了潜在地通用性方法,其中特定的表位被预先鉴定和预先验证用于特定的HLA,并且这些表位可以被预先生产用于细胞疗法生产过程。例如,具有G12、G13和Q61突变的多个KRAS表位可以利用可靠的T细胞表位呈递预测模型(参见,例如,2018年2月12日提交的PCT/US2018/017849,以及2019年12月20日提交的PCT/US2019/068084,其各自都通过引用而以其整体并入)进行鉴定,其中通过利用这些表位的质谱以及能够产生具有针对这些表

位以及由不同HLA编码的MHC的TCR的细胞毒性T细胞的能力进行这些表位的免疫原性的验证、处理和呈递。每个表位被验证具有其特定的氨基酸序列和相关的HLA。一旦这些表位被验证,就可以创建文库,所述文库包含预先生成的免疫原,例如包含所述表位的肽,或者编码包含这些表位的肽的RNA。

[0184] 所述抗原可以是非突变的抗原或突变的抗原。例如,所述抗原可以是肿瘤相关性抗原、突变抗原、组织特异性抗原或新抗原。在一些实施方案中,所述抗原是肿瘤相关性抗原。在一些实施方案中,所述抗原是突变抗原。在一些实施方案中,所述抗原是组织特异性抗原。在一些实施方案中,所述抗原是新抗原。新抗原在受试者的癌或肿瘤中被查到,并且在种系中不明显或者在该受试者的健康组织中未被表达。因此,对于在癌中满足产生新抗原的标准的基因突变而言,在癌中的基因突变必须是翻译成改变的蛋白质产物的非沉默突变。改变的蛋白质产物包含具有突变的氨基酸序列,该突变可以是T细胞的突变表位。突变表位具有与MHC分子结合的可能性。突变表位还具有由MHC分子呈递的可能性,其可以例如通过质谱法进行检测。此外,突变表位具有免疫原性的可能性。此外,突变表位具有将T细胞活化成具有细胞毒性的可能性。

[0185] 本文中提供了治疗有需要的受试者中的癌症的方法,所述方法包括:从表位序列的文库中选择至少一个表位序列,其中所述文库中的每个表位序列与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质匹配;以及使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽接触,其中选择的至少一个表位序列中的每一个都被预先验证为满足以下标准中的至少两个或三个或四个:与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的、以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。在一些实施方案中,所述方法进一步包括将T细胞群施用于受试者。

[0186] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列包含突变,并且所述方法包括鉴定所述受试者的编码具有所述突变的表位的癌细胞;选择的至少一个表位序列在由所述受试者的癌细胞过度表达的蛋白质内,并且所述方法包括鉴定所述受试者的过度表达包含所述表位的蛋白质的癌细胞;或者至少一个表位序列包含由处于肿瘤微环境中的细胞表达的蛋白质。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括不是由所述受试者的癌细胞表达的表位。在一些实施方案中,不是由所述受试者的癌细胞表达的表位是由所述受试者的处于肿瘤微环境中的细胞表达。在一些实施方案中,所述方法包括利用循环肿瘤DNA测定来选择受试者。在一些实施方案中,所述方法包括利用基因组来选择受试者。

[0187] 在一些实施方案中,T细胞来自受试者的生物样品。在一些实施方案中,T细胞来自受试者的单采术样品或白细胞去除术样品。在一些实施方案中,T细胞是同种异体T细胞。

[0188] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的每一个都被预先验证为满足以下标准中的一个或多个或每一个:与由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的、以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

[0189] 在一些实施方案中,与由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位以根据结合测定的500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。例如,与由受

试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位可以根据结合测定的400nM、300nM、200nM、150nM、100nM、75nM、50nM或25nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。在一些实施方案中,与由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位通过利用在计算机上实施的MHC表位预测程序被预测为以500nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。例如,与由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合的表位可以通过利用在计算机上实施的MHC表位预测程序被预测为以400nM、300nM、200nM、150nM、100nM、75nM、50nM或25nM或更小的亲和力与由所述HLA等位基因编码的MHC分子结合。在一些实施方案中,在计算机上实施的MHC表位预测程序是NetMHCpan。在一些实施方案中,在计算机上实施的MHC表位预测程序是4.0版NetMHCpan。

[0190] 在一些实施方案中,根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于15Da。例如,根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位可以在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于14Da、13Da、12Da、11Da、10Da、9Da、8Da、7Da、6Da、5Da、4Da、3Da、2Da或1Da。在一些实施方案中,根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于10,000百万分率(ppm)。例如,根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的表位可以在从所述APC洗脱之后通过质谱法进行检测,其中被检测的肽的质量准确度小于7,500ppm;5,000ppm;2,500ppm;1,000ppm;900ppm;800ppm;700ppm;600ppm;500ppm;400ppm;300ppm;200ppm或100ppm。

[0191] 在一些实施方案中,根据免疫原性测定是免疫原性的表位根据多聚体测定是免疫原性的。在一些实施方案中,多聚体测定包括流式细胞术分析。在一些实施方案中,多聚体测定包括检测与包含选择的至少一个表位序列和匹配的HLA等位基因的肽-MHC多聚体结合的T细胞,其中所述T细胞已经被包括肽的APC刺激,所述肽包含选择的至少一个表位序列。在一些实施方案中,根据多聚体测定,当(i)检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺细胞的至少0.005%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,表位是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当(i)检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的T细胞构成被分析的CD8⁺细胞的至少0.005%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当(i)检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺细胞的至少0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当(i)检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,(ii)检测到的所述T细胞构成被分析

的CD8⁺细胞的至少0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%时,以及(iii)检测到的所述T细胞占CD8⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。

[0192] 在一些实施方案中,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的六次刺激中的至少一次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的六次刺激中的至少一次刺激中检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11或12次刺激中的至少2次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的6次刺激中的至少2、3、4、5或6次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的7次刺激中的至少2、3、4、5、6或7次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的8次刺激中的至少2、3、4、5、6、7或8次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的9次刺激中的至少2、3、4、5、6、7、8或9次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的10次刺激中的至少2、3、4、5、6、7、8、9或10次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的11次刺激中的至少2、3、4、5、6、7、8、9、10或11次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的12次刺激中的至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18次刺激中的至少3次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24次刺激中的至少4次刺激中检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的六次刺激中的至少一次刺激中检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。例如,根据多聚体测定,当在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11或12次刺激中的至少2次刺激中或在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18次刺激中的至少3次刺激中或在来自相同起始样品的6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、

23或24次刺激中的至少4次刺激中检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时,表位可以是免疫原性的。在一些实施方案中,对照样品包含已经被APC刺激的T细胞,所述APC (i) 不包括包含选择的至少一个表位序列的肽, (ii) 包括衍生于与选择的所述至少一个表位序列不同的蛋白质的肽,或 (iii) 包括具有随机序列的肽。在一些实施方案中,所述T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多天。在一些实施方案中,在包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC存在下,抗原特异性T细胞已经被扩充至少5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、500倍或1,000倍或更多。

[0193] 在一些实施方案中,根据免疫原性测定是免疫原性的表位根据功能测定是免疫原性的。在一些实施方案中,功能测定包括免疫测定。在一些实施方案中,功能测定包括检测具有IFN γ 或TNF α 的细胞内染色或CD107a和/或CD107b的细胞表面表达的T细胞,其中所述T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激。在一些实施方案中,根据功能测定,当 (i) 检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时, (ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.005%时,以及 (iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,表位是免疫原性的。例如,根据功能测定,当 (i) 检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时, (ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.005%时,以及 (iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。例如,根据功能测定,当 (i) 检测到至少10个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时, (ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%时,以及 (iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。例如,根据功能测定,当 (i) 检测到至少10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900或更多个T细胞已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激时, (ii) 检测到的所述T细胞构成被分析的CD8⁺或CD4⁺细胞的至少0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%时,以及 (iii) 检测到的所述T细胞占CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比高于在对照样品中检测到的T细胞占检测的CD8⁺或CD4⁺T细胞的百分比时,表位可以是免疫原性的。

[0194] 在一些实施方案中,根据细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的T细胞是已经被包括包含选择的至少一个表位序列的肽的APC刺激并且杀死呈递所述表位的细胞的T细胞。在一些实施方案中,由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量是由所述T细胞杀死的不呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高。在一些实施方案中,由所述T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量是由已经被如下

APC刺激的T细胞杀死的呈递所述表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高；所述APC (i) 不包括包含选择的至少一个表位序列的肽，(ii) 包括衍生于与选择的至少一个表位序列不同的蛋白质的肽，或(iii) 包括具有随机序列的肽。在一些实施方案中，由所述T细胞杀死的呈递突变表位的细胞数量是由所述T细胞杀死的呈递对应野生型表位的细胞数量的至少1.1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、500或1,000倍高。在一些实施方案中，根据细胞毒性测定被刺激为细胞毒性的T细胞是根据细胞毒性测定被刺激为特异性细胞毒性的T细胞。

[0195] 在一些实施方案中，所述一种或多种肽中的至少一种是合成肽或从核酸序列表达的肽。

[0196] 在一些实施方案中，所述方法包括鉴定由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质，或鉴定受试者的基因组中的HLA等位基因。

[0197] 在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列是从表1-8和11-14的一个或多个表位序列中进行选择。

[0198] 在一些实施方案中，所述方法包括在体外或在活体外将与所述一种或多种肽接触的T细胞扩充以获得对与MHC蛋白质络合的选择的至少一个表位序列特异性的T细胞群。

[0199] 在一些实施方案中，包含选择的至少一个表位序列的蛋白质由受试者的癌细胞表达。在一些实施方案中，包含选择的至少一个表位序列的蛋白质由受试者的处于肿瘤微环境中的细胞表达。

[0200] 在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括突变。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括肿瘤特异性突变。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自受试者的癌细胞过度表达的蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括驱动突变。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括抗药性突变。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自组织特异性蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自癌性睾丸蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个是病毒表位。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个是次要组织相容性表位。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自RAS蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自GATA3蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自EGFR蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自BTK蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自p53蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自TMPRSS2::ERG融合多肽。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的一个或多个来自Myc蛋白质。在一些实施方案中，选择的至少一个表位序列中的至少一个来自自由选自以下的基因编码的蛋白质：ANKRD30A、COL10A1、CTCF、PPIAL4G、POTEE、DLL3、MMP13、SSX1、DCAF4L2、MAGEA4、MAGEA11、MAGEC2、MAGEA12、PRAME、CLDN6、EPYC、KLK3、KLK2、KLK4、TGM4、POTEG、RLN1、POTEH、SLC45A2、TSPAN10、PAGE5、CSAG1、PRDM7、TG、TSHR、RSPH6A、SCXB、HIST1H4K、ALPPL2、PRM2、PRM1、TNP1、LELP1、HMGB4、AKAP4、CETN1、UBQLN3、ACTL7A、ACTL9、ACTRT2、PGK2、C2orf53、KIF2B、ADAD1、SPATA8、CCDC70、TPD52L3、ACTL7B、DMRTB1、SYCN、CELA2A、CELA2B、PNLIPRP1、CTRC、AMY2A、

SERPINI2、RBPJL、AQP12A、IAPP、KIRREL2、G6PC2、AQP12B、CYP11B1、CYP11B2、STAR、CYP11A1和MC2R。

[0201] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的至少一个来自组织特异性蛋白质,在受试者的靶组织中所述组织特异性蛋白质的表达水平是在不同于所述靶组织的多个非靶组织中的每个组织中所述组织特异性蛋白质的表达水平的至少2倍高。

[0202] 在一些实施方案中,使来自受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽接触包括使所述T细胞与呈递所述表位的APC接触。

[0203] 在一些实施方案中,呈递所述表位的APC包括包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽,或者编码包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽的聚核酸。在一些实施方案中,多肽包含选择的表位序列中的至少两个,每个都由患有癌症的人类受试者的癌细胞表达。

[0204] 在一些实施方案中,所述方法包括从包含抗原呈递细胞(APC)和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14+细胞和CD25+细胞,从而形成包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群。在一些实施方案中,免疫细胞群来自受试者的生物样品。在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FMS-样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)和包含选择的至少一个表位序列的多肽或编码所述多肽的多核苷酸存在下温育第一时间段;从而形成包含受刺激的T细胞的细胞群。在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含受刺激的T细胞的细胞群扩充,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,其中所述肿瘤抗原特异性T细胞包含对包含选择的至少一个表位序列和由受试者的癌细胞或APC表达的MHC蛋白质的复合物特异性的T细胞。在一些实施方案中,扩充在少于28天中进行。在一些实施方案中,温育包括将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FLT3L和编码所述多肽的RNA存在下温育第一时间段。在一些实施方案中,从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14+细胞和CD25+细胞包括使包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群与CD14结合剂和CD25结合剂接触。在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD19+细胞。在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD11b+细胞。

[0205] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物施用于患有癌症的人类受试者。在一些实施方案中,患有癌症的人类受试者是从其获得生物样品的人类受试者。

[0206] 在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中CD8+肿瘤抗原特异性T细胞占CD8+T细胞的总数量的分数为在生物样品中CD8+肿瘤抗原特异性T细胞占CD8+T细胞的总数量的分数的至少两倍高。在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中CD4+肿瘤抗原特异性T细胞占CD4+T细胞的总数量的分数为在生物样品中CD4+肿瘤抗原特异性T细胞占CD4+T细胞的总数量的分数至少两倍高。在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中,至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的所述CD8+T细胞是源于初始CD8+T细胞的CD8+肿瘤抗原特异性T细胞。在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中,至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的所述

CD8+T细胞是源于记忆CD8+T细胞的CD8+肿瘤抗原特异性T细胞。在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中,至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的所述CD4+T细胞是源于初始CD4+T细胞的CD4+肿瘤抗原特异性T细胞。在一些实施方案中,在包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群中,至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的所述CD4+T细胞是源于记忆CD4+T细胞的CD4+肿瘤抗原特异性T细胞。

[0207] 在一些实施方案中,扩充包括使包含受刺激的T细胞的细胞群与第二成熟APC群接触,其中所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育并且呈递选择的至少一个表位序列;以及将包含受刺激的T细胞的细胞群扩充第二时间段,从而形成扩充的T细胞群。在一些实施方案中,在使包含受刺激的T细胞的细胞群与所述第二成熟APC群接触之前,已将所述第二成熟APC群与FLT3L一起温育至少1天。在一些实施方案中,扩充进一步包括使扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触,其中所述第三成熟APC群已经与FLT3L一起温育并且呈递选择的至少一个表位序列;以及将扩充的T细胞群扩充第三时间段,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群。在一些实施方案中,在使扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触之前,已将所述第三成熟APC群与FLT3L一起温育至少1天。在一些实施方案中,生物样品是外周血样品、白细胞去除术样品或单采术样品。

[0208] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括收获包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,冷藏所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,或制备包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物。

[0209] 在一些实施方案中,所述方法包括从包含从受试者获得的癌细胞的第二生物样品产生癌细胞核酸,以及从包含从相同受试者获得的非癌细胞的第二生物样品产生非癌细胞核酸。

[0210] 在一些实施方案中,由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质是由选自以下的HLA等位基因编码的蛋白质:HLA-A01:01、HLA-A02:01、HLA-A03:01、HLA-A11:01、HLA-A24:01、HLA-A30:01、HLA-A31:01、HLA-A32:01、HLA-A33:01、HLA-A68:01、HLA-B07:02、HLA-B08:01、HLA-B15:01、HLA-B44:03、HLA-C07:01和HLA-C07:02。

[0211] 在一些实施方案中,所述方法包括鉴定包含选择的至少一个表位序列并且由受试者的癌细胞表达的一种或两种或更多种不同的蛋白质。在一些实施方案中,所述方法包括通过测量在癌细胞中编码一种或两种或更多种不同的蛋白质的RNA水平而鉴定包含选择的至少一个表位序列并且由受试者的癌细胞表达的一种或两种或更多种不同的蛋白质。在一些实施方案中,所述方法包括从受试者的癌细胞和非癌细胞分离基因组DNA或RNA。

[0212] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括点突变或由点突变编码的序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括由neoORF突变编码的序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括由基因融合突变编码的序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括由得失位突变编码的序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的一个或多个包括由剪接位点突变编码的序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的至少两个来自相同的蛋白质。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的至少

两个包括重叠序列。在一些实施方案中,选择的至少一个表位序列中的至少两个来自不同的蛋白质。在一些实施方案中,所述一种或多种肽包括至少2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多种肽。

[0213] 在一些实施方案中,受试者的癌细胞是实体癌的癌细胞。在一些实施方案中,受试者的癌细胞是白血病或淋巴瘤的癌细胞。

[0214] 在一些实施方案中,所述突变是在多个癌症患者中发生的突变。

[0215] 在一些实施方案中,所述MHC是I类MHC。在一些实施方案中,所述MHC是II类MHC。

[0216] 在一些实施方案中,所述T细胞是CD8 T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是CD4 T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是细胞毒性T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是记忆T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是初始T细胞。

[0217] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在施用于受试者之前从扩充的T细胞群中选择一个或多个细胞亚群。

[0218] 在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱导免疫应答包括在与所述肽接触时从所述T细胞培养物中诱发IL2产生。在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱导免疫应答包括在与所述肽接触时从所述T细胞培养物中诱发细胞因子产生,其中所述细胞因子是干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF) α (α) 和/或 β (β) 或其组合。在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱导免疫应答包括诱发所述T细胞培养物以杀死表达所述肽的细胞。在一些实施方案中,在T细胞培养物中诱导免疫应答包括检测在所述T细胞培养物中Fas配体、颗粒酶、穿孔素、IFN、TNF或其组合的表达。

[0219] 在一些实施方案中,包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽被纯化。在一些实施方案中,包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽被冻干。在一些实施方案中,包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽处于溶液中。在一些实施方案中,包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽存在于储藏条件中,以至所述肽的完整性 $\geq 99\%$ 。

[0220] 在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对负载有选择的至少一个表位序列的细胞是细胞毒性的。在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对表达包含选择的至少一个表位序列的蛋白质的癌细胞是细胞毒性的。在一些实施方案中,所述方法包括将T细胞刺激为根据细胞毒性测定对表达包含选择的至少一个表位序列的蛋白质的癌症相关细胞是细胞毒性的。

[0221] 在一些实施方案中,选择的至少一个表位由癌细胞表达,并且选择的附加表位由癌症相关细胞表达。在一些实施方案中,选择的所述附加表位在癌症相关成纤维细胞上表达。在一些实施方案中,选择的所述附加表位从表8中进行选择。

[0222] 在一些实施方案中,本文中提供的方法是治疗有需要的受试者中的癌症的方法,所述方法包括:从表位序列的文库中选择至少一个表位序列,其中所述文库中的每个表位序列与由HLA等位基因编码的蛋白质匹配;以及使来自所述受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽接触,其中选择的至少一个表位序列中的每一个:与由所述受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合;根据免疫原性测定是免疫原性的;根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的,以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。

[0223] 在一些实施方案中,所述方法包括利用循环肿瘤DNA测定来选择受试者。在一些实

施方案中,所述方法包括利用基因组合来选择受试者。

[0224] 在一些实施方案中,所述T细胞来自受试者的生物样品。在一些实施方案中,所述T细胞来自受试者的单采术或白细胞去除术样品。

[0225] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽中的至少一种是合成肽或从核酸序列表达的肽。

[0226] 在一些实施方案中,所述方法包括鉴定由受试者的HLA等位基因编码的蛋白质,或鉴定受试者的基因组中的HLA等位基因。在一些实施方案中,所述方法包括鉴定由受试者的HLA等位基因编码的由所述受试者表达的蛋白质。在一些实施方案中,所述方法包括使来自受试者的T细胞与从本文提供的表的一种或多种肽中选择的一种或多种肽接触。在一些实施方案中,所述方法包括使来自受试者的T细胞与一种或多种肽接触,所述一种或多种肽包含从本文提供的表的表位中选择的表位。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在体外或在活体外将与所述一种或多种肽接触的T细胞扩充以获得T细胞群。在一些实施方案中,所述方法进一步包括按照剂量和时间间隔将所述T细胞群施用于受试者,以至癌症得以减轻或消除。

[0227] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽中的至少一种由受试者的癌细胞表达。在一些实施方案中,所述一种或多种肽的表位中的至少一个包括突变。

[0228] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽的表位中的至少一个包括肿瘤特异性突变。在一些实施方案中,所述一种或多种肽的表位中的至少一个来自受试者的癌细胞过度表达的蛋白质。在一些实施方案中,所述一种或多种肽的表位中的至少一个来自选自以下的基因编码的蛋白质:ANKRD30A、COL10A1、CTCF、PPIAL4G、POTEE、DLL3、MMP13、SSX1、DCAF4L2、MAGEA4、MAGEA11、MAGEC2、MAGEA12、PRAME、CLDN6、EPYC、KLK3、KLK2、KLK4、TGM4、POTEG、RLN1、POTEH、SLC45A2、TSPAN10、PAGE5、CSAG1、PRDM7、TG、TSHR、RSPH6A、SCXB、HIST1H4K、ALPPL2、PRM2、PRM1、TNP1、LELP1、HMGB4、AKAP4、CETN1、UBQLN3、ACTL7A、ACTL9、ACTRT2、PGK2、C2orf53、KIF2B、ADAD1、SPATA8、CCDC70、TPD52L3、ACTL7B、DMRTB1、SYCN、CELA2A、CELA2B、PNLIPRP1、CTRC、AMY2A、SERPINI2、RBPJL、AQP12A、IAPP、KIRREL2、G6PC2、AQP12B、CYP11B1、CYP11B2、STAR、CYP11A1和MC2R。

[0229] 在一些实施方案中,所述一种或多种肽中的至少一种来自组织特异性抗原表位基因编码的蛋白质,所述组织特异性抗原表位基因在受试者的靶组织中的表达水平是所述组织特异性抗原基因在不同于所述靶组织的多个非靶组织中的每个组织中的表达水平的至少2倍高。

[0230] 在一些实施方案中,所述方法包括:将一种或多种抗原呈递细胞(APC)制剂与来自生物样品的耗尽表达CD14和CD25的细胞的免疫细胞群一起温育一个或多个单独的时间段;将一种或多种APC制剂与来自生物样品的免疫细胞群一起温育一个或多个单独的时间段,其中所述一种或多种APC包括一种或多种FMS-样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)刺激的APC;或者将FLT3L和至少一种肽与来自生物样品的免疫细胞群一起温育,其中将FLT3L与所述免疫细胞群一起温育第一时间段,并且其中将所述至少一种肽与所述免疫细胞群温育第一肽刺激时间段,从而获得第一受刺激的T细胞样品,其中所述免疫细胞群包含至少一个T细胞和至少一个APC;其中至少一个抗原特异性记忆T细胞被扩充,或者至少一个抗原特异性初始T细胞被诱导。

[0231] 在一些实施方案中,该方法包括将来自生物样品的免疫细胞群体与一种或多种APC制剂一起温育一个或多个单独时间段,所述一个或多个单独时间段是从所述免疫细胞群体与所述一种或多种APC制剂中的第一APC制剂温育起不到28天。在一些实施方案中,所述方法包括将来自生物样品的免疫细胞群与3种或更少种APC制剂一起温育3个或更少的单独时间段。在一些实施方案中,所述方法包括将来自生物样品的免疫细胞群与2种或更少种APC制剂一起温育2个或更少的单独时间段。在一些实施方案中,所述方法包括将来自生物样品的免疫细胞群与一种或多种APC制剂一起温育一个或多个单独的时间段,所述一个或多个单独时间段从将所述免疫细胞群与所述一种或多种APC制剂中的第一APC制剂一起温育时起少于28天。在一些实施方案中,通过将来自生物样品的免疫细胞群与一种或多种APC制剂一起温育一个或多个单独的时间段来用抗原刺激T细胞的总制备时间段少于28天。

[0232] 在一些实施方案中,所述一种或多种APC制剂中的至少两种包含FLT3L刺激的APC。在一些实施方案中,所述一种或多种APC制剂中的至少三种包含FLT3L刺激的APC。在一些实施方案中,温育包括将所述APC制剂中的第一APC制剂与T细胞一起温育超过7天。在一些实施方案中,所述APC制剂的APC包括负载有一种或多种抗原肽的APC,所述一种或多种抗原肽包含所述至少一个抗原肽序列中的一个或多个。在一些实施方案中,所述APC制剂的APC是自体APC或同种异体APC。在一些实施方案中,所述APC制剂的APC包括树突细胞(DC)。在一些实施方案中,DC是CD141⁺DC。在一些实施方案中,所述方法包括从生物样品中耗尽表达CD14和CD25的细胞,从而获得来自生物样品的耗尽表达CD14和CD25的细胞的免疫细胞群。在一些实施方案中,所述方法进一步包括耗尽表达CD19的细胞。在一些实施方案中,所述方法进一步包括耗尽表达CD11b的细胞。在一些实施方案中,耗尽表达CD14和CD25的细胞包括使CD14或CD25结合剂与一种或多种APC制剂的APC结合。在一些实施方案中,所述方法进一步包括将所述至少一种抗原特异性T细胞中的一种或多种施用于受试者。

[0233] 在一些实施方案中,温育包括将所述一种或多种APC制剂中的第一APC制剂与所述T细胞温育超过7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20天。在一些实施方案中,方法包括将一种或多种APC制剂中的至少一种与包含至少一种细胞因子或生长因子的第一培养基一起温育第一时间段。在一些实施方案中,方法包括将一种或多种APC制剂中的至少一种与包含一种或多种细胞因子或生长因子的第二培养基一起温育第三时间段,从而获得成熟APC。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在第三时间段之后将第二培养基的一种或多种细胞因子或生长因子除去。在一些实施方案中,APC制剂的APC被一种或多种细胞因子或生长因子刺激。在一些实施方案中,所述一种或多种细胞因子或生长因子包括GM-CSF、IL-4、FLT3L、TNF- α 、IL-1 β 、PGE1、IL-6、IL-7、IFN- α 、R848、LPS、ss-rna40、聚I:C或其任意组合。

[0234] 在一些实施方案中,所述抗原是新抗原、肿瘤相关抗原、病毒抗原、次要组织相容性抗原或其组合。

[0235] 在一些实施方案中,所述方法在活体外进行。

[0236] 在一些实施方案中,所述方法包括将来自生物样品的耗尽表达CD14和CD25的细胞的免疫细胞群与FLT3L一起温育第一时间段。在一些实施方案中,所述方法包括将至少一种肽与来自生物样品的耗尽表达CD14和CD25的细胞的免疫细胞群一起温育第二时间段,从而获得第一成熟APC肽负载的样品。在一些实施方案中,所述方法包括从免疫细胞群耗尽表达CD14的细胞、表达CD19的细胞以及表达CD25的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括从免

疫细胞群耗尽表达CD14的细胞、表达CD11b的细胞以及表达CD25的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括耗尽表达CD14的细胞、表达CD11b的细胞、表达CD19的细胞以及表达CD25的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括耗尽至少CD14、CD11b、CD19和CD25。在一些实施方案中,所述方法包括耗尽表达CD14、CD11b、CD19和CD25中的至少一种的细胞,以及表达第五细胞表面标志物的至少第五细胞类型。在一些实施方案中,所述方法包括在第一温育时期、在第二温育时期和/或在第三温育时期从免疫细胞群选择性地耗尽表达CD14和CD25的细胞,以及从免疫细胞群选择性地耗尽表达CD19、CD11b中的任何一种或多种的细胞。

[0237] 在本文所述的方法的一些实施方案中,使来自受试者的T细胞或同种异体T细胞与包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽接触包括使所述T细胞与呈递所述表位的APC接触。

[0238] 在本文所述的方法的一些实施方案中,呈递所述表位的APC包括包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽,或编码包含选择的至少一个表位序列的一种或多种肽的聚核酸。

[0239] 在一些实施方案中,所述方法包括从包含抗原呈递细胞(APC)和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14⁺细胞和CD25⁺细胞,从而形成包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群。在一些实施方案中,所述免疫细胞群来自受试者的生物样品。在本文所述的方法的一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FMS-样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)和包含选择的至少一个表位序列的多肽或编码所述多肽的多核苷酸存在下温育第一时间段;从而形成包含受刺激的T细胞的细胞群。在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含受刺激的T细胞的细胞群扩充,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,其中所述肿瘤抗原特异性T细胞包含对包含选择的至少一个表位序列和由受试者的癌细胞或APC表达的MHC蛋白质的复合物特异性的T细胞。

[0240] 在本文所述的方法的一些实施方案中,扩充包括使包含受刺激的T细胞的细胞群与第二成熟APC群接触,其中所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育并且呈递选择的至少一个表位序列;以及将包含受刺激的T细胞的细胞群扩充第二时间段,从而形成扩充的T细胞群。在一些实施方案中,在使包含受刺激的T细胞的细胞群与第二成熟APC群接触之前,所述第二成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。在一些实施方案中,扩充进一步包括使扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触,其中所述第三成熟APC群已经与FLT3L一起温育并且呈递选择的至少一个表位序列;以及将扩充的T细胞群扩充第三时间段,从而形成包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群。在一些实施方案中,在使扩充的T细胞群与第三成熟APC群接触之前,所述第三成熟APC群已经与FLT3L一起温育至少1天。在本文所述的方法的一些实施方案中,所述方法进一步包括收获包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,冷冻保存所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群,或制备包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物。在一些实施方案中,温育包括将包含第一APC群和T细胞的CD14/CD25耗尽的免疫细胞群在FLT3L和编码所述多肽的RNA存在下温育第一时间段。

[0241] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括将包含所述包含肿瘤抗原特异性T细胞的扩充的细胞群的药物组合物施用于患有癌症的人类受试者。在一些实施方案中,所述患有癌症的人类受试者是从其获得所述生物样品的人类受试者。在一些实施方案中,所述多

肽是8至50个氨基酸长度。在一些实施方案中,所述多肽包含选择的表位序列中的至少两个,每个都由患有癌症的人类受试者的癌细胞表达。

[0242] 在一些实施方案中,从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD14+细胞和CD25+细胞包括使所述包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群与CD14结合剂和CD25结合剂接触。在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD19+细胞。在一些实施方案中,所述方法进一步包括使免疫细胞群与CD19结合剂接触。在一些实施方案中,耗尽进一步包括从包含第一APC群和T细胞的免疫细胞群耗尽CD11b+细胞。在一些实施方案中,所述方法进一步包括使免疫细胞群与CD11b结合剂接触。

[0243] 在一些实施方案中,所述方法包括将第一成熟APC肽负载的样品与至少一种T细胞温育第三时间段,从而获得受刺激的T细胞样品。在一些实施方案中,所述方法包括将第一受刺激的T细胞样品的T细胞与成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第四时间段,FLT3L和成熟APC样品的第二APC肽负载的样品一起温育第四时间段,或FLT3L和成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第四时间段,从而获得刺激的T细胞样品。在一些实施方案中,所述方法包括将第二受刺激的T细胞样品的T细胞与成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第五时间段,或FLT3L和成熟APC样品的第三APC肽负载的样品一起温育第五时间段,或FLT3L和成熟APC样品的第三APC肽负载的样品一起温育第五时间段,从而获得刺激的T细胞样品。

[0244] 在一些实施方案中,一个或多个单独的时间段、3个或更少的单独时间段、第一时间段、第二时间段、第三时间段、第四时间段或第五时间段是至少1小时、至少2小时、至少3小时、至少4小时、至少5小时、至少6小时、至少7小时、至少8小时、至少9小时、至少10小时、至少11小时、至少12小时、至少13小时、至少14小时、至少15小时、至少16小时、至少17小时、至少18小时、至少19小时、至少20小时、至少21小时、至少22小时、至少23小时、至少24小时、至少25小时、至少26小时、至少27小时、至少28小时、至少29小时、至少30小时、至少31小时、至少32小时、至少33小时、至少34小时、至少35小时、至少36小时、至少37小时、至少38小时、至少39小时或至少40小时。

[0245] 在一些实施方案中,一个或多个单独的时间段、3个或更少的单独时间段、第一时间段、第二时间段、第三时间段、第四时间段或第五时间段是1至4小时、1至3小时、1至2小时、4至40小时、7至40小时、4至35小时、4至32小时、7至35小时或7至32小时。

[0246] 在一些实施方案中,免疫细胞群包含APC或一种或多种APC制剂中的至少一种。在一些实施方案中,免疫细胞群不包含APC,和/或免疫细胞群不包含一种或多种APC制剂中的一种。

[0247] 在一些实施方案中,所述方法包括将FLT3L和至少一种肽与来自生物样品的免疫细胞群一起温育,其中将FLT3L与免疫细胞群一起温育第一时间段,并且其中将至少一种肽与免疫细胞群一起温育第一肽刺激时间段,从而获得第一受刺激的T细胞样品,其中免疫细胞群包含至少一种T细胞和至少一种APC。在一些实施方案中,所述方法包括将FLT3L和至少一种肽与至少一种APC一起温育,其中将FLT3L与至少一种APC一起温育第二时间段,并且其中将至少一种肽与至少一种APC一起温育第二肽刺激时间段,从而获得第一成熟APC肽负载的样品;以及将第一成熟APC肽负载的样品与第一受刺激的T细胞样品一起温育,从而获得第二受刺激的T细胞样品。在一些实施方案中,所述方法包括将FLT3L和至少一种肽与至少

一种APC一起温育,其中将FLT3L与至少一种APC一起温育第三时间段,并且其中将至少一种肽与至少一种APC一起温育第三肽刺激时间段,从而获得第二成熟APC肽负载的样品;以及将第二成熟APC肽负载的样品与第二受刺激的T细胞样品一起温育,从而获得第三受刺激的T细胞样品。

[0248] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括从受刺激的T细胞样品中分离第一受刺激的T细胞。在一些实施方案中,在前一句话中所述的分离包括从已经接触与至少一种肽一起温育的至少一种APC的免疫细胞群中富集受刺激的T细胞。在一些实施方案中,富集包括确定至少一种受刺激的T细胞的一种或多种细胞标志物的表达,以及将表达一种或多种细胞标志物的受刺激的T细胞分离。在一些实施方案中,细胞表面标志物可以是但不限于TNF- α 、IFN- γ 、LAMP-1、4-1BB、IL-2、IL-17A、颗粒酶B、PD-1、CD25、CD69、TIM3、LAG3、CTLA-4、CD62L、CD45RA、CD45RO、FoxP3或其任何组合中的一种或多种。在一些实施方案中,一种或多种细胞标志物包括细胞因子。

[0249] 在一些实施方案中,所述方法包括将第一或第二或第三受刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0250] 在一些实施方案中,所述方法包括:从受试者获得生物样品,所述生物样品包含至少一种抗原呈递细胞(APC);从所述生物样品中富集表达CD14的细胞,从而获得CD14⁺细胞富集的样品;将所述CD14⁺细胞富集的样品与至少一种细胞因子或生长因子一起温育第一时间段;将至少一种肽与CD14⁺细胞富集的样品一起温育第二时间段,从而获得APC肽负载的样品;将所述APC肽负载的样品与一种或多种细胞因子或生长因子一起温育第三时间段,从而获得成熟APC样品;将所述成熟APC样品的APC与包含PBMC的CD14和/或CD25耗尽的样品一起温育第四时间段;将T细胞与成熟APC样品的APC一起温育第五时间段;将T细胞与成熟APC样品的APC一起温育第六时间段;并且将所述T细胞的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0251] 在一些实施方案中,所述方法包括:从受试者获得生物样品,所述生物样品包含至少一种APC和至少一种T细胞;从所述生物样品中耗尽表达CD14和CD25的细胞,从而获得CD14和CD25细胞耗尽的样品;将CD14和CD25细胞耗尽的样品与FLT3L一起温育第一时间段;将至少一种肽与CD14和CD25细胞耗尽的样品一起温育第二时间段,从而获得APC肽负载的样品;将所述APC肽负载的样品与至少一种T细胞一起温育第三时间段,从而获得第一刺激的T细胞样品;将所述第一刺激的T细胞样品的T细胞与成熟APC样品的APC一起温育第四时间段,从而获得第二刺激的T细胞样品;任选地,将所述第二刺激的T细胞样品的T细胞与成熟APC样品的APC一起温育第五时间段,从而获得第三刺激的T细胞样品;将所述第一、第二或第三刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0252] 在一些实施方案中,所述方法包括:从受试者获得生物样品,所述生物样品包含至少一种APC和至少一种T细胞;从所述生物样品中耗尽表达CD14和CD25的细胞,从而获得CD14和CD25细胞耗尽的样品;将CD14和CD25细胞耗尽的样品与FLT3L一起温育第一时间段;将至少一种肽与CD14和CD25细胞耗尽的样品一起温育第二时间段,从而获得APC肽负载的样品;将所述APC肽负载的样品与至少一种T细胞一起温育第三时间段,从而获得第一刺激的T细胞样品;任选地,将所述第一刺激的T细胞样品的T细胞与成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第四时间段,从而获得第二刺激的T细胞样品;任选地,将所述第二刺激的T细

胞样品的T细胞与成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第五时间段,从而获得第三刺激的T细胞样品;将所述第一、第二或第三刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0253] 在一些实施方案中,所述方法包括:从受试者获得生物样品,所述生物样品包含至少一种APC和至少一种T细胞;从所述生物样品中耗尽表达CD14和CD25的细胞,从而获得CD14和CD25细胞耗尽的样品;将CD14和CD25细胞耗尽的样品与FLT3L一起温育第一时间段;将至少一种肽与CD14和CD25细胞耗尽的样品一起温育第二时间段,从而获得第一APC肽负载的样品;将所述第一APC肽负载的样品与至少一种T细胞一起温育第三时间段,从而获得第一刺激的T细胞样品;任选地,将所述第一刺激的T细胞样品的T细胞与FLT3L和成熟APC样品的第二APC肽负载的样品一起温育第四时间段,从而获得第二刺激的T细胞样品;任选地,将所述第二刺激的T细胞样品的T细胞与FLT3L和成熟APC样品的第三APC肽负载的样品一起温育第五时间段,从而获得第三刺激的T细胞样品;将所述第一、第二或第三刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0254] 在一些实施方案中,所述方法包括:从受试者获得生物样品,所述生物样品包含至少一种APC和至少一种T细胞;从所述生物样品中耗尽表达CD14和CD25的细胞,从而获得CD14和CD25细胞耗尽的样品;将CD14和CD25细胞耗尽的样品与FLT3L一起温育第一时间段;将至少一种肽与CD14和CD25细胞耗尽的样品一起温育第二时间段,从而获得第一APC肽负载的样品;将所述第一APC肽负载的样品与至少一种T细胞一起温育第三时间段,从而获得第一刺激的T细胞样品;任选地,将所述第一刺激的T细胞样品的T细胞与FLT3L和成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第四时间段,从而获得第二刺激的T细胞样品;任选地,将所述第二刺激的T细胞样品的T细胞与FLT3L和成熟APC样品的FLT3L刺激的APC一起温育第五时间段,从而获得第三刺激的T细胞样品;将所述第一、第二或第三刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0255] 在一些实施方案中,所述方法包括:将FLT3L和至少一种肽与来自生物样品的免疫细胞群一起温育,其中将FLT3L与免疫细胞群一起温育第一时间段,并且其中将至少一种肽与免疫细胞群一起温育第一肽刺激时间段,从而获得第一受刺激的T细胞样品,其中免疫细胞群包含至少一种T细胞和至少一种APC;任选地,将FLT3L和至少一种肽与至少一种APC一起温育,其中将FLT3L与至少一种APC一起温育第二时间段,并且其中将至少一种肽与至少一种APC一起温育第二肽刺激时间段,从而获得第一成熟APC肽负载的样品;以及将第一成熟APC肽负载的样品与第一受刺激的T细胞样品一起温育,从而获得第二受刺激的T细胞样品;任选地,将FLT3L和至少一种肽与至少一种APC一起温育,其中将FLT3L与至少一种APC一起温育第三时间段,并且其中将至少一种肽与至少一种APC一起温育第三肽刺激时间段,从而获得第二成熟APC肽负载的样品;以及将第二成熟APC肽负载的样品与第二受刺激的T细胞样品一起温育,从而获得第三受刺激的T细胞样品;以及将第一受刺激的T细胞样品、第二受刺激的T细胞样品或第三受刺激的T细胞样品中的至少一种T细胞施用于有需要的受试者。

[0256] 在一些实施方案中,所述方法包括从包含从受试者获得的癌细胞的第一生物样品产生癌细胞核酸,以及从包含从相同受试者获得的非癌细胞的第二生物样品产生非癌细胞核酸。

[0257] 在一些实施方案中,所述方法包括通过全基因组测序或全外显子组测序而对癌细胞核酸进行测序,从而获得包括癌细胞核酸序列的第一多个核酸序列;以及通过全基因组测序或全外显子组测序而对非癌细胞核酸进行测序,从而获得包括非癌细胞核酸序列的第二多个核酸序列。在一些实施方案中,所述方法包括从第一多个核酸序列鉴定多个癌特异性核酸序列,所述癌特异性核酸序列是受试者的癌细胞特有的并且不包括来自受试者的非癌细胞的第二多个核酸序列的核酸序列。

[0258] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在施用于受试者之前从扩充的T细胞群中选择一个或多个细胞亚群。在一些实施方案中,选择一个或多个细胞亚群是基于本文中提供的一种或多种细胞表面标志物的表达通过细胞分选进行。在一些实施方案中,活化的T细胞可以基于细胞表面标志物进行分选,所述细胞表面标志物包括但不限于以下中的任何一种或多种:CD27、CD274、CD276、CD8A、CMKLR1、CXCL9、CXCR6、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-E、IDO1、LAG3、NKG7、PDCD1LG2、PSMB10、STAT1、CD45RO、CCR7、FLT3LG、IL-6及其他。

[0259] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在施用T细胞群之前耗尽受试者中的一种或多种细胞。

[0260] 在一些实施方案中,一个或多个细胞亚群表达本文中提供的细胞表面标志物。

[0261] 在一些实施方案中,本文中提供的肽的氨基酸序列通过肽测序进行验证。在一些实施方案中,本文中提供的肽的氨基酸序列通过质谱进行验证。

[0262] 本文中还提供了包含T细胞的药物组合物,所述T细胞通过将T细胞在呈递表1-8和11-14中的任何表的一个或多个表位序列的抗原呈递细胞存在下扩充而产生。

[0263] 本文中还提供了多肽文库,所述多肽文库包括表位序列或编码所述多肽的多核苷酸,其中所述文库中的每个表位序列与由HLA等位基因编码的蛋白质匹配;并且其中所述文库中的每个表位序列被预先验证为满足以下标准中的至少两个或三个或四个:与由患有待治疗的癌症的受试者的HLA等位基因编码的蛋白质结合、根据免疫原性测定是免疫原性的、根据质谱测定是由抗原呈递细胞(APC)呈递的,以及根据细胞毒性测定将T细胞刺激为细胞毒性的。在一些实施方案中,所述文库包括包含表1-8和11-14中的任何表的表位序列的一个或两个或更多个肽序列。

[0264] 本文中提供的肽和多核苷酸可以用于制备抗原特异性T细胞,并且包括重组肽和多核苷酸和合成肽,其包含表位,例如肿瘤特异性新表位,其已经被鉴定并且验证为与一种或多种MHC分子结合、由一种或多种MHC分子呈递、是免疫原性的、并且/或者能够将T细胞活化成细胞毒性的。所述肽可以被制备用于在活体外预致敏T细胞的方法中。所述肽可以被制备用于在活体外活化T细胞的方法中。所述肽可以被制备用于扩充抗原特异性T细胞的方法中。所述肽可以被制备用于在活体外诱导从头CD8 T细胞应答的方法中。所述肽可以被制备用于在活体外诱导从头CD4 T细胞应答的方法中。所述肽可以被制备用于在活体外刺激记忆CD8 T细胞应答的方法中。所述肽可以被制备用于在活体外刺激记忆CD4 T细胞应答的方法中。所述T细胞可以从人类受试者获得。所述T细胞可以是同种异体T细胞。所述T细胞可以是T细胞系。

[0265] 所述表位可以包含由癌细胞的基因组编码的氨基酸序列的至少8个邻接氨基酸。所述表位可以包含由癌细胞的基因组编码的氨基酸序列的8-12个邻接氨基酸。所述表位可以包含由癌细胞的基因组编码的氨基酸序列的13-25个邻接氨基酸。所述表位可以包含由

癌细胞的基因组编码的氨基酸序列的8-50个邻接氨基酸。在一些实施方案中,表位是约8至约30个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是约8至约25个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是约15至约24个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是约9至约15个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是8个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是9个氨基酸长度。在一些实施方案中,表位是10个氨基酸长度。

[0266] 在一些实施方案中,包含表位的肽是至多500、至多250、至多150、至多125或至多100个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是至少8、至少50、至少100、至少200或至少300个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约500个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约100个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约50个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约15至约35个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约15个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约11个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是9或10个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约30个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约8至约25个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约15至约24个氨基酸长度。在一些实施方案中,包含表位的肽是约9至约15个氨基酸长度。

[0267] 在一些实施方案中,包含表位的肽具有至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26、至少27、至少28、至少29、至少30、至少40、至少50、至少60、至少70、至少80、至少90、至少100、至少150、至少200、至少250、至少300、至少350、至少400、至少450或至少500个氨基酸的总长度。在一些实施方案中,包含表位的肽具有至多8、至多9、至多10、至多11、至多12、至多13、至多14、至多15、至多16、至多17、至多18、至多19、至多20、至多21、至多22、至多23、至多24、至多25、至多26、至多27、至多28、至多29、至多30、至多40、至多50、至多60、至多70、至多80、至多90、至多100、至多150、至多200、至多250、至多300、至多350、至多400、至多450或至多500个氨基酸的总长度。在一些实施方案中,包含表位的肽包含与至少第二新表位连接的第一新表位肽。

[0268] 在一些实施方案中,肽包含来自以下中的一个或多个的经验证的表位: ABL1、AC011997、ACVR2A、AFP、AKT1、ALK、ALPPL2、ANAPC1、APC、ARID1A、AR、AR-v7、ASCL2、 β 2M、BRAF、BTK、C15ORF40、CDH1、CLDN6、CNOT1、CT45A5、CTAG1B、DCT、DKK4、EEF1B2、EEF1DP3、EGFR、EIF2B3、env、EPHB2、ERBB3、ESR1、ESRP1、FAM111B、FGFR3、FRG1B、GAGE1、GAGE10、GATA3、GBP3、HER2、IDH1、JAK1、KIT、KRAS、LMAN1、MABEB16、MAGEA1、MAGEA10、MAGEA4、MAGEA8、MAGEB17、MAGEB4、MAGEC1、MEK、MLANA、MLL2、MMP13、MSH3、MSH6、MYC、NDUFC2、NRAS、PAGE2、PAGE5、PDGFRa、PIK3CA、PMEL、po1蛋白质、POLE、PTEN、RAC1、RBM27、RNF43、RPL22、RUNX1、SEC31A、SEC63、SF3B1、SLC35F5、SLC45A2、SMAP1、SMAP1、SPOP、TFAM、TGFB2、THAP5、TP53、TTK、TYR、UBR5、VHL、XPOT、EEF1DP3:FRY融合多肽、EGFR:SEPT14融合多肽、EGFRVIII缺失多肽、EML4:ALK融合多肽、NDRG1:ERG融合多肽、AC011997.1:LRR69融合多肽、RUNX1(ex5)-RUNX1T1融合多肽、TMPRSS2:ERG融合多肽、NAB:STAT6融合多肽、NDRG1:ERG融合多肽、PML:RARA融合多肽、PPP1R1B:STARD3融合多肽、MAD1L1:MAFK融合多肽、FGFR3:TAC融合多肽、FGFR3:TACC3融合多肽、BCR:ABL融合多肽、C11orf95:RELA融合多肽、CBFB:MYH11融合多肽、CBFB:MYH11融合多肽、CD74:ROS1融合多肽、CD74:ROS1融合多肽、ERVE-4:蛋白酶、

ERVE-4:逆转录酶、ERVE-4:逆转录酶、ERVE-4:未知、ERVH-2基质蛋白质、ERVH-2:糖胺聚糖(gag)、ERVH-2:逆转录病毒基质、ERVH48-1:外壳蛋白质、ERVH48-1:合胞素、ERVI-1包膜蛋白质、ERVK-5gag、ERVK-5env(膜蛋白)、ERVK-5po1、EBV A73、EBV BALF3、EBV BALF4、EBV BALF5、EBV BARF0、EBV LF2、EBV RPMS1、HPV-16、HPV-16E7和HPV-16E6。在一些实施方案中,新表位包含起因于 β 2M、BTK、EGFR、GATA3、KRAS、MLL2、TMPRSS2:ERG融合多肽或TP53或Myc中的突变事件的突变。

[0269] 在一些实施方案中,表位结合主要组织相容性复合物(MHC) I类分子。在一些实施方案中,表位以约500nM或更小的结合亲和力结合MHC I类分子。在一些实施方案中,表位以约250nM或更小的结合亲和力结合MHC I类分子。在一些实施方案中,表位以约150nM或更小的结合亲和力结合MHC I类分子。在一些实施方案中,表位以约50nM或更小的结合亲和力结合MHC I类分子。

[0270] 在一些实施方案中,表位结合MHC I类分子,并且包含I类表位的肽结合至MHC II类分子。

[0271] 在一些实施方案中,表位结合MHC II类分子。在一些实施方案中,表位结合至人类白细胞抗原(HLA) -A、-B、-C、-DP、-DQ或-DR。表位以1000nM或更小的结合亲和力结合MHC II类分子。在一些实施方案中,表位以500nM或更小的结合亲和力结合MHC II类分子。在一些实施方案中,表位以约250nM或更小的结合亲和力结合MHC II类分子。在一些实施方案中,表位以约150nM或更小的结合亲和力结合MHC II类分子。在一些实施方案中,表位以约50nM或更小的结合亲和力结合MHC II类分子。

[0272] 在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含该表位的C末端旁侧的一个或多个氨基酸。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含该表位的N末端旁侧的一个或多个氨基酸。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含该表位的C末端旁侧的一个或多个氨基酸以及该表位的N末端旁侧的一个或多个氨基酸。在一些实施方案中,旁侧氨基酸不是初始旁侧氨基酸。在一些实施方案中,在本文所述的方法中使用的第一表位结合MHC I类分子并且第二表位结合MHC II类分子。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大该肽的体内半衰期。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增高该肽的细胞靶向。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大对该肽的细胞摄取。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大肽加工性。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大该表位的MHC亲和力。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大该表位的MHC稳定性。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大MHC I类分子和/或MHC II类分子对该表位的呈递。

[0273] 在一些实施方案中,使用测序方法来鉴定肿瘤特异性突变。根据本发明可以使用任何合适的测序方法,例如,下一代测序(NGS)技术。第三代测序方法可能在未来取代NGS技术以加速该方法的测序步骤。为了阐明的目的:在本发明上下文中的术语“下一代测序”或“NGS”意指与被称为Sanger化学法的“常规”测序方法相比的所有高通量测序技术,其通过将整个基因组分成小块,沿整个基因组平行随机读取核酸模板。这类NGS技术(也称为大规模平行测序技术)能够在非常短的时间段内,例如1-2周内,例如1-7天内或少于24个小时

内,提供全基因组、外显子组、转录组(基因组的所有转录序列)或甲基化组(基因组的所有甲基化序列)的核酸序列信息,并且原则上允许单细胞测序方法。可商购获得的或文献中提到的多个NGS平台可以在本发明的背景中使用,例如,在WO 2012/159643中详细描述的那些NGS平台。

[0274] 在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽连接至至少第二肽,例如通过聚甘氨酸或聚丝氨酸接头进行连接。在一些实施方案中,所述修饰是缀合至载体蛋白质、缀合至配体、缀合至抗体、PEG化、多唾液酸化HES化、重组PEG模拟、Fc融合、白蛋白融合、纳米颗粒附接、纳米颗粒囊化、胆固醇融合、铁融合、酰化、酰胺化、糖基化、侧链氧化、磷酸化、生物素化、添加表面活性材料、添加氨基酸模拟物或添加非天然氨基酸。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽进一步包含修饰,所述修饰增大对特定的器官、组织或细胞类型的细胞靶向。在一些实施方案中,包含经验证的表位的肽包含靶向抗原呈递细胞的部分或标志物。在一些实施方案中,抗原呈递细胞是树突细胞。在一些实施方案中,通过利用DEC205、XCR1、CD197、CD80、CD86、CD123、CD209、CD273、CD283、CD289、CD184、CD85h、CD85j、CD85k、CD85d、CD85g、CD85a、CD141、CD11c、CD83、TSLP受体、C1ec9a或CD1a标志物,对树突细胞进行靶向。在一些实施方案中,通过利用CD141、DEC205、C1ec9a或XCR1标志物,对树突细胞进行靶向。在一些实施方案中,树突细胞是自体细胞。在一些实施方案中,树突细胞中的一个或多个结合至T细胞。

[0275] 在一些实施方案中,本文所述的方法包括大规模生产和储藏用于治疗癌症或肿瘤的对应于共享抗原的HLA匹配的肽。

[0276] 在一些实施方案中,本文所述的方法包括治疗方法,包括向患有癌症的受试者施用抗原特异性T细胞,所述抗原特异性T细胞对经验证的表位是特异性的,所述经验证的表位选自表1-8和11-14中的任何表中所示的HLA匹配的肽库。在一些实施方案中,表位特异性T细胞通过输注而施用于患者。在一些实施方案中,所述T细胞通过直接静脉内注射而施用于患者。在一些实施方案中,所述T细胞是自体T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是同种异体T细胞。

[0277] 本公开内容的方法可以用于治疗本领域已知的任何癌症类型。在一些实施方案中,治疗癌症的方法包括治疗乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、肺癌、转移性黑色素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、间皮瘤、肾细胞癌、胃癌、胃部癌、卵巢癌、NHL、白血病、子宫癌、结肠癌、膀胱癌、肾癌或子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述癌症选自癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、白血病、鳞状细胞癌、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺的鳞状癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠道癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、黑色素瘤、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、头颈癌、结直肠癌、直肠癌、软组织肉瘤、卡波济肉瘤、B细胞淋巴瘤(包括低度/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞(SL)NHL、中度/滤泡性NHL、中度弥漫性NHL、高度免疫母细胞型NHL、高度淋巴细胞NHL、高度小型非裂解细胞NHL、大肿块疾病NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、骨髓瘤、毛细胞白血病、慢性髓细胞白血病和移植后淋巴增生性障碍(PTLD)、与斑痣性错构瘤病相关的异常血管增生、水肿、Meigs综合征。通过本公开的方法治疗的癌症的非限制性实

例可以包括黑素瘤(例如,转移性恶性黑素瘤)、肾癌(例如,透明细胞癌)、前列腺癌(例如,激素难治性前列腺腺癌)、胰腺腺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌(例如非小细胞肺癌)、食管癌、头颈部鳞状细胞癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、甲状腺癌、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、白血病、淋巴瘤和其他肿瘤性恶性肿瘤。在一些实施方案中,通过本公开的治疗方法治疗的癌症选自癌、鳞状癌、腺癌、恶性毒瘤、子宫内膜癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、输卵管癌、原发性腹膜癌、结肠癌、结直肠癌、肛殖区域的鳞状细胞癌、黑素瘤、肾细胞癌、肺癌、非小细胞肺癌、肺的鳞状细胞癌、胃癌、膀胱癌、胆囊癌、肝癌、甲状腺癌、喉癌、唾液腺癌、食管癌、头颈癌、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌、前列腺癌、胰腺癌、间皮瘤、肉瘤、血液学癌症、白血病、淋巴瘤、神经瘤及其组合。在一些实施方案中,通过本公开的方法治疗的癌症包括例如癌、鳞状癌(例如子宫颈管、眼睑、结膜、阴道、肺、口腔、皮肤、膀胱、舌头、喉和食道的癌症)和腺癌(例如,前列腺、小肠、子宫内膜、子宫颈管、大肠、肺、胰腺、食道、直肠、子宫、胃、乳腺和卵巢的癌症)。在一些实施方案中,将通过本公开的方法治疗的癌症进一步包括恶性毒瘤(例如,肌源性肉瘤)、白血球组织增生、神经瘤、黑素瘤和淋巴瘤。在一些实施方案中,将通过本公开的方法治疗的癌症是乳腺癌。在一些实施方案中,将通过本公开的治疗方法治疗的癌症是三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中,将通过本公开的治疗方法治疗的癌症是前列腺癌。在一些实施方案中,将通过本公开的治疗方法治疗的癌症是结直肠癌。在一些实施方案中,将通过本公开的药物组合物治疗的患者或患者群体患有实体瘤。在一些实施方案中,该实体瘤是黑素瘤、肾细胞癌、肺癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、胆囊癌、喉癌、肝癌、甲状腺癌、胃癌、唾液腺癌、前列腺癌、胰腺癌或默克尔细胞癌。在一些实施方案中,将通过本公开的药物组合物治疗的患者或患者群体患有血液学癌症。在一些实施方案中,患者患有血液学癌症,如弥漫性大B细胞淋巴瘤(“DLBCL”)、霍奇金淋巴瘤(“HL”)、非霍奇金淋巴瘤(“NHL”)、滤泡性淋巴瘤(“FL”)、急性髓样白血病(“AML”)或多发性骨髓瘤(“MM”)。在一些实施方案中,待治疗的患者或患者群体所患的癌症选自卵巢癌、肺癌和黑素瘤。

[0278] 本文中提供的药物组合物可以单独地使用,或者与常规治疗方案(例如手术、辐射、化疗和/或骨髓移植(自体、同基因、同种异体或不相关))联用。在一些实施方案中,除了包含免疫原性疗法的药物组合物之外,还可以施用至少一种或多种化疗剂。在一些实施方案中,一种或多种化疗剂可以属于不同的化疗剂类型。在实施本文中提供的治疗或使用方法时,可以将治疗有效量的所述药物组合物施用于患有疾病或病症的受试者。治疗有效量可以根据疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力和其他因素而广泛地变化。

[0279] 在一些实施方案中,所述治疗方法包括在移植T细胞之前的一轮或多轮白细胞去除术。白细胞去除术可以包括收集外周血单核细胞(PBMC)。白细胞去除术可以包括在收集之前使PBMC迁移。或者,可以收集非迁移的PBMC。可以在一轮中从受试者收集大体积的PBMC。或者,对受试者可以进行两轮或更多轮白细胞去除术。单采术的体积可以取决于移植所需的细胞的数量。例如,可以在一轮中从受试者收集12-15升的非迁移的PBMC。要从受试者收集的PBMC的数量可以是 1×10^8 至 5×10^{10} 个细胞。要从受试者收集的PBMC的数量可以是 1×10^8 、 5×10^8 、 1×10^9 、 5×10^9 、 1×10^{10} 或 5×10^{10} 个细胞。要从受试者收集的PBMC的最低数量可以是 1×10^6 /kg受试者重量。要从受试者收集的PBMC的最低数量可以是 1×10^6 /kg、 5×10^6 /kg、

$1 \times 10^7/\text{kg}$ 、 $5 \times 10^7/\text{kg}$ 、 $1 \times 10^8/\text{kg}$ 、 $5 \times 10^8/\text{kg}$ 受试者重量。

[0280] 单次输注可以包含 1×10^6 个细胞/受试者的平方米身体表面(个细胞/ m^2)至 5×10^9 个细胞/ m^2 的剂量。单次输注可以包含约 2.5×10^6 至约 5×10^9 个细胞/ m^2 。单次输注可以包含至少约 2.5×10^6 个细胞/ m^2 。单次输注可以包含至多 5×10^9 个细胞/ m^2 。单次输注可以包含 1×10^6 至 2.5×10^6 、 1×10^6 至 5×10^6 、 1×10^6 至 7.5×10^6 、 1×10^6 至 1×10^7 、 1×10^6 至 5×10^7 、 1×10^6 至 7.5×10^7 、 1×10^6 至 1×10^8 、 1×10^6 至 2.5×10^8 、 1×10^6 至 5×10^8 、 1×10^6 至 1×10^9 、 1×10^6 至 5×10^9 、 2.5×10^6 至 5×10^6 、 2.5×10^6 至 7.5×10^6 、 2.5×10^6 至 1×10^7 、 2.5×10^6 至 5×10^7 、 2.5×10^6 至 7.5×10^7 、 2.5×10^6 至 1×10^8 、 2.5×10^6 至 2.5×10^8 、 2.5×10^6 至 5×10^8 、 2.5×10^6 至 1×10^9 、 2.5×10^6 至 5×10^9 、 5×10^6 至 7.5×10^6 、 5×10^6 至 1×10^7 、 5×10^6 至 5×10^7 、 5×10^6 至 7.5×10^7 、 5×10^6 至 1×10^8 、 5×10^6 至 2.5×10^8 、 5×10^6 至 5×10^8 、 5×10^6 至 1×10^9 、 5×10^6 至 5×10^9 、 7.5×10^6 至 1×10^7 、 7.5×10^6 至 5×10^7 、 7.5×10^6 至 7.5×10^7 、 7.5×10^6 至 1×10^8 、 7.5×10^6 至 2.5×10^8 、 7.5×10^6 至 5×10^8 、 7.5×10^6 至 1×10^9 、 7.5×10^6 至 5×10^9 、 1×10^7 至 5×10^7 、 1×10^7 至 7.5×10^7 、 1×10^7 至 1×10^8 、 1×10^7 至 2.5×10^8 、 1×10^7 至 5×10^8 、 1×10^7 至 1×10^9 、 1×10^7 至 5×10^9 、 5×10^7 至 7.5×10^7 、 5×10^7 至 1×10^8 、 5×10^7 至 2.5×10^8 、 5×10^7 至 5×10^8 、 5×10^7 至 1×10^9 、 5×10^7 至 5×10^9 、 7.5×10^7 至 1×10^8 、 7.5×10^7 至 2.5×10^8 、 7.5×10^7 至 5×10^8 、 7.5×10^7 至 1×10^9 、 7.5×10^7 至 5×10^9 、 1×10^8 至 2.5×10^8 、 1×10^8 至 5×10^8 、 1×10^8 至 1×10^9 、 1×10^8 至 5×10^9 、 2.5×10^8 至 5×10^8 、 2.5×10^8 至 1×10^9 、 2.5×10^8 至 5×10^9 、 5×10^8 至 1×10^9 、 5×10^8 至 5×10^9 或 1×10^9 至 5×10^9 个细胞/ m^2 。单次输注可以包含 1×10^6 个细胞/ m^2 、 2.5×10^6 个细胞/ m^2 、 5×10^6 个细胞/ m^2 、 7.5×10^6 个细胞/ m^2 、 1×10^7 个细胞/ m^2 、 5×10^7 个细胞/ m^2 、 7.5×10^7 个细胞/ m^2 、 1×10^8 个细胞/ m^2 、 2.5×10^8 个细胞/ m^2 、 5×10^8 个细胞/ m^2 、 1×10^9 个细胞/ m^2 或 5×10^9 个细胞/ m^2 。

[0281] 所述方法可以包括将化疗施用于受试者,包括利用高剂量的清髓剂进行淋巴细胞耗尽的化疗。在一些实施方案中,所述方法包括在第一或后续剂量之前向受试者施用预适应剂,例如淋巴细胞耗尽剂(lymphodepleting agent)或化疗剂,例如环磷酰胺、氟达拉滨或其组合。例如,在第一或后续剂量之前至少2天(例如至少3、4、5、6、7、8、9或10天),受试者可以被施用预适应剂。在一些实施方案中,在第一或后续剂量之前不超过10天(例如不超过9、8、7、6、5、4、3或2天),受试者被施用预适应剂。

[0282] 在一些实施方案中,在所述淋巴细胞耗尽剂包括环磷酰胺的情况下,受试者被施用 $0.3 \text{g}/\text{平方米}$ 的受试者身体表面(g/m^2)至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 环磷酰胺。在一些情况中,向受试者施用的环磷酰胺的量是约至少 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的环磷酰胺的量是约至多 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的环磷酰胺的量是约 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.3 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.4 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.5 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.6 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.7 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.8 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $1 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $2 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $3 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $4 \text{g}/\text{m}^2$ 、 $0.9 \text{g}/\text{m}^2$ 至 $5 \text{g}/\text{m}^2$ 。

m^2 至 $1g/m^2$ 、 $0.9g/m^2$ 至 $2g/m^2$ 、 $0.9g/m^2$ 至 $3g/m^2$ 、 $0.9g/m^2$ 至 $4g/m^2$ 、 $0.9g/m^2$ 至 $5g/m^2$ 、 $1g/m^2$ 至 $2g/m^2$ 、 $1g/m^2$ 至 $3g/m^2$ 、 $1g/m^2$ 至 $4g/m^2$ 、 $1g/m^2$ 至 $5g/m^2$ 、 $2g/m^2$ 至 $3g/m^2$ 、 $2g/m^2$ 至 $4g/m^2$ 、 $2g/m^2$ 至 $5g/m^2$ 、 $3g/m^2$ 至 $4g/m^2$ 、 $3g/m^2$ 至 $5g/m^2$ 或 $4g/m^2$ 至 $5g/m^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的环磷酰胺的量是约 $0.3g/m^2$ 、 $0.4g/m^2$ 、 $0.5g/m^2$ 、 $0.6g/m^2$ 、 $0.7g/m^2$ 、 $0.8g/m^2$ 、 $0.9g/m^2$ 、 $1g/m^2$ 、 $2g/m^2$ 、 $3g/m^2$ 、 $4g/m^2$ 或 $5g/m^2$ 。在一些实施方案中,以约 $20mg/kg$ 至 $100mg/kg$ (例如约 $40mg/kg$ 至 $80mg/kg$)的剂量利用环磷酰胺对受试者进行预适应。在一些方面,利用约 $60mg/kg$ 的环磷酰胺对受试者进行预适应。

[0283] 在一些实施方案中,在所述淋巴细胞耗尽剂包括氟达拉滨的情况下,以约1毫克/平方米的受试者身体表面(mg/m^2)至 $100mg/m^2$ 的剂量对受试者施用氟达拉滨。在一些情况中,向受试者施用的氟达拉滨的量是约至少 $1mg/m^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的氟达拉滨的量是约至多 $100mg/m^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的氟达拉滨的量是约 $1mg/m^2$ 至 $5mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $10mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $15mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $20mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $30mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $1mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $10mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $15mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $20mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $30mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $15mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $20mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $30mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $20mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $30mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $30mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 至 $40mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $40mg/m^2$ 至 $50mg/m^2$ 、 $40mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $40mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $40mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $50mg/m^2$ 至 $70mg/m^2$ 、 $50mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $50mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 、 $70mg/m^2$ 至 $90mg/m^2$ 、 $70mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 或 $90mg/m^2$ 至 $100mg/m^2$ 。在一些情况中,向受试者施用的氟达拉滨的量是约 $1mg/m^2$ 、 $5mg/m^2$ 、 $10mg/m^2$ 、 $15mg/m^2$ 、 $20mg/m^2$ 、 $30mg/m^2$ 、 $40mg/m^2$ 、 $50mg/m^2$ 、 $70mg/m^2$ 、 $90mg/m^2$ 或 $100mg/m^2$ 。在一些实施方案中,氟达拉滨可以以单次剂量进行施用,或者可以以多次剂量进行施用,例如每日、每隔一天或每三天进行施用。例如,在一些情形中,所述药剂例如氟达拉滨约1至5次例如约3至5次地进行施用。在一些实施方案中,这种多次剂量在同一天中例如每日1至5次或3至5次地进行施用。

[0284] 在一些实施方案中,所述淋巴细胞耗尽剂包括药剂的组合,例如环磷酰胺和氟达拉滨的组合。因此,药剂的组合可以包括任何剂量或给药方案(例如上述那些)的环磷酰胺以及任何剂量或给药方案(例如上述那些)的氟达拉滨。例如,在一些方面,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $400mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $20mg/m^2$ 氟达拉滨。在一些示例中,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $500mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $25mg/m^2$ 氟达拉滨。在一些示例中,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $600mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $30mg/m^2$ 氟达拉滨。在一些示例中,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $700mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $35mg/m^2$ 氟达拉滨。在一些示例中,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $700mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $40mg/m^2$ 氟达拉滨。在一些示例中,在第一或后续剂量的T细胞之前,受试者被施用 $800mg/m^2$ 的环磷酰胺以及一剂或多剂的 $45mg/m^2$ 氟达拉滨。

[0285] 氟达拉滨和环磷酰胺可以在交替天进行施用。在一些情况中，氟达拉滨和环磷酰胺可以同时地进行施用。在一些情况中，初始剂量的氟达拉滨后随环磷酰胺的剂量。在一些情况中，初始剂量的环磷酰胺可以后随初始剂量的氟达拉滨。在一些示例中，治疗方案可以包括在移植之前10天用初始剂量的氟达拉滨治疗受试者，然后在细胞移植之前9天施用初始剂量的环磷酰胺，同时用第二剂量的氟达拉滨进行治疗。在一些示例中，治疗方案可以包括在移植之前8天用初始剂量的氟达拉滨治疗受试者，然后在移植之前7天用初始剂量的环磷酰胺，同时用第二剂量的氟达拉滨进行治疗。

[0286] 在一些实施方案中，肽包含根据表1-8和11-14中的任一表的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表1的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表2的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表3的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4A的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4B的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4C的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4D的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4E的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4F的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4G的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4H的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4I的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4J的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4K的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4L的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表4M的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表5的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表6的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表7的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表8的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表11的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表12的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表13的表位序列。在一些实施方案中，肽包含根据表14的表位序列。

表1

基因	氨基酸改变	突变序列背景	肽（结合 HLA 等位基因的示例）	示例性疾病
表 1A		点突变		
KRAS	G12C	MTEYKLVVVGA CGVGKSALTIQLI QNHFVDEYDPTI EDSYRKQVVIDG ETCLLDILDTAG QE	KLVVVGACGV (A02.01) LVVVGACGV (A02.01) VVGACGVGK (A03.01, A11.01) VVVGACGVGK (A03.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC 、 HNSC 、 LUAD 、 PAAD 、 UCEC

KRA S	G12D	MTEYKLVVVGGA DGVGKSALTIQL IQNHVDEYDPTI EDSYRKQVVIDG ETCLLDILDTAG QE	VVGADGVGK (A11.01) VVVGADGVGK (A11.01) KLVVVGADGV (A02.01) LVVVGADGV (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CESC 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 KIRP 、 LIHC 、 LUAD 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
KRA S	G12V	MTEYKLVVVGGA VGVGKSALTIQL IQNHVDEYDPTI EDSYRKQVVIDG ETCLLDILDTAG QE	KLVVVGAVGV (A02.01) LVVVGAVGV (A02.01) VVGAVGVGK (A03.01, A11.01) VVVGAVGVGK (A03.01, A11.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC 、 LUAD 、 PAAD 、 THCA 、 UCEC
KRA S	Q61H	AGGVGKSALTIQ LIQNHVDEYDP TIEDSYRKQVVI DGETCLLDILDT AGHEEYSAMRD QYMRTGEGFLC VFAINNTKSFEDI HHYREQIKRVKD SEDVPM	ILDTAGHEEY (A01.01)	CRC 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC

KRA S	Q61L	AGGVGKSALTIQ LIQNHVDEYDP TIEDSYRKQVVI DGETCLLDILDT AG <u>L</u> EEYSAMRD QYMRTGEGFLC VFAINNTKSFEDI HHYREQIKRVKD SEDVPM	ILDTAGLEEY (A01.01) LLDILD <u>T</u> AGL (A02.01)	CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LUAD 、 SKCM 、 UCEC
NRA S	Q61K	AGGVGKSALTIQ LIQNHVDEYDP TIEDSYRKQVVI DGETCLLDILDT AG <u>K</u> EEYSAMRD QYMRTGEGFLC VFAINNSKSFADI NLYREQIKRVKD SDDVPM	ILDTAGKEEY (A01.01)	BLCA 、 CRC 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 SKCM 、 THCA 、 UCEC
NRA S	Q61R	AGGVGKSALTIQ LIQNHVDEYDP TIEDSYRKQVVI DGETCLLDILDT AG <u>R</u> EEYSAMRD QYMRTGEGFLC VFAINNSKSFADI NLYREQIKRVKD SDDVPM	ILDTAGREEY (A01.01)	BLCA 、 CRC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD 、 SKCM 、 THCA 、 UCEC

BTK	C481S	MIKEGSMSEDEF IEEAKVMMNLS HEKLVQLYGVC TKQRPIFIITEYM ANG <u>S</u> LLNYLRE MRHRFQTQQLL EMCKDVCEAME YLESKQFLHRDL AARNCLVND	EYMANGSLL (A24.02) MANGSLLNY (A01.01, A03.01, A11.01) MANGSLLNYL (A02.01, B07.02, B08.01) SLLNYLREM (A02.01, B07.02, B08.01) YMANGSLLN (A02.01) YMANGSLLNY (A01.01, A03.01, A11.01)	CLL
EGF R	S492R	SLNITSLGLRSLK EISDGDVIISGNK NLCYANTINWK KLFGTSGQKTKII <u>R</u> NRGENSCKAT GQVCHALCSPEG CWGPEPRDCVSC RNVSARGRECVD KCNLL	IIRNRGENSCK (A03.01)	CRC

EGFR	T790M	<p>IPVAIKELREATS PKANKEILDEAY VMASVDNPHVC RLLGICLTSTVQL IMQLMPFGCLLD YVREHKDNIGSQ YLLNWCVQIAK GMNYLEDRLV HRDLAA</p>	<p>CLTSTVQLIM (A01.01, A02.01) IMQLMPFGC (A02.01) IMQLMPFGCL (A02.01, A24.02, B08.01) LIMQLMPFG (A02.01) LIMQLMPFGC (A02.01) LTSTVQLIM (A01.01) MQLMPFGCL (A02.01, B07.02, B08.01) MQLMPFGCLL (A02.01, A24.02, B08.01) QLIMQLMPF (A02.01, A24.02, B08.01) QLIMQLMPFG (A02.01) STVQLIMQL (A02.01) VQLIMQLMPF (A02.01, A24.02, B08.01)</p>	NSCLC、PRAD
------	-------	---	--	------------

<p>ABL 1</p>	<p>E255K</p>	<p>VADGLITTLHYP APKRNKPTVYG VSPNYDKWEME RTDITMKHKLGG GQY<u>G</u>KVYEGVW KKYSLTVAVKTL KEDTMEVEEFLK EAAVMKEIKHPN LVQLLGVC</p>	<p>GQYGKVYEG (A02.01) GQYGKVYEGV (A02.01) KLGGGQY<u>G</u>K (A03.01) KLGGGQY<u>G</u>KV (A02.01) KVYEGVWKK (A02.01, A03.01) KVYEGVWKKY (A03.01) QYGVVYEGV (A24.02) QYGVVYEGVW (A24.02)</p>	<p>慢性髓样 白血 病 (CML)、急 性淋巴细 胞白血 病 (ALL)、胃 肠道基 质 瘤(GIST)</p>
<p>ABL 1</p>	<p>E255V</p>	<p>VADGLITTLHYP APKRNKPTVYG VSPNYDKWEME RTDITMKHKLGG GQY<u>G</u>VVYEGVW KKYSLTVAVKTL KEDTMEVEEFLK EAAVMKEIKHPN LVQLLGVC</p>	<p>GQYGVVYEG (A02.01) GQYGVVYEGV (A02.01) KLGGGQY<u>G</u>V (A02.01) KLGGGQY<u>G</u>VV (A02.01) QYGVVYEGV (A24.02) QYGVVYEGVW (A24.02) VVYEGVWKK (A02.01, A03.01) VVYEGVWKKY (A03.01)</p>	<p>慢性髓样 白血 病 (CML)、急 性淋巴细 胞白血 病 (ALL)、胃 肠道基 质 瘤(GIST)</p>

ABL 1	M351T	LLGVCTREPPFYI ITEFMTYGNLLD YLRECNRQEVN AVVLLYMATQIS SATEYLEKKNFI HRDLAARNCLV GENHLVKVADF GLSRLMTGDTYT AHAGAKF	ATQISSATEY (A01.01) ISSATEYLEK (A03.01) SSATEYLEK (A03.01) TQISSATEYL (A02.01) YMATQISSAT (A02.01)	慢性髓样 白血病 (CML)、急 性淋巴细 胞白血病 (ALL)、胃 肠道基质 瘤(GIST)
ABL 1	T315I	SLTVAVKTLKED TMEVEEFLKEAA VMKEIKHPNLVQ LLGVCTREPPFYI IIEFMTYGNLLD YLRECNRQEVN AVVLLYMATQIS SAMEYLEKKNFI HRDLA	FYIIIEFMTY (A24.02) IIEFMTYGNL (A02.01) IIIEFMTYG (A02.01) IIIIEFMTYGN (A02.01) YIIIEFMTYG (A02.01)	慢性髓样 白血病 (CML)、急 性淋巴细 胞白血病 (ALL)、胃 肠道基质 瘤(GIST)
ABL 1	Y253H	STVADGLITTLH YPAPKRNKPTVY GVSPNYDKWEM ERTDITMKHKL GGQHGEVYEGV WKKYSLTVAVK TLKEDTMEVEEF LKEAAVMKEIK HPNLVQLLG	GQHGEVYEGV (A02.01) KLGGGQHGEV (A02.01)	慢性髓样 白血病 (CML)、急 性淋巴细 胞白血病 (ALL)、胃 肠道基质 瘤(GIST)

ALK	G1269A	SSLAMLDLLHVA RDIACGCQYLEE NHFIHRDIAARN CLLTCGPGRVA KIADFGMARDIY RASYYRKGGCA MLPVKWMPPEA FMEGIFTSKTDT WSFGVLL	KIADFGMAR (A03.01) RVAKIADFGM (A02.01, B07.02)	NSCLC
ALK	L1196M	QVAVKTLPEVCS EQDELDFLMEAL IISKFNHQNIVRC IGVSLQSLPRFIL MELMAGGDLKS FLRETRPRPSQPS SLAMLDLLHVA RDIACGCQYLEE NHFI	FILMELMAGG (A02.01) ILMELMAGG (A02.01) ILMELMAGGD (A02.01) LMELMAGGDL (A02.01) LPRFILMEL (B07.02, B08.01) LPRFILMELM (B07.02) LQSLPRFILM (A02.01, B08.01) SLPRFILMEL (A02.01, A24.02, B07.02, B08.01)	NSCLC
BRAF	V600E	MIKLIDIARQTA QGMDYLHAKSII HRDLKSNNIFLH EDLTVKIGDFGL ATEKSRWSGSH QFEQLSGSILWM APEVIRMQDKNP YSFQSDVYAFGI VLYELM	LATEKSRWS (A02.01, B08.01) LATEKSRWSG (A02.01, B08.01)	CRC 、 GBM 、 KIRP 、 LUAD 、 SKCM 、 THCA

EEF1 B2	S43G	MGFGDLKSPAG LQVLNDYLADK SYIEGYVPSQAD VAVFEAVSGPPP ADLCHALRWYN HIKSYEKEKASL PGVKKALGKYG PADVEDTTGSGA T	GPPPADLCHAL (B07.02)	BLCA 、 KIRP 、 PRAD 、 SKCM
ERB B3	V104M	ERCEVVMGNLEI VLTGHNADLSFL QWIREVTGYVL VAMNEFSTLPLP NLRMVRGTQVY DGKFAIFVMLNY NTNSSHALRQLR LTQLTEILSGGV YIEKNDK		CRC、胃癌
ESR1	D538G	HLMAGAGLTLQ QQHQRLAQLLLI LSHIRHMSNKG MEHLYSMKCKN VVPLYGLLLEML DAHRLHAPTSRG GASVEETDQSHL ATAGSTSSHSLQ KYYITGEA	GLLLEMLDA (A02.01) LYGLLLEML (A24.02) NVVPLYGLL (A02.01) PLYGLLLEM (A02.01) PLYGLLLEML (A02.01, A24.02) VPLYGLLLEM (B07.02) VVPLYGLLL (A02.01, A24.02)	乳腺癌

ESR1	S463P	NQGKCV E GMVE IFDMLLATSSRFR MMNLQGEEFVC LKSILLNSGVYT FLPSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDT LIHLM A KAGLTL QQHQRLAQLL LILSH	FLPSTLKSL (A02.01, A24.02, B08.01) GVYTFLPST (A02.01) GVYTFLPSTL (A02.01, A24.02) TFLPSTLKSL (A24.02) VYTFLPSTL (A24.02) YTFLPSTLK (A03.01)	乳腺癌
ESR1	Y537C	IHLMAKAGLTLQ QQHQRLAQLLI LSHIRHMSNKG MEHLYSMKCKN VVPLCDLLEML DAHRLHAPTSRG GASVEETDQSHL ATAGSTSSHSLQ KYYITGE	NVVPLCDLL (A02.01) NVVPLCDLLL (A02.01) PLCDLLEM (A02.01) PLCDLLEML (A02.01) VPLCDLLEM (B07.02) VVPLCDLLL (A02.01, A24.02)	乳腺癌
ESR1	Y537N	IHLMAKAGLTLQ QQHQRLAQLLI LSHIRHMSNKG MEHLYSMKCKN VVPLNDLLEML DAHRLHAPTSRG GASVEETDQSHL ATAGSTSSHSLQ KYYITGE	NVVPLNDLL (A02.01) NVVPLNDLLL (A02.01) PLNDLLEM (A02.01) PLNDLLEML (A02.01) VPLNDLLEM (B07.02)	乳腺癌

ESR1	Y537S	IHLMAKAGLTLQ QQHQRLAQLLI LSHIRHMSNKG MEHLYSMKCKN VVPLSDLLLEML DAHRLHAPTSRG GASVEETDQSHL ATAGSTSSHSLQ KYYITGE	NVVPLSDLL (A02.01) NVVPLSDLLL (A02.01) PLSDLLEM (A02.01) PLSDLLEML (A02.01) VPLSDLLEM (B07.02) VVPLSDLLL (A02.01, A24.02)	乳腺癌
FGFR3	S249C	HRIGGIKLRHQQ WSLVMESVVPS DRGNYTCVVEN KFGSIRQTYTLD VLERCPHRPILQ AGLPANQTAVL GSDVEFHCKVYS DAQPHIQWLKH VEVNGSKVG	VLERCPHRPI (A02.01, B08.01) YTLDVLERC (A02.01)	BLCA 、 HNSC 、 KIRP 、 LUSC
FRG1B	L52S	AVKLSDSRIALK SGYGKYLGINSD ELVGHSDAIGPR EQWEPVFQNGK MALASNSCFIR CNEAGDIEAKSK TAGEEEMIKIRSC AEKETKKKDDIP EEDKG	FQNGKMALS (A02.01)	GBM 、 KIRP 、 PRAD 、 SKCM

HER 2	V777L (抗性)	GSGAFGTVYKGI WIPDGENVKIPV AIKVLRENTSPK ANKEILDEAYV MAGL <u>G</u> SPYVSRL LGICLTSTVQLV TQLMPYGCLLD HVRENRRGLGS QDLLNWCM	VMAGLGSPYV (A02.01, A03.01)	BRCA
IDH1	R132H	RVEEFKLKQMW KSPNGTIRNILGG TVFREAIICKNIP RLVSGWVKPIIG <u>H</u> HAYGDQYRAT DFVVPGPVKVEI TYTPSDGTQKVT YLVHNFEEGGG VAMGM	KPIIIGHHA (B07.02)	BLCA 、 GBM 、 PRAD
IDH1	R132C	RVEEFKLKQMW KSPNGTIRNILGG TVFREAIICKNIP RLVSGWVKPIIG <u>C</u> HAYGDQYRAT DFVVPGPVKVEI TYTPSDGTQKVT YLVHNFEEGGG VAMGM	KPIIIGCHA (B07.02)	BLCA 、 GBM 、 PRAD

IDH1	R132G	RVVEEFKLKQMW KSPNGTIRNILGG TVFREAIICKNIP RLVSGWVKPIIG <u>G</u> HAYGDQYRAT DFVVPGPVKVEI TYTPSDGTQKVT YLVHNFEEGGG VAMGM	KPIIIGGHA (B07.02)	BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LUAD 、 PAAD 、 PRAD 、 UCEC
IDH1	R132S	RVVEEFKLKQMW KSPNGTIRNILGG TVFREAIICKNIP RLVSGWVKPIIG <u>S</u> HAYGDQYRAT DFVVPGPVKVEI TYTPSDGTQKVT YLVHNFEEGGG VAMGM	KPIIIGSHA (B07.02)	BLCA 、 BRCA 、 GBM 、 HNSC 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
KIT	T670I	VAVKMLKPSAH LTEREALMSELK VLSYLGNHMNIV NLLGACTIGGPT LVII <u>E</u> YCCYGDL NFLRRKRDSFICS KQEDHAEAAALY KNLLHSKESSCS DSTNE	IIIEYCCYGDL (A02.01) TIGGPTLVII (A02.01) VIIIEYCCYG (A02.01)	胃肠道基 质 瘤 (GIST)

KIT	V654A	VEATAYGLIKSD AAMTVAVKMLK PSAHLTEREALM SELKVLSYLGNH MNIANLLGACTI GGPTLVITEYCC YGDLLNFLRRKR DSFICKQEDHA EAALYK	HMNIANLLGA (A02.01) IANLLGACTI (A02.01) MNIANLLGA (A02.01) YLGNHMNIA (A02.01, B08.01) YLGNHMNIAN (A02.01)	胃肠道基 质 瘤 (GIST)
MEK	C121S	ISELGAGNGGVV FKVSHKPSGLVM ARKLIHLEIKPAI RNQIIRELQVLHE SNSPYIVGFYGA FYSDGEISICMEH MDGGSLDQVLK KAGRIPQILGK VSI	VLHESNSPY (A03.01) VLHESNSPYI (A02.01)	黑素瘤
MEK	P124L	LGAGNGGVVFK VSHKPSGLVMA RKLIHLEIKPAIR NQIIRELQVLHEC NSLYIVGFYGAF YSDGEISICMEH MDGGSLDQVLK KAGRIPQILGK VSI	LQVLHECNSL (A02.01, B08.01) LYIVGFYGAF (A24.02) NSLYIVGFY (A01.01) QVLHECNSL (A02.01, B08.01) SLYIVGFY (A02.01) SLYIVGFYGA (A02.01) VLHECNSLY (A03.01) VLHECNSLYI (A02.01, A03.01)	黑素瘤

MYC	E39D	MPLNVSFTNRNY DLDYDSVQPYFY CDEEENFYQQQ QQSDLQPPAPSE DIWKKFELLPTP PLSPSRRSGLCSP SYVAVTPFSLRG DNDGG	FYQQQQQSDL (A24.02) QQSDLQPPA (A02.01) QQSDLQPPA (A02.01) YQQQQQSDL (A02.01, B08.01)	淋巴瘤;伯 基特淋巴 瘤
MYC	P57S	FTNRNYDLDYDS VQPYFYCDEEEN FYQQQQQSELQP PAPSEDIWKKFE LLSTPPLSPSRRS GLCSPSYVAVTP FSLRGDNDGGG GSFSTADQLEMV TELLG	FELLSTPPL (A02.01, B08.01) LLSTPPLSPS (A02.01)	淋巴瘤
MYC	T58I	TNRNYDLDYDS VQPYFYCDEEEN FYQQQQQSELQP PAPSEDIWKKFE LLPIPPLSPSRRS GLCSPSYVAVTP FSLRGDNDGGG GSFSTADQLEMV TELLGG	FELLPIPPL (A02.01) IWKKFELLPI (A24.02) LLPIPPLSPS (A02.01, B07.02) LPIPPLSPS (B07.02)	神经母细 胞瘤
PDG FRa	T674I	VAVKMLKPTAR SSEKQALMSELK IMTHLGPHLNIV NLLGACTKSGPI YIIIIEYCFYGDLV NYLHKNRDSFLS HHPEKPKKELDI FGLNPADESTRS YVILS	IIEYCFYGDL (A02.01) IIIIEYCFYG (A02.01) IYIIIIEYCF (A24.02) IYIIIIEYCFY (A24.02) YIIIIEYCFYG (A02.01)	慢性嗜酸 性粒细胞 白血病

<p>PIK3 CA</p>	<p>E542K</p>	<p>IEEHANWSVSRE AGFSYSHAGLSN RLARDNELREND KEQLKAISTRDP LSK<u>I</u>TEQEKDFL WSHRHYCVTIPE ILPKLLLSVKWN SRDEVAQMYCL VKDWPP</p>	<p>KITEQEKDFL (A02.01)</p>	<p>BLCA 、 BRCA 、 CESC 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 KIRC 、 KIRP 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PRAD 、 UCEC</p>
<p>PIK3 CA</p>	<p>E545K</p>	<p>HANWSVSREAG FSYSHAGLSNRL ARDNELRENDK EQLKAISTRDPLS EIT<u>K</u>QEKDFLWS HRHYCVTIPEILP KLLLSVKWNSR DEVAQMYCLVK DWPPIKP</p>	<p>STRDPLSEITK (A03.01) DPLSEITK (A03.01)</p>	<p>BLCA 、 BRCA 、 CESC 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 KIRC 、 KIRP 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PRAD 、 SKCM 、 UCEC</p>

<p>PIK3 CA</p>	<p>H1047R</p>	<p>LFINLFSMMLGS GMPELQSFDDIA YIRKTLALDKTE QEALEYFMKQM NDARHGWTTK MDWIFHTIKQHA LN</p>	<p>BRCA 、 CESC 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PRAD 、 UCEC</p>
<p>POL E</p>	<p>P286R</p>	<p>QRGGVITDEEET SKKIADQLDNIV DMREYDVPYHIR LSIDIETTKLPLK FRDAETDQIMMI SYMIDGQGYLIT NREIVSEDIEDFE FTPKPEYEGPFC VFN</p>	<p>LPLKFRDAET (B07.02)</p> <p>结肠直肠 腺癌;子宫 /子宫内膜 腺癌;结肠 直肠腺癌、 MSI+; 子 宫/子宫内 膜腺癌、 MSI+; 子 宫内膜样 癌;子宫内 膜浆液性 癌;子宫内 膜癌肉瘤- 恶性中胚 叶混合瘤; 胶质瘤;星 形细胞瘤; GBM</p>

PTE N	R130Q	KFNCRVAQYPFE DHNPPQLELIKPF CEDLDQWLSED DNHVAAIHCKA GKGQTGVMICA YLLHRGKFLKA QEALDFYGEVRT RDKKGVTIPSQR RYVYYYSY	QTGVMICAYL (A02.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC 、 GBM 、 KIRC 、 LUSC 、 UCEC
RAC 1	P29S	MQAIKCVVVG GAVGKTCLLISY TTNAFSGEYIPTV FDNYSANVMVD GKPVNLGLWDT AGQEDYDRLRPL SYPQTVGET	AFSGEYIPTV (A02.01, A24.02)	黑素瘤
TP53	G245S	IRVEGNLRVEYL DDRNTFRHSVV VPYEPPEVGSDC TTIHYNMCMNSS CMGSMNRRPILT IITLEDSSGNLLG RNSFEVRVCACP GRDRRTEEENLR KKGEP	SMNRRPILT (A02.01, B08.01) YMCNSSCMGS (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD
TP53	R175H	TYSPALNKMFCQ LAKTCPVQLWV DSTPPPGTRVRA MAIYKQSQHMT EVVRHCPHERC SDSDGLAPPQHL IRVEGNLRVEYL DDRNTFRHSVV VPYEPPEV		BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LUAD 、 PAAD 、 PRAD 、 UCEC

TP53	R248Q	EGNLRVEYLDD RNTFRHSVVVPY EPPEVGS DCTTIH YNYMCNSSCMG GMNQR <u>P</u> ILTIITL EDSSGNLLGRNS FEVRVCACPGRD RRTEENLRKKG EPHHE	GMNQRPILT (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 KIRC 、 LIHC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD 、 UCEC
TP53	R248W	EGNLRVEYLDD RNTFRHSVVVPY EPPEVGS DCTTIH YNYMCNSSCMG GMNWR <u>P</u> ILTIITL EDSSGNLLGRNS FEVRVCACPGRD RRTEENLRKKG EPHHE	GMNWRPILT (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LIHC 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
TP53	R273C	PEVGS DCTTIHY NYMCNSSCMGG MNR <u>R</u> PILTIITL DSSGNLLGRNSF E <u>V</u> VCACPGRD RRTEENLRKKG EPHHELPPGSTK RALPNNTSSSPQ PKKKPL	LLGRNSFEVC (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC 、 GBM 、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 UCEC
表 1B		MSI 相关移码		
ACV R2A	D96fs ; +1	GVEPCYGDKDK RRHCFATWKNIS GSIEIVKQGCWL DDINCYDRTDCV EKKR <u>Q</u> P*		MSI+ CRC 、 MSI+子宫 /子宫内膜 癌、MSI+ 胃癌、 Lynch 综 合征

<p>ACV R2A</p>	<p>D96fs; - 1</p>	<p>GVEPCYGDKDK RRHCFATWKNIS GSIEIVKQGCWL DDINCYDRTDCV EKKTALKYIFVA <u>VRAICVMKSFLIF</u> <u>RRWKSHSPLQIQ</u> <u>LHLSHPITTSCSIP</u> <u>WCHLC*</u></p>	<p>ALKYIFVAV (A02.01, B08.01) ALKYIFVAVR (A03.01) AVRAICVMK (A03.01) AVRAICVMKS (A03.01) CVEKKTALK (A03.01) CVEKKTALKY (A01.01) CVMKSFLIF (A24.02, B08.01) CVMKSFLIFR (A03.01) FLIFRRWKS (A02.01, B08.01) FRRWKSHSPL (B08.01) FVAVRAICV (A02.01, B08.01) FVAVRAICVM (B08.01) IQLHLSHPI (A02.01) KSFLIFRRWK (A03.01) KTALKYIFV (A02.01) KYIFVAVRAI (A24.02) RWKSHSPLQI (A24.02) TALKYIFVAV</p>	<p>MSI+ CRC、 MSI+子宫 /子宫内膜 癌、MSI+ 胃癌、 Lynch 综 合征</p>
--------------------	-----------------------	---	---	---

			(A02.01, B08.01) VAVRAICVMK (A03.01) VMKSFLIFR (A03.01) VMKSFLIFRR (A03.01) YIFVAVRAI (A02.01)	
--	--	--	--	--

<p>C15 ORF 40</p>	<p>L132fs; +1</p>	<p>TAEAVNVAIAAP PSEGEANAELCR YLSKVLELRKSD VVLDKVGLALFF <u>FFFETKSCSVAQ</u> <u>AGVQWRSLGSL</u> <u>QPPPPGFKLFSCL</u> <u>SFLSSWDYRRMP</u> <u>PCLANFCIFNRD</u> <u>GVSPCWGWS*</u></p>	<p>ALFFFFFFET (A02.01) ALFFFFFFETK (A03.01) AQAGVQWRSL (A02.01) CLANFCIFNR (A03.01) CLSFLSSWDY (A01.01, A03.01) FFETKSCSV (B08.01) FFFETKSCSV (A02.01) FKLFSCLSFL (A02.01) FLSSWDYRRM (A02.01) GFKLFSCLSF (A24.02) KLFSCLSFL (A02.01, A03.01) KLFSCLSFLS (A02.01, A03.01) LALFFFFFFET (A02.01) LFFFFFFETK (A03.01) LSFLSSWDY (A01.01) LSFLSSWDYR (A03.01) RMPPCLANF (A24.02) RRMPPCLANF</p>	<p>MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征</p>
---------------------------	-----------------------	--	---	---

			(A24.02) SLQPPPPGFK (A03.01) VQWRSLGSL (A02.01)	
CNO T1	L1544fs ; +1	LSVIIFFFVYIWH WALPLILNNHHI CLMSSIILDCNSV RQSIMSVCF FFFS <u>VIFSTRCLTDSRY</u> <u>PNICWFK*</u>	FFFSVIFST (A02.01) MSVCFFFFSV (A02.01) SVCFFFFSV (A02.01, B08.01) SVCFFFFSVI (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
CNO T1	L1544fs ; -1	LSVIIFFFVYIWH WALPLILNNHHI CLMSSIILDCNSV RQSIMSVCF FFFC <u>YILNTMFDR*</u>	FFCYILNTMF (A24.02) MSVCFFFCY (A01.01) SVCFFFCYI (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
EIF2 B3	A151fs; -1	VLVLSCDLITDV ALHEVVDLFRA YDASLAMLMRK GQDSIEPVPQK GKKKQWSSVTS <u>LEWTAQERGCSS</u> <u>WLMKQTWMKS</u> <u>WSLRDPSYRSIL</u> <u>EYVSTRVLWMP</u> <u>TSTV*</u>	KQWSSVTS (A02.01) VLWMPSTV (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

EPH B2	K1020fs ; -1	SIQVMRAQMNQI QSVEGQPLARRP RATGRTKRCQPR DVTKKTCNSND <u>GKKREWEKRKQ</u> <u>ILGGGGKYKEYF</u> <u>LKRILIRKAMTV</u> <u>LAGDKKGLGRF</u> <u>MRCVQSETKAV</u> <u>SLQLPLGR*</u>	ILIRKAMTV (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
ESR P1	N512fs; +1	LDFLGEFATDIRT HGVHMLVNHQG RPSGDAFIQMK ADRAFMAAQKC <u>HKKKHEGQIC*</u>		MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
ESR P1	N512fs; -1	LDFLGEFATDIRT HGVHMLVNHQG RPSGDAFIQMK ADRAFMAAQKC <u>HKKT*</u>		MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
FAM 111B	A273fs; -1	GALCKDGRFRSD IGEFEWKLKEGH KKIYGKQSMVD EVSGKVLEMDIS <u>KKKHYNRKISIK</u> <u>KLNRMKVPLMK</u> <u>LITRV*</u>	RMKVPLMK (A03.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

GBP 3	T585fs; -1	RERAQLLEEQEK TLTSKLQEQARV LKERCQGESTQL QNEIQKLQKTLK <u>KKPRDICRIS*</u>	TLKKKPRDI (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
JAK1	P861fs; +1	VNTLKEGKRLPC PPNCPDEVYQLM RKCWEFQPSNRT SFQNLIEGFEALL <u>KTSN*</u>	LIEGFEALLK (A03.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
JAK1	K860fs; -1	CRPVTPSCKELA DLMTRCMNYDP NQRPFRAIMRD INKLEEQNPDIVS <u>EKNQQLKWTPHI</u> <u>LKSAS*</u>	QQLKWTPHI (A02.01) QLKWTPHILK (A03.01) IVSEKNQQLK (A03.01) QLKWTPHILK (A03.01) QQLKWTPHI (A24.02) NQQLKWTPHIL (B08.01) NQQLKWTPHI (B08.01) QLKWTPHIL (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

LMA N1	E305fs; +1	DDHDVLSFLTFQ LTEPGKEPPTPD KEISEKEKEYQ EEFEHFQQELDK <u>KKRGIPEGPPRPP</u> <u>RAACGGNI*</u>	GPPRPPRAAC (B07.02) PPRPPRAAC (B07.02)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
LMA N1	E305fs; -1	DDHDVLSFLTFQ LTEPGKEPPTPD KEISEKEKEYQ EEFEHFQQELDK <u>KKRNSRRATPTS</u> <u>KGSLRRKYLRV*</u>	SLRRKYLRV (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
MSH 3	N385fs; +1	TKSTLIGEDVNP LIKLDDEVNVDE IMTDTSTSYLLCI SENKENVRDKK <u>KGQHFYW HCGS</u> <u>AACHRRGCV*</u>	SAACHRRGCV (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

<p>MSH 3</p>	<p>K383fs; -1</p>	<p>LYTKSTLIGEDV NPLIKLDDAVNV DEIMTDTSTSYL LCISENKENVRD <u>KKRATFLLALW</u> <u>ECSLPQARLCLIV</u> <u>SRTLLLVQS*</u></p>	<p>ALWECSLPQA (A02.01) CLIVSRTLL (B08.01) CLIVSRTLLL (A02.01, B08.01) FLLALWECS (A02.01) FLLALWECSL (A02.01, B08.01) IVSRTLLLV (A02.01) LIVSRTLLL (A02.01, B08.01) LIVSRTLLLV (A02.01) LLALWECSL (A02.01, B08.01) LPQARLCLI (B08.01, B07.02) LPQARLCLIV (B08.01) NVRDKKRATF (B08.01) SLPQARLCLI (A02.01, B08.01)</p>	<p>MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征</p>
------------------	-----------------------	--	--	---

NDU FC2	A70fs ; +1	LPPPKLTDPRLL YIGFLGYCSGLID NLIRRRPIATAGL HRQLLYITAFFFC <u>WILSCKT*</u>	FFCWILSCK (A03.01) FFFCWILSCK (A03.01) ITAFFFCWI (A02.01) LYITAFFFCW (A24.02) YITAFFFCWI (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜 癌、 MSI+ 胃 癌、Lynch 综合征
NDU FC2	F69fs; - 1	SLPPPKLTDPRLL YIGFLGYCSGLID NLIRRRPIATAGL HRQLLYITAFFLL <u>DIIL*</u>	ITAFFLLDI (A02.01) LLYITAFFL (A02.01, B08.01) LLYITAFFLL (A02.01, A24.02) LYITAFFLL (A24.02) LYITAFFLLD (A24.02) YITAFFLLDI (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜 癌、 MSI+ 胃 癌、Lynch 综合征
RBM 27	Q817 ; +1	NQSGGAGEDCQI FSTPGHPKMIYSS SNLKTPSKLCSG SKSHDVQEVLK <u>KKTGSNEVTTRY</u> <u>EEKKTGSVRKA</u> <u>NRMPKDVNIQV</u> <u>RKKQKHETRRK</u> <u>SKYNEDFERAW</u> <u>REDLTIKR*</u>	GSNEVTTRY (A01.01) MPKDVNIQV (B07.02) TGSNEVTTRY (A01.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜 癌、 MSI+ 胃 癌、Lynch 综合征

RPL2 2	K16fs ; +1	MAPVKKLVVKG <u>GKKKEASSEVHS</u> * -	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
RPL2 2	K15fs; - 1	MAPVKKLVVKG <u>GKKRSKF*</u>	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
SEC3 1A	I462fs; +1	MPSHQGAEQQQ QQHHVFISQVVT EKEFLSRSDQLQ QAVQSQGFINYC <u>QKKN*</u>	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

<p>SEC3 1A</p>	<p>I462fs; - 1</p>	<p>MPSHQGAEQQQ QHHVFISQVVT EKEFLSRSDQLQ QAVQSQGFINYC <u>QKKLMLLRLNL</u> <u>RKMCGPF*</u></p>	<p>KKLMLLRLNL (A02.01) KLMLLRLNL (A02.01, A03.01, B07.02, B08.01) KLMLLRLNLR (A03.01) LLRLNLRKM (B08.01) LMLLRLNL (B08.01) LMLLRLNLRK (A03.01) LNLKMCMPF (B08.01) MLLRLNLRK (A03.01) MLLRLNLRKM (A02.01, A03.01, B08.01) NLRKMCMPF (B08.01) NYCQKKLMLL (A24.02) YCQKKLMLL (B08.01)</p>	<p>MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征</p>
--------------------	------------------------	---	--	---

SEC6 3	K530fs; +1	AEVFEKEQSICA AEEQPAEDGQGE TNKNRTKGGWQ QKSKGPKKTAKS <u>KKKETFKKKTYT</u> <u>CAITTVKATETK</u> <u>AGKWSRWE*</u>	FKKKTYTCAI (B08.01) ITTVKATETK (A03.01) KSKKKETFK (A03.01) KSKKKETFKK (A03.01) KTYTCAITTV (A02.01, A24.02) TFKKKTYTC (B08.01) TYTCAITTV (A24.02) TYTCAITTVK (A03.01) YTCAITTVK (A03.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
SEC6 3	K529fs; -1	MAEVFEKEQSIC AAEEQPAEDGQ GETNKNRTKGG WQQKSKGPKKT <u>AKSKKRNL*</u>	TAKSKKRNL (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
SLC3 5F5	C248fs; -1	NIMEIRQLPSSHA LEAKLSRMSYPV KEQESILKTVGK LTATQVAKISFFF <u>ALCGFWQICHIK</u> <u>KHFQTHKLL*</u>	FALCGFWQI (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

SMA P1	K172fs; +1	YEKKKYYDKNA IAITNISSSDAPLQ PLVSSPSLQAAV DKNKLEKEKEK KKGREKERKGA <u>RKAGKTTYS*</u>		MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
SMA P1	K171fs; -1	KYEKKKYYDKN AIAITNISSSDAPL QPLVSSPSLQAA VDKNKLEKEKE KKRKRKREKRS <u>QKSRQNHQLKS</u> <u>CRRKISNWSLKK</u> <u>VPALKKLRSPW</u> <u>IF*</u>	LKKLRSP (B08.01) SLKKVPAL (B08.01) RKISNWSLKK (A03.01) VPALKKLRSP (B07.02)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
TFA M	E148fs; +1	IYQDAYRAEWQ VYKEEISRFKEQ LTPSQIMSLEKEI MDKHLKRKAMT KKKRVNTAWKT <u>KKTSFSL*</u>	KRVNTAWKTK (A03.01) MTKKRVNTA (B08.01) RVNTAWKTK (A03.01) RVNTAWKTKK (A03.01) TKKKRVNTA (B08.01) WTKKTSFSL (B08.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
TFA M	E148fs; -1	IYQDAYRAEWQ VYKEEISRFKEQ LTPSQIMSLEKEI MDKHLKRKAMT <u>KKKS*</u>		MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

TGF BR2	P129fs; +1	KPQEVCAVWR KNDENITLETVC HDPKLPYHDFIL EDAASPKCIMKE <u>KKKAW*</u>		MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
TGF BR2	K128fs: -1	EKPQEVCAVW RKNENITLETVC CHDPKLPYHDFI LEDAASPKCIMK <u>EKKSLVRLSSCV</u> <u>PVALMSAMTTSS</u> <u>SQKNITPAILTCC</u> * —	ALMSAMTTS (A02.01) AMTTSSSQK (A03.01, A11.01) AMTTSSSQKN (A03.01) CIMKEKKS (B08.01) CIMKEKKS (B08.01) IMKEKKS (B08.01) IMKEKKS (B08.01) KSLVRLSSCV (A02.01) LVRLSSCV (A02.01) RLSSCV (A02.01, A03.01) RLSSCV (A02.01) SAMTTSSSQK (A03.01, A11.01) SLVRLSSCV (A02.01) VPVALMSAM (B07.02) VRLSSCV (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征

THA P5	K99fs; - 1	VPSKYQFLCSDH FTPDSLDIRWGIR YLKQTAVPTIFSL PEDNQGKDPSKK <u>NPRRKTWKMRK</u> <u>KYAQKPSQKNH</u> <u>LY*</u>	KMRKKYAQK (A03.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
TTK	R854fs; -1	GTTEEMKYVLG QLVGLNSPNSIL KAAKTLYEHYS GGESHNSSSSKT <u>FEKKGEKNDLQL</u> <u>FVMSDTTYKIY</u> <u>WTVILLNPCGNL</u> <u>HLKTTSL*</u>	FVMSDTTYK (A03.01) FVMSDTTYKI (A02.01) KTFEKKGEK (A03.01) LFVMSDTTYK (A03.01) MSDTTYKIY (A01.01) VMSDTTYKI (A02.01) VMSDTTYKIY (A01.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
XPO T	F126fs; -1	QQLIRETLISWLQ AQMLNPQPEKTF IRNKAQV FALL FVTEYLTKWPKF <u>FLTFSQ*</u>	YLTKWPKFFL (A02.01)	MSI+CRC 、MSI+子 宫/子宫内 膜癌、 MSI+胃 癌、Lynch 综合征
表 1C		移码		

<p>APC</p>	<p>V1352fs F1354fs Q1378fs S1398fs</p>	<p><u>AKFQQCHSTLEP</u> <u>NPADCRVLVYL</u> <u>QNQPGTKLLNFL</u> <u>QERNLPPKVVLRL</u> <u>HPKVHLNTMFR</u> <u>RPHSCLADVLLS</u> <u>VHLIVLRVVRLP</u> <u>APFRVNHAVEW</u> * —</p>	<p>FLQERNLPP (A02.01) FRRPHSCLA (B08.01) LIVLRVVRL (B08.01) LLSVHLIVL (A02.01, B08.01)</p>	<p>CRC 、 LUAD 、 UCEC 、 STAD</p>
<p>APC</p>	<p>S1421fs R1435fs T1438fs P1442fs P1443fs V1452fs P1453fs K1462fs E1464fs</p>	<p><u>APVIFQIALDKPC</u> <u>HQAEVKHLHHL</u> <u>LKQLKPSEKYLK</u> <u>IKHLLLKRERVD</u> <u>LSKLQ*</u></p>	<p>EVKHLHLL (B08.01) HLHLLKQLK (A03.01) HLLKRERV (B08.01) KIKHLLKR (A03.01) KPSEKYLKI (B07.02) KYLKIKHLL (A24.02) KYLKIKHLLL (A24.02) LLKQLKPSEK (A03.01) LLKRERVDL (B08.01) LLLKRERVDL (B08.01) QLKPSEKYLK (A03.01) YLIKIKHLLL (A02.01, B08.01) YLIKIKHLLK (A03.01)</p>	<p>CRC 、 LUAD 、 UCEC 、 STAD</p>

<p>APC</p>	<p>T1487fs H1490fs L1488fs</p>	<p><u>MLQFRGSRFFQ</u> <u>MLILYYILPRKV</u> <u>LQMDFLVHPA*</u></p>	<p>ILPRKVLQM (B08.01) KVLQMDFLV (A02.01, A24.02) LPRKVLQMDF (B07.02, B08.01) LQMDFLVHPA (A02.01) QMDFLVHPA (A02.01) YILPRKVLQM (A02.01, B08.01)</p>	<p>CRC 、 LUAD 、 UCEC 、 STAD</p>
<p>ARI D1A</p>	<p>Q1306fs S1316fs Y1324fs T1348fs G1351fs G1378fs P1467fs</p>	<p><u>ALGPHSRISCLPT</u> <u>QTRGCILLAATP</u> <u>RSSSSSSSNDMIP</u> <u>MAISSPPKAPLL</u> <u>AAPSPASRLQCI</u> <u>NSNSRITSGQWM</u> <u>AHMALLPSGTK</u> <u>GRCTACHTALG</u> <u>RGSLSSSSCPQPS</u> <u>PSLPASNKLPSLP</u> <u>LSKMYTTSMAM</u> <u>PILPLPQLLLSAD</u> <u>QQAAPRTNFHSS</u> <u>LAETVSLHPLAP</u> <u>MPSKTCHHK*</u></p>	<p>APSPASRLQC (B07.02) HPLAPMPSKT (B07.02) ILPLPQLLL (A02.01) LLSADQQA (A02.01) LPTQTRGCI (B07.02) LPTQTRGCIL (B07.02) RISCLPTQTR (A03.01) SLAETVSLH (A03.01) TPRSSSSSS (B07.02) TPRSSSSSSS (B07.02)</p>	<p>STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS</p>

<p>ARI D1A</p>	<p>S674fs P725fs R727fs I736fs</p>	<p><u>AHQGFPAAKESR</u> <u>VIQSLLSLLIPPL</u> <u>TCLASEALPRPL</u> <u>LALPPVLLSLAQ</u> <u>DHSRLLQCQATR</u> <u>CHLGHPVASRTA</u> <u>SCILP*</u></p>	<p>ALPPVLLSL (A02.01) ALPPVLLSLA (A02.01) ALPRPLLAL (A02.01) ASRTASCIL (B07.02) EALPRPLLAL (B08.01) HLGHPVASR (A03.01) HPVASRTAS (B07.02) HPVASRTASC (B07.02) IIQSLLSLL (A02.01) IQLSLLSLL (A02.01) IQLSLLSLI (A02.01, A24.02) LLALPPVLL (A02.01) LLIPPLTCL (A02.01) LLIPPLTCLA (A02.01) LLSLLIPPL (A02.01) LLSLLIPPLT (A02.01) LPRPLLALPP (B07.02) QLSLLSLI</p>	<p>STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS</p>
--------------------	--	---	--	---

			(A02.01) RLLQCQATR (A03.01) RPLLALPPV (B07.02) RPLLALPPVL (B07.02) SLAQDHSRL (A02.01) SLAQDHSRLL (A02.01) SLLIPPLTCL (A02.01) SLLSLLIPP (A02.01) SLLSLLIPPL (A02.01, B08.01)	
--	--	--	--	--

<p>ARI D1A</p>	<p>G414fs Q473fs H477fs S499fs P504fs Q548fs P549fs</p>	<p><u>PILAATGTSVRT</u> <u>AARTWVPRAAIR</u> <u>VPDPAAVPDDH</u> <u>AGPGAECHGRPL</u> <u>LYTADSSLWTR</u> <u>PQRVWSTGPDSI</u> <u>LQPAKSSPSAAA</u> <u>ATLLPATTVPDP</u> <u>SCPTFVSAAATV</u> <u>STTTAPVLSASIL</u> <u>PAAIPASTSAVPG</u> <u>SIPLPAVDDTAA</u> <u>PPEPAPLLTATGS</u> <u>VSLPAAATSAAS</u> <u>TLDALPAGCVSS</u> <u>APVSAVPANCLF</u> <u>PAALPSTAGAIR</u> <u>FIWVSGILSPLND</u> <u>LQ*</u></p>	<p>AAATSAASTL (B07.02) AAIPASTSAV (B07.02) AIPASTSAV (A02.01) ALPAGCVSSA (A02.01) APLLTATGSV (B07.02) APVLSASIL (B07.02) ATLLPATTV (A02.01) ATVSTTTAPV (A02.01) AVPANCLFPA (A02.01) CLFPAALPST (A02.01) CPTFVSAAA (B07.02) FPAALPSTA (B07.02) FPAALPSTAG (B07.02) GAECHGRPL (B07.02) GAISRFIWV (A02.01) ILPAAIPAST (A02.01) IWVSGILSPL (A24.02) LLTATGSVSL</p>	<p>STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS</p>
--------------------	---	---	--	---

			(A02.01) LLYTADSSL (A02.01) LPAAATSAA (B07.02) LPAAATSAAS (B07.02) LPAAIPAST (B07.02) LPAGCVSSA (B07.02) LPAGCVSSAP (B07.02) LYTADSSLW (A24.02) QPAKSSPSA (B07.02) QPAKSSPSAA (B07.02) RFIWVSGIL (A24.02) RPQRVWSTG (B07.02) RVWSTGPDSI (A02.01) SAVPGSIPL (B07.02) SILPAAIPA (A02.01) SLPAAATSA (A02.01) SLPAAATSAA (A02.01) SLWTTRPQR (A03.01)	
--	--	--	--	--

			SLWTTRPQRV (A02.01) SPSAAAATL (B07.02) SPSAAAATLL (B07.02) TLDALPAGCV (A02.01) TVSTTTAPV (A02.01) VLSASILPA (A02.01) VLSASILPAA (A02.01) VPANCLFPA (B07.02) VPANCLFPAA (B07.02) VPDPSCPTF (B07.02) VPGSIPLPA (B07.02) VPGSIPLPAV (B07.02) WVSGILSPL (A02.01) YTADSSLWTT (A02.01)	
--	--	--	---	--

ARI D1A	T433fs	<u>PCRAGRRVPWA</u>	APAGMVNRA (B07.02)	STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS
	A441fs	<u>ASLIHSRFLMD</u>	ASLHRRSYL (B08.01)	
	Y447fs	<u>NKAPAGMVNRA</u>	ASLHRRSYLK (A03.01)	
	P483fs	<u>RLHITTSKVLTL</u>	FLLMDNKAPA (A02.01)	
	P484fs	<u>SSSHPTPSNHRPR</u>	HPRRSPSRL (B07.02, B08.01)	
	P504fs	<u>PLMPNLRISSSH</u>	HPSLHISSP (B07.02)	
	S519fs	<u>LNHHSSSPLSLH</u>	HRRSYLKIHL (B08.01)	
	H544fs	<u>TPSSHPSLHISSP</u>	HSRFLMDNK (A03.01)	
	P549fs	<u>RLHTPPSSRRHSS</u>	KLPIPSSASL (A02.01)	
	P554fs	<u>TPRASPPTHSHR</u>	KVLTLSSSH (A03.01)	
	Q563fs	<u>LSLLTSSSNLSSQ</u>	LIHSRFLLM (B08.01)	
		<u>HPRRSPSRLRILS</u>	LLMDNKAPA (A02.01)	
		<u>PSLSSPSKLPPISS</u>	LMDNKAPAGM (A02.01)	
		<u>ASLHRRSYLKIHL</u>	LPIPSSASL (B07.02)	
		<u>LGLRHPQPPQ*</u>	MPNLRISSS (B07.02, B08.01)	
			MPNLRISSSH (B07.02)	
		NLRISSSHSL (B07.02, B08.01)		
		PPTHSHRLSL		

			(B07.02) RAGRVPWAA (B08.01) RARLHITTSK (A03.01) RISSHSLNH (A03.01) RLHTPPSSR (A03.01) RLHTPPSSRR (A03.01) RLRILSPSL (A02.01, B07.02, B08.01) RPLMPNLRI (B07.02) RPRPLMPNL (B07.02) SASLHRRSYL (B07.02, B08.01) SLHISSPRL (A02.01) SLHRRSYLK (A03.01) SLHRRSYLKI (B08.01) SLIHSRFL (A02.01) SLIHSRFLM (A02.01, B08.01) SLLTSSSNL (A02.01) SLNHHSSSPL (A02.01, B07.02, B08.01)	
--	--	--	--	--

			SLSSPSKLPI (A02.01) SPLSLHTPS (B07.02) SPLSLHTPSS (B07.02) SPPTHSHRL (B07.02) SPRLHTPPS (B07.02) SPRLHTPPSS (B07.02) SPSLSSPSKL (B07.02) SYLKIHLGL (A24.02) TPSNHRPRPL (B07.02, B08.01) TPSSHPSLHI (B07.02)	
--	--	--	--	--

<p>ARI D1A</p>	<p>A2137fs P2139fs L1970fs V1994fs</p>	<p><u>RTNPTVRMRPHC</u> <u>VPFWTGRILLPS</u> <u>AASVCPIPFAC</u> <u>HLCQAMTLRCP</u> <u>NTQGCCSSWAS*</u></p>	<p>CVPFWTGRIL (B07.02) HCVPFWTGRIL (B07.02) ILLPSAASV (A02.01) ILLPSAASVC (A02.01) LLPSAASVCPI (A02.01) LPSAASVCPI (B07.02) MRPHCVPF (B08.01) RILLPSAASV (A02.01) RMRPHCVPF (A24.02, B07.02, B08.01) RMRPHCVPFW (A24.02) RTNPTVRMR (A03.01) SVCPIPFEA (A02.01) TVRMRPHCV (B08.01) TVRMRPHCVPF (B08.01) VPFWTGRIL (B07.02) VPFWTGRILL (B07.02) VRMRPHCVPF (B08.01)</p>	<p>STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS</p>
--------------------	--	--	---	---

ARI D1A	N756fs S764fs T783fs Q799fs A817fs	<u>TNQALPKIEVICR</u> <u>GTPRCPSTVPPSP</u> <u>AQPYLRLVSLPED</u> <u>RYTQAWAPTSR</u> <u>TPWGAMVPRGV</u> <u>SMAHKVATPGS</u> <u>QTIMPCPMPTTP</u> <u>VQAWLEA*</u>	AMVPRGVSM (B07.02, B08.01) AMVPRGV SMA (A02.01) AWAPTSRTPW (A24.02) CPMPTTPVQA (B07.02) CPSTVPPSPA (B07.02) GAMVPRGVSM (B07.02, B08.01) MPCPMPTTPV (B07.02) MPTTPVQAW (B07.02) MPTTPVQAWL (B07.02) SLPEDRYTQA (A02.01) SPAQPYL RV (B07.02) SPAQPYL RVS (B07.02) TIMPCPMPT (A02.01) TPVQAWLEA (B07.02) TS RTPWGAM (B07.02) VPPSPAQPYL (B07.02) VPRGV SMAH (B07.02)	STAD 、 UCEC 、 BLCA 、 BRCA 、 LUSC 、 CESC 、 KIRC 、 UCS
------------	--	--	--	---

β2M	N62fs E67fs L74fs F82fs T91fs E94fs	<u>RMERELKKWSIQ</u> <u>TCLSARTGLSISC</u> <u>TTLNSPPLKKMS</u> <u>MPAV*</u>	CLSARTGLSI (B08.01) CTTLNSPPLK (A03.01) GLSISCTTL (A02.01) SPPLKKMSM (B07.02, B08.01) TLNSPPLKK (A03.01) TTLNSPPLK (A03.01) TTLNSPPLKK (A03.01)	CRC 、 STAD 、 SKCM 、 HNSC
β2M	L13fs S14fs	<u>LCSRYSLFLAWR</u> <u>LSSVLQRFRFTH</u> <u>VIQORMESQIS*</u>	LQRFRFTHV (B08.01) LQRFRFTHVI (B08.01) RLSSVLQRF (A24.02) RLSSVLQRF (A03.01) VLQRFRFTHV (A02.01, B08.01)	CRC 、 STAD 、 SKCM 、 HNSC
CDH 1	A691fs P708fs L711fs	<u>RSACVTVKGPLA</u> <u>SVGRHLSLKQDC</u> <u>KFLPFWGFLEEF</u> <u>LLC*</u>	ASVGRHLSLK (A03.01) KFLPFWGFL (A24.02) LASVGRHSL (B07.02) LPFWGFLEEF (B07.02) PFWGFLEEF (A24.02) SVGRHLSLK (A03.01)	ILC LumA 型乳腺癌

CDH 1	H121fs P126fs H128fs N144fs V157fs P159fs N166fs N181fs F189fs P201fs F205fs	<u>IQWGTTTAPRPIR</u> <u>PPFLESKQNC</u> <u>SH</u> <u>FPTPLASEDRRE</u> <u>TGLFLPSAAQKM</u> <u>KKAHFLKTWFR</u> <u>SNPTKTKKARFS</u> <u>TASLAKELTHPL</u> <u>LVSLLLKEKQDG</u> * -	APRPIRPPF (B07.02) APRPIRPPFL (B07.02) AQMKKAHFL (B08.01) FLPSAAQKM (A02.01) GLFLPSAAQK (A03.01) HPLLVSLLL (B07.02) KAHFLKTWFR (A03.01) KARFSTASL (B07.02) KMKKAHFLK (A03.01) KTWFRSNPTK (A03.01) LAKELTHPL (B07.02, B08.01) LAKELTHPLL (B08.01) NPTKTKKARF (B07.02) QKMKKAHFL (B08.01) RFSTASLAK (A03.01) RPIRPPFLES (B07.02) RSNPTKTKK (A03.01) SLAKELTHPL	ILC LumA 型乳腺癌
----------	--	---	--	------------------

			(A02.01, B08.01) TKKARFSTA (B08.01)	
CDH 1	V114fs P127fs V132fs P160fs	<u>PTDPFLGLRLGL</u> <u>HLQKVFHQSHA</u> <u>EYSGAPPPPPAPS</u> <u>GLRFWNPSRIAH</u> <u>ISQLLWPQKTE</u> <u>ERLGYSSHQLPR</u> <u>K*</u>	GLRFWNPSR (A03.01) ISQLLWPQK (A03.01) RIAHISQLL (A02.01) RLGYSSHQL (A02.01) SQLLWPQK (A03.01) SRIAHISQL (B08.01) WPQKTEERL (B07.02) YSSHQLPRK (A03.01)	ILC LumA 型乳腺癌

<p>CDH 1</p>	<p>L731fs R749fs E757fs G759fs</p>	<p><u>FCCSCCFFGGER</u> <u>WSKSPYCPQRM</u> <u>TPGTTFITMMKK</u> <u>EAEKRTRTLT*</u></p>	<p>CPQRMTPGTT (B07.02) EAEKRTRTL (B08.01) GTTFITMMK (A03.01) GTTFITMMKK (A03.01) ITMMKKEAEK (A03.01) RMTPTGTTFI (A02.01) SPYCPQRMT (B07.02) TMMKKEAEK (A03.01) TPGTTFITM (B07.02) TPGTTFITMM (B07.02) TTFITMMKK (A03.01)</p>	<p>ILC LumA 型乳腺癌</p>
<p>CDH 1</p>	<p>S19fs E24fs S36fs</p>	<p><u>WRRNCKAPVSL</u> <u>RKSVQTPARSSP</u> <u>ARPDRTRRLPSL</u> <u>GVPGQPWALGA</u> <u>AASRRCCCCRS</u> <u>PLGSARSRSPAT</u> <u>LALTPRATRSRC</u> <u>PGATWREAASW</u> <u>AE*</u></p>	<p>CPGATWREA (B07.02) CPGATWREAA (B07.02) RSRCPGATWR (A03.01) TPRATRSRC (B07.02)</p>	<p>ILC LumA 型乳腺癌</p>

<p>GAT A3</p>	<p>P394fs P387fs S398fs H400fs M401fs S408fs P409fs S408fs P409fs T419fs H424fs P425fs S427fs F431fs S430fs H434fs H435fs S438fs M443fs G444fs *445fs</p>	<p><u>PGRPLQTHVLPE</u> <u>PHLALQPLQPHA</u> <u>DHAHADAPAIQP</u> <u>VLWTPPLQHG</u> <u>HRHGLEPCSMLT</u> <u>GPPARVPAVPFD</u> <u>LHFCRSSIMKPK</u> <u>RDGYMFLKAES</u> <u>KIMFATLQRSSL</u> <u>WCLCSNH*</u></p>	<p>HVLPEPHLAL (B07.02) RPLQTHVLPE (B07.02) VLWTPPLQH (A03.01)</p>	<p>乳腺癌</p>
<p>GAT A3</p>	<p>P426fs H434fs P433fs T441 fs</p>	<p><u>PRPRRCTRHPAC</u> <u>PLDHTTPPAWSP</u> <u>PWVRALLDAHR</u> <u>APSESPCSPFRLA</u> <u>FLQEYHEA*</u></p>	<p>APSESPCSPF (B07.02) CPLDHTTPPA (B07.02) FLQEYHEA (A02.01, B08.01) RLAFLQEYH (A03.01) SPCSPFRLAF (B07.02) SPPWRALL (B07.02) YPACPLDHTT (B07.02)</p>	<p>乳腺癌</p>

MLL 2	P519fs	<u>TRRCHCCPHLRS</u>	ALHLRSCPC	STAD 、 BLCA 、 CRC 、 HNSC 、 BRCA
	E524fs	<u>HPCPHHLRNHPR</u>	(B08.01)	
	P647fs	<u>PHHLRHHACHH</u>	CLHRRHLV	
	S654fs	<u>HLRNCPPHFLR</u>	(B08.01)	
	L656fs	<u>HCTCPGRWRNR</u>	CLHRRHLVC	
	R755fs	<u>PSLRRLRSLCLP</u>	(B08.01)	
	L761fs	<u>HLNHHLFLHWR</u>	CLHRKSHPHL	
	Q773fs	<u>SRPCLHRKSHPH</u>	(B08.01)	
		<u>LLHLRRLYPHHL</u>	CLRSACPP	
		<u>KHRPCPHHLKNL</u>	(B08.01)	
		<u>LCPRHLRNCPLP</u>	CLRSHTCPP	
		<u>RHLKHLACLHH</u>	(B08.01)	
		<u>LRSHPCPLHLKS</u>	CLWCHACLH	
		<u>HPCLHRRHLVC</u>	(A03.01)	
		<u>SHHLKSLLCPLH</u>	CPHHLKNHL	
		<u>LRSLPFPHHLRH</u>	(B07.02)	
		<u>HACPHHLRTRLC</u>	CPHHLKNLL	
		<u>PHHLKNHLCPPH</u>	(B07.02)	
		<u>LRYRAYPPCLW</u>	CPHHLRTRL	
		<u>CHACLHRLRNLP</u>	(B07.02, B08.01)	
		<u>CPHRLRSLPRPL</u>	CPLHLRSLPF	
		<u>HLRLHASPHLR</u>	(B07.02, B08.01)	
		<u>TPPHPHHLRTHL</u>	CPLPRHLKHL	
		<u>LPHRRRTRSCPC</u>	(B07.02, B08.01)	
		<u>RWRSHPCCHYL</u>	CPLSLRSHPC	
		<u>RSRNSAPGPRGR</u>	(B07.02)	
		<u>TCHPGLRSRTCP</u>	CPRHLRNCPL	
		<u>PGLRSHTYLRL</u>	(B07.02, B08.01)	
		<u>RSHTCPPSLRSH</u>	FPHHLRHHA	
		<u>AYALCLRSHTCP</u>	(B07.02, B08.01)	
	<u>PRLRDHICPLSLR</u>	FPHHLRHHAC		
	<u>NCTCPPRLRSRT</u>	(B07.02, B08.01)		
	<u>CLLCLRSACPP</u>	GLRSRTCPP		
	<u>NLRNHTCPPSLR</u>	(B08.01)		
	<u>SHACPPGLRNRI</u>	HACLHRLRNL		

	<u>CPLSLRSHPCPLG</u> <u>LKSPLRSQANAL</u> <u>HLRSCPCSLPLG</u> <u>NHPYLPCLESQP</u> <u>CLSLGNHLCPLC</u> <u>PRSCRCPHLGSH</u> <u>PCRLS*</u>	(B08.01) HLACLHHLR (A03.01) HLCPPHLRY (A03.01) HLCPPHLRYR (A03.01) HLKHLACLH (A03.01) HLKHRPCPH (B08.01) HLKNHLCPP (B08.01) HLKSHPCLH (A03.01) HLKSLLCPL (A02.01, B08.01) HLLHLRRLY (A03.01) HLRNCPLPR (A03.01) HLRNCPLPRH (A03.01) HLRRLYPHHL (B08.01) HLRSHPCPL (B07.02, B08.01) HLRSHPCPLH (A03.01) HLRSLPFPH (A03.01) HLRTRLCPH (A03.01, B08.01) HLVCSSHHLK (A03.01)	
--	--	--	--

			HPCLHRRHL (B07.02, B08.01) HPGLRSRTC (B07.02) HPHLLHLRRL (B07.02, B08.01) HRKSHPHLL (B08.01) HRRTRSCPC (B08.01) KSHPHLLHLR (A03.01) KSLLCPLHLR (A03.01) LLCPLHLRSL (A02.01, B08.01) LLHLRRLYPH (B08.01) LPRHLKHLA (B07.02) LPRHLKHLAC (B07.02, B08.01) LRRLRSHTC (B08.01) LRRLYPHHL (B08.01) LVCSHHLKSL (B08.01) NLRNHTCPPS (B08.01) PLHLRSLPF (B08.01) RLCPHHLKNH (A03.01) RLYPHHLKH	
--	--	--	---	--

			(A03.01) RLYPHHLKHR (A03.01) RPCPHHLKNL (B07.02) RSHPCPLHLK (A03.01) RSLPFPHHLR (A03.01) RTRLCPHHL (B07.02) RTRLCPHHLK (A03.01) SLLCPLHLR (A03.01) SLRSHACPP (B08.01) SPLRSQANA (B07.02) YLRRLRSHT (B08.01) YPHHLKHRPC (B07.02, B08.01)	
PTE N	I122fs I135fs A148fs L152fs D162fs I168fs	<u>SWKGTNWCND</u> <u>MCIFITSGQIFKG</u> <u>TRGPRFLWGSKD</u> <u>QRQKGSNYSQSE</u> <u>ALCVLL*</u>	FITSGQIFK (A03.01) IFITSGQIF (A24.02) SQSEALCVL (A02.01) SQSEALCVLL (A02.01)	UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM

<p>PTE N</p>	<p>L265fs K266fs</p>	<p><u>KRTKCFTFG*</u></p>		<p>UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM</p>
<p>PTE N</p>	<p>A39fs E40fs V45fs R47fs N48fs</p>	<p><u>PIFIQTLLLWDFL</u> <u>QKDLKAYTGIL</u> <u>MM*</u></p>	<p>AYTGILMM (A24.02) DLKAYTGIL (B08.01)</p>	<p>UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM</p>
<p>PTE N</p>	<p>T319fs T321fs K327fs A328fs A333fs</p>	<p><u>QKMILTKQIKTK</u> <u>PTDTFLQILR*</u></p>	<p>ILTKQIKTK (A03.01) KMILTKQIK (A03.01) KPTDTFLQI (B07.02) KPTDTFLQIL (B07.02) MILTKQIKTK (A03.01)</p>	<p>UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM</p>

PTE N	N63fs E73fs A86fs N94fs	<u>GFWIQSIKTITRY</u> <u>TIFVLKDIMTPPN</u> <u>LIAELHNILLKTI</u> <u>THHS*</u>	ITRYTIFVLK (A03.01) LIAELHNIL (A02.01) LIAELHNILL (A02.01) MTPPNLIAEL (A02.01) NLIAELHNI (A02.01) NLIAELHNIL (A02.01) RYTIFVLKDI (A24.02) TITRYTIFVL (A02.01) TPPNLIAEL (B07.02)	UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM
PTE N	T202fs G209fs C211fs I224fs G230fs P231fs R233fs D236fs	<u>NYSNVQWRNLQ</u> <u>SSVCGLPAKGED</u> <u>IFLQFRTHTTGR</u> <u>QVHVL*</u>	FLQFRTHTT (A02.01, B08.01) LPAKGEDIFL (B07.02) LQFRTHTTGR (A03.01) NLQSSVCGL (A02.01) SSVCGLPAK (A03.01) VQWRNLQSSV (A02.01)	UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM

PTE N	G251fs	<u>YQSRVLPQTEQD</u> <u>AKKGQNVSLLG</u> <u>KYILHTRTRGNL</u> <u>RKSRKWKSM*</u>	GQNVSLLGK (A03.01)	UCEC 、 PRAD 、 SKCM 、 STAD 、 BRCA 、 LUSC 、 KIRC 、 LIHC 、 KIRP 、 GBM
	E256fs		HTRTRGNLRK (A03.01)	
	K260fs		ILHTRTRGNL (B08.01)	
	Q261fs		KGQNVSLLGK (A03.01)	
	L265fs		LLGKYILHT (A02.01)	
	M270fs		LRKSRKWKSM (B08.01)	
	H272fs		SLLGKYILH (A03.01)	
	T286fs		SLLGKYILHT (A02.01)	
	E288fs			

TP53	A70fs		CTSPLLAPV (A02.01)	
	P72fs		FPENLPGQL (B07.02)	
	A76fs		GLLAFWDSQV (A02.01)	
	A79fs		IFCPFPENL (A24.02)	BRCA 、 CRC 、
	P89fs	<u>SSQNARGCSPRG</u>	LLAFWDSQV (A02.01)	LUAD 、 PRAD 、
	W91fs	<u>PCTSSSYTGGPC</u>	LLAPVIFCP (A02.01)	HNSC 、 LUSC 、
	S96fs	<u>TSPLLAPVIFCPF</u>	LLAPVIFCPF (A02.01, A24.02)	PAAD 、 STAD 、
	V97fs	<u>PENLPGQLRFPS</u>	LPCPQQDVL (B07.02)	BLCA 、 OV 、
	V97fs	<u>GLLAFWDSQVC</u>	RFPSGLLAF (A24.02)	LIHC 、 SKCM 、
	G108fs	<u>DLHVLPCPQQDV</u>	RFPSGLLAFW (A24.02)	UCEC 、 LAML 、
	G117fs	<u>LPTGQDLPCA AV</u>	SPLLAPVIF (B07.02)	UCS 、 KICH 、
	S121fs	<u>G*</u>	SPRGPCTSS (B07.02)	GBM 、 ACC
	V122fs		SPRGPCTSSS (B07.02)	
	C124fs		SQVCDLHVL (A02.01)	
	K139fs		VIFCPFPENL (A02.01)	
	V143fs			

TP53	V173fs		AMVWPLLSI (A02.01)	
	H178fs		AMVWPLLSIL (A02.01)	
	D186fs		AQIAMVWPL (A02.01, A24.02)	
	H193fs		AQIAMVWPLL (A02.01)	
	L194fs	<u>GAAPTMSAAQIA</u>	CPMSRLRLA (B07.02, B08.01)	BRCA 、
	E198fs	<u>MVWPLLSILSEW</u>	CPMSRLRLAL (B07.02, B08.01)	CRC 、
	V203fs	<u>KEICVWSIWMTE</u>	IAMVWPLLSI (A02.01, A24.02, B08.01)	LUAD 、
	E204fs	<u>TLFDIVWWCPM</u>	ILSEWKEICV (A02.01)	PRAD 、
	L206fs	<u>SRLRLALTVPST</u>	IVWWCPMSR (A03.01)	HNSC 、
	D207fs	<u>TTTCVTVPAWA</u>	IVWWCPMSRL (A02.01)	LUSC 、
	N210fs	<u>A*</u>	IWMTETLFDI (A24.02)	PAAD 、
	T211fs		LLSILSEWK (A03.01)	STAD 、
	F212fs		MSAAQIAMV (A02.01)	BLCA 、
	V225fs		MSRLRLALT (B08.01)	OV 、
	S241fs		MSRLRLALTV (B08.01)	LIHC 、
			MVWPLLSIL (A02.01)	SKCM 、
			RLALTVPST (A02.01)	UCEC 、
			LAML 、	
			UCS 、	
			KICH 、	
			GBM 、	
			ACC	

			TLFDIVWWC (A02.01) TLFDIVWWCP (A02.01) TMSAAQIAMV (A02.01) VWSIWMTETL (A24.02) WMTETLFDI (A02.01, A24.02) WMTETLFDIV (A01.01, A02.01)	
--	--	--	--	--

TP53	R248fs		ALRCVFVPV (A02.01, B08.01)	
	P250fs		ALRCVFVPVL (A02.01, B08.01)	
	S260fs		ALSEHCPTT (A02.01)	
	N263fs		AQRKRISARK (A03.01)	BRCA 、
	G266fs		GAQRKRISA (B08.01)	CRC 、
	N268fs		HWMENISPF (A24.02)	LUAD 、
	V272fs		LPSQRRNHWM (B07.02, B08.01)	PRAD 、
	V274fs		NISPFRSVGV (A02.01)	HNSC 、
	P278fs		RISARKGSL (B07.02, B08.01)	LUSC 、
	D281fs		SPFRSVGVSA (B07.02)	PAAD 、
	R282fs	<u>TGGPSSPSSHWK</u>	SPSSHWKTPV (B07.02, B08.01)	STAD 、
	T284fs	<u>TPVVIYWDGTAL</u>	TALRCVFVPV (A02.01)	BLCA 、
	E285fs	<u>RCVFVPVLGETG</u>	VIYWDGTAL (A02.01)	OV 、
	L289fs	<u>AQRKRISARKGS</u>	VIYWDGTALR (A03.01)	LIHC 、
	K292fs	<u>LTTSCPQGALSE</u>	VLGETGAQRK (A03.01)	SKCM 、
	P301fs	<u>HCPTTPAPLPSQ</u>		UCEC 、
	S303fs	<u>RRNHWMENISPF</u>		LAML 、
	T312fs	<u>RSVGVASARCSE</u>		UCS 、
	S314fs	<u>S*</u>		KICH 、
	K319fs			GBM 、
	K320fs			ACC
	P322fs			
	Y327fs			
	F328fs			
	L330fs			
	R333fs			
	R335fs			
	R337fs			
E339fs				

<p>TP53</p>	<p>S149fs P151fs P152fs V157fs Q165fs S166fs H168fs V173fs</p>	<p><u>FHTPARHPRPRH</u> <u>GHLQAVTAHDG</u> <u>GCEALPPP*</u></p>	<p>HPRPRHGHL (B07.02, B08.01) HPRPRHGHLQ (B07.02) RPRHGHLQA (B07.02) RPRHGHLQAV (B07.02, B08.01)</p>	<p>BRCA 、 CRC 、 LUAD 、 PRAD 、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 STAD 、 BLCA 、 OV 、 LIHC 、 SKCM 、 UCEC 、 LAML 、 UCS 、 KICH 、 GBM 、 ACC</p>
-------------	--	--	--	--

TP53	P47fs			
	D48fs			
	D49fs			
	Q52fs			BRCA 、
	F54fs			CRC 、
	E56fs			LUAD 、
	P58fs		GSLKTQVQMK	PRAD 、
	P60fs		(A03.01)	HNSC 、
	E62fs		PPGPCHLLSL	LUSC 、
	M66fs	<u>CCPRTILNNGSL</u>	(B07.02)	PAAD 、
	P72fs	<u>KTQVQMKLPEC</u>	RTILNNGSLK	STAD 、
	V73fs	<u>QRLLPPWPLHQQ</u>	(A03.01)	BLCA 、
	P75fs	<u>LLHRRPLHQPPP</u>	SLKTQVQMK	OV 、
	A78fs	<u>GPCHLLSLPRKP</u>	(A03.01)	LIHC 、
	P82fs	<u>TRAATVSVWAS</u>	SLKTQVQMKL	SKCM 、
	P85fs	<u>CILGQPSL*</u>	(B08.01)	UCEC 、
	S96fs		TILNNGSLK	LAML 、
	P98fs		(A03.01)	UCS 、
	T102fs			KICH 、
	Y103fs			GBM 、
G108fs			ACC	
F109fs				
R110fs				
G117fs				

<p>TP53</p>	<p>L26fs P27fs P34fs P36fs A39fs Q38fs</p>	<p><u>VRKHFQTYGNY</u> <u>FLKTTFCPPCRPK</u> <u>QWMI*</u></p>	<p>CPPCRPKQWM (B07.02) TTCPPCRPK (A03.01)</p>	<p>BRCA 、 CRC 、 LUAD 、 PRAD 、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 STAD 、 BLCA 、 OV 、 LIHC 、 SKCM 、 UCEC 、 LAML 、 UCS 、 KICH 、 GBM 、 ACC</p>
-------------	--	---	---	--

<p>TP53</p>	<p>C124fs L130fs N131fs C135fs K139fs A138fs T140fs V143fs Q144fs V147fs T150fs P151fs P152fs G154fs R156fs R158fs A161fs</p>	<p><u>LARTPLPSTRCF</u> <u>ANWPRPALCSC</u> <u>GLIPHRPAPASA</u> <u>PWPSTSSHST*</u></p>	<p>CFANWPRPAL (A24.02) FANWPRPAL (B07.02, B08.01) GLIPHRPA (A02.01) HPRPAPASA (B07.02, B08.01) HPRPAPASAP (B07.02) IPHRPAPA (B07.02, B08.01) IPHRPAPAS (B07.02) RPALCSCGL (B07.02) RPALCSCGLI (B07.02) TLPSTRCF (B07.02) WPRPALCSC (B07.02) WPRPALCSCG (B07.02)</p>	<p>BRCA 、 CRC 、 LUAD 、 PRAD 、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 STAD 、 BLCA 、 OV 、 LIHC 、 SKCM 、 UCEC 、 LAML 、 UCS 、 KICH 、 GBM 、 ACC</p>
-------------	---	--	---	--

VHL	L178fs D179fs L184fs T202fs R205fs D213fs G212fs	<u>ELQETGHRQVAL</u> <u>RRSGRPPKCAER</u> <u>PGAADTGAHCTS</u> <u>TDGRLKISVETY</u> <u>TVSSQLLMVMS</u> <u>LDLDTGLVPSLV</u> <u>SKCLILRVK*</u>	ALRRSGRPPK (A03.01) GLVPSLVSK (A03.01) KISVETYTV (A02.01) LLMVLMSLDL (A02.01, B08.01) LMSLDLDTGL (A02.01) LMVLMSLDL (A02.01) LVSKCLILRV (A02.01) QLLMVLMSL (A02.01, B08.01) RPGAADTGA (B07.02) RPGAADTGAH (B07.02) SLDLDTGLV (A02.01) SLVSKCLIL (A02.01, B08.01) SQLLMVLMSL (A02.01) TVSSQLLMV (A02.01) TYTVSSQLL (A24.02) TYTVSSQLLM (A24.02) VLMSLDLDT (A02.01) VPSLVSKCL	KIRC KIRP
-----	--	--	---	--------------

			(B07.02) VSKCLILRVK (A03.01) YTVSSQLLM (A01.01) YTVSSQLLMV (A02.01)	
VHL	L158fs K159fs R161fs Q164fs	<u>KSDASRLSGA*</u>		KIRC 、 KIRP
VHL	P146fs I147fs F148fs L158fs	<u>RTAYFCQYHTAS</u> <u>VYSERAMPPGCP</u> <u>EPSQA*</u>	FCQYHTASV (B08.01)	KIRC 、 KIRP

<p>VHL</p>	<p>S68fs S72fs I75fs S80fs P86fs P97fs I109fs H115fs L116fs G123fs T124fs N131fs L135fs V137fs G144fs D143fs I147fs</p>	<p><u>TRASPPRSSSAIA</u> <u>VRASCCPYGSTS</u> <u>TASRSPTQRCRL</u> <u>ARAAASTATEVT</u> <u>FGSSEMQGHTM</u> <u>GFWLTKLNYLC</u> <u>HLSMLTDSLFLPI</u> <u>SHCQCIL*</u></p>	<p>CPYGSTSTA (B07.02) CPYGSTSTAS (B07.02) LARAAASTAT (B07.02) MLTDSLFLP (A02.01) PPRSSSAIAV (B07.02) RAAASTATEEV (B07.02) SPPRSSSAI (B07.02) SPPRSSSAIA (B07.02) SPTQRCRLA (B07.02) TQRCRLARA (B08.01) TQRCRLARAA (B08.01)</p>	<p>KIRC KIRP</p>
<p>VHL</p>	<p>K171fs P172fs N174fs L178fs D179fs L188fs</p>	<p><u>SSLRITGDWTSS</u> <u>GRSTKIWKTTQ</u> <u>MCRKTWSG*</u></p>	<p>KIWKTTQMCR (A03.01) WTSSGRSTK (A03.01)</p>	<p>KIRC KIRP</p>

<p>VHL</p>	<p>V62fs V66fs Q73fs V84fs F91fs T100fs P103fs S111fs L116fs H115fs D126fs</p>	<p><u>RRRRGGVGRRG</u> <u>VRPGRVRPGGTG</u> <u>RRGGDGGRAAA</u> <u>ARAALGELARA</u> <u>LPGHLLQSQSAR</u> <u>RAARMAQLRRR</u> <u>AAALPNAAAWH</u> <u>GPPHPQLPRSPL</u> <u>ALQRCRDTRWA</u> <u>SG*</u></p>	<p>ALGELARAL (A02.01) AQLRRRAAA (B08.01) AQLRRRAAAL (B08.01) ARRAARMAQL (B08.01) HPQLPRSPL (B07.02, B08.01) HPQLPRSPLA (B07.02) LARALPGHL (B07.02) LARALPGHLL (B07.02) MAQLRRRAA (B07.02, B08.01) MAQLRRRAAA (B07.02, B08.01) QLRRRAAAL (B07.02, B08.01) RAAALPNAAA (B07.02) RMAQLRRRAA (B07.02, B08.01) SQSARRAARM (B08.01)</p>	<p>KIRC 、 KIRP</p>
<p>表 1D</p>		<p>隐性外显子</p>		
<p>AR- v7</p>	<p>隐性最 终外显 子</p>	<p><u>SCKVFFKRAAEG</u> <u>KQKYL CASRND</u> <u>CTIDKFRRKNCP</u> <u>SCRLRKCYEAG</u> <u>MTLGEKFRVGN</u> <u>CKHLKMTRP*</u></p>	<p>GMTLGEKFRV (A02:01) RVGNCKHLK (A03.01)</p>	<p>前列腺癌、 阉割抗性 前列腺癌</p>

表 1E		框外融合		
AC0 1199 7.1:L RRC 69	AC0119 97.1:LR RC69 *框外	MAGAPPASLPP CSLISDCCASNQ RDSVGVGPSEP: <u>G:NNIKICNESAS</u> <u>RK*</u>	GPSEPGNNI (B07.02) KICNESASRK (A03.01)	LUSC、乳 腺癌、头颈 癌、LUAD
EEF1 DP3	EEF1DP 3:FRY * 框外	HGWRPFLPVRA RSRWNRRLDVT VANGR:S: <u>WKYG</u> <u>WSLLRVPQVNG</u> <u>IQVLNVSLKSSS</u> <u>NVISYE*</u>	GIQVLNVSLK (A03.01) IQVLNVSLK (A03.01) KSSSNVISY (A01.01, A03.01) KYGWLLRV (A24.02) RSWKYGWSL (A02.01) SLKSSSNVI (B08.01) SWKYGWSLL (A24.02) TVANGRSWK (A03.01) VPQVNGIQV (B07.02) VPQVNGIQVL (B07.02) VTVANGRSWK (A03.01) WSLLRVPQV (B08.01)	乳腺癌

MAD1L1:MAFK	MAD1L1:MAFK	RLKEVFQTKIQE FRKACYTLTGYQ IDITTENQYRLTS LYAEHPGDCLIF K:: <u>LRVPGSSVLV</u> <u>TVPGL*</u>	HPGDCLIFKL (B07.02) KLRVPGSSV (B07.02) KLRVPGSSVL (B07.02) RVPGSSVLV (A02.01) SVLVTVPGL (A02.01) VPGSSVLVTV (B07.02)	CLL
PPP1R1B:STAR3	PPP1R1B:STAR3	AEVLKVIRQSAG QKTTCGQGLEGP WERPPPLDESER DGGSEDQVEDP ALS:A: <u>LLLRPRP</u> <u>PRPEVGAHQDE</u> <u>QAAQGADPRLG</u> <u>AQPACRGLPGL</u> <u>LTVPQPEPLLAP</u> <u>PSAA*</u>	ALLLRPRPPR (A03.01) ALSALLLRPR (A03.01)	乳腺癌
表 1F		框内缺失和融合		
BCR:ABL	BCR:ABL	ERAEWRENIREQ QKKCFRSFSLTS VELQMLTNSCV KLQTVHSIPLTIN KE:: <u>EALQRPVAS</u> <u>DFEPQGLSEAA</u> <u>RWNSKENLLAG</u> <u>PSENDPNLFVAL</u> <u>YDFVASG</u>	LTINKEEAL (A02.01, B08.01)	CML、AML

BCR: ABL	BCR:A BL	ELQMLTNSCVKL QTVHSIPLTINKE DDESPGLYGFLN VIVHSATGFKQS S: <u>K</u> :ALQRPV ASD FEPQGLSEAAR WNSKENLLAGP SENDPNLFVAL YDFVASGD	IVHSATGFK (A03.01) ATGFKQSSK (A03.01)	CML 、 AML
C11o rf95: REL A	C11orf9 5:RELA	ISNSWDAHLGLG ACGEAEGLVQ GAEAAAAAAAAA EEEGAGVPACPP KGP: <u>E</u> :LFPLIFPA EPAQASGPYVEI IEQPKQRGMRF RYKCEGRSAGS IPGERSTD	ELFPLIFPA (A02.01, B08.01) KGPELFPLI (A02.01, A24.02) KGPELFPLIF (A24.02)	Supretento rial ependyom as
CBF B:M YH1 1	(变体“a 型”)	LQRLDGMGCLE FDEERAQQEDAL AQQAFEEARRRT REFEDRDRSHRE EME::VHELEKS KRALETQMEE MKTQLEEELEDE LQATEDAKLRL EVNMQALKGQ F		AML

CD7 4:RO S1	(外显子 6: 外显 子 32)	KGSFPENLRHLK NTMETIDWKVFE SWMHHWLLFEM SRHSLEQKPTDA PPK:: AGVPNKP GIPKLLEGSKNS IQWEKAEDNGC RITYYILEIRKST SNNLQNQ	KPTDAPPKAGV (B07.02)	NSCLC、 克唑替尼 抗性
EGF R	EGFRvI II (内部 缺失)	MRPSGTAGAAL LALLAALCPASR ALEEKK: <u>G</u> :NYV VTDHGSCVRAC GADSYEMEEDG VRKCKKCEGPC RKVCNGIGIGEF KD	ALEEKKGNYV (A02.01)	GBM
EGF R:SE PT14	EGFR:S EPT14	LPQPPICTIDVYM IMVKCWMIDAD SRPKFRELIIEFSK MARDPQRYLVIQ :: LQDKFEHLKM IQQEEIRKLEEE KKQLEGEIIDFY KMKAASEALQT QLSTD	IQLQDKFEHL (A02.01, B08.01) QLQDKFEHL (A02.01, B08.01) QLQDKFEHLK (A03.01) YLVQLQDKF (A02.01, A24.02)	GBM、胶 质瘤、头颈 癌
EML 4:AL K	EML4:A LK	SWENSDDSRNK LSKIPSTPKLIPK VTKTADKHKDVI INQAKMSTREKN SQ: <u>V</u> : YRRKHQE LQAMQMELQSP EYKLSKLRTSTI MTDYNPNYCFA GKTSSISDL	QVYRRKHQEL (B08.01) STREKNSQV (B08.01) VYRRKHQEL (A24.02, B08.01)	NSCLC

FGF R3:T ACC 3	FGFR3: TACC3	EGHRMDKPANC THDLYMIMREC WHAAPSQRPTFK QLVEDLDRVLTV TSTD:: VKATQEE NRELRSRCEEL HGKNLELGKIM DRFEEVVYQAM EEVQKQKELS	VLTVTSTDV (A02.01) VLTVTSTDVK (A03.01)	膀胱癌、 LUSC
NAB :STA T6	NAB:ST AT6 “”	RDNTLLRRVEL FSLSRQVAREST YLSSLKGSRLHP EELGGPPLKCLK QE:: ATSKSQIMS LWGLVSKMPPE KVQRLYVDFPQ HLRHLLGDWLE SQPWEFLVGSD AFCC	IMSLWGLVS (A02.01) IMSLWGLVSK (A03.01) CLKQEATSK (A03.01) QIMSLWGLV (A02.01) SQIMSLWGL (A02.01, A24.02, B08.01) SQIMSLWGLV (A02.01) TSKSQIMSL (B08.01)	孤立性纤 维瘤
NDR G1:E RG	NDRG1: ERG	MSREMQDVDLA EVKPLVEKGETI TGLLQEFDVQ:: E ALSVVSEDQSLF ECAYGTPHLAK TEMTASSSSDY GQTSKMSPRVP QQDW	LLQEFDVQEA (A02.01) LQEFDVQEAL (A02.01)	前列腺癌

PML: RAR A	PML:R ARA (外显子 3: 外显 子 3)	VLDMHGFLRQA LCRLRQEEPQSL QAAVRTDGFDEF KVRLQDLSSCIT QGK:A:IETQSSS SEEIVSPSPSPPP LPRIYKPCFVCQ DKSSGYHYGVS ACEGCKG		急性早幼 粒细胞白 血病
PML: RAR A	PML:R ARA (外显子 6: 外显 子 3)	RSSPEQPRPSTSK AVSPPHLDGPPS PRSPVIGSEVFLP NSNHVASGAGE A:A:IETQSSSSEE IVSPSPSPPLPR IYKPCFVCQDK SSGYHYGVSAC EGCKG		急性早幼 粒细胞白 血病
RUN X1	RUNX1 (ex5)- RUNX1 T1(ex2)	VARFNDLRFVGR SGRGKSFTLTITV FTNPPQVATYHR AIKITVDGPREPR :N:RTEKHSTMP DSPVDVKTQSR LTPPTMPPPPTT QGAPRTSSFTPT TLTNGT	GPREPRNRT (B07.02) RNRTEKHSTM (B08.01)	AML
TMP RSS2 :ERG	TMPRS S2:ERG	MALNS::EALSVV SEDQSLFECAYG TPHLAKTEMTAS SSSDYGQTSKMS PRVPQQDW	ALNSEALSV (A02.01) ALNSEALSVV (A02.01) MALNSEALSV (A02.01, B08.01)	前列腺癌

表2

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
表 2A		点突变 ¹		
AKT 1	E17K	MSDVAIVKE GWLHKRGKY IKTWRPRYFL LKNDGTFIGY KERPQDVDQ REAPLNNFSV AQCQLMKTE R	KYIKTWRPRY (A24.02) WLHKRGKYI (A02.01, B07.02, B08.01) WLHKRGKYIK (A03.01)	BRCA 、 CESC 、 HNSC 、 LUSC 、 PRAD 、 SKCM 、 THCA
ANA PC1	T537A	TMLVLEGS NLVLYTG RVGKVFIP PAPSLTMS MPRPSTPL VSAPKPLSK LGSLEDEV SPVPELRD KLHDSLYN DCTFQQLG YIHSI	APKPLSKLL (B07.02) GVSAPKPLSK (A03.01) VSAPKPLSK (A03.01)	GBM 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD 、 SKCM
FGFR 3	S249C	HRIGGIKLRH QQWSLVMES VVPDRGNY TCVVENKFG SIRQTYTLDV LERCPHRPIL QAGLPANQT AVLGSDVEF HCKVYSDAQ PHIQWLKHV EVNGSKVG	CPHRPILQA (B07.02)	BLCA 、 HNSC 、 KIRP、LUSC

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
FRG1 B	I10T	MREPIYMHS TMVFLPWEL HTKKGPSPE QFMAVKLSD SRTALKSGY GKYLGINSDE LVGHSDAIGP REQWEPVFQ NGKMALLAS NSCFIR	KLSDSRTAL (A02.01, B07.02, B08.01) KLSDSRTALK (A03.01) LSDSRTALK (A01.01, A03.01) RTALKSGYGK (A03.01) TALKSGYGK (A03.01)	KIRP 、 PRAD 、 SKCM
FRG1 B	L52S	AVKLSDSRIA LKSGYGKYL GINSDELVGH SDAIGPREQ WEPVFQNGK MALSASNSC FIRCNEAGDI EAKSKTAGE EEMIKIRSCA EKETKKKDDI PEEDKG	ALSASNSCF (A02.01, A24.02, B07.02) ALSASNSCFI (A02.01) FQNGKMALSA (A02.01, B08.01)	GBM 、 KIRP 、 PRAD 、 SKCM
HER2	L755S (抗性)	AMPNQAQM RILKETELRK VKVLGSGAF GTVYKGIWIP DGENVKIPV AIKV <u>S</u> RENTS PKANKEILDE AYVMAGVGS PYVSRLLGIC LTSTVQLVTQ LMPYGC	KVSRENTSPK (A03.01)	BRCA

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
IDH1	R132G	RVEEFKLLKQ MWKSPNGTI RNILGGTVFR EAIICKNIPRL VSGWVKPIII GGHAYGDQY RATDFVVP PGKVEITYTP SDGTQKVTY LVHNFEEGG GVAMGM	KPIIIGGHAY (B07.02)	BLCA 、 BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 LUAD 、 PAAD 、 PRAD 、 UCEC
KRAS	G12C	MTEYKLVVV GACGVGKSA LTIQLIQNH VDEYDPTIED SYRKQVVID GETCLLDILD TAGQE	KLVVVGACGV (A02.01) LVVVGACGV (A02.01) VVGACGVGK (A03.01, A11.01) VVVGACGVGK (A03.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC 、 HNSC 、 LUAD 、 PAAD 、 UCEC
KRAS	G12D	MTEYKLVVV GADGVGKSA LTIQLIQNH VDEYDPTIED SYRKQVVID GETCLLDILD TAGQE	VVGADGVGK (A11.01) VVVGADGVGK (A11.01) KLVVVGADGV (A02.01) LVVVGADGV (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CESC 、 CRC、GBM、 HNSC 、 KIRP 、 LIHC 、 LUAD 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
KRAS	G12V	MTEYKLVVV GAVGVGKSA LTIQLIQNH VDEYDPTIED SYRKQVVID GETCLLDILD TAGQE	KLVVVGAVGV (A02.01) LVVVGAVGV (A02.01) VVGAVGVGK (A03.01, A11.01) VVVGAVGVGK (A03.01, A11.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC 、 LUAD 、 PAAD 、 THCA 、 UCEC
KRAS	Q61H	AGGVGKSAL TIQLIQNHV DEYDPTIEDS YRKQVVIDG ETCLLDILDT AGHEEYSAM RDQYMRTGE GFLCVFAINN TKSFEDIHHY REQIKRVKDS EDVPM	ILDTAGHEEY (A01.01)	CRC 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
KRAS	Q61L	AGGVGKSAL TIQLIQNHV DEYDPTIEDS YRKQVVIDG ETCLLDILDT AGLEEYSAM RDQYMRTGE GFLCVFAINN TKSFEDIHHY REQIKRVKDS EDVPM	ILDTAGLEEY (A01.01) LLDILDTAGL (A02.01)	CRC、GBM、 HNSC 、 LUAD 、 SKCM 、 UCEC

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
NRA S	Q61K	AGGVGKSAL TIQLIQNHFV DEYDPTIEDS YRKQVVIDG ETCLLDILDT AG <u>K</u> EEYSAM RDQYMRTGE GFLCVFAINN SKSFADINLY REQIKRVKDS DDVPM	ILD <u>T</u> AGK <u>E</u> EY (A01.01)	BLCA 、 CRC、LIHC、 LUAD 、 LUSC 、 SKCM 、 THCA 、 UCEC
NRA S	Q61R	AGGVGKSAL TIQLIQNHFV DEYDPTIEDS YRKQVVIDG ETCLLDILDT AG <u>R</u> EEYSAM RDQYMRTGE GFLCVFAINN SKSFADINLY REQIKRVKDS DDVPM	ILD <u>T</u> AG <u>R</u> E <u>E</u> EY (A01.01)	BLCA 、 CRC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD 、 SKCM 、 THCA 、 UCEC

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
PIK3 CA	E542K	IEEHANWSVS REAGFSYSH AGLSNRLAR DNELRENDK EQLKAISTRD PLSKITEQEK DFLWSHRHY CVTIPEILPKL LLSVKWNSR DEVAQMYCL VKDWPP	AISTRDPLSK (A03.01)	BLCA 、 BRCA 、 CESC 、 CRC、GBM、 HNSC 、 KIRC 、 KIRP 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PRAD 、 UCEC
PTEN	R130Q	KFNCRVAQY PFEDHNPPQL ELIKPFCEDL DQWLSEDDN HVAAIHCKA GKGQTGVMI CAYLLHRGK FLKAQEALD FYGEVRTRD KKGVTIPSQR RYVYYYSY	QTGVMICAY (A01.01)	BRCA 、 CESC 、 CRC、GBM、 KIRC 、 LUSC 、 UCEC
RAC 1	P29S	MQAIKCVVV GDGAVGKTC LLISYTTNAF SGEYIPTVFD NYSANVMVD GKPVNLGLW DTAGQEDYD RLRPLSYPQT VGET	FSGEYIPTV (A02.01) TTNAFSGEY (A01.01) YTTNAFSGEY (A01.01)	黑色素瘤

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
SF3B 1	K700E	AVCKSKKSW QARHTGIKIV QQIAILMGCA ILPHLRSLVEI IEHGLVDEQQ EVRTISALAI AALAEAATP YGIESFDSVL KPLWKGIRQ HRGKGLAAF LKAI	GLVDEQQEV (A02.01)	与MDS相关的AML; 慢性淋巴细胞白血病-小淋巴细胞淋巴瘤; 骨髓增生异常综合征; AML; Luminal NS型乳腺癌; 慢性髓样白血病; 胰腺导管癌; 慢性髓性单核细胞白血病; 慢性淋巴细胞白血病-小淋巴细胞淋巴瘤; 骨髓纤维化; 骨髓增生异常综合征; PRAD; 原发性血小板增多症; 髓肌母细胞瘤

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
SPOP	F133L	YLSLYLLLVS CPKSEVRAKF KFSILNAKGE ETKAMESQR AYRFVQGKD WGLKKFIRR DFLLDEANG LLPDDKLTFL CEVSVVQDS VNISGQNTM NMVKVPE	FVQKDWGL (A02.01, B08.01)	PRAD
SPOP	F133V	YLSLYLLLVS CPKSEVRAKF KFSILNAKGE ETKAMESQR AYRFVQGKD WGVKKFIRR DFLLDEANG LLPDDKLTFL CEVSVVQDS VNISGQNTM NMVKVPE	FVQKDWGV (A02.01)	PRAD
TP53	G245S	IRVEGNLRVE YLDDRNTFR HSVVVPYEP EVGSDCTTIH YNYMCNSSC MGSMNRRPI LTITLEDSSG NLLGRNSFEV RVCACPGRD RRTEENLRK KGEP	CMGSMNRRPI (A02.01, B08.01) GSMNRRPIL (B08.01) MGSMNRRPI (B08.01) MGSMNRRPIL (B08.01) SMNRRPILTI (A02.01, A24.02, B08.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
TP53	R248Q	EGNLRVEYL DDRNTFRHS VVVPYEPPEV GSDCTTIHYN YMCNSSCMG GMNQRPILTI TLEDSSGNLL GRNSFEVRV CACPGRDRR TEEENLRKK GEPHHE	CMGGMNQRPI (A02.01, B08.01) GMNQRPILTI (A02.01, B08.01) NQRPILTII (A02.01, B08.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 KIRC 、 LIHC 、 LUSC 、 PAAD 、 PRAD 、 UCEC
TP53	R248W	EGNLRVEYL DDRNTFRHS VVVPYEPPEV GSDCTTIHYN YMCNSSCMG GMNWRPILTI ITLEDSSGNL LGRNSFEVR VCACPGRDR RTEEENLRK KGEPPHHE	CMGGMNWRPI (A02.01, A24.02, B08.01) GMNWRPILTI (A02.01, B08.01) MNWRPILTI (A02.01, A24.02, B08.01) MNWRPILTII (A02.01, A24.02)	BLCA 、 BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 LIHC 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
TP53	R273C	PEVGSDCTTI HYN ^Y MCNSS CMGGMNRRP ILTITLEDSS GNLLGRNSFE VCVCACPGR DRRTEEENLR KKGEPHHEL PPGSTKRALP NNTSSSPQPK KKPL	NSFEVCVCA (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 LUSC 、 PAAD 、 UCEC

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
TP53	R273H	PEVGSDCTTI HNYMCNSS CMGGMNR RP ILTIITLEDSS GNLLGRNSFE VHVCACPGR DRRTEENLR KKGEPHEL PPGSTKRALP NNTSSSPQPK KKPL	NSFEVHVCA (A02.01)	BRCA 、 CRC、GBM、 HNSC 、 LIHC 、 LUSC 、 PAAD 、 UCEC
TP53	Y220C	TEVVRRCPH HERCSDSDG LAPPQHLIRV EGNLRVEYL DDRNTFRHS VVVPCEPPEV GSDCTTIHYN YMCNSSCMG GMNRRPILTI TLEDSSGNLL GRNSF	VVPCEPPEV (A02.01) VVVPCEPPEV (A02.01)	BLCA 、 BRCA 、 GBM 、 HNSC 、 LIHC 、 LUAD 、 LUSC 、 PAAD 、 SKCM 、 UCEC
表 2B		MSI-相关移码¹		
MSH 6	F1088fs; +1	YNFDK NYKD WQSAVECIA VLDVLLCLA NYSRGGDGP MCRPVILLPE DTPPLLRA	ILLPEDTPPL (A02.01) LLPEDTPPL (A02.01)	MSI+CRC、 MSI+子宫/ 子宫内膜 癌、MSI+胃 癌、Lynch 综 合征
表 2C		移码¹		

APC	F1354fs	<u>AKFQQCHST</u> <u>LEPNPADCR</u> <u>VLVYLQNQP</u> <u>GTKLLNFLQE</u> <u>RNLPPKVVL</u> <u>RHPKVHLNT</u> <u>MFRRPHSCL</u> <u>ADVLLSVHLI</u> <u>VLRVVRLPA</u> <u>PFRVNHAVE</u> <u>W*</u>	APFRVNHAV (B07.02) CLADVLLSV (A02.01) FLQERNLPPK (A03.01) HLIVLRVVRL (A02.01, B08.01) HPKVHLNTM (B07.02, B08.01) HPKVHLNTMF (B07.02, B08.01) KVHLNTMFR (A03.01) KVHLNTMFRR (A03.01) LPAPFRVNHA (B07.02) MFRRPHSCL (B07.02, B08.01) MFRRPHSCLA (B08.01) NTMFRRPHSC (B08.01) RPHSCLADV (B07.02) RPHSCLADV (B07.02) RVVRLPAPFR (A03.01) SVHLIVLRV (A02.01) TMFRRPHSC (B08.01) TMFRRPHSCL (A02.01, B08.01) VLLSVHLIV (A02.01) VLLSVHLIVL (A02.01)	CRC 、 LUAD 、 UCEC 、 STAD
-----	---------	---	---	-----------------------------------

基因	氨基酸 改变	突变序列背景	肽(HLA 等位基因示 例)	示例性疾病
			VLRVVRLPA (B08.01) VVRLPAPFR (A03.01)	

[0287] 合成了来自表1的肽子集 (n=562) 并且如所述测量了它们对其给定的HLA I类分子的亲和力。表3中示出了值。这些数据显示了预测与测量之间的强相关性(虚线代表最佳拟合, $R^2=0.45$), 证实了预测的值。但是, 异常值表明了这些测量的重要性。粗竖直线和水平线分别显示在500nM时预测的亲和力和观测的亲和力。500nM在本领域中被普遍接受为对于作为HLA I类的“弱结合剂”的表位的最大亲和力。因此, 在右下象限中的点(预测值大于500nM, 测量值小于500nM)是被视为极弱结合剂但是却观测到在可接受范围内结合的表位。在此象限中的表位 (n=75) 占根据预测不被视为结合剂的表位(右下和右上象限的合并, n=246)的30.5%。

表3

突变	等位基因	肽	预测的亲和力 (IC ₅₀ ; (nM))	观测的亲和力 (IC ₅₀ ; (nM))	稳定性 (T _{1/2} (h))
ABL1, M351T	A02.0 1	TQISSATEYL	2921.0	2644.0	0
ABL1, T315I	A02.0 1	YIIIEFMTYG	3502.0	186.0	0
ABL1, T315I	A02.0 1	IIIEFMTYG	1991.0	779.0	0
ABL1, T315I	A02.0 1	IIIEFMTYGN	16793.0	1551.0	0
ABL1, T315I	A02.0 1	IIIEFMTYGNL	2134.0	9702.0	0
ABL1, Y253H	A02.0	KLGGGQHGE	1705.0	387.0	0.4

	1	V			
AKT1, E17K	B08.01	WLHKRGKYI	47.0	417.0	1.3
AKT1, E17K	A02.0 1	WLHKRGKYI	4972.0	1250.0	1.2
AKT1, E17K	B07.02	WLHKRGKYI	7185.0	2648.0	0
ALK, G1269A	A02.0 1	RVAKIADFG M	5258.0	125.0	0.5
ALK, G1269A	B07.02	RVAKIADFG M	7260.0	9723.0	0.2
ALK, L1196M	A02.0 1	SLPRFILMEL	94.0	26.0	0.5
ALK, L1196M	A02.0 1	ILMELMAGG	192.0	223.0	0.5
ALK, L1196M	A02.0 1	LMELMAGG DL	5617.0	311.0	8.9
ALK, L1196M	A02.0 1	LQSLPRFILM	2519.0	413.0	0
ALK, L1196M	B07.02	SLPRFILMEL	17.0	583.0	0.4
ALK, L1196M	B08.01	LQSLPRFILM	1288.0	1547.0	0
ALK, L1196M	A02.0 1	FILMELMAG G	189.0	1580.0	0
ALK, L1196M	B08.01	SLPRFILMEL	686.0	1762.0	0
ALK, L1196M	A24.0 2	SLPRFILMEL	5143.0	2774.0	0.2
ALK, L1196M	A02.0 1	ILMELMAGG D	5761.0	3451.0	0
APC, AVEW	A02.0 1	VLLSVHLIV	36.0	72.0	11
APC, AVEW	A02.0 1	CLADVLLSV	5.0	219.0	24
APC, VHPA	A02.0 1	KVLQMDFLV	25.0	11.0	6.4

APC, VHPA	A02.0 1	LQMDFLVHP A	26.0	68.0	1.5
β 2M, ...MPA V	A03.0 1	TTLNSPPLK K	62.5	14.3	未测量
β 2M, ...MPA V	A03.0 1	TTLNSPPLK	165.4	9.8	未测量
β 2M, ...MPA V	A03.0 1	TLNSPPLKK	27.5	5.4	未测量
β 2M, ...MPA V	A03.0 1	CTTLNSPPLK	225.3	63.6	未测量
β 2M, ...MPA V	B08.01	CLSARTGLSI	1106.6	149.6	未测量
β 2M, ...MPA V	A02.0 1	GLSISCTTL	669.0	114.5	未测量
β 2M, ...SIRH	A03.0 1	LTSSSREWK	413.9	117.8	未测量
β 2M, ...SIRH	A03.0 1	LLTSSSREW K	206.1	1769.8	未测量
β 2M, ...SIRH	B07.02	YPAYSKDSG L	41.1	79.5	未测量
β 2M, ...SIRH	B08.01	EWKVKFPEL	488.7	538.4	未测量
β 2M, ...SIRH	A24.0 2	KFPELLCVW	83.7	13.7	未测量
β 2M, ...SQIS	B08.01	LQRFRFTHV	55.5	37.3	未测量
β 2M, ...SQIS	A24.0 2	RLSSVLQRF	288.9	28.2	未测量
β 2M, ...SQIS	A02.0 1	VLQRFRFTH V	163.4	106.7	未测量
β 2M, ...SQIS	B08.01	VLQRFRFTH V	264.1	480.1	未测量
β 2M, ...SQIS	A03.0 1	RLSSVLQRF R	168.1	12.5	未测量
BCR:ABL (e13a2, aka b2a2)	B08.01	LTINKEEAL	4972.0	895.0	0

BCR:ABL (e13a2, aka b2a2)	A02.0 1	LTINKEEAL	12671.0	4413.0	0
BRAF, V600E	A02.0 1	LATEKSRWS G	39130.0	23337. 0	0
BRAF, V600E	B08.01	LATEKSRWS	24674.0	36995. 0	0
BRAF, V600E	B08.01	LATEKSRWS G	13368.0	46582. 0	0
BRAF, V600E	A02.0 1	LATEKSRWS	39109.0	60997. 0	0
BTK, C481S	A02.0 1	SLLNYLREM	48.0	87.0	3
BTK, C481S	A02.0 1	MANGSLLNY L	2979.0	1082.0	0
BTK, C481S	B07.02	SLLNYLREM	6544.0	1110.0	0
BTK, C481S	B08.01	SLLNYLREM	1091.0	1230.0	0
BTK, C481S	A02.0 1	YMANGSLLN	7856.0	4444.0	0
BTK, C481S	B07.02	MANGSLLNY L	8921.0	17715. 0	0
BTK, C481S	B08.01	MANGSLLNY L	7639.0	19853. 0	0
BTK, C481S	A03.0 1	MANGSLLNY	1030.3	35.6	未测量
BTK, C481S	A01.0 1	MANGSLLNY	285.7	439.0	未测量
BTK, C481S	A24.0 2	EYMANGSLL	213.2	5.0	未测量
BTK, C481S	A01.0 1	YMANGSLLN Y	95.7	13.2	未测量
BTK, C481S	A03.0 1	YMANGSLLN Y	109.4	95.9	未测量
C11orf95:RE LA	A02.0 1	ELFPLIFPA	13.0	13.0	5.1

C11orf95:RE LA	A24.0 2	KGPELFPLI	909.0	14.0	1.7
C11orf95:RE LA	A02.0 1	KGPELFPLI	6840.0	101.0	0.3
C11orf95:RE LA	B08.01	ELFPLIFPA	7316.0	449.0	0
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	KLFSCLSFL	6.0	6.0	14.3
C15ORF40(+ 1)	A03.0 1	KLFSCLSFL	1488.0	308.0	0.8
C15ORF40(+ 1)	A03.0 1	SLQPPPPGFK	26.3	19.0	未测量
C15ORF40(+ 1)	A03.0 1	LFFFFFFETK	658.4	413.3	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	ALFFFFFFET	28.9	470.7	未测量
C15ORF40(+ 1)	A03.0 1	ALFFFFFFETK	31.5	216.4	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	FFFETKSCSV	754.5	61.2	未测量
C15ORF40(+ 1)	B08.01	FFETKSCSV	807.6	7.6	未测量
C15ORF40(+ 1)	A01.0 1	LSFLSSWDY	211.1	52.9	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	FLSSWDYRR M	62.2	323.5	未测量
C15ORF40(+ 1)	A03.0 1	LSFLSSWDY R	508.7	100.9	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	FKLFSCLSFL	9.9	662.9	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	VQWRSLGSL	986.0	4733.2	未测量
C15ORF40(+ 1)	A02.0 1	KLFSCLSFLS	65.1	0.6	未测量
C15ORF40(+ 1)	A03.0	KLFSCLSFLS	805.1	104.0	未测量

1)	1				
C15ORF40(+1)	A02.0 1	AQAGVQWR SL	630.2	670.0	未测量
C15ORF40(+1)	A24.0 2	RRMPPCLAN F	253.0	141.1	未测量
C15ORF40(+1)	A03.0 1	CLSFLSSWD Y	890.5	2705.8	未测量
C15ORF40(+1)	A24.0 2	GFKLFSCLSF	387.4	643.0	未测量
C15ORF40(+1)	A24.0 2	RMPPCLANF	34.4	8.7	未测量
C15ORF40(+1)	A03.0 1	CLANFCIFNR	575.4	221.8	未测量
C15ORF40(+1)	A01.0 1	CLSFLSSWD Y	538.7	987.3	未测量
CNOT1(+1)	A02.0 1	SVCFFFFSV	27.0	175.0	9.4
CNOT1(+1)	B08.01	SVCFFFFSV	4940.0	10599.0	0
CNOT1(+1)	A02.0 1	MSVCFFFFS V	131.0	1706.4	未测量
CNOT1(+1)	A02.0 1	FFFSVIFST	608.9	4556.0	未测量
CNOT1(-1)	A01.0 1	MSVCFFFFC Y	310.4	4369.3	未测量
CNOT1(-1)	A02.0 1	SVCFFFFCYI	237.2	519.8	未测量
CNOT1(-1)	A24.0 2	FFCYILNTMF	583.4	73.4	未测量
EGFR, T790M	A02.0 1	MQLMPFGCL L	21.0	20.0	0.4
EGFR, T790M	A02.0 1	MQLMPFGCL	842.0	166.0	0.4
EGFR, T790M	A02.0 1	LIMQLMPFG C	1984.0	177.0	0.4

EGFR, T790M	A02.0 1	QLIMQLMPF	2511.0	227.0	0.3
EGFR, T790M	B08.01	QLIMQLMPF	891.0	388.0	0
EGFR, T790M	B08.01	IMQLMPFGC L	1302.0	548.0	0
EGFR, T790M	A02.0 1	CLTSTVQLI M	3465.0	716.0	0
EGFR, T790M	A02.0 1	IMQLMPFGC L	143.0	837.0	0.5
EGFR, T790M	A02.0 1	IMQLMPFGC	1123.0	1607.0	0.4
EGFR, T790M	B07.02	MQLMPFGCL	10169.0	2270.0	0
EGFR, T790M	A24.0 2	QLIMQLMPF	3209.0	2389.0	0.4
EGFR, T790M	A02.0 1	LIMQLMPFG	4961.0	3513.0	0
EGFR, T790M	A24.0 2	VQLIMQLMP F	1455.0	4559.0	0
EGFR, T790M	A02.0 1	VQLIMQLMP F	4464.0	5492.0	0
EGFR, T790M	A02.0 1	QLIMQLMPF G	5751.0	5926.0	0
EGFR, T790M	B08.01	MQLMPFGCL	1105.0	7045.0	0
EGFR, T790M	A02.0 1	STVQLIMQL	2151.0	8537.0	0
EGFR, T790M	A01.0 1	CLTSTVQLI M	2998.0	11036. 0	0
EGFR, T790M	B08.01	MQLMPFGCL L	970.0	14056. 0	0
EGFR, T790M	B08.01	VQLIMQLMP F	3370.0	17898. 0	0
EGFR,	A24.0	IMQLMPFGC	4394.0	18102.	0

T790M	2	L		0	
EGFR, T790M	A24.0 2	MQLMPFGCL L	4168.0	23572. 0	0
EGFR, T790M	A01.0 1	LTSTVQLIM	1000.7	2891.1	未测量
EGFR:SEPT1 4	B08.01	QLQDKFEHL	917.0	989.0	0
EGFR:SEPT1 4	A02.0 1	QLQDKFEHL	422.0	1155.0	0.6
EGFR:SEPT1 4	A02.0 1	YLVQLQDK F	9963.0	2057.0	0
EGFR:SEPT1 4	A24.0 2	YLVQLQDK F	9508.0	2152.0	2.6
EGFR:SEPT1 4	A02.0 1	IQLQDKFEH L	820.0	4265.0	0.2
EGFR:SEPT1 4	B08.01	IQLQDKFEH L	4278.0	10247. 0	0
EGFRvIII (内 部缺失)	A02.0 1	ALEKKGNY V	2445.0	141.0	0
EIF2B3(-1)	A02.0 1	KQWSSVTSL	54.4	26.5	未测量
EML4:ALK	B08.01	QVYRRKHQE L	194.0	160.0	0
EPHB2(-1)	A02.0 1	ILIRKAMTV	38.2	19.5	未测量
ESR1, D538G	A24.0 2	PLYGLLLEM L	1519.0	444.0	6.3
ESR1, D538G	A02.0 1	GLLLEMLDA	705.0	558.0	0.4
ESR1, D538G	A02.0 1	PLYGLLLEM	349.0	640.0	0.7
ESR1, D538G	A24.0 2	VVPLYGLLL	2965.0	658.0	0.8
ESR1, D538G	A02.0 1	PLYGLLLEM L	542.0	797.0	0

ESR1, D538G	A02.0 1	VVPLYGLLL	4432.0	1039.0	0.6
ESR1, D538G	A02.0 1	NVVPLYGLL	4835.0	10471.0	0
ESR1, D538G	B07.02	VPLYGLLLE M	145.1	27.9	未测量
ESR1, D538G	A24.0 2	LYGLLLEML	218.3	0.8	未测量
ESR1, S463P	A02.0 1	FLPSTLKSL	71.0	21.0	2.1
ESR1, S463P	A02.0 1	GVYTFLPST	307.0	779.0	1.3
ESR1, S463P	A24.0 2	FLPSTLKSL	10723.0	995.0	1
ESR1, S463P	A02.0 1	GVYTFLPST L	248.0	1197.0	0.4
ESR1, S463P	B08.01	FLPSTLKSL	2314.0	1968.0	0
ESR1, S463P	A24.0 2	GVYTFLPST L	954.0	7696.0	0
ESR1, Y537C	A02.0 1	PLCDLLEML	1067.0	602.0	0.8
ESR1, Y537C	A02.0 1	VVPLCDLLL	5533.0	1200.0	0
ESR1, Y537C	A02.0 1	NVVPLCDLL L	1964.0	1373.0	0
ESR1, Y537C	A02.0 1	PLCDLLEML L	1320.0	2008.0	0.9
ESR1, Y537C	A02.0 1	NVVPLCDLL	3473.0	3027.0	0
ESR1, Y537C	A24.0 2	VVPLCDLLL	7992.0	3888.0	0.4
ESR1, Y537N	A02.0 1	PLNDLLEML	1062.0	151.0	4.2
ESR1, Y537N	A02.0 1	NVVPLNDLL	4725.0	2900.0	0

ESR1, Y537N	A02.0 1	NVVPLNDLL L	2606.0	4190.0	0
ESR1, Y537N	A02.0 1	PLNDLLLEM L	1741.0	11957. 0	0
ESR1, Y537S	A02.0 1	PLSDLLLEM	713.0	404.0	2.7
ESR1, Y537S	A02.0 1	NVVPLSDLL L	2510.0	741.0	0
ESR1, Y537S	A02.0 1	NVVPLSDLL	4259.0	916.0	0
ESR1, Y537S	A02.0 1	VVPLSDLLL	8320.0	2551.0	0
ESR1, Y537S	A02.0 1	PLSDLLLEM L	1138.0	6469.0	0
ESR1, Y537S	A24.0 2	VVPLSDLLL	8463.0	8252.0	0.5
FAM111B(-1)	A03.0 1	RMKVPLMK	58.9	33.0	未测量
FGFR3, S249C	A02.0 1	YTLDVLERC	3309.0	1764.0	6.6
FGFR3, S249C	B08.01	VLERCPHRPI	3629.0	7223.0	0
FGFR3, S249C	A02.0 1	VLERCPHRPI	4505.0	15321. 0	0
FGFR3:TACC 3	A02.0 1	VLTVTSTDV	1255.0	295.0	1.1
FRG1B, I10T	B07.02	KLSDSRTAL	225.0	9.0	6.8
FRG1B, I10T	A02.0 1	KLSDSRTAL	275.0	111.0	2.8
FRG1B, I10T	B08.01	KLSDSRTAL	3276.0	122.0	0
FRG1B, L52S	A02.0 1	ALSASNCFI	327.0	226.0	0.8
FRG1B, L52S	B08.01	FQNGKMALS A	7796.0	425.0	0
FRG1B, L52S	B07.02	ALSASNCF	13989.0	684.0	0

FRG1B, L52S	A02.0 1	ALSASNSCF	7913.0	728.0	0.3
FRG1B, L52S	A02.0 1	FQNGKMALS	2305.0	3276.0	0
FRG1B, L52S	A02.0 1	FQNGKMALS A	1205.0	6158.0	0
FRG1B, L52S	A24.0 2	ALSASNSCF	9672.0	16338. 0	0.2
GATA3 ...CS NH	B08.01	FLKAESKIM	263.4	21.9	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	LQHGHRHGL	693.0	550.4	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	EPHLALQPL	106.6	17.0	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	RPLQTHVLP E	968.0	2534.4	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	FATLQRSSL	138.0	26.6	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	MFATLQRSS L	1285.0	266.9	未测量
GATA3 ...CS NH	A24.0 2	MFLKAESKI	1065.7	332.1	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	FATLQRSSL	261.9	14.0	未测量
GATA3 ...CS NH	A02.0 1	MLTGPPARV	145.4	10.6	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	EPHLALQPL	1128.3	12.4	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	GPPARVPAV	297.6	221.2	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	MFATLQRSS L	220.5	53.4	未测量
GATA3 ...CS NH	A02.0 1	ALQPLQPHA	644.4	603.9	未测量
GATA3 ...CS	A03.0	VLWTTPPLQ	962.3	16.0	未测量

NH	1	H			
GATA3 ...CS NH	A02.0 1	VLPEPHLAL	140.7	16.0	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	HVLPEPHLA L	1057.2	1332.6	未测量
GATA3 ...CS NH	A03.0 1	YMFLKAESK	53.1	79.8	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	VPAVPFDLH F	1996.2	2114.2	未测量
GATA3 ...CS NH	A02.0 1	AIQPVLWTT	229.3	8.1	未测量
GATA3 ...CS NH	A02.0 1	TLQRSSLWC L	319.2	117.7	未测量
GATA3 ...CS NH	A03.0 1	KIMFATLQR	62.5	2.5	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	QPVLWTTTP L	54.4	109.3	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	ESKIMFATL	253.7	17.7	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	IMKPKRDGY M	342.1	33.2	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	KPKRDGYMF	109.7	28.2	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	FLKAESKIM F	1539.9	82.3	未测量
GATA3 ...CS NH	B07.02	KPKRDGYMF L	32.5	98.1	未测量
GATA3 ...CS NH	B08.01	LHFCRSSIM	2141.2	118.7	未测量
GATA3 CSNH	A02.0 1	SMLTGPPAR V	57.0	15.0	21.7
GATA3 CSNH	B08.01	YMFLKAESK I	606.0	32.0	0.4
GATA3 CSNH	A02.0 1	YMFLKAESK I	163.0	166.0	0.6

GATA3 CSNH	A03.0 1	YMFLKAESK I	1338.0	21111. 0	0
GATA3 YHEA	A02.0 1	FLQEQYHEA	7.0	11.0	9.5
GATA3 YHEA	B08.01	FLQEQYHEA	1222.0	2285.0	0
GBP3(-1)	B08.01	TLKKKPRDI	286.3	3.3	未测量
HER2, G776insYVM A	A02.0 1	VMAYVMAG V	6.0	2.0	16.5
HER2, G776insYVM A	A02.0 1	YVMAYVMA GV	5.0	57.0	20.9
HER2, G776insYVM A	B07.02	YVMAYVMA G	6910.0	170.0	0
HER2, G776insYVM A	B08.01	YVMAYVMA GV	721.0	353.0	0
HER2, G776insYVM A	A02.0 1	YVMAYVMA G	841.0	11535. 0	2.5
HER2, G776insYVM A	B08.01	YVMAYVMA G	836.0	19413. 0	1.2
HER2, G776insYVM A	B07.02	YVMAYVMA GV	11445.0	52630. 0	0
HER2, L755S	A03.0 1	KVSRENTSP K	66.0	7.0	13.5
HER2, V777L	A02.0 1	VMAGLGSPY V	20.0	102.0	2.9
HER2, V777L	A03.0 1	VMAGLGSPY V	3951.0	11222. 0	0
JAK1(-1)	A02.0	SLMPAHWSI	4.0	48.0	5

	1				
JAK1(-1)	A02.0 1	LSLMPAHWS I	21.0	164.0	0.4
JAK1(-1)	B08.01	SLMPAHWSI	282.0	177.0	0
JAK1(-1)	A02.0 1	FQMQLSLM	33.0	553.0	0.3
JAK1(-1)	A24.0 2	SLMPAHWSI	194.0	633.0	0.4
JAK1(-1)	B08.01	LSLMPAHWS I	1914.0	860.0	0
JAK1(-1)	B07.02	SLMPAHWSI	3907.0	1040.0	0
JAK1(-1)	B08.01	FQMQLSLM	2261.0	6714.0	0
JAK1(-1)	B07.02	FQMQLSLM	3458.0	10207. 0	0
JAK1(-1)	A24.0 2	LSLMPAHWS I	2125.0	12398. 0	0
JAK1(-1)	A24.0 2	FQMQLSLM	4021.0	14612. 0	0
KIT, T670I	A02.0 1	VIIIEYCCYG	4225.0	191.0	0.5
KIT, T670I	A02.0 1	IIIEYCCYGDL	3918.0	7310.0	0
KIT, T670I	A02.0 1	TIGGPTLVII	5425.0	10685. 0	0
KIT, V654A	A02.0 1	YLGNHMNIA	92.0	117.0	0.6
KIT, V654A	A02.0 1	MNIANLLGA	4522.0	128.0	0.3
KIT, V654A	A02.0 1	HMNIANLLG A	294.0	430.0	0
KIT, V654A	B08.01	YLGNHMNIA	2480.0	872.0	0
KIT, V654A	A02.0 1	YLGNHMNIA N	7103.0	1342.0	0
KIT, V654A	A02.0 1	IANLLGACTI	11214.0	6417.0	0

KRAS, G12C	A02.0 1	KLVVVGAC GV	204.0	150.0	1
KRAS, G12C	A02.0 1	LVVVGACG V	658.0	1213.0	0.6
KRAS, G12C	A03.0 1	VVVGACGV GK	300.7	1.6	未测量
KRAS, G12C	A03.0 1	VVGACGVG K	182.0	4.1	未测量
KRAS, G12D	A02.0 1	KLVVVGAD GV	361.0	184.0	0.9
KRAS, G12D	A02.0 1	LVVVGADG V	2120.0	1192.0	0
KRAS, G12V	A02.0 1	KLVVVGAV GV	163.0	96.0	0.9
KRAS, G12V	A02.0 1	LVVVGAVG V	453.0	975.0	0.6
KRAS, G12V	A03.0 1	VVGAVGVG K	168.9	1.9	未测量
KRAS, Q61H	A01.0 1	ILDTAGHEE Y	131.8	64.2	未测量
KRAS, Q61L	A01.0 1	ILDTAGLEE Y	65.9	8.6	未测量
KRAS, Q61L	A02.0 1	LLDILDTAG L	113.4	715.7	未测量
LMAN1(+1)	B07.02	GPPRPPRAA C	69.3	48.6	未测量
LMAN1(+1)	B07.02	PPRPPRAAC	263.7	32.8	未测量
LMAN1(-1)	B08.01	SLRRKYLRV	28.0	0.4	未测量
MEK, C121S	A02.0 1	VLHESNSPYI	189.0	131.0	1.9
MEK, P124L	A02.0 1	VLHECNSLY I	67.0	10.0	5.1
MEK, P124L	A02.0 1	SLYIVGFYG A	104.0	390.0	0.4
MEK, P124L	A02.0	SLYIVGFYG	2987.0	1063.0	0

	1				
MEK, P124L	A02.0 1	LQVLHECNS L	5803.0	4723.0	0
MEK, P124L	A02.0 1	QVLHECNSL	8695.0	7774.0	0.5
MEK, P124L	A03.0 1	VLHECNSLY I	4733.0	10500. 0	0
MEK, P124L	B08.01	QVLHECNSL	6854.0	14532. 0	0
MEK, P124L	B08.01	LQVLHECNS L	2782.0	19316. 0	0
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	LLQVTQTSF A	1935.0	676.9	未测量
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	RLWHLLLQV	8.3	1.3	未测量
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	LQVTQTSFA L	1147.4	718.3	未测量
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	RLWHLLLQV T	140.8	50.9	未测量
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	ALAPTLTHM	98.4	59.0	未测量
MLL2, ...LSP H	A02.0 1	ALAPTLTHM L	66.4	39.0	未测量
MLL2, CRLS	B08.01	SLGNHLCPL	136.0	6.0	0.5
MLL2, CRLS	A02.0 1	SLGNHLCPL	28.0	18.0	3.5
MLL2, CRLS	B07.02	SLGNHLCPL	3967.0	2590.0	0
MSH3(-1)	A02.0 1	LLALWECSL	46.0	15.0	4
MSH3(-1)	A02.0 1	FLLALWECS L	17.0	114.0	10.8
MSH3(-1)	B08.01	LLALWECSL	1454.0	154.0	0
MSH3(-1)	B08.01	FLLALWECS L	671.0	13100. 0	0
MSH3(-1)	A02.0	LIVSRTL	755.0	173.5	未测量

	1				
MSH3(-1)	A02.0 1	LIVSRTL LLV	146.6	10920. 6	未测量
MSH3(-1)	B08.01	LIVSRTLL	270.7	881.7	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	IVSRTLLLV	166.2	12.7	未测量
MSH3(-1)	B08.01	SLPQARLCLI	632.3	4313.9	未测量
MSH3(-1)	B08.01	CLIVSRTLL	835.7	1100.4	未测量
MSH3(-1)	B08.01	LPQARLCLI	136.5	15.0	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	SLPQARLCLI	782.4	112.9	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	CLIVSRTLL	560.5	2005.1	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	FLLALWECS	686.6	93.2	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	FLLALWECS L	16.6	0.9	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	LLALWECSL	46.1	12.5	未测量
MSH3(-1)	B07.02	LPQARLCLI	134.6	72.6	未测量
MSH3(-1)	B08.01	CLIVSRTLL	915.0	126.7	未测量
MSH3(-1)	A02.0 1	ALWECSLPQ A	24.6	9.0	未测量
MSH3(-1)	B08.01	LPQARLCLIV	591.4	152.1	未测量
MSH6(+1)	A02.0 1	LLPEDTPPL	8.9	2.8	未测量
MSH6(+1)	A02.0 1	ILLPEDTPPL	16.3	6.7	未测量
MYC, E39D	A02.0 1	QQSDLQPPA	4930.0	70.0	0
MYC, E39D	A02.0 1	QQQSDLQPP A	11835.0	646.0	0
MYC, E39D	A02.0 1	YQQQQQSDL	8842.0	799.0	0.4
MYC, E39D	B08.01	YQQQQQSDL	5259.0	18868.	0

				0	
MYC, P57S	A02.0 1	FELLSTPPL	2509.0	225.0	0
MYC, P57S	A02.0 1	LLSTPPLSPS	5226.0	1770.0	0
MYC, P57S	B08.01	FELLSTPPL	4208.0	3179.0	0
MYC, T58I	A02.0 1	LLPIPPLSPS	2071.0	449.0	0
MYC, T58I	A02.0 1	FELLPIPPL	2472.0	553.0	0
NAB:STAT6 (Chmielecki 等人的“变体 1”)	A02.0 1	SQIMSLWGL	14.0	62.0	1
NAB:STAT6 (Chmielecki 等人的“变体 1”)	A02.0 1	IMSLWGLVS	3630.0	7321.0	0
NAB:STAT6 (Chmielecki 等人的“变体 1”)	A24.0 2	SQIMSLWGL	1604.0	8516.0	0
NAB:STAT6 (Chmielecki 等人的“变体 1”)	B08.01	SQIMSLWGL	4587.0	15997. 0	0
NDRG1:ERG	A02.0 1	LLQEFDVQE A	200.0	45.0	2.5
NDRG1:ERG	A02.0 1	LQEFDVQEA L	2229.0	50280. 0	0
NDUFC2(- KCDT14)(+1)	A02.0 1	ITAFFFCWI	437.7	7490.4	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(+1)	A24.0 2	LYITAFFFC W	46.6	45.3	未测量
NDUFC2(-	A03.0	FFFCWILSCK	325.9	597.1	未测量

KCDT14)(+1)	1				
NDUFC2(- KCDT14)(+1)	A03.0 1	FFCWILSCK	985.7	184.9	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A02.0 1	LLYITAFFL	24.0	713.0	17
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	B08.01	LLYITAFFL	3588.0	9592.0	0
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A02.0 1	ITAFFLLDI	699.0	78.7	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A02.0 1	YITAFFLLDI	157.0	64.5	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A24.0 2	LYITAFFLL	15.6	0.1	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A02.0 1	LLYITAFFLL	43.7	323.2	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A24.0 2	LLYITAFFLL	59.7	60.1	未测量
NDUFC2(- KCDT14)(-1)	A24.0 2	LYITAFFLLD	414.3	0.4	未测量
NRAS, Q61K	A01.0 1	ILDTAGKEE Y	272.6	14.3	未测量
NRAS, Q61R	A01.0 1	ILDTAGREE Y	255.8	7.0	未测量
PDGFRa, T674I	A02.0 1	IIIEYCFYG	693.0	16.0	1.2
PDGFRa, T674I	A02.0 1	YIIIEYCFYG	1529.0	113.0	0
PDGFRa, T674I	A02.0 1	IIIEYCFYGDL	3049.0	1090.0	0
PIK3CA, E542K	A02.0 1	KITEQEKDFL	12548.0	1397.0	0
PIK3CA, E542K	A03.0 1	AISTRDPLSK	41.3	57.5	未测量
PTEN, R130Q	A02.0 1	QTGVMICAY L	3786.0	9760.0	0

RAC1, P29S	A02.0 1	FSGEYIPTV	21.0	3.0	6.8
RAC1, P29S	A02.0 1	AFSGEYIPTV	1008.0	781.0	0
RAC1, P29S	A01.0 1	TTNAFSGEY	23.0	4.4	未测量
RAC1, P29S	A01.0 1	YTTNAFSGE Y	20.0	10.5	未测量
RBM27(+1)	B07.02	MPKDVNIQV	291.6	12.5	未测量
RBM27(+1)	A01.0 1	TGSNEVTTR Y	343.9	15545. 2	未测量
RBM27(+1)	A01.0 1	GSNEVTTRY	151.6	605.5	未测量
RNF43, RHTP	A02.0 1	TQLARFFPI	17.0	19.0	0
RNF43, RHTP	A24.0 2	TQLARFFPI	268.0	52.0	0
RNF43, RHTP	B08.01	TQLARFFPI	41.0	9150.0	0
SEC31A(-1)	A02.0 1	KLMLLRLNL	58.0	17.0	16.9
SEC31A(-1)	B08.01	KLMLLRLNL	421.0	29.0	0
SEC31A(-1)	B07.02	KLMLLRLNL	2969.0	133.0	1.5
SEC31A(-1)	A03.0 1	KLMLLRLNL	4664.0	210.0	0
SEC31A(-1)	B08.01	LLRLNLRKM	185.1	68.2	未测量
SEC31A(-1)	A03.0 1	MLLRLNLRK M	171.4	116.9	未测量
SEC31A(-1)	A03.0 1	KLMLLRLNL R	95.4	48.4	未测量
SEC31A(-1)	A03.0 1	MLLRLNLRK	14.6	1.3	未测量
SEC31A(-1)	A03.0 1	LMLLRLNLR K	23.9	6.0	未测量
SEC31A(-1)	A02.0 1	MLLRLNLRK M	508.5	2507.4	未测量

SEC31A(-1)	B08.01	MLLRLNLRK M	565.9	95.3	未测量
SEC31A(-1)	A02.0 1	KLMLLRLNL	57.6	2.6	未测量
SEC31A(-1)	B08.01	LMLLRLNL	116.0	9.3	未测量
SEC31A(-1)	B08.01	KLMLLRLNL	420.6	58.4	未测量
SEC31A(-1)	A02.0 1	KKLMLLRLN L	275.4	288.9	未测量
SEC31A(-1)	B08.01	NLRKMCQPF	163.5	35.9	未测量
SEC31A(-1)	B08.01	YCQKKLMLL	203.1	222.1	未测量
SEC31A(-1)	B08.01	LNLKMCQPF	782.2	438.7	未测量
SEC63(+1)	A03.0 1	YTCAITTVK	279.0	122.4	未测量
SEC63(+1)	A03.0 1	TYTCAITTV K	556.4	2362.2	未测量
SEC63(+1)	A03.0 1	ITTVKATET K	795.8	1245.3	未测量
SEC63(+1)	A03.0 1	KSKKKETFK K	744.0	39.6	未测量
SEC63(+1)	B08.01	TFKKKTYTC	648.2	77.9	未测量
SEC63(+1)	A03.0 1	KSKKKETFK	411.0	74.3	未测量
SEC63(+1)	B08.01	FKKKTYTCA I	562.8	384.9	未测量
SEC63(-1)	B08.01	TAKSKKRNL	213.8	30.6	未测量
SF3B1, K700E	A02.0 1	GLVDEQQEV	50.0	44.0	7.4
SLC35F5(-1)	A02.0 1	FALCGFWQI	10.5	0.4	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	KSRQNHLQL K	88.1	4.7	未测量
SMAP1(-1)	B07.02	KSRQNHLQL	329.5	78.0	未测量
SMAP1(-1)	A24.0 2	KLRSPLWIF	504.5	828.2	未测量

SMAP1(-1)	A03.0 1	KISNWSLKK	11.5	8.8	未测量
SMAP1(-1)	A11.0 1	KISNWSLKK	15.3	9.8	未测量
SMAP1(-1)	A11.0 1	SLKKVPALK	117.6	129.1	未测量
SMAP1(-1)	B08.01	SLKKVPAL	66.8	7.9	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	WSLKKVPAL K	148.9	94.9	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	KISNWSLKK V	168.3	114.6	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	RKISNWSLK K	20.8	130.6	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	SLKKVPALK	29.6	4.4	未测量
SMAP1(-1)	B08.01	SQKSRQNHL	305.0	44.6	未测量
SMAP1(-1)	B07.02	ALKKLSPL	355.5	223.2	未测量
SMAP1(-1)	B08.01	ALKKLSPL	58.9	0.5	未测量
SMAP1(-1)	B08.01	WSLKKVPAL	110.7	12.5	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	HLQLKSCRR K	216.7	96.9	未测量
SMAP1(-1)	B08.01	LKKLSPL	139.6	0.6	未测量
SMAP1(-1)	A03.0 1	SLKKVPALK K	43.1	9.6	未测量
SPOP, F133L	A02.0 1	FVQGKDWG L	121.0	34.0	2.1
SPOP, F133L	B08.01	FVQGKDWG L	1401.0	207.0	0
TFAM(+1)	A03.0 1	RVNTAWKT K	136.4	8.6	未测量
TFAM(+1)	A03.0 1	RVNTAWKT KK	70.6	2.3	未测量
TFAM(+1)	B08.01	TKKKRVNTA	312.4	159.4	未测量
TFAM(+1)	A03.0 1	KRVNTAWK TK	304.1	331.6	未测量

TFAM(+1)	B08.01	WTKKTSFSL	930.6	112.2	未测量
TFAM(+1)	B08.01	MTKKRVNTA	534.2	186.9	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	RLSSCPVA	83.0	4.0	18.7
TGFBR2(-1)	A03.0 1	RLSSCPVA	4264.0	439.0	0
TGFBR2(-1)	A03.0 1	AMTSSSQK	48.5	8.3	未测量
TGFBR2(-1)	A03.0 1	AMTSSSQKN	887.2	2336.5	未测量
TGFBR2(-1)	B08.01	IMKEKSL	69.8	14.1	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	KSLVRLSSCV	903.1	279.8	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	SLVRLSSCV	177.3	29.9	未测量
TGFBR2(-1)	A11.0 1	SAMTSSSQK	36.4	15.8	未测量
TGFBR2(-1)	B08.01	IMKEKSLV	80.8	16.8	未测量
TGFBR2(-1)	A11.0 1	AMTSSSQK	89.9	161.6	未测量
TGFBR2(-1)	A03.0 1	SAMTSSSQK	96.7	15.7	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	RLSSCPVAL	84.5	54.2	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	VRLSSCPVA	640.6	1206.8	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	RLSSCPVA	82.7	49.5	未测量
TGFBR2(-1)	B08.01	CIMKEKSL	218.5	7.5	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	ALMSAMTTS	320.4	139.1	未测量
TGFBR2(-1)	A02.0 1	LVRLSSCPV	132.7	1237.6	未测量

THAP5(-1)	A03.0 1	KMRKKYQAQ K	23.7	5.7	未测量
TMPRSS2:ER G	A02.0 1	ALNSEALSV	66.0	14.0	9.1
TMPRSS2:ER G	A02.0 1	ALNSEALSV V	84.0	15.0	2.9
TMPRSS2:ER G	A02.0 1	MALNSEALS V	198.0	129.0	0.7
TMPRSS2:ER G	B08.01	MALNSEALS V	8512.0	13457. 0	0
TP53, AAVG	A02.0 1	GLLAFWDSQ V	57.0	10.0	14.2
TP53, AAVG	A02.0 1	LLAFWDSQV	13.0	68.0	12.8
TP53, AWAA	A02.0 1	WMTETLFDI	7.0	14.0	4
TP53, AWAA	A02.0 1	WMTETLFDI V	15.0	40.0	0.4
TP53, AWAA	A24.0 2	WMTETLFDI	4936.0	713.0	0
TP53, AWAA	A01.0 1	WMTETLFDI V	4046.0	14394. 0	0
TP53, CSES	B07.02	LPSQRRNHW M	89.0	10.0	6.5
TP53, CSES	B08.01	LPSQRRNHW M	325.0	47.0	0.7
TP53, CSES	A02.0 1	ALSEHCPTT	208.0	79.0	27.3
TP53, G245S	B08.01	CMGSMNRR PI	1204.0	80.0	0
TP53, G245S	A02.0 1	YMCNSSCM GS	2485.0	81.0	0.8
TP53, G245S	B08.01	SMNRRPILTI	260.0	337.0	0
TP53, G245S	A02.0 1	SMNRRPILTI	1644.0	1198.0	0.3

TP53, G245S	B08.01	SMNRRPILT	2536.0	1282.0	0
TP53, G245S	A02.0 1	CMGSMNRR PI	7822.0	1989.0	0
TP53, G245S	A02.0 1	SMNRRPILT	7251.0	3839.0	0
TP53, G245S	A24.0 2	SMNRRPILTI	10308.0	16292. 0	0
TP53, G245S	B08.01	GSMNRRPIL	636.7	15.5	未测量
TP53, G245S	B08.01	MGSMNRRPI L	89.1	6.3	未测量
TP53, G245S	B08.01	MGSMNRRPI	324.2	29.1	未测量
TP53, QPSL	B07.02	LPRKPTRAA T	47.0	3.0	3.7
TP53, QPSL	B07.02	LPRKPTRAA	8.0	8.0	5.5
TP53, QPSL	B07.02	KPTRAATVS V	12.0	8.0	3
TP53, QPSL	B08.01	LPRKPTRAA	873.0	1158.0	0
TP53, R248Q	B08.01	NQRPILTII	3433.0	20.0	0
TP53, R248Q	A02.0 1	GMNQRPILTI	1787.0	709.0	0.4
TP53, R248Q	A02.0 1	GMNQRPILT	8115.0	3029.0	0
TP53, R248Q	A02.0 1	CMGGMNQR PI	3025.0	3673.0	0
TP53, R248Q	A02.0 1	NQRPILTII	10855.0	9606.0	0
TP53, R248Q	B08.01	CMGGMNQR PI	6364.0	18766. 0	0
TP53, R248Q	B08.01	GMNQRPILTI	3266.0	29251. 0	0
TP53, R248W	B08.01	MNWRPILTI	6447.0	1.0	0
TP53, R248W	A02.0 1	GMNWRPILT I	189.0	282.0	0.5
TP53, R248W	A02.0 1	CMGGMNWR PI	354.0	346.0	0.4

TP53, R248W	A02.0 1	MNWRPILTI	5834.0	516.0	3.8
TP53, R248W	A02.0 1	MNWRPILTII	8158.0	1026.0	0.4
TP53, R248W	B08.01	GMNWRPILT I	3990.0	1045.0	0
TP53, R248W	A02.0 1	GMNWRPILT	3416.0	1130.0	0
TP53, R248W	B08.01	CMGGMNWR PI	3218.0	2248.0	0
TP53, R248W	A24.0 2	CMGGMNWR PI	9521.0	4453.0	0
TP53, R248W	A24.0 2	MNWRPILTI	3634.0	6977.0	0.2
TP53, R248W	A24.0 2	MNWRPILTII	1517.0	44901. 0	0
TP53, R273C	A02.0 1	LLGRNSFEV C	1272.0	2081.0	0
TP53, R273C	A02.0 1	NSFEVCA	4239.0	2200.0	0
TP53, R273H	A02.0 1	NSFEVHVCA	6768.0	503.0	0
TP53, SHST	B07.02	HPRPAPASA	13.0	11.0	4.9
TP53, SHST	B08.01	HPRPAPASA	1718.0	25.0	0
TP53, Y220C	A02.0 1	VVPCEPPEV	1268.0	187.0	0.9
TTK(-1)	A02.0 1	VMSDTTYKI	15.8	19.6	未测量
TTK(-1)	A03.0 1	LFVMSDTTY K	57.9	749.4	未测量
TTK(-1)	A02.0 1	FVMSDTTYK I	16.0	62.4	未测量
TTK(-1)	A03.0 1	FVMSDTTYK	63.1	66.9	未测量
TTK(-1)	A03.0	KTFEKKGEK	81.3	32.2	未测量

	1				
TTK(-1)	A01.0 1	VMSDTTYKI Y	245.1	375.8	未测量
TTK(-1)	A01.0 1	MSDTTYKIY	18.9	10.2	未测量
UBR5(-1)	B07.02	RVQNQGHL	429.1	826.5	未测量
VHL, QCIL	A02.0 1	MLTDSLFLPI	8.0	16.0	1
VHL, QCIL	A02.0 1	SMLTDSLFL	14.0	31.0	9.8
VHL, QCIL	B08.01	MLTDSLFLPI	2581.0	110.0	0
VHL, QCIL	A01.0 1	MLTDSLFLPI	429.0	7673.0	0
XPOT(-1)	A02.0 1	YLTKWPKFF L	10.7	42.9	未测量

表4A

基因	HLA 等位基因	肽序列	肽长度	测量的亲和力(nM)	测量的稳定性(小时)
KRAS, G12C	A02.01	LVVVGACGV	9	667.1	0.6
KRAS, G12C	A02.01	KLVVVGACGV	10	70.3	1.0
KRAS, G12D	A02.01	LVVVGADGV	9	977.4	0.0
KRAS, G12D	A02.01	KLVVVGADGV	10	137.7	0.9
KRAS, G12V	A02.01	LVVVGAVGV	9	682.5	0.6
KRAS, G12V	A02.01	KLVVVGAVGV	10	57.6	0.9
KRAS, G12C	A03.01	VVGACGVGK	9	4.1	5.0
KRAS,	A03.01	VVVGACGVGK	10	1.6	2.5

G12C					
KRAS, G12D	A03:01	VVGADGVGK	9	518.7	NB
KRAS, G12D	A03:01	VVVGADGVGK	10	314.9	2.3
KRAS, G12V	A03:01	VVGAVGVGK	9	1.9	1.2
KRAS, G12V	A03:01	VVVGAVGVGK	10	44.2	6.7
KRAS, G12C	A11:01	VVGACGVGK	9	43.2	10.0
KRAS, G12C	A11:01	VVVGACGVGK	10	69.3	15.7
KRAS, G12D	A11:01	VVGADGVGK	9	203.9	3.4
KRAS, G12D	A11:01	VVVGADGVGK	10	33.1	13.0
KRAS, G12V	A11:01	VVGAVGVGK	9	7.7	16.9
KRAS, G12V	A11:01	VVVGAVGVGK	10	26.1	24.3
KRAS, G12D	B08:01	DGVGKSAL	8		
KRAS, G12V	B08:01	VGVGKSAL	8		
KRAS, G12C	B08:01	CGVGKSAL	8		

[0288] 表4B-4M显示了包含RAS突变的肽序列,与其结合的对HLA等位基因,以及对应的预测结合亲和力评分,其中最小的数(例如,1)具有最高的亲和力,反之亦然。

表4B-RAS Q61H突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
ILDTAGHEEY	HLA-A36:01	1
ILDTAGHEEY	HLA-A01:01	2
DTAGHEEYSAM	HLA-A26:01	3
DTAGHEEYSAM	HLA-A25:01	4
GHEEYSAM	HLA-B15:09	4
DTAGHEEY	HLA-A26:01	5
ILDTAGHEE	HLA-C08:02	5
AGHEEYSAM	HLA-C01:02	6
AGHEEYSAM	HLA-B46:01	6
DTAGHEEY	HLA-A25:01	6
DTAGHEEY	HLA-A01:01	6
DTAGHEEY	HLA-B18:01	7
DTAGHEEY	HLA-A36:01	7
ILDTAGHEE	HLA-C05:01	7
ILDTAGHEE	HLA-A02:07	7
ILDTAGHEEY	HLA-A29:02	7
ILDTAGHEEY	HLA-C08:02	7
HEEYSAMRD	HLA-B49:01	8
TAGHEEYSA	HLA-B35:03	8
DTAGHEEYS	HLA-A68:02	9
DTAGHEEYSAMR	HLA-A68:01	9
GHEEYSAM	HLA-B39:01	9
ILDTAGHEE	HLA-A01:01	9
LDTAGHEEY	HLA-B53:01	9
HEEYSAMRD	HLA-B41:01	10
ILDTAGHEE	HLA-A36:01	10
DTAGHEEY	HLA-B58:01	11

LLDILDTAGH	HLA-A01:01	12
TAGHEEYSAM	HLA-B35:03	12
LDTAGHEEY	HLA-B35:01	13
DILDTAGHE	HLA-A26:01	14
DTAGHEEY	HLA-C12:03	14
ILDTAGHEEY	HLA-C05:01	14
AGHEEYSAM	HLA-A30:02	15
DILDTAGHEEY	HLA-A25:01	15
DTAGHEEY	HLA-C02:02	15
ILDTAGHEE	HLA-C04:01	15
DILDTAGH	HLA-A26:01	16
ILDTAGHEE	HLA-A02:01	16
LDTAGHEEY	HLA-A29:02	16
ILDTAGHE	HLA-A01:01	17
LDTAGHEEY	HLA-B18:01	17
AGHEEYSAM	HLA-C14:03	18
DILDTAGHEEY	HLA-A29:02	18
DTAGHEEYS	HLA-A26:01	18
ILDTAGHEEY	HLA-B15:01	18
DTAGHEEYSA	HLA-A68:02	19
ILDTAGHE	HLA-C05:01	19
ILDTAGHEEY	HLA-A02:07	19
ILDTAGHEEY	HLA-A30:02	19
LDTAGHEEY	HLA-A36:01	19
AGHEEYSAM	HLA-C14:02	20
AGHEEYSAM	HLA-B15:03	20
LLDILDTAGH	HLA-A02:07	20

表4C-RAS Q61R突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
ILDTAGREEY	HLA-A36:01	1
ILDTAGREEY	HLA-A01:01	2
DTAGREEYSAM	HLA-A26:01	3
DILDTAGR	HLA-A33:03	4
DILDTAGR	HLA-A68:01	5
DTAGREEY	HLA-A26:01	6
DTAGREEYSAM	HLA-A25:01	6
CLLDILDTAGR	HLA-A74:01	7
DTAGREEY	HLA-A01:01	7
REEYSAMRD	HLA-B41:01	7
GREEYSAMR	HLA-B27:05	8
ILDTAGREE	HLA-C08:02	8
ILDTAGREEY	HLA-A29:02	8
REEYSAMRD	HLA-B49:01	8
AGREEYSAM	HLA-B46:01	9
DTAGREEY	HLA-B18:01	9
DTAGREEY	HLA-A25:01	9
DTAGREEY	HLA-A36:01	9
DILDTAGR	HLA-A74:01	10
DILDTAGRE	HLA-A26:01	10
ILDTAGREE	HLA-C05:01	10
DILDTAGR	HLA-A26:01	11
GREEYSAM	HLA-B39:01	11
AGREEYSAM	HLA-B15:03	12
GREEYSAM	HLA-C07:02	12
ILDTAGREE	HLA-A01:01	12
TAGREEYSA	HLA-B35:03	12

ILDTAGREEY	HLA-A30:02	13
DTAGREEYS	HLA-A68:02	14
ILDTAGRE	HLA-A01:01	14
CLLDILDTAGR	HLA-A31:01	15
DTAGREEYSAMR	HLA-A68:01	15
LLDILDTAGR	HLA-A01:01	15
DTAGREEY	HLA-B58:01	16
ILDTAGREEY	HLA-C08:02	16
DILDTAGR	HLA-A31:01	17
ILDTAGREE	HLA-C04:01	17
ILDTAGREEY	HLA-A32:01	17
LLDILDTAGR	HLA-A74:01	17
TAGREEYSAM	HLA-B35:03	17
DILDTAGREEY	HLA-A32:01	18
ILDTAGRE	HLA-C05:01	18
ILDTAGREE	HLA-A02:07	18
REEYSAMRD	HLA-B40:01	18
AGREEYSAM	HLA-B15:01	19
AGREEYSAMR	HLA-A31:01	19
ILDTAGRE	HLA-A36:01	19
LDILDTAGR	HLA-A68:01	19
LDTAGREEY	HLA-A29:02	19
LDTAGREEY	HLA-B35:01	19
REEYSAMRD	HLA-B45:01	19
REEYSAMRDQY	HLA-A36:01	19
DTAGREEY	HLA-C02:02	20

表4D-RAS Q61K突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
ILDTAGKEEY	HLA-A36:01	1
ILDTAGKEEY	HLA-A01:01	2
DTAGKEEYSAM	HLA-A26:01	3
CLLDILDTAGK	HLA-A03:01	4
DTAGKEEY	HLA-A01:01	5
DTAGKEEY	HLA-A26:01	5
DTAGKEEYSAM	HLA-A25:01	5
AGKEEYSAM	HLA-B46:01	6
DILDTAGKE	HLA-A26:01	7
KEEYSAMRD	HLA-B41:01	7
DTAGKEEY	HLA-B18:01	8
GKEEYSAM	HLA-B15:03	8
ILDTAGKEE	HLA-C08:02	8
ILDTAGKEEY	HLA-A29:02	8
DTAGKEEYS	HLA-A68:02	9
LDTAGKEEY	HLA-B53:01	9
TAGKEEYSA	HLA-B35:03	9
DILDTAGK	HLA-A68:01	10
DTAGKEEY	HLA-A36:01	10
KEEYSAMRD	HLA-B49:01	10
LDTAGKEEY	HLA-C07:01	10
DTAGKEEYSAMR	HLA-A68:01	11
ILDTAGKEE	HLA-C05:01	11
ILDTAGKEEY	HLA-C08:02	11
LLDILDTAGK	HLA-A01:01	12
AGKEEYSAM	HLA-A30:02	13
DTAGKEEY	HLA-A25:01	13

DTAGKEEYS	HLA-A26:01	13
ILDTAGKE	HLA-C05:01	13
LDTAGKEEY	HLA-B35:01	13
AGKEEYSAMR	HLA-A31:01	14
DILDTAGK	HLA-A33:03	14
ILDTAGKE	HLA-A01:01	14
ILDTAGKEE	HLA-A01:01	14
ILDTAGKEE	HLA-A02:07	14
TAGKEEYSAM	HLA-B35:03	14
AGKEEYSAM	HLA-B15:01	15
ILDTAGKEEY	HLA-A30:02	15
LDTAGKEEY	HLA-B46:01	15
DTAGKEEY	HLA-B58:01	16
ILDTAGKEEY	HLA-C05:01	17
AGKEEYSAM	HLA-A30:01	18
AGKEEYSAM	HLA-B15:03	18
DTAGKEEY	HLA-C02:02	18
LDTAGKEEY	HLA-A29:02	18

表4E-RAS Q61L突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
ILDTAGLEEY	HLA-A36:01	1
ILDTAGLEEY	HLA-A01:01	2
LLDILDTAGL	HLA-A02:07	3
GLEEYSAMRDQY	HLA-A36:01	4
DTAGLEEY	HLA-A25:01	5
DTAGLEEY	HLA-A26:01	5
DTAGLEEYSAM	HLA-A26:01	5
DTAGLEEY	HLA-A01:01	6

ILDTAGLEE	HLA-C08:02	6
ILDTAGLEE	HLA-A01:01	6
CLLDILDTAGL	HLA-A02:04	7
ILDTAGLEE	HLA-A36:01	7
LLDILDTAGL	HLA-A01:01	7
DILDTAGL	HLA-B14:02	8
DILDAGLEEY	HLA-A25:01	8
DTAGLEEYS	HLA-A68:02	8
DTAGLEEYSAM	HLA-A25:01	8
GLEEYSAMR	HLA-A74:01	8
ILDTAGLE	HLA-A01:01	8
DILDAGLEEY	HLA-A26:01	9
DTAGLEEY	HLA-A36:01	9
ILDAGLEEY	HLA-A29:02	9
DILDTAGL	HLA-B08:01	10
DTAGLEEY	HLA-B18:01	10
ILDTAGLEE	HLA-A02:07	10
LDTAGLEEY	HLA-B35:01	10
CLLDILDTAGL	HLA-A02:01	11
DTAGLEEY	HLA-C02:02	11
ILDAGLEE	HLA-C05:01	11
ILDAGLEEY	HLA-C08:02	11
ILDAGLEEY	HLA-A02:07	11
LLDILDTAGL	HLA-C08:02	11
DILDTAGL	HLA-A26:01	12
LDTAGLEEY	HLA-B53:01	12
DTAGLEEY	HLA-C03:02	13
DTAGLEEY	HLA-B58:01	13
ILDAGLEEY	HLA-A30:02	13

LLDILDTAGL	HLA-C05:01	13
LLDILDTAGL	HLA-C04:01	13
DTAGLEEYSAMR	HLA-A68:01	14
ILDTAGLE	HLA-A36:01	15
LLDILDTAGL	HLA-A02:01	15
AGLEEYSAM	HLA-B15:03	16
DTAGLEEYSA	HLA-A68:02	16
GLEEYSAMRDQY	HLA-A01:01	16
ILDTAGLE	HLA-C04:01	16
ILDTAGLEEY	HLA-B15:01	16
LDILDTAGL	HLA-B37:01	16
AGLEEYSAM	HLA-A30:02	17
AGLEEYSAM	HLA-B48:01	17
AGLEEYSAMR	HLA-A31:01	17
ILDTAGLEE	HLA-C04:01	17
LDTAGLEEY	HLA-C03:02	17
AGLEEYSAM	HLA-C14:02	18
GLEEYSAMR	HLA-A31:01	18
LEEYSAMRD	HLA-B41:01	18
LLDILDTAGLE	HLA-A01:01	18
AGLEEYSAM	HLA-C14:03	19
LDILDTAGL	HLA-B40:02	19
LDTAGLEEY	HLA-A29:02	19
DILDTAGLE	HLA-A26:01	20
DTAGLEEY	HLA-B15:01	20
ILDTAGLEEY	HLA-A02:01	20
LDTAGLEEY	HLA-A36:01	20
LDTAGLEEY	HLA-B46:01	20
DTAGLEEY	HLA-A68:02	21

DTAGLEEY	HLA-C12:03	21
ILDTAGLE	HLA-C05:01	21
LDTAGLEEY	HLA-B18:01	21
LEEYSAMRD	HLA-B49:01	21
TAGLEEYSA	HLA-B54:01	21
DILDTAGLEEY	HLA-A29:02	22
GLEEYSAM	HLA-C05:01	22

表4F-RAS G12A突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
AAGVGKSAL	HLA-C03:04	1
VVVGAAAGVGK	HLA-A11:01	1
VVGAAGVGK	HLA-A11:01	2
TEYKLVVVGAA	HLA-B50:01	3
VVGAAGVGK	HLA-A03:01	3
VVVGAAAGVGK	HLA-A68:01	3
AAGVGKSAL	HLA-C08:02	4
AAGVGKSAL	HLA-C08:01	4
AAGVGKSAL	HLA-B46:01	4
AAGVGKSAL	HLA-B81:01	5
GAAGVGKSAL	HLA-B48:01	5
LVVVGAAGV	HLA-A68:02	5
AAGVGKSAL	HLA-C03:04	1
VVVGAAAGVGK	HLA-A11:01	1
VVGAAGVGK	HLA-A11:01	2
TEYKLVVVGAA	HLA-B50:01	3
VVGAAGVGK	HLA-A03:01	3
VVVGAAAGVGK	HLA-A68:01	3
AAGVGKSAL	HLA-C08:02	4

AAGVGKSAL	HLA-C08:01	4
AAGVGKSAL	HLA-B46:01	4
AAGVGKSAL	HLA-B81:01	5
AAGVGKSAL	HLA-C03:02	5
AAGVGKSAL	HLA-C01:02	5
GAAGVGKSAL	HLA-B48:01	5
LVVVGAAAGV	HLA-A68:02	5
AAGVGKSAL	HLA-C03:03	6
VVGAAGVGK	HLA-A68:01	6
GAAGVGKSAL	HLA-B81:01	7
VVVGAAAGVGK	HLA-A03:01	7
AAGVGKSAL	HLA-C05:01	8
AAGVGKSAL	HLA-C12:03	8
GAAGVGKSA	HLA-B46:01	8
VVGAAGVGK	HLA-A30:01	8
GAAGVGKSA	HLA-B55:01	9
KLVVVGAAAGV	HLA-A02:01	9
AGVGKSAL	HLA-B08:01	10
GAAGVGKSAL	HLA-C03:04	10
AAGVGKSAL	HLA-C17:01	11
GAAGVGKSAL	HLA-C03:03	11
VVVGAAAGV	HLA-A68:02	11
YKLVVVGAA	HLA-B54:01	11
AAGVGKSAL	HLA-B48:01	12
AGVGKSAL	HLA-C03:04	12
AGVGKSAL	HLA-C07:01	12
VVVGAAAGVGK	HLA-A30:01	12
AAGVGKSA	HLA-B46:01	13
KLVVVGAAAGV	HLA-A02:07	13

YKLVVVGAA	HLA-B50:01	13
AAGVGKSAL	HLA-B07:02	14
GAAGVGKSAL	HLA-A68:02	14
VVGAAGVGK	HLA-A74:01	14
AGVGKSAL	HLA-C08:01	15
GAAGVGKSAL	HLA-C17:01	15
GAAGVGKSAL	HLA-C08:01	16
GAAGVGKSAL	HLA-B35:03	16
AAGVGKSAL	HLA-C02:02	17
AAGVGKSAL	HLA-B35:03	17
AAGVGKSAL	HLA-C12:02	17
AAGVGKSAL	HLA-C14:03	17
GAAGVGKSA	HLA-B50:01	17
AGVGKSAL	HLA-C03:02	18
GAAGVGKSA	HLA-C03:04	18
LVVVGAAGV	HLA-B55:01	18
TEYKLVVVGAA	HLA-B41:01	18
AGVGKSAL	HLA-C01:02	19
GAAGVGKSA	HLA-B54:01	19
GAAGVGKSAL	HLA-B07:02	19
VGAAGVGKSA	HLA-B55:01	19
AGVGKSAL	HLA-B48:01	20
AGVGKSALTI	HLA-B49:01	20
VVVGAAAGV	HLA-B55:01	20

表4G-RAS G12C突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
VVVGACGVGK	HLA-A11:01	1
VVGACGVGK	HLA-A03:01	2

VVGACGVGK	HLA-A11:01	3
VVVGACGVGK	HLA-A68:01	4
VVGACGVGK	HLA-A68:01	5
VVVGACGVGK	HLA-A03:01	5
VVGACGVGK	HLA-A30:01	6
ACGVGKSAL	HLA-B81:01	7
ACGVGKSAL	HLA-C01:02	7
ACGVGKSAL	HLA-C14:03	8
ACGVGKSAL	HLA-C03:04	9
VVVGACGVGK	HLA-A30:01	9
ACGVGKSAL	HLA-C14:02	10
CGVGKSAL	HLA-B08:01	10
KLVVVGACGV	HLA-A02:01	10
ACGVGKSAL	HLA-B07:02	11
GACGVGKSAL	HLA-B48:01	12
GACGVGKSAL	HLA-C03:03	13
ACGVGKSAL	HLA-B48:01	14
ACGVGKSAL	HLA-B40:01	14
YKLVVVGAC	HLA-B48:01	14
YKLVVVGAC	HLA-B15:03	14
GACGVGKSA	HLA-B46:01	15
GACGVGKSAL	HLA-C03:04	15
GACGVGKSAL	HLA-C01:02	15
LVVVGACGV	HLA-A68:02	15
CGVGKSAL	HLA-C03:04	16
GACGVGKSAL	HLA-C08:02	16
VVGACGVGK	HLA-A74:01	16

表4H-RAS G12D突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
GADGVGKSAL	HLA-C08:02	1
GADGVGKSAL	HLA-C05:01	2
VVVGADGVGK	HLA-A11:01	3
DGVGKSAL	HLA-B14:02	4
VVGADGVGK	HLA-A11:01	4
VVGADGVGK	HLA-A03:01	5
DGVGKSAL	HLA-B08:01	6
VVVGADGVGK	HLA-A68:01	6
GADGVGKSAL	HLA-C03:03	7
VVGADGVGK	HLA-A30:01	7
ADGVGKSAL	HLA-B37:01	8
GADGVGKSAL	HLA-C08:01	8
VVGADGVGK	HLA-A68:01	8
GADGVGKSA	HLA-C08:02	9
GADGVGKSAL	HLA-B35:03	9
GADGVGKS	HLA-C05:01	10
GADGVGKSA	HLA-C05:01	10
ADGVGKSAL	HLA-C07:01	11
VVVGADGVGK	HLA-A03:01	11
ADGVGKSAL	HLA-B40:02	12
ADGVGKSAL	HLA-B46:01	13
GADGVGKSAL	HLA-C03:04	13
ADGVGKSAL	HLA-B81:01	14
GADGVGKSAL	HLA-C17:01	14
VVVGADGVGK	HLA-A30:01	14
GADGVGKSA	HLA-B35:03	15
GADGVGKSA	HLA-B46:01	15

GADGVGKSAL	HLA-B48:01	15
KLVVVGADGV	HLA-A02:01	15
LVVVVGADGV	HLA-A68:02	15
VGADGVGKSA	HLA-B55:01	15
VVGADGVGK	HLA-A74:01	16
GADGVGKSA	HLA-B53:01	17
KLVVVGADGV	HLA-A02:07	17
VGADGVGK	HLA-A68:01	17
YKLVVVGAD	HLA-B48:01	17
ADGVGKSAL	HLA-C14:03	18
DGVGKSALTI	HLA-B51:01	18
VGADGVGK	HLA-A11:01	18
GADGVGKSAL	HLA-B07:02	19
KLVVVGADGVGK	HLA-A03:01	20

表4I-RAS G12R突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
VVGARGVGK	HLA-A03:01	1
EYKLVVVGAR	HLA-A33:03	2
VVVGARGVGK	HLA-A11:01	3
ARGVGKSAL	HLA-C07:02	4
ARGVGKSAL	HLA-B39:01	5
ARGVGKSAL	HLA-C07:01	5
VVGARGVGK	HLA-A11:01	5
VVVGARGVGK	HLA-A68:01	5
GARGVGKSA	HLA-B46:01	6
ARGVGKSAL	HLA-B27:05	7
GARGVGKSA	HLA-B55:01	7
RGVGKSAL	HLA-C07:01	8

VVGARGVGK	HLA-A30:01	9
ARGVGKSAL	HLA-B38:01	10
ARGVGKSAL	HLA-B14:02	10
VVGARGVGK	HLA-A68:01	10
VVVGARGVGK	HLA-A03:01	11
GARGVGKSAL	HLA-B48:01	12
RGVGKSAL	HLA-B48:01	12
RGVGKSALTI	HLA-A23:01	12
ARGVGKSAL	HLA-C06:02	13
GARGVGKSA	HLA-A30:01	13
GARGVGKSAL	HLA-B81:01	13
VVVGARGVGK	HLA-A30:01	13
GARGVGKSAL	HLA-B07:02	14
LVVVGARGV	HLA-C06:02	14
RGVGKSAL	HLA-B81:01	14
VVGARGVGK	HLA-A74:01	15
KLVVVGARGV	HLA-A02:01	16
LVVVGARGV	HLA-B55:01	16
YKLVVVGAR	HLA-A33:03	16
KLVVVGAR	HLA-A74:01	17
KLVVVGARGV	HLA-B13:02	17
RGVGKSAL	HLA-C01:02	17
LVVVGARGV	HLA-A68:02	18
VVVGARGV	HLA-B55:01	18
ARGVGKSAL	HLA-B15:09	19
ARGVGKSAL	HLA-C14:03	20
GARGVGKSA	HLA-B54:01	20
VVVGARGV	HLA-B52:01	20
KLVVVGARGVGK	HLA-A03:01	21

表4J-RAS G12S突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
VVVGASGVGK	HLA-A11:01	1
VVGASGVGK	HLA-A11:01	2
VVGASGVGK	HLA-A03:01	3
VVVGASGVGK	HLA-A68:01	4
ASGVGKSAL	HLA-C03:04	5
ASGVGKSAL	HLA-B46:01	5
VVGASGVGK	HLA-A68:01	6
VVVGASGVGK	HLA-A03:01	6
ASGVGKSAL	HLA-C01:02	7
GASGVGKSAL	HLA-B48:01	7
ASGVGKSAL	HLA-C07:01	8
ASGVGKSAL	HLA-C08:02	9
GASGVGKSAL	HLA-B81:01	9
SGVGKSAL	HLA-B08:01	9
ASGVGKSAL	HLA-C03:03	10
ASGVGKSAL	HLA-C03:02	10
SGVGKSAL	HLA-B14:02	10
VVGASGVGK	HLA-A30:01	10
ASGVGKSAL	HLA-C08:01	11
VVVGASGVGK	HLA-A30:01	11
GASGVGKSAL	HLA-B35:03	12
SGVGKSAL	HLA-C07:01	12
ASGVGKSAL	HLA-B81:01	13
GASGVGKSA	HLA-B55:01	13
GASGVGKSAL	HLA-C03:03	13
KLVVVGASGV	HLA-A02:01	13

LVVVGASGV	HLA-A68:02	13
SGVGKSAL	HLA-C01:02	13
ASGVGKSA	HLA-B46:01	14
ASGVGKSAL	HLA-C15:02	14
GASGVGKSAL	HLA-C08:01	15
SGVGKSAL	HLA-C03:04	15
ASGVGKSAL	HLA-C05:01	16
GASGVGKSAL	HLA-C03:04	16
VVGASGVGK	HLA-A74:01	16
ASGVGKSAL	HLA-B48:01	17
GASGVGKSAL	HLA-C01:02	17
SGVGKSAL	HLA-C03:02	17
SGVGKSALTI	HLA-A23:01	17
VGASGVGKSA	HLA-B55:01	18
ASGVGKSAL	HLA-C12:03	19
ASGVGKSAL	HLA-B57:03	19
KLVVVGASGV	HLA-A02:07	19
SGVGKSAL	HLA-B81:01	19
ASGVGKSAL	HLA-C17:01	20
KLVVVGASG	HLA-A32:01	20

表4K-RAS G12V突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
VVGAVGVGK	HLA-A03:01	1
VVGAVGVGK	HLA-A11:01	2
VVVGAVGVGK	HLA-A11:01	2
VVVGAVGVGK	HLA-A68:01	3
VVGAVGVGK	HLA-A68:01	4
LVVVGAVGV	HLA-A68:02	5

VVGAVGVGK	HLA-A30:01	5
AVGVGKSAL	HLA-B81:01	6
KLVVVGAVGV	HLA-A02:01	6
AVGVGKSAL	HLA-B46:01	7
GAVGVGKSAL	HLA-C03:03	7
GAVGVGKSAL	HLA-B48:01	7
VVVGAVGVGK	HLA-A03:01	7
AVGVGKSAL	HLA-C03:04	8
GAVGVGKSAL	HLA-C03:04	8
KLVVVGAVGV	HLA-A02:07	9
VGVGKSAL	HLA-B08:01	9
VVVGAVGV	HLA-A68:02	9
AVGVGKSAL	HLA-C08:02	10
AVGVGKSAL	HLA-B07:02	10
GAVGVGKSAL	HLA-B35:03	10
AVGVGKSAL	HLA-C08:01	11
AVGVGKSAL	HLA-C01:02	11
GAVGVGKSA	HLA-B55:01	11
GAVGVGKSAL	HLA-B81:01	11
GAVGVGKSAL	HLA-C08:01	11
KLVVVGAVGV	HLA-B13:02	11
VGVGKSAL	HLA-C03:04	11
AVGVGKSAL	HLA-A32:01	12
GAVGVGKSA	HLA-B46:01	12
VGVGKSAL	HLA-C03:02	12
VGVGKSALTI	HLA-A23:01	12
GAVGVGKSA	HLA-B54:01	13
VGVGKSAL	HLA-C01:02	.3
AVGVGKSAL	HLA-B48:01	14

AVGVGKSAL	HLA-C03:03	14
AVGVGKSAL	HLA-B42:01	14
LVVVGAVGV	HLA-B55:01	14
VGVGKSAL	HLA-C08:01	14
VVGAVGVGK	HLA-A74:01	14
AVGVGKSAL	HLA-C05:01	15
AVGVGKSAL	HLA-C03:02	15
GAVGVGKSA	HLA-C03:04	15
KLVVVGAVGV	HLA-A02:04	15
LVVVGAVGV	HLA-A02:07	15
VGVGKSAL	HLA-B14:02	15
VVVGAVGVGK	HLA-A30:01	15
VVGAVGVGK	HLA-B81:01	16
VVVGAVGV	HLA-B55:01	16
AVGVGKSAL	HLA-C14:03	17
AVGVGKSAL	HLA-B15:01	17
LVVVGAVGV	HLA-B54:01	17
AVGVGKSA	HLA-B55:01	18
AVGVGKSAL	HLA-C17:01	18
GAVGVGKSA	HLA-B50:01	19
GAVGVGKSAL	HLA-C17:01	19
YKLVVVGAV	HLA-A02:04	19
GAVGVGKSAL	HLA-B35:01	20
VVGAVGVGK	HLA-A31:01	20
YKLVVVGAV	HLA-B51:01	20
LVVVGAVGVGK	HLA-A03:01	21
KLVVVGAVGVGK	HLA-A03:01	22

表4L RAS G13C突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
VVVGAGCVGK	HLA-A11:01	1
VVGAGCVGK	HLA-A11:01	2
AGCVGKSAL	HLA-C01:02	3

VVGAGCVGK	HLA-A03:01	4
VVVGAGCVGK	HLA-A68:01	4
CVGKSALTI	HLA-B13:02	5
VVGAGCVGK	HLA-A68:01	5
VVGAGCVGK	HLA-A30:01	6
AGCVGKSAL	HLA-B48:01	7
AGCVGKSAL	HLA-C03:04	8
GCVGKSALTI	HLA-B49:01	8
AGCVGKSAL	HLA-C08:02	9
VVVGAGCVGK	HLA-A03:01	9
KLVVVGAGC	HLA-A30:02	10
GCVGKSAL	HLA-C07:01	11
VVGAGCVGK	HLA-A74:01	12
AGCVGKSAL	HLA-C14:03	13
KLVVVGAGC	HLA-B15:01	14

表4M-RAS G13D突变

肽	等位基因	结合潜力的评级
AGDVGKSAL	HLA-C08:02	1
AGDVGKSAL	HLA-C05:01	2
VVGAGDVGK	HLA-A11:01	3
VVVGAGDVGK	HLA-A11:01	3
VVVGAGDVGK	HLA-A68:01	4
GAGDVGKSA	HLA-B46:01	5

GAGDVGKSAL	HLA-B48:01	5
VVGAGDVGK	HLA-A68:01	5
VVGAGDVGK	HLA-A03:01	5
AGDVGKSAL	HLA-C03:04	6
AGDVGKSAL	HLA-C04:01	6
AGDVGKSAL	HLA-C01:02	6
DVGKSALTI	HLA-B13:02	6
DVGKSALTI	HLA-A25:01	6
GDVGKSAL	HLA-C07:01	6
GDVGKSAL	HLA-B40:02	7
GDVGKSAL	HLA-B37:01	8
AGDVGKSAL	HLA-B48:01	9
DVGKSALTI	HLA-B51:01	10
VVGAGDVGK	HLA-A30:01	10
GAGDVGKSAL	HLA-C08:01	11
GAGDVGKSAL	HLA-B81:01	11
AGDVGKSAL	HLA-C08:01	12
GAGDVGKSAL	HLA-C03:04	12
DVGKSALTI	HLA-B53:01	13
AGDVGKSAL	HLA-B07:02	14
AGDVGKSAL	HLA-B46:01	14
DVGKSALTI	HLA-A26:01	14
VVGAGDVGK	HLA-A74:01	14
GAGDVGKSA	HLA-B54:01	15
DVGKSALTI	HLA-B38:01	16
GAGDVGKSAL	HLA-C03:03	16
VVGAGDVGK	HLA-A03:01	16

[0289] 本文中还提供了治疗受试者中的癌症的方法,该方法包括向受试者施用(i)包含 G12R RAS表位的多肽或(ii)编码该多肽的多核苷酸;其中:(a) G12R RAS表位是vvgARgvGK并且受试者表达由HLA-A03:01等位基因编码的蛋白质;(b) G12R RAS表位是eyklvvvgaR并且受试者表达由HLA-A33:03等位基因编码的蛋白质;(c) G12R RAS表位是vvvgaRgvGK并且受试者表达由HLA-A11:01等位基因编码的蛋白质;或(d) G12R RAS表位是aRgvGksal并且受

试者表达由选自HLA-C07:02、HLA-B39:01和HLA-C07:01中的HLA-等位基因编码的蛋白质。

[0290] 表5显示GATA肽以及它们的HLA结合搭档。

表5

基因	示例性蛋白质变化	突变序列背景	肽 (HLA 等位基因示例)	示例性疾病
		移码 ¹		
GAT A3	L328fs N334fs	<u>AQAKAVCSQE</u> <u>SRDVLCELS</u> <u>D</u> <u>HHNHTLEEE</u> <u>C</u> <u>QWGPCLQCL</u> <u>WALLQASQY*</u>	CLQCLWALL (A02.01) CQWGPCLQCL (A02.01) QWGPCLQCL (A24.02) QWGPCLQCLW (A24.02)	乳腺癌
GAT A3	H400fs S408fs S408fs S430fs H434fs H435fs	<u>PGRPLQTHVL</u> <u>PEPHLALQPL</u> <u>QPHADHAHA</u> <u>DAPAIQPVWL</u> <u>TTPPLQHGHR</u> <u>HGLEPCSMLT</u> <u>GPPARVPAVP</u> <u>FDLHFCRSSIM</u> <u>KPKRDGYMFL</u> <u>KAESKIMFAT</u> <u>LQRSSLWCLC</u>	AIQPVLWTT (A02.01) ALQPLQPHA (A02.01) DLHFCRSSIM (B08.01) EPHLALQPL (B07.02, B08.01) ESKIMFATL (B08.01) FATLQRSSL (B07.02, B08.01) FLKAESKIM (B08.01) FLKAESKIMF	乳腺癌

基因	示例性蛋白质变化	突变序列背景	肽 (HLA 等位基因示例)	示例性疾病
		移码 ¹		
		<u>SNH*</u>	(B08.01) GPPARVPAV (B07.02) IMKPKRDGYM (B08.01) KIMFATLQR (A03.01) KPKRDGYMF (B07.02) KPKRDGYMFL (B07.02) LHFCRSSIM (B08.01) LQHGHRHGL (B08.01) MFATLQRSSL (B07.02, B08.01) MFLKAESKI (A24.02) MLTGPPARV (A02.01) QPVLWTPPL (B07.02) SMLTGPPARV (A02.01) TLQRSSLWCL (A02.01) VLPEPHLAL (A02.01) VPAVPFDLHF (B07.02) YMFLKAESK (A03.01) YMFLKAESKI (A02.01, A03.01, A24.02, B08.01)	

[0291] 表6显示了所选的BTK肽的HLA亲和力和稳定性：
表6

基因	HLA 等位基因	肽序列	亲和力 (nM)	稳定性 (半衰期 (小时))
BTK, C481S	A01.01	YMANGSLLNY	13.24495	0.866167
BTK, C481S	A01.01	MANGSLLNY	439.029	0.216408
BTK, C481S	A03.01	MANGSLLNY	35.62463	0.237963
BTK, C481S	A03.01	YMANGSLLNY	95.93212	0.279088
BTK, C481S	A11.01	MANGSLLNY	535.6333	NB
BTK, C481S	A11.01	YMANGSLLNY	974.2881	NB
BTK, C481S	A24.02	EYMANGSLL	4.961145	5.716141
BTK_C481S	A02.01	SLLNYLREM	67.69132	3.043604
BTK_C481S	A02.01	MANGSLLNYL	1006.566	0
BTK_C481S	A02.01	YMANGSLLN	3999.442	0
BTK_C481S	B07.02	SLLNYLREM	865.8805	0
BTK_C481S	B07.02	MANGSLLNYL	16474.59	0
BTK_C481S	B08.01	SLLNYLREM	959.6542	0
BTK_C481S	B08.01	MANGSLLNYL	18463.09	0

[0292] 表7显示了所选的EGFR肽的HLA亲和力和稳定性：
表7

基因	HLA 等位基因	肽序列	亲和力 (nM)	稳定性 (半衰期 (小时))
EGFR, T790M	A01.01	LTSTVQLIM	2891.111	0.103721
EGFR_T790M	A01.01	CLTSTVQLIM	8276.876	0

EGFR_T790M	A02.01	MQLMPFGCLL	16.26147	0.381118
EGFR_T790M	A02.01	MQLMPFGCL	116.3352	0.368273
EGFR_T790M	A02.01	LIMQLMPFGC	132.4766	0.381284
EGFR_T790M	A02.01	QLIMQLMPF	192.8406	0.34067
EGFR_T790M	A02.01	CLTSTVQLIM	537.1391	0
EGFR_T790M	A02.01	IMQLMPFGCL	653.1065	0.515559
EGFR_T790M	A02.01	IMQLMPFGC	1205.368	0.370112
EGFR_T790M	A02.01	LIMQLMPFG	3337.708	0
EGFR_T790M	A02.01	VQLIMQLMPF	4942.892	0
EGFR_T790M	A02.01	QLIMQLMPFG	5214.668	0
EGFR_T790M	A02.01	STVQLIMQL	7256.773	0
EGFR_T790M	A24.02	QLIMQLMPF	2030.807	0.368673
EGFR_T790M	A24.02	VQLIMQLMPF	4103.131	0
EGFR_T790M	A24.02	IMQLMPFGCL	14119.38	0
EGFR_T790M	A24.02	MQLMPFGCLL	18857.47	0
EGFR_T790M	B07.02	MQLMPFGCL	1589.188	0
EGFR_T790M	B08.01	QLIMQLMPF	330.1933	0
EGFR_T790M	B08.01	IMQLMPFGCL	427.3913	0
EGFR_T790M	B08.01	MQLMPFGCL	4931.727	0
EGFR_T790M	B08.01	MQLMPFGCLL	11244.9	0
EGFR_T790M	B08.01	VQLIMQLMPF	16108.18	0
EGFR_T790M	B08.02	QLIMQLMPF	5590.3	未检测

与肿瘤微环境相关的肿瘤抗原

[0293] 在许多情况中,主要的抗原由处于肿瘤微环境中的细胞表达,其不仅充当疾病的优异生物标志物,而且可能是免疫疗法的重要候选疫苗。此类肿瘤相关性抗原(TAA)不一定存在于肿瘤细胞的表面上,而是在与肿瘤并置的细胞上,该细胞可以是基质细胞、结缔组织细胞、成纤维细胞等。这些是时常促进肿瘤的结构完整性、供给肿瘤和支持肿瘤的生长细胞。在大多数情况中,TAA是在肿瘤微环境中过度表达的抗原,但是肿瘤微环境中的一些抗原也可能是肿瘤相关细胞中特有的。作为示例,端粒酶逆转录酶(TERT)是TAA,其不存在于大多数正常组织中,而是在大多数人类肿瘤中被活化。在另一方面,组织激肽释放酶相关的肽酶或激肽释放酶(KLK)在各种癌中被过度表达,并且包括分泌的胰蛋白酶样或胰凝乳蛋白酶样丝氨酸蛋白酶的大家族。激肽释放酶在前列腺癌、卵巢癌和乳腺癌中上调。一些TAA对于某些癌症是特异性的,一些TAA在大范围癌中被表达。癌胚抗原(CEA)在乳腺癌、结肠

癌、肺癌和胰腺癌中过度表达,而MUC-1在乳腺癌、肺癌、前列腺癌、结肠癌中过度表达。一些TAA是分化或组织特异性的,例如,MART-1/melan-A和gp100在正常黑素细胞和黑素瘤中表达,前列腺特异性膜抗原(PSMA)和前列腺特异性抗原(PSA)由前列腺上皮细胞和前列腺癌表达。

[0294] 在一些实施方案中,T细胞被开发用于过继疗法,其涉及过度表达的组织特异性或肿瘤相关性抗原,例如在前列腺癌治疗的情况中前列腺特异性激肽释放酶蛋白质KLK2、KLK3、KLK4,或用于腺癌的谷氨酰胺转胺酶蛋白质4、TGM4。

[0295] 在一些实施方案中,在本文公开的方法中旨在用于过继疗法的抗原肽有效地调节肿瘤微环境。T细胞受到由TME中的细胞表达的抗原预致敏,从而该疗法常常在直接靶向肿瘤细胞以便进行T细胞介导的溶解之外,旨在削弱和/或破坏促进肿瘤的TME。

[0296] 肿瘤微环境包括成纤维细胞、基质细胞、上皮细胞和结缔组织细胞,其构成诱导或影响肿瘤生长的细胞的大部分。正因为T细胞可以在免疫抑制的肿瘤环境中被刺激并且定向攻击肿瘤细胞,因此某些肽和抗原可以用于引导T细胞对抗在肿瘤附近有助于肿瘤繁殖的细胞。CD8⁺和CD4⁺T细胞可以在活体外产生,其被引导而对抗在肿瘤微环境中的非肿瘤细胞的表面上的抗原,该抗原促进肿瘤的维持和繁殖。癌/肿瘤相关的成纤维细胞(CAF)是胰腺癌,例如胰腺腺癌(PDAC)的标志性特征。CAF表达Col110a1抗原。CAF是可以有助于维持肿瘤的细胞。Col110A1时常造成肿瘤的负面预后。在一些实施方案中,Col110A1可以被视为肿瘤维持和进展的生物标志物。它是680个氨基酸长度的异二聚体蛋白质,与乳腺癌和结直肠癌的不良预后相关。

[0297] Col110a1特异性CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞的活化可以有助于攻击和破坏Col110A1特异性成纤维细胞并且有助于破坏实体瘤的组织基体。

[0298] T细胞可以利用本文所述的方法在活体外产生,从而所述T细胞被活化为对抗癌症相关的成纤维细胞(CAF)。为此,制备了Col110a1肽,其包含可特异性地活化T细胞的表位,并且利用由内部产生的机器学习表位呈现软件产生的上述高度可靠的数据(如表8中所述)来确定HLA结合搭档。

表8.

肽	HLA 等位基因	对 HLA 等位基因的评级
FTCQIPGIYY	HLA-A01:01	1
GSDGKPGY	HLA-A01:01	2
NAESNGLY	HLA-A01:01	3
LTENDQVWL	HLA-A01:01	4
GTHVWVGLY	HLA-A01:01	5
TYDEYTKGY	HLA-A01:01	6
YTYDEYTKGY	HLA-A01:01	7
FTCQIPGIY	HLA-A01:01	8
NAESNGLYSSEY	HLA-A01:01	9
YLDQASGSA	HLA-A01:01	10
FLLVSLNL	HLA-A02:01	1
FLLVSLNLV	HLA-A02:01	2
GLYKNGTPV	HLA-A02:01	3
GLDGPKGNPGL	HLA-A02:01	4
LLVSLNLV	HLA-A02:01	5
SLSGTPLVSA	HLA-A02:01	6

GLYSSEYV	HLA-A02:01	7
SLSGTPLV	HLA-A02:01	8
MLPQIPFLL	HLA-A02:01	9
GLPGPPGPSA	HLA-A02:01	10
SAFTVILSK	HLA-A03:01	1
AVMPEGFIK	HLA-A03:01	2
GLYKNGTPVMY	HLA-A03:01	3
AIGTPIPFDK	HLA-A03:01	4
GLPGGPGAK	HLA-A03:01	5
ILYNRQQHY	HLA-A03:01	6
AGPPGPPGFGK	HLA-A03:01	7
GIPGFPGSK	HLA-A03:01	8
GTHVWVGLYK	HLA-A03:01	9
GVPGQPGIK	HLA-A03:01	10
AVMPEGFIK	HLA-A11:01	1
SAFTVILSK	HLA-A11:01	2
VSAFTVILSK	HLA-A11:01	3
GTHVWVGLYK	HLA-A11:01	4
AIGTPIPFDK	HLA-A11:01	5
AVMPEGFIKA	HLA-A11:01	6
SSFSGFLVA	HLA-A11:01	7
PVSAFTVILSK	HLA-A11:01	8
GIPGFPGSK	HLA-A11:01	9
GVPGMNGQK	HLA-A11:01	10
AYPEAIGTPIPF	HLA-A24:02	1
IGPPGIPGF	HLA-A24:02	2
HYDPRTGIF	HLA-A24:02	3
EYVHSSFSGF	HLA-A24:02	4
AGPPGPPGF	HLA-A24:02	5

YYFSYHVHV	HLA-A24:02	6
AYPEAIGTPI	HLA-A24:02	7
PLPNTKTQF	HLA-A24:02	8
MLPQIPFLL	HLA-A24:02	9
CQIPGIYYF	HLA-A24:02	10
RPSLSGTPL	HLA-B07:02	1
LPQIPFLLL	HLA-B07:02	2
IPFLLLVSL	HLA-B07:02	3
LPGPPGPSAV	HLA-B07:02	4
GPIGPPGIPGF	HLA-B07:02	5
IPGPAGISV	HLA-B07:02	6
YPEAIGTPIPF	HLA-B07:02	7
SPGPPGPAGI	HLA-B07:02	8
LPGPPGPSA	HLA-B07:02	9
SPGPPGPAG	HLA-B07:02	10
TIKSKGIAV	HLA-B08:01	1
IPFLLLVSL	HLA-B08:01	2
HVHVKGTHV	HLA-B08:01	3
LPNTKTQF	HLA-B08:01	4
LPQIPFLL	HLA-B08:01	5
PFLLLVSL	HLA-B08:01	6
SLNLVHGV	HLA-B08:01	7
LPQIPFLLL	HLA-B08:01	8
TGMPVSAF	HLA-B08:01	9
TPIPFDKIL	HLA-B08:01	10

[0299] 本文中提供的新抗原肽被预先验证HLA结合免疫原性(表1-8和11-14)。在一些实施方案中, 早先制备和储藏的新抗原肽用于接触抗原呈递细胞(APC)以随后允许在体外呈递至T细胞来制备新抗原特异性活化的T细胞。在一些实施方案中, 每次2-80或更多种新抗原肽用于刺激来自患者的T细胞。

[0300] 在一些实施方案中, 所述APC是自体APC。在一些实施方案中, 所述APC是非自体APC。在一些实施方案中, 所述APC是设计成充当APC的合成细胞。在一些实施方案中, 所述T细胞是自体细胞。在一些实施方案中, 抗原呈递细胞是表达抗原的细胞。例如, 抗原呈递细胞可以是吞噬细胞, 例如树突细胞或骨髓细胞, 其在细胞摄取之后处理抗原并且呈递与用

于T细胞活化的MHC相关的抗原。为了某些目的,如本文所用的APC是在其表面上正常呈递抗原的细胞。在非约束性或非限制性示例中,相关于如本文所述的某些细胞毒性测定,肿瘤细胞是抗原呈递细胞,所述T细胞可以识别抗原呈递细胞(肿瘤细胞)。相似地,出于如本文所用的某些目的,表达抗原的细胞或细胞系可以是抗原呈递细胞。

[0301] 在一些实施方案中,编码一种或多种新抗原肽的一种或多种多核苷酸可以用于在细胞中表达以呈递至T细胞用于在体外活化。编码一种或多种新抗原肽的一种或多种多核苷酸被编码在载体中。在一些实施方案中,所述组合物包含约2至约80种新抗原多核苷酸。在实施方案中,至少一种附加的新抗原肽对个体受试者的肿瘤是特异性的。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽通过鉴定受试者肿瘤样品的基因组、外显子组和/或转录物组与非肿瘤样品的基因组、外显子组和/或转录物组之间的序列差异进行选择。在实施方案中,所述样品是新鲜的或福尔马林固定的石蜡包埋的肿瘤组织、新鲜分离的细胞或循环肿瘤细胞。在实施方案中,序列差异通过下一代测序进行确定。

[0302] 在一些实施方案中,本文中提供的方法和组合物可以用于鉴定或分离能够结合本文所述的至少一种新抗原肽的T细胞受体(TCR)或包含本文所述的至少一种新抗原肽的MHC-肽复合物。在实施方案中,MHC-肽的MHC是MHC I类或II类。在实施方案中,TCR是双特异性TCR,其进一步包含结构域,该结构域包含能够结合抗原的抗体或抗体片段。在实施方案中,所述抗原是T细胞特异性抗原。在实施方案中,所述抗原是CD3。在实施方案中,所述抗体或抗体片段是抗CD3scFv。

[0303] 在一些实施方案中,本文中提供的方法和组合物可以用于制备嵌合抗原受体,其包含:(i) T细胞活化分子;(ii) 跨膜区;和(iii) 能够结合本文所述的至少一种新抗原肽的抗原识别部分或包含本文所述的至少一种新抗原肽的MHC-肽复合物。在实施方案中,CD3- ζ 是T细胞活化分子。在实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含至少一个共刺激信号传导结构域。在实施方案中,信号传导结构域是CD28、4-1BB、ICOS、OX40、ITAM或Fc ϵ RI- γ 。在实施方案中,抗原识别部分能够在MHC I类或II类的背景中结合分离的新抗原肽。在实施方案中,CD3- ζ 、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG3、CD137、OX40、CD27、CD40L、Tim-3、A2aR或PD-1跨膜区。在实施方案中,新抗原肽位于肿瘤相关多肽的细胞外结构域中。在实施方案中,MHC-肽的MHC是MHC I类或II类。

[0304] 本文中提供了包括本文所述的T细胞受体或嵌合抗原受体的T细胞,任选地其中所述T细胞是辅助性或细胞毒性T细胞。在实施方案中,所述T细胞是受试者的T细胞。

[0305] 本文中提供了T细胞,其包括能够结合本文所述的至少一种新抗原肽的T细胞受体(TCR)或包含本文所述的至少一种新抗原肽的MHC-肽复合物,其中所述T细胞是从受试者的T细胞群分离的T细胞,所述T细胞群已经与抗原呈递细胞和本文所述的至少一种新抗原肽中的一种或多种一起温育足以活化T细胞的时间。在实施方案中,所述T细胞是CD8+T细胞、辅助性T细胞或细胞毒性T细胞。在实施方案中,来自受试者的T细胞群是来自受试者的CD8+T细胞群。在实施方案中,本文所述的至少一种新抗原肽中的一种或多种是受试者特异性新抗原肽。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽具有不同的肿瘤新表位,其是对受试者的肿瘤特异性的表位。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽是肿瘤特异性非沉默突变(其不存在于受试者的非肿瘤样品中)的表达产物。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽与该受试者的HLA蛋白质结合。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽以小于500nM的IC₅₀与该受试

者的HLA蛋白质结合。在实施方案中,将活化的CD8+T细胞从抗原呈递细胞分离。在实施方案中,抗原呈递细胞是树突细胞或CD40L扩充的B细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是未被转化的细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是未被感染的细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是自体的。在实施方案中,抗原呈递细胞已经被处理以从它们的表面剥离内源性MHC相关肽。在实施方案中,剥离内源性MHC相关肽的处理包括在约26°C培养细胞。在实施方案中,剥离内源性MHC相关肽的处理包括用弱酸溶液处理细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞已经用本文所述的至少一种新抗原肽进行脉冲。在实施方案中,脉冲包括将抗原呈递细胞在至少约2 μ g/mL的本文所述的至少一种新抗原肽中的每种存在下进行温育。在实施方案中,分离的T细胞与抗原呈递细胞的比率是约30:1至300:1。在实施方案中,温育分离的T细胞群在IL-2和IL-7存在下进行。在实施方案中,MHC-肽的MHC是MHC I类或II类。

[0306] 本文中提供了用于活化肿瘤特异性T细胞的方法,该方法包括:从受试者中分离T细胞群;以及将分离的T细胞群与抗原呈递细胞和本文所述的至少一种新抗原肽一起温育足以活化所述T细胞的时间。在实施方案中,所述T细胞是CD8+T细胞、辅助性T细胞或细胞毒性T细胞。在实施方案中,来自受试者的T细胞群是来自该受试者的CD8+T细胞群。在实施方案中,本文所述的至少一种新抗原肽中的一种或多种是受试者特异性新抗原肽。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽具有不同的肿瘤新表位,其是对受试者的肿瘤特异性的表位。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽是肿瘤特异性非沉默突变(其不存在于受试者的非肿瘤样品中)的表达产物。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽与该受试者的HLA蛋白质结合。在实施方案中,受试者特异性新抗原肽以小于500nM的IC₅₀与该受试者的HLA蛋白质结合。在实施方案中,所述方法进一步包括将活化的T细胞从抗原呈递细胞分离。在实施方案中,所述方法进一步包括测试活化的T细胞以证明对本文所述的新抗原肽中的至少一种的反应性。在实施方案中,抗原呈递细胞是树突细胞或CD40L扩充的B细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是未被转化的细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是未被感染的细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞是自体的。在实施方案中,抗原呈递细胞已经被处理以从它们的表面剥离内源性MHC相关肽。在实施方案中,剥离内源性MHC相关肽的处理包括在约26°C培养细胞。在实施方案中,剥离内源性MHC相关肽的处理包括用弱酸溶液处理细胞。在实施方案中,抗原呈递细胞已经用本文所述的至少一种新抗原肽进行脉冲。在实施方案中,脉冲包括将抗原呈递细胞在至少约2 μ g/mL的本文所述的至少一种新抗原肽中的每种的存在下进行温育。在实施方案中,分离的T细胞与抗原呈递细胞的比率是约30:1至300:1。在实施方案中,温育分离的T细胞群在IL-2和IL-7存在下进行。在实施方案中,MHC-肽的MHC是MHC I类或II类。

[0307] 本文中提供了组合物,其包含通过本文所述的方法生产的活化的肿瘤特异性T细胞。

[0308] 本文中提供了治疗受试者中的癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的本文所述的活化的肿瘤特异性T细胞或通过本文所述的方法制备的活化的肿瘤特异性T细胞。在实施方案中,所述施用包括施用约 10^6 至 10^{12} 、约 10^8 至 10^{11} 或约 10^9 至 10^{10} 的活化的肿瘤特异性T细胞。

[0309] 本文中提供了核酸,所述核酸包含与编码本文所述的T细胞受体的多核苷酸可操作地连接的启动子。在实施方案中,TCR能够在主要组织相容性复合物(MHC) I类或II类的背

景中结合至少一种新抗原肽。

[0310] 本文中提供了核酸,所述核酸包含与编码本文所述的嵌合抗原受体的多核苷酸可操作地连接的启动子。在实施方案中,抗原识别部分能够在主要组织相容性复合物(MHC) I类或II类的背景中结合至少一种新抗原肽。在实施方案中,新抗原肽位于肿瘤相关多肽的细胞外结构域中。在实施方案中,所述核酸包含CD3- ζ 、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG3、CD137、OX40、CD27、CD40L、Tim-3、A2aR或PD-1跨膜区。

[0311] 在一些实施方案中,来自患者的外周血的自体免疫细胞构成外周血单核细胞(PBMC)。在一些实施方案中,来自患者的外周血的自体免疫细胞通过单采术过程来收集。在一些实施方案中,PBMC从多于一个单采术过程或多于一次抽取外周血进行收集。

[0312] 在一些实施方案中,在添加肽之前,CD25+细胞和CD14+细胞二者都被耗尽。在一些实施方案中,在添加肽之前,CD25+细胞或CD14+细胞被耗尽。在一些实施方案中,在添加肽之前,CD25+细胞而不是CD14+细胞被耗尽。

[0313] 在一些实施方案中,耗尽过程后随添加FMS样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)以在添加肽之前刺激抗原呈递细胞(APC),所述抗原呈递细胞由单核细胞、巨噬细胞或树突细胞(DC)构成。在一些实施方案中,耗尽过程后随选择DC作为适合的PAC以将肽呈递至T细胞,并且将成熟巨噬细胞和其他抗原呈递细胞从患者的自体免疫细胞除去。在一些实施方案中,耗尽过程后随选择不成熟DC作为适合的PAC以将肽呈递至T细胞。

[0314] 在一些实施方案中,使选择的‘n’数量的新抗原肽与APC接触以刺激APC将抗原呈递至T细胞。

[0315] 在一些实施方案中,第一水平选择的‘n’数量的新抗原肽是基于每种所述肽与预先确定存在于受者患者中的至少一种HLA单体型的结合能力。如本领域技术人员已知的,为了确定被预先确定存在于受者患者中的HLA单体型,在治疗过程开始之前,对患者进行HLA单体型分型测定以形成血液样品。在一些实施方案中,第一水平选择的‘n’数量的新抗原肽后随第二水平选择,所述第二水平选择基于确定存在于新抗原肽中的突变是否匹配已知在至少5%的已知患有癌症的患者中存在的新抗原(导致其的突变)。在一些实施方案中,第二水平选择包括进一步确定所述突变在患者中是否明显。

[0316] 在一些实施方案中,第一水平选择和第二水平选择的‘n’数量的用于接触所述APC的新抗原肽后随第三水平选择,所述第三水平选择是基于肽与该肽能够结合的HLA的以至少小于500nM的结合亲和力,其中确定结合亲和力越高,要选择的肽是更好的选择。在一些实施方案中,最终选择的‘n’数量的肽可以在1-200种肽范围,其是混合物,用于使APC暴露于培养基中的肽并且与APC接触。

[0317] 在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在10-190种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在20-180种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在30-170种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在40-160种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在50-150种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在60-140种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在70-130种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在80-120种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在50-100种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在50-90种新抗原肽范围。在一些实施方案中,‘n’数量的肽可以在50-80种新抗原肽范围。

在一些实施方案中, 'n' 数量的肽包括至少60种新抗原肽。在一些实施方案中, 'n' 数量的肽包括 (a) 新抗原肽和 (b) 长肽的混合物, 所述新抗原肽是短的8-15个氨基酸长度, 包含如前所述的突变的氨基酸, 具有式AxByCz; 出于本申请的目的, 这些肽可互换地称为短聚体 (shortmer) 或短肽; 所述长肽是15、30、50、60、80、100-300个氨基酸长度以及介于其间的任何长度, 为了更好的抗原呈递, 对所述长肽通过树突细胞进行内源性处理; 出于本申请的目的, 这些肽可互换地称为长聚体 (longmer) 或长肽。在一些实施方案中, 至少60种新抗原肽包括至少30种短聚体和至少30种长聚体或其变化形式。示例性变化形式包括但不限于以下: 在一些实施方案中, 至少60种新抗原肽包括至少32种短聚体和至少32种长聚体或其变化形式。在一些实施方案中, 至少60种新抗原肽包括至少34种短聚体和至少30种长聚体或其变化形式。在一些实施方案中, 至少60种新抗原肽包括至少28种短聚体和至少34种长聚体或其变化形式。

[0318] 在一些实施方案中, 'n' 数量的肽在包含APC的培养基中进行温育, 其中所述APC (DC) 已经从PBMC中被分离, 并且先前已经被FLT3L刺激。在一些实施方案中, 'n' 数量的肽与APC一起在FLT3L存在下进行温育。在一些实施方案中, 在APC与FLT3L一起温育的步骤之后, 向细胞添加包含FLT3L的新鲜培养基以便与肽一起温育。在一些实施方案中, APC成熟成为成熟的肽负载的DC可以包括以下若干步骤: 将所述DC趋向成熟进行培养、通过分析培养基中的一种或多种释放物质 (例如细胞因子、趋化因子) 而检查成熟的状态, 或随着时间获得培养中的DC的试样。在一些实施方案中, DC的成熟需要从开始培养起至少5天培养。在一些实施方案中, DC的成熟需要从开始培养起至少7天培养。在一些实施方案中, DC的成熟需要从开始培养起至少11天或介于其间的任何天数的培养。

[0319] 在一些实施方案中, 在验证成熟因子的存在或不存在以及用于验证呈递的抗原储库的肽四聚体测定之后, 使DC接触T细胞。

[0320] 在一些实施方案中, 为了第一诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约2天。在一些实施方案中, 为了第一诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约3天。在一些实施方案中, 为了第一诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约4天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约2天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约3天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约4天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约5天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约6天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约7、8、9或10天。在一些实施方案中, 为了第三诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约小于1天。在一些实施方案中, 为了第三诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约2或3天。在一些实施方案中, 为了第三诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触至少约4天。在一些实施方案中, 为了第三诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触5天。在一些实施方案中, 为了第三诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约6天。在一些实施方案中, 为了第二诱导, 使DC与T细胞在T细胞培养基中接触约7、8、9或10天。

[0321] 在一些实施方案中, 在第一诱导期、第二诱导期或第三诱导期, 在与DC一起温育期间, 使T细胞进一步与一种或多种短聚体肽接触 (除了DC之外)。在一些实施方案中, 在第一诱导期和第二诱导期, 在与DC一起温育期间, 使T细胞进一步与一种或多种短聚体肽接触。

在一些实施方案中,在第二诱导期和第三诱导期,在与DC一起温育期间,使T细胞进一步与一种或多种短聚体肽接触。在一些实施方案中,在所有三个诱导期,使T细胞进一步与一种或多种短聚体肽接触。

[0322] 在一些实施方案中,APC和T细胞被包括在相同的自体免疫细胞中,所述自体免疫细胞来自在第一步骤从患者抽取的患者的外周血。在DC成熟期结束时,将T细胞分离并且保存用DC的活化时间。在一些实施方案中,在DC成熟期结束时,将T细胞在适合的用于活化的培养基存在下培养用DC活化的时间。在一些实施方案中,T细胞是来自患者的先前冷冻保存的细胞,将其在DC成熟期结束时解冻并且培养至少4小时至多达约48小时以便在用DC活化时进行诱导。

[0323] 在一些实施方案中,APC和T细胞被包括在相同的自体免疫细胞中,所述自体免疫细胞来自在不同的时间段(例如在不同的单采术过程)从患者抽取的患者的外周血。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约20天至约少于26天。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约21天至约少于25天。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约21天至约少于24天。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约21天至约少于23天。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约21天。在一些实施方案中,从对患者进行单采术时起至收获时,需要约少于21天。

[0324] 在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)的释放标准包括无菌度、内毒素、细胞表型、TNC计数、存活力、细胞浓度、效力中的任何一个或多个。在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)的释放标准包括无菌度、内毒素、细胞表型、TNC计数、存活力、细胞浓度、效力中的每一个。

[0325] 在一些实施方案中,细胞的总数量是 2×10^{10} 个。在一些实施方案中,细胞的总数量是 2×10^9 个。在一些实施方案中,细胞的总数量是 5×10^8 个。在一些实施方案中,细胞的总数量是 2×10^8 个。在一些实施方案中,重新悬浮的T细胞的最终浓度是 2×10^5 个细胞/ml或更高。在一些实施方案中,重新悬浮的T细胞的最终浓度是 1×10^6 个细胞/ml或更高。在一些实施方案中,重新悬浮的T细胞的最终浓度是 2×10^6 个细胞/ml或更高。

[0326] 释放的细胞的以下标准被描述为示例性非限制条件,尤其由于在药物物质(DS)中细胞群和亚群的标准可能随着癌症、癌症的状态、患者的状态、匹配的HLA单型的可获得性以及肽存在下APC和T细胞的生长潜力而变化。在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)包括根据四聚体测定对特定的新抗原具有反应性的至少2%或至少3%或至少4%或至少5%的CD8+T细胞。在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)包括根据四聚体测定对特定的新抗原具有反应性的至少2%或至少3%或至少4%或至少5%的CD4+T细胞。在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)包括对记忆T细胞表型是阳性的至少5%或至少6%或至少7%或至少8%或至少9%或至少10%的细胞。

[0327] 在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)是根据一种或多种标志物进行选择。在一些实施方案中,活化的T细胞(药物物质)不是根据一种或多种标志物进行选择。在一些实施方案中,对活化的T细胞(药物物质)的试样测试以下标志物中的一种或多种的存在或不存在,以及其表现出每种被测试的标志物的细胞比例,所述一种或多种标志物选自: CD19、CD20、CD21、CD22、CD24、CD27、CD38、CD40、CD72、CD3、CD79a、CD79b、IGKC、IGHD、MZB1、

TNFRSF17、MS4A1、CD138、TNFRSR13B、GUSPB11、BAFFR、AID、IGHM、IGHE、IGHA1、IGHA2、IGHA3、IGHA4、BCL6、FCRLA、CCR7、CD27、CD45RO、FLT3LG、GRAP2、IL16、IL7R、LTB、S1PR1、SELL、TCF7、CD62L、PLAC8、SORL1、MGAT4A、FAM65B、PXN、A2M、ATM、C20orf112、GPR183、EPB41、ADD3、GRAP2、KLRG1、GIMAP5、TC2N、TXNIP、GIMAP2、TNFAIP8、LMNA、NR4A3、CDKN1A、KDM6B、ELL2、TIPARP、SC5D、PLK3、CD55、NR4A1、REL、PBX4、RGCC、FOSL2、SIK1、CSRNP1、GPR132、GLUL、KIAA1683、RALGAPA1、PRNP、PRMT10、FAM177A1、CHMP1B、ZC3H12A、TSC22D2、P2RY8、NEU1、ZNF683、MYADM、ATP2B1、CREM、OAT、NFE2L2、DNAJB9、SKIL、DENND4A、SERTAD1、YPEL5、BCL6、EGR1、PDE4B、ANXA1、SOD2、RNF125、GADD45B、SELK、RORA、MXD1、IFRD1、PIK3R1、TUBB4B、HECA、MPZL3、USP36、INSIG1、NR4A2、SLC2A3、PER1、S100A10、AIM1、CDC42EP3、NDEL1、IDI1、EIF4A3、BIRC3、TSPYL2、DCTN6、HSPH1、CDK17、DDX21、PPP1R15B、ZNF331、BTG2、AMD1、SLC7A5、POLR3E、JMJD6、CHD1、TAF13、VPS37B、GTF2B、PAF1、BCAS2、RGPD6、TUBA4A、TUBA1A、RASA3、GPCPD1、RASGEF1B、DNAJA1、FAM46C、PTP4A1、KPNA2、ZFAND5、SLC38A2、PLIN2、HEXIM1、TMEM123、JUND、MTRNR2L1、GABARAPL1、STAT4、ALG13、FOSB、GPR65、SDCBP、HBP1、MAP3K8、RANBP2、FAM129A、FOS、DDIT3、CCNH、RGPD5、TUBA1C、ATP1B3、GLIPR1、PRDM2、EMD、HSPD1、MORF4L2、IL21R、NFKBIA、LYAR、DNAJB6、TMBIM1、PFKFB3、MED29、B4GALT1、NXF1、BIRC2、ARHGAP26、SYAP1、DNNTIP2、ETF1、BTG1、PBXIP1、MKNK2、DEDD2、AKIRIN1、HLA-DMA、HLA-DNB、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5、CCL18、CCL19、CCL21、CXCL13、LAMP3、LTB、IL7R、MS4A1、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL8、CXCL10、CXCL11、CXCL9、CD3、LTA、IL17、IL23、IL21、IL7、CCL5、CD27、CD274、CD276、CD8A、CMKLR1、CXCL9、CXCR6、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-E、IDO1、LAG3、NKG7、PDCD1LG2、PSMB10、STAT1、TIGIT、CD56、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CXCL8、IFN、IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、NCR1、XCL1、XCL2、IL21R、KIR2DL3、KIR3DL1、KIR3DL2、NCAM1、HLA-DMA、HLA-DNB、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4和HLA-DRB5。

[0328] 在一些实施方案中，至少0.01%的（从来自患者的外周血的自体免疫细胞获得）响应于新抗原而被刺激，并且在该过程结束时被扩增，并且被收获。在一些实施方案中，多于0.01%的初始T细胞（从来自患者的外周血的自体免疫细胞获得）响应于新抗原而被刺激，并且在该过程结束时被扩增，并且被收获。在一些实施方案中，多于0.1%的初始T细胞（从来自患者的外周血的自体免疫细胞获得）响应于新抗原而被刺激，并且在该过程结束时被扩增，并且被收获。在一些实施方案中，多于1%的初始T细胞（从来自患者的外周血的自体免疫细胞获得）响应于新抗原而被刺激，并且在该过程结束时被扩增，并且被收获。

[0329] 在一些实施方案中，总数量的细胞是从DC成熟和T细胞活化的过程的1、2或3次循环收获。

[0330] 在一些实施方案中，收获的细胞被冷藏在袋子中在液氮的气相中。

[0331] 如本领域技术人员已知的，此节的在前段落中所述的所有应用，从获得来自患者的外周血的自体免疫细胞到收获细胞，都在无菌的封闭系统中进行，除了以下步骤之外：将培养基或细胞的试样取出以通过流式细胞术、质谱法、细胞计数、细胞分选或任何功能测定进行检查，这是取出作为试样的细胞或材料的终点。在一些实施方案中，用于直至收获的无菌培养的封闭系统是本申请人的方法专有的。

[0332] 在一些实施方案中,用于培养和扩充活化的T细胞的方法包括起始于获得来自患者的外周血的自体免疫细胞到收获的上述步骤,在无菌过程中是可缩放规模的。在一些实施方案中,每次进行至少1升的DC细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少1-2升的T细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少5升的DC细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少5-10升的T细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少10升的DC细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少10-40升的T细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少10升的DC细胞培养。在一些实施方案中,每次进行至少10-50升的T细胞培养。在一些实施方案中,同时的分批培养在作为封闭系统并且可以从外部进行操纵和干预而不引入非无菌手段的系统中进行和测试。在一些实施方案中,本文所述的封闭系统是全自动的。

[0333] 当通过注射进行施用,活性剂可以被配制在水溶液中,尤其在生理上相容的缓冲液例如Hanks溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液中。该溶液可以包含配方用剂例如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。或者,活性化合物可以粉末形式用于在使用之前用适合的载体例如无菌的无热原水构建。在另一实施方案中,该药物产品包含进一步活化或抑制宿主的免疫应答的组分的物质,例如,减低或消除宿主对所述肽的免疫应答的物质。

[0334] 本文中提供的公开内容表明共享的新抗原可以用于对患者进行便利治疗性施用,从而显著地缩短从实验室到临床的时间滞后。本文所述的组合物和方法在癌症疗法领域提供了创新性进展。

实施例

实施例1.精准NEOSTIM临床过程

[0335] 本文中提供了过继T细胞疗法,其中将对管理的预先验证的保存的受试者癌症特异性抗原肽预致敏的和有应答的T细胞施用于受试者。在此实施例中提供的方法至少在受试者经历用于个性化疗法的这种评价和制备的过程的时间中避开了冗长的测序、鉴定和生产受试者特异性新抗原肽,以及其后产生用于癌症免疫疗法的具有受试者特异性TCR的T细胞。此方法的优点在于其快速、靶向和稳固。如图1A中所示,被鉴定患有癌或肿瘤的患者可以被施用T细胞,所述T细胞在活体外被储库管理的肽活化,所述储库管理的肽具有从已知用于鉴定的癌症的共享抗原的文库产生的表位的选择的、预先验证的集合。从患者选择到T细胞治疗的过程可能需要不到6周。图1B显示在活体外产生癌靶标特异性T细胞的方法,该方法是通过将T细胞用表达推定的T细胞表位的抗原呈递细胞(APC)进行预致敏,以及将活化的T细胞扩充以获得表位特异性CD8⁺和CD4⁺(包括表现出记忆表型的这些细胞群(参见,例如,W02019094642,其以其整体通过援引而并入))。提前产生了经预先验证的表位的文库。这种表位收集自本领域的现有知识、共有驱动突变、共有抗药性突变、组织特异性抗原和肿瘤相关抗原。借助于用于表位预测、HLA结合和呈递特征的有效基于计算机的程序,为了储存和储备而产生预先验证的肽,如图2中的图所示。对于共有RAS G12突变的示例性预测示于图3A-3D中。验证是利用如实施例2-5中概述的系统性方法进行。靶肿瘤细胞抗原应答性T细胞在活体外产生,并且免疫原性是利用在体外抗原特异性T细胞测定来验证(实施例2)。质谱法用于验证表达目标抗原的细胞,其可以处理和呈递相关HLA分子上的肽(实施例3)。此外,这些T细胞将呈递所述肽的细胞杀死的能力是利用细胞毒性测定来证实(实施例4)。本文中提供的示例性数据证明用于RAS和GATA3新抗原的此验证方法,并且可以容易地应用于其他抗原。

实施例2.在活体外产生靶肿瘤细胞抗原应答性T细胞

[0336]

材料:

AIM V培养基 (Invitrogen)

人类FLT3L, 临床前CellGenix#1415-050储备液50ng/ μ LTNF- α , 临床前CellGenix#1406-050, 储备液10ng/ μ LIL-1 β , 临床前CellGenix#1411-050, 储备液10ng/ μ LPGE1或Alprostadi1-Cayman (来自捷克共和国) 储备液0.5 μ g/ μ L

R10培养基-RPMI 1640glutamax+10%人血清+1%PenStrep

20/80培养基-18%AIM V+72%RPMI 1640glutamax+10%人血清+1%PenStrep

IL7储备液5ng/L

IL15储备液5ng/ μ L程序:

步骤1: 在2mL AIM V培养基中, 用FLT3L在24孔板的每个孔中铺板500万个PBMC (或目标细胞)

步骤2: AIMV中的肽负载和成熟

1. 将目标肽库 (无肽条件除外) 与各个孔中的PBMC (或目标细胞) 混合。

2. 温育1小时。

3. 温育后, 将成熟混合物 (包括TNF- α , IL-1 β , PGE1和IL-7) 混合到每个孔中。

步骤3: 将人血清以10体积%的最终浓度添加到每个孔中并混合。

步骤4: 用补充了IL7+IL15的新鲜RPMI+10%HS培养基替换培养基。

步骤5: 每1-6天温育期间, 用补充了IL7+IL15的20/80新鲜培养基替换培养基。

步骤6: 在2ml AIM V培养基中, 用FLT3L在新的6孔板的每个孔中铺板500万个PBMC (或目标细胞)

步骤7: 用于重新刺激的肽负载和成熟 (新板)

1. 将目标肽库 (无肽条件除外) 与各个孔中的PBMC (或目标细胞) 混合

2. 温育1小时。

3. 温育后将成熟混合物混合到每个孔中

步骤8: 重新刺激:

1. 对第一刺激FLT3L培养物进行计数, 并将500万个培养细胞添加到新的重新刺激板中。

2. 使培养物体积达到5mL (AIM V), 并添加500 μ L人血清 (按体积计10%)

步骤9: 取出3ml培养基, 并添加6ml补充有IL7+IL15的RPMI+10%HS培养基。

步骤10: 用补充有IL7+IL15的新鲜20/80培养基替换75%的培养基。

步骤11: 如果需要, 重复进行重新刺激。

分析抗原特异性诱导

[0337] MHC四聚体经购得或者根据本领域普通技术人员已知的方法现场制备, 并且用于在免疫原性测定中测量肽特异性T细胞扩充。为了评估, 根据生产商的说明书, 将四聚体添加至在PBS中的 1×10^5 个细胞, PBS包含1%FCS和0.1%叠氮化钠 (FACS缓冲剂)。将细胞在黑暗中在室温下温育20分钟。然后将对T细胞标志物 (例如CD8) 特异性的抗体添加至生产商建

议的最终浓度,并且将细胞在黑暗中在4℃温育20分钟。将细胞用冷FACS缓冲剂洗涤并且重新悬浮在包含1%甲醛的缓冲剂中。在LSR Fortessa (Becton Dickinson) 仪器上获取细胞,并且通过使用FlowJo软件 (Becton Dickinson) 进行分析。为了分析四聚体阳性细胞,从前向和侧向散点图截取淋巴细胞门。数据被报告为是CD8⁺/四聚体⁺的细胞的百分比。

[0338] 在HLA-A03:01和HLA-A11:01上的RAS新抗原的示例性数据示于图5中。在多个健康供体中在HLA-A11:01上的RAS G12V新抗原的示例性数据示于图6中。HLA-A02:01上的RAS G12V新抗原的示例性数据示于图13中。HLA-A68:01上的RAS新抗原的示例性数据示于图14中。HLA-B07:02上的RAS新抗原的示例性数据示于图15中。HLA-B08:01上的RAS新抗原的示例性数据示于图16中。HLA-C08:02上的RAS G12D新抗原的示例性数据示于图17中。HLA-A02:01、HLA-A03:01、HLA-A11:01、HLA-B07:02和HLA-B08:01上的GATA3新抗原的示例性数据示于图21中。HLA-A02:01上的BTK C481S新抗原的示例性数据示于图26中。HLA-A02:01上的EGFR T790M新抗原的示例性数据示于图27中。

[0339] CD4⁺T细胞对新抗原的应答可以利用活体外诱导方案进行诱导。在此实施例中,CD4⁺T细胞应答通过监测IFN γ 和/或TNF α 的产生以抗原特异性方式进行鉴定。图18显示对RAS G12D新抗原呈反应性的CD4⁺T细胞的此类流式细胞术分析的代表性示例。图24显示对GATA3新抗原呈反应性的CD4⁺T细胞的此类流式细胞术分析的代表性示例。

实施例3. 评价抗原的呈递

[0340] 对于预测的抗原的子集,确定了对于所示HLA等位基因而言新表位的亲和力和具有HLA等位基因的新表位的稳定性。RAS新抗原和GATA3新抗原的子集的示例性数据分别示于图4A和图20中。

[0341] 用于测量肽与I类MHC的结合亲和力的方案的示例性详细描述已经被公布 (Sette等人, *Mol. Immunol.* 31 (11):813-22, 1994)。简言之,制备MHCI复合物并且将其结合至放射性标记的参考肽。将肽以不同的浓度与这些复合物一起温育2天,并且与MHCI结合的放射性标记的肽的剩余量是利用尺寸排阻凝胶过滤进行测量。置换放射性标记的参考肽所需的测试肽的浓度越低表明该测试肽对MHCI的亲和力越强。对MHCI的亲和力<50nM的肽通常被视为强结合剂,而亲和力<150nM的那些肽被视为中等结合剂,而<500nM的那些肽被视为弱结合剂 (Fritsch等人, 2014)。

[0342] 用于测量肽与I类MHC的结合稳定性的方案的示例性详细描述已经被公布 (Harndahl等人, *J Immunol Methods*, 374:5-12, 2011)。简言之,编码生物素化的MHC-I重链和轻链的合成基因在大肠杆菌中进行表达并且通过利用标准方法从内含体中被纯化。轻链(β 2m)被放射性标记有碘(¹²⁵I),并且与纯化的MHC-I重链和目标肽在18℃下合并以引发pMHC-I复合物形成。这些反应在链霉亲和素涂覆的微孔板中进行以使生物素化的MHC-I重链结合至表面并允许测量放射性标记的轻链以监测复合物形成。通过添加较高浓度的未标记的轻链并在37℃温育来引发解离。稳定性被定义为所述复合物的一半解离所需的时间长度(小时),如通过闪烁计数测量的。

[0343] 为了评估抗原是否可能从较大的多肽背景进行处理和呈递,从分离自表达目标基因的细胞中的HLA分子洗脱出的肽通过串联质谱法(MS/MS)进行分析。

[0344] 为了分析RAS新抗原的呈递,使用天然地具有RAS突变或被慢病毒转导以表达突变RAS基因的细胞系。基于细胞系的天然表达分离HLA分子,或者将所述细胞系进行慢病毒转

导,或暂时转染以表达目标HLA。将293T细胞用编码突变RAS肽的可变区的慢病毒载体进行转导。将表达由突变RAS编码的肽的大于5千万个细胞培养,并且将肽利用酸洗液从HLA-肽复合物洗脱。洗脱的肽而后通过靶向MS/MS和平行反应监测 (PRM) 进行分析。对于用RAS^{G12V}突变和HLA-A*03:01基因进行慢病毒转导的293T细胞,具有氨基酸序列vvvgaVgvgk的肽通过质谱法进行检测。与其对应的稳定重同位素标记的合成肽的谱图比较(图4B)显示被检测的肽的质量准确度小于百万分之5(ppm)。内源性肽谱图示于顶部子图中,对应的稳定重同位素标记的合成肽的谱图示于底部子图中。对于天然表达RAS^{G12V}突变的和用HLA-A*03:01基因进行慢病毒转导的SW620细胞,具有氨基酸序列vvvgaVgvgk的肽通过质谱法进行检测。与其对应的稳定重同位素标记的合成肽的谱图比较显示被检测的肽的质量准确度小于5ppm(图4C)。内源性肽谱图示于顶部子图中,对应的稳定重同位素标记的谱图示于底部子图中。对于天然表达RAS^{G12V}突变和HLA-A*03:01基因二者的NCI-H441细胞,具有氨基酸序列vvvgaVgvgk的肽通过质谱法进行检测。与其对应的稳定重同位素标记的合成肽的谱图比较显示被检测的肽的质量准确度小于5ppm(图4D)。内源性肽谱图示于顶部子图中,对应的稳定重同位素标记的谱图示于底部子图中。执行了相似的操作过程,以分析衍生于HLA-A*03:01、HLA-A*11:01、HLA-A*30:01、HLA-A*68:01和HLA-B*07:02上的多个RAS^{G12}突变的肽,并且表13列出通过质谱法被检测的那些肽。

表13

等位基因	突变	新抗原	长度
A*03:01	G12C	vvvgaCgvgk	10
	G12D	vvvgaDgvgk	10
	G12D	klvvvgaDgvgk	12
	G12R	vvvgaRgvgk	10
	G12R	klvvvgaRgvgk	12
	G12V	vvvgaVgvgk	10
	G12V	vvgaVgvgk	9
	G12V	klvvvgaVgvgk	12
A*11:01	G12C	vvvgaCgvgk	10
	G12D	vvvgaDgvgk	10
	G12R	vvvgaRgvgk	10
	G12V	vvvgaVgvgk	10
	G12V	vvgaVgvgk	9
A*30:01	G12R	vvvgaRgvgk	10
A*68:01	G12C	vvvgaCgvgk	10
	G12D	vvvgaDgvgk	10
	G12R	vvvgaRgvgk	10
	G12V	vvvgaVgvgk	10
	G12V	vvgaVgvgk	9
	G12V	lvvvgaVgvgk	11
B*07:02	G12D	gaDgvgksal	10
	G12R	gaRgvgksal	10

[0345] 为了分析GATA3新抗原的呈递,将293T细胞用编码由GATA3neoORF编码的肽的可变区的慢病毒载体进行转导。将表达由GATA3neoORF序列编码的肽的5千万至7亿个转导的细胞进行培养,并且将肽利用酸洗液从HLA-肽复合物洗脱。洗脱的肽而后通过靶向MS/MS使用PRM进行分析。在源于GATA3 neoORF的肽与对应的合成肽之间进行谱图比较以确认每次检测。对于表达HLA-A*02:01蛋白质的293T细胞,肽VLPEPHLAL、SMLTGPPARV和MLTGPPARV通过质谱法进行检测(表14和图20)。与对应的合成肽的谱图比较显示被检测的肽(SMLTGPPARV)的质量准确度小于5ppm(图4E)。对于表达HLA-A*03:01或HLA-A*11:01蛋白质的293T细胞,肽KIMFATLQR通过质谱法进行检测(图20)。对于表达HLA-A*30:02蛋白质的293T细胞,肽IMKPKRDGY和SIMKPKRDGY通过质谱法进行检测(表14)。对于表达HLA-B*07:02蛋白质的293T细胞,肽KPKRDGYMF和KPKRDGYMFL通过质谱法进行检测(表14和图20)。对于表达HLA-B*08:

01蛋白质的293T细胞,肽ESKIMFATL通过质谱法进行检测(表14和图20)。对于表达HLA-B*40:02蛋白质的293T细胞,肽AESKIMFATL和AESKIMFAT通过质谱法进行检测(表14)。对于表达HLA-C*03:03蛋白质的293T细胞,肽FATLQRSSL通过质谱法进行检测(表14)。

表14

等位基因	突变	新抗原	长度
A*02:01	GATA3 neoORF	VLPEPHLAL	9
	GATA3 neoORF	SMLTGPPARV	10
	GATA3 neoORF	MLTGPPARV	9
A*03:01	GATA3 neoORF	KIMFATLQR	9
A*11:01	GATA3 neoORF	KIMFATLQR	9
A*30:02	GATA3 neoORF	IMKPKRDGY	9
	GATA3 neoORF	SIMKPKRDGY	10
B*07:02	GATA3 neoORF	KPKRDGYMF	9
	GATA3 neoORF	KPKRDGYMFL	10
B*08:01	GATA3 neoORF	ESKIMFATL	9
B*40:02	GATA3 neoORF	AESKIMFATL	10
	GATA3 neoORF	AESKIMFAT	9
C*03:03	GATA3 neoORF	FATLQRSSL	9

HLA I类结合和稳定性

[0346] 用于亲和力测量的肽的子集也用于使用所述测定进行稳定性测量(n=275)。这些数据示于表3中。小于50nM在本领域中被视为强结合剂,50-150nM被视为中等结合剂,150-500nM被视为弱结合剂,并且大于500nM被视为极弱结合剂。观测的稳定性与观测的亲和力之间的关系通过这些结合稳定性间隔中降低中值稳定性而明显可见。但是,在结合剂之间存在显著的重叠,并且重要地,在所有结合剂(包括极弱结合剂)中,在数小时范围中,存在具有观测的稳定性的表位。

[0347] 免疫原性测定用于测试每种测试肽扩充T细胞的能力。制备成熟的专业APC用于以以下方式进行这些测定。利用基于珠的试剂盒(Miltenyi)从健康的人类供体PBMC富集单核细胞。将富集的细胞铺板在GM-CSF和IL-4中以诱导不成熟的DC。在5天之后,在添加细胞因子成熟混合物(GM-CSF、IL-1 β 、IL-4、IL-6、TNF α 、PGE1 β)之前,将不成熟的DC在37 $^{\circ}$ C与每种肽一起温育1小时。将细胞在37 $^{\circ}$ C温育以使DC成熟。在一些实施方案中,当所述肽施用于患者中时需要诱发免疫应答。

[0348] 表4A显示包含RAS突变的肽序列、与其结合的对HLA等位基因,以及测量的稳定性和亲和力。

实施例4. 在体外评估抗原特异性T细胞的细胞毒性能力

[0349] 细胞毒性活性可以通过经流式细胞术检测靶细胞中裂解的胱天蛋白酶3来测量。

靶癌细胞被工程化为表达突变肽和适当的MHC-I等位基因。Mock-转导的靶细胞(即不表达突变肽)用作阴性对照。将细胞用CFSE进行标记以将它们与用作效应细胞的受刺激的PBMC区分。将靶细胞和效应细胞共同培养6小时,然后进行收获。进行细胞内染色以检测CFSE-阳性靶癌细胞中胱天蛋白酶3的裂解形式。特异性溶解的百分比被计算为:胱天蛋白酶3的实验裂解/胱天蛋白酶3的自发裂解(在不存在突变肽表达下测量) x100。示例性数据显示针对GATA3新抗原诱导的T细胞可以杀死表达GATA3 neoORF的靶细胞,示于图23中。

[0350] 在一些实施例中,细胞毒性活性是通过如下评估的:通过将用抗原特异性T细胞群诱导的T细胞与表达对应HLA的靶细胞共同培养,以及通过测定靶细胞的相对生长,以及特异性地测量靶癌细胞中的细胞凋亡标志物Annexin V。靶癌细胞被工程化为表达突变肽或者该肽被外源性地负载。Mock-转导的靶细胞(即不表达突变肽)、负载有野生型肽的靶细胞或未负载肽的靶细胞用作阴性对照。细胞还被转导为稳定地表达GFP,以允许追踪靶细胞生长。GFP信号或Annexin-V信号通过用IncuCyte S3装置随着时间进行测量。起源于效应细胞的Annexin V信号通过尺寸排阻而被滤出。靶细胞生长和死亡分别被表述为随着时间的GFP和Annexin-V面积(mm^2)。

[0351] 示例性数据表明受刺激的T细胞识别HLA-A11:01上的RAS^{G12V}新抗原,特异性识别和杀死负载有突变肽而不是负载有野生型肽的靶细胞,示于图7中。示例性数据表明受刺激的T细胞识别HLA-A11:01上的RAS^{G12V}新抗原,以<0.2:1的E:T比率杀死负载有纳摩尔量的肽的靶细胞,示于图8中。示例性数据表明受刺激的T细胞识别HLA-A11:01上的RAS^{G12V}新抗原,杀死天然具有RASG12V突变和用HLA-A11:01转导的SW620细胞,示于图9中。示例性数据表明受刺激的T细胞识别HLA-A03:01上的RAS^{G12V}新抗原,杀死天然具有RASG12V突变和HLA-A03:01的NCI-H441细胞,示于图10中。示例性数据表明受刺激的T细胞识别HLA-A02:01上的GATA3新抗原,杀死天然具有HLA-A02:01和用GATA3 neoORF转导的293T细胞,示于图22和图23中。

实施例5. 应用于组织特异性抗原的精准NEO-STIM过程

[0352] 如果在非必要组织中产生肿瘤,则在此类组织中特异性表达的抗原可以被靶向。例如,在前列腺组织中特异性表达的抗原可以在其中原发性肿瘤被重新切除的转移性前列腺癌的情境中被靶向,因为只有表达这些抗原的细胞是转移性癌细胞。存在着多种此类非必要组织。作为示例,利用两种方法对前列腺细胞进行评价,以发现潜在的前列腺特异性抗原。在一种方法中,利用HLA-MS对前列腺组织或前列腺癌细胞系进行评价,如实施例3中所述。此方法可以导致对被验证为经处理和呈递的抗原的鉴定。来自此方法的示例性数据示于图25A中。在另一种方法中,已知在前列腺细胞中特异性表达的基因可以通过一种或多种MHC结合和呈递预测软件进行评价。生成肽-MHC预测算法并且将其用于这些研究。如实施例2、3和4中,质谱、细胞和免疫测定进一步帮助验证预测的肽-HLA配对。对已知在前列腺中特异性表达的4个基因(KLK2、KLK3、KLK4、TGM4)的此分析的示例性结果示于下表中。对这些表位进一步进行免疫原性研究,如在实施例2中。前缀有‘*’的表位显示出在一个或二个供体中诱导阳性CD8+T细胞应答(分别在第6列中标记为1或2),还示于图25B中。

表12

肽	等位基 因	基因	预测的亲 和力(nM)	RECON 百分比评 级	免疫原 性(#供体 /2)
SLQCVSLHL	HLA- A02:01	KLK2	39.4	0.4	
LVLSIALSV	HLA- A02:01	KLK2	54.9	1.1	
VILGVHLSV	HLA- A02:01	KLK2	62.1	0.4	

VLAPQESSV	HLA-A02:01	KLK2	65.7	0.08	
SLQCVSLHLL	HLA-A02:01	KLK2	90.3	0.4	
MLLRLSEPA	HLA-A02:01	KLK2;KLK3	56	2.5	
LTMPALPMV	HLA-A02:01	KLK3	14.3	1.1	
FLTLSVTWIA	HLA-A02:01	KLK3	16.9	3.5	
KLQCVDLHV	HLA-A02:01	KLK3	21.2	0.3	
*FLTPKKLQCV	HLA-A02:01	KLK3	126.4	0.17	1
FLRPGDDSTL	HLA-A02:01	KLK3	982.7	0.4	
*FLGYLILGV	HLA-A02:01	KLK4	6.3	0.05	1
*LLANDLMLI	HLA-A02:01	KLK4	10.7	0.4	2
*FQNSYTIGL	HLA-A02:01	KLK4	15.1	1.6	2
MLIKLDESV	HLA-A02:01	KLK4	17.6	0.25	
VLQCVNVSV	HLA-A02:01	KLK4	19.2	0.1	
*LLANGRMPTV	HLA-A02:01	KLK4	25.9	0.25	2
*ILNDTGCHYV	HLA-A02:01	TGM4	17.2	0.1	1
*FQYPEFSIEL	HLA-A02:01	TGM4	21.2	1	1
ILGKYQLNV	HLA-A02:01	TGM4	22	0.3	

LLGNSVNFTV	HLA-A02:01	TGM4	27.8	0.7	
*VLDC CISLL	HLA-A02:01	TGM4	30.6	0.4	1
ILGSFELQL	HLA-A02:01	TGM4	31.2	0.25	
*RLIWLVKMV	HLA-A02:01	TGM4	64.4	0.17	1
VLLGNSVNFTV	HLA-A02:01	TGM4	83.7	0.6	
TLAIPLTDV	HLA-A02:01	TGM4	149.2	0.25	

[0353] 在进一步测定中,对表中所示的肽特异性的T细胞被测试杀死靶细胞的能力,如实施例4中所述。示例性数据示于图25C中,其中KLK4前列腺特异性表位与负载有2 μ M肽的或未负载的293T-GFP细胞共同培养。相比于无肽对照(左图像),负载有肽的靶细胞在远远更大的程度上被杀死(右图像)。

实施例6. 靶抗原活化的T细胞的富集

[0354] 肿瘤抗原应答性T细胞可以被进一步富集。在此实施例中,探索了用于富集抗原应答性T细胞的多种途径,并且呈现出结果。在对抗原特异性T细胞的初始刺激之后(实施例2,步骤1-5),可以在进一步扩充这些细胞之前使用富集过程。作为示例,将在第13天以用于初始刺激的相同肽对培养物进行刺激和脉冲,并且对上调4-1BB的细胞利用磁性辅助的细胞分离(MACS;Miltenyi)进行富集。然后,可以例如通过利用抗CD3和抗CD28微珠和低剂量的IL-2进行将这些细胞进一步扩充。如图19A(中间行)和图19B(中间列)中所示,此方法可以富集多个抗原特异性T细胞群。作为另一示例,由多聚体染色的T细胞可以通过MACS在刺激的第14天进行富集并且,例如通过利用抗CD3和抗CD28微珠和低剂量的IL-2进行进一步扩充。如图19A(底行)和图19B(右列)中所示,此方法可以富集多个抗原特异性T细胞群。

实施例7. 对所选择的肽的免疫原性测定

[0355] 在DC成熟之后,将PBMC(大体积或富集有T细胞)和增殖细胞因子添加至成熟树突细胞。通过联用功能测定和/或四聚体染色,针对肽-特异性T细胞监测培养物。用修饰的肽和母肽的平行免疫原性测定允许比较肽扩充的肽-特异性T细胞的相对效率。在一些实施方案中,肽在T细胞培养物中诱发免疫应答包括在所述T细胞培养物中检测FAS配体、颗粒酶、穿孔素、IFN、TNF或其组合的表达。

[0356] 免疫原性可以通过四聚体测定来测量。MHC四聚体经购得或者现场制备,并且用于在免疫原性测定中测量肽特异性T细胞扩充。为了评估,根据生产商的说明书,将四聚体添加至在PBS中的 1×10^5 个细胞,PBS包含1%FCS和0.1%叠氮化钠(FACS缓冲剂)。将细胞在黑暗中在室温下温育20分钟。然后将T细胞标志物特异性的抗体(例如CD8)添加至生产商建议的最终浓度,并且将细胞在黑暗中以4 $^{\circ}$ C温育20分钟。将细胞用冷FACS缓冲剂洗涤并且重新悬浮在包含1%甲醛的缓冲剂中。在FACS Calibur(Becton Dickinson)仪器上获取细胞,

并且通过使用Cellquest软件(Becton Dickinson)进行分析。为了分析四聚体阳性细胞,从前向和侧向散点图截取淋巴细胞门。数据被报告为是CD8⁺/四聚体⁺的细胞的百分比。

[0357] 免疫原性可以通过细胞内细胞因子染色来测量。在不存在公认的四聚体染色来鉴定抗原特异性T细胞群的情况下,抗原特异性可以通过利用对细胞因子产量的评估利用公认的流式细胞术测定进行估算。简言之,将T细胞用目标肽进行刺激并且与对照进行比较。在刺激之后,对CD4⁺T细胞产生的细胞因子(例如,IFN γ 和TNF α)通过细胞内染色进行评估。这些细胞因子,尤其IFN γ ,用于鉴定受刺激的细胞。

[0358] 在一些实施方案中,免疫原性通过利用ELISpot测定法测量由T细胞表达的蛋白质或肽来测量。肽-特异性T细胞通过利用ELISpot测定(BD Biosciences)进行功能性枚举,ELISpot测定在单细胞基础上测量从T细胞释放的IFN γ 。将靶细胞(T2或HLA-A0201转染的C1R)用10 μ M肽在37摄氏度脉冲1小时,并且洗涤三次。将1 $\times 10^5$ 个经肽脉冲的靶标在ELISPOT板孔中与从免疫原性培养物获取的不同浓度的T细胞(5 $\times 10^2$ 至2 $\times 10^3$)共同培养。根据生产商的方案对板进行显影,并且在ELISPOT读取器(Cellular Technology Ltd.)上用随附的软件进行分析。与产生IFN γ 的T细胞的数量对应的点被报告为点的绝对数量/铺板的T细胞数量。对于在修饰的肽上扩充的T细胞,不仅测试它们识别由修饰的肽脉冲的靶标的能力,而且测试它们识别由母肽脉冲的靶标的能力。

[0359] CD107a和CD107b在用关联肽活化之后的CD8⁺T细胞的细胞表面上被表达。T细胞的溶解颗粒具有脂双层,该脂双层包含溶酶体相关的膜糖蛋白("LAMP"),其包括分子CD107a和CD107b。当细胞毒性T细胞通过T细胞受体被活化时,这些溶解颗粒的膜迁移并且与T细胞的质膜融合。颗粒内容物被释放,并且这导致靶细胞的死亡。随着颗粒膜与质膜融合,CD107a和b暴露于细胞表面上,并且因此是脱颗粒的标志物。由于通过CD107a和CD107b染色测量的脱颗粒在单细胞基础上进行报告,所以该测定用于功能性枚举肽-特异性T细胞。为了进行测定,将肽添加于HLA-A0201转染的细胞C1R直至20 μ M的最终浓度,将细胞在37摄氏度温育1小时,并且洗涤三次。将1 $\times 10^5$ 个经肽脉冲的C1R细胞等分量入管中,并且将CD107a和CD107b特异性抗体添加至生产商(Becton Dickinson)建议的最终浓度。因为在测定过程期间CD107分子短暂地出现在表面上,所以为了"捕获"CD107分子,在添加T细胞之前,添加抗体。接着添加来自免疫原性培养物的1 $\times 10^5$ 个T细胞,并且将样品在37摄氏度温育4小时。将T细胞进一步染色,用于附加的细胞表面分子例如CD8,并且在FACS Calibur仪器(Becton Dickinson)上获取。通过利用随附的Cellquest软件对数据进行分析,并且将结果报告为CD8⁺CD107 a和b⁺细胞的百分比。

[0360] 细胞毒性活性利用铬释放测定来测量。将靶T2细胞用Na51Cr在37摄氏度标记1小时,然后将洗涤的5 $\times 10^3$ 个靶T2细胞添加至来自免疫原性培养物的不同数量的T细胞。在37摄氏度温育4小时之后收获的上清液中测量铬释放。特异性溶解的百分比被计算为:

$$\text{实验释放} - \text{自发释放} / \text{总释放} - \text{自发释放} \times 100$$

[0361] 进行免疫原性测定以评估每种肽是否能够通过抗原特异性扩充而诱发T细胞应答。虽然目前的方法不完美,因此阴性结果不表明肽不能诱导应答,阳性结果表明肽能够诱导T细胞应答。对于来自表3的若干肽,用如所述的多聚体读取测试它们诱发CD8⁺T细胞应答的能力。每个阳性结果用第二多聚体制剂进行测量以避免任何制剂偏性。在示例性测定中,将HLA-A02:01+T细胞与负载有TMPRSS2::ERG融合新表位(ALNSEALSV;HLA-A02:01)的单核

细胞衍生的树突细胞共同培养10天。利用多聚体(初始:BV421和PE;验证:APC和BUV396)来分析CD8⁺T细胞的对TMPRSS2::ERG融合新表位的抗原特异性。

[0362] 虽然抗原特异性CD8⁺T细胞应答通过利用公认的HLA I类多聚体技术易于进行评估,但是因为HLA II类多聚体技术并非公认的,所以CD4⁺T细胞应答需要单独的测定来评价。为了评估CD4⁺T细胞应答,将T细胞用目标肽进行重新刺激,并且与对照比较。在完全新颖的序列(例如,产生于移码或融合)的情况下,对照不是肽。在点突变的情况下,对照是WT肽。在刺激之后,由CD4⁺T细胞产生的细胞因子(例如,IFN γ 和TNF α)通过细胞内染色进行评估。这些细胞因子,尤其IFN γ ,用于鉴定受刺激的细胞。抗原特异性CD4⁺T细胞应答显示相对于对照增高的细胞因子产量。

实施例8. 细胞扩充和制备

[0363] 为了制备APC,采用了以下方法(a)从患者的外周血获得自体免疫细胞;在培养物中富集单核细胞和树突细胞;负载肽以及使DC成熟。

T细胞诱导(方案1)

[0364] 第一诱导:(a)从单采术袋获得自体T细胞;(b)耗尽CD25⁺细胞和CD14⁺细胞,或者,仅耗尽CD25⁺细胞;(c)洗涤负载有肽的和成熟的DC细胞,重新悬浮在T细胞培养基中;(d)将T细胞与成熟DC一起温育。

[0365] 第二诱导:(a)洗涤T细胞,重新悬浮在T细胞培养基中,和任选地,评价来自细胞培养物的小试样以确定细胞生长、相对生长和对T细胞亚型的诱导以及抗原特异性,以及监测细胞群的损失;(b)将T细胞与成熟DC一起温育。

[0366] 第三诱导:(a)洗涤T细胞,重新悬浮在T细胞培养基中,和以任选地,评价来自细胞培养物的小试样以确定细胞生长、相对生长和对T细胞亚型的诱导以及抗原特异性,以及监测细胞群的损失;(b)将T细胞与成熟DC一起温育。

[0367] 为了收获肽活化的T细胞和冷冻保存T细胞,采用了以下方法(a)洗涤和重新悬浮最终的配制物,该配制物包含活化的T细胞,其处在促成药物物质(DS)的期望特征的细胞类型的最佳细胞数量和比例。释放标准测试除了其他方面之外还包括无菌度、内毒素、细胞表型、TNC计数、存活力、细胞浓度、效力;(b)将药物物质填装在适合的包封的输注袋中;(c)保藏直至使用之时。

实施例9-CD4⁺和CD8⁺新抗原特异性T细胞的功能表征方法

[0368] 癌细胞中的由改变蛋白质编码基因序列的体细胞突变产生新抗原,目前正成为免疫治疗的诱人靶标。它们在肿瘤细胞上的独特表达不同于健康组织,并可以被免疫系统识别为外来抗原,增加免疫原性。开发了T细胞制备工艺以通过多轮离体T细胞刺激来提高记忆力和从头产生CD4⁺和CD8⁺T细胞对患者特异性新抗原的反应,从而产生新抗原反应性T细胞产物以供使用在过继细胞疗法中。刺激的T细胞产物的详细表征可用于测试这些过程利用的许多潜在变量。

[0369] 为了探测T细胞的功能和/或特异性,开发了一种测定法,以同时检测抗原特异性T细胞应答并表征其大小和功能。该测定采用以下步骤。首先使用T细胞-APC共培养物在抗原特异性T细胞中引发反应。任选地,采用使用荧光细胞条形码化的样品多路化。为了鉴定抗原特异性CD8⁺T细胞并检查T细胞功能,使用FACS分析同时探测肽-MHC多聚体的染色和多参数细胞内和/或细胞表面细胞标志物的染色。合理化测定的结果证明了其在研究由健康供

体诱导的T细胞应答中的应用。在健康的供体中鉴定出针对肽的新抗原特异性T细胞应答。还比较了诱导的T细胞应答的大小、特异性和功能性。简言之,将不同的T细胞样品用不同浓度的不同荧光染料条形码化(参见例如实施例19)。每个样品接受不同浓度的荧光染料或不同浓度的多种染料的组合。将样品重悬浮于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,然后添加溶解在DMSO中的荧光团(通常以1:50的稀释度)至最大终浓度为5 μ M。在37 $^{\circ}$ C标记5分钟后,通过添加含蛋白质的培养基(例如包含10%合并的人AB型血清的RPMI培养基)将过量的荧光染料淬灭。如上所述,用经抗原肽脉冲的自体APC攻击独特条形码化的T细胞培养物。

[0370] 将差异标记的样品合并到一个FACS管或孔中,如果生成的体积大于100 μ L,则再次沉淀。将合并的条形码化的样品(通常为100pL)用包括荧光染料缀合的肽-MHC多聚体的表面标志物抗体染色。固定和透化后,将样品另外用靶向TNF- α 和IFN- γ 的抗体进行细胞内染色。

[0371] 然后通过流式细胞术在流式细胞仪上同时分析合并的条形码化的T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色。与分别分析T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色的其他方法不同,本实施例中描述的T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色的同时分析提供了关于既具有抗原特异性又具有增加的细胞标志物染色的T细胞百分比的信息。分析T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色的其他方法,单独确定样品的抗原特异性T细胞百分比,并单独确定具有增加的细胞标志物染色的T细胞百分比,仅允许这些频率的相关性。

[0372] 在该实施例中描述的T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色的同时分析不依赖于抗原特异性T细胞的频率与具有增加的细胞标志物染色的T细胞的频率的相关性。相反,它提供了既具有抗原特异性又具有增加的细胞标志物染色的T细胞频率。在该实施例中描述的T细胞样品的细胞标志物谱和MHC四聚体染色的同时分析允许在单个细胞水平上确定那些既是抗原特异性的又具有增加的细胞标志物染色的细胞。

[0373] 为了评价给定诱导过程的成功性,使用了回忆应答测定法,然后进行了多路化的多参数流式细胞术面板分析。将取自诱导培养物的样品用独特的双色荧光细胞条形码标记。将标记的细胞在负载抗原的DC或未负载DC上温育过夜,以刺激抗原特异性细胞中的功能应答。第二天,根据下表将独特标记的细胞合并,然后进行抗体和多聚体染色。

表9

标志物	荧光染料	目的
CD19/CD16/CD14	BUV395	细胞排除
活/死	Near-IR	死细胞排除
CD3	BUV805	谱系门控
CD4	Alexa Fluor 700	谱系门控
CD8	PerCP-Cy5.5	谱系门控
条形码1	CFSE	样品多路化
条形码2	TagIT Violet	样品多路化
多聚体1	PE	CD8+抗原特异性
多聚体2	BV650	CD8+抗原特异性
IFN γ	APC	功能性

TNF α	BV711	功能性
CD107a	BV786	细胞毒性
4-1BB	PE/Dazzle 594	活化

[0374] 使用生物信息学引擎预测患者特异性新抗原。在刺激方案中,将覆盖预测的新抗原的合成肽用作免疫原,以评估免疫原性能力。刺激方案包括将这些新抗原编码的肽给到患者来源的APC,然后将其与患者来源的T细胞共培养以对新的抗原特异性T细胞进行预致敏。

[0375] 刺激方案中包含多轮刺激,以预致敏、激活和扩展记忆以及从头T细胞应答。通过使用以下测定表征这些应答,分析了这些新抗原特异性T细胞的特异性、表型和功能:使用pMHC多聚体的组合编码分析用于检测多种新抗原特异性CD8+T细胞应答。使用多路化的多参数流式细胞术进行的回忆应答测定用于鉴定和验证CD4+T细胞应答。通过测量促炎细胞因子(包括IFN- γ 和TNF α)的产生以及作为脱颗粒的标志的CD 107a上调来评估CD8+和CD4+T细胞应答的功能性。使用采用表达新抗原的肿瘤细胞系进行的细胞毒性测定,以了解CD8+T细胞应答响应于天然加工并呈递的抗原识别和杀死靶细胞的能力。通过T细胞上CD 107a的细胞表面上调和表达新抗原的肿瘤细胞上活性胱天蛋白酶3的上调来测量细胞毒性。刺激方案成功扩展了先前存在的CD8+T细胞应答,并诱导了从头CD8+T细胞应答(表10)。

表10

患者	HUGO符号	全基因名称	类型
NV10	SRSF1 _{E>K} ARAP1 _{Y>H} PKDREJ _{G>R}	富含丝氨酸和精氨酸的剪接因子1 锚蛋白重复序列和PH结构域 卵胶多囊蛋白家族受体	CD8
	MKRN1 _{S>L} CREBBP _{S>L} TPCN1 _{K>E}	Makorin环指蛋白1 CREB结合蛋白 双孔段通道1	CD4
NV6	AASDH _{neoORF} ACTN4 _{K>N} CSNK1A1 _{S>L} DHX40 _{neoORF} GLI3 _{P>L} QARS _{R>W} FAM178B _{P>L} RPS26 _{P>L}	氨基己二酸半醛脱氢酶 辅肌动蛋白 α 4 酪蛋白激酶1 α 1 DEAH-盒解旋酶40 GLI家族锌指3 谷氨酰胺酰基-TRNA合成酶 具有序列相似性178成员B的家族 核糖体蛋白S26	CD8

[0376] 申请人的团队使用来自黑色素瘤患者的PBMC进行了临床研究,观察到先前存在的CD8+T细胞应答从4.5%的CD8+T细胞扩展到72.1%的CD8+T细胞(SRSF1E_{>K})。此外,刺激方案有效诱导两种针对患者特异性新抗原的从头CD8+T细胞应答(示例性从头CD8+T细胞应答:ARAP1_{Y>H}:6.5%的CD8+T细胞,和PKDREJ_{G>R}:13.4%的CD8+T细胞;在刺激过程之前未检测到细胞)。刺激方案使用来自另一位黑色素瘤患者NV6的PBMC成功诱导了针对先前描述的和新型模型新抗原的7种从头CD8+T细胞应答,达不同幅度(ACTN4_{K>N}CSNK1A1_{S>L}DHX40neoORF 7, GLI3_{P>L},QARS_{R>W},FAM178B_{P>L}和RPS26_{P>L},范围:0.2%的CD8+T细胞,最高52%的CD8+T细胞)。此外,针对患者特异性新抗原的CD8+记忆T细胞应答得到了扩展(AASDHneoORF,刺激后高达13%的CD8+T细胞)。

[0377] 对来自患者的诱导的CD8+T细胞进行了更详细的表征。在用突变的肽负载的DC再

次攻击时,新抗原特异性CD8+T细胞表现出一种、两种和/或所有三种功能(对于SRSF1E>K和ARAP1Y>H,分别具有16.9%和65.5%的功能性CD8+pMHC+T细胞)。当用不同浓度的新抗原肽再次攻击时,诱导的CD8+T细胞对突变的新抗原肽有显著的应答,而对野生型肽没有显著的应答。在所述患者中,使用具有突变的新抗原负载的DC的回忆应答测定法鉴定了CD4+T细胞应答。基于与负载突变型新抗原肽的DC的反应性,鉴定了三种CD4+T细胞应答(MKRN1S>L、CREBBPS>L和TPCN1K>E)。当用突变新抗原肽再次攻击时,这些CD4+T细胞应答也显示出多功能性特征。31.3%、34.5%和41.9%的CD4+T细胞分别显示一种,两种和/或三种功能;MKRN1S>L、CREBBPS>L和TPCN1K>E应答。

[0378] 还评估了来自所述患者的诱导的CD8+应答的细胞毒性能力。共培养后,SRSF1E>K和ARAP1Y>H反应均显示CD8+T细胞上的CD107a显著上调,以及用突变体构建体转导的肿瘤细胞上的活性胱天蛋白酶3显著上调。

[0379] 使用模拟方案,通过在患者材料中诱导多种新抗原特异性CD8+和CD4+T细胞应答,确认了预测的患者特异性新抗原以及模型新抗原具有免疫原性。诱导多功能和突变体特异性CD8+和CD4+T细胞应答的能力证明了预测高质量新抗原和产生有效T细胞应答的能力。在刺激过程结束时,存在多个富集的新抗原特异性T细胞群(记忆和从头),证明了产生新的T细胞应答并产生有效的癌症免疫疗法来治疗癌症患者的能力。

[0380] 以下提供用于T细胞培养的示例性材料:

材料:AIM V培养基(Invitrogen)人FLT3L;临床前CellGenix#1415-050储备液50ng/ μ L TNF α ;临床前CellGenix#1406-050储备液10ng/ μ L;IL-1 β ,临床前CellGenix#1411-050储备液10ng/ μ L;PGE1或Alprostadi1-Cayman(来自捷克共和国)储备液0.5 μ g/ μ L;R10培养基-RPMI 1640glutamax+10%人血清+1%PenStrep;20/80培养基-18%AIM V+72%RPMI 1640glutamax+10%人血清+1%PenStrep;IL7储备液5ng/ μ L;IL15储备液5ng/ μ L;DC培养基(Cellgenix);CD14微珠、人、Miltenyi#130-050-201、细胞因子和/或生长因子、T细胞培养基(AIM V+RPMI 1640glutamax+血清+PenStrep)、肽储备液-1mM/肽(HIV A02-5-10肽、HIV B07-5-10肽、DOM-4-8肽、PIN-6-12肽)。

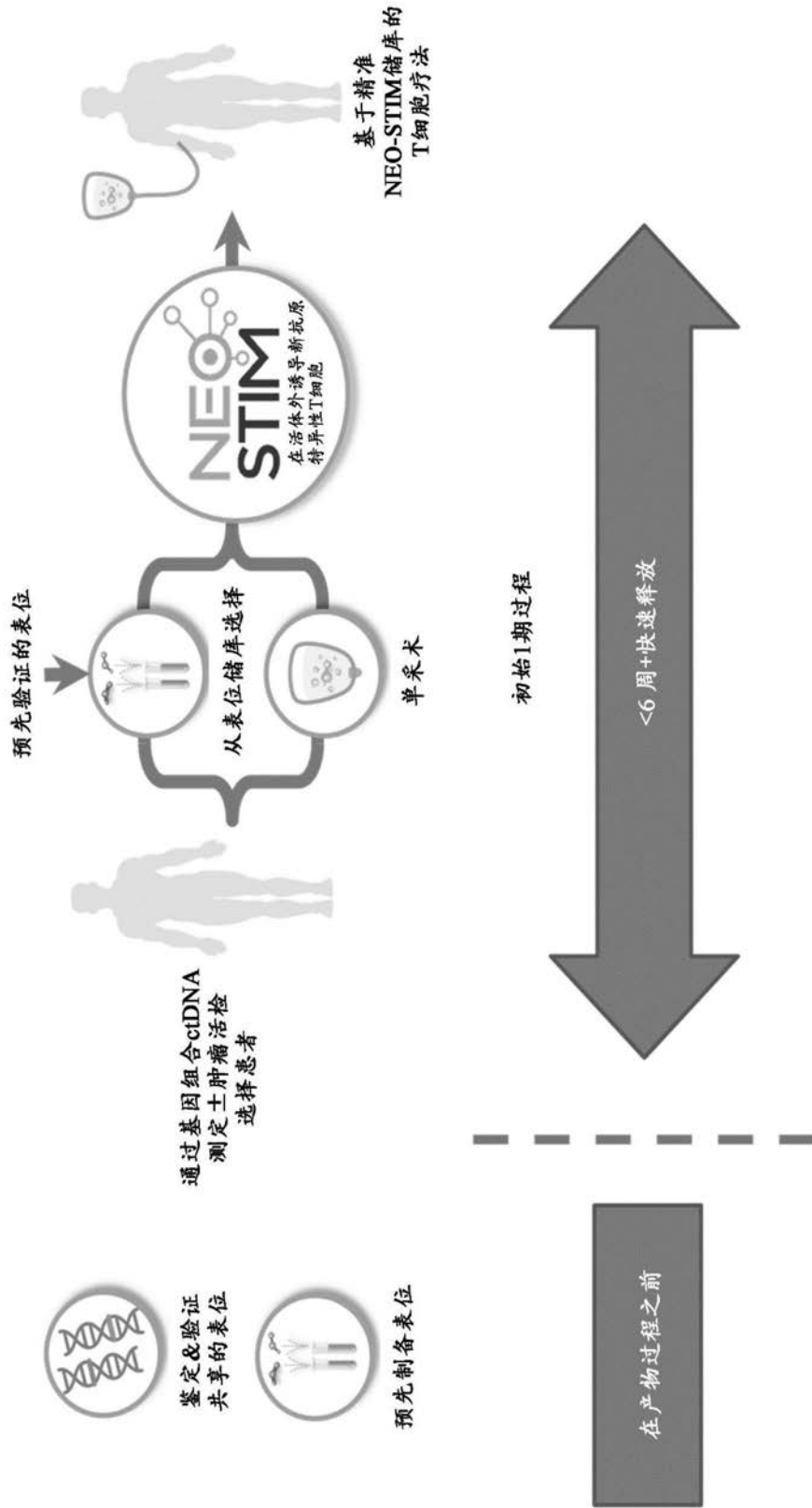


图1A

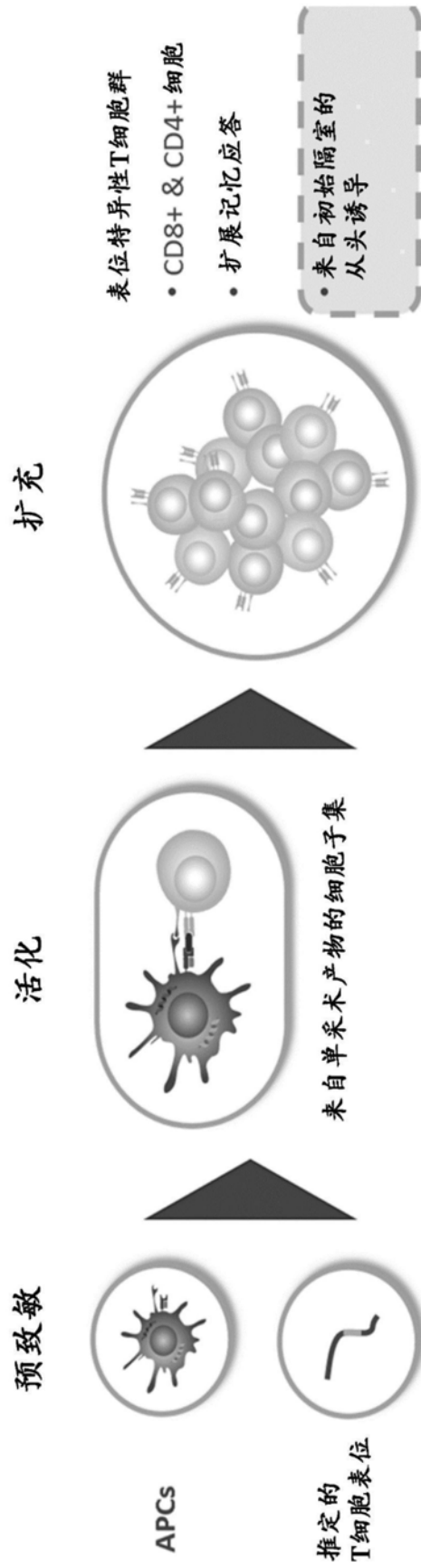


图1B

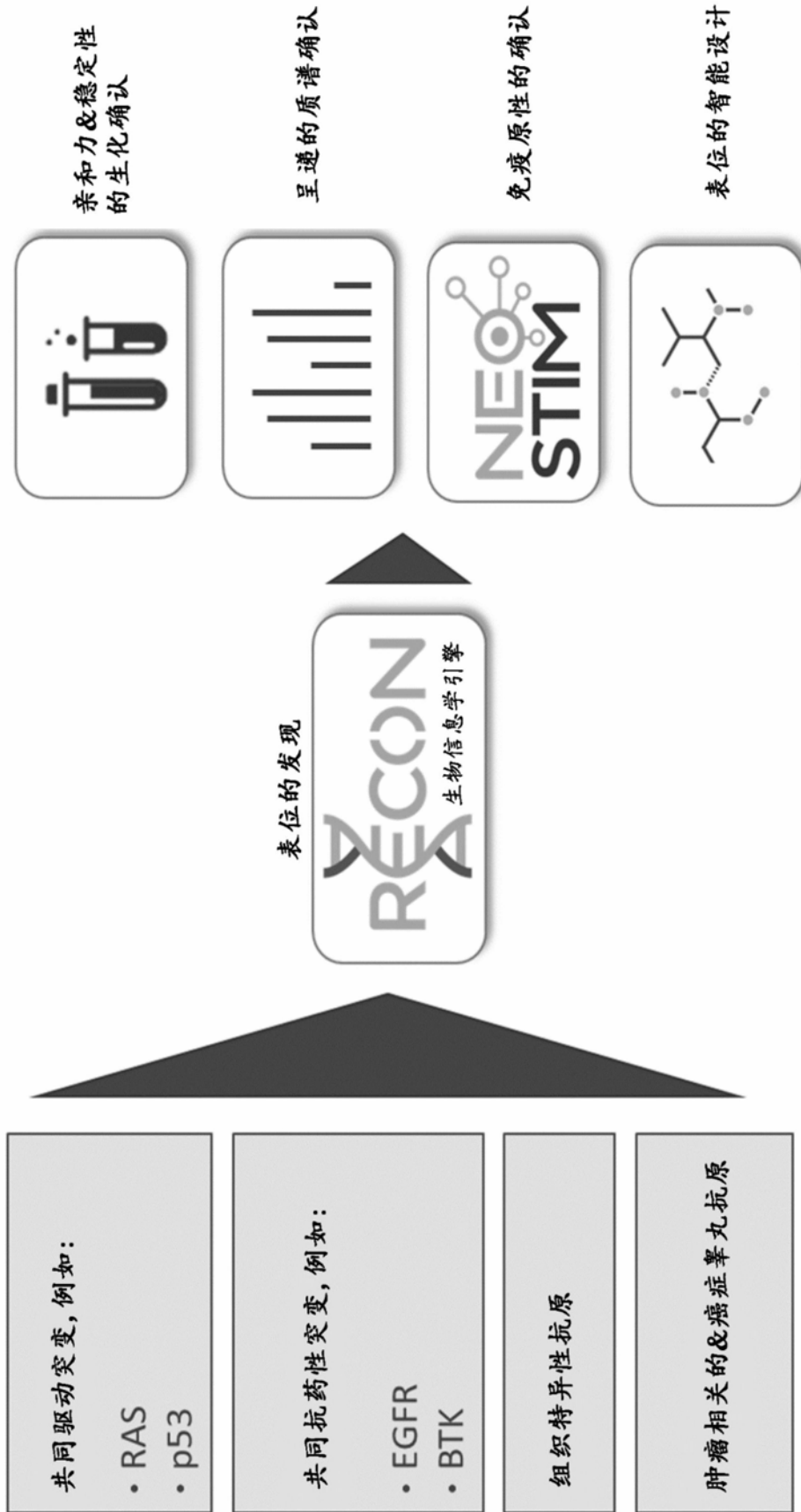


图2

表位	等位基因	RECON %评级	US群频率	验证为被呈递?
(v)vvaDgvgk	A03:01	0.25, 1	21.8%	✓
	A11:01	0.17, 0.2	11.2%	✓
	A68:01	0.3	5.9%	✓
	A30:01	0.5	4.5%	
gaDgvgksa(I)	C05:01	0.12	13.6%	
	C03:03	0.5	8.8%	
	C08:02	0.04, 0.8	7.5%	✓
Dgvgksal	B35:03	0.8	2.8%	
	C08:01	0.6, 0.9	2.1%	
aDgvgksal	B08:01	0.3	17.6%	
	B14:02	0.2	5.8%	
gaDgvgks	C07:01	1	26.2%	
	B37:01	0.6	2.2%	
	C05:01	0.9	13.6%	

图3A

表位	等位基因	RECON %评级	US群频率	验证为被呈递?
(v)vvgaVgvGk	A03:01	0.12, 0.7	21.8%	✓
	A11:01	0.15, 0.15	11.2%	✓
	A68:01	0.25, 0.3	5.9%	✓
	A30:01	0.4	4.5%	
(g)aVgvGksal	B07:02	1	20.5%	
	C03:04	0.8, 0.8	14.7%	
	C03:03	0.7	8.8%	
	C08:02	1	7.5%	
	B35:03	1	2.8%	
	B48:01	0.7	1.1%	
	B46:01	0.7	0.8%	
	B81:01	0.5	0.6%	
klvvgaVgv	A02:01	0.5	42.7%	
	A02:07	0.9	0.6%	
lvvgaVgv	B68:02	0.4	3.6%	
	B08:01	1	17.6%	

图3B

表位	等位基因	RECON %评级	US群频率	验证为被呈递?
(v)vvgaCgvgk	A03:01	0.25, 0.8	21.8%	✓
	A11:01	0.17, 0.3	11.2%	✓
	A68:01	0.4, 0.8	5.9%	✓
	A30:01	1	4.5%	

图3C

表位	等位基因	RECON %评级	US群频率	验证为被呈递?
(v)vvgaRgvgk	A03:01	0.13, 1	21.8%	✓
	A11:01	0.25, 0.4	11.2%	✓
	A68:01	0.4, 0.9	5.9%	✓
	A30:01	0.8	4.5%	✓
(a)Rgvgksal	B14:02	0.9	5.8%	
	B27:05	0.6	4.9%	
	B38:01	0.9	3.5%	
	B39:01	0.4	1.8%	
	C07:01	0.4, 0.7	26.2%	
	C07:02	0.3	24.7%	
gaRgvgksa	B55:01	0.6	2.7%	
	B46:01	0.5	0.8%	
eyklvvvgaR	A33:03	0.17	3.1%	

图3D

		pMHC亲和力 (nM)	pMHC稳定性 (hr)	质谱pMHC
RAS G12C	A03:01	4.1	5.0	YES
		314.9	2.3	YES
		44.2	6.7	YES
RAS G12D	A11:01	69.3	15.7	YES
		33.1	13.0	YES
		26.1	24.3	YES
RAS G12V	A11:01	69.3	15.7	YES
		33.1	13.0	YES
		26.1	24.3	YES

图4A

293T

A*03:01 G12V

内源性等位基因	-	内源性突变	-
---------	---	-------	---

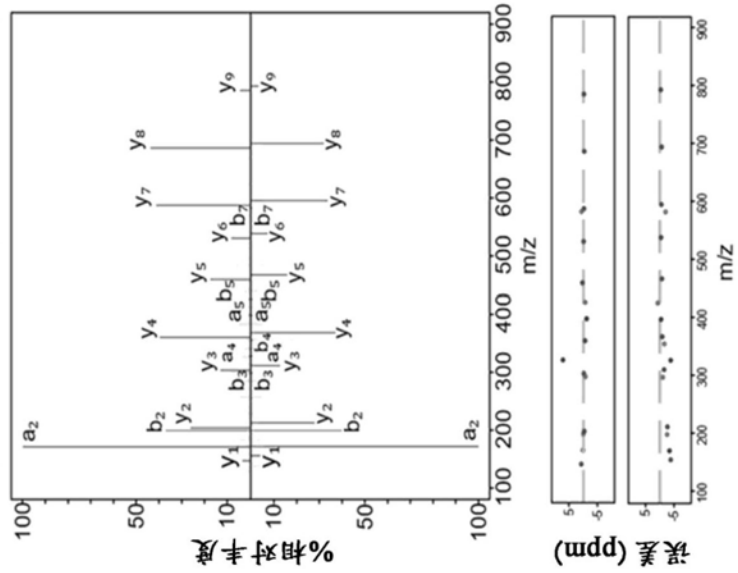


图4B

SW620

A*03:01 G12V

内源性等位基因	-	内源性突变	✓
---------	---	-------	---

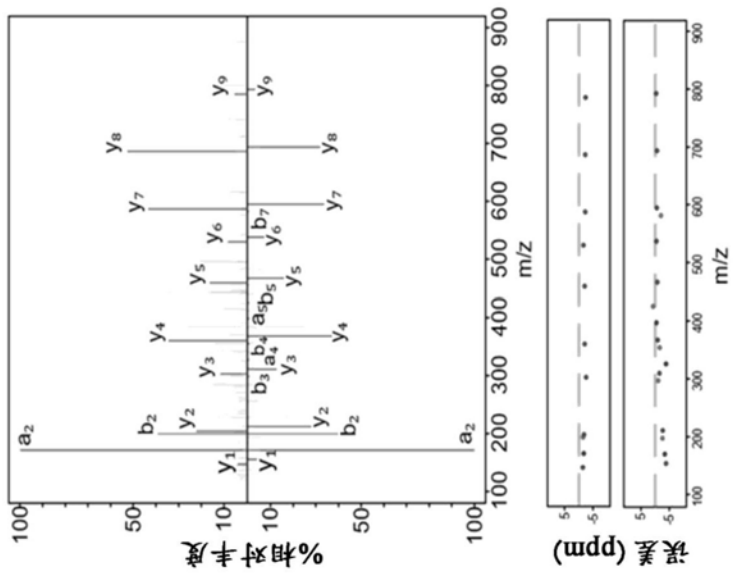


图4C

NCI-H441

A*03:01 G12V

内源性等位基因	内源性突变
✓	✓

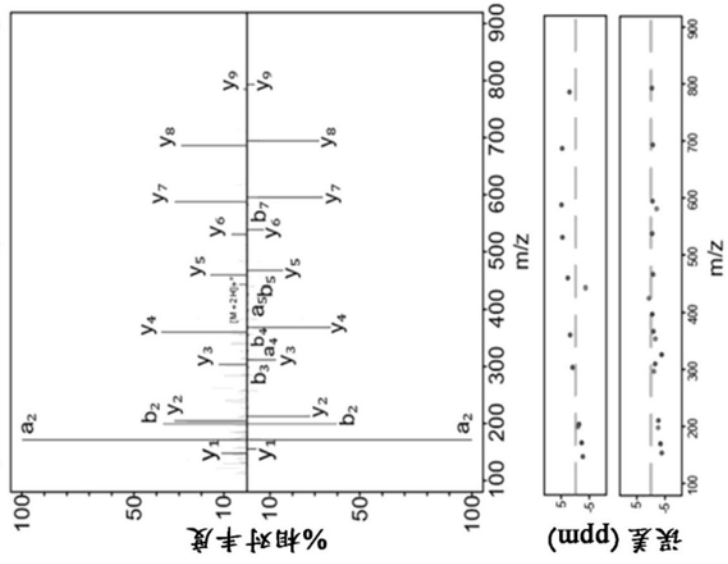


图4D

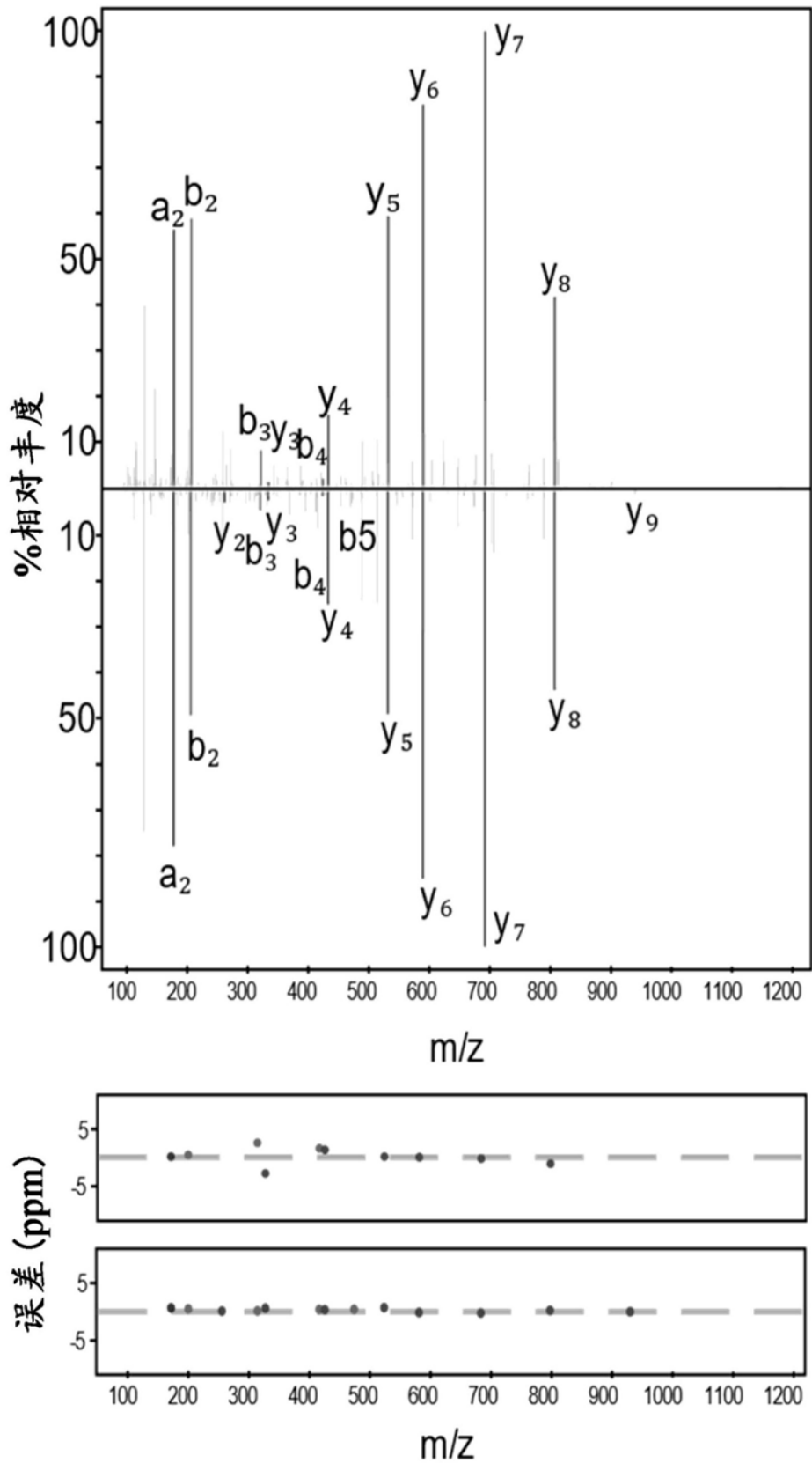


图4E

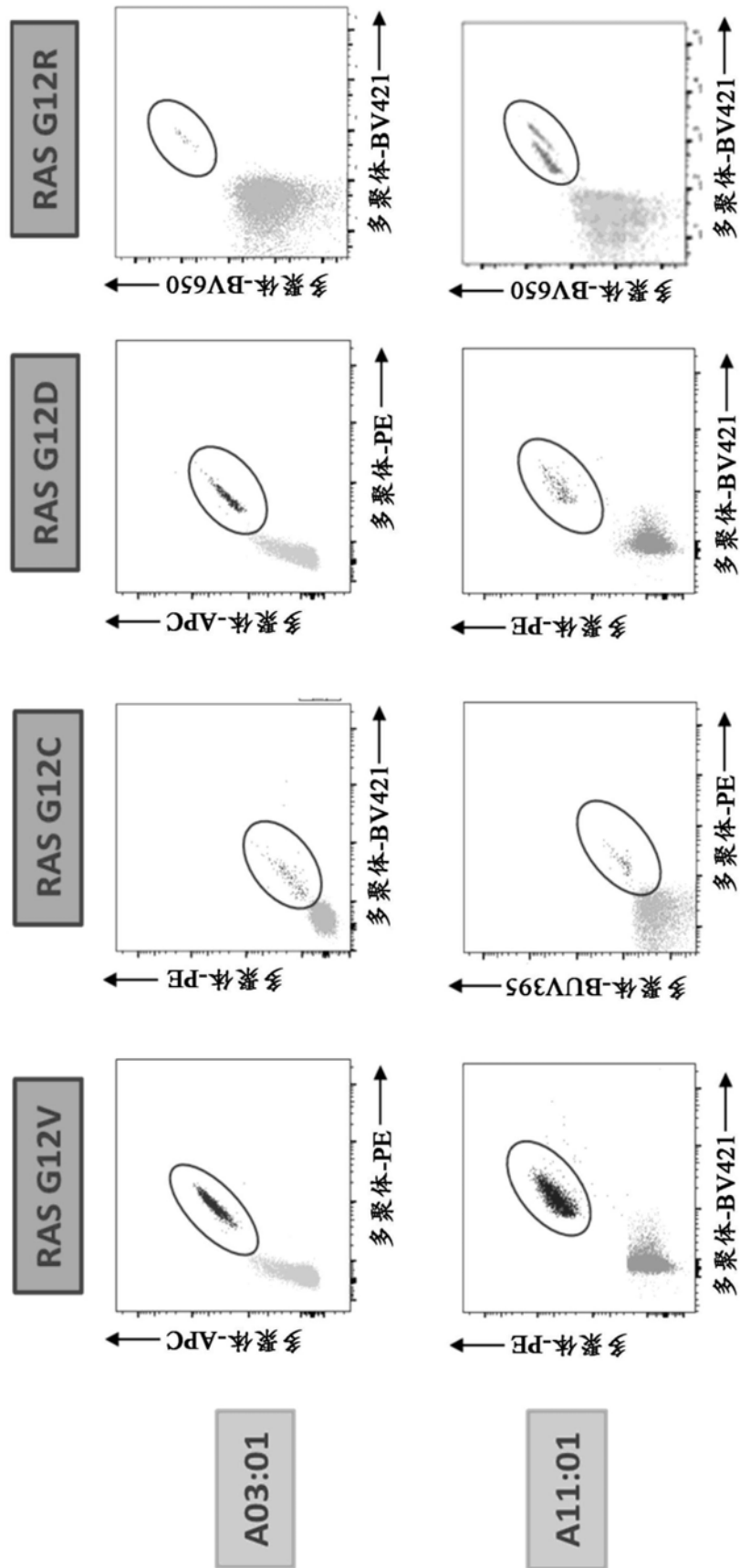


图5

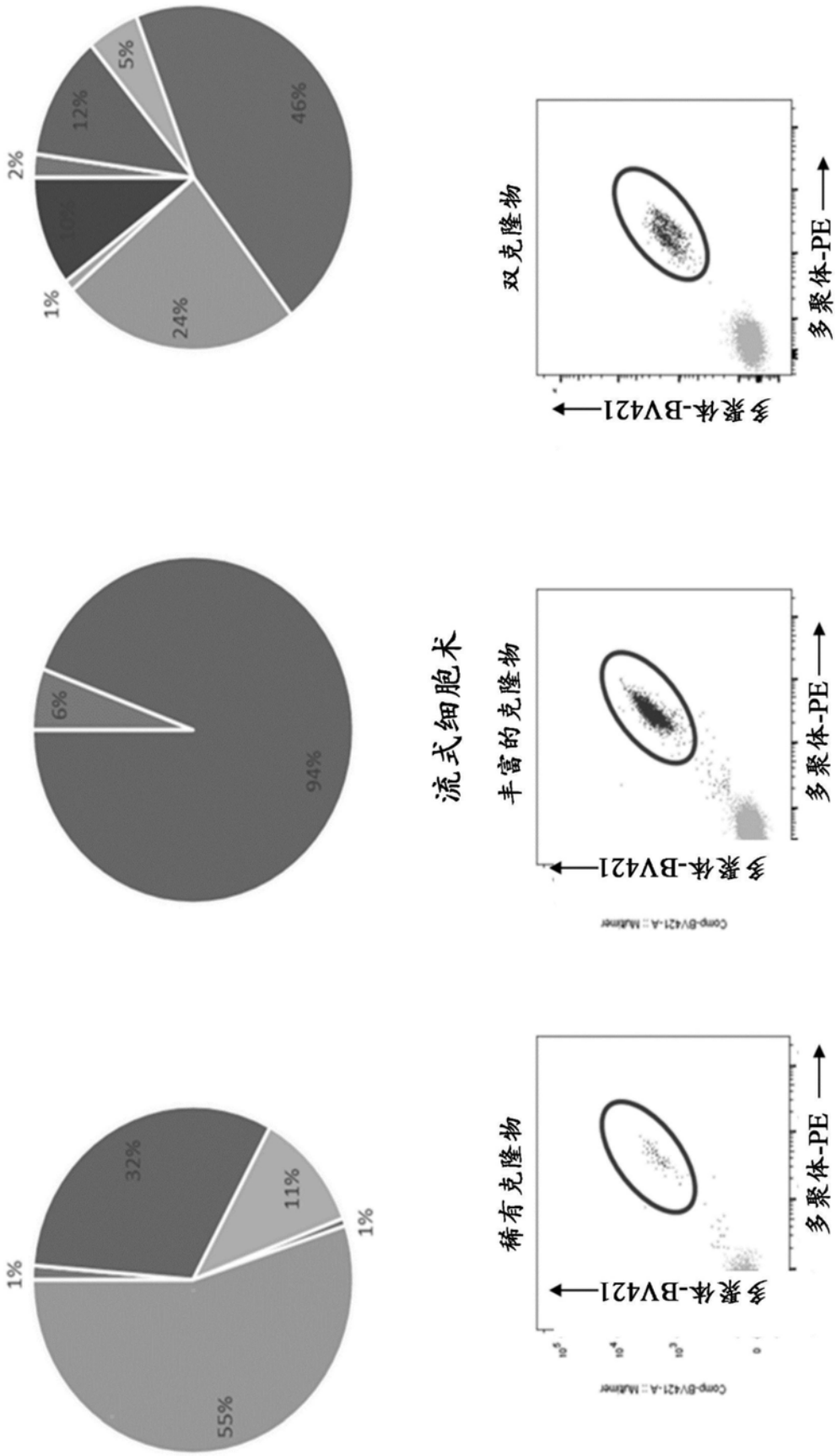


图6

靶细胞:HLA-11:01-A375-GFP 细胞+肽
E特异性T细胞:T=0.05:1

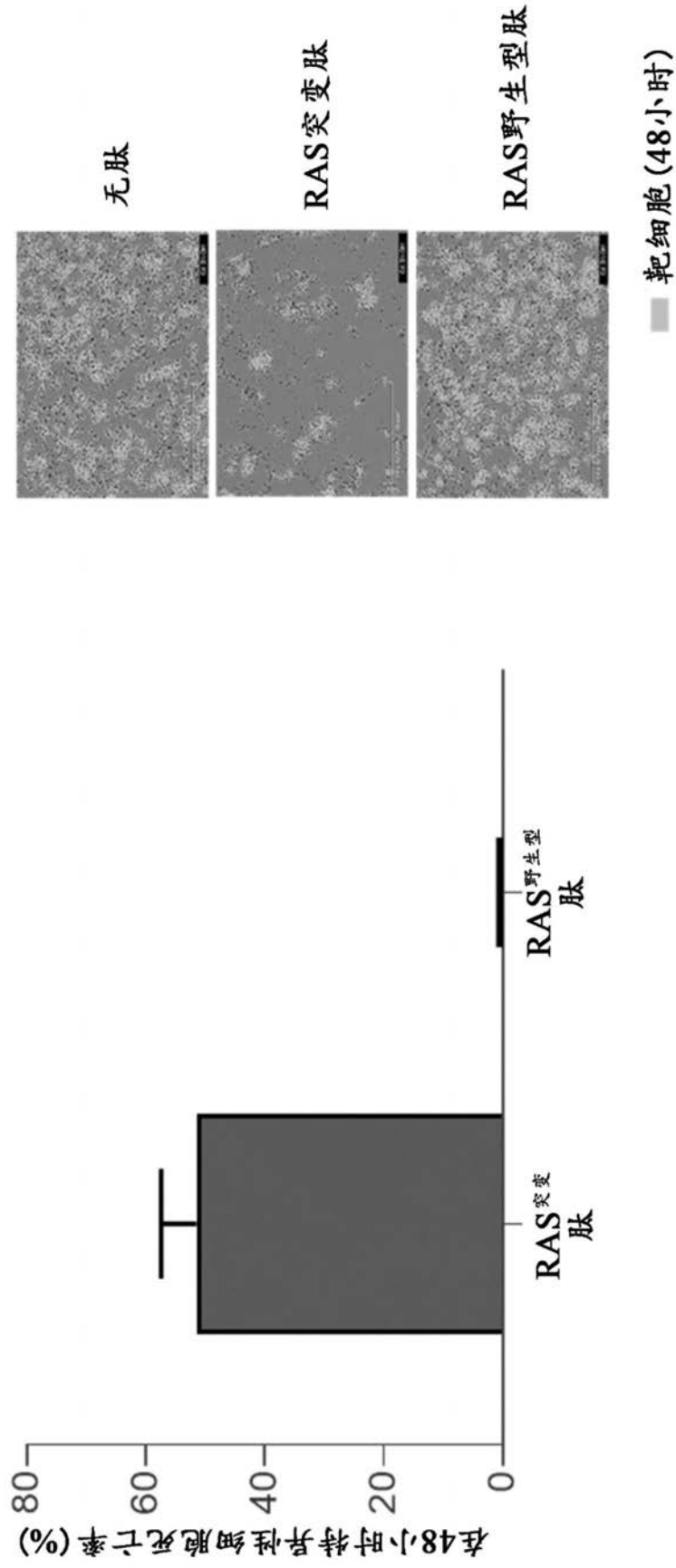


图7

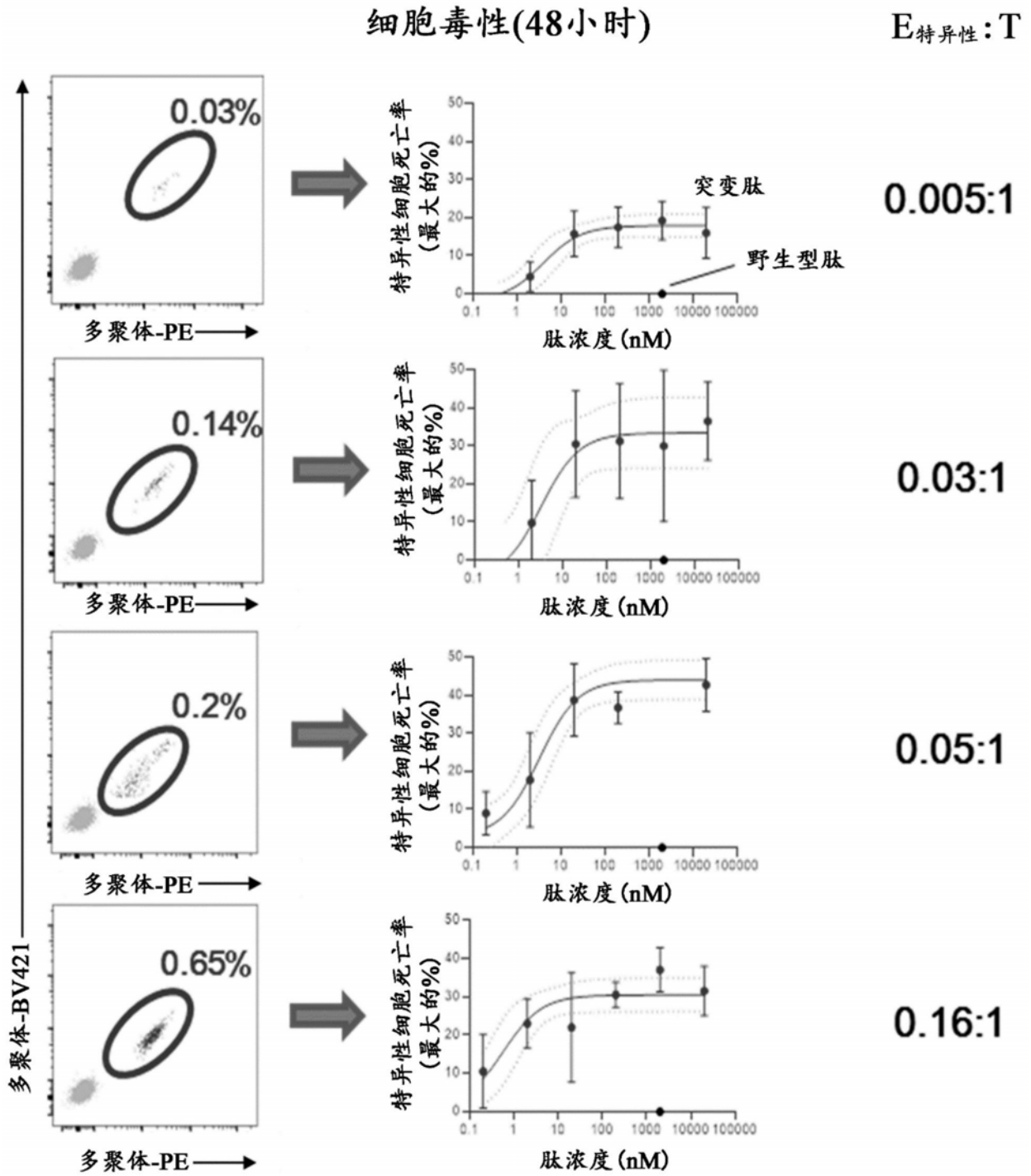
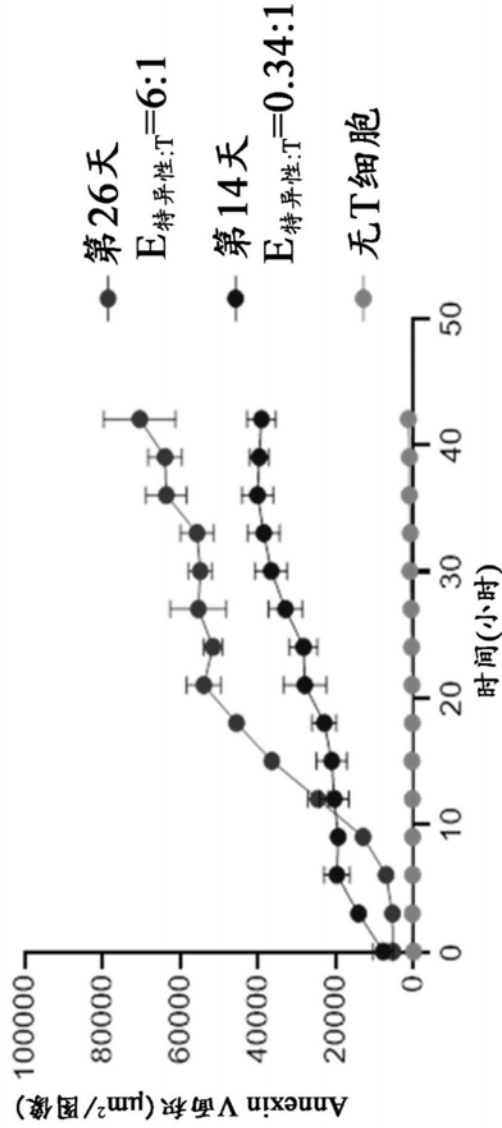
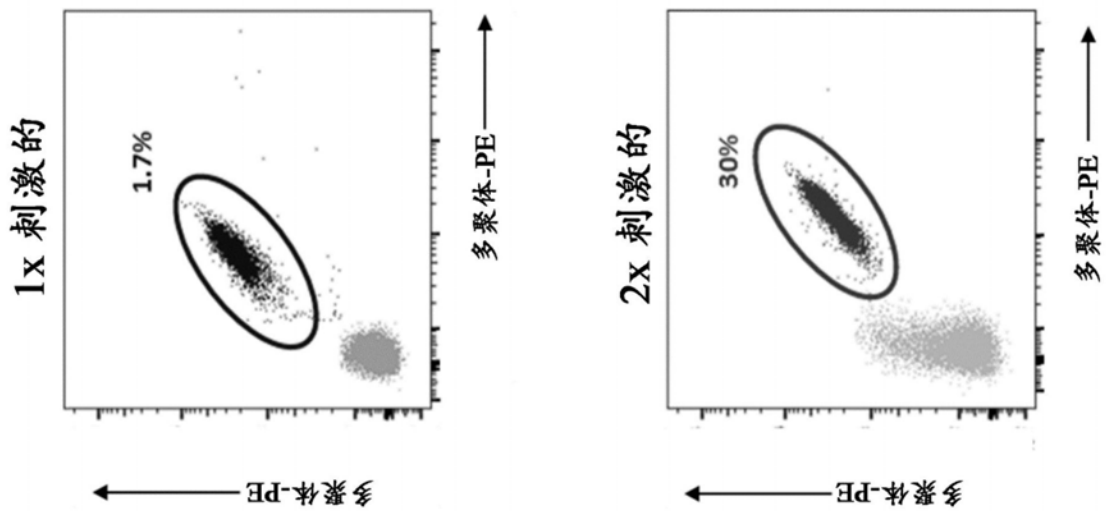


图8



靶细胞: 具有转导的HLA-A11:01的SW620 (天然RAS G12V)

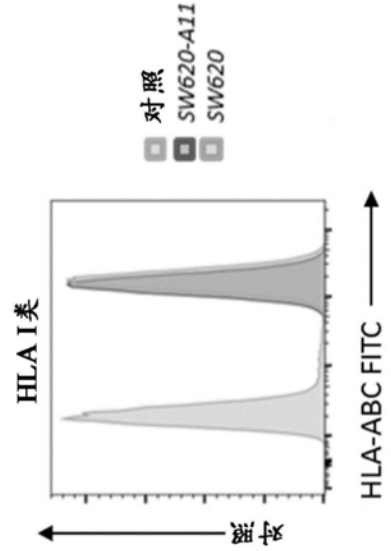


图9

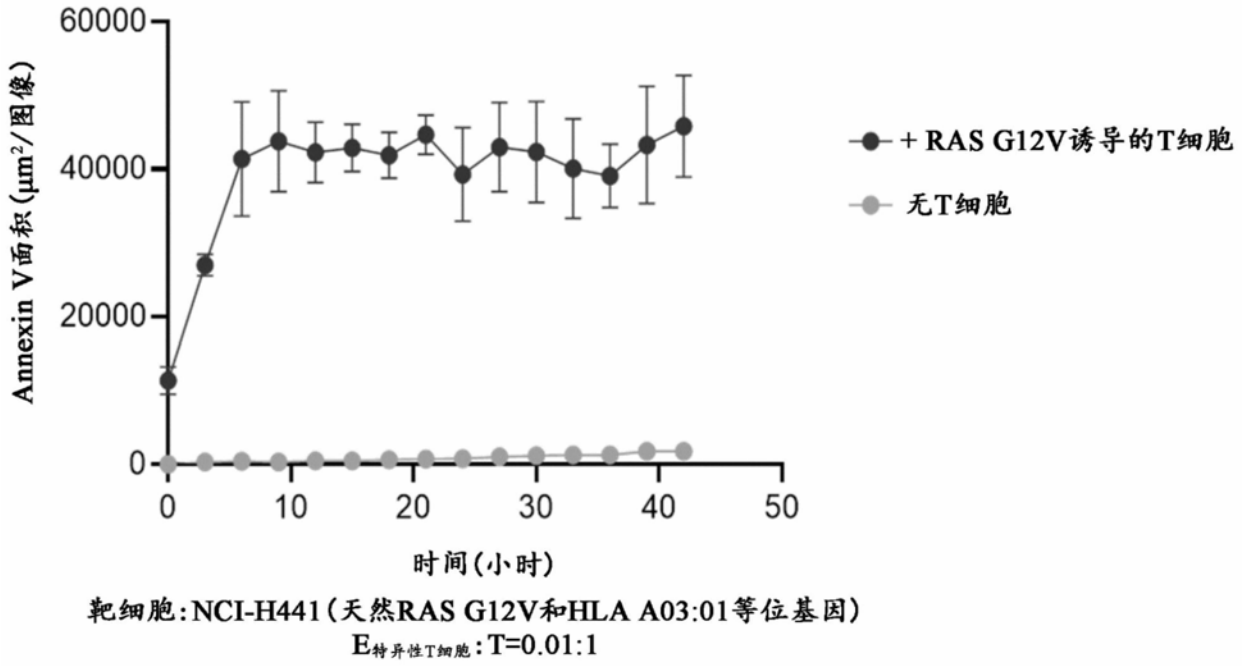


图10

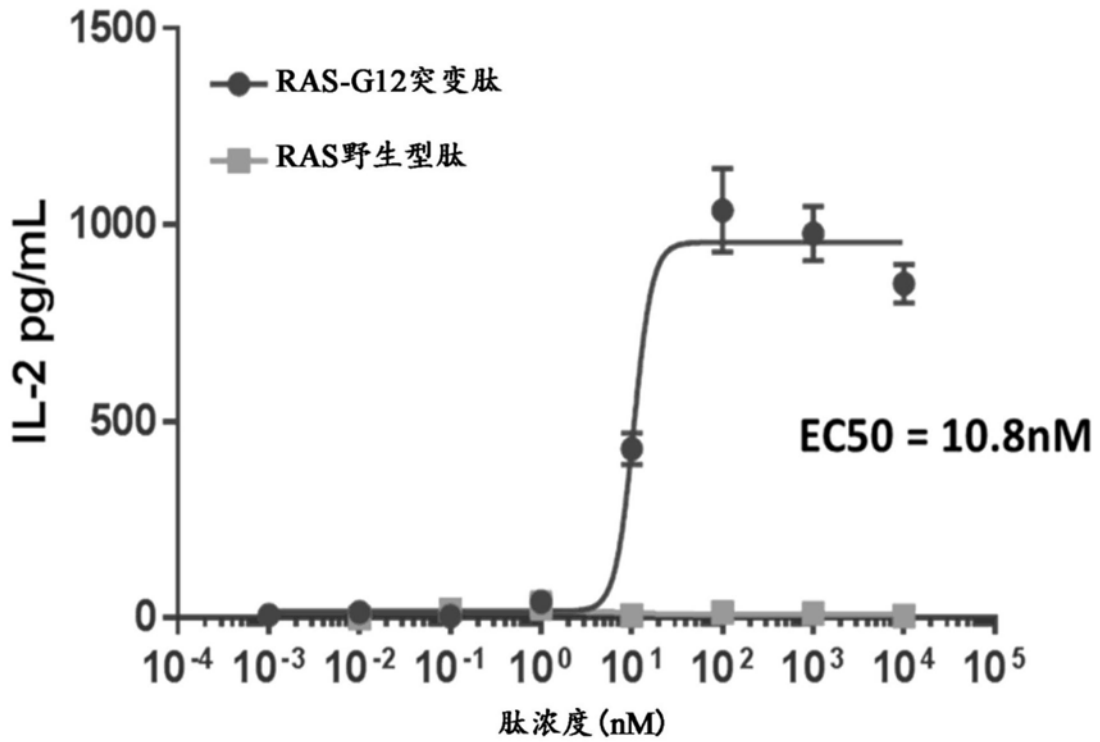


图11A

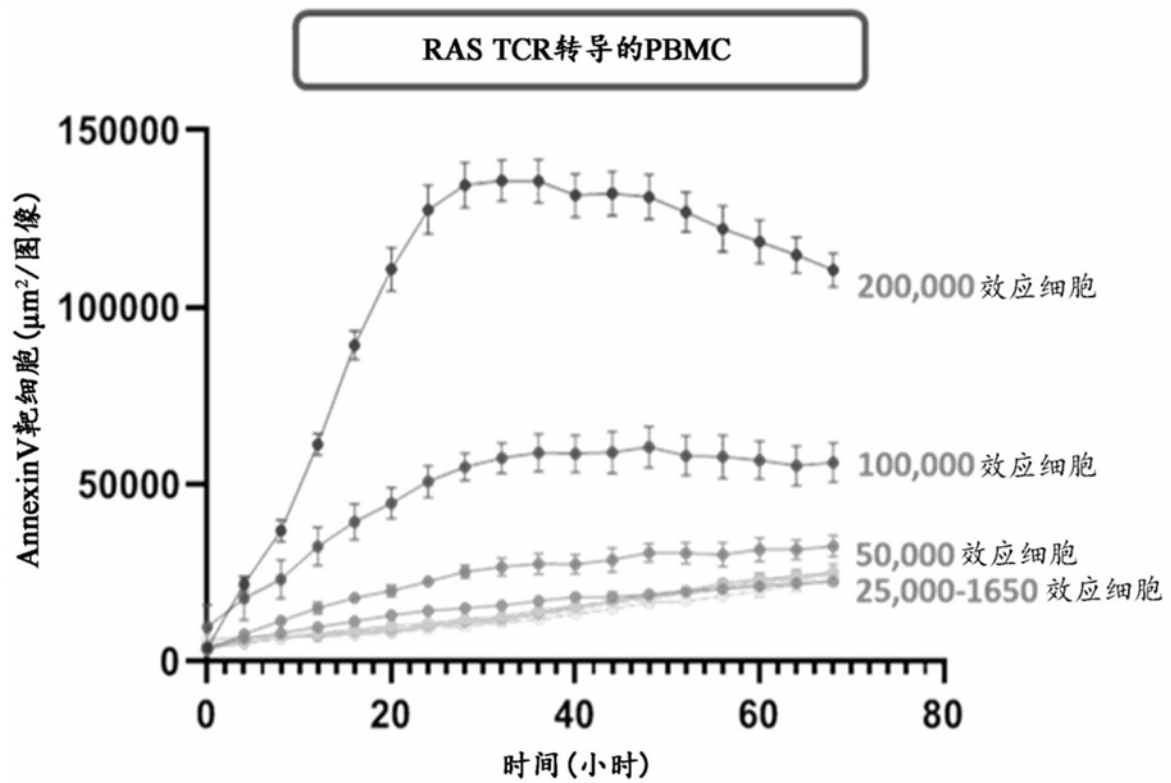
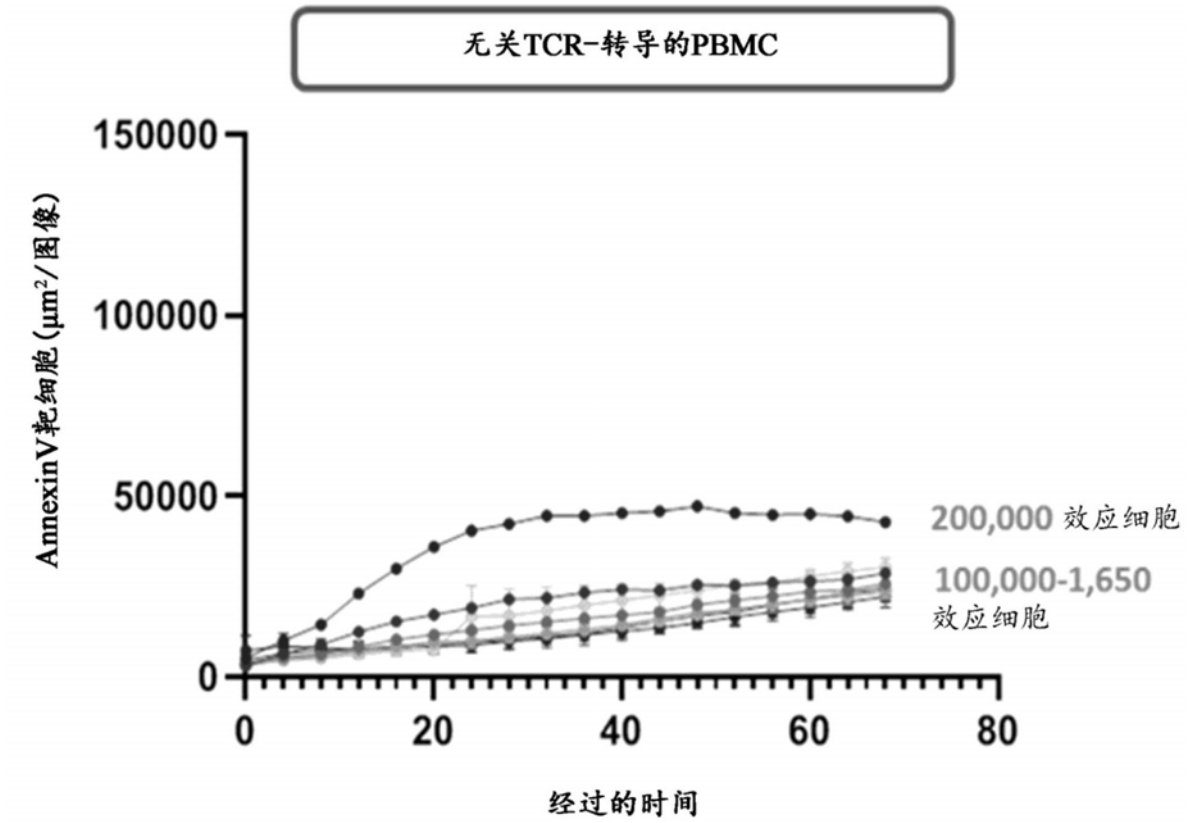


图11B

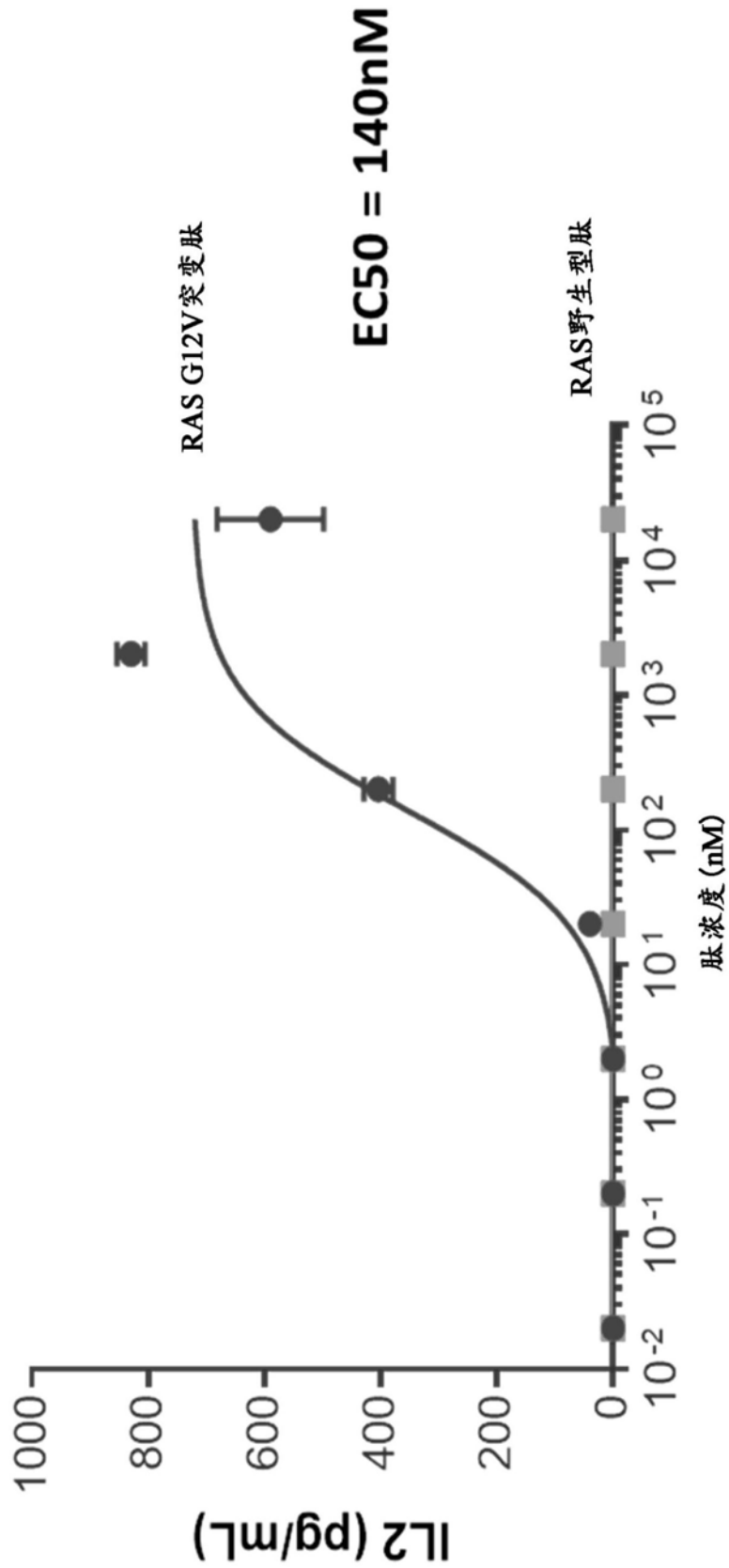


图11C

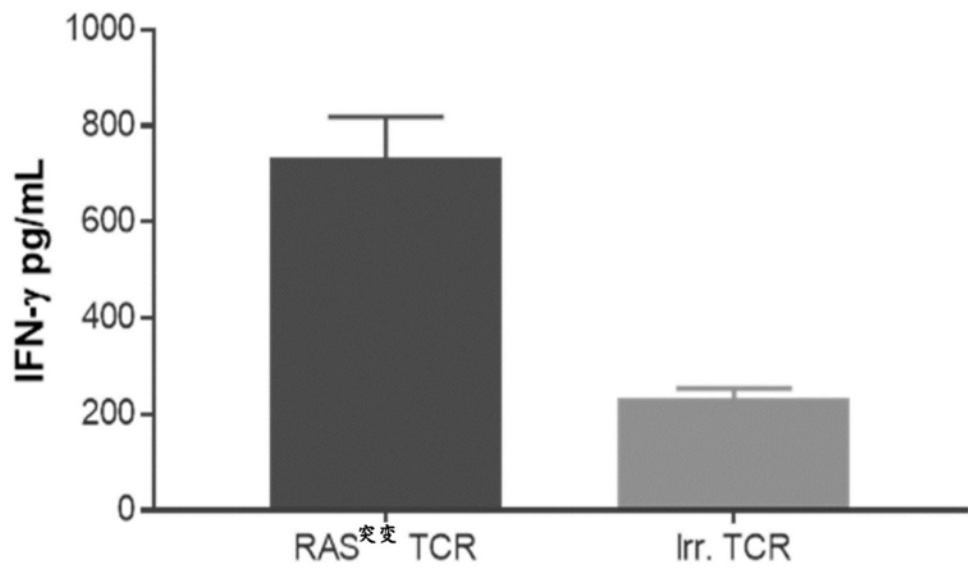
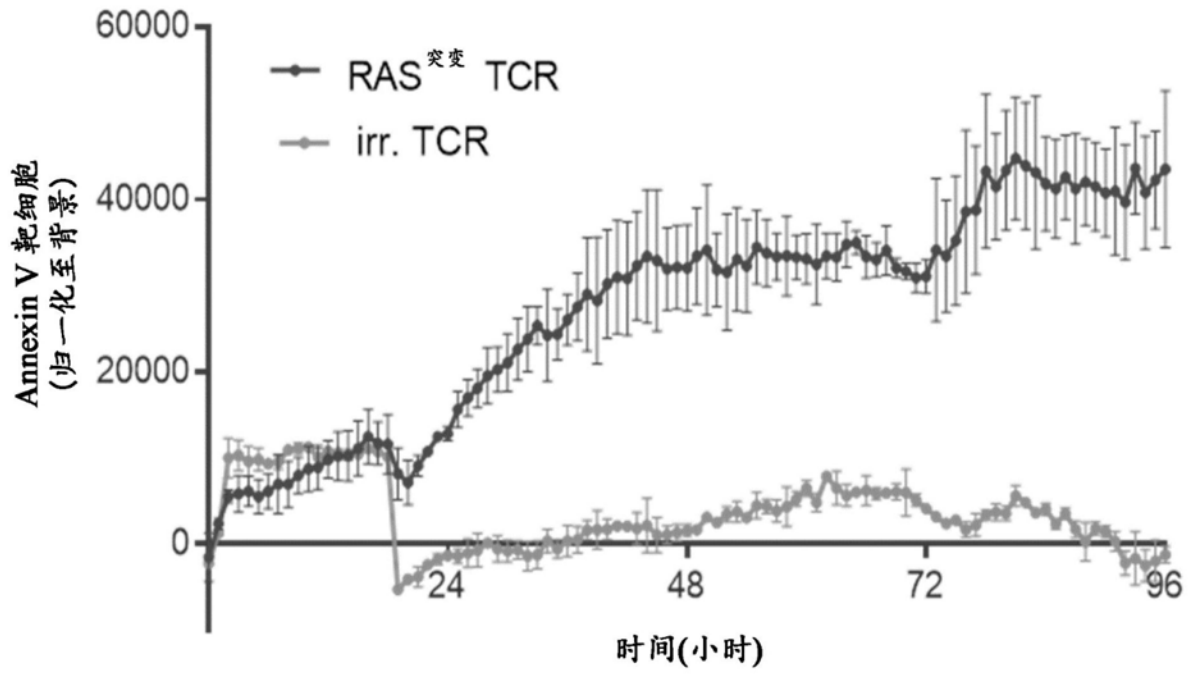


图11D

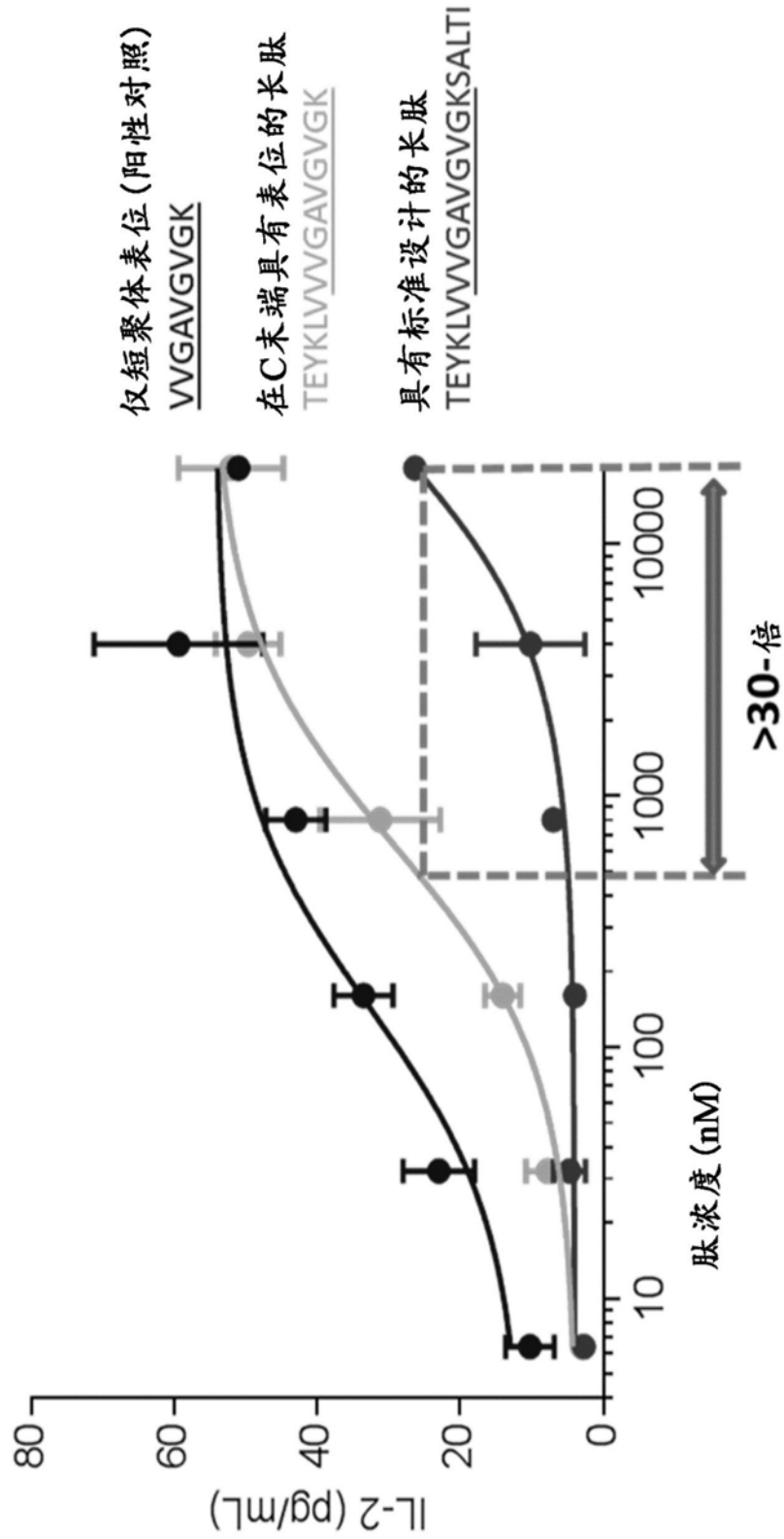


图12A

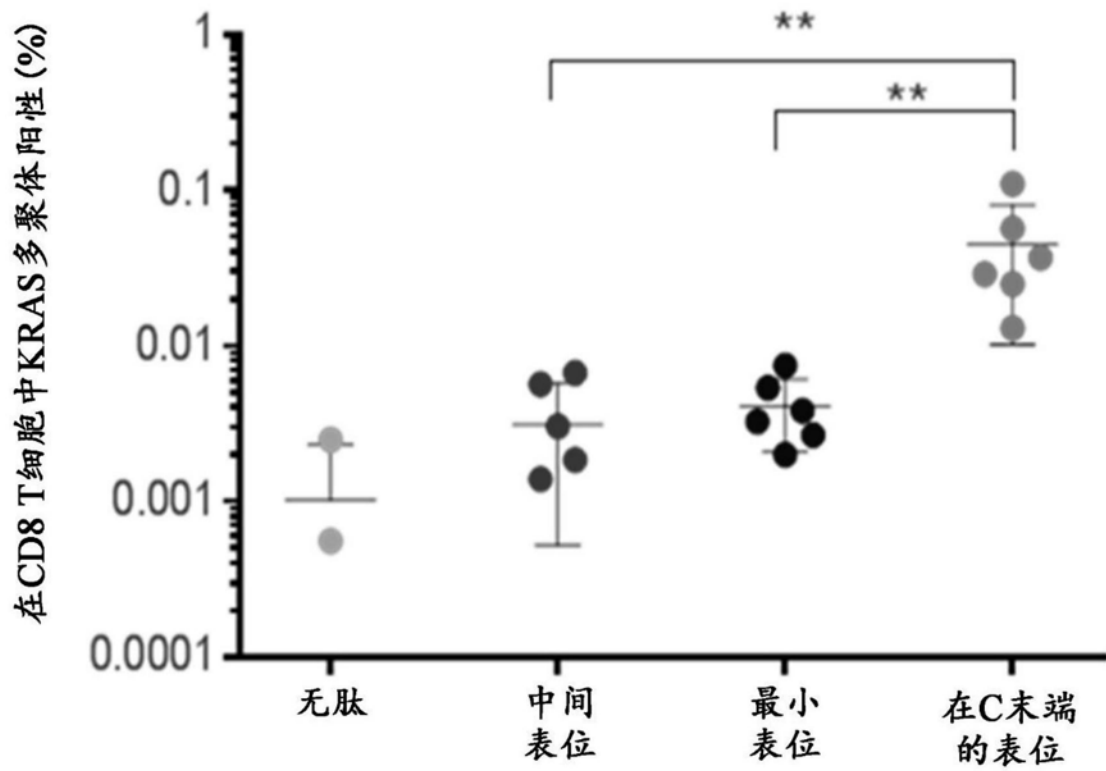
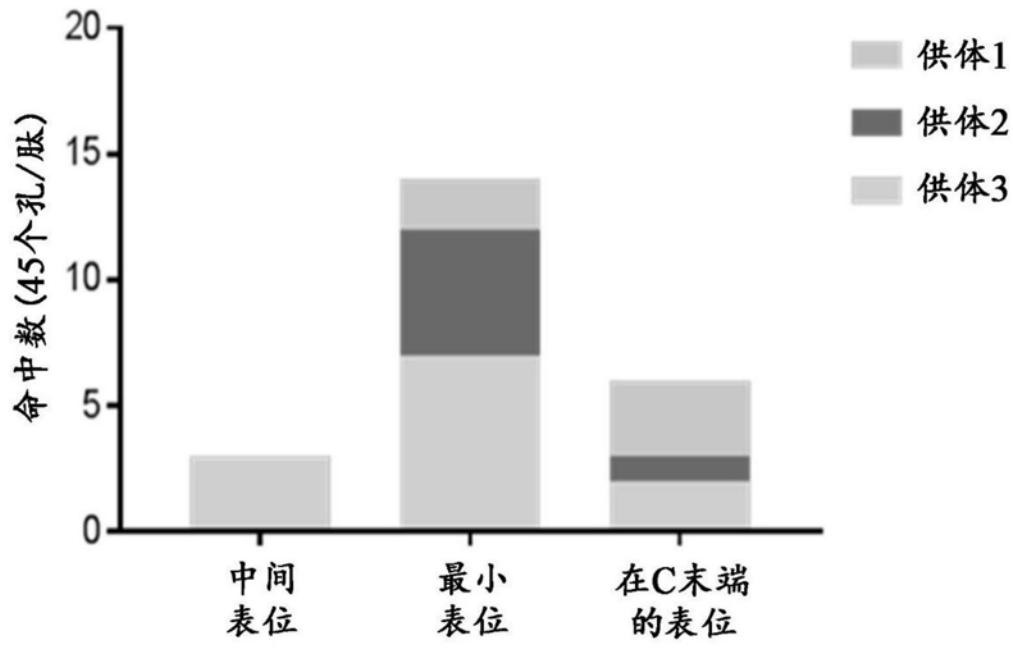
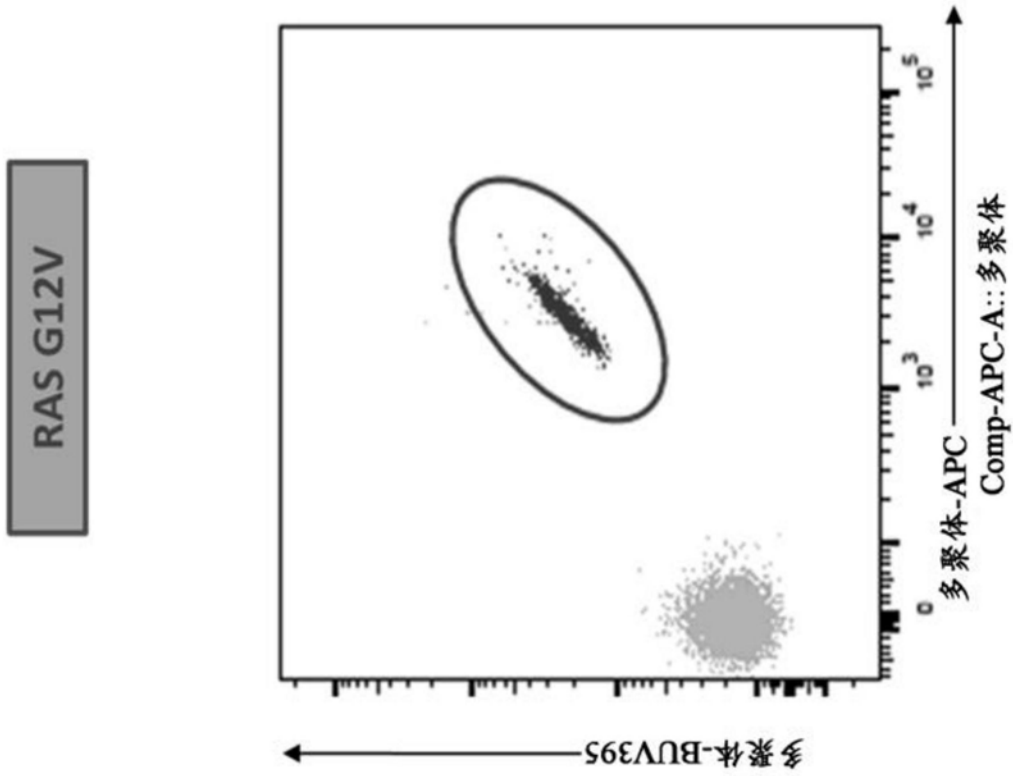


图12B



A02:01

图13

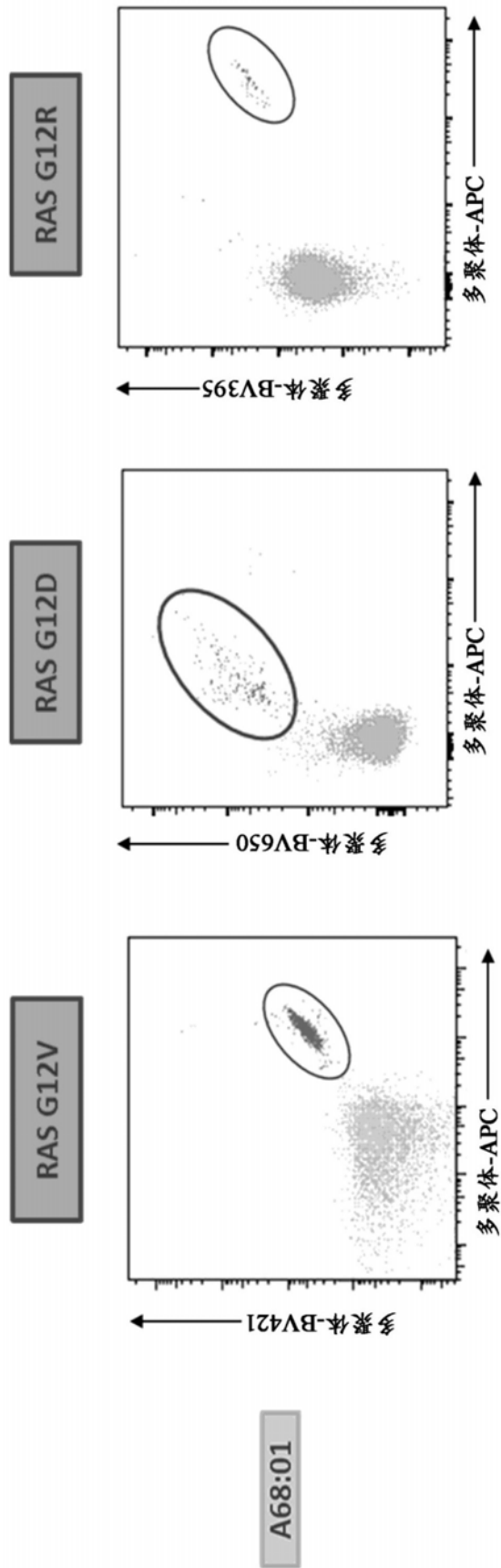


图14

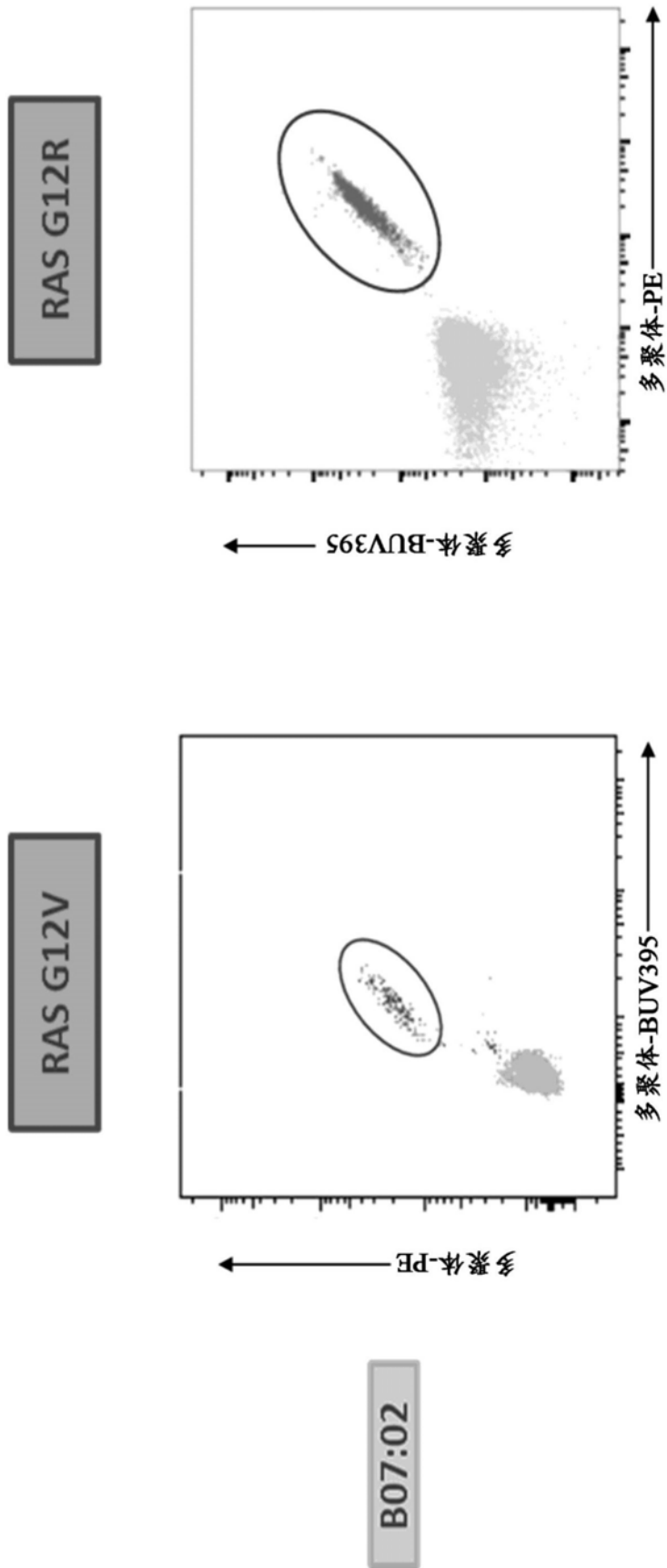


图15

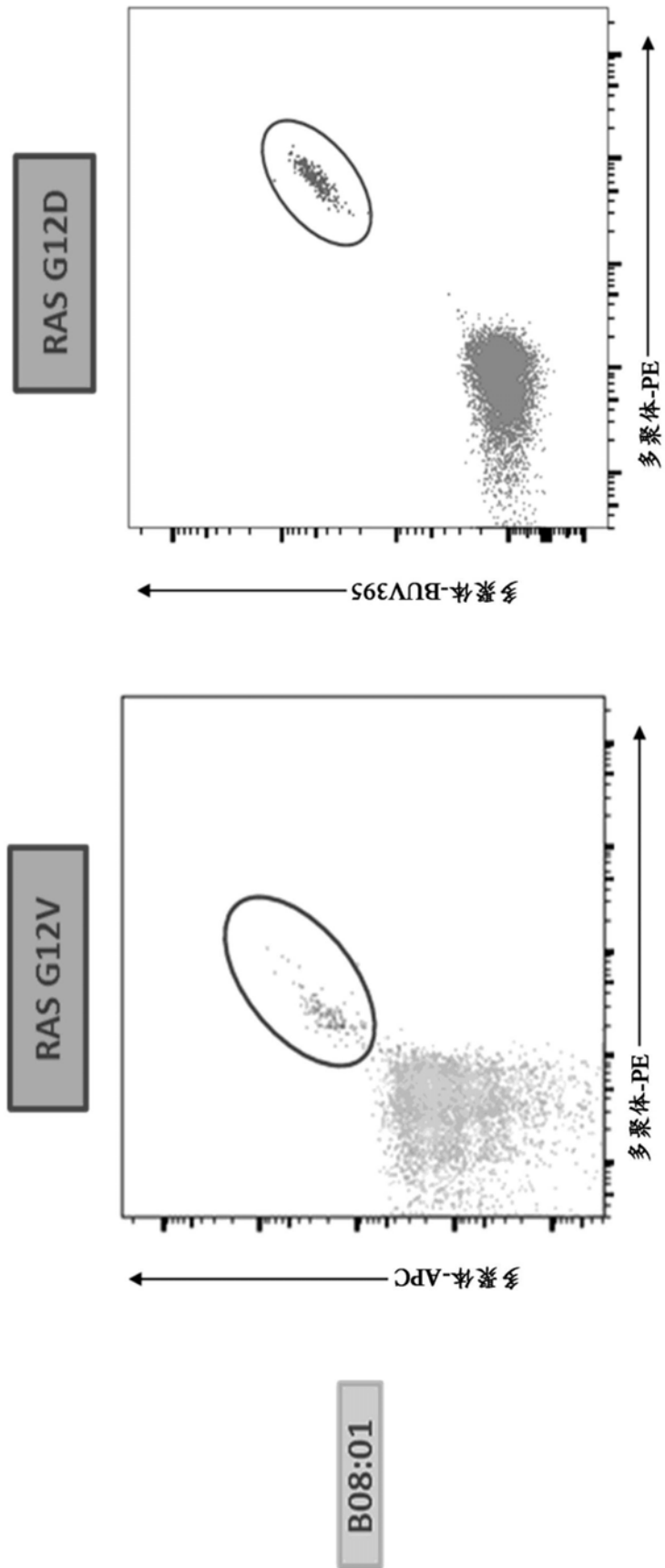


图16

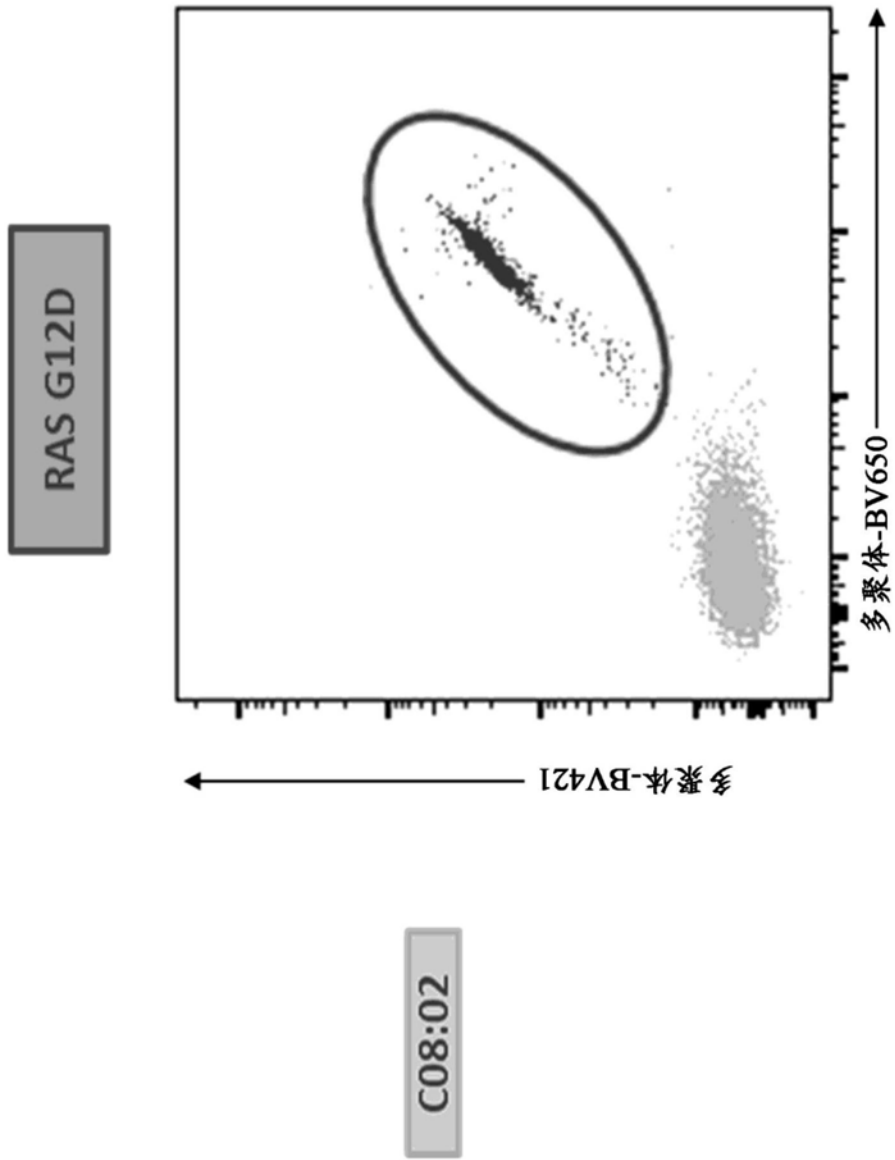


图17

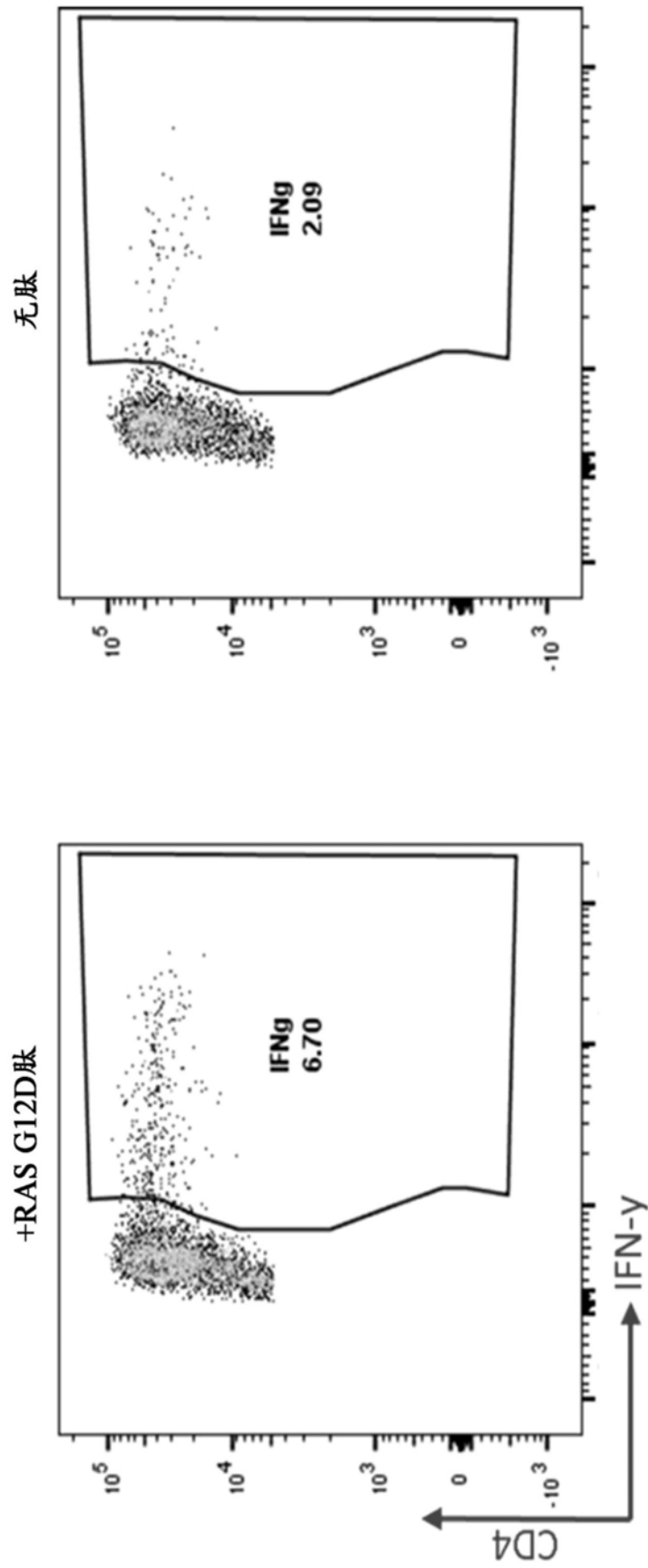


图18

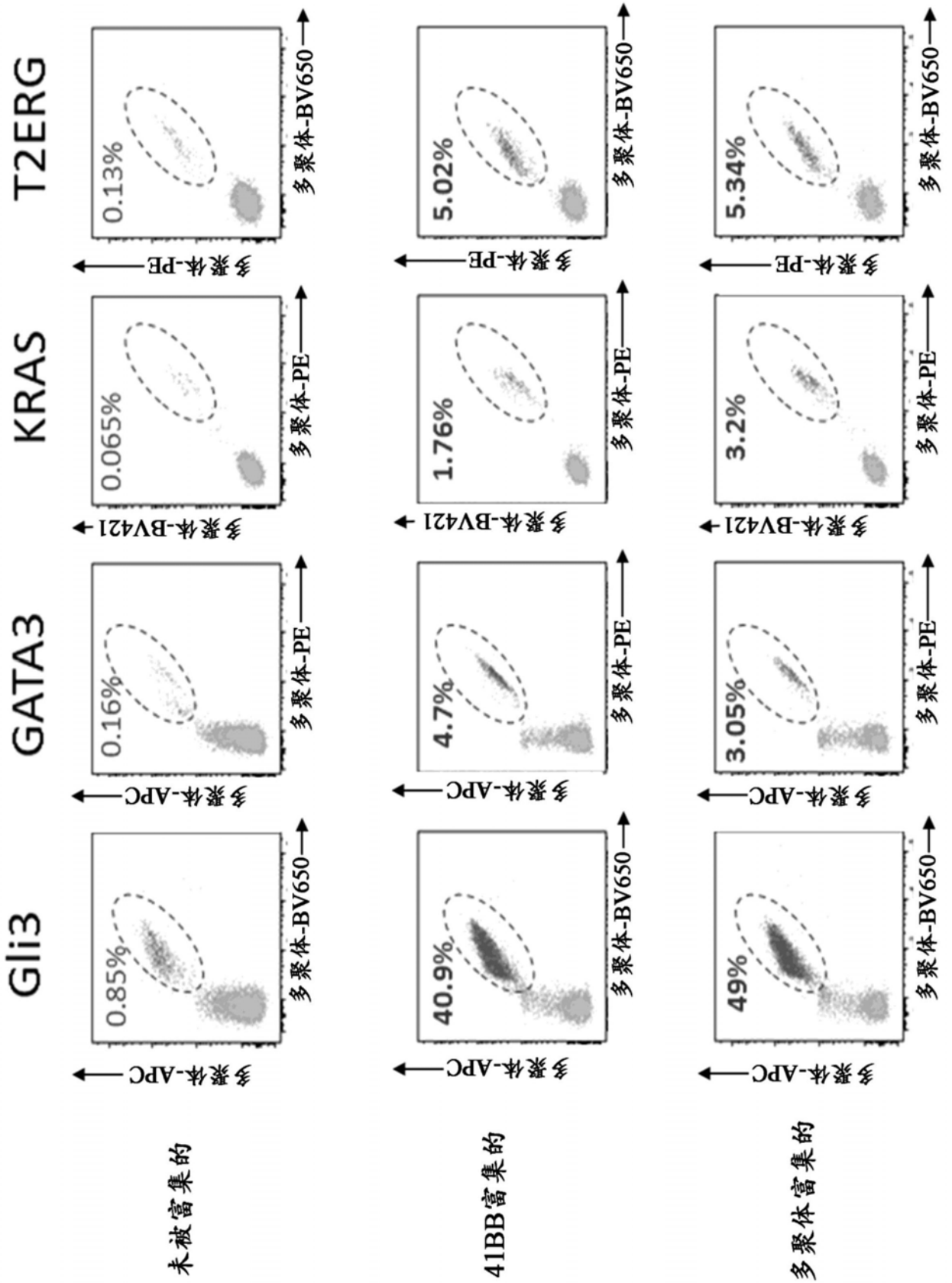


图19A

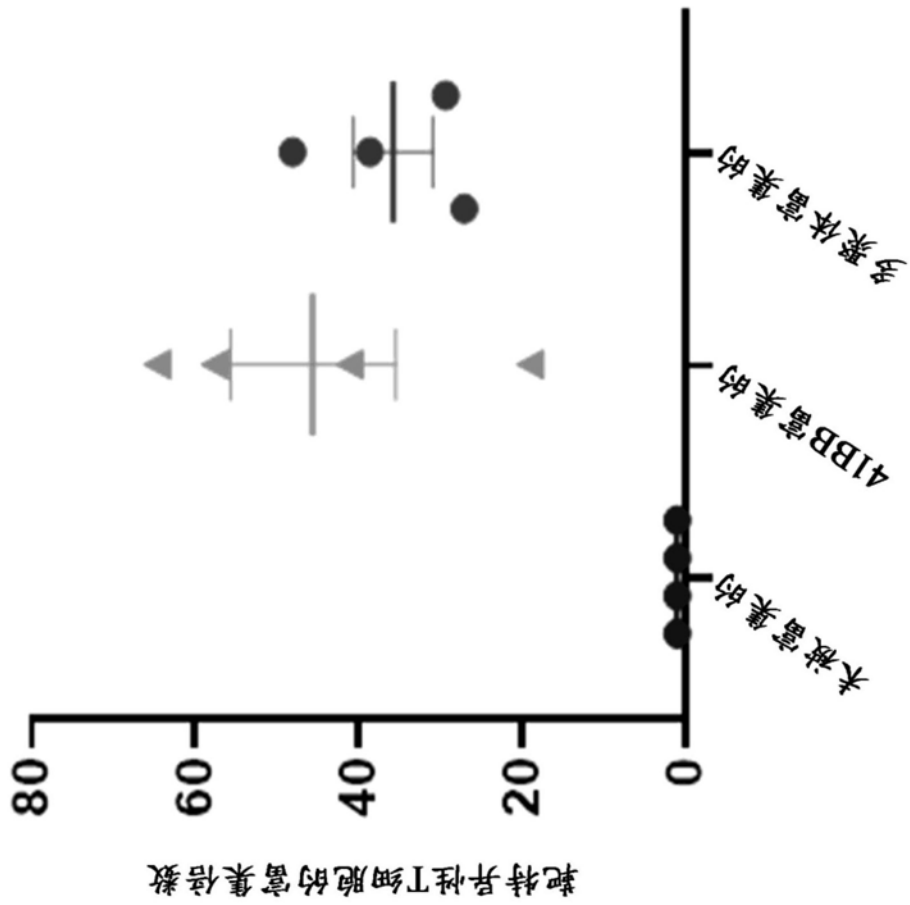


图19B

等位基因	新表位	观测的MHC亲和力 (nM)	观测的MHC稳定性 (小时)	通过MS检测到 ?
A*02:01	MLTGPPARV	11	5.8	✓
	SMLTGPPARV	14	21.7	✓
	TLQRSSLWCL	118	0.5	-
	YMFLKAESKI	141	0.6	-
A*03:01	KIMFATLQR	3	5.6	✓
	YMFLKAESK	80	0.3	-
A*11:01	KIMFATLQR	23	8.9	✓
B*07:02	FATLQRSSL	14	0.7	-
	KPKRDGYMF	28	8.6	✓
	KPKRDGYMFL	98	3.3	✓
	GPPARVPAV	221	1.6	-
	MFATLQRSSL	267	0	-
B*08:01	ESKIMFATL	18	1.3	✓
	FLKAESKIM	22	1.2	-
	FATLQRSSL	27	0	-
	YMFLKAESKI	32	0.4	-
	IMKPKRDGYM	33	0.4	-
	MFATLQRSSL	53	0	-
	FLKAESKIMF	82	0	-
	LHFCRSSIM	119	0	-

图20

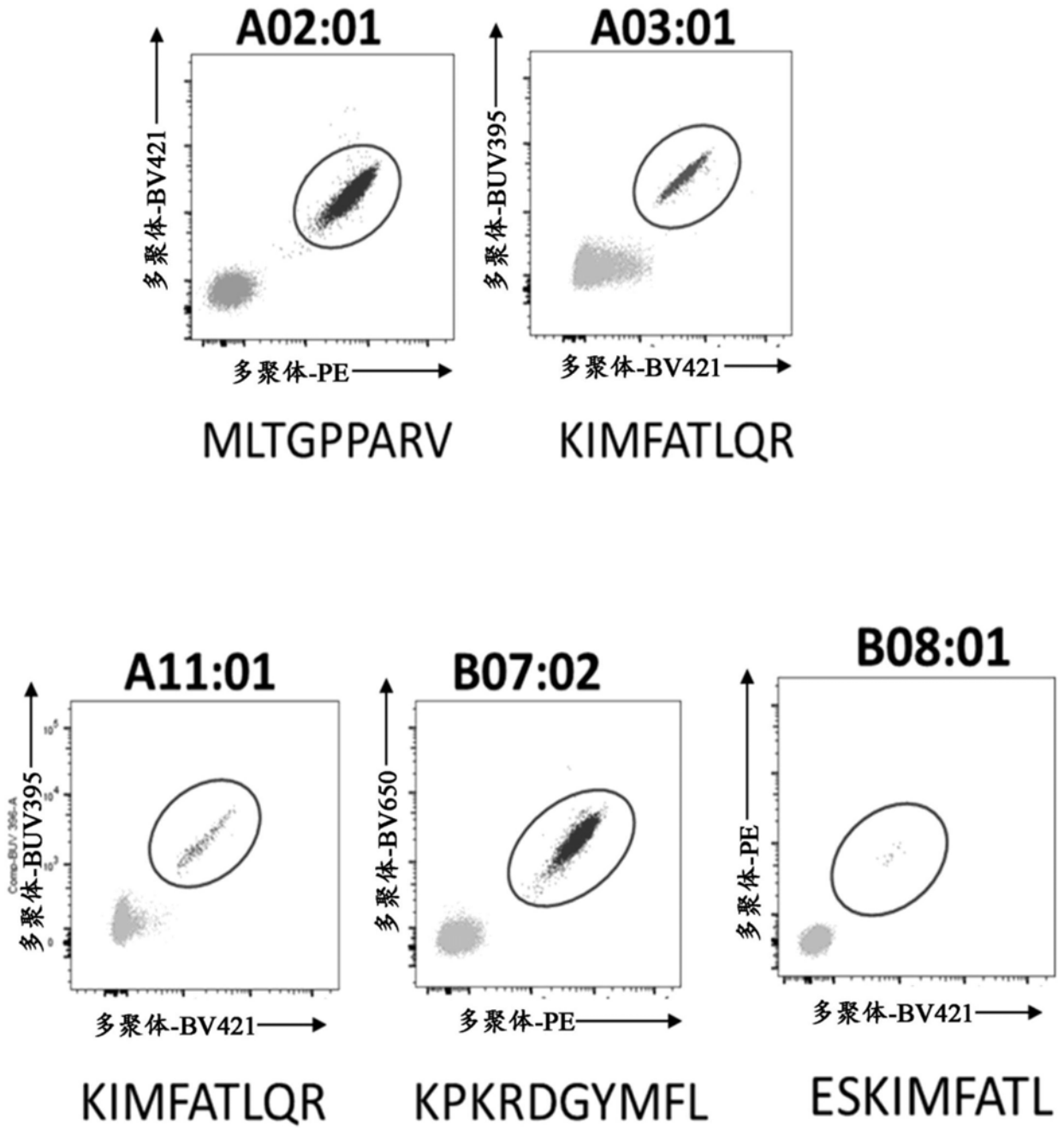
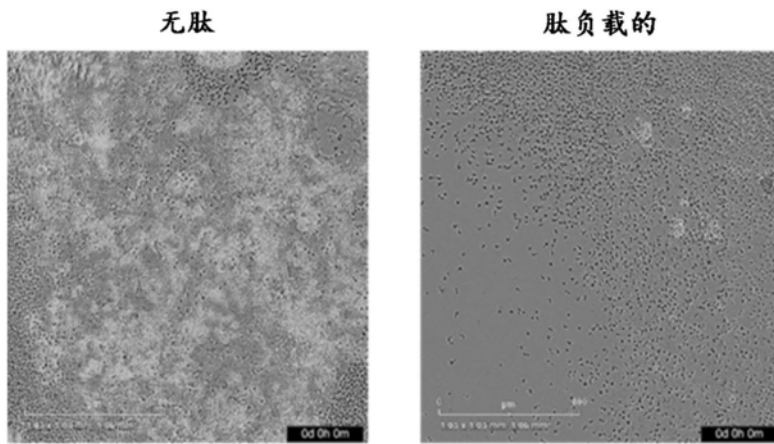
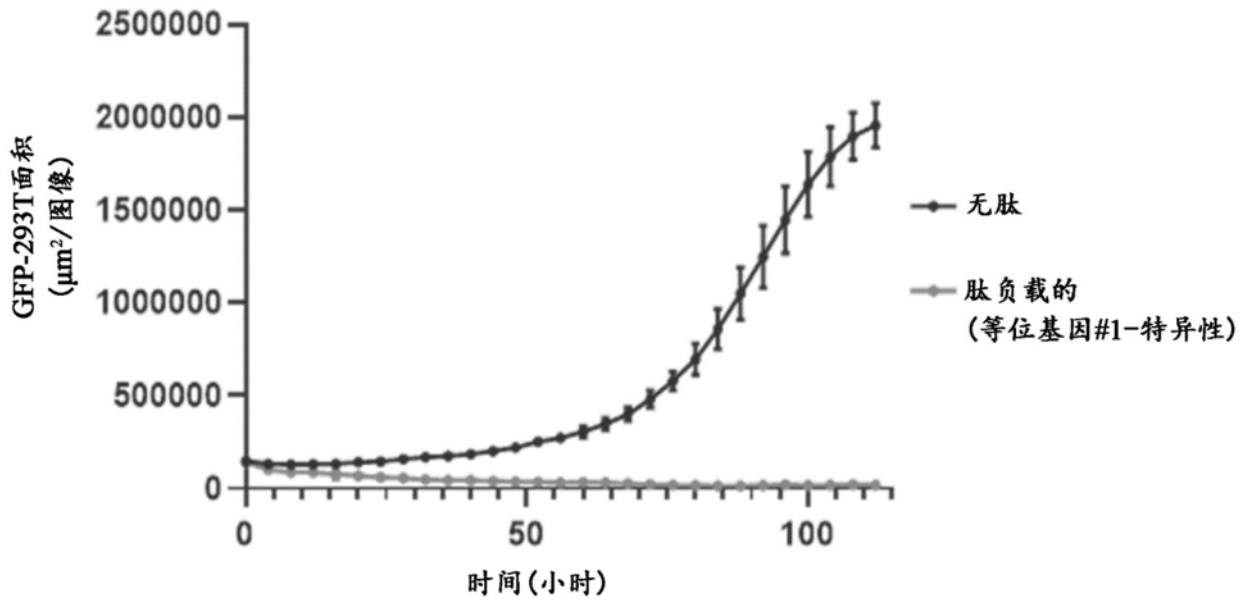


图21



靶细胞:293T-GFP 细胞+/- 2 μM 肽
E特异性T细胞:T=0.7:1

图22

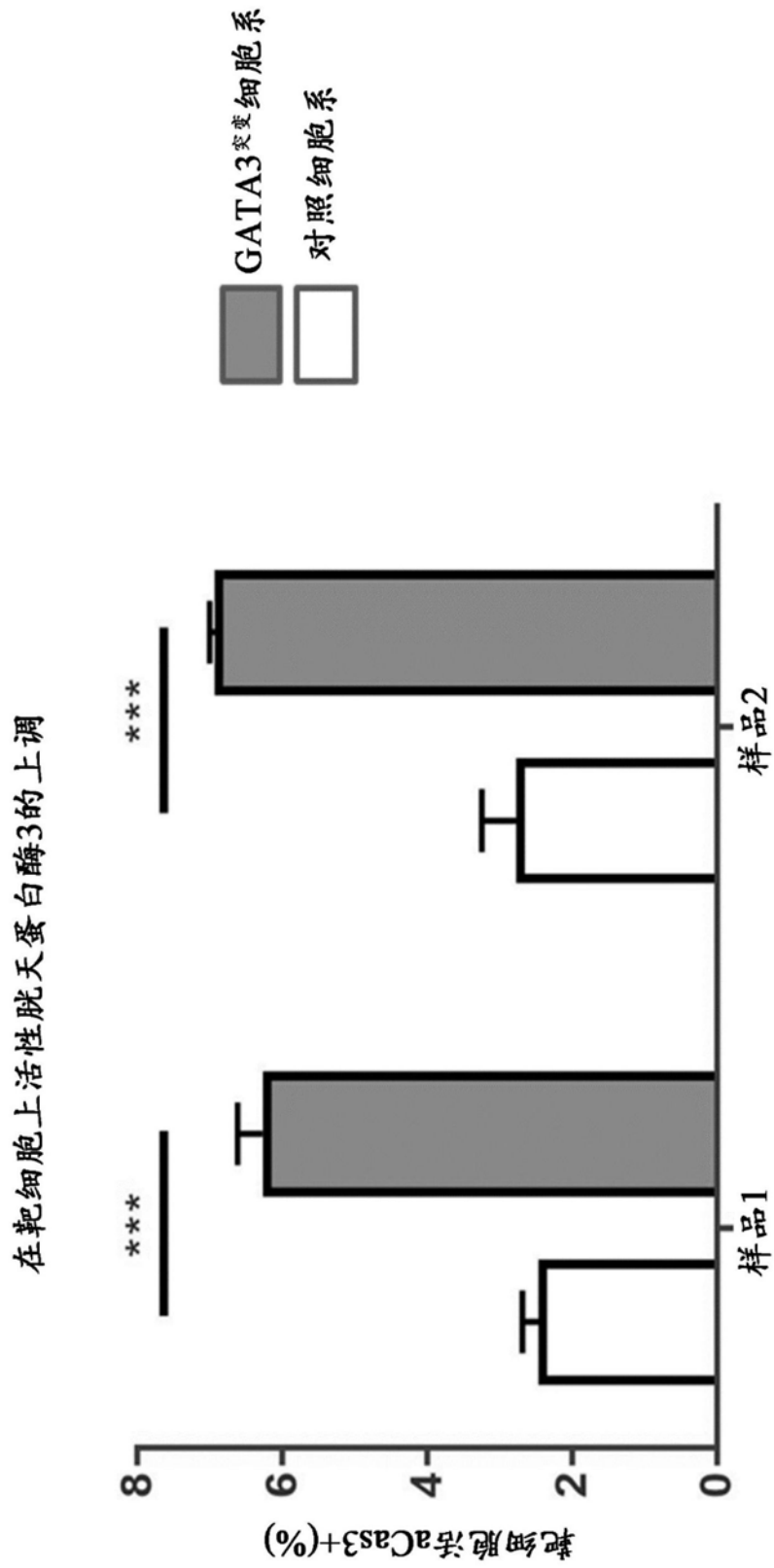


图23

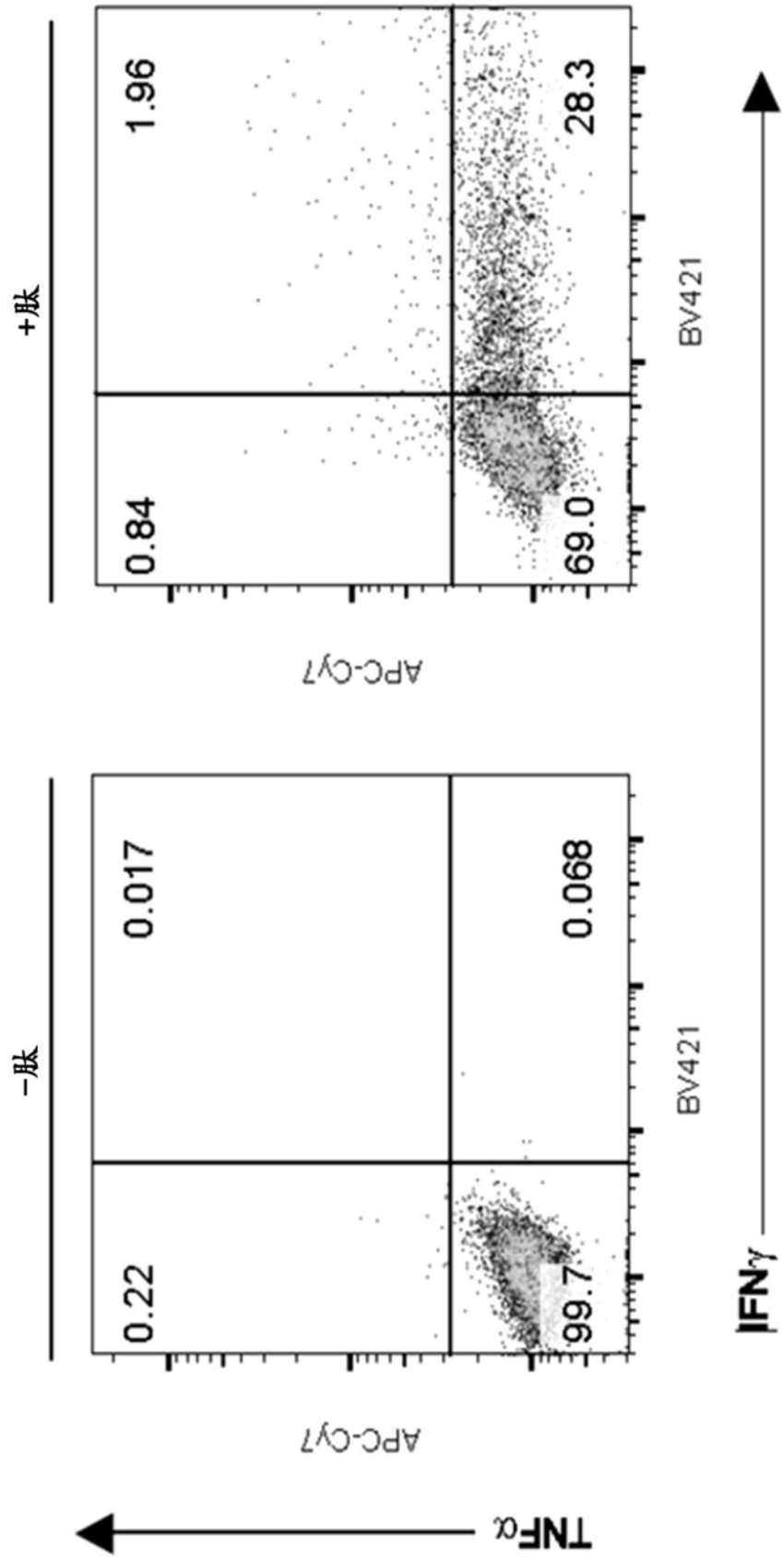


图24

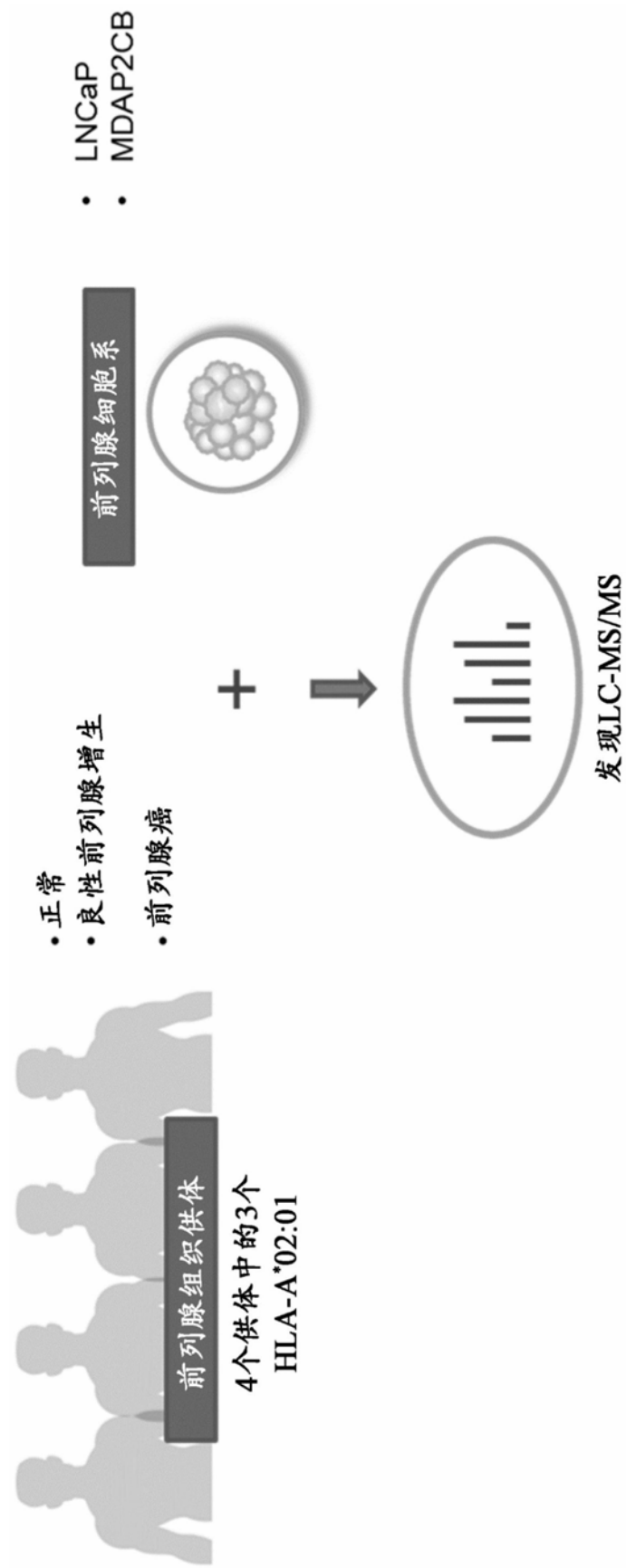


图25A

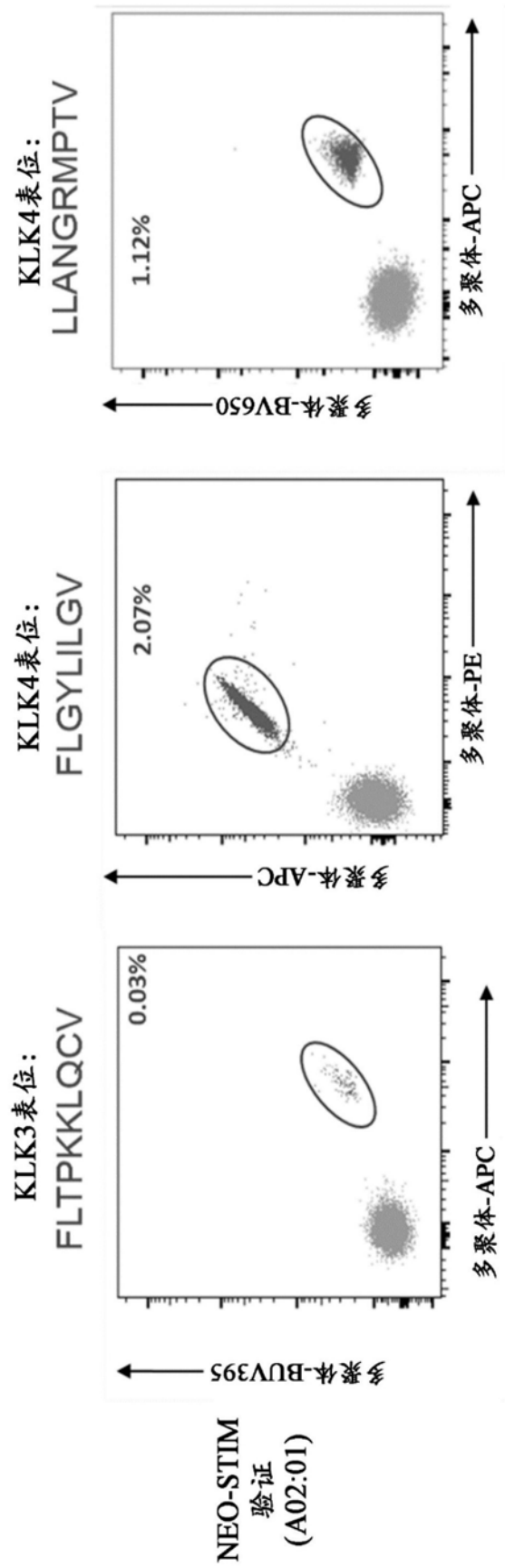
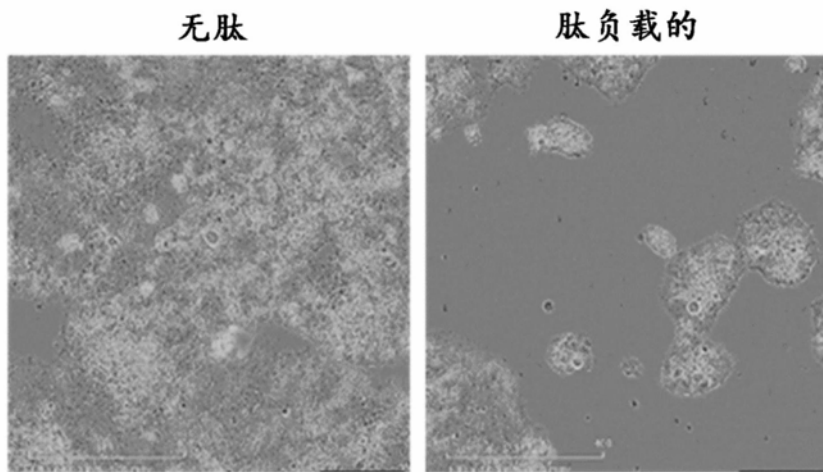
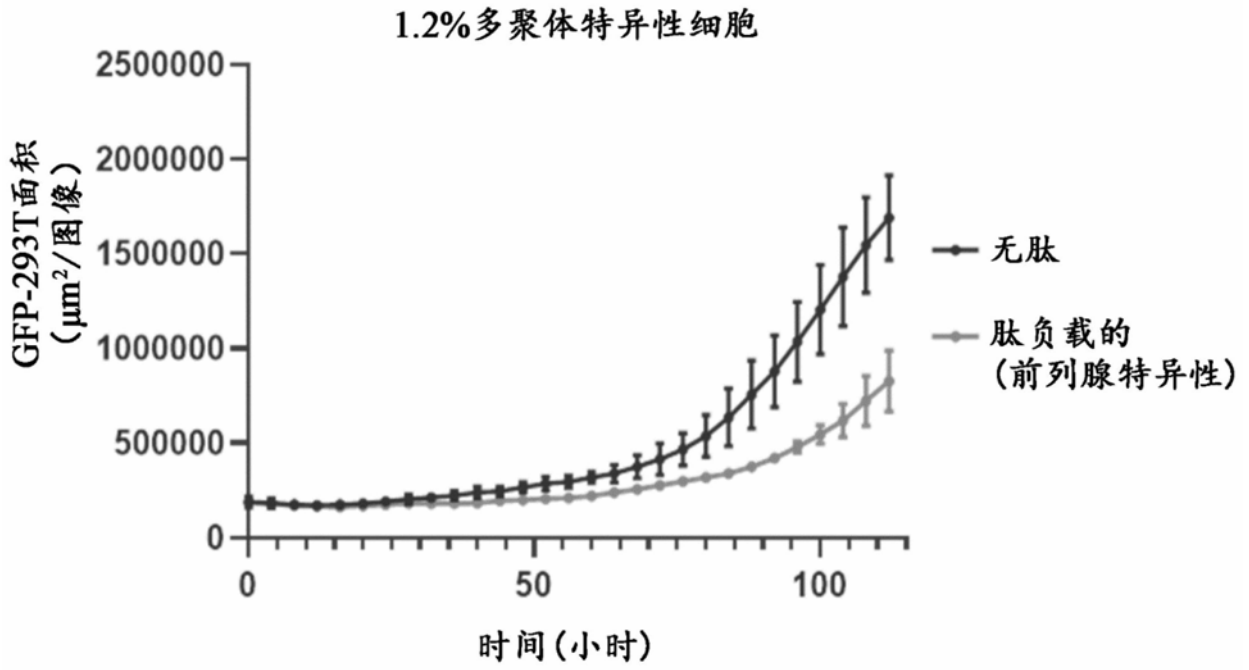


图25B



靶细胞: 293T-GFP细胞 +/- 2 μM 肽
效应细胞_{特异性T细胞}: 靶标=0.01:1

图25C

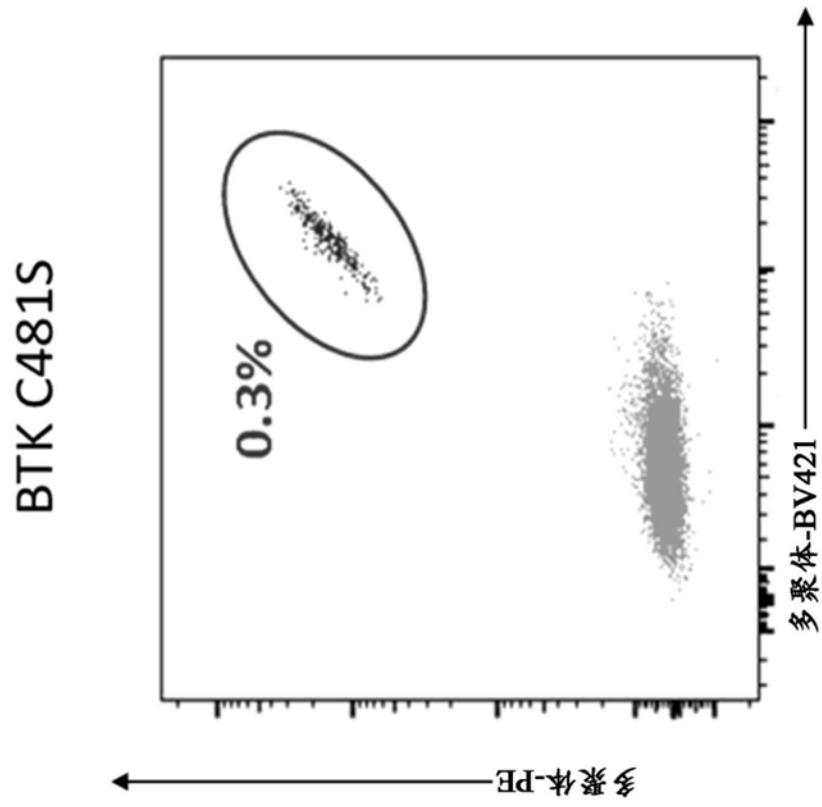


图26

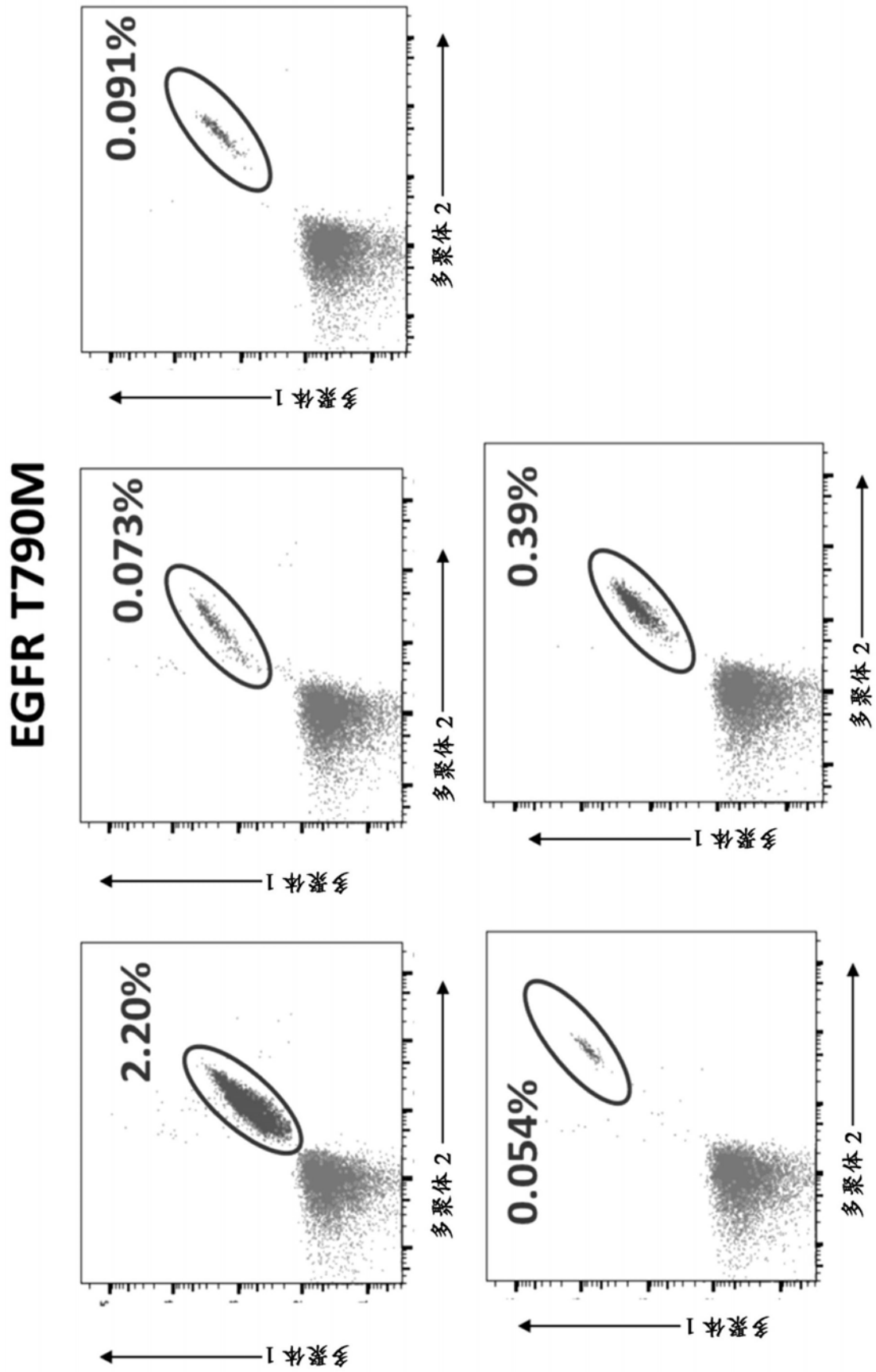


图27

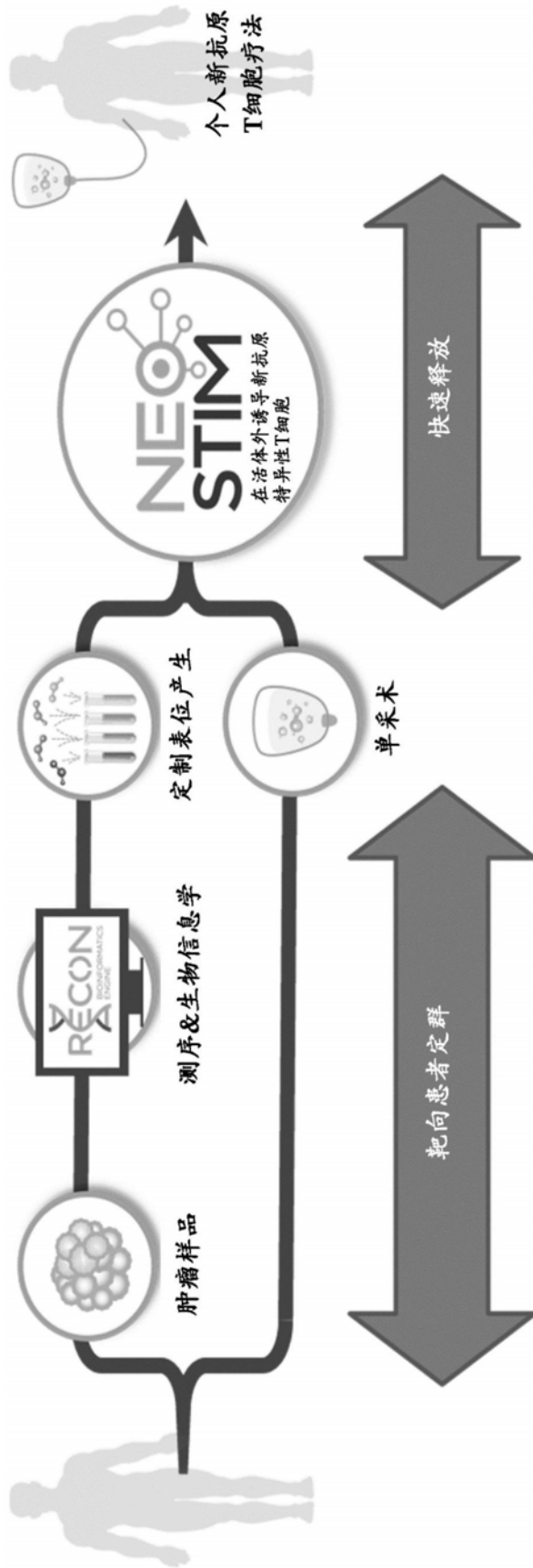


图28A

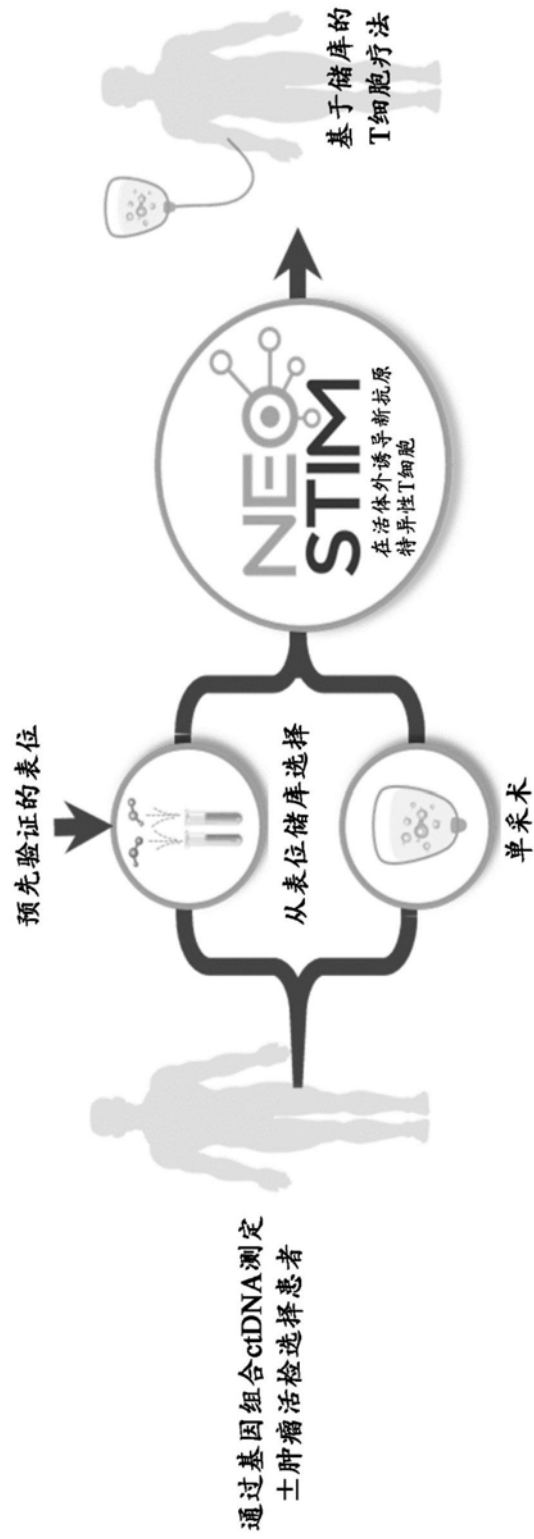
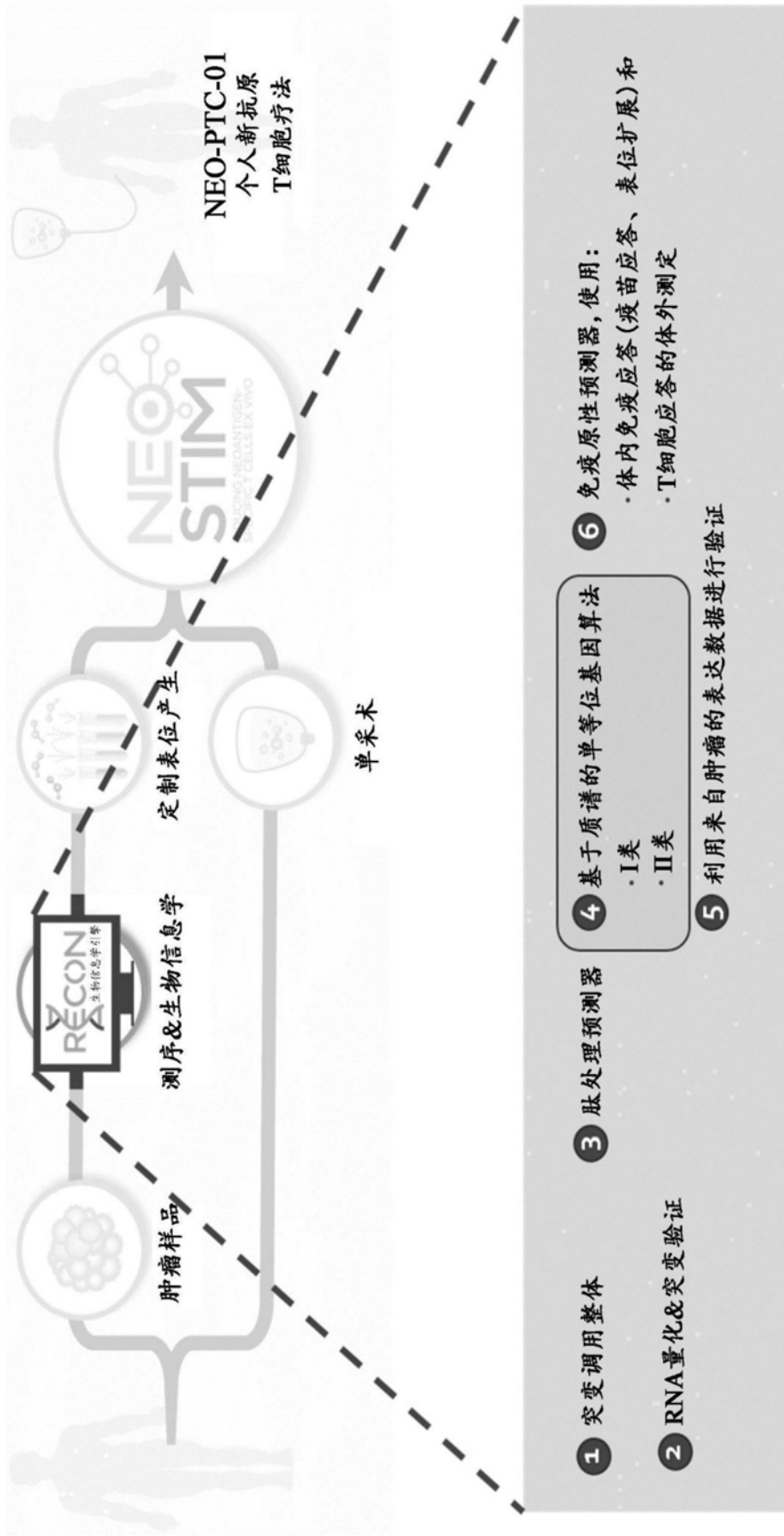


图28B



- ① 突变调整整体
- ② RNA量化&突变验证
- ③ 肽处理预测器
- ④ 基于质谱的单等位基因算法
 - I类
 - II类
- ⑤ 利用来自肿瘤的表观数据进行验证
- ⑥ 免疫原性预测器, 使用:
 - 体内免疫应答 (疫苗应答、表位扩展) 和
 - T细胞应答的体外测定

图29

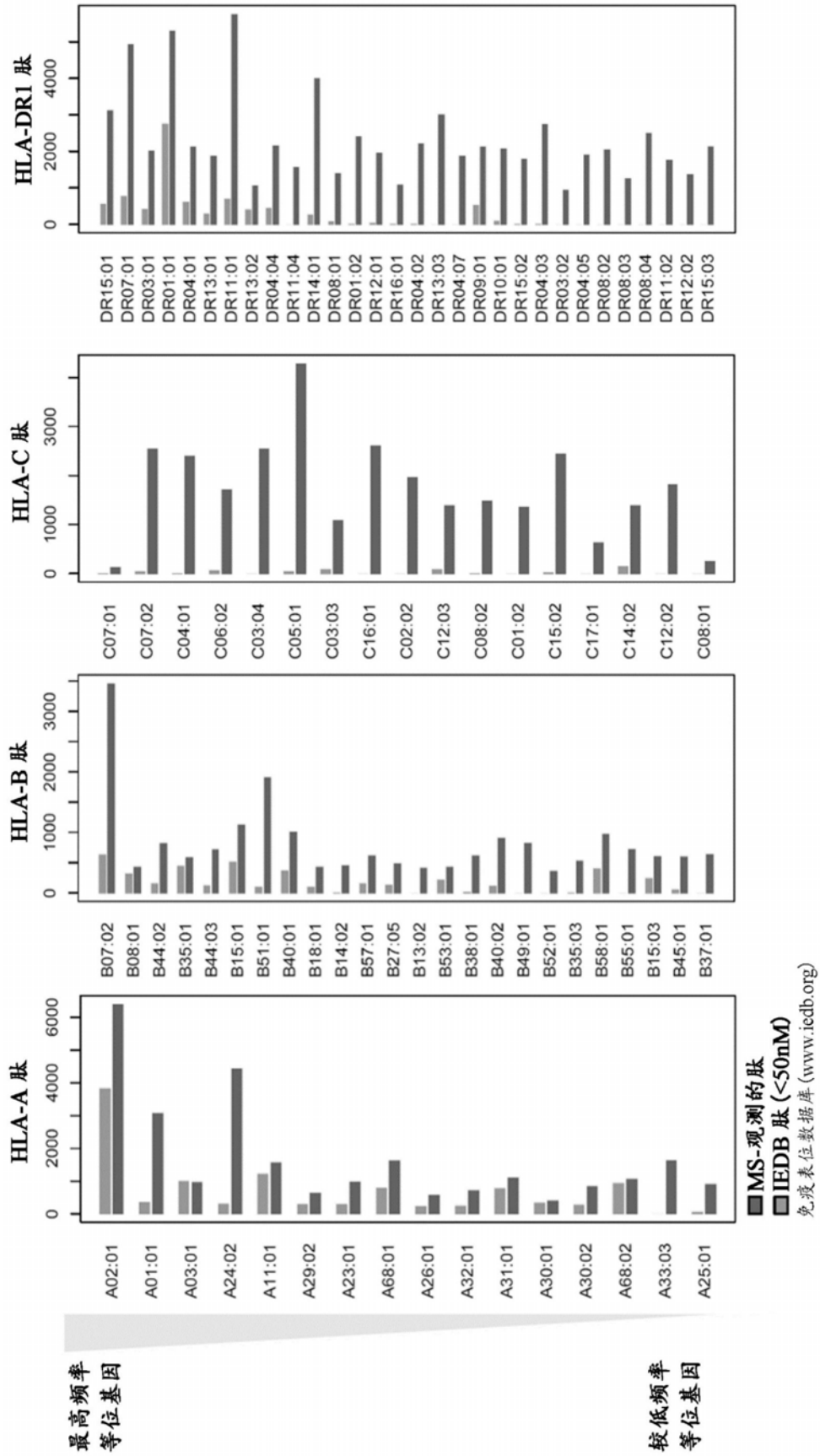
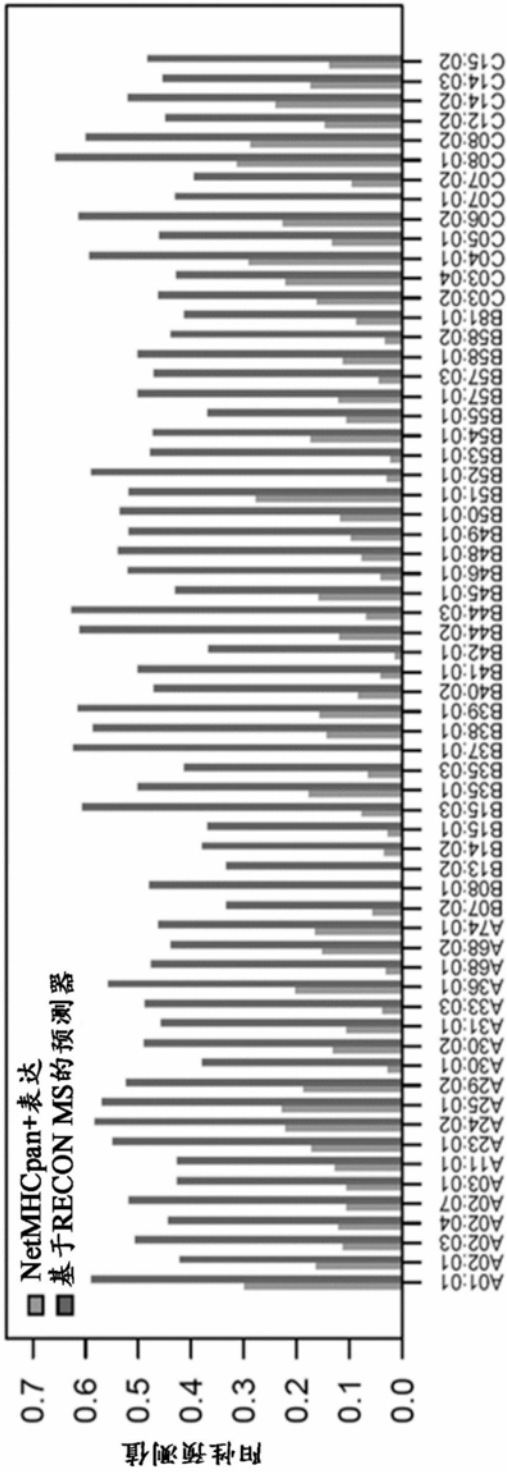


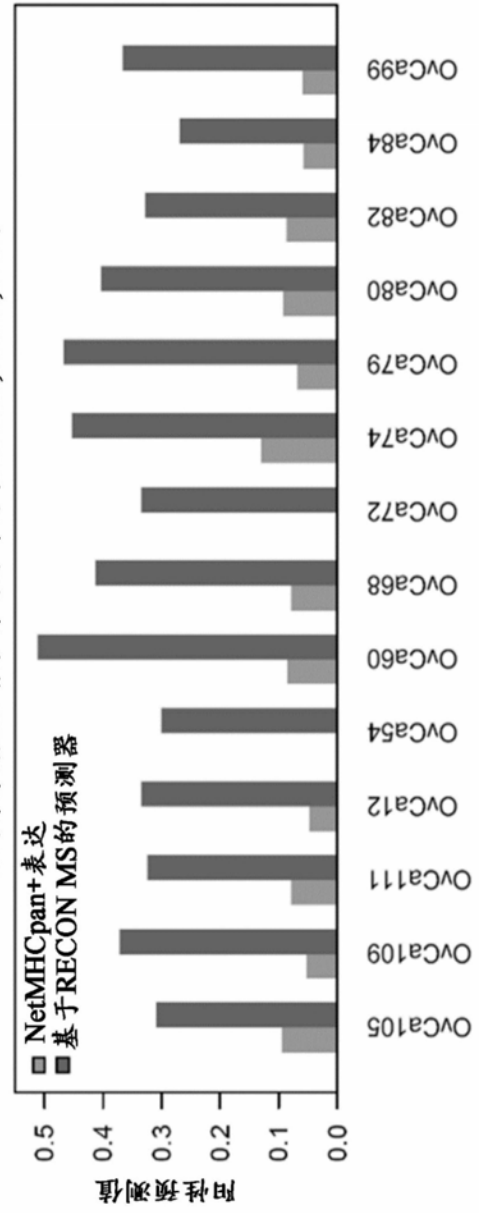
图30

用我们的单等位基因数据集的保留分区进行评价



在体外数据集上
T细胞表位预测
模型的验证

利用卵巢癌MS谱分析进行评价 (Schuster, PNAS, 2017)



在体内肿瘤活检
数据集上T细胞
表位预测模型的验证

图31

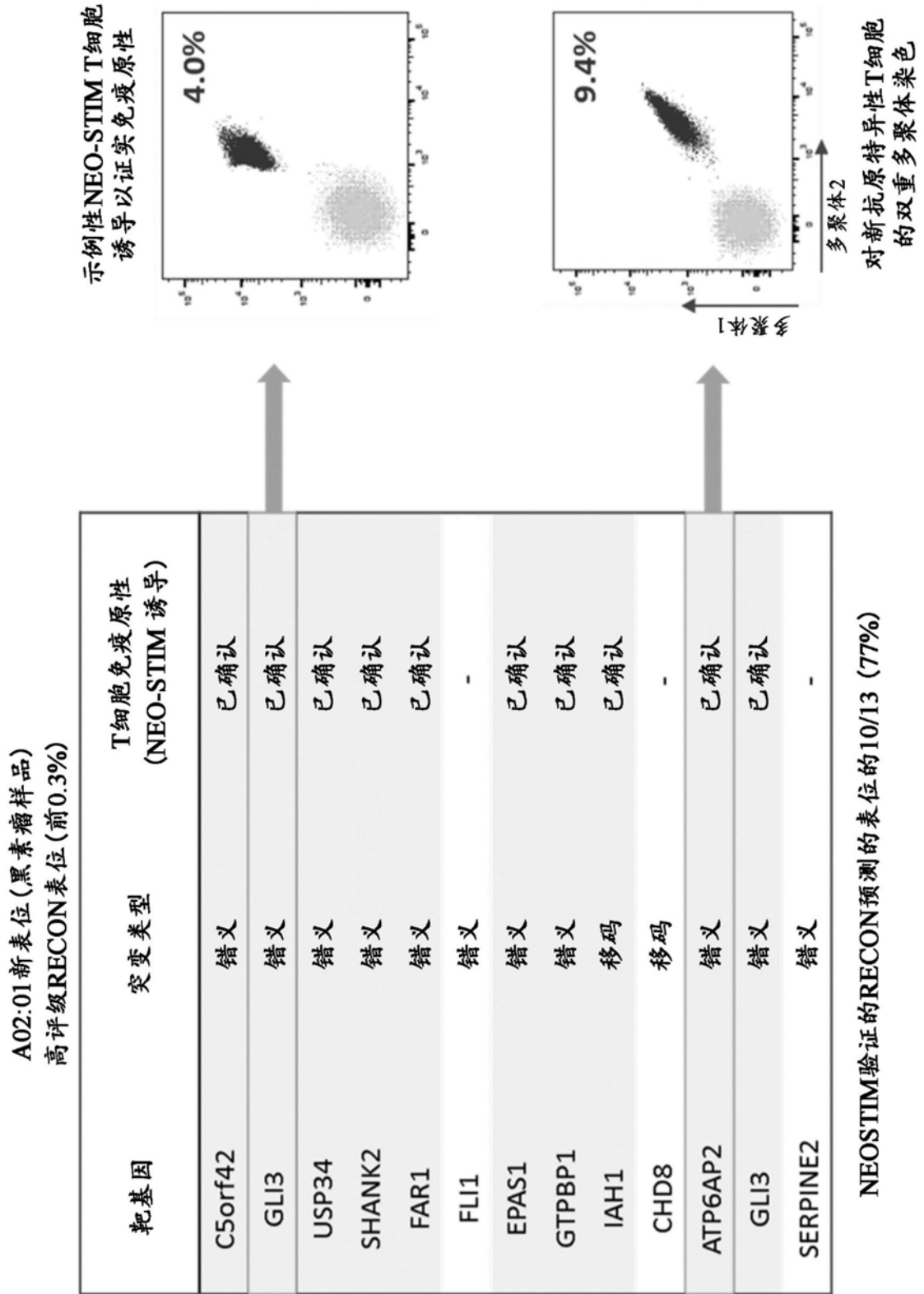


图32

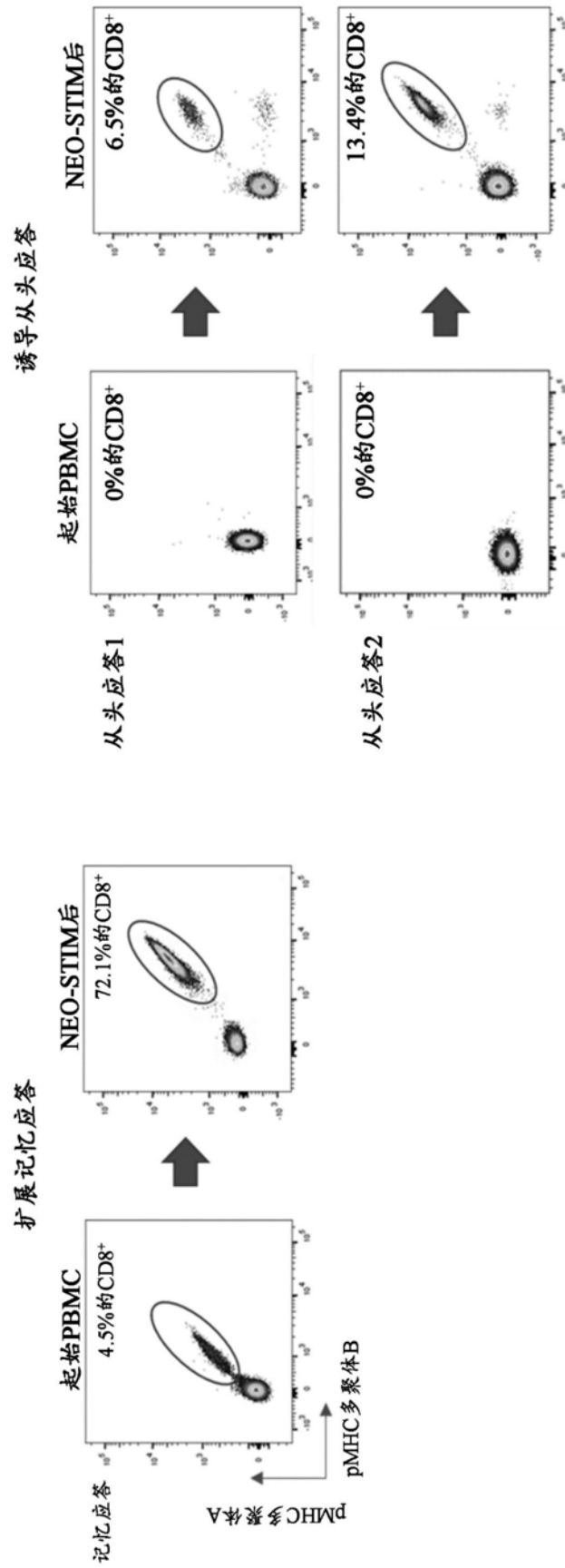


图33

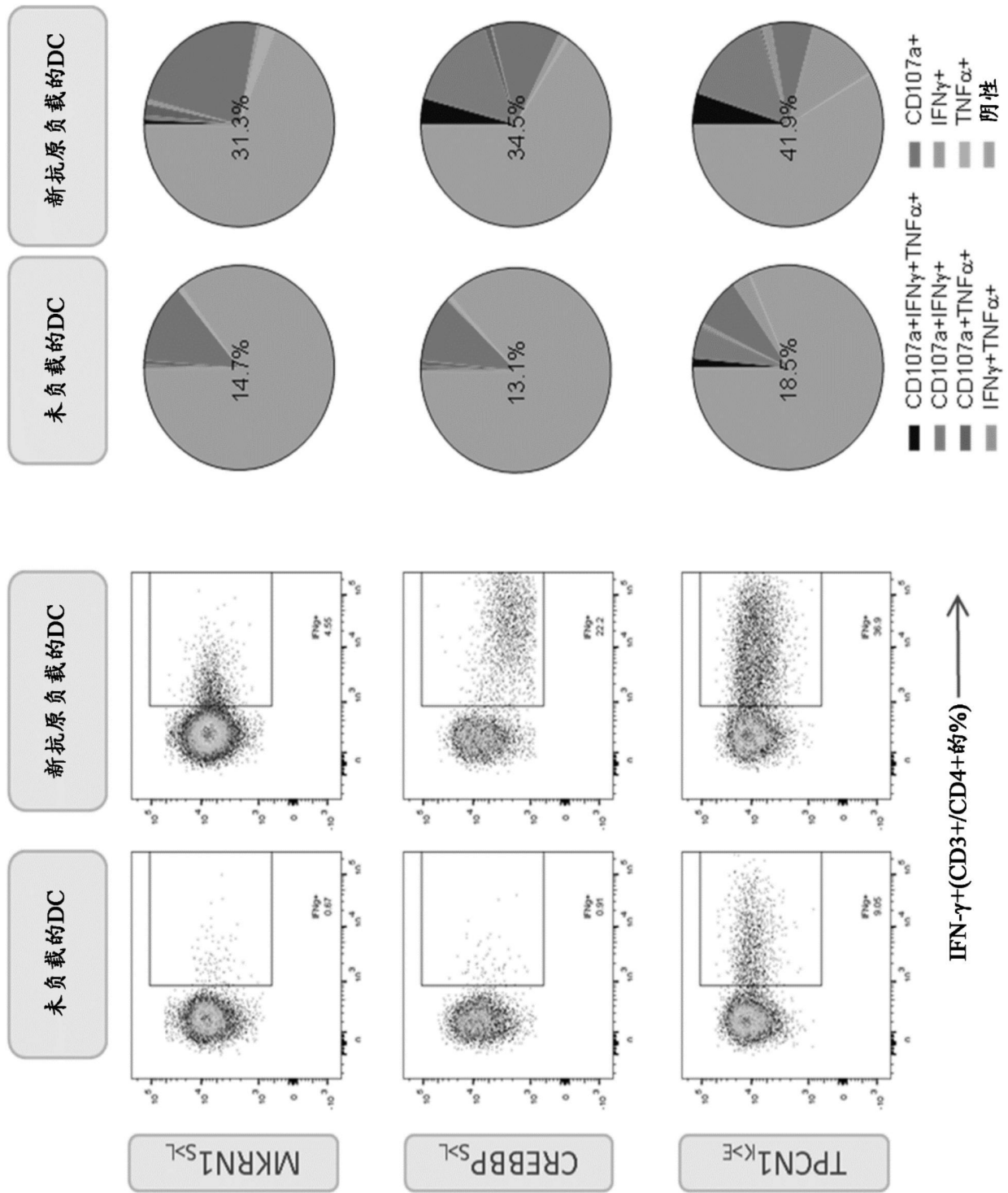


图34

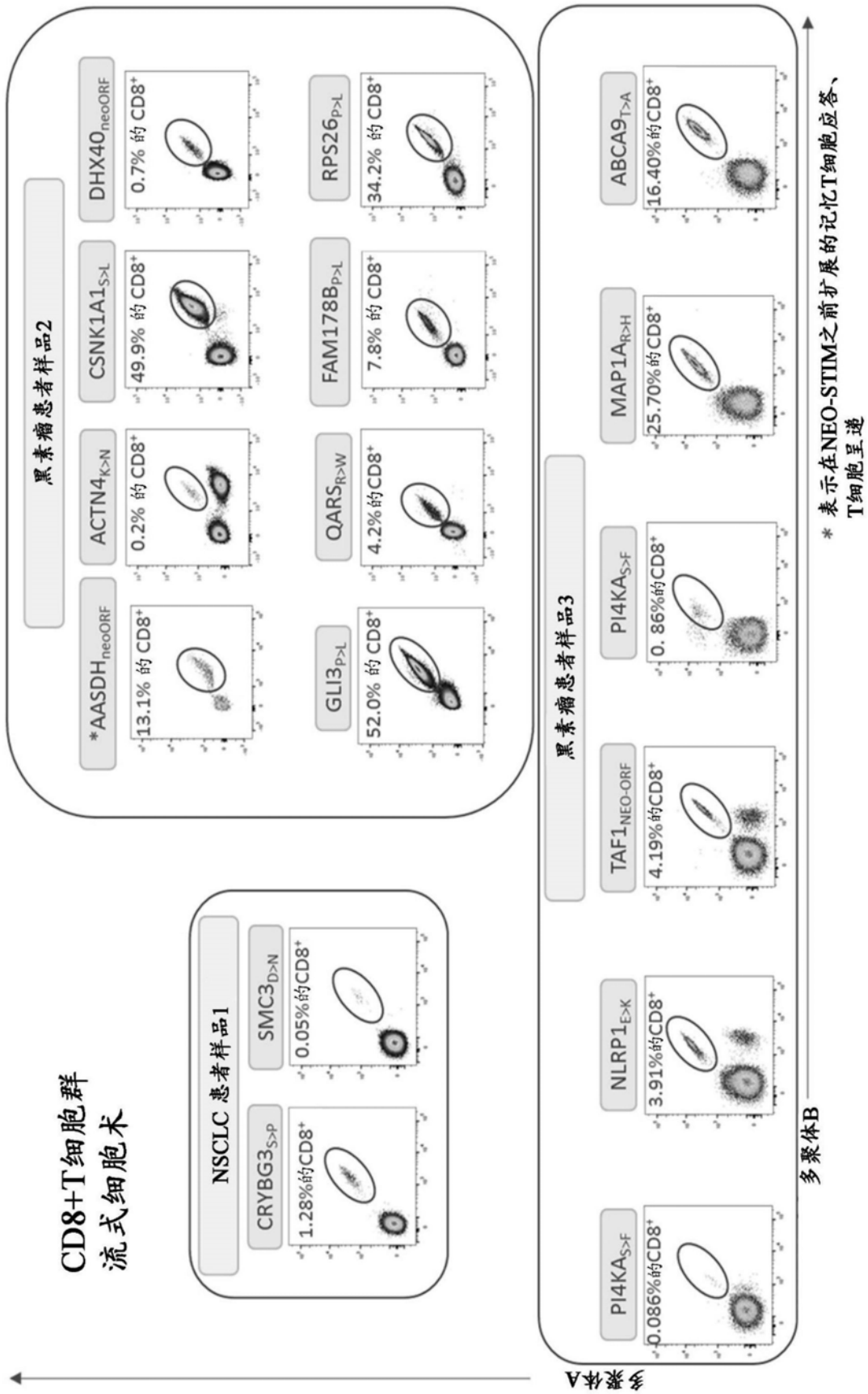


图35

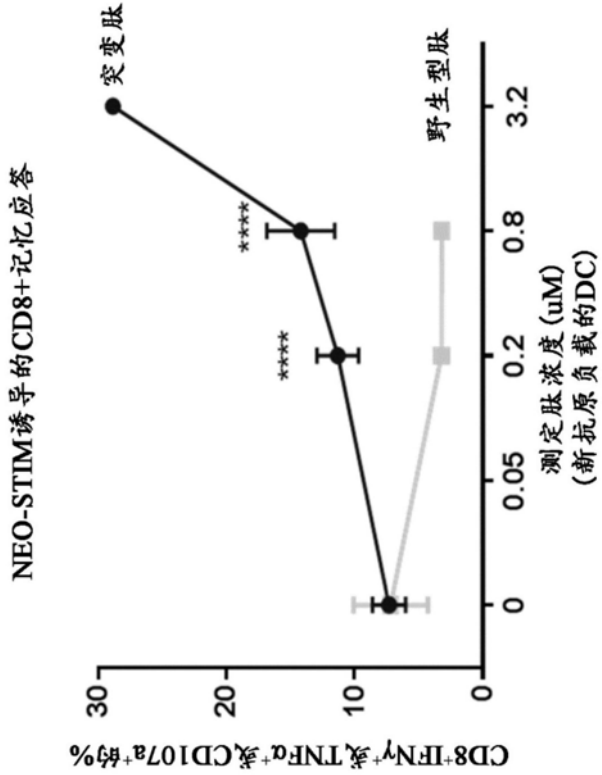
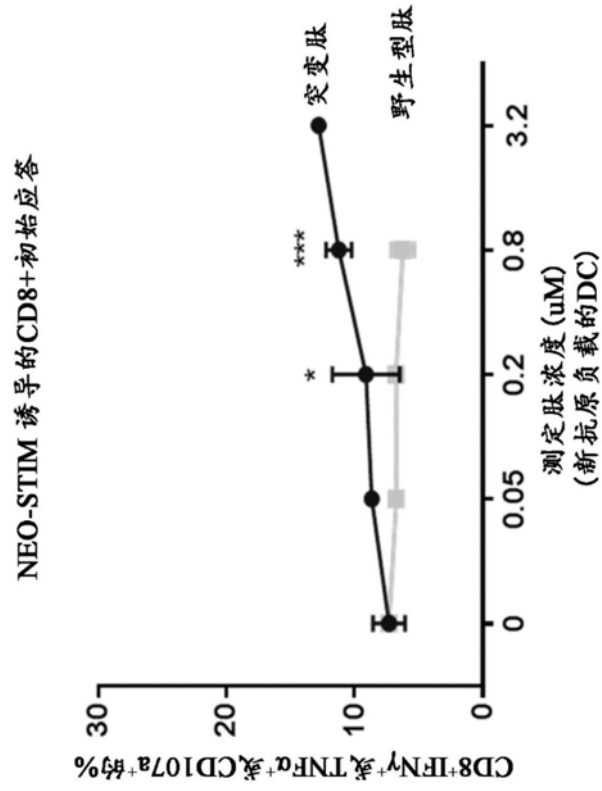
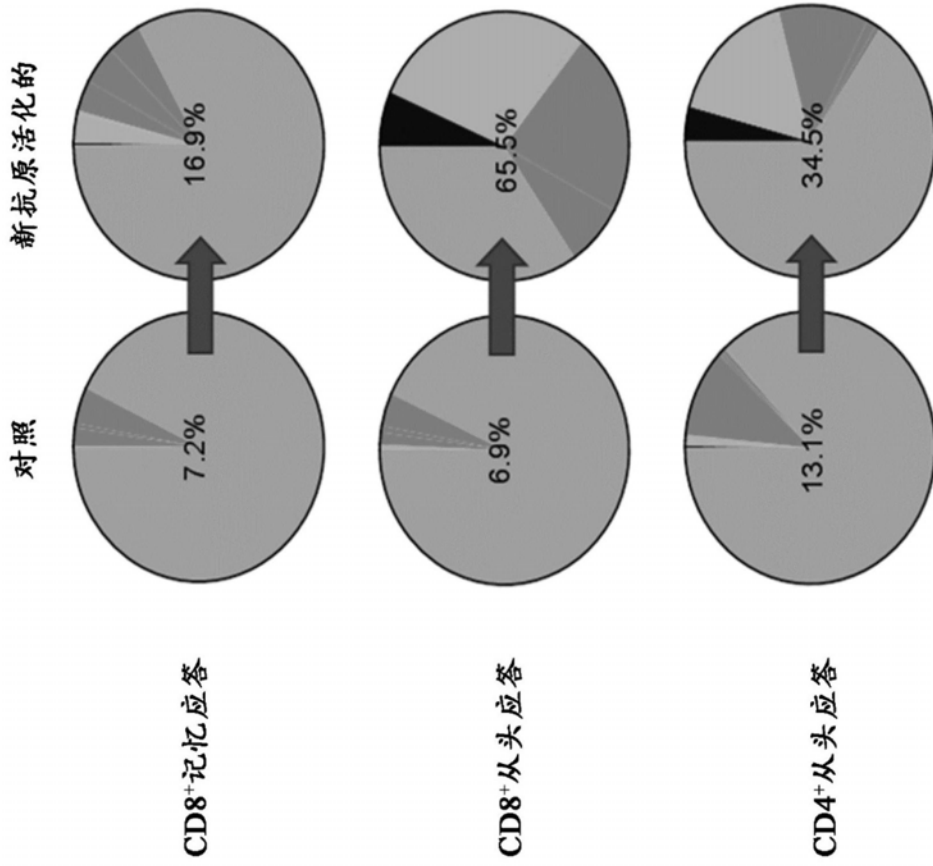


图36

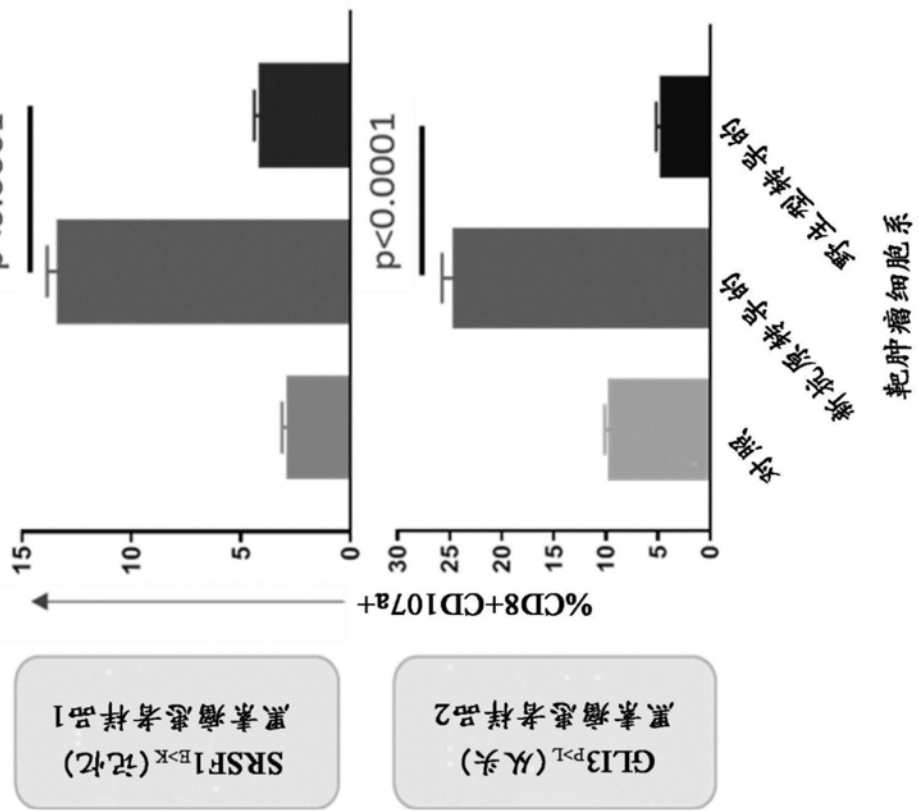


在活化时NEO-STIM诱导的T细胞
表现出细胞因子释放 (IFN γ 和TNF α)
和脱颗粒 (CD 107a)



图37

在诱导的新抗原特异性T细胞上的细胞毒性标志物CD107a



在靶肿瘤细胞上活性胱天蛋白酶-3的上调

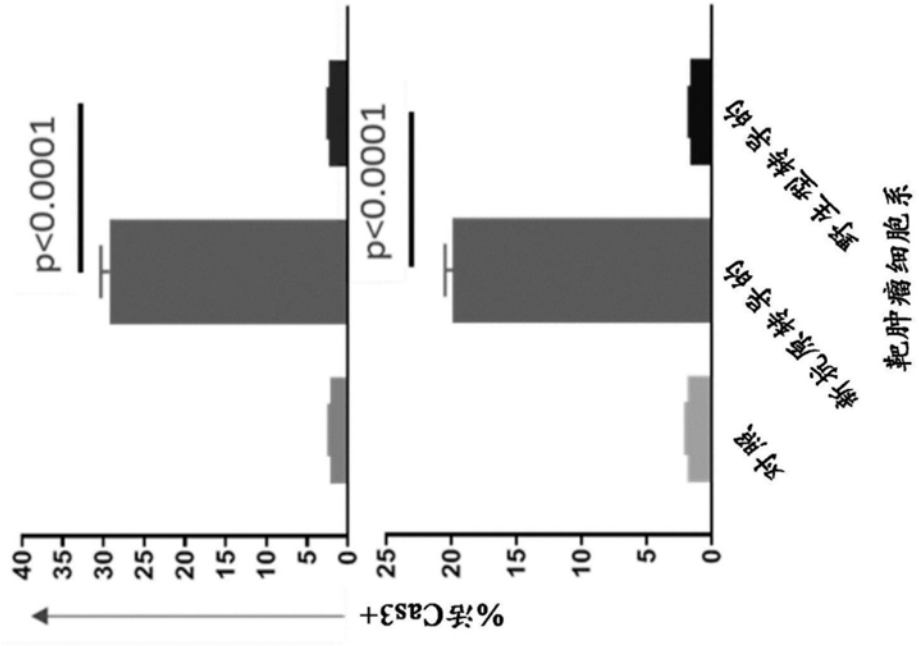


图38