



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월03일

(11) 등록번호 10-1493773

(24) 등록일자 2015년02월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 7/08 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7011020 (분할)

(22) 출원일자(국제) 2007년10월16일

심사청구일자 2014년04월24일

(85) 번역문제출일자 2014년04월24일

(65) 공개번호 10-2014-0057681

(43) 공개일자 2014년05월13일

(62) 원출원 특허 10-2009-7010056

원출원일자(국제) 2007년10월16일

심사청구일자 2012년10월15일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2007/001122

(87) 국제공개번호 WO 2008/047473

국제공개일자 2008년04월24일

(30) 우선권주장

60/852,575 2006년10월17일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2006085684 A2

전체 청구항 수 : 총 21 항

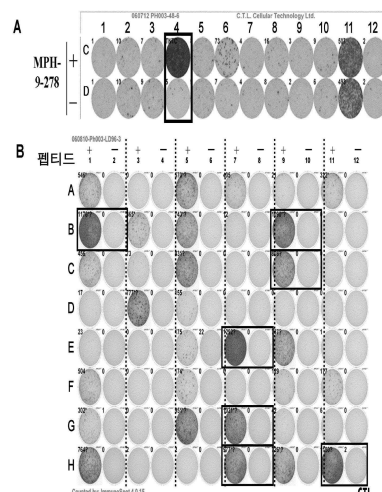
심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 MPHOSPH1 또는 DEPDC1 폴리펩티드를 발현하는 암에 대한 펩티드 백신

(57) 요약

본 발명은, 서열 번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 아미노산 서열을 갖는 펩티드 및, 상기 아미노산 서열을 갖는 펩티드로 1, 2 또는 몇 개의 아미노산이 치환, 결실, 또는 부가된 펩티드로 세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 펩티드를 제공한다. 본 발명은 또한, 활성 성분으로 이 펩티드를 포함하는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉발현과 관련된 질환, 예컨대 암의 치료 또는 예방을 위한 의약을 제공한다. 본 발명의 펩티드는 또한 백신으로 이용할 수도 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

츠노다 타쿠야

일본국 1138654 도쿄도 분쿄구 혼고 7쵸메 3-1 고
쿠리츠다이가쿠호진도쿄다이가쿠나이

오사와 류지

일본 2130012 가나가와켄 가와사키시 다카즈구 사
카도 3쵸메 2-1 온코세라피 사이언스 가부시키키가이
샤 나이

시다 미도리

일본 2130012 가나가와켄 가와사키시 다카즈구 사
카도 3쵸메 2-1 온코세라피 사이언스 가부시키키가이
샤 나이

특허청구의 범위

청구항 1

세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 15 아미노산 미만의 분리된 펩티드로서, 상기 펩티드는:

(a) 서열 번호: 7 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드.

청구항 2

세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 15 아미노산 미만의 분리된 펩티드로서, 상기 펩티드는 다음으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 펩티드:

(a) 서열 번호: 7 또는 8에서 상기 아미노산 서열의 N-말단으로부터 2번째 아미노산이 페닐알라닌, 메티오닌, 또는 트립토판으로 치환된 아미노산 서열을 포함하는 세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 펩티드;

(b) 서열 번호: 7 또는 8에서 상기 아미노산 서열의 C-말단의 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 이소류신, 트립토판, 또는 메티오닌으로 치환된 아미노산 서열을 포함하는 세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 펩티드; 그리고

(c) 서열 번호: 7 또는 8에서 상기 아미노산 서열의 N-말단으로부터 2번째 아미노산이 페닐알라닌, 메티오닌, 또는 트립토판으로 치환되고 C-말단의 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 이소류신, 트립토판, 또는 메티오닌으로 치환된 아미노산 서열을 포함하는 세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 펩티드.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 펩티드는 서열 번호: 7 또는 8의 서열로 구성되는 아미노산으로 구성됨을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 코드하는 DNA가 포함된 벡터.

청구항 8

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 하나 또는 그 이상 포함하는, 암의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직종양으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 10

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드 및 HLA 를 포함하는 복합체를 표면에 제시하는 엑소솜(exosome).

청구항 11

제 10항에 있어서, 상기 HLA는 HLA-A24인 엑소솜.

청구항 12

제 11항에 있어서, 상기 HLA는 HLA-A2402인 엑소솜.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 항원 제시 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 세포 독성 T 세포 유도 능력을 갖는 항원 제시 세포의 in vitro 유도 방법.

청구항 16

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드와 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 세포 독성 T 세포의 in vitro 유도 방법.

청구항 17

다음의 단계들을 포함하는, 세포 독성 T 세포의 in vitro 유도 방법:

- (i) 항원 제시 세포를 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드와 접촉시키는 단계; 및
- (ii) 단계 (i)의 항원 제시 세포를 CD8+ T 세포와 혼합하여 공동 배양시키는 단계.

청구항 18

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자를 항원 제시 세포에 형질전환(transfer)하는 단계를 포함하는, 세포 독성 T 세포 유도능력을 갖는 항원 제시 세포의 in vitro 유도 방법.

청구항 19

다음의 단계들을 포함하는 세포 독성 T 세포의 유도 방법에 의해 유도된, 분리된 세포 독성 T 세포:

- (i) 항원 제시 세포를 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드와 접촉시키는 단계; 및
- (ii) 단계 (i)의 항원 제시 세포를 CD8+ T 세포와 혼합하여 공동 배양시키는 단계.

청구항 20

HLA- A24와 관련하여, 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드와 결합하는 TCR 서브유닛(subunit) 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오타이드가 형질도입(transduce)된 분리된 세포 독성 T 세포.

청구항 21

제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드 및 HLA 사이에 형성된 복합체를 제시하는(presenting) 항원 제시 세포.

청구항 22

다음의 단계들을 포함하는 방법으로 유도된, 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드 및 HLA 사이에 형성된 복합체를 제시하는(presenting) 항원 제시 세포:

- (i) 항원 제시 세포를 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드와 접촉시키는 단계; 및
- (ii) 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자를 항원 제시 세

포에 형질전환(transfer)하는 단계.

청구항 23

유효성분으로 제 1항 내지 3항 중 어느 한 항의 펩티드를 포함하며, 서열번호 1의 유전자를 발현시키는 세포의 증식을 억제하는 백신.

청구항 24

제 23항에 있어서,

상기 세포는 암세포인 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 25

제 24항에 있어서,

상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직종양으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 26

제 23항에 있어서, HLA이 HLA-A24인 대상에의 투여를 위하여 조제되는 것을 특징으로 하는 백신.

명세서

기술분야

[0001]

본 출원은 2006년 10월 17일에 출원한 미국 임시출원 60/852,575의 우선권을 수반하며, 그 내용은 전체로서 참조에 의하여 본 명세서에 포함된다.

[0002]

본원발명은 생물과학의 분야, 보다 구체적으로는 암치료의 분야에 관한다. 특히, 본 발명은, 지극히 유효한 암 백신으로 효과적인 신규 펩티드(peptide), 및 상기 펩티드를 포함하는 종양 치료 및 예방용 의약에 대한 것이다.

배경기술

[0003]

CD8+세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocytes, 이하 CTL)이 MHC 계(class) I 분자에 제시되는 종양 관련 항원(tumor-associated antigens (TAAs))유래의 에피토프(epitope) 펩티드(peptid)를 인식하고, 종양 세포를 용해시키는 것이 증명되었다. TAA의 최초의 예로서 MAGE 패밀리가 발견된 이래, 그 외 많은 TAA들이 면역학적 방법을 이용해서 발견되었다(Boon T. (1993)Int J Cancer 54:177-80. nooB. T. et al., (1996)J Exp Med 183:725-9. nav. der neggurB P et al. (1991)Science 254:1643-7.;Brichard V et al., (1993) J Exp Med 178:489-95.;Kawakami Y et al.,(1994) J Exp M ed 180:347-52.). 그 중 일부는 현재 면역요법의 표적으로 임상개발 중이다. 지금까지 발견된 TAA는, MAGE (van der Bruggen P et al.,(1991) Science 254:1643-7.), gp100(Kawakami Y et al., (1994) J Exp Med 180:347-52.), SART(Shichijo S et al.,(1998) J Exp Med 187:277-88.) 및 NY-ESO-1(Chen Y. T. et al.,(1997) Proc. Natl. Acd. Sci. USA, 94:1914-8.)을 포함한다. 한편, 종양 세포에 있어 어느 정도 특이적으로 과잉발현하는 것이 알려진 유전자 산물은, 세포면역반응을 유도하는 표적으로 인식되고 있다. 이러한 종류의 유전자산물로는, p53 (Umamo Y et al., (2001) Br J Cancer, 84:1052-7.), HER2/neu (Tanaka H et al., (2001) Br J Cancer, 84: 94-9.), CEA (Nukaya I et al., (1999) Int. J. Cancer 80, 92-7.)등이 있다.

[0004]

TAA의 기초 및 임상 연구가 상당히 진행되었음에도 불구하고, 암의 치료에 적합한 현재 이용가능한 TAA 후보는 대단히 한정되어 있다(Rosenberg SA et al. Nature Med(1998), 4:321-7. Mukherji B. et al. (1995)Proc Natl Acad Sci USA, Res (1996), 56:2479-83.). 암 세포에서 다량으로 발현되며, 그리고 그 발현이 암 세포에

한정되는 TAA는, 면역요법의 유망한 후보이다.

[0005]

HLA-A24 및 HLA-A0201은, 일본인 및 백인종 집단의 일반적인 HLA 대립유전자(allele)이다(Date Y et al., (1996) Tissue Antigens 47: 93-101.; Kondo A et al., (1995) J Immunol 155: 4307-12.; Kubo RT et al., (1994) J Immunol 152: 3913-24.; Imanishi et al., Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Oxford University Press, Oxford, 1065 (1992); Williams F et al., (1997) Tissue Antigen 49: 129-33.). 그러므로, 이들 HLA 대립유전자에 의하여 제시되는 암의 항원 펩티드는, 일본인 및 백인 환자의 암 치료에 있어서 특히 유용하다. 또한 인 비트로(in vitro)에서 저-친화성(low-affinity) CTL을 유도하는 것은, 이들 CTL을 효과적으로 활성화시킬 수 있는, 항원 제시 세포(antigen-presenting cells, APCs)에 특정 펩티드/MHC 복합체가 높은 수준으로 생기게 하는 것이 일반적이다(Alexander-Miller et al., (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93: 4102-7.).

[0006]

최근 cDNA 마이크로 어레이 기술의 발달로, 정상세포와 비교한 악성(malignant)세포에서의 유전자 발현의 포괄적인 프로파일 구축되었다(Okabe, H. et al. (2001) Cancer Res. 61, 2129-37. Lin YM. et al. Oncogene(2002), 21:4120-8. Hasegawa S. et al.(2002) Cancer Res 62:7012-7.). 이러한 방법은, 암 세포의 복잡한 성질 및 발암 메커니즘을 이해할 수 있도록 하고, 종양에서 발현이 낮게 조절되는 유전자의 식별을 쉽게 한다(Bienz M. et al. Cell (2000) 103, 311-20.). 암에서 높게 조절되는 것으로 확인된 전사체 중, 최근 MPHOSPH1 (M-phase phosphoprotein 1; GenBank 접근 번호 NM_016195; 서열 번호s.1, 2), 및 DEPDC1 (DEP domain containing 1; GenBank 접근 번호 BM683578)이 발견되었다. W02004/031413, W02006/085684 및 W02007/013665을 참조(명세서 전체를 본 출원에서 인용한다). DEPDC1은 두 개의 서로 다른 전사 변이체-DEPDC1 V1(서열번호 3, 4) 및 DEPDC1 V2(서열번호 5, 6)로 기재된다. 이들 유전자들은 분석된 케이스들을 보면, 다양한 종양 조직의 암 세포에서 특이적으로 높게 조절되는 것이 관찰되었다(하기 참조). 그러나 노던 블롯(Northern blot) 분석 결과, 이러한 유전자 산물은 정상적인 주요 장기에서는 발견되지 않는다(PCT/JP2006/302684 참조). 이러한 MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 면역 펩타이드가 이러한 항원들을 발현시키는 암세포들을 죽이는데 유용할 수 있다는 점에서, 상기 유전자들은 본 발명자들의 흥미를 끌게 되었다.

[0007]

예컨대 M-VAC과 같은 세포 독성 의약은 자주 심각한 부작용을 유발하기 때문에, 부작용 리스크를 최소화한 유효한 항암제 개발에 있어, 잘 검토한 메커니즘을 기초로 신규 표적분자를 주의 깊게 선택하는 것이 중요하다는 것은 명백할 것이다. 이를 위하여, 본 발명자들은, 먼저 다양한 암 및 정상 인체 조직의 발현 프로파일 분석을 수행하고, 암에서 특이적으로 과잉발현하는 유전자를 여러 개 찾아냈다(Lin YM, et al. neogene. 2002 Jun 13;21:4120-8.; Kitahara O, et al. Cancer Res. 2001 May 1;61:3544-9.; Suzuki C, et al., Cancer Res. 2003 Nov 1;63:7038-41.; Ashida S, Cancer Res. 2004 Sep 1;64:5963-72.; Ochi K, et al., Int J Oncol. 2004 Mar;24(3):647-55.; Kaneta Y, et al., Int J Oncol. 2003 Sep;23:681-91.; Obama K, Hepatology. 2005 Jun;41:1339-48.; Kato T, et al., Cancer Res. 2005 Jul 1;65:5638-46.; Kitahara O, et al., Neoplasia. 2002 Jul-Aug;4:295-303.; Saito-Hisaminato A et al., DNA Res 2002;9:35-45.). 이 중, MPHOSPH1 (in house No. C2093) and DEPDC1 (in house No. B5860N)은, 여러 가지 암에서 과잉발현하는 유전자로 확인되었다. 특히, MPHOSPH1는 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암(cholangiocellular carcinoma), CML, 대장/직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, 연조직암(soft tissue tumor)에서 과잉발현하는 것으로 확인되었다. 유사하게, DEPDC1은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, SOLC, 연조직암에서 과잉발현하는 것이 확인되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008]

MPHOSPH1는, 종래 G2/M기 이행 시 특이적으로 인산화되는 단백질 중 하나이자, 플러스 방향 유도(plus-end-directed) 키네신(kinesin) 관련 단백질이라는 특징이 확인되어 있었다(Abaza A et al., J Biol Chem 2003, 278: 27844-52.). 좀더 구체적으로, MPHOSPH1는 종래, 세포질 분열(cytokinesis)에서 결정적인 역할을 수행하는 플러스 방향 유도 단백질 모터(motor)이자, HeLa 세포가 후기(anaphase)에서 종기(telophase)로 넘어가는 동

안 방추(spindle)의 중간대(midzone)에 집적하는 것으로 알려져 있다(Abaza A et al., J Biol Chem 2003, 278: 27844-52; Kamimoto T et al., J Biol Chem 2001, 276: 37520-8). MPHOSPH1 cDNA는 3개의 도메인:NH₂-키나신(kinasin) 모터 도메인, 중앙 나선형 나선-줄기(central coiled coil-stalk) 도메인 및 C-구형 꼬리 도메인 으로 구성된 1780-아미노산 단백질을 코드한다. 또한, 이 데이터는 MPHOSPH1이 NH₂ 타입 키네신(kinesin) 관련 단백질이라는 것을 의미한다.

[0009]

DEPDC1의 기능은 명확하지 않다. 상기 단백질에 포함되어 있는 DEP 도메인 역시 디셰벨드(Dishevelled), EgI-10 및 플렉스트린(Pleckstrin)에서도 발견된다. 초파리 디셰벨드에서 DEP 도메인은 평면극성 결손(rescue planar polarity defect)의 구제에 필수적인 역할을 하며, JNK 신호(signalling)을 유도하나, 그럼에도 불구하고 그 기능은 아직 다 명확하게 밝혀져 있지는 않다. 그렇지만, PCT/JP2006/302684에 공개되어 있듯이, DEPDC1의 siRNA는, 암 세포의 증식을 억제할 수 있다. 이 결과는, DEPDC1이 많은 암 세포의 증식에 있어서 중요한 역할을 한다는 것을 증명한다.

과제의 해결 수단

[0010]

전술한 바와 같이, MPHOSPH1 (M-phase phosphoprotein 1) 및 DEPDC1 (DEP domain containing 1)은 다양한 암에서 높게 조절되는 것으로 확인되었다. 보다 상세히 살펴보면, 이들 유전자는, 게놈 와이드(genome-wide)한 eDNA마이크로 어레이에 의한 유전자발현 프로필을 사용해서 확인되었다. 상기과 같이, MPHOSPH1 및 DEPDC1의 발현은 폐암 및 방광암을 포함한 다양한 종양세포에서 특이적으로 높게 조절되는 것으로 확인되었다. 표 1에 나타난 것과 같이, MPHOSPH1의 발현은, 31 개 방광암 중 30, 36 개의 유방암 중 8, 18 개의 자궁경부암 중 18, 17 개의 담관세포암 중 5, 31 개의 CML중 25, 11 개의 결장직장암 중 6, 14 개의 위암 중 6, 5개의 NSCLCs중 5, 7 개의 림프종 중 7, 10 개의 골육종 중 6, 22 개의 전립선암 중 7, 18개의 신장암 중 10 및 21개의 연조직암(soft tissue tumors) 중15에 있어서 유의한 수준으로 상승하는 것이 확인되었다. 동시에, DEPDC1의 발현은, 표 1에 나타난 바와 같이, 25개의 방광암 중 23, 13개의 유방암 중 6, 12개의 자궁경부암 중 12, 6개의 담관세포암 중 6, 4개의 CML 중 3, 4개의 결장직장암 중 2, 6개의 NSCLC 중 6, 7개의 림프종 중 7, 14개의 골육종 중 10, 24개의 전립선암 중 11, 14개의 SCLC 중 14 및 31개의 연조직암 중 22에 있어서 유의한 수준으로 상승하는 것으로 확인되었다.

[0011]

본원발명은, 적어도 부분적으로는, 대응하는 분자들에 특이적인 세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocytes (CTLs))를 유도하는, 상기 유전자들(MPHOSPH1 and DEPDC1) 산물의 특정 에피토프(epitope) 펩타이드를 확인한 데에 기초한다. 하기에 상세히 기재한 바와 같이, MPHOSPH1 또는 DEPDC1 유래의 후보 펩티드에 결합하는 HLA-A*0201 및 HLA-A*2402를 이용하여 건강한 공여자의 말초혈액단핵세포(Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC))를 자극한다. CTL 클론 및/또는 주(line)는 각각의 후보 펩티드로 펄스(pulse)된 HLA-A24 또는 HLA-A2 양성 표적세포에 대하여 특이적 세포독성을 갖도록 확립되었다. 이러한 결과는 이들 펩티드들이 MPHOSPH1 또는 DEPDC1 발현 세포에 대하여 유효하고 특이적인 면역반응을 유도하는 HLA-A24 또는 HLA-A2 제한성 에피토프 펩티드라는 것을 의미한다.

발명의 효과

[0012]

따라서, 본 발명은, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉발현과 관련된 질환(예를 들면 암)을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 본 방법은 그것을 필요로 하는 대상에 본 발명의 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1 폴리펩티드(polypeptide)를 투여하는 단계를 포함한다. 해당 펩티드의 투여 결과, 항암 면역이 유도된다. 이렇게, 본 발명은 대상에 항암 면역을 유도하는 방법을 제공한다. 본 방법은 예를 들면 대상에 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1 폴리펩티드(polypeptide) 뿐만 아니라 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉발현과 관련된 질환(예컨대 암)을 치료 또는 예방하기 위한 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1 폴리펩티드(polypeptide)를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 상기 암에는, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직암이 포함되나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

- [0013] 본 출원은 이하의 예들 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0014] [1] 서열 번호:2, 4 또는 6의 아미노산 서열 유래의, 세포독성 T 세포 유도 능력을 갖는 분리된 펩티드.
- [0015] [2] 서열 번호:7, 8 및 12의 아미노산서열을 포함하는 펩티드로 구성된 그룹에서 선택되는 약 15 아미노산 미만의 분리된 펩티드, 또는 세포독성 T 세포 유도 능력을 갖는 펩티드로, 서열 번호: 7, 8 및 12로 구성된 그룹에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산이, 치환, 결실 또는 부가된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드.
- [0016] [3] N 말단에서 두번째 아미노산이 페닐알라닌, 티로신, 메티오닌 또는 트립토판인, 세포독성 T 세포 유도 능력을 갖는 [2]의 펩티드.
- [0017] [4] C 말단 아미노산이 페닐알라닌(phenylalanine), 류신(leucine), 이소류신(isoleucine), 트립토판(tryptophan), 또는 메티오닌(methionine)이고 세포독성 T 세포유도 능력을 소유하는 [2]의 펩티드.
- [0018] [5] 서열 번호:9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 및 255의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드로 이루어지는 그룹에서 선택된 약 15 아미노산 미만의 분리된 펩티드, 또는 세포독성 T 세포유도 능력을 갖는 펩티드로, 서열 번호:9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 및 255로 구성된 그룹으로부터 선택되는, 하나 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실, 또는, 부가된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드.
- [0019] [6] N말단에서 두 번째 아미노산은, 류신(leucine) 또는 메티오닌(Methionin)인, 세포독성 T 세포유도 능력을 갖는 [5]의 펩티드.
- [0020] [7] C 말단 아미노산이 발린(Valine) 또는 류신(leucine)인, 세포독성 T 세포유도 능력을 갖는, [5]의 펩티드.
- [0021] [8] [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드를 코드하는 DNA를 포함하는 벡터.
- [0022] [9] 서열 번호:1, 3 및/또는 5의 유전자의 과잉발현과 관련된 질환을 치료 또는 예방하기 위한 약학적 조성물로, [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드를 하나 이상 포함하는 약학적 조성물.
- [0023] [10] [9]에 있어서, 상기 질환은 암인 약학적 조성물.
- [0024] [11] [10]에 있어서, 상기 암은, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직암으로 구성되는 그룹에서 선택되는 약학적 조성물.
- [0025] [12] [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드 및 HLA 항원으로 구성되는 복합체를 표면에 제시하는 엑소솜(exosome).
- [0026] [13] [12]에 있어서, 상기 HLA항원은 HLA-A24인 엑소솜.
- [0027] [14] [13]에 있어서, 상기 HLA항원이 HLA-A2402인 엑소솜.
- [0028] [15] [12]에 있어서, 상기 HLA항원이 HLA-A2인 엑소솜.
- [0029] [16] [13]에 있어서, 상기 HLA항원이 HLA-A0201인 엑소솜.
- [0030] [17] [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드를 항원제시 세포와 접촉시키는 공정을 포함하는, 높은 세포독성 T 세포유도 능력을 갖는 항원제시 세포를 유도하는 방법.
- [0031] [18] [1] 내지 [7] 중의 어느 하나의 펩티드와 T 세포를 접촉시킴으로써, 세포독성T 세포를 유도하는 방법.
- [0032] [19] [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드를 코드하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자를 항원 제시 세포에 형질도입(transduce)하는 공정을 포함하는, 높은 세포독성 T 세포유도 능력을 갖는 항원제시 세포를 유도하는 방법.
- [0033] [20] [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드와 T 세포를 접촉시키는 것에 의하여, 또는, [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 HLA-A24 또는 HLA-A2의 펩티드와 결합하는 TCR 서브유닛(subunit) 폴리펩티드(polypeptide)를 코드하는 핵산을 도입하는 것에 의하여, 유도되는 분리된 세포독성 T 세포
- [0034] [21] HLA항원 및 [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드로 형성된 복합체를 포함하는 항원제시 세포.
- [0035] [22] [21]에 있어서, [17]의 방법에 의하여 유도되는 항원제시 세포.

- [0036] [23] 서열 번호:1, 3 및/또는 5의 유전자를 발현하는 세포의 세포 증식을 저해하기 위한 백신으로, 상기 백신은 활성성분으로 [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 펩티드를 포함하는 백신.
- [0037] [24] [23]에 있어서, 상기 세포는 암 세포인 백신.
- [0038] [25] [24]에 있어서 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직암으로 구성되는 그룹에서 선택되는 백신.
- [0039] [26] HLA항원이 HLA-A24 또는 HLA-A2인 대상에의 투여를 위하여 조제되는, [23]의 백신.
- [0040] [27] 대상에 [1] 내지 [7] 중 하나 이상의 펩티드, 그 면역학적 활성 단편, 또는 상기 펩티드 또는 활성 단편을 코드하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 백신을 투여하는 단계를 포함하는, 서열 번호:1, 3 및/또는 5의 유전자의 과잉발현과 관련된 질환의 치료 또는 예방 방법.
- [0041] [28] [27]에 있어서 상기 질환은 암인 방법.
- [0042] [29] 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 림프종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC 및 연조직암으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 [28]의 방법.
- [0043] 또한, 본 발명은, [19]의 방법에 의하여 제작되는 항원제시 세포와 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 세포 독성 T 세포의 유도 방법을 제공한다.
- [0044] 첨부된 도 및 실시예와 관련하여 하기의 상세한 설명을 보면, 본 발명의 목적 및 특징을 충분히 알 수 있을 것이다. 그러나, 진술한 본 발명의 개요 및 이하의 상세한 설명은 본 발명의 적절한 예일 뿐, 본 발명을 이들 예들로 제한하거나 그 외 대체적인 예들로 제한하려는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

- [0045] 도1A는, IFN- γ ELISPOT 검사법에 의한 에피토프 펩티드의 스크리닝의 결과를 나타내고 있으며, MPHOSPH 1-A24-9-278(서열 번호:7)이 IFN- γ (γ)의 유력한 산물인 것을 증명한다. MPHOSHP1 유래의 이들 펩티드에 대하여 CTL은, 하기의 실시예의 「재료 및 방법」 부분에 기재되어 있는 프로토콜을 따라 제조되었다. 그 결과, 검출가능한 특이적인 CTL활성을 갖는 CTL이 나타났다. 특히, MPHOSPH 1-A24-9-278에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #4의 세포는, 대조군과 비교하여, 펩티드 펄스된 표적세포를 인식하여, 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것으로 나타났다. 도 IB는, 한계 희석(limiting dilution) 후 (MPHOSPH 1-A24-9-278 CTL 클론) CTL 클론의 스크리닝을 위한 IFN- γ ELISOT 분석 결과를 나타낸다. 양성 웰의 세포는 확장되고, 한계 희석되었다. 상기 결과에 나타나듯이, 펩티드 펄스를 하지않은 표적에 대한 활성과 비교하여, 펩티드-펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다.
- 도 2A는, IFN- γ ELISPOT 검사법에 의한 에피토프 펩티드 독성의 스크리닝의 결과를 나타내고 있으며, 이는 MPHOSPH1-A24-10-278(서열 번호:8)이 IFN- γ (γ)의 유력한 산물이라는 것을 보여준다. MPHOSHP1 유래의 이들 펩티드에 대하여 CTL은, 하기의 실시예의 「재료 및 방법」 부분에 기재되어 있는 프로토콜을 따라 제조되었다. 그 결과, 검출가능한 특이적인 CTL활성을 갖는 CTL이 나타났다. 특히, MPHOSPH 1-A24- 10-278에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #8의 세포는, 대조군과 비교하여, 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것으로 나타났다. 도 2B는, 한계 희석(limiting dilution) 후 (MPHOSPH 1-A24- 10-278 CTL 클론) CTL 클론의 스크리닝을 위한 IFN- γ ELISOT 분석 결과를 나타낸다. 양성 웰의 세포는 확장되고, 한계 희석되었다. 상기 결과에 나타나듯이, 펩티드 펄스를 하지않은 표적에 대한 활성과 비교하여, MPHOSPH1-A24-10-278-펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다.
- 도 3A는 MPHOSPH1-A24-9-278로 자극된 CTL 클론의 확립을 보여준다. (서열번호: 7). 이 CTL 클론은 MPHOSPH 1-A24-9-278로 펄스된 표적세포(A24LCL)에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 보여주나, 펩티드로 펄스되지 않은 동일한 표적 세포(A24LCL)에 대하여는 중요한 CTL 활성을 보여주지 않았다. 도3B는, MPHOSPH1-A24-10-278에 의하여 자극받은 CTL 클론(clone)의 확립을 나타낸다. 이 CTL 클론은 MPHOSPH 1-A24-10-278로 펄스된 표적세포(A24LCL)에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 보여주나, 펩티드로 펄스되지 않은 동일한 표적 세포(A24LCL)에

대하여는 중요한 CTL 활성을 보여주지 않았다. R은 반응물(Responder)을 의미한다:CTL 클론, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다:펩티드-펄스된 A24-LCL(1x10⁴/웰).

도4는, HLA-A24를 갖는 표적세포 표면에 있어서 MPHOSPH1-A24-9-278(서열 번호: 7)의 발현을 나타낸다. 전장 MPHOSPH1 유전자 및 HLA-A*2402 분자로 양쪽이 형질전환(transfect)된 COS7에 대하여 특이적인 CTL 활성을, MPHOSPH 1-A24-9-278로 일으킨(raised) CTL 클론을 이펙터(effector) 세포로 사용하여 분석하였다. HLA-A*2402가 아닌, 전장 MPHOSPH1로 형질전환된 COS7 및 전장 MPHOSPH1이 아닌, HLA-A*2402로 형질전환된 COS7이 대조군으로 제조되었다. CTL 클론은 MPHOSPH1 및 HLA-A24 모두로 형질전환된 COS7에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 보였다. 그러나, MPHOSPH1 또는 HLA-A24 어느 것으로도 형질전환되지 않은 COS7에 대하여는 중요한 특이적 CTL 활성을 보이지 않았다. R은 반응물(Responder)을 의미한다:CTL 클론, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다: COS7 형질전환체(1x10⁴/웰).

도 5는, MPHOSPH1를 내생적으로 발현하는 방광암 세포주에 대하여 CTL 활성을 나타낸다. MPHOSPH1-A24-91-278 펩티드에 의하여 유도되어서 확립된 CTL 클론은, MPHOSPH1를 내생적으로(endogenously) 발현되고 있는 종양세포를 인식하였다. HT 1376, RT-4 및 J82 세포는, 내생적으로 각각 MPHOSPH1을 발현하였다. CTL 클론은 HLA-A*2402 유전형(genotype)을 갖는 HT 1376에 대하여 IFN- γ 생산을 보였으나, HLA-A*2402 유전형을 갖지 않는 RT-4 및 J82에 대하여는 반응을 보이지 않았다.

도6은, MPHOSPH1-A24-9278 펩티드를 이용한 인 비보(in vivo) 면역원성 분석을 보여준다. IFA-컨쥬게이트(conjugate)된 펩티드는 0일 및 7일째에 BALB/c 마우스 피하에 접종되었다. 14일째에 백신 접종된 마우스의 비세포(splenocyte)를 채취하여 반응물 세포로 이용하였다. 또한 MPHOSPH 1-A24-9-278 펩티드로 펄스된 1x10⁴의 RLmle1 세포는 IFN- γ ELISPOT 분석에서 자극물(stimulator) 세포로 이용하였다. 스팟 포밍 카운트(Spot forming counts (SFC))는, 각각의 마우스의 경우를 나타낸다;5마리의 마우스(Anil~Ani5)가 에피토프 펩타이드로 백신 접종되고, 음성 대조군으로 3마리의 마우스(negal~nega3)에 가상 IFA 에멀전을 주입하였다.

도 7은 에피토프 펩티드의 스크리닝을 위한 IFN-감마 ELISPOT 결과를 나타내며, 이는 MPHOSPH 1-A2-9-282(서열 번호: 9), MPHOSPH1-A2-9-638(서열번호: 10) 및 MPHOSPH 1-A2- 10- 1714(서열번호: 11)이 유효한 IFN-감마 생산능력을 가진다는 것을 가리킨다. MPHOSPH1 유래의 이들 펩티드들은 하기의 실시예의 "재료 및 방법" 부분에 기재된 프로토콜에 따라 제조되었다. 그 결과 검출 가능한 특정 CTL 활성을 갖는 CTL들이 나타났다. 특히, 도 7A는, MPHOSPH 1-A2-9-282에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #1 및 #5의 세포들이, 대조군과 비교하여, 펩티드 펄스된 표적 세포들을 인식하기에 충분히 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것을 보여준다. 도 7B는, MPHOSPH 1-A2-9-638에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #8의 세포들이, 대조군과 비교하여, 펩티드 펄스된 표적 세포들을 인식하기에 충분히 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것을 보여준다. 도 7C는 MPHOSPH 1-A2-10-1714에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #4의 세포들이, 대조군과 비교하여, 펩티드 펄스된 표적 세포들을 인식하는, 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것을 보여준다.

도 8은, MPHOSPH 1-A02-9-282(서열번호: 9), MPHOSPH1-A02-9-638(서열번호: 10) 및 MPHOSPH1-A02-10-1714(서열 번호: 11)로 자극된 CTL 주(line)의 확립을 보여준다. 양성 웰의 세포들은 확장되며, 그 결과는, 펩티드 펄스되지 않은 표적에 대한 활성에 비하여, MPHOSPH 1-A02-9-282-펄스된 표적(A), PHOSPH1-A02-9-638-펄스된 표적(B) 또는 MPHOSPH 1-A02-10-1714-펄스된 표적(C)에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 주가 확립된 것을 보여준다. R은 반응물(Responder)을 의미한다:CTL 주, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다:펩티드-펄스된 T2(1x10⁴/웰).

도 9A는, 한계 희석(limiting dilution) 후 (MPHOSPH 1-A2-9-282 CTL 클론) CTL 클론의 스크리닝을 위한 IFN- γ ELISOT 분석 결과를 나타낸다. 양성 웰의 세포는 확장되고, 한계 희석되었다. 상기 결과에 나타나듯이, 펩티드 펄스를 하지않은 표적에 대한 활성과 비교하여, MPHOSPH 1-A2-9-282(서열번호: 9)-펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다. 도 9B는 MPHOSPH 1-A02-9-282로 자극된 CTL 클론의 확립을 보여준다. 상기 CTL 클론은 MPHOSPH 1-A2-9-282로 펄스된 표적세포(T2)에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 보여주나, 펩티드로 펄스되지 않은 동일한 표적세포(T2)에 대하여는 중요한 CTL 활성을 나타내지 않았다.R은 반응물(Responder)을 의미한다:CTL 클론, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다:펩티드-펄스된 T2(1x10⁴/웰).

도 10A는 에피토프 펩티드의 스크리닝을 위한 IFN-감마 ELISPOT 결과를 나타내며, 이는 DEPDC 1-A24-9-294(서열번호: 12)가 유효한 IFN-감마 생산능력을 가진다는 것을 가리킨다. DEPDC1 유래의 이들 펩티드들을 위한 CTL은 하기의 실시예의 "재료 및 방법" 부분에 기재된 프로토콜에 따라 제조되었다. 그 결과 검출 가능한 특정 CTL 활성을 갖는 CTL들이 나타났다. DEPDC 1-A24-9-294에 의하여 자극받은 웰(well) 넘버(number) #10의 세포들이,

대조군과 비교하여, 펩티드 펄스된 표적 세포들을 인식하는, 유효한 IFN- γ 를 생산하는 것을 보여준다. 도 10B 는, 한계 희석(limiting dilution) 후 (MDEPDC 1-A24-9-294 CTL 클론) CTL 클론의 스크리닝을 위한 IFN- γ ELISOT 분석 결과를 나타낸다. 양성 웰의 세포는 확장되고, 한계 희석되었다. 상기 결과에 나타나듯이, 펩티드 펄스를 하지않은 표적에 대한 활성과 비교하여, DEPDC 1-A24-9-294-펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다.

도11은, DEPDC 1-A24-9-294 (서열 번호:12)에 의하여 자극된 CTL 클론의 확립을 나타낸다. 이 CTL 클론은 DEPDC 1-A24-9-294에 의하여 펄스 된 표적세포(A24LCL)에 대하여는 특이적으로 높은 CTL 활성을 나타냈지만, 펩티드로 펄스되지 않은 동일한 표적세포(A24LCL)에 대하여는, 유의한 CTL 활성을 보이지 않았다. R은 반응물(Responder)을 의미한다:DEPDC-A24-9-294 CTL 클론, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다:펩티드-펄스된 A24-LCL(1x10⁴/웰).

도12은, HLA-A24를 갖는 표적세포 표면의 DEPDC 1-A24-9-294 (서열 번호: 12)의 발현을 가리킨다. 전장DEPDC1 유전자 및 HLA-A*2402 분자 모두에 의하여 형질전환된 (transfect)된 COS7에 대하여 특이적인 CTL 활성을, 1-A24-9-294로 일으킨(raised) CTL 클론을 이펙터(effector) 세포로 사용하여 분석하였다. 전장 DEPDC1이 아닌, HLA-A*2402로 형질전환된 COS7 및 HLA-A*2402이 아닌, 전장 DEPDC1로 형질전환된 COS7이 대조군으로 제조되었다. DEPDC1 및 HLA- A24 모두로 형질전환된 COS7에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 보인 CTL 클론이 확립되었다. 그러나, DEPDC1 또는 HLA- A24 어느 것으로도 형질전환되지 않은 COS7에 대하여는 중요한 특이적 CTL 활성을 보이지 않았다. R은 반응물(Responder)을 의미한다:DEP- A24-9-294 CTL 클론, S는 자극물(Stimulator)을 의미한다:COS7 형질전환체(1x10⁴/웰).

도13은, DEPDC1을 내생적으로 발현하는 방광암 세포에 대하여 CTL 활성을 나타낸다. DEPDC 1-A24-9-294 펩티드에 의하여 유도된, 확립된 CTL 클론은, DEPDC1을 내생적으로 발현하는 종양세포를 인식하였다. HT1376, RT-4 및 J82 세포는, 각각 내생적으로 DEPDC1을 발현시켰다. CTL 클론은, HLA-A*2402 유전형을 갖는 HT 1376에 대하여 IFN-감마 생산을 보였으나, HLA- A*2402 유전형을 갖지 않은 RT-4 및 J 82에 대하여는 반응을 보이지 않았다.

도 14는, DEPDC 1-A24-9-294를 이용한 인 비보(in vivo) 면역원성 분석을 나타낸다. IFA-콘주게이트된 펩티드는, 0일째 및 7일째에 BALB/c 마우스에 피하 주사되었다. 14일째에, 백신 접종을 받은 마우스의 패세포는 모아져 반응물(responder) 세포로 이용되고, DEPDC 1-A24-9-294 펩티드를 펄스한 Ix 104 RLmale1 세포는 자극자(stimulator) 세포로 IIFN-감마 ELISPOT 분석에 이용되었다. 스팟 형성 카운트(Spot forming counts(SFC))는, 각각의 마우스의 경우에; 5마리의 마우스(Ani1~Ani5)는 에피토프 펩티드로 백신 접종되고, 두 마리 마우스(nega1 and nega2)는 음성 대조군으로 Mock IFA 유액(emulsion)이 주입되었다.

도 15는 에피토프 펩티드의 스크리닝을 위한 IFN-감마 ELISPOT 분석에 의한 DEPDC 1-A02- 10-644, - 10-575, -10-506, -10-765, -10-395, -10-224, -9-297, -10-296 및 -10-302의 유효한 IFN-감마 생산을 보여준다. DEPDC1 유래의 이들 펩티드들에 대한 CTL들은 "재료 및 방법"에 기재되어 있는 방법으로 제조되었다. DEPDC1-A02-10-644로 자극된 웰 넘버 #4 및 #7, DEPDC1-A02- 10-575로 자극된 웰 넘버 #2, DEPDC1-A02-10-506로 자극된 웰 넘버 #7, DEPDC1-A02- 10-765로 자극된 웰 넘버 #1, DEPDC1-A02-10-395로 자극된 웰 넘버 #1, DEPDC1-A02-10-224로 자극된 웰 넘버 #1 및 #2, DEPDC 1-A02-9-297로 자극된 웰 넘버 #4, DEPDC1-A02-10-296로 자극된 웰 넘버 #3 및 #4, DEPDC 1-A02- 10-302로 자극된 웰 넘버 #2, #3, #5 및 #7 내의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 수준의 IFN-감마 생산을 나타냈다.

도 1 6은, DEPDC 1-A02- 10-296 펩티드로 생성된 IFN-감마 생산을 보여준다. DEPDC 1-A02-10-296 펩티드에 의하여 확립된 CTL 주는 유효한 IFN-감마 생산 활성을 갖는다. 그것은 펩티드-펄스된 표적 세포에 대하여는 IFN-감마 생산을 보였으나, 펩티드-펄스되지 않은 표적 세포에 대하여는 그러하지 않았다. 표적 세포는 세포 표면에 HLA-A2 분자가 발현된 T2 세포를 이용하였다.

도 17은 DEPDC1 및 HLA-A2 분자를 내생적으로 발현시키는 표적에 대한 CTL 활성을 보여준다. 윗쪽 도는, DEPDC 1-A02- 10-296 펩티드로 제조된, 확립된 CTL 주가 DEPDC 1V2 및 HLA-A2를 내생적으로 발현시키는 표적 세포에 대하여 IFN-감마 생산 활성을 갖는 것을 보여준다. DEPDC 1-A02-10-296를 이용한 케이스(case)는 아랫쪽 도에 나타나 있다. DEPDC1 V1-9-674 또는 DEP-9-462 펩티드 펄스를 가할 시, HLA- A2만 발현시키는 표적 세포 및 DEPDC 1V2만 발현시키는 표적세포가 음성 대조군으로 준비되었다. 표적세포는 HLA-A2 또는 mock(목)을 안정적으로 발현시키는 HEK293 형질전환체로부터 제조하였다.

도 18은, 케이스 2에 있어서의 항원 발현을 나타낸다. 케이스 2에서, MPHOSPH1 및 DEPDC1은 모두 강하게 발현되

었다. 따라서, MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 2 종류의 에피토프 펩티드가 백신 접종되었다.

도 19는, 케이스 2에 있어서의 방광암의 국소 재발의 임상 평가를 나타낸다. 케이스 2는, RECIST 기준에 의하면 SD로 평가되었다.

도 20은, 케이스 3의 항원 발현을 나타낸다. 케이스 3에서, DEPDC1가 강하게 발현되었다. 그러므로, DEPDC1 유래의 에피토프 펩티드를 단독으로 백신접종 하였다.

도 21은, 케이스 3에서, 전이 폐(metastatic lung) 우엽(right lobe)에 대한 임상 평가를 나타낸다. 이 진행율은 백신 접종 후 저하되었다. 특히, 종양 사이즈는, 제 3 코스(course) 후 감소하였다.

도 22는, 케이스 3에서 전이 폐의 좌엽에 대한 임상평가를 나타낸다. 이 진행율은 백신 접종 후 저하되었다. 특히, 종양 사이즈는, 제3 코스 후 감소하였다.

도 23은, 케이스 3에서의 항암 효과를 나타낸다. 전이성 종양의 진행율은 백신 접종 후 저하되었다.

도 24는, 케이스 3에서의 특이적인 CTL 반응을 나타낸다. 특이적인 CTL 반응은 백신 접종 뒤 강하게 나타났다.

도 25는, 케이스 4에서의 항원 발현을 나타낸다. 케이스 4에서, MPHOSPH1 및 DEPDC1가 발현되었다. 따라서, MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 2 종류의 에피토프 펩티드가 백신 접종되었다.

도 26은, 케이스 4에서의 방광암의 국소 재발에 대한 임상 평가를 나타낸다. 종양 사이즈는, 제1 코스 백신 접종 후 RECIST 기준에 근거하여, 20% 감소하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046]

발명의 상세한 설명

[0047]

본 명세서에서 사용된 "1 개의(a)", "1 개의(an)", 및 "그(the)"라는 단어는, 특별히 별도로 명시하지 않는 한, "적어도 1개"라는 의미이다.

[0048]

별도로 정하지 않는 이상, 본 명세서에서 이용한 모든 기술적 및 과학적인 용어는, 본 발명이 속하는 당업자가 공통적으로 이해하는 것과 동일한 문헌적 의미를 갖는다.

[0049]

새로운 TAA, 특히, 강력하고 특이적인 항암 면역 반응을 유도하는 TAA의 확인으로, 다양한 종류의 암에 있어, 펩티드 백신 전략의 임상 응용에 있어 발전이 가능하다(Boon T et al., (1996) J Exp Med 183: 725-9.; van der Bruggen P et al., (1991) Science 254: 1643-7.; Brichard V et al., (1993) J Exp Med 178: 489-95.; Kawakami Y et al., (1994) J Exp Med 180: 347-52.; Shichijo S et al., (1998) J Exp Med 187:277-88.; Chen YT et al., (1997) Proc.Natl.Acad. Sci.USA, 94: 1914-8.; Harris CC, (1996) J Natl Cancer Inst 88:1442-55.; Butterfield LH et al., (1999) Cancer Res 59:3134-42.; Vissers JL et al., (1999) Cancer Res 59: 5554-9.; van der Burg SH et al., (1996) J. Immunol 156:3308-14.; Tanaka F et al., (1997) Cancer Res 57:4465-8.; Fujie T et al., (1999) Int J Cancer 80:169-72.; Kikuchi M et al., (1999) Int J Cancer 81 : 459-66.; Oiso M et al., (1999) Int J Cancer 81:387-94.). 전술한 바와 같이, MPHOSPH1 (M-phase phosphoprotein 1; GenBank 접근 번호 NM_016195; 서열번호1, 2) 및 DEPDC1 (DEP domain containing 1; GenBank 접근 번호 BM683578), 좀더 구체적으로는 그것들의 두 개의 변이체인, DEPDC1V1 (서열번호 3, 4) 및 DEPDC1V2 (서열번호 5, 6)가 다양한 암에서 과잉발현하는 것으로, cDNA 마이크로어레이를 이용하여, 종래 확인되었다.

[0050]

MPHOSPH1는, 이전 G2/M이행 시 특이적으로 인산화 되는 단백질 가운데 하나로 확인되었으며 플러스 방향 유도 키네신(kinesin) 관련 단백질이라는 특징이 있다(Abaza A et al. J BioI Chern 2003,278:27844-52.). 특히 MPHOSPH1는 세포 분열 시 결정적인 역할을 하는 플러스 방향 유도 분자모터(plus-end-directed molecular motor)로 알려져 있었으며, HeLa 세포에 있어 후기에서 종기까지 동안 방추체의 중간대(midzone)에 집적된다(Abaza A et al., J Biol Chem 2003, 278: 27844-52; Kamimoto T et al., J Biol Chem 2001, 276: 37520-8.).

MPHOSPH1 cDNA 는 세 개의 도메인: NH2-키나신(kinasin) 모터 도메인, 중앙 나선형-나선줄기 도메인, 및 C-구형 꼬리(tail) 도메인으로 구성된 1780-아미노산 단백질을 코딩한다. 이러한 데이터는, MPHOSPH1이 NH2-타입(type) 키네신 관련 단백질이라는 것을 시사한다.

[0051]

DEPDC1 단백질의 기능은 아직도 분명하지 않다. 이 단백질에 포함되는 DEP 도메인은 디셸브드(Dishevelled), Egl-10 및 플렉스트린(Pleckstrin)에서 발견된다. 특히 초파리 디셸브드(dishellved)의 DEP 도메인은 평면 극성 결손(planar polarity defects)을 구제하는데 있어 필수적이며, JNK 신호를 유도한다. 그러나, 인간에 있어 그것의 기능은 아직 명확하지 않다. 그러나, PCT/JP2006/302684에 기재된 바와 같이, DEPDC1(in house No. B5860N)은 각각 DEPDC1 V1 및 V2에 대응하는, 12 및 11 엑손으로 구성된 두 개의 다른 전사 변이체를 갖는다. V1의 엑손 8에 대체 변이가 알려졌으며, 양쪽 변이에 있어 나머지 엑손들은 공통된 것으로 확인되었다. V2 변이는 V1의 엑손 8을 갖고 있지 않으나, 동일한 종결 코돈을 마지막 엑손에 생성시킨다. B5860NV1 및 B5860NV2 변이체의 전장 cDNA 서열은 각각 5318 및 4466 뉴클레오타이드로 구성된다. 이들 변이체들의 ORF는 각각 엑손 1 내에서 시작한다. 결국 V1 및 V2 전사체는 각각 811 및 527 아미노산을 코딩한다. siRNA는 암세포의 증식을 억제한다. 이러한 결과는 DEPDC1이 대부분의 암세포에 있어 그 증식에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

[0052]

PCT/JP2006/302684에 기재된 바와 같이, MPHOSPH1 및 DEPDC1는, 방광암에서 과잉 발현되지만, 정상 조직에서는 경미한 정도로만 발현된다. 또한, 이 유전자는, 세포 증식과 관련하여 중요한 기능을 갖는 것으로 여겨져 왔다.

[0053]

본 발명에 있어서, MPHOSPH1 또는 DEPDC1 유래의 펩티드는, 일본인 및 백인 집단에서 공통적으로 발견되는 HLA 대립유전자인 HLA-A24 및 HLA-A2에 의하여 제한되는 TAA 에피토프를 나타낸다. 특히, HLA-A24 및 HLA-A2에 그것들이 결합하는 특성을 이용하여, MPHOSPH1 또는 DEPDC1 유래의, HLA-A24 및 HLA-A2 결합 펩티드 후보들이 분류되었다. 이들 펩티드들로 부하된(loaded) 수송돌기 세포들에 의하여 T 세포들을 인 비트로(in vitro) 시뮬레이션한 후, CTL들이 MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (서열 번호: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (서열 번호: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (서열 번호: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (서열 번호: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSsKLSNV (서열 번호: 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYELFVNI (서열 번호: 12)), DEPDC1-A2-10-644 (SLMIhTFSRC (서열 번호: 240)), DEPDC1-A2-10-575 (SLLPaSSMLT (서열 번호: 241)), DEPDC1-A2-10-506 (QLCRsQSLLL (서열 번호: 243)), DEPDC1-A2-10-765 (KQFQkEYPLI (서열 번호: 244)), DEPDC1-A2-10-395 (IMGGSCHNLI (서열 번호: 249)), DEPDC1-A2-10-224 (NMANTSKRGV (서열 번호: 253)), DEPDC1-A2-9-297 (ELFVNILGL (서열 번호: 226)), DEPDC1-A2-10-296 (YELFvNILGL (서열 번호: 254)), DEPDC1-A2-10-301 (NILGILQPHL (서열 번호: 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (서열 번호: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (서열 번호: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (서열 번호: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (서열 번호: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDhHQEIL (서열 번호: 228)) 및 DEPDC1-A2-10-302 (ILVvcGYITV (서열 번호: 230))를 이용하여 성공적으로 확립되었다. 이러한 CTL들은, 펩티드 펄스 된 A24LCL 및 T2세포에 대하여, 강력한 세포 독성 활성을 나타냈다. 또한, 이러한 세포 유래의 CTL 클론도, 각각, MPHOSPH1 또는 DEPDC1를 발현하고 있는 HLA-A24 또는 HLA-A2 양성 세포에 대하여 특이적인 세포독성을 나타냈다. 그러나, 이러한 CTL 클론은 HLA-A24, HLA-A2, MPHOSPH1 및 DEPDC1의 펩티드 중 하나만 발현시키는 세포에 대하여는, 세포 독성 활성을 나타내지 않았다. 동시에, 이러한 결과는, MPHOSPH1 및 DEPDC1의 암 세포에 대하여 TAA로서의 유용성을 시사하며, 그리고, MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (서열 번호: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (서열 번호: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (서열 번호: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (서열 번호: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSsKLSNV (서열 번호: 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYELFVNI (서열 번호: 12)), DEPDC1-A2-10-644 (SLMIhTFSRC (서열 번호: 240)), DEPDC1-A2-10-575 (SLLPaSSMLT (서열 번호: 241)), DEPDC1-A2-10-506 (QLCRsQSLLL (서열 번호: 243)), DEPDC1-A2-10-765 (KQFQkEYPLI (서열 번호: 244)), DEPDC1-A2-10-395 (IMGGSCHNLI (서열 번호: 249)), DEPDC1-A2-10-224 (NMANTSKRGV (서열 번호: 253)), DEPDC1-A2-9-297 (ELFVNILGL (서열 번호: 226)), DEPDC1-A2-10-296 (YELFvNILGL (서열 번호: 254)), DEPDC1-A2-10-301 (NILGILQPHL (서열 번호: 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (서열 번호: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (서열 번호: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (서열 번호: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL

(서열 번호: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEEV (서열 번호: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDhHQEIL (서열 번호: 228)) 및 DEPDC1-A2-10-302 (ILVVcGYITV (서열 번호: 230))가, HLA-A24 또는 HLA-A2에 의하여 제한되는 각각의 TAA의 에피토프 펩티드라는 것을 의미한다. 이들 항원이 다양한 암에서 과잉 발현하여, 종양세포 증식에 관여하고 있는바, 이들은 암에 대한 면역 요법의 표적으로 유용하다. 상기 암에는, 예컨대, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암(renal carcinoma), SCLC, 연조직암이 포함되지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0054]

그러므로, 본 발명은 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 이러한 방법은 필요에 따라 대상에, 약 40 아미노산 이하, 가끔은 20 아미노산 이하, 종종 15 아미노산 이하이고, 서열번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 아미노산 서열을 갖는 면역원성 펩티드를 투약하는 단계를 포함한다. 대체하여, 상기 면역원성 펩티드는 서열번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 서열로 구성될 수 있으며, 이 때 변이체가 면역원성을 유지하는 한, 1, 2, 또는 몇몇 (예컨대, 5까지의) 아미노산이 치환, 제거 또는 부가될 수 있다(예컨대, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1CTL 발현 세포, 또는 암에 특이적인 CTL을 유도). 치환, 제거, 또는 부가되는 잔기의 수는, 일반적으로, 5 아미노산 또는 그 미만, 바람직하게는 4 아미노산 또는 그 미만, 보다 바람직하게는 3 아미노산 또는 그 미만, 한층 더 바람직하게는 1 아미노산 또는 2 아미노산이다. 관련된 암으로는 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0055]

변이체 펩티드(즉, 본래의 아미노산 서열에 대하여, 1개, 2개, 또는 몇 개의 아미노산 잔기가 치환, 제거, 또는 부가된 것으로 변형된 아미노산 서열을 포함하는 펩티드)는, 본래의 생물 활성을 유지하는 것으로 알려져 있다 (Mark DF et al. (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81:5662-6. Zoller MJ and Smith M? 1982) Nucleic Acids Res 10):6 487-500. Dalbadie-McFarland et al. 1982) Proc Natl Acad Sci USA 79) :6409-13.).

[0056]

본 발명에 있어서, 아미노산 변형은, 결과적으로, 본래 아미노산 측쇄의 성질을 유지, 보존하는 것이 바람직하다(보존적(Conservative) 아미노산 치환(Conservative)으로 공지의 방법). 아미노산 측쇄의 성질의 예는, 소수성 아미노산(A, I, L, M, F, P, W, Y, v), 친수성 아미노산(R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T), 및 하기의 작용기 또는 특징을 공통적으로 갖는 것을 들 수 있다 :지방족 측쇄(G, A, V, L, I, p) ;히드록시기를 포함한 측쇄(S, T, y) ;황 원자 포함 측쇄(C, M) ;카르복실산 및 아마이드를 포함한 측쇄(D, N, E, Q) ;염기(base)를 포함한 측쇄(R, K, H) ;및 방향족을 포함한 측쇄(H, F, Y, W). 여기서, 괄호 내 영문자는, 아미노산의 한 글자 기호를 나타낸다.

[0057]

바람직한 예에서, 면역원성 펩티드는 노나펩티드(nonapeptide)(9-mer) 또는 데카펩티드(decapeptide)(10-mer)이다.

[0058]

본 발명은 또한 대상에 대하여 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예컨대 암)에 대하여 항암 면역을 유도하는 방법을 제공하며, 상기 방법은, 본 발명의 면역원성 펩티드, 즉 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 아미노산 서열 또는 그 변이체(즉, 1개, 2개, 혹은 몇 개의 아미노산의 치환, 제거, 또는 부가를 포함한다)를 포함하는 펩티드를, 그것을 필요로 하는 대상에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 암에는, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0059]

본 발명이 적용되는, 상기 대상은, 바람직하게는 포유류이다. 전형적인 포유류는, 예를 들면, 인간, 인간 이외 영장류, 마우스, 쥐, 개, 고양이, 말 또는 소를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0060] 본 발명에 있어서, 상기 펩티드는, 인 비보 또는 엑스 비보(ex vivo) 프로토콜로 투여할 수 있다. 또한 본 발명은, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예컨대 암)의 치료 또는 예방하기 위한 면역원성 조성물을 제조하기 위한 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 및 255의 아미노산 서열(및 그 변이체)을 포함하는 펩티드로부터 선택되는 노나펩티드 또는 데카펩티드의 용도를 제공한다. 본 발명이 적용되는 상기 암에는, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0061] MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (서열 번호: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEyIYDLF (서열 번호: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (서열 번호: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (서열 번호: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSsKLSNV (서열 번호: 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (서열 번호: 12)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (서열 번호: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLRMISRM (서열 번호: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (서열 번호: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (서열 번호: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDhHQEIL (서열 번호: 228)), DEPDC1-A2-10-302 (ILVvcGYITV (서열 번호: 230)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIhTFSRC (서열 번호: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPaSSMLT (서열 번호: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRsQSLLL (서열 번호: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQkEYPLI (서열 번호: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (서열 번호: 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANtSKRGV (서열 번호: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (서열 번호: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFvNILGL (서열 번호: 254)) 및 DEPDC1-A02-10-301 (NILGILQPHL (서열 번호: 255))의 상동성 분석 결과, 이들은 알려진 인간 유전자 산물 유래의 펩티드들과 큰 상동성은 갖지 않은 것으로 나타났다. 그러므로, 이들 분자에 대하여 면역치료 시 알려지지 않았거나 바람직하지 않은 면역 반응의 가능성은 크게 감소된다.

[0062] HLA 항원과 관련하여, 여기 기재된 데이터는 A-24 타입 또는 A-2 타입 항원(일본인들에게서 높게 발현하는 것으로 알려져 있음)의 용도가 효과적인 결과를 얻게 바람직하다는 것을 보여준다. A-2402 및 A-0201과 같은 서브타입의 용도는 더욱 바람직하다. 전형적으로, 임상에서, 치료를 요하는 환자의 HLA 항원이 미리 조사되었다. 일반적으로, 임상에 있어서, 치료를 요하는 환자의 HLA항원의 타입을 미리 조사할 수 있어, 환자 항원에 대하여 높은 결합 능력을 갖거나, 또는 항원 제시에 의한 세포독성 T 세포(CTL) 유도 능력을 갖는 적절한 펩티드의 선택을 가능하게 한다. 게다가, 높은 결합 친화성 및 CTL 유도 능력을 갖는 펩티드를 얻기 위하여, 천연에 존재하는 MPHOSPH1 및 DEPDC1의 펩티드 조각의 아미노산 서열에 근거하여, 1개, 2개, 또는 몇 개의 아미노산을 치환, 제거, 또는 부가할 수 있다. 본 명세서에서, "몇 개의"라고 하는 용어는, 5개 또는 그 미만, 보다 바람직하게는 3개 또는 그 미만을 가리킨다. 또한 천연에 나타나는 펩티드에 대하여, HLA 항원과의 결합에 의하여 나타나는 펩티드들의 서열의 규칙성(Kubo RT, et al., Immuno 1.(1994), 152, 3913-24. Rammensee HG, et al., (1995) Immunogenetics. 41:178-228.; Kondo A, et al., (1995)]. Immuno 1.155:4307-12.)이 이미 알려져 있기 때문에, 본 발명의 면역원성 펩티드들에 이러한 규칙성에 기초한 변형을 일으킬 수 있다. 예컨대, N 말단에서 2번째의 아미노산이 페닐알라닌(phenylalanine), 티로신(tyrosine), 메티오닌(methionine), 또는 트립토판(tryptophan)으로 치환되고, 높은 HLA-A2 결합 친화성을 나타내는 펩티드는 유리하게 이용할 수 있다. 또한, C 말단의 아미노산이 페닐알라닌(phenylalanine), 류신(leucine), 이소류신(isoleucine), 트립토판(tryptophan), 또는 (methionine)으로 치환된 펩티드도 유리하게 이용할 수 있다. 한편, N 말단에서 2번째 아미노산이 류신(leucine) 또는 메티오닌(Methionin)에 의하여 치환된 펩티드, 및 C 말단 아미노산이 발린(Valine) 또는 류신(leucine)으로 치환된 펩티드를 갖고, 높은 HLA-A2 결합 능력을 갖는 펩티드도 유용하게 이용할 수 있다. 아울러, 펩티드의 N 말단 및/또는 C 말단에 1 또는 2개의 아미노산이 추가될 수 있다. 하고 있는 펩티드는 유리하게 이용할 수 있을 수 있다.

[0063] 다른 기능을 갖는 내생성 또는 외인성 단백질의 아미노산 서열 부분과 펩티드 서열이 동일할 경우, 특정 물질에 대한 알레르기 통증, 자가면역 장애와 같은 부작용이 야기될 수 있다. 그러므로, 면역원성 서열이 공지된 단백질 아미노산 서열과 일치하는 경우는 피하는 것이 바람직하다. 이러한 경우는, 이용가능한 데이터베이스를 이용해서 상동성검색을 수행함으로써 피할 수 있다. 상동성 검색으로, 1개, 2개, 또는 몇 개의 아미노산이 다른 펩

티드가 존재하지 않는 것이 확인될 경우, 예컨대 HLA항원과의 결합 친화성을 증가시키거나 또는 CTL 유도 능력을 증가시키는 상기 아미노산 서열 또는 양자 모두를 증가시키는 아미노산 서열의 변이에 의한 위험성을 피할 수 있을 수 있다.

[0064]

[0065]

상기와 같이, HLA 항원에 대하여 높은 결합 친화성을 갖는 펩티드는, 암 백신으로 상당히 효과적인 것으로 기대되지만, 높은 결합 친화성의 존재를 지표로 하여, 이에 따라 선택되는 후보 펩티드는, 실제의 CTL 유도 능력의 존재 유무에 대하여 조사할 필요가 있다. CTL 유도 능력은, 사람 MHC 항원을 갖는 항원 제시 세포(예를 들면, B 임파구(B-lymphocytes), 마크로파지(macrophages) 및 수상돌기 세포), 또는보다 구체적으로는 사람 말초 혈액 단핵 백혈구(peripheral blood mononuclear leukocyte) 유래의 수상돌기 세포를 유도하고, 후보 펩티드에 의하여 자극한 후, CD8 양성 세포와 혼합하여, 표적 세포에 대한 세포 독성 활성을 측정함으로써 확인할 수 있다. 반응계로서 사람 HLA 항원을 발현시키도록 제작된 트랜스제닉(transgenic) 동물(예를 들면 BenMohamed L, et al., (2000) Hum. Immunol.; 61(8):764-79 Related Articles, Books, Linkout.에 기재된 것)이 이용될 수 있다. 예를 들면, 표적 세포는, ⁵¹Cr 등으로 방사성 표지를 할 수 있으며, 세포 독성 활성은, 표적 세포로부터 방출된 방사능으로 계산할 수 있다. 혹은 고정화(immobilized) 펩티드를 갖는 항원 제시 세포의 존재 하, CTL에 의하여 생산 및 방출된 IFN-감마를 측정하고, 항-IFN-감마 단핵 항체를 이용하여 배지의 저해 영역(inhibition zone)을 가시화함으로써 당해 표적 세포를 조사할 수 있다.

[0066]

전술한 것과 같이 펩티드의 CTL 유도 능력을 조사한 결과, HLA 항원에 대하여 높은 결합 능력을 갖는 펩티드가 반드시 높은 유도 능력을 갖는 것은 아니라는 것이 확인되었다. 그러나 IYNEYIYDL (서열 번호: 7), IYNEYIYDLF (서열 번호: 8), YIYDLFVPV (서열 번호: 9), RLAIKDLV (서열 번호: 10), TMSSKLSNV (서열 번호: 11), EYYELFVNI (서열 번호: 12), LLQPHLERV (서열 번호: 192), LLMRMISRM (서열 번호: 195), LLTFEYEL (서열 번호: 197), RLCKSTIEL (서열 번호: 209), CVLCCAEV (서열 번호: 225), FLMDhHQEIL (서열 번호: 228), ILVvGYITV (서열 번호: 230) DEPDC1-A02-10-644 (SLMIhTFSRC (서열 번호: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPaSSMLT (서열 번호: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRsQSLLL (서열 번호: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQkEYPLI (서열 번호: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (서열 번호: 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (서열 번호: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (서열 번호: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFvNILGL (서열 번호: 254)) 및 DEPDC1-A02-10-301 (NILGILQPHL (서열 번호: 255))로 구성된 군으로부터 선택된 노나펩티드 또는 데카펩티드는, 특히 높은 CTL 유도능력을 보였다.

[0067]

상기와 같이, 본 발명은 세포 독성 T 세포 유도능력을 가진 펩티드, 즉, 서열 번호: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 혹은 255의 아미노산 서열 또는 그 변이체(즉, 1개, 2개, 또는 몇 개의 아미노산이 치환, 제거, 또는 부가된 아미노산 서열)를 포함한 펩티드를 제공한다. 서열 번호: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255로 표시된 9 아미노산 또는 10 아미노산을 포함한 아미노산 서열 또는 그러한 변이체는, 다른 내인성 단백질과 관련된 아미노산 서열과 일치하지 않는 것이 바람직하다. 특히, N말단으로부터 2번째 아미노산에 있어서 류신 또는 메티오닌으로의 아미노산 치환, 또는 C 말단 아미노산에 있어서 발린 또는 류신으로의 아미노산 치환, 및 N말단 및/혹은 C말단에 있어서의 1 또는 2개 아미노산의 아미노산 부가가, 바람직한 예이다. 당업자는 아미노산 치환 및 부가에 더하여, 펩티드들의 면역학적으로 활성인 조각 또한 본 발명의 방법에 이용될 수 있다는 것을 알 것이다. 활성 조각을 결정하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 이러한 변이 펩티드에 의한 자극에 의하여 얻을 수 있는 CTL 클론은, 원래의 펩티드를 인식할 수 있어 본래의 펩티드를 발현하고 있는 세포에, 피해(damage)를 줄 수 있다.

[0068]

본 발명의 펩티드는, 공지 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 예컨대, 당해 펩티드는, 재조합 DNA 기술 또는 화학 합성을 이용하여 합성함으로써 조제할 수가 있다. 본 발명의 펩티드는, 각각 합성될 수도 있고 2개 혹은 그 이상의 펩티드를 포함하는 보다 긴 폴리펩티드로 합성될 수도 있다. 본 발명의 펩티드는, 예컨대 다른 자연적으로 존재하는 숙주 세포 단백질 및 그 조각을 실질적으로 포함하지 않는, 분리된 것이 바람직하다.

- [0069] 본 발명의 펩티드는, 그 변형이 본 명세서에 기재된 것과 같은 펩티드의 생물 활성, 즉, HLA 항원에 결합하는 능력이나 CTL를 유도하는 능력을 파괴하지 않는 한, 글리코실화(glycosylation), 측쇄 산화(side chain oxidation), 또는 인산화(phosphorylation)와 같은 변형을 포함한다. 다른 변형은, 예를 들면, 펩티드의 혈청 반감기를 증가시키기 위하여 이용할 수가 있는, D-아미노산 또는 다른 아미노산 모방체의 도입(incorporation)을 포함한다. 혼잡을 포함한다.
- [0070] 본 발명의 펩티드는, 인 비보에서 CTL을 유도할 수 있는 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)에 대한 백신으로 사용하기 위하여, 본 발명의 펩티드를 2개 또는 그 이상 포함한 조합으로 제조될 수 있다. 이 때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이것들로 제한되는 것은 아니다. 당해 펩티드는, 각테일이어도 가능하고 표준적인 기술을 이용하여 서로 컨주게이트된 것도 괜찮다. 예를 들면, 당해 펩티드는, 단일 폴리펩티드 서열로 발현될 수 있다. 컨주게이트될 경우 당해 펩티드는 동일한 것일 수도 있고 다른 것일 수도 있다. 본 발명의 펩티드를 투여함으로써, 펩티드는 항원 제시 세포의 HLA 항원 상에 있어 고밀도로 제시되고, 계속하여, 제시된 펩티드와 HLA 항원의 사이에 형성된 복합체에 대하여 특이적으로 반응하는 CTL를 유도한다. 혹은, 대상으로부터 수상돌기 세포를 제거함으로써 얻은, 본 발명의 펩티드를 그 세포 표면에 고정화하고 있는 항원 제시 세포가, 본 발명의 펩티드에 의하여 자극될 수 있다. 각각의 대상에 이 세포들을 재투여함으로써 CTL를 유도하고, 그 결과, 표적 세포에 대한 공격성을 증가시킬 수 있다.
- [0071] 보다 구체적으로, 본 발명은, 본 발명의 펩티드를 1개 또는 복수 개 포함한, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)을 치료하거나, 또는 종양의 증식, 전이 등을 예방하기 위한 의약을 제공한다. 본 발명의 이 펩티드는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)의 치료를 위한 특정 용도를 제공한다. 이 때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0072]
- [0073] 본 발명의 펩티드는, 종래의 제조 방법에 의하여 제조한 약학적 조성물로 대상에 직접 투여할 수 있다. 그러한 경우, 본 발명의 펩티드에 추가하여, 의약에 통상 이용되는 담체, 부형제 등을, 특별한 제한없이 필요에 따라 포함할 수 있다. 본 발명의 면역원성 조성물은, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환의 치료 및 예방을 위하여 이용될 수 있다. 이 때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0074] 활성 성분으로서 본 발명의 펩티드를 1개 또는 복수 개 포함한, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)의 치료 및/또는 예방을 위한 면역원성 조성물은 세포성 면역을 효과적으로 확립하기 위하여 아쥘반트(ajuvant)를 추가로 포함할 수가 있다. 또는, 당해 조성물은 항암제와 같은 다른 활성 성분과 함께 투여될 수 있다. 이 때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 적절한 제형으로는 과립(granule)이 포함된다. 저절 한 아쥘반트는 문헌(Johnson AG. (1994) Clin. Microbiol. Rev., 7:277-89.)에 기재되어 있다. 아쥘반트의 예로는, 인산 알루미늄, 수산화 알루미늄, 및 백반(alum)을 포함하지만, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 또한 약물이 수 마이크로미터(few-micrometer) 직경 비드(beads)에 결합할 수 있는 리포솜 제제(formulation), 과립 제제, 및 액체가 펩티드에 결합하고 있는 제제가 편리하게 이용될 수 있다. 투여 방법은, 경구투여, 피내 주사, 피하 주사, 정맥 내 주사 등이 될 수 있으며, 전신 투여 또는 표적 종양 부근에의 국소 투여를 포함할 수 있다. 본 발명의 펩티드의 용량은, 치료해야 할 질환, 환자의 연령, 체중, 투여 방법 등에 따라 적절히 조정될 수 있다. 용량은, 보통 0.001 mg에서 1000 mg, 바람직하게는 0.01 mg에서 100 mg, 더욱 바람직하게는 0.1 mg에서 10 mg이며, 바람직하게는 며칠에 1 회부터 수 개월에 1회 씩 투여되지만, 당업자는 적절한 용량 및 투여의 방법을 용이하게 선택할 수가 있어 이러한 파라미터(parameter)의 선

택 및 최적화는, 충분히 통상의 기술의 범위 내이다.

- [0075] 본 발명은 또한 본 발명의 펩티드와 HLA 항원으로 형성된 복합체를 그 표면에 제시하는 엑소솜(exosomes)으로 불리는 세포내 소포(intracellular vesicles)를 제공한다. 엑소솜은, 예컨대 국제 공개되어 일본어로 번역되어 공개된 국제공개 11-510507호 및 2000-512161호의 공보에 상세하게 기재된 방법을 이용하여 제조할 수 있으며, 바람직하게는 치료 및/또는 예방의 표적인 대상으로부터 얻을 수 있는 항원 제시 세포를 이용하여 제조된다. 본 발명의 엑소솜은, 본 발명의 펩티드와 함께, 암 백신으로서 백신 접종 할 수 있다.
- [0076] 본 발명에서 이용되는 HLA 항원의 형태는, 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 대상의 HLA 항원의 형태와 일치해야 한다. 예를 들면, 일본인 집단에 대하여는, 대부분의 경우, HLA-A24 또는 HLA -A2, 특히 HLA-A2402 또는 HLA-A0201가 적당하다.
- [0077] 몇몇 예에서, 본 발명의 백신 조성물은, 세포 독성 T 임파구를 자극하는 성분(component)을 포함한다. 지질은 바이러스 항원에 대하여 인 비보로 CTL를 컷히 자극하는 능력이 있는 작용 물질로 확인되었다. 예를 들어, 팔미틴산(palmitic acid)잔기는, 리신 잔기의 엡실론-앤드 알파-아미노(epsilon-and alpha-amino) 그룹에 부착하여, 본 발명의 면역원성 펩티드에 연결할 수 있다. 지방질화 펩티드는, 그 후, 직접 투여하거나 마이셀(micelle) 또는 입자(particle) 내에 넣어, 리포솜에 주입시키거나, 아쥘반트에 유화시킬 수 있다. CTL 반응의 지질 자극의 또다른 예로는, 적절한 펩티드에 공유결합적으로 부착하는 경우 트리팔미토일-에스-홀리세길치스테이닐세릴-세린(tripalmitoyl-S-glycerylcysteinylserine (P3CSS))과 같은 대장균 지질단백질(lipoprotein)이 CTL을 자극하는데 이용될 수 있다(예를 들면, Deres K, et al. (1989) Nature 342 : 561-4 참조).
- [0078] 본 발명의 면역원성 조성물은 또한 본 명세서에 개시된 1개 또는 복수 개의 면역원성 펩티드를 코드하는 핵산을 포함한다. 예컨대 Wolff JA et al., (1990) Science 247:1465-8; U.S. Patent Nos. 5,580,859; 5,589,466; 5,804,566; 5,739,118; 5,736,524; 5,679,647; 및 WO 98/04720 참조. DNA에 기초한 전달 기술의 예는 "네이키드 DNA(naked DNA)", 촉진된(facilitated)(부피비카인(bupivacaine), 폴리머(polymer), 펩티드-중개) 전달, 양이온 지질 복합체 및 입자-중개("유전자 총(gene gun)") 또는 압력-매개 전달(예컨대 미국 특허 5,922,687)를 포함한다.
- [0079]
- [0080] 또한 본 발명의 면역원성 펩티드는 바이러스 또는 박테리아 벡터에 의하여 발현될 수 있다. 적절한 발현 벡터의 예는 우두(vaccinia) 또는 계두(fowlpox)와 같은, 약독화된 바이러스 숙주를 포함한다. 이러한 접근은, 예를 들면, 펩티드를 코드하는 뉴클레오티드 서열을 발현시킬 수 있는 벡터로서와 같은, 우두 바이러스의 용도를 포함한다. 숙주에 도입함에 따라, 재조합 우두 바이러스는, 면역원성 펩티드를 발현시킴으로써 면역 응답을 유발한다. 면역화 프로토콜에 대하여 유용한 우두 벡터 및 방법은, 예를 들면, 미국 특허 제 4,722,848호에 기재되어 있다. 그 밖에 적합한 또다른 벡터는 BCG(Bacille Calmette Guerin)다. BCG 벡터는 Stover CK, et al., (1991) Nature 351:456-60에 기재되어 있다. 치료적 투여 또는 면역화에 유용한 넓은 종류의 다른 벡터, 예를 들면, 아데노 및 아데노 수반 바이러스 벡터, 레트로 바이러스 벡터, 살모넬라 타이피(Salmonella typhi) 벡터, 해독화 탄저 독소 벡터(detoxified anthrax toxin vector) 등이, 당해 기술 분야에 있어 공지이다. 예컨대 Shata MT, et al., (2000) MoI. Med. Today 6:66-71; Shedlock DJ and Weiner DB., et al., (2000) J. Leukoc. Biol. 68:793-806; 및 Hipp JD, et al., (2000) In Vivo 14:571-85 참조.
- [0081] *본 발명은 또한, 본 발명의 1개 또는 복수 개의 펩티드를 이용하여 항원 제시 세포를 유도하는 방법을 제공한다. 항원 제시 세포는, 말초 혈액 단핵세포로부터 수상돌기 세포를 유도하고, 이들을, 인 비트로, 엑스 비보, 또는 인 비보에서 본 발명의 하나 또는 그 이상의 펩티드와 접촉(자극)시킴으로써 유도할 수 있다. 본 발명의 펩티드를 대상에 투여하면, 본 발명의 펩티드가 고정된 항원 제시 세포가 대상의 체내에서 유도된다. 또는, 본 발명의 펩티드를 항원 제시 세포에 고정화한 후, 세포를 백신으로서 대상에 투여할 수 있다. 예를 들면, 엑스

비보 투여는 하기의 단계를 포함할 수 있다:

[0082]

a:대상으로부터 항원 제시 세포를 수집하는 단계, 및

[0083]

b:단계 a의 항원 제시 세포를 본 발명의 펩티드와 접촉시키는 단계.

[0084]

단계 b에서 얻을 수 있는 항원 제시 세포는, 백신으로서 대상에 투여할 수 있다.

[0085]

본 발명은 또한, 높은 수준의 세포 독성 T 세포 유도 능력을 갖는 항원 제시 세포를 유도하기 위한 방법으로, 인 비트로에서 본 발명의 1개 또는 복수의 펩티드를 코드 하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 유전자를 항원 제시 세포에 도입(transfer)하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 도입되는 유전자는, DNA 또는 RNA의 형태일 수 있다. 이러한 도입의 방법에는 특별한 제한은 없으며, 리포펙틴(lipofection), 일렉트로-포레이션(electroporation) 및 인산 칼슘 방법(calcium phosphate method) 등 당업계에서 통상 수행되는 여러 가지 방법이 적절히 이용될 수 있다. 보다 자세히는, 상기 주입은 Reeves ME, et al., (1996) Cancer Res., 56:5672-7.; Butterfield LH, et al., (1998) J. Immunol., 161:5607-13.; Boczkowski D, et al., (1996) J. Exp. Med., 184:465-72.; 국제 공개 2000-509281호로 일본어 번역판으로 공개된 것에 기재된 대로 수행될 수 있다. 유전자를 항원 제시 세포에 도입함으로써, 상기 유전자는 상기 세포 내에서 전사, 번역 등을 거치게 되며, 그 결과 얻어진 단백질은 MHC 클래스(class) I 또는 클래스 II에 의하여 프로세싱되고, 제시된 경로를 진행하여, 부분 펩타이드를 제시하게 된다.

[0086]

본 발명은 또한 본 발명의 하나 또는 그 이상의 펩티드를 이용하여 CTL를 유도하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 펩티드가 대상으로 투여될 경우, 대상의 체내에서 CTL이 유도되며, 이에 따라 예컨대 종양 조직 내의 암 세포와 같은 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1를 발현하는 세포를 표적으로 하는 면역 체계의 강도가 강해진다. 이 때 상기 암에는 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다. 또는, 본 발명의 펩티드는 대상 유래의 항원 제시 세포 및 CD8 양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포가, 인 비트로에서, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 펩티드와 접촉(자극)되어, CTL를 유도한 후, 세포를 대상에 되돌리는, 엑스 비보 치료 방법과 관련하여 이용할 수 있다.

[0087]

예를 들면, 본방법은 이하의 단계를 포함할 수 있다:

[0088]

a:대상으로부터 항원 제시 세포를 수집하는 단계,

[0089]

b:단계 a의 항원 제시 세포를 본 발명의 펩티드와 접촉시키는 단계,

[0090]

c :세포 독성 T 세포를 유도하기 위해서, 단계 b의 항원 제시 세포를 CD8 양성 T 세포와 혼합하여 함께 배양하는 단계, 및

[0091]

d:단계 C의 함께 배양된 배양물로부터 CD8 양성 T 세포를 수집하는 단계.

[0092]

단계 d에 의하여 얻을 수 있는 세포 독성 활성을 갖는 CD8 양성 T 세포는, 백신으로서 대상에 투여할 수 있다.

[0093]

본 발명은 또한, 본 발명의 펩티드를 이용하여 활성화된 세포 독성 T 세포를 생산하는 방법을 제공한다. 예를 들면, 상기 방법은, 하기 단계를 포함할 수 있다:

[0094]

a:대상으로부터 T 세포를 수집하는 단계, 및

[0095]

b:T 세포를 이하의 펩티드와 접촉시키는 단계.

[0096]

(1) 서열번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 및 255의 아미노산 서열을 갖는 펩티드들로 구성된 군으로부터 선택되는 약 15 아미노산 미만의 분리된 펩티드.

- [0097] (2) 1, 2, 또는 몇몇의 아미노산이 치환, 제거 또는 부가된 서열번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 및 255로 구성된 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지며, 세포독성 T 세포 유도능력을 갖는 펩티드.
- [0098] 본 발명은 또한, 본 발명의 펩티드를 이용하여 활성화된 T 세포의 유도 능력을 갖는 APC를 생산하는 방법을 제공한다. 예를 들면, 당해 방법은, 표면 상에 펩티드 및 HLA 항원을 제시하는 항원 제시 세포를 생산하기 위하여 펩티드와 항원 제시 세포를 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0099] 본 발명에서, "활성화된 세포 독성 T 세포"는, IFN-감마 생산, IFN-감마 방출, 및 종양세포의 세포사를 유도한다.
- [0100] 본 발명은 또한, 본 발명의 펩티드를 이용하여 유도된, 분리된 세포 독성 T 세포를 제공한다. 본 발명의 하나 또는 복수의 펩티드를 제시하는 항원 제시 세포로 자극하여 유도한 세포 독성 T 세포는, 바람직하게는, 치료 및/또는 예방의 표적인 대상으로부터 유래되며, 단독으로, 또는 본 발명의 1개 혹은 복수의 펩티드 또는 항암 활성을 갖는 엑소솜을 포함한 다른 약물과 조합하여 투여할 수 있다. 상기 세포 독성 T 세포는, 본 발명의 펩티드, 또는 바람직하게는 유도에 이용된 것과 동일한 펩티드를 제시하는 표적 세포에 대하여 특이적이다. 표적 세포는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1를 내생적으로 발현하는 세포 또는 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1 유전자가 형질 전환된 세포일 수 있다. 이들 펩티드들로 자극하여, 세포 표면에 본 발명의 펩티드를 제시하게 된 세포 또한 공격의 표적이 될 수 있다.
- [0101] 본 발명은 또한, HLA 항원과 본 발명의 1개 또는 복수 개의 펩티드와의 사이에 형성된 복합체를 제시하는 항원 제시 세포를 제공한다. 본 발명의 펩티드 또는 그러한 펩티드를 코드 하는 뉴클레오티드로 접촉시켜 얻을 수 있는 항원 제시 세포는, 바람직하게는, 치료 및/또는 예방의 표적인 대상으로부터 유래하며, 단독으로, 또는 본 발명의 펩티드, 엑소솜, 또는 세포 독성 T 세포를 포함한 다른 약물과 조합하여, 백신으로서 투여한다
- [0102] 본 발명은 또한, T 세포 수용체(T cell receptor (TCR))의 서브유닛을 구성할 수가 있는 폴리펩티드를 코드하는 핵산을 포함하는 조성물 및 그것을 이용하는 방법을 제공한다. 해당 TCR 서브유닛은, MPHOSPH1 또는 DEPDC1를 제시하는 종양세포에 대하여 T 세포를 특이적인 TCR을 형성하는 능력을 갖는다. 당업계에 이미 알려진 방법을 이용함으로써, 본 발명의 1개 또는 복수의 펩티드로 유도된 CTL의 TCR 서브유닛으로, 알파- 및 베타- 사슬의 뉴클레오티드가 확인될 수 있다(WO2007/032255 및 Morgan et al., J Immunol, 171, 3288 (2003)). 유도체(derivative) TCR는, 바람직하게는 높은 결합 활성으로 MPHOSPH1 또는 DEPDC1 펩티드를 제시하는 표적 세포와 결합하여, 인 비보 및 인 비트로에서 MPHOSPH1 또는 DEPDC1 펩티드를 제시하고 있는 표적 세포의 효과적인 살상을 증대한다.
- [0103] *TCR 서브유닛을 코드하는 핵산은, 예컨대 레트로바이러스 벡터와 같은, 적절한 벡터에 삽입할 수 있다. 이러한 벡터는, 당업계에 있어 이미 알려져 있다. 일반적으로 이들로 구성된 벡터 또는 핵산은 T 세포에 형질전환할 수 있으며, 이때 T 세포는 환자에게서 유래한 것이 바람직하다. 또한, 본 발명은, 뛰어난 암세포 살상 능력을 가지는 변형된 T 세포를 신속하면서도 쉽게 공급하기 위하여, 환자 자신의 T 세포(또는 다른 포유류의 그것들)을 신속히 변형시킬 수 있는 오프-더-셀프(off-the-shelf)조성물을 제공한다.
- [0104] 또한, 본 발명은, MPHOSPH1 또는 DEPDC1 펩티드(예를 들면, HLA-A 24 또는 HLA-A2와 관련하여 서열 번호: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 or 255이다)와 결합하는 TCR 서브유닛 폴리펩티드를 코드하는 핵산을 형질도입(transduction)하여 제조된 CTL를 제공한다. 형질도입된 CTL는, 인 비보에서 암 세포로 유도(homing)될 수 있으며, 인 비트로에서 공지의 배양 방법에 의하여 확장된다(예컨대, Kawakami et al., J Immunol., 142, 3452-3461 (1989)). 본 발명의 T 세포는, 치료 또는 보호를 요하는 환자의 암 치료 또는 예방에 도움이 되는 면역원성 조성물을 제조하는데 이용할 수 있다

(W02006/031221).

- [0105] 본 발명에 있어서, 「백신」이라고 하는 용어(면역원성 조성물이라고도 호칭한다)는, 동물에 접종 시, 항암면역을 유도하거나 암을 억제하는 물질을 가리킨다. 본 발명에 있어서, 서열 번호: 7, 8 또는 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는 HLA-A24로 제한되는 에피토프 펩티드이며, 또한 서열 번호: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 그것은, 예컨대 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1를 발현시키는 암세포와 같이, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1을 발현시키는 세포에 대하여 유효하고 특이적인 면역 반응을 유도할 수 있는 HLA-A2로 제한되는 에피토프 펩티드이다. 이때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC, 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 그러므로, 본 발명은 또한, 서열 번호 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 또는 255의 아미노산 서열 또는 그 변이체(즉, 1, 2 또는 몇 개의 아미노산이 치환, 결실, 또는 부가된 것을 포함한다)를 갖는 폴리펩티드를 이용하여 항암 면역을 유도하는 방법을 포함한다.
- [0106] 일반적으로, 항암 면역은, 하기와 같은 면역 응답을 포함한다:
- [0107] -MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1를 발현하는 세포를 포함하는 종양에 대한 세포 독성 임파구의 유도,
- [0108] -MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1를 발현하는 세포를 포함하는 종양을 인식하는 항체의 유도, 및
- [0109] -항암 사이토카인(cytokine) 생산의 유도.
- [0110] 따라서, 특정의 펩티드를 동물에 백신 접종하여 이러한 면역 반응들 중 하나를 유도하는 경우, 상기 펩티드는 항암 면역 유도 효과가 있다고 결정된다. 펩티드에 의한 항암 면역의 유도는, 인 비보 또는 인 비트로에서, 펩티드에 대한 숙주의 면역계의 반응을 관찰함으로써 확인할 수 있다.
- [0111]
- [0112] 예를 들면, 세포 독성 T 임파구 유도를 검출하는 방법은 공지이다. 생체에 침입하는 이물질(foreign substance)은, 항원 제시 세포(antigen-presenting cells, APC)의 작용에 의하여, T 세포 및 B 세포에 제시된다. 항원 특이적인 양식(manner)에서 APC에 의하여 제시된 항원에 반응하는 T 세포는, 항원에 의한 자극에 의하여, 세포 독성 T 세포(세포 독성 T 임파구 또는 CTL이라고도 불린다)로 분화하고, 그 후 증식한다;이 과정은, 본 명세서에서는, T 세포의 「활성화」라고 불린다. 따라서, 특정 펩티드에 의한 CTL 유도는, 하기에 의하여 평가할 수 있는:APC에 의하여 T 세포에 펩티드를 제시하고, CTL 유도를 검출함에 따라 평가할 수 있다. 게다가 APC는, CD 4+T 세포, CD8+T 세포, 마크로파지, 호산구(eosinophils), 및 NK세포를 활성화하는 효과를 갖는다.
- [0113] CD 4+T 세포는 또한 항종양면역에 있어 중요하기 때문에, 펩티드의 항암 면역 유도 작용은, 이들 세포의 활성화 효과를 지표로 이용하여 평가할 수 있다.
- [0114] 수상돌기 세포(DC)를 APC로 이용하여 CTL의 유도 작용을 평가하는 방법은, 당해 기술 분야에 있어 주지이다. DC는, APC 중 가장 강한 CTL 유도 작용을 갖는, 대표적인 APC이다. 이 방법에서는, 시험 폴리펩티드를 최초로 DC에 접촉시키고, 그 후, 당해 DC를 T 세포와 접촉시킨다. DC와 접촉 후, 대상이 되는 세포에 대하여 세포 독성 효과를 갖는 T 세포의 검출은, 시험된 폴리펩티드가 세포 독성 T 세포를 유도하는 활성을 갖는다는 것을 의미한다. 암에 대한 CTL의 활성은, 예를 들면, ⁵¹Cr-표지된 암세포의 용해를 지표로 이용하여 검출할 수 있다. 또는, 3H-티미딘(thymidine) 흡수(uptake) 활성 또는 LDH(lactose dehydrogenase) 방출을 지표로 이용하여 암세포 손상의 정도를 평가하는 것도 이미 알려져 있다. 또한 ELISPOT 분석과 같은 항-IFN-감마 감마 항체를 이용하여 시각화함으로써, 고정화한 펩티드를 수반한 항원 제시 세포의 존재하, CTL에 의하여 생산 및 방출되는 IFN-감마를 측정함으로써 검출할 수도 있다.
- [0115] DC와는 별도로, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 또한, APC로 이용될 수 있다. CTL의 유도는, GM-CSF 및 IL-4의 존재하 PBMC를 배양함으로써 증가하는 것으로 보고되었다. 아울러, 키홀 림펫 헤모시아닌(keyhole limpet

hemocyanin(KLH)) 및 IL-7의 존재 하, PBMC를 배양함으로써 CTL 유도되는 것으로 보고되었다.

[0116]

[0117]

이러한 방법에 의하여 CTL 유도 활성을 갖는 것이 확인된 시험 폴리펩티드는, DC활성 효과 및 그에 따른 CTL 유도 활성 능력을 갖는 폴리펩티드이다. 따라서, 암세포에 대하여 CTL를 유도하는 폴리펩티드는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)에 대하여 백신으로서 유효하다. 또한 폴리펩티드와 접촉시킴에 따라 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환에 대하여 CTL를 유도하는 능력을 얻는 APC는, 상기 질환에 대하여 백신으로 유효하다. APC에 의한 폴리펩티드 항원의 제시에 의하여 세포 독성을 획득한 CTL도 또한, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환에 대하여 백신으로 이용할 수 있다. APC 및 CTL에 의한 항암 면역력을 이용하여, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환을 치료하는 그러한 치료법은, 세포 면역 요법으로 불린다. 이때 상기 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관세포암, CML, 결장직장암, 위암, NSCLC 임파종, 골육종, 전립선암, 신장암, SCLC, 연조직종양을 들 수 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0118]

일반적으로, 세포 면역 요법을 위하여 폴리펩티드를 이용하는 경우, 서로 다른 구조를 갖는 폴리펩티드들을 여러 개 조합하여, 그것들을 DC와 접촉시킴으로써, CTL 유도 효율을 증가시킬 수 있다. 그러므로 단백질 단편으로 DC를 자극하는 경우, 여러 타입의 단편으로 된 혼합물을 이용하는 것이 유리하다.

[0119]

폴리펩티드에 의한 항암 면역의 유도는, 또한 종양에 대하여 항체 생산 유도를 측정함으로써 더욱 확인할 수가 있다. 예를 들면, 폴리펩티드에 대하여 항체가, 그 폴리펩티드로 면역된 실험동물에 대하여 유도되는 경우, 및 암세포의 성장, 증식, 및/또는 전이가 그러한 항체에 의하여 억제되는 경우, 당해 폴리펩티드는 항암 면역을 유도하는 것으로 결정된다.

[0120]

항암 면역는, 본 발명의 백신을 투여함으로써 유도할 수 있고, 항암 면역의 유도는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)의 치료 및 예방을 가능하게 한다. MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)에 대하여 치료 또는 발병의 예방은, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1을 발현하는 세포(예를 들면 암 세포)의 성장 저해, 그러한 세포의 퇴화(involution), 및 그러한 세포(예를 들면 암 세포)의 발생 억제를 포함할 수 있다. MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환을 갖는 개인의 사망률 감소, 혈액 중 질환 마커의 감소, 질환에 수반하는 검출 가능한 증상의 경감 등도 또한, 질환(예를 들면 암)의 치료 또는 예방에 포함된다. 그러한 치료 또는 예방 효과는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)에 대하여 백신의 치료 또는 예방 효과가 백신 투여가 없는 대조군과 비교시, 통계학적으로 의미가 있는 경우, 예를 들면 5% 또는 이하의 유의 수준에서 관찰되는 것이 바람직하다. 예를 들면, 스튜던트 t-테스트(Student's t-test), 맨-휘트니 U-테스트(the Mann-Whitney U-test), 또는 ANOVA가, 통계학적 유의성을 결정하는데 이용될 수 있다.

[0121]

본 발명이 MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과발현과 관련된 질환, 예컨대 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다는 점에서, 치료용 화합물 또는 조성물을, 당해 질병의 위험(또는 취약)이 있거나 당해 질병으로 고통받는 환자에게 예방 또는 치료 목적으로 투여할 수 있다. 이러한 환자는 표준적인 임상 방법을 이용하여 분류할 수 있다. 본 발명에 있어, 예방적 투여는 질환의 분명한 증상이 나타나기 전에 이루어지며, 이로써 질환이 예방되거나 또는 그 진행이 늦추어진다. 의학 분야에 있어서, 「예방한다」라고 하는 용어는, 질환에 의한 사망률(mortality) 또는 이환율(morbidity)의 부하(burden)를 감소시키는 어떠한 활성도 포함한다. 예방은, "제1차, 제2차 및 제3차 예방 수준을 일으킬 수 있다.

[0122]

. 제1차 예방은 질환의 발달을 피하는 반면, 제2차 및 제3차 레벨의 예방은 질환의 진행이나 증상의 발생을 예방하고, 또한, 기능을 복구시키거나 합병증을 감소시킴으로써 이미 확립된 질환의 악영향을 감소시키는 것을 목적으로 한다.

- [0123] 암치료에 있어서, 「유효하다」라고 하는 용어는, 대상에 있어서 암의 사이즈, 유병율(prevalence) 또는 전이가능성의 감소를 야기하는 처리에 대하여 것이다. 치료가 예방적으로 적용되는 경우, 「유효하다」는 것은 치료가 비암(npn-cancer)의 발생을 지연 또는 방지하거나 또는 암의 임상 증상을 경감시키는 것을 의미한다. 암의 평가는, 표준적인 임상 프로토콜을 이용하여 실시할 수 있다. 한편, 치료의 효용은, 암을 진단 또는 치료하는 공지의 방법과 관련하여 확인될 수 있다. 예를 들면, 암은, 조직 병리학적(histo- pathologically)으로, 또는, 대증 이상(symptomatic anomalies)을 확인함으로써 진단할 수 있다.
- [0124] 면역 활성을 갖는 상기 펩티드, 또는 해당 펩티드를 코딩하고 있는 폴리뉴클레오티드 또는 벡터는, 아쥘반트와 결합할 수 있다. 아쥘반트란, 면역 활성을 갖는 펩티드에 의하여 동시에(또는 연속하여) 투여될 때, 펩티드에 대하여 면역 반응을 강화시키는 화합물을 가리킨다. 적절한 아쥘반트의 예에는, 콜레라 독소, 살모넬라균 독소, 또는 백반(alum) 등이 포함되지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 게다가 본 발명의 백신은, 약학적으로 허용되는 담체와 적절히 조합할 수 있다. 그러한 담체의 예는, 멸균수, 생리 식염수, 인산 완충액, 배양액 등이다. 아울러 상기 백신은, 필요에 따라서, 안정제, 현탁제, 보존제, 계면활성제 등을 포함할 수 있다. 백신은, 전신적 또는 국소적으로 투여된다. 이때 백신은, 1회(single)로 투여될 수도 있고, 복수 회 투여를 통하여 추가면역(boost)될 수도 있다.
- [0125]
- [0126] 본 발명의 백신으로 APC 또는 CTL를 이용할 때, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1의 과잉 발현과 관련된 질환(예를 들면 암)은 예를 들면, 엑스 비보의 방법으로 치료 또는, 예방할 수 있다. 보다 구체적으로는, 치료 또는 예방을 받는 대상의 PBMC를 수집해, 엑스 비보로 본 발명의 펩티드와 접촉시킨다. APC 또는 CTL를 유도한 후, 상기 세포를 대상에 투여한다. APC는 또한, 펩티드를 코딩하는 벡터를 엑스 비보로 PBMC에 도입함으로써 유도할 수 있다. 인 비트로에서 유도된 APC 또는 CIL는, 투여 전에 클로닝할 수 있다. 표적 세포를 손상시키는데 높은 활성을 갖는 세포를 클로닝 및 증식시킴으로써, 세포 면역 요법을 보다 효과적으로 실시할 수 있다. 게다가 이 방법으로 분리된 APC 및 CTL는, 세포가 유래한 개체에 대하여 세포 면역 요법뿐만 아니라, 다른 개체의 유사한 형태의 질환에 대하여 세포 면역 요법에도 이용될 수 있다.
- [0127] 본 발명의 양상은 하기의 실시예들에 기재되어 있으나, 이들은 본 발명을 설명하고, 당업자가 본 발명을 이용하고 실시하는 것을 돕기 위한 것이다. 이들 실시예들은 본 발명의 범위를 제한하려는 의도로 기재된 것은 아니다.
- [0128] 이하 적절한 방법 및 재료를 기재하였으나 본 발명의 실시 또는 시험 시, 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료를 이용할 수 있다.
- [0129] 색도표
- [0130] 본 발명은 이하의 실시예들로 예시되지만, 그것들로 한정되는 것은 아니다. 그렇지만, 본 명세서에 대하여 기재되어 있는 재료, 방법 등은 본 발명의 양상을 설명하는 것일 뿐, 이들로 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아니다. 그러므로, 여기에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 재료, 방법 등을 이용하여 본 발명을 실시 또는 시험할 수 있다.
- [0131] 실시예 1
- [0132] 재료 및 방법 세포주
- [0133] A24LCL 세포(HLA-A2 4/24), 인간 B-림프아형(lymphoblastoid) 세포주,T2 세포 및 COS7은 ATCC에서 구입하였다.

- [0134] 결합 예측 소프트웨어 "BIMAS" (bimas.dcrt.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_comboform) (Parker KC, et al., (1994) J Immunol.;152(1):163-75.; Kuzushima K, et al., (2001) Blood.;98(6):1872-81.)를 이용하여 HLA-A*2402 및 HLA-A*0201 분자에 결합하는 MPHOSOH1 또는 DEPDC1으로부터 유래한 9-mer 또는 10-mer 펩티드를 예측하였다. 이들 펩티드들은 표준적인 고체상(solid phase) 합성 방법에 따라 Sigma(삿포로, 일본)에 의하여 합성되어, 역상 HPLC로 정제되었다. 순도(>90%) 및 펩티드의 동일성은 각각 HPLC 분석 및 질량분광법(mass spectrometry)으로 확인하였다. 펩티드는 20 mg/ml로 디메틸설폭사이드(dimethylsulfoxide, DMSO)로 용해하여, -80℃에서 보존하였다.
- [0135] 인 비트로에서의 CTL 유도
- [0136] 단핵세포 유래의 수상돌기세포(DC)를 항원 제시 세포로 이용하여, HLA에 제시되는 펩티드에 대하여 CTL 반응을 유도시켰다. DC들은 다른 문헌들에 기재된 바대로 인 비트로에서 제조하였다(Nukaya I et al., (1999) Int. J. Cancer 80, 92-7., Tsai V et al., (1997) J. Immunol 158:1796-802.). 즉, 피콜-파크(Ficoll-Paque (Pharmacia)) 용액으로 정상인 지원자(HLA-A*2402 and/or HLA-A*0201)로부터 분리(isolate)한 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells (PBMCs))을, 플라스틱 조직 배양 플라스크(plastic tissue culture flask (Becton Dickinson))에 대하여 점착성을 이용하여, 분리하여(seperate) 단핵세포 분획을 위하여 농축시켰다. 단핵세포가 농축된 집단을, 2% 열로 불활성화된 자가혈청(autologous serum(AS))을 포함하는 AIM-V (Invitrogen)에서 IL-4 (Genzyme) 1000 U/ml 및 GM-CSF (Genzyme) 1000U/ml 존재 하 배양하였다. 배양 7일 후, 사이트카인-제조된 DC를, AIM-V에서, 3 mcg/ml의 베타 2-마이크로글로불린(beta 2-microglobulin) 존재 하, 20 mcg/ml의 합성 펩티드를 이용하여 20℃, 4시간 동안 펄스하였다. 이러한 펩티드 펄스된 DC는, MMC(30분 간 30 mcg/ml)로 불활성화시켜, Dynabeads M-450 CD8 (Dyna1) 및 DETACHa BEAD™ (Dyna1)에 의한 양성 선택으로 얻은 자가(autologous) CD8+ T 세포와 1:20의 비율로 혼합하였다. 이러한 배양물을 48-웰 플레이트(plate)(Corning)에 배치(set up)하였다;각 웰은, AIM-V/2% AS 0.5ml에서, 10 ng/ml of IL-7 (Genzyme), 3x10⁵ CD8+ T 세포, 1.5x10⁴ 펩티드-펄스된 DC들을 포함한다.
- [0137] 3일 후, 이러한 배양물에, 최종 농도 20 IU/ml의 IL-2 (CHIRON)를 추가하였다. 7 일째 및 14 일째에, T 세포를, 자가 펩티드 펄스한 DC로 한층 더 재자극하였다. DC는, 전술한 것과 같은 방법에 의하여 매회 교체하였다. CTL는, 21 일째, 3번째의 펩티드 자극 후, 펩티드 펄스 한 A24LCL 세포 또는 T2 세포에 대하여 시험하였다.
- [0138] CTL 확장 순서
- [0139] Riddell SR et al.(Walter EA et al. (1995) N lgnE J Med 333: 1038-44.; Riddell SR, et al.(1996) Nature Med.2: 216-23.)에 기재된 것과 유사한 방법을 이용한 배양에서 CTL을 확장시켰다. 합계 5×10⁴의 CTL을 40 ng/ml/ml 항-CD3 단일클론 항체(Pharmingen)의 존재 하, MMC로 불활성화시킨 2 종의 인간-B 림프아형 세포주와 함께 25 ml의 AIM-V/5% AS에서 재현탁하였다. 배양 시작으로부터 1일 후, 120 IU/ml의 IL-2를 배지에 가했다. 5, 8 및 11일째 되는 날, 상기 배지에 30 IU/ml의 IL-2를 포함하는 신선한 AIM-V/5% AS를 가했다.
- [0140] CTL 클론의 확립
- [0141] 96 웰의 둥근 바닥 마이크로 타이터 플레이트(round-bottomed micro titer plate (Nalge Nunc International))에 대하여 0.3개, 1개, 및 3개의 CTL/웰이 되도록 희석하였다. 7 X 10⁴ 세포/웰의 2 종의 인간 B-림프아종 세포주, 30 ng/ml의 항CD3 항체 및 125 U/ml의 IL2와 함께, 5% AS를 포함하는 합계 150 mc1/웰의 AIM-V에서 중 에서 CTL을 배양하였다. 10일 후, IL-2가 최종 농도에서 125 U/ml가 되도록, 배지에 50 mc1/웰의 IL-2를 가하였다. CTL의 CTL 활성화는 14 일째에 시험하였으며, CTL 클론은 상기와 같은 방법을 이용하여 확장시켰다.

- [0142] 특이적 CTL 활성
- [0143] 특이적인 CTL 활성을 검토하기 위하여, IFN11-감마 ELISPOT 분석 및 IFN-감마 ELISA를 하였다. 즉, 펩티드 펄스된 A24-LCL 또는 T2 세포(1x10⁴/웰)를 자극물(stimulator) 세포로 조제하였다. 48 웰의 배양 세포 또는 한계 희석 후의 CTL 클론은, 반응물(responder) 세포로 이용하였다. IFN-감마 ELISPOT 분석 및 ELISA는 제조 순서에 따라서 수행하였다.
- [0144] 세포 배양 및 형질전환
- [0145] 엡스타인 바 바이러스(Epstein Bar virus)가 형질전환(transformed)된 HLA- A24 B-LCLs (A24LCL)을 확립하였다. Jiyoye, EB-3, COS7, HT1376, RT-4 및 J82은 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection (Rockville, MD))에서 구입하였다. A24LCL, Jiyoye 및 EB-3는 10%의 소 태아 혈청(GEMINI Bio제) 및 1%의 항생제 용액(시그마)을 포함한 RPMI 1640에서 유지시켰다. COS7, HT1376, RT-4 및 J82는 적절한 배지 및 항생 물질에서 유지시켰다. COS7 및 HEK의 형질전환은, FUGENE 6(로슈)를 이용하여 수행하였다. 안정적인 클론을 발현시키는 HLA-A*0201 분자, HEK-A2 세포는 pcDNA6.2-HLA-A2을 형질전환시킴으로써 확립시켰으며, 5 mcg/ml Blastcidin S 존재 하, 한계 희석법으로 분리하였다.
- [0146] BALB/c마우스에 있어서의 에피토프 펩티드의 면역원성
- [0147] 펩티드 특이적인 CTL의 유도를 위하여, 마우스마다, 50 mc1(1 00mcg)의 HLA-A24로 제한되는 펩티드 및 50 mc1의 IFA를 포함하는 백신 혼합물 100 ml을 이용하여 면역화를 하였다. 백신은, 0 일째에 최초의 면역을 우측 복부에 피하 주사로 하고, 2회째를 7 일째에 왼쪽의 옆구리에 피하 주사로 하였다. 14 일째, 백신 접종된 마우스의 비 세포(splenocyte)는, 인 비트로 자극 없이, 반응물(responder) 세포로 이용되고, 펩티드의 유무에 관계없이 펄스된 RLmale1 세포는 IFN-감마 ELISPOT 분석의 자극물(stimulator) 세포로 이용되었다.
- [0148] 결과
- [0149] 암에서의 MPHOSPH1 및 DEPDC1의 발현 증가
- [0150] eDNA1 마이크로 어레이를 이용하여 다양한 암으로부터 얻은, 총체적(global)인 유전자 발현의 프로파일(profile) 데이터는, MPHOSPH1 (GenBank 접근 번호 NM_016195; 서열 번호.1) 및, 2 개의 변이체 DEPDC1 V1 (서열 번호.3) 및 DEPDC1 V2 (서열 번호. 5)를 가진 DEPDC1 (GenBank 접근번호 BM683578)의 발현이 증가한 것을 보여준다. MPHOSPH1 발현은, 31의 방광암 중 30, 36의 유방암 중 8, 18의 자궁경부암중 18, 17의 담관세포암 중 5, 31의 CML 중 25, 11의 결장직장암 중 6, 14의 위암 중 6, 5개의 NSCLC중 5, 7개의 임파종 중 7, 10의 골육종 중 6, 22의 전립선암 중 7, 18의 신장암 중 10 및 21의 연조직종양 중 15에 대하여, 대조군인 정상 조직과 비교하여 유의한 수준으로 상승하였다. DEPDC1 발현은, 25의 방광암 중 23, 13의 유방암 중 6, 12의 자궁경부암 중 12, 6 개의 담관세포암 중 6, 4의 CML 중 3, 4의 결장직장암 중 2, 6의 NSCLC(비소세포 폐암) 중 6, 7의 임파종 중 7, 14의 골육종 중 10, 24의 전립선암 중 11, 14의 SCLC(소세포 폐암) 중 14 및 31의 연조직종양 중 22에 대하여, 대조군인 정상 조직과 비교하여 유의한 수준으로 상승하였다(표 1).
- [0151] [표 1]

[0152] 대응하는 정상 조직과 비교하여 암조직에서 MPHOSPH1 또는 DEPDC1의 높은 수준의 조절이 관찰된 예의 비율

	방광암	유방암	자궁경부암	담관세포암	CML	결장직장암	위암
MPHOSPH1	30/31	8/36	18/18	5/17	25/31	6/11	6/14
DEPDC1	23/25	6/13	12/12	6/6	3/4	2/4	-
	NSCLC	림프종	골육종	전립선암	신장암	SCLC	연조직종양
MPHOSPH1	5/5	7/7	6/10	7/22	10/18	-	15/21
DEPDC1	6/6	7/7	10/14	11/24	-	14/14	22/31

[0153]

[0154] MPHOSPH1 또는 DEPDC1 유래의 HLA-A*24 및 HLA-A*2 결함 펩티드의 예측

[0155] 표 2는, 결함 친화성의 순서에 따른, MPHOSPH1에 대한, HLA-A*2402 결함 펩티드이다.

[0156] 표 2A는 MPHOSPH1 유래의 9-mer 펩티드, 그리고, 표 2B는 MPHOSPH1 유래의 10-mer 펩티드이다.

[0157] 표 3은, 결함 친화성에 따른 MPHOSPH1에 대하여 HLA-A*0201 결함 펩티드이다.

[0158] 표 3A는 MPHOSPH1 유래의 9-mer 펩티드, 그리고, 표 3B는 MPHOSPH1 유래의 10-mer 펩티드이다.

[0159] 표 4는, 결함 친화성의 순서에 따른 DEPDC1 VI 및 V2에 대하여 HLA-A*2402 결함 펩티드이다.

[0160] 표 4A는 DEPDC1 VI 및 V2 유래의 9-mer 펩티드, 및 표 4B는 DEPDC1 VI 유래의 10-mer 펩티드이다.

[0161] 표 5는 DEPDC1 VI 및 V에 대하여 HLA-A*0201 결함 펩티드, 표 5A는 DEPDC1 VI 및 V2 유래의 9-mer 펩티드, 그리고, 표 5B는 DEPDC1 VI 및 V2 유래의 10-mer 펩티드이다.

[0162] [표 2A]

MPHOSPH1 유래의 HLA-A*2402 결함 9-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결함 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결함 친화성
278	IYNEYIDL	7	360	179	LFDSLQERL	29	24
1244	DYADLKEKL	13	316.8	268	KFSVWVSFF	30	20
1319	QYERACKDL	14	300	575	KLLDLIEDL	31	17.28
459	CYLAYDETL	15	300	1577	RFPKPELEI	32	16.5
462	AYDEILNVL	16	288	1414	KYNADRRKW	33	16.5
1054	GKDENNRL	17	288	1230	RTQNLKADL	34	14.4
236	LYGSLTNSL	18	288	1421	KWLEKMMML	35	14.4
1446	KYAEERERF	19	240	1617	KSNEMEEDL	36	14.4
899	NYDIAIAEL	20	220	1555	KIEDGSVVL	37	14.4
1118	CYKAKIKEL	21	220	1456	KQQNEMEIL	38	12
57	DYLQVCLRI	22	105	389	KTQNEGERL	39	12
676	KFNQKAEL	23	92.4	1371	KWKEKCNDL	40	11.52
14	SYVFSADPI	24	75	1122	KIKLELITL	41	11.52
326	AYRLKILGI	25	60	850	FLLTIENEL	42	11.088
255	DYBQANLNM	26	37.5	763	SSLINNNKL	43	11.088
29	NFDGKLDL	27	28	1400	KLTNLQDEL	44	10.56
286	LFVPVSSKF	28	27.72	133	IMQPVKDLL	45	10.08

[0163]

[0164] 시작 위치는 MPHOSPH1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결함 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0165] [표 2B]

MPHOSPH1 유래의 HLA-A*2402 결함 10-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결함 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결함 친화성
1414	KYNADRRKWL	46	600	1274	KLLRiKINEL	56	15.84
278	IYNEYIDL	8	252	1332	KIIEdMRMTL	57	14.4
1446	KYAEERERFF	47	240	1299	RTIQqLKIEQL	58	14.4
611	QYWAqREADF	48	100	1134	KVECSiHSAKL	59	13.2
1740	LYTSsiSSPI	49	70	859	KNEKsiEKAEL	60	13.2
293	KFQKsiKMLRL	50	60	586	KLINsiKKEKL	61	13.2
849	AFLLiENEL	51	55.44	943	KLMHsiKIDEL	62	13.2
1667	TYSLsiQASI	52	50	838	RVLQsiNNEGL	63	12
1695	DFLQsiSPSIL	53	30	369	RVIRsiSESL	64	12
174	RTLNLiFDSL	54	17.28	1159	RNLKsiFQEHL	65	12
870	KQIVsiFQDEL	55	15.84	281	EYIYsiLFVPV	66	10.8

[0166]

[0167] 시작 위치는 MPHOSPH1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0168] [표 3A]

MPHOSPH1 유래의 HLA-A*0201 결합 9-mer 펩티드							
시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
575	KLLDLIEDL	31	1278.29	1184	KLKEITQL	93	24.677
282	YYDLFVPV	9	1096.62	888	TLsKEVQqI	94	23.995
298	KMLRLSQDV	67	650.504	280	NEYIDLfV	95	23.802
218	ALLRQIKEV	68	591.888	552	LLEDLDKt	96	23.415
850	FLLTIEL	42	363.588	461	LAYDETlNV	97	21.546
1108	ALSELTQGV	69	285.163	980	NLPNTQLDL	98	21.362
331	KLGIKHGSV	70	243.432	409	TLGKGINVL	99	20.145
1689	TLQKFGDFL	71	218.772	175	TLNVLFDSL	100	19.888
1251	KLTDAKQqI	72	149.711	923	KLSNEIETA	101	19.596
638	RLAIFKDLV	10	129.506	1389	KEHENNTDV	102	19.407
1467	QLTEKSDSL	73	87.586	987	DLLGNDYLV	103	19.301
1195	NLQDMKHLL	74	87.586	920	KIMKLSNEI	104	18.577
270	SVWVSFFEI	75	83.497	1703	ILGSKAKKI	105	17.736
129	FQGCIMQPV	76	74.608	512	ILNVKRATI	106	17.736
839	VLQENNEGL	77	72.959	1124	KELETILET	107	17.695
1094	TLDVQIQHV	78	63.988	453	IVNISQCYL	108	17.477
1019	AIWEEQKEI	79	48.616	771	LICNETVEV	109	16.258
1696	FLQHSPSIL	80	40.289	623	TLLQEREIL	110	15.879
528	DLMEDEDLV	81	38.775	580	TLEENKAFI	111	15.057
406	SLLTLGKGI	82	38.601	1415	YNADRRKWL	112	14.465
1400	KLTLNQDEL	44	36.637	307	KGYsFIKDL	113	13.85
170	GILPRTLNV	83	35.385	133	IMQPVKDLL	45	12.852
171	ILPRTLNVL	84	34.246	1594	KMAVKHPGC	114	12.558
788	KIOSERKRV	85	33.472	365	SEMSRVIRV	115	11.509
880	SLSEKKNLT	86	30.553	1191	QLTNNLQDM	116	11.426
944	LMHTKIDEL	87	29.559	871	QIVHFQqEL	117	11.162
1422	WLEEKMMLI	88	28.963	245	NISEFEESI	118	10.951
466	TLNVLFKSA	89	28.814	484	TLNSSQEKL	119	10.468
1539	KLQTEPLST	90	26.082	764	SLIINNKKLI	120	10.433
132	CIMQPVKDL	91	24.997	587	LINEKKEKL	121	10.032
1260	KQVQKEVSV	92	24.681				

[0169]

[0170] 시작 위치는 MPHOSPH1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0171] [표 3B]

MPHOSPH1 유래의 HLA-A*0201 결합 10-mer 펩티드							
시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
1274	KLLRIKINEL	56	626.279	1318	QQYErACKDL	140	28.417
551	KLLDdDLDKT	122	445.913	452	MIVNISQCYL	141	27.464
460	YLAYdDLNV	123	319.939	923	KLSNeIETAT	142	26.082
943	KLmHtKIDEL	62	311.777	1257	KQIKqVGKEV	143	24.681
262	NMANsIKFSV	124	291.346	980	NLPNtQLDLL	144	24.075
178	VLFDSLQERL	125	269.948	985	QLDLIGNDYL	145	23.029
770	KLICnETVEV	126	243.432	1427	MMLItQAKEA	146	22.569
34	KLDLsHEFSL	127	173.463	1523	QIMDiKPKRI	147	21.762
407	LLTLgKGINV	128	118.238	1484	QLVAaLEIGL	148	21.362
1714	TMSSsKLSNV	11	115.534	466	TLNVKFSAl	149	19.822
1353	QVLEaKLEEV	129	104.046	511	KILNVKRATI	150	18.577
880	SLSEkKNLTL	130	87.586	1340	TLEEqEQTQV	151	18.25
235	TLYGsLTNSL	131	68.36	372	RVSEISLCDL	152	17.627
1019	AIWEEoKEIV	132	65.381	1561	VVLDSCEVST	153	16.816
552	LLDEdLDKTL	133	59.558	309	YSFIhDLQWI	154	14.663
1093	VTLDvQIQHV	134	57.298	353	SIFTvKILQI	155	12.208
559	KTLEoNKAFI	135	42.314	1094	TLDVqIQHVV	156	11.407
1332	KIIEdMRMTL	57	42.151	1688	GTLQkFGDFL	157	11.242
152	GLTNsGKTYT	136	40.986	311	FIKDIQWQV	158	10.732
830	NIAEIDIRV	137	39.21	1079	TLIQdLKEEL	159	10.468
586	KLINeKKEKL	61	36.637	1128	TILEtQKVEC	160	10.363
182	SLQEYLYTKM	138	30.553	1487	AALEIQLKAL	161	10.352
1043	QQIEkLQAEV	139	28.912	170	GILPrTLNVL	162	10.249
870	KQIVhFQqEL	55	28.807				

[0172]

[0173] 시작 위치는 MPHOSPH1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0174] [표 4A]

DEPDC1 유래의 HLA-A*2402 결합 9-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
295	YYELFVNIL	163	360	505	KQLCRSQSL	167	14.4
294	EYYELFVNI	12	86.4	275	VFRTIADYF	168	14
282	YFLDLPEPL	164	43.2	36	HFKKYGNCF	169	12
118	RYPELRKNN	165	21.6	307	GYITVSDRS	170	10.5
338	SFKSTECLL	166	20	298	LFVNILGLL	171	42

[0175]

[0176] 시작 위치는 DEPDC1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0177] [표 4B]

DEPDC1 유래의 HLA-A*2402 결합 10-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
294	EYYEIFVNIL	172	288	275	VFRTIADYFL	182	20
281	DYFLDLPEPL	173	240	113	KTLPtRYPEL	183	15.84
118	RYPEIRKNNI	174	216	277	RTIAqYFLDL	184	14.4
770	EYPLIYQKRF	175	150	270	GFERdVFRTI	185	12.6
267	TYVGFERDVF	176	150	146	RTPKtHGLHL	186	12
523	SYINtPVAEI	177	82.5	505	KQLCtSQSLL	187	12
282	YFLDIPEPLL	178	36	340	KSTEcLLLSL	188	11.52
191	RYVIILYLT	179	21	295	YYELFVNILV	189	10.5
338	SFKStECLLL	180	20	129	NFSKdKDSIF	190	10
103	LFRFpATSPL	181	20				

[0178]

[0179] 시작 위치는 DEPDC1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0180] [표 5A]

DEPDC1 유래의 HLA-A*0201 결합 9-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
674	FLMDHHQEI	191	728.022	563	RLCKSTIEL	209	21.362
589	LLQPHLERY	192	133.255	506	QLCRSQSLL	210	21.362
575	SLLPASSML	193	79.041	193	VILIYLTQTI	211	20.753
246	WVLSAMKCL	194	73.172	297	ELFVNILVV	212	18.201
619	LLMRMISRM	195	71.872	235	ILQNKSDDL	213	17.795
581	SMLTGTQSL	196	57.085	616	KLQLLMRMI	214	16.797
290	LLTFEYYEL	197	54.474	623	MISRMSONV	215	16.258
220	YIMYNMANT	198	40.111	72	TIQLLRKFL	216	16.155
283	FLDLPEPLL	199	39.307	421	CSLEGIVDV	217	15.841
787	ALFGDKPTI	200	38.601	303	LVVGQYITV	218	15.519
582	MLTGTQSLL	201	36.316	524	YINTPVAEI	219	15.177
773	LIYQKRFPPT	202	32.33	194	ILIYLTQTL	220	14.89
114	TLPRRYPEL	203	32.044	239	KSDDLPHWV	221	14.333
505	KQLCRSQSL	167	28.049	576	LLPASSMLT	222	12.668
765	KQFQKEYPL	204	28.049	646	MIHTFSRCV	223	12.356
395	IMGGSCHNL	205	26.228	645	LMIHTFSRC	224	11.589
296	YELFVNILV	206	23.018	653	CVLCCAEV	225	11.034
278	TIADYFLDL	207	22.882	297	ELFVNILGL	226	13.635
601	ALQLGCLLL	208	21.362				

[0181]

[0182] 시작 위치는 DEPDC1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0183] [표 5B]

DEPDC1 유래의 HLA-A*0201 결합 10-mer 펩티드

시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성	시작 위치	아미노산 서열	서열 번호	결합 친화성
666	LLAGrLVSFL	227	459.398	575	SLLPaSSMLT	241	27.572
674	FLMDhHQEIL	228	289.484	298	YELFvNILVV	242	21.708
588	SLLQpHLERV	229	260.025	506	QLCRsQSLLL	243	21.362
302	ILVVoGYITV	230	177.358	765	KQFQKEYPLI	244	20.547
291	LTFEyYELFV	231	137.017	682	ILQVpSYLQT	245	19.003
201	ILGVpSLEEV	232	133.255	269	VGFErDVFRt	246	16.735
195	LIYLqTLGV	233	119.657	381	QLVNIRNRRV	247	13.91
688	YLQTaVEKHL	234	98.267	283	FLDLsEPLLT	248	13.712
645	LMIHfSRGV	235	64.9	395	IMGGsCHNLI	249	12.809
581	SMLTgTQSLL	236	57.085	403	LIGLsNMHDL	250	11.485
622	RMISrMSQNV	237	50.232	773	LIYQkRFPTT	251	10.591
618	QLLMrMISRM	238	42.278	488	TLTVqDQEEL	252	10.468
654	VLCCaEEVDL	239	36.316	224	NMANsSKRGV	253	10.046
644	SLMIhTFSRC	240	34.925	296	YELFvNILGL	254	16.26
505	KQLCrSQSLL	187	28.049	301	NILGILQPHL	255	10.868

[0184]

[0185] 시작 위치는 DEPDC1의 N-말단으로부터의 아미노산의 수를 가리킨다. 결합 친화성은 재료 및 방법에 기재된 BIMAS로부터 유래한 것이다.

[0186] HLA-A*2402-제한되는 MPHOSPH1로부터 예측된 펩티드를 이용한 T세포의 시뮬레이션

[0187] *

[0188] MPHOSPH1 (서열 번호: 2) 유래의 그러한 펩티드에 대한 CTL는, 상기 "재료 및 방법"에 기재된 프로토콜에 따라 제조되었다.

[0189] IFN-감마 ELISPOT 분석에 의하여 평가되었듯이, 그 결과인 검출 가능한 특이적인 CTL 활성을 갖는 CTL는, 도 1A 및 도 2A에 기재하였다.

[0190] 도 1A에서, MPHOSPH1-A24-9-278 (서열 번호: 7)에 의하여 자극된 웰 넘버 #4의 세포는, 대조군과 비교하여 강력한 IFN-감마 생산을 나타냈다.

[0191] 도 2A에서, MPHOSPH 1-A24- 10-278 (서열 번호: 8)에 의하여 자극된 웰 넘버 #8의 세포는, 대조군과 비교하여 강력한 IFN-감마 생산을 나타냈다. 그 후, 양성 웰의 이러한 세포는 확장되고, 한계 희석되었다.

[0192] 도 1B (MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7)) 및 도 2B (MPHOSPH 1-A24- 10-278 (서열 번호: 8))에 기재되었듯이, 펩티드 펄스가 없는 표적에 대하여 활성과 비교하여, 펩티드 펄스 된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다.

[0193] MPHOSPH 1-A24-9-278 (IYNEYIDL (서열 번호: 7)) (도 3A) 및 MPHOSPH 1-A24-10-278 (IYNEYIDLF (서열 번호: 8)) (도 3B)에 의하여 자극된 CTL 클론은, 펩티드로 펄스되지 않은 표적에는 특이적인 중요한 CTL 활성을 보이는 일 없이, 펩티드 펄스된 표적에 대하여 특이적으로 유효한 CTL 활성을 보였다. 이는, 해당 CTL 클론이 펩티드 특이적인 세포 독성을 갖는다는 것을 시사한다.

[0194] MPHOSPH1를 발현하는 표적 세포에 대하여 특이적인 CTL 활성

[0195] 이러한 펩티드에 대하여 상승된(raise) 확립한 CTL 클론을, MPHOSPH1 및 HLA-A*2402를 내생적으로 발현하는 표적 세포를 인식하는 능력에 대하여 시험하였다. MPHOSPH1 및 HLA-A*2402를 내생적으로 발현하는 표적 세포에 대하여 특이적인 모델인, 전장 MPHOSPH1 유전자 및 HLA-A*2402 분자 모두로 형질전환한 COS7에 대하여 특이적인 CTL 활성을, MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7)에 의하여 상승된(raside) CTL 클론을 이펙터(effector) 세포로 이용하여 테스트하였다.

[0196] 전장 MPHOSPH1로 형질전환되었지만 HLA-A*2402는 하지 않은 COS7 및 HLA-A*2402로 형질전환했지만 전장 MPHOSPH1로는 하지 않은 COS7를 대조군으로 제조하였다. COS7에 대하여 가장 높은 특이적인 CTL 활성을 갖는

CTL 클론은, MPHOSPH1 및 HLA-A24의 양자에 의하여 형질전환한 것이었다. 그렇지만, MPHOSPH1 및 HLA-A24 중 어느 것으로도 형질전환하지 않은 COS7에 대하여는 유의미하게 특이적인 CTL 활성을 나타내지는 않았다(도 4).

[0197] 이러한 결과는, MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7)이 HLAA24 분자와 함께 표적 세포 표면에 자연스럽게 발현되며, CTL을 인식한다는 것을 명확하게 의미하는 것이다.

[0198] MPHOSPH1를 내생적으로 발현하는 대장암 세포주에 대한 CTL 활성

[0199] MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7) 펩티드에 대하여 증가된, 확립된 CTL 클론의, MPHOSPH1를 내생적으로 발현하고 있는 암세포를 인식하는 능력을 테스트하였다. MPHOSPH1 및 HLA-A24를 내생적으로 발현하는 HT 1376 세포에 대한 CTL 활성은, MPHOSPH1-A24-9-278 (서열 번호: 7)에 의하여 증가한 CTL 클론을 이펙터로 이용하여 테스트하였다. 내생적으로 MPHOSPH1를 발현하지만, HLA-A24를 발현하지 않는 J82 및 RT-4 세포는 표적 세포로 이용되었다. 확립한 CTL 클론은, MPHOSPH1 및 HLA-A24를 양자 모두 발현하는 HT 11376 세포에 대하여, 높은 IFN-감마 생산을 보였다. 한편, 이 CTL는, MPHOSPH1를 발현하지만 HLA-A24를 발현하지 않는 J 82 및 RT-4 세포에 대하여는 유의미한 수준의 CTL 활성을 나타내지 않았다(도 5). 이는 MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7) 펩티드가 HLA-A24와 함께 암세포 표면에 자연스럽게 프로세싱되며, CTL에 의하여 인식된다는 것을 명확히 보여준다.

[0200] BALB/c마우스에 있어서의 MPHOSPH1-A24-9-278 펩티드에 의한 인 비보에서의 CTL 유도

[0201] H-2Kd 분자(마우스 MHC 클래스 I의 하나)가 HLA-A24 분자에 대하여 펩티드 앵커(anchor)의 모티프를 닮아, HLA-A24-제한되는 펩티드와 일부 교차 반응하는 것은 당업계에 알려져 있다. 본 발명자들은, 다음에, MPHOSPH1-A24-9-278 펩티드가 인 비보에서 CTL를 유도할지 여부를, 이 펩티드를 BALB/c마우스(H2kd)에 백신 접종함으로써 시험하였다. IFA 콘주게이티드 펩티드는, 0 및 7 일째에 BALB/c마우스에 피하 주사되었다. 14 일째에, 비세포를 수집하여 ELIS POT 분석을 위한 반응물(responder) 세포로 이용하였다. 펩티드가 주입된 모든 마우스(Anil~5)의 비세포는, IFA 단독이 주입된 대조군 마우스(negal~3)와 비교하여 강력한 IFN-감마 생산을 나타냈다(도 6). 이 데이터는, MPHOSPH1-A24-9-278 펩티드가 인 비보에서도 CTL 반응을 유도할 수 있다는 것을 나타냈다.

[0202] HLA-A*0201로 제한되는 MPHOSPH1 유래의 예측된 펩티드를 이용한 T세포의 자극

[0203] 도 7에는 IFN-감마 ELISPOT 분석으로 평가한, 결과적으로 검출 가능한 특이적 CTL 활성을 갖는 CTL들이 나타나 있다. 도 7A에 나타난 바와 같이, MPHOSPH 1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (서열 번호: 9))로 자극된 웰 넘버 #1 및 #5의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. 도 7B에 나타난 바와 같이, MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (서열번호 : 10))로 자극된 웰 넘버 #8의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. 도 7C에 나타난 바와 같이, MPHOSPH 1-A2- 10- 1714 (TMSSsKLSNV (서열번호 : 11))로 자극된 웰 넘버 #4의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다.

[0204] 도 8A(MPHOSPH 1-A2-9-282 (서열 번호: 9)), 도 8B (MPHOSPH1-A2-9-638 (서열 번호: 10)), 및 도 8C (MPHOSPH1-A2-10-1714(서열 번호: 11))에 나타난 바와 같이, 양성 웰의 이러한 세포들은 확장되며, 펩티드 펄스되지 않은 표적에 대한 활성에 비하여 펩티드-펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 주가 확립되었다.

[0205] MPHOSPH 1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (서열 번호: 9)) (도 9A 및 9B)에 의하여 자극된 CTL 클론은 펩티드 펄스된 표

적에 대하여 유효하게 특이적인 CTL 활성을 보였으나, 펩티드로 펄스되지 않은 표적에 대하여는 중요하게 특이적인 활성을 보이지 않았다.

[0206] HLA-A*2402-제한되는 DEPDC1 유래의 예측 펩티드를 이용한 T세포의 자극

[0207] DEPDC1로부터 유래한 그러한 펩티드를 위한 CTL는, 상기의 「재료 및 방법」의 항목에 기재된 프로토콜에 따라 제조되었다. 결과적으로 IFN-감마 ELISPOT 분석에 의하여 평가되었듯이, 검출 가능한 특이적 CTL 활성을 갖는 CTL은 도 10에 나타난다. 도 10A에 나타났듯이, DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (서열 번호: 12))에 의하여 자극된 웰 넘버 #10의 세포는, 대조군과 비교하여 강력한 IFN-감마 생산을 나타냈다. 따라서, 양성 웰의 이러한 세포는 확장되고, 한계 희석되었다. 도 10B (DEPDC 1-A 24-9-294 (서열 번호:12))에 나타났듯이, 펩티드를 펄스하지 않는 표적에 대한 활성과 비교하여 펩티드 펄스된 표적에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 갖는 CTL 클론이 확립되었다. DEPDC 1-A24-9-294 (EYYELFVNI (서열 번호: 12)) (도 11)에 의하여 자극된 이 CTL 클론은, 펩티드로 펄스되지 않은 표적에 대하여는, 조금도 유의미하게 특이적인 CTL 활성을 나타내지 않고, 펩티드 펄스된 표적에 대하여 강력하게 특이적인 CTL 활성을 나타냈다. 이러한 결과는, 이 CTL 클론이 펩티드 특이적인 세포 독성을 갖는다는 것을 시사한다.

[0208] DEPDC1 및 HLA-A*2402를 발현하는 표적 세포에 대한 특이적인 CTL 활성

[0209] 이러한 펩티드에 대하여 증가한, 확립한 CTL 클론의, DEPDC1 및 HLA-A*2402를 내생적으로 발현하고 있는 표적 세포를 인식하는 능력을 시험하였다. 표적 세포가 내생적으로 DEPDC1 및 HLA-A*2402 발현하는 특이적인 모델인, 전장 DEPDC1 유전자 및 HLA-A*2402 분자에 의하여 형질전환 하는 COS7에 대한 특이적인 CTL 활성은, 이펙터 세포로 DEPDC1-A24-9-294(EYYELFVNI (서열 번호: 12))에 의하여 증가한 CTL 클론을 이용하여, 테스트되었다. 전장 DEPDC1에 의하여 형질전환되었지만 HLA-A*2402로는 형질전환되지 않은 COS7 및 HLA-A*2402로는 형질전환되었지만 전장 DEPDC1는 하지 않는 COS7을 대조군으로 제조하였다. CTL 클론은, DEPDC1 및 HLA-A24의 양자를 형질전환 시킨 COS7에 대하여 특이적으로 높은 CTL 활성을 나타냈다. 그렇지만, DEPDC1 및 HLA-A24 중 어느 것에 의하여도 형질전환하지 않은 COS7에 대하여는 유의하게 특이적인 CTL 활성을 나타내지 않았다(도 12).

[0210] 이러한 결과는, DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (서열 번호 : 12))가, HLA-A24 분자와 함께 표적 세포 표면에 자연스럽게 발현되며, CTL를 인식한다는 것을 명확하게 가리킨다.

[0211] DEPDC1를 내생적으로 발현하는 방광암 세포주에 대한 CTL 활성

[0212]

[0213] DEPDC1-A24-9-294 펩티드에 대하여 증가하고, 확립한 CTL 클론의, DEPDC1를 내생적으로 발현하는 암세포를 인식하는 능력을 시험하였다. DEPDC1 및 HLA-A24를 내생적으로 발현하는 HT1376 세포에 대한 CTL 활성은, DEPDC1-A24-9-294에 의하여 증가한 CTL 클론을 이펙터로 이용하여 시험되었다. J82 세포 및 RT-4세포를 내생적으로 DEPDC1를 발현하지만, HLA1 A24를 발현하지 않는 표적 세포로 이용하였다. 확립한 CTL 클론은, DEPDC1 및 HLA-A24를 발현하는 HT1376 세포에 대하여, 높은 IFN-감마 생산을 나타냈다. 한편, DEPDC1 을 발현하지만 HLA-A24는 발현하지 않는 J82 및 RT-4 세포에 대하여는 유의한 수준의 CTL 활성을 나타내지 않았다(도 13). 이는, DEPDC 1-A24-9-294가 HLA-A24 분자를 갖는 암 세포 표면에 자연스럽게 프로세싱되고, CTL에 의하여 인식된다는 것을 명확하게 보여준다.

[0214]

[0215] BALB/c마우스에 있어서의 DEPDC1-A24-9-294 펩티드에 의한 인 비보에서 CTL의 유도

- [0216] H-2Kd분자(마우스 MHC 클래스 I의 하나)가 HLA-A24 분자에 대한 펩티드 앵커의 모티프를 닮아 있어 HLA-A24-제한되는 펩티드와 일부 교차 반응한다는 것은 당업계에 이미 알려져 있다. 본 발명자들은, 그 후, DEPDC 1-A24-9-294 펩티드가 인 비보에서 CTL를 유도할지 여부를, 이 펩티드를 BALB/c마우스(H2 kd)에 백신 접종함으로써 테스트하였다. IFA 콘주게이티드 펩티드는, 0 및 7 일 후에 BALB/c마우스에 피하 주사되었다. 14 일째에, 비세포를 수집하여, ELISPOT 분석을 위한 반응물(responder) 세포로 이용하였다. 펩티드가 주입된 모든 마우스(Anil~5)의 비세포는, IFA 단독이 주입된 대조군 마우스(negat, 2)와 비교하여 강력한 IFN-감마 생산을 나타냈다. (도 14). 이 데이터는, DEPDC1-A24-9-294 펩티드가 인 비보에서도 CTL 반응을 유도할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0217] HLA-A*0201-제한되는 DEPDC1 유래의 예측 펩티드를 이용한 T 세포의 자극
- [0218]
- [0219] *IFN-감마 ELISPOT 분석에 의한 선택시, 검출 가능한 특이적 CTL 활성을 갖는 CTL은, 도 15 및 표 6에 기재하였다. DEPDC1- A02-10-644 ((SLMIHTFSRC 서열 번호: 240))로 자극된 웰 넘버 #4 및 #7의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-575 (SLLPASSMLT (서열 번호: 241))로 자극된 웰 넘버 #2의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-506 (QLCRSQSLLL (서열 번호: 243))로 자극된 웰 넘버 #7의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-765 (KQFQKEYPLI (서열 번호: 244))로 자극된 웰 넘버 #1의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02- 10-395 (IMGGSCHNLI (서열 번호: 249))로 자극된 웰 넘버 #1의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-224 (NMANTSKRGV (서열 번호: 253))로 자극된 웰 넘버 #1 및 #2의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-9-297 (ELFVNILGL (서열 번호: 226))로 자극된 웰 넘버 #4의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-296 (YELFVNILGL (서열 번호: 254))로 자극된 웰 넘버 #3 및 #4의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1- A02-10-301 (NILGLLQPHL (서열 번호: 255))로 자극된 웰 넘버 #2, #3, #5 및 #7의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC 1-A02-9-598 (LLQPHLERV (서열 번호: 192))로 자극된 웰 넘버 #6의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC1-A02-9-619 (LLMRMISM (서열 번호: 195))로 자극된 웰 넘버 #6의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC 1-A02-9-290 (LLTFEYEL (서열 번호: 197))로 자극된 웰 넘버 #2의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC 1-A02-9-563 (RLCKSTIEL (서열 번호: 209))로 자극된 웰 넘버 #5의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. DEPDC 1-A02-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225))로 자극된 웰 넘버 #1 및 #3의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다., DEPDC 1-A02- 10-674 (FLMDhHQEIL (서열 번호: 228))로 자극된 웰 넘버 #1의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다. 마지막으로, DEPDC1-A02- 10-302 (ILVVcGYITV (서열 번호: 230))로 자극된 웰 넘버 #2 및 #6의 세포들은 대조군과 비교하여 유효한 IFN-감마 생산을 보였다.
- [0220] DEPDC 1-A02-10-296 (YELFVNILGL (서열 번호: 254)) 및 DEPDC 1-A02-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225))(도 16)에 의하여 자극된 CTL 주는, 펩티드에 의하여 펄스되지 않는 표적에 대하여는 유의한 수준의 특이적인 CTL 활성을 나타내지 않고, 펩티드 펄스된 표적에 대하여, 강력하고 특이적인 CTL 활성을 나타냈다.:이는 CTL 클론이 펩티드 특이적인 세포 독성을 갖는다는 것을 나타낸다.

[0221]

[표 6]

HLA-A*0201-제한되는, *DEPDC1*로부터의 후보 펩티드

펩티드 명칭	서열 번호	웰 번호
DEPDC1-A02-9-589	192	#6
DEPDC1-A02-9-619	195	#6
DEPDC1-A02-9-290	197	#2
DEPDC1-A02-9-563	209	#5
DEPDC1-A02-9-653	225	#1
DEPDC1-A02-9-653	225	#3
DEPDC1-A02-10-674	228	#1
DEPDC1-A02-10-302	230	#2
DEPDC1-A02-10-302	230	#6

[0222]

[0223]

DEPDC1 및 HLA-A*0201를 발현하는 표적 세포에 대한 특이적 CTL 활성

[0224]

DEPDC 1-A02-10-296 펩티드 (YELFVNILGL (서열 번호: 254)) 및 DEPDC 1-A02-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225))에 대하여 증가한, 확립된 CTL 주의, DEPDC1 및 HLA-A2를 내생적으로 발현하는 표적 세포를 인식하는 능력을 테스트하였다. 처음에 본 발명자들은 효율적으로 특이적인 CTL 반응을 측정하기 위하여 HLA-A*0201 (HEK-A2)를 구조적으로(constitutively) 발현하는 HEK293 세포주를 확립하였다. DEPDC1 및 HLA-A2를 발현하는 표적 세포의 특이적인 모델인, 전장 DEPDC1 유전자를 형질전환시킨 HEK-A2세포에 대한 특이적인 CTL 활성은, 이펙터 세포로 DEPDC 1-A02- 10-296 (YELFVNILGL (서열 번호: 254)) 또는 DEPDC 1-A02-9-653 (CVLCCAEV (서열 번호: 225))에 의하여 증가한, 확립된 CTL 주를 이용하여 시험되었다. Mock 발현 벡터를 형질전환한 HEK-A2, 및 DEPDC1 유래의 대응하지 않는 펩티드로 펄스된 HEK-A2를 음성 대조군으로 제조하였다. 확립한 CTL주는, DEPDC1을 형질전환 한 HEK-A2에 대하여 특이적인 CTL 활성을 나타냈다. 한편, 해당 CTL주는, 형질전환 한 Mock 발현 벡터 및 DEPDC1-A0 2-9-674 펩티드 또는 DEPDC 1-A02-9-462 펩티드가 펄스된 HEK-A2에 대하여, 유의미한 수준의 특이적 CTL 활성을 나타내지 않았다(도 1 7). 이는, DEPDC1-A02-10-296 및 DEPDC1-A02-9-653 펩티드가, HLA-A2분자와 함께 표적 세포 표면에 자연스럽게 프로세싱되고, CTL에 의하여 인식된다는 것을 명확하게 증명하였다.

[0225]

항원 펩티드의 상동성 분석

[0226]

본 발명의 펩티드에 대하여 확립된 CTL는, 강하고 특이적인 CTL 활성을 나타내었다. 이는, MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7), MPHOSPH1-A24- 10-278 (서열 번호: 8), MPHOSPH 1-A2-9-282 (서열 번호: 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (서열 번호: 10), MPHOSPH 1-A2- 10- 1714 (서열 번호: 11), DEPDC 1-A24-9-294 (서열 번호: 12), DEPDC1-A2-9-589 (서열 번호: 192), DEPDC1-A2-9-619 (서열 번호: 195), DEPDC 1-A2-9-290 (서열 번호: 197), DEPDC 1-A2-9-563 (서열 번호: 209), DEPDC 1-A2-9-653 (서열 번호: 225), DEPDC1-A2-10-674 (서열 번호: 228), DEPDC 1-A2- 10-302 (서열 번호: 230) DEPDC1-A02-10-644 (서열 번호: 240), DEPDC1-A02-10-575 (서열 번호: 241), DEPDC1-A02-10-506 (서열 번호: 243), DEPDC1-A02-10-765 (서열 번호: 244), DEPDC1- A02-10-395 (서열 번호: 249), DEPDC 1-A02- 10-224 (서열 번호: 253), DEPDC1- A02-9-297 (서열 번호: 226), DEPDC 1-A02- 10-296 (서열 번호: 254) 및 DEPDC1-A02-10-301 (서열 번호: 255)의 서열이 인간 면역계를 민감하게 하는 (sensitize) 것으로 알려진 다른 분자들로부터 유래한 펩티드들과 상동(homologous)이라는 것을 의미한다. 이러한 가능성을 배제하기 위하여 BLAST 알고리즘(algorithm) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>)을 이용하여, 펩티드 서열을 주제로(as queries) 상동성 분석을 수행하였다. 중요한 서열 상동성은 발견되지 않았다.

[0227]

이러한 결과는 MPHOSPH 1-A24-9-278 (서열 번호: 7), MPHOSPH1-A24- 10-278 (서열 번호: 8), MPHOSPH 1-A2-9-282 (서열 번호: 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (서열 번호: 10), MPHOSPH 1-A2- 10- 1714 (서열 번호: 11), DEPDC 1-

A24-9-294 (서열 번호: 12), DEPDC 1-A2-9-598 (서열 번호: 192), DEPDC1-A2-9-619 (서열 번호: 195), DEPDC 1-A2-9-290 (서열 번호: 197), DEPDC 1-A2-9-563 (서열 번호: 209), DEPDC 1-A2-9-653 (서열 번호: 225), DEPDC1-A2-10-674 (서열 번호: 228), DEPDC 1-A2- 10-302 (서열 번호: 230) DEPDC1-A02-10-644 (서열 번호: 240), DEPDC1-A02-10-575 (서열 번호: 241), DEPDC1-A02-10-506 (서열 번호: 243), DEPDC1-A02-10-765 (서열 번호: 244), DEPDC1- A02-10-395 (서열 번호: 249), DEPDC 1-A02- 10-224 (서열 번호: 253), DEPDC 1-A02-9-297 (서열 번호: 226), DEPDC 1-A02- 10-296 (서열 번호: 254) 및 DEPDC1-A02-10-301 (서열 번호: 255)의 서열이 공유하며, 관련없는 분자에 대한 의도하지 않은 면역 반응을 일으킬 위험이 낮다는 것을 의미한다.

[0228] 토론

[0229] 새로운 TAA들, 특히 유효하고 강한 항암 면역 반응을 유도하는 것들의 확인은 다양한 종류의 암에 있어서, 펩티드 백신 접종 전략의 임상 적용이 더욱 발전하리라는 것을 보증한다(Boon T. et al., (1996) J Exp Med 183: 725-9.; van der Bruggen P et al., (1991) Science 254: 1643-7.; Brichard V et al., (1993) J Exp Med 178: 489-95.; Kawakami Y et al., (1994) J Exp Med 180: 347-52.; Shichijo S et al., (1998) J Exp Med 187:277-88.; Chen YT et al., (1997) Proc.Natl.Acd. Sci. USA, 94: 1914-8.; Harris CC, (1996) J Natl Cancer Inst 88:1442-5.; Butterfield LH et al., (1999) Cancer Res 59:3134-42.; Vissers JL et al., (1999) Cancer Res 59: 5554-9.; van der Burg SH et al., (1996) J. Immunol 156:3308-14.; Tanaka F et al., (1997) Cancer Res 57:4465-8.; Fujie T et al., (1999) Int J Cancer 80:169-72.; Kikuchi M et al., (1999) Int J Cancer 81 : 459-66.; Oiso M et al., (1999) Int J Cancer 81:387-94.).

[0230] cDNA 마이크로어레이 기술은 악성 세포의 유전자 발현의 포괄적인 프로파일을 제공할 수 있으며(Lin YM, et al., Oncogene. 2002 Jun 13;21:4120-8.; Kitahara O, et al., Cancer Res. 2001 May 1;61:3544-9.; Suzuki C, et al., Cancer Res. 2003 Nov 1;63:7038-41.; Ashida S, Cancer Res. 2004 Sep 1;64:5963-72.; Ochi K, et al., Int J Oncol. 2004 Mar;24(3):647-55.; Kaneta Y, et al., Int J Oncol. 2003 Sep;23:681-91.; Obama K, Hepatology. 2005 Jun;41:1339-48.; Kato T, et al., Cancer Res. 2005 Jul 1;65:5638-46.; Kitahara O, et al., Neoplasia. 2002 Jul-Aug;4:295-303.; Saito-Hisaminato A et al., DNA Res 2002, 9: 35-45.), TAA 후보들의 확인에 유용성을 발견한다. 다양한 암에서 높게 조절되는 전사체 중, MPHOSPH1 및 DEPDC1로 명명된 2개의 신규한 인간 유전자들은 이들 기술을 이용하여 각각 확인되었다.

[0231] 전술한 바와 같이, MPHOSPH1 및 DEPDC1는 다양한 암에서 과잉 발현하지만, 정상 조직에서는 매우 적게 발현하는 것으로 보인다. 더군다나, 이러한 유전자는 세포 증식에 관련한 중요한 기능을 갖는다(PCT/JP2006/302684를 참조). 그러므로, MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 펩티드는 TAA 에피토프로서 작용하며, 암 세포에 대하여 중요하고 특이적인 면역 반응을 유도하는데 이용할 수 있다.

[0232] 따라서, MPHOSPH1 및 DEPDC1는 신규 TAA이며, 이러한 에피토프 펩티드를 이용하는 백신은, 이러한 분자를 발현하는 다양한 암 또는 다른 질환에 대한 면역 치료법으로 유용하다.

[0233] 실시예 2

[0234] 재료 및 방법

[0235] 펩티드 및 아쥘반트

[0236] 합성된 GMP 등급(grade) 펩티드는, 네오 멀티 펩티드 시스템(Neo Multi Peptide System)(MPS) (샌디에이고, CA)으로부터 구입하였다.아쥘반트로는, 불완전 프론트'스 아쥘반트(Freund's adjuvant) (IFA) (MONTANIDE

*ISA51)가 이용되었으며, 1 mg의 적절한 펩티드가 1 mg의 IFA에 의하여 유화되었다.

[0237]

항원 발현

[0238]

본 발명자들은, 면역조직화학적 분석을 실시하였다. 수술 또는 생검을 통하여 얻은 대장암 유래의 암세포 또는 암조직을, 각각 MPHOSPH1 및 DEPDC1 특이적 폴리클론 항체(polyclonal antibody)로 염색하였다. 염색의 프로토콜은, 전술한 바와 같이 (Kanehira M et al. Cancer Res. ;67 (7) :3276-3285, 2007. , Kanehira M et al. Onco gene. 2007 Apr 23; [Epub ahead of print]) 도쿄 대학 의과 학원(학교-연구소) 연구소의 인간게놈 센터에서 확립되었다. HLA-A*2402의 발현은, SRL (Tachikawa, Japan)에서 테스트하였다.

[0239]

등록된 환자

[0240]

등록 기준은 하기와 같다;

[0241]

1. 과거 표준적인 화학요법에 따라 치료를 받았으나 실패하였고, 암이 재발하였으며 수술이 불가능한 방광암 환자.

[0242]

2. 일본의 판정 기준에 대하여 일반 상태가 0 또는 1인 환자.

[0243]

3. 20세부터 80세의 환자

[0244]

4. RECIST 가이드 라인과 관계없이, 치료 전에 화상 검사(CT/MRI)에 의하여 원발성 암 또는 전이 암이라고 인정된 환자

[0245]

5. 전 치료(수술, 화학요법, 방사선 요법, 온열 요법, 그 외 다른 면역 요법) 후 4주 이상 경과한 환자

[0246]

6. 3개월 이상의 예후가 예측되는 환자

[0247]

7. 골수 기능(백혈구 수 2000 이상, 15000 이하, 혈소판 50000 이상), 간기능(GOT150 이하, GPT150 이하, T-bil 3.0 이하), 신장 기능(Cr 3.0 이하)의 환자

[0248]

8. HLA-A*2402를 갖는 환자

[0249]

9.MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1이 발현된 환자의 중앙

[0250]

제외 기준은 하기와 같다;

[0251]

1. 임신 중인 환자

[0252]

2. 수유 중인 환자

[0253]

3. 임신할 의사가 있는 환자

[0254]

4. 제어 곤란한 감염증이 있는 환자

[0255]

5. 임상시험 기간중에 이하의 약제를 필요로 하는 환자;스테로이드의 전신 투여

[0256]

면역 억제 약의 전신 투여

[0257]

6. 의사 또는 책임 연구원이 이 시험에 등록이 되어서는 안 된다고 판단한 환자

[0258]

프로토콜

[0259]

중앙이 M phase phosphoprotein 1 (MPHOSPH1) 및/또는 DEP domain containing 1 (DEPDC1)을 발현하는, HLA-A*2402를 갖는 등록된 방광암 환자를 HLA-A*2402-제한되는 에피토프 펩티드 MPHOSPH1-9278(IYNEYIYDL (서열 번호: 7)) 및/또는 DEPDC1-9-294(EYYELFVNI (서열번호: 12))로 면역시켰다. 각각의 펩티드는, 1mL의 불완전 프론트'스 아드ju반트(Freund's adjuvant)(IFA, MONTANIDE*ISA51)와 조합할 수 있어, 1 주에 한 번 겨드랑이 또는

서혜부 손상(inguinal lesion)에 피하 주사되었다. 1 코스를 4회 주사로 규정하고, 면역 학문적 및 임상적 평가를 위해, 1 코스 후 채혈 및 CT/MRI를 수행하였다.

안전성의 평가

국립암연구소 공통 독성 판정 기준 제 3판(NC I-CTC ver.3)에 따라 부작용을 평가하였다.

면역학적 평가

이것은 이 연구의 이차 종점 중 하나로, 본 발명자들은 펩티드 특이적인 CTL반응이 발생했는지 어떠한지를 확인하였다. 특이적인 CTL 반응은 하기와 같이 측정되었다;

말초 혈액 단핵 세포는 회수되어 적절한 펩티드에 의하여 재자극되었다. CTL 반응은, IFN-감마 ELISPOT 분석에 의하여, 14 일째에 시험되었다.

항암효과의 평가

RECIST 기준에 따라 임상 반응을 평가하였다.

결과

표 7은, 본 임상 연구의 개요를 나타낸다. 케이스 3의 등급(grade) 2의 발진을 제외하고, 심각한 부작용은 없었다. 마이너(minor)한 반응(케이스 3) 및 혼합된 반응(케이스 4)을 얻을 수 있었다. MPHOSPH1의 발현은 5 케이스 중 4 케이스였지만, DEPDC1의 그것은 5 케이스 중 5 케이스였다.

[표 7]

케이스	연령/성	백신 면역	부작용	DTH	평가부위	평가	현재 상태	항원발현		CTL
								MPHOSPH1	DEPDC1	
1	79/M	1 코스	없음	없음	LNs, 뇌	PD	1.8mo, 사망	○	○	없음
2	72/F	3 코스	없음	없음	국소재발	SD (4.5mo)	5.0mo, 생존	○	○	NT
3	49/M	4 코스	발진	없음	폐 전이	마이너한 반응	3.7mo, 생존	×	○	있음
4	74/M	2 코스	없음	없음	국소재발	마이너한 반응	1.4mo, 생존	○	○	NT
5	78/M	2 코스	없음	없음	국소재발	SD	1.4mo, 생존	○	○	NT

NT : 시험하지 않음

본 임상 연구의 개요

케이스 2

케이스 2에 대하여, 표준화학 요법의 실패로 상당히 진행된 방광암 환자인 72세의 여성이 본임상시험에 등록되었다. 도 18에서, 그녀의 암의 항원 발현은, MPHOSPH1 및 DEPDC1가 강하게 발현하는 것을 나타냈다. 따라서, 본 발명자들은 MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 에피토프 펩티드 2종을 백신 접종하였다. 케이스 2는, 방광암의 국소 재발을 보였다. 그것은, RECIST 기준에 기초하여 안정적 질병(stable disease (SD))으로 평가하였다(도 19).

케이스 3

케이스 3에 대하여, 표준화학 요법의 실패로 상당히 진행된 방광암 환자인 49세의 남성이, 본 임상시험에 등록되었다. DEPDC1만이 강하게 발현되었다(도 20). 따라서, 본 발명자들은, DEPDC1 유래의 에피토프 펩티드를 단독으로 백신 접종하였다. 케이스 3은, 방광암이 복수 개로 폐에 전이되었다. 오른쪽(도 21) 및 왼쪽(도 22)의 폐

염 전이에 대하여, 진행율이 백신 접종 후 저하하였다. 특히, 종양의 사이즈가 3 코스 후에 감소하였다. 도 23은, RECIST 기준에 근거하여 항암효과를 나타낸다. 전이암의 진행율이 백신 접종 후로 저하한 것이 밝혀졌다. 이는, DEPDC1 유래의 에피토프 펩티드를 이용한 백신 접종에 의하여 마이너 반응을 얻을 수 있다는 것을 나타냈다. 케이스 3의 면역학적 평가에 관해서, 특이적 CTL반응은, 백신 접종의 전후로 측정되었다. 특이적 CTL 반응은 백신 접종 후 강하게 나타났다(도 24). 이는, DEPDC1 유래의 에피토프 펩티드에 의하여 유도되는 CTL이 항암효과를 나타낼 수 있다는 것을 명확하게 의미한다.

[0277]

[0278]

케이스 4

[0279]

케이스 4에 대하여, 표준적 화학요법의 실패로 상당히 진행된 방광암 환자인 74세의 남성이 본 임상시험에 등록되었다. MPHOSPH1 및 DEPDC1는, 그의 암에서 발현하였다(도 25). 따라서, 우리는, MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 2 종류의 에피토프 펩티드를 백신 접종하였다. 케이스 4는, 방광암의 국소 재발을 보였다. 1 코스의 백신 접종 후, 종양의 사이즈는, RECIST 기준에 근거하여, 20% 감소하였다(도 26). 그렇지만, 폐에 새로운 전이성 병변(lesions)이 발생하였다. 이는, MPHOSPH1 및 DEPDC1 유래의 2 종류의 에피토프 펩티드를 이용하는 백신 접종에 의하여 혼합된 반응을 얻을 수 있다는 것을 의미한다.

[0280]

토론

[0281]

본 임상시험의 이론적 근거는 하기와 같다;

[0282]

1. MPHOSPH1 및 DEPDC1는 정소를 제외한 정상 조직에서는 발현되지 않기 때문에, 양 항원은 매우 종양 특이적이다.

[0283]

2. 강력하고 특이적인 CTL가 이러한 에피토프 펩티드에 의하여 확립되었으므로, 이러한 펩티드는 강한 면역원성을 갖는 것으로 생각된다.

[0284]

3. 일본인 집단의 60%가 HLA-A*2402를 갖는다.

[0285]

4. 이러한 펩티드는, 임상시험에 적용하기에 충분히 화학적으로 안정되어 있다.

[0286]

본연구의 목적은, 그 독성, 면역학적 반응 및 항암 활성의 임상적인 정보를 얻는 것이다.

[0287]

종래 보고된 펩티드를 이용한 백신 임상 시험의 부작용은, 열, 두통 및 불쾌감과 같은 퍼-유사 증상(fur-like symptom)이다. 드물게는, 주사된 부위에 일시적인 교차 반응성이라고 생각되는. 수포를 수반하는 급진적인 피부 반응이 보고되었다. 이 시험에서, 케이스 3의 등급(grade) 2 발진을 제외하면, 심각한 부작용은 없었다. 이 환자는, 화학요법 중 발진을 나타낸 병력이 있었다. 이는 그 부작용이 이 백신 접종에 의하여는 일어나지 않았다는 것을 의미하며, 따라서, 이 프로토콜은 안전하고 판단된다.

[0288]

백신 접종 후, 특이적 CTL 유도에 의하여 면역학적 분석을 수행하였다. 케이스 1에 대하여, 백신 접종 후 특이적인 CTL 반응은 얻을 수 없었다(데이터는 기재하지 않음). 케이스 3에 대하여, DEPDC1 유래의 펩티드에 대한 특이적인 CTL 반응은, 제 1 및 제 2 코스의 백신 접종 후 명확하게 나타났다. 케이스 3에 대하여, 백신 접종에 의하여 항암효과를 얻을 수 있었다. 이는, 해당 DEPDC1 유래의 펩티드가 특이적인 CTL의 유도에 의하여 방광암에 대하여 항암효과를 나타낸다는 것을 명확하게 보인 것이다.

[0289]

케이스 4에 대하여, 1 코스만의 백신 접종 후, 방광암의 국소 재발에 대하여 항암 효과를 명확하게 얻을 수 있었다. 이러한 증거는, 이러한 에피토프 펩티드가 방광암에 대하여 항암 효과를 갖는다는 것을 강하게 뒷받침한다.

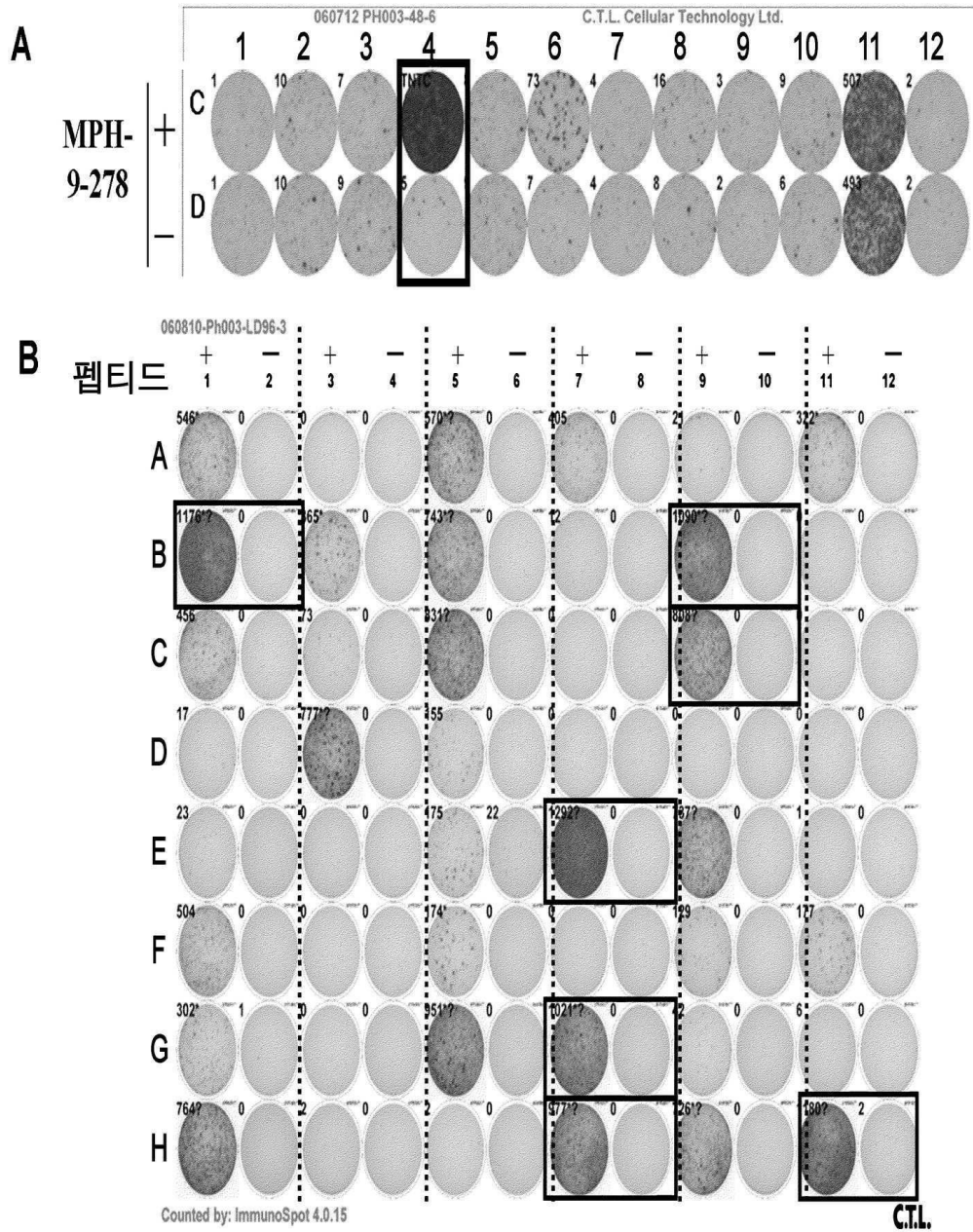
[0290]

결론적으로 본 에피토프 치료는 안전하며, 또한 심각한 부작용이 없고 강한 항암 효과가 나타나는 것을 보였다.

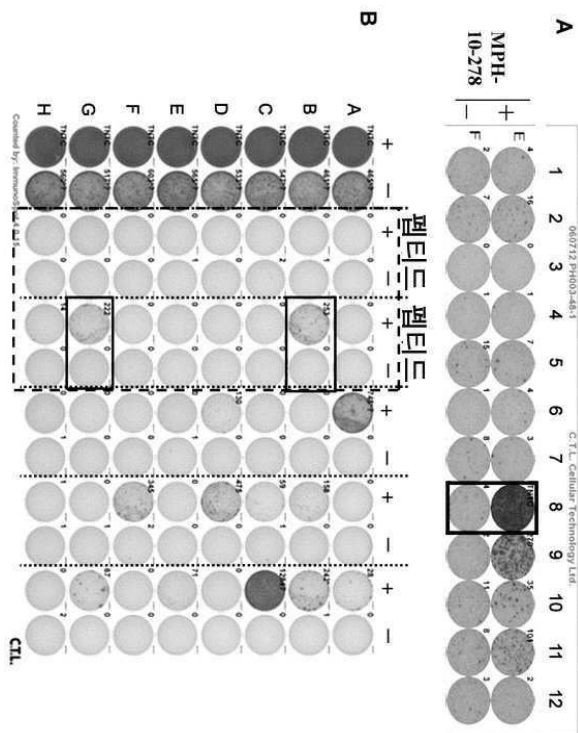
- [0291] 본 발명은, 신규 TAA, 특히, 강력하고 특이적인 항암 면역 반응을 유도하는 TAA들을 확인한다. 이러한 TAA는, MPHOSPH1 및/또는 DEPDC1과 관련된 질환, 예를 들면 암에 대한 펩티드 백신으로, 앞으로의 발전을 보증한다.
- [0292] 본 명세서에서 인용한 특허, 특허 출원 및 간행물은 참조로 본 명세서에 모두 포함된다.
- [0293] 본 발명이 특정 실시예에 대한 참조와 함께 상세하게 기재되어 있지만, 이러한 기재는 사실상 예시적, 설명적인 것으로, 본 발명 및 그 바람직한 실시예를 설명하기 위한 의도이다. 전형적인 실험을 통하여, 당업자는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변경 또는 수정이 가해질 수 있다는 것을 쉽게 인식할 것이다. 그러므로 본 발명은 상기 기재에 의하여 한정되지 않으며, 이하의 특허청구범위 및 그 동등한 범위로 한정된다.

도면

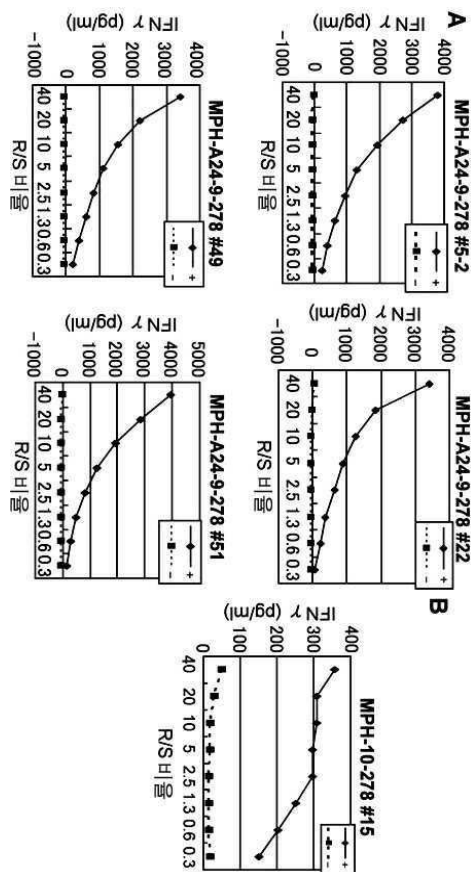
도면1



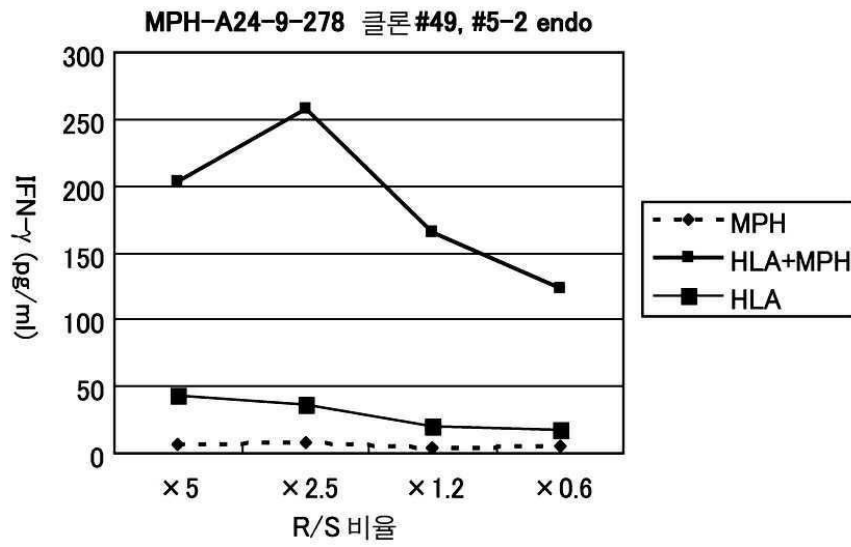
도면2



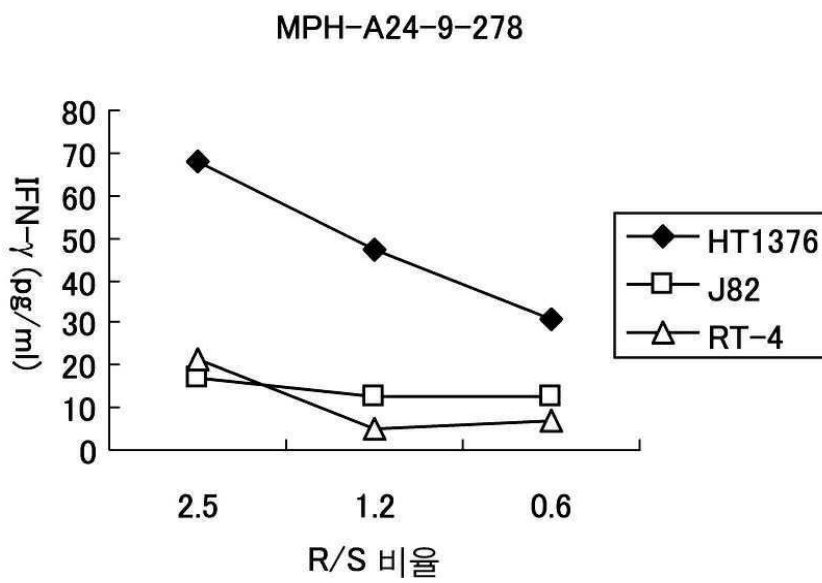
도면3



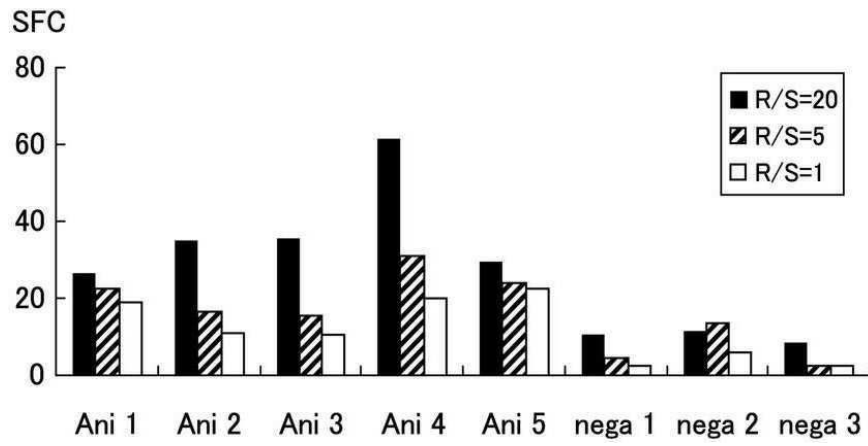
도면4



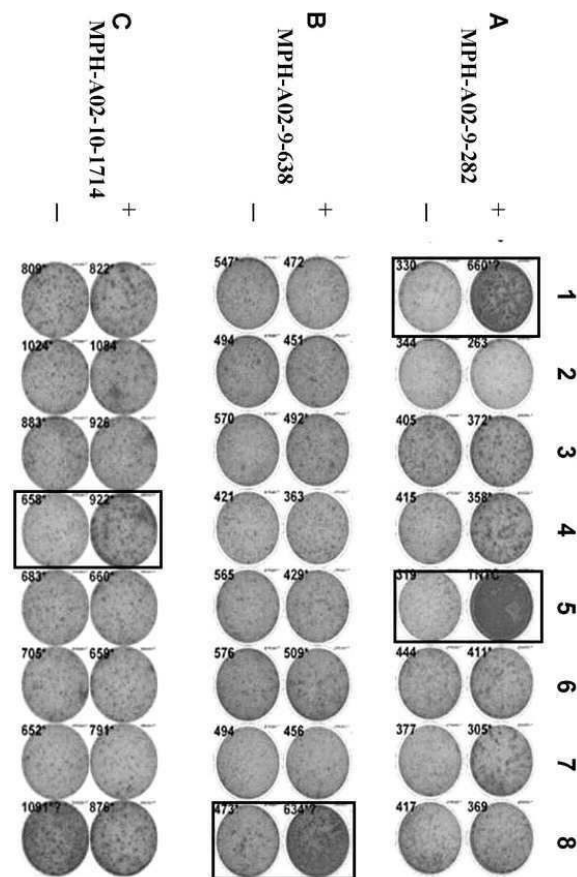
도면5



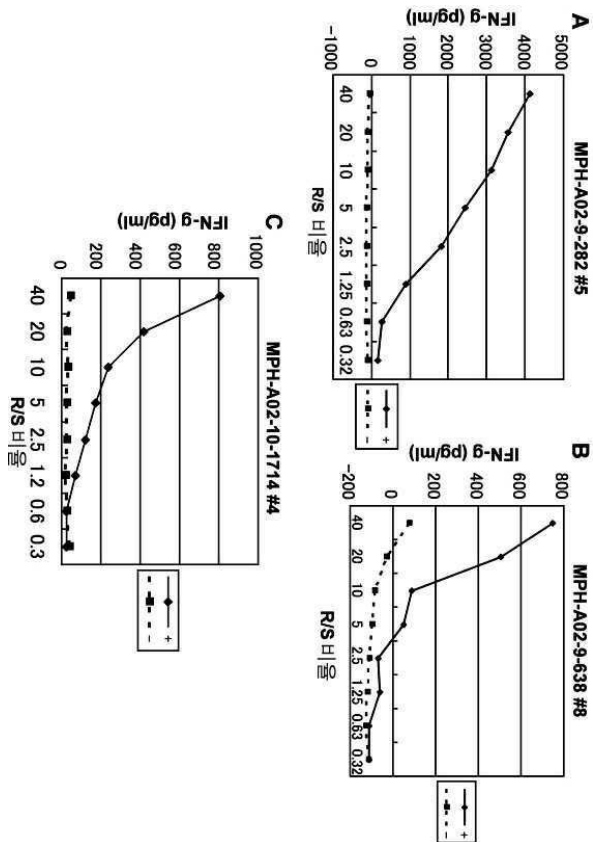
도면6



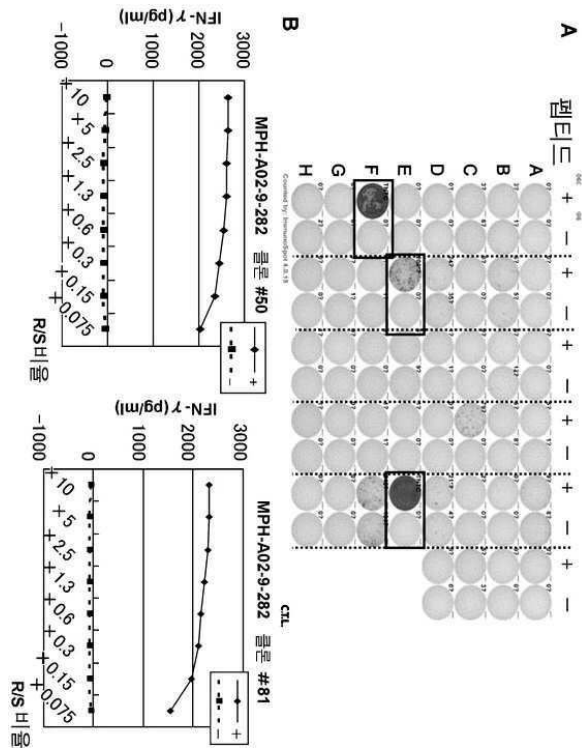
도면7



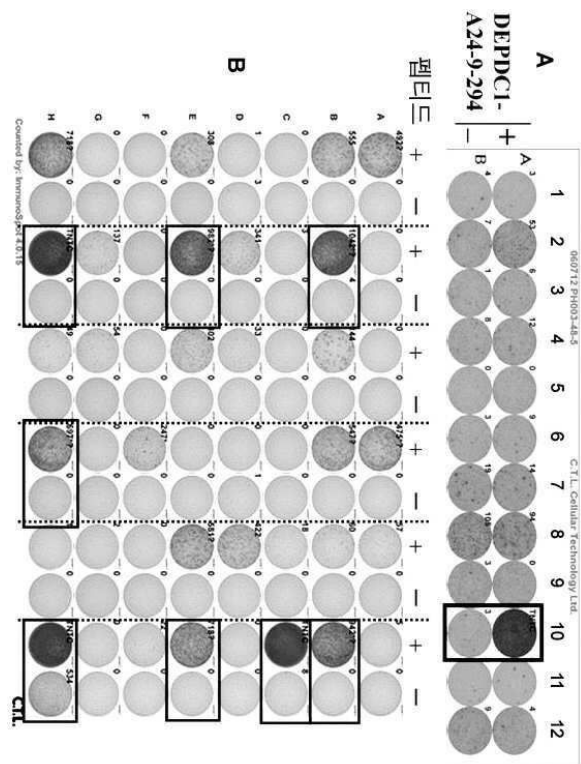
도면8



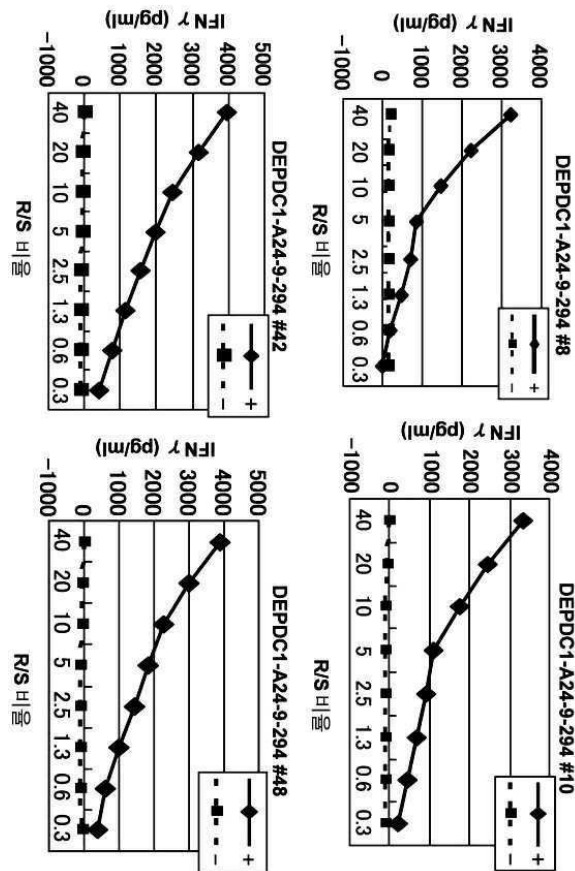
도면9



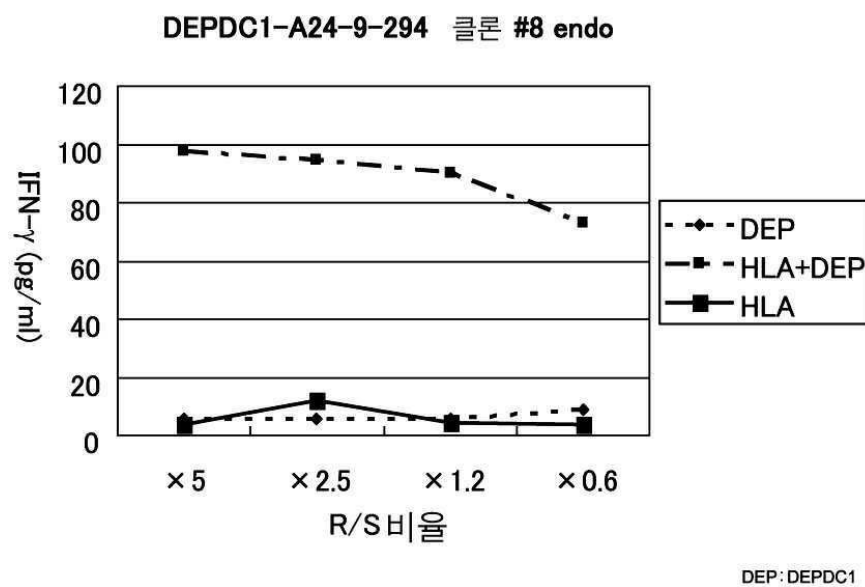
도면10



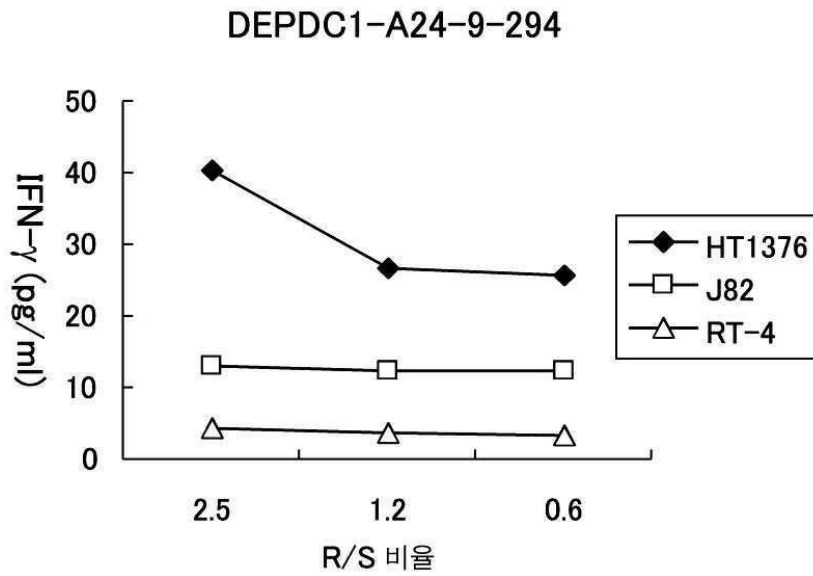
도면11



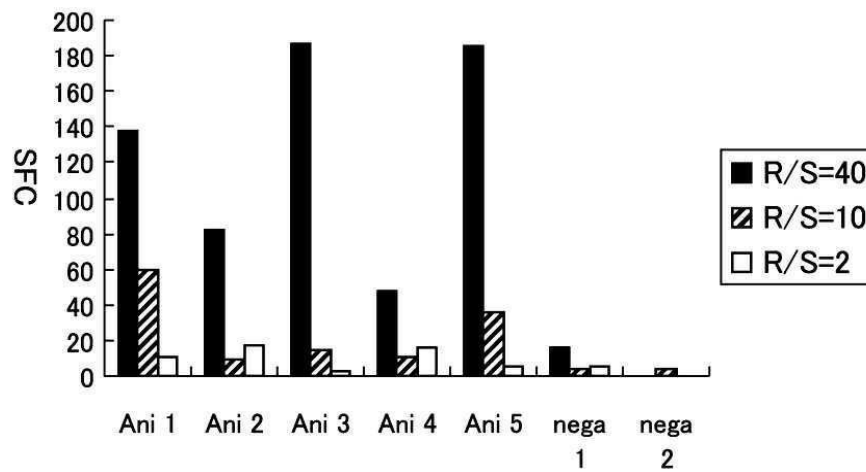
도면12



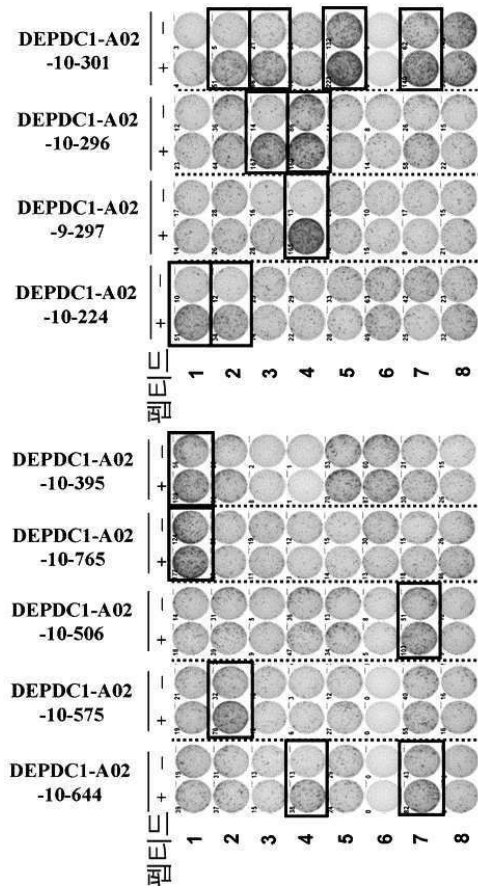
도면13



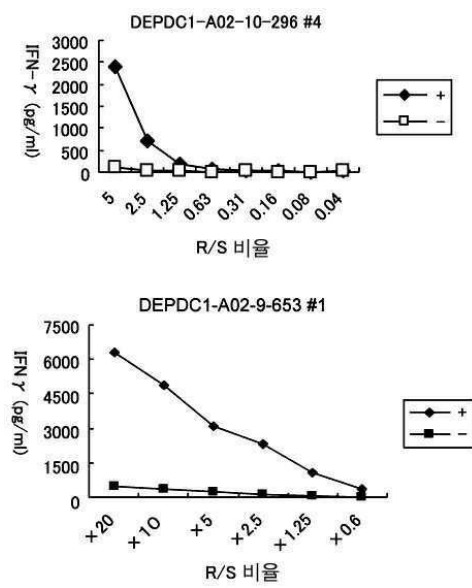
도면14



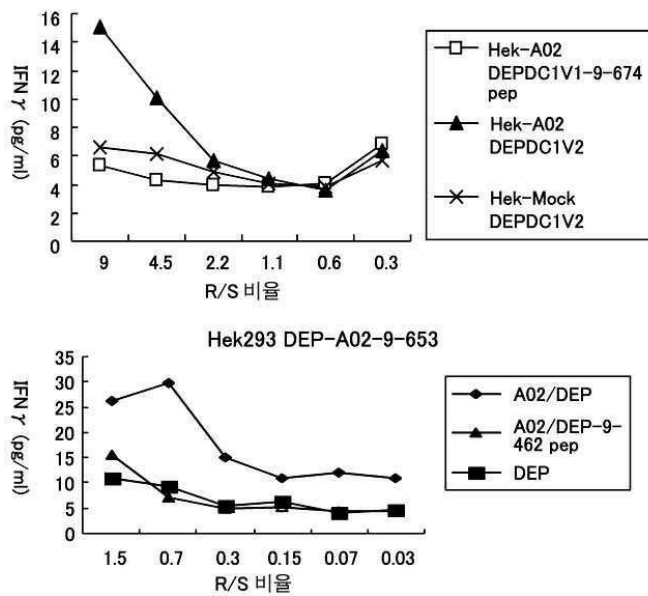
도면15



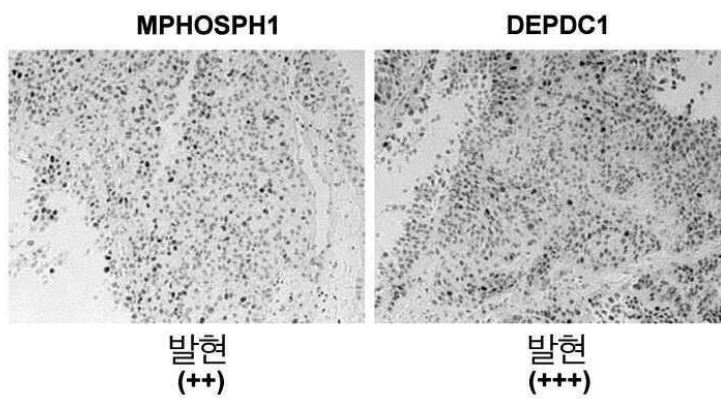
도면16



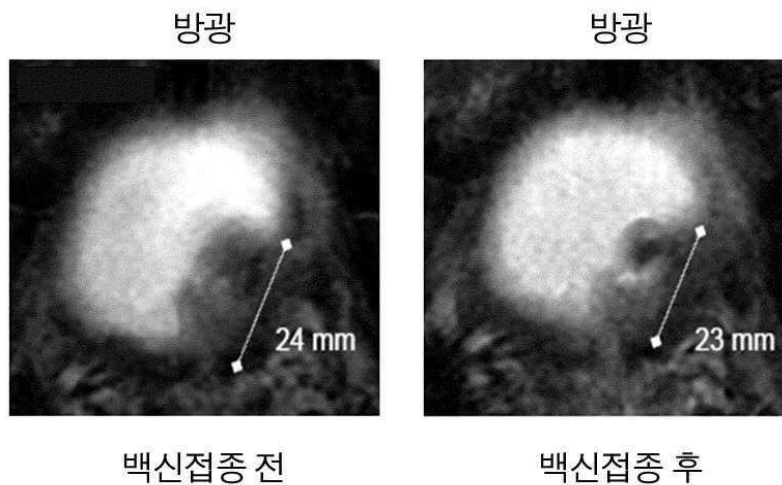
도면17



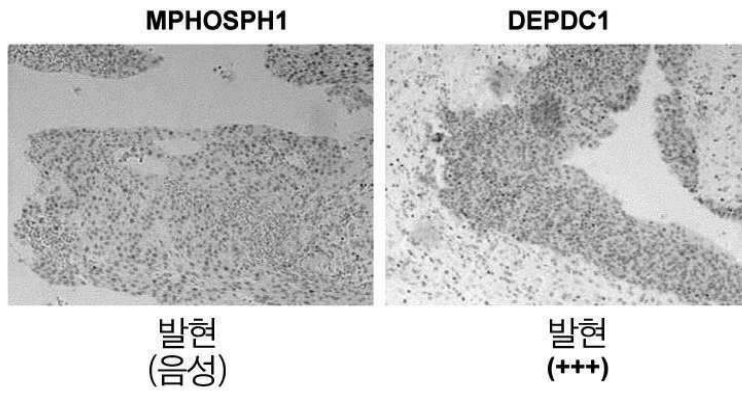
도면18



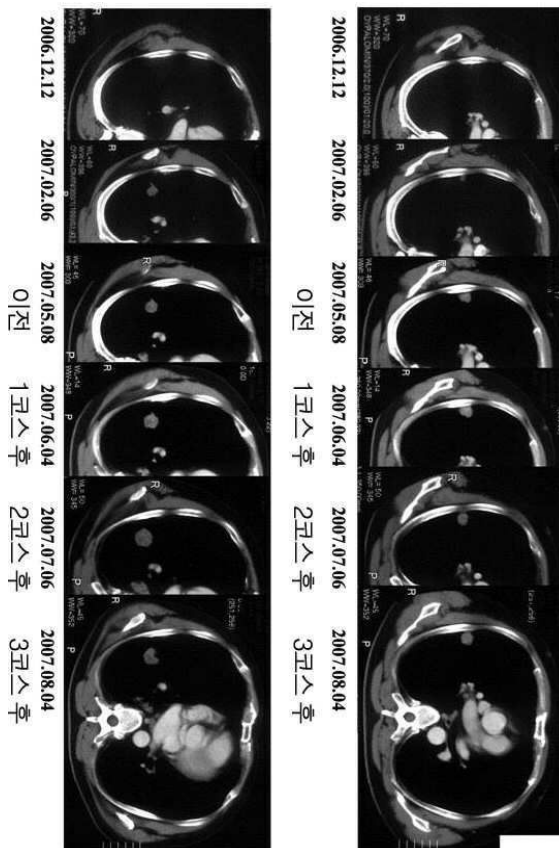
도면19



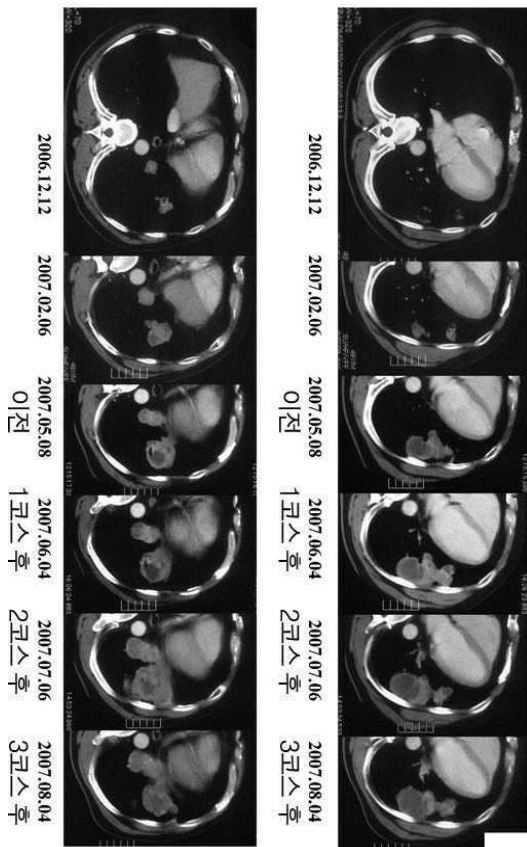
도면20



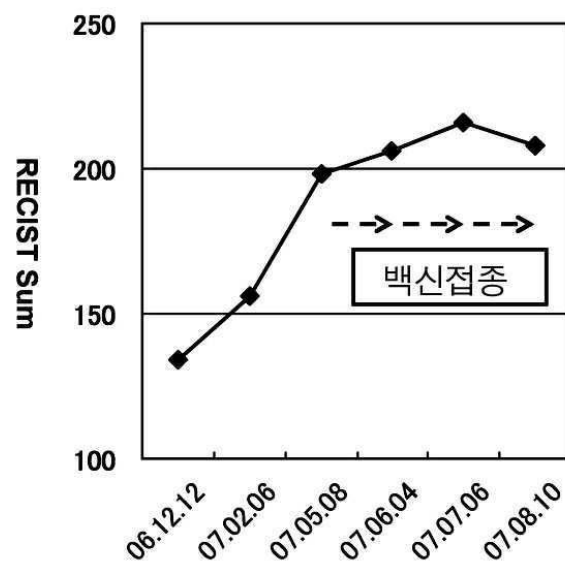
도면21



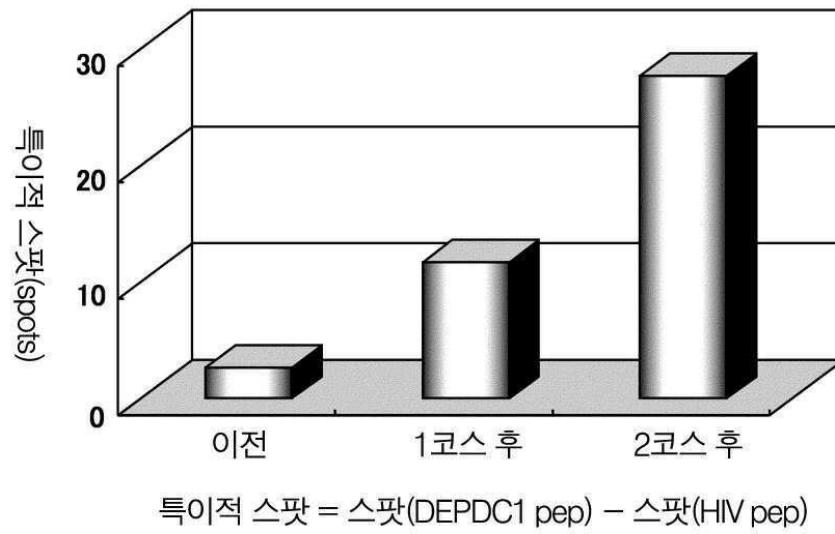
도면22



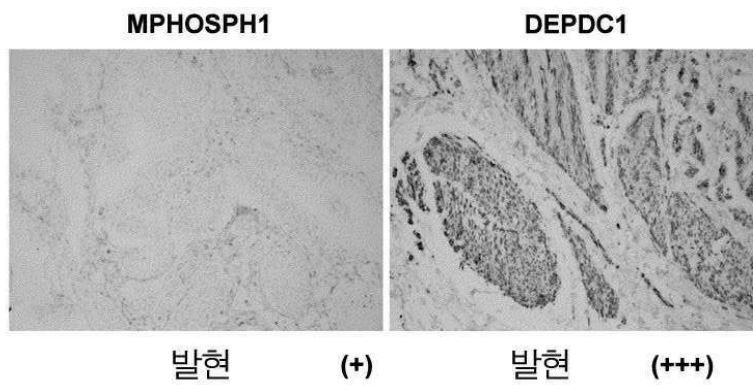
도면23



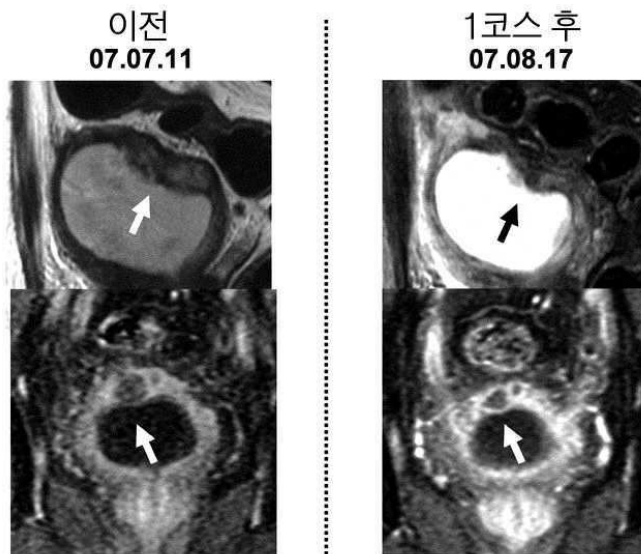
도면24



도면25



도면26



서열목록

<110> ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.

THE UNIVERSITY OF TOKYO

FUJIOKA, Tomoaki

<120> PEPTIDE VACCINES FOR CANCERS EXPRESSING MPHOSPH1 OR DEPDC1
POLYPEPTIDES

<130> ONC-A0618P

<150> US 60/852,575

<151> 2006-10-17

<160> 255

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 6319

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (73)..(5412)

<400> 1

attgtttgaa ttgaaaaacg gtaacatcgc agtgctgctc gcgggtcttg ctagtcaggc

60

gaagtttgca ga

atg gaa tct aat ttt aat caa gag gga gta cct

105

Met Glu Ser Asn Phe Asn Gln Glu Gly Val Pro

	1	5	10	
cga cca tct tat gtt ttt agt gct gac cca att gca agg cct tca gaa				153
Arg Pro Ser Tyr Val Phe Ser Ala Asp Pro Ile Ala Arg Pro Ser Glu				
	15	20	25	
ata aat ttc gat ggc att aag ctt gat ctg tct cat gaa ttt tcc tta				201
Ile Asn Phe Asp Gly Ile Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu				
	30	35	40	
gtt gct cca aat act gag gca aac agt ttc gaa tct aaa gat tat ctc				249
Val Ala Pro Asn Thr Glu Ala Asn Ser Phe Glu Ser Lys Asp Tyr Leu				
	45	50	55	
cag gtt tgt ctt cga ata aga cca ttt aca cag tca gaa aaa gaa ctt				297
Gln Val Cys Leu Arg Ile Arg Pro Phe Thr Gln Ser Glu Lys Glu Leu				
	60	65	70	75
gag tct gag ggc tgt gtg cat att ctg gat tca cag act gtt gtg ctg				345
Glu Ser Glu Gly Cys Val His Ile Leu Asp Ser Gln Thr Val Val Leu				
	80	85	90	
aaa gag cct caa tgc atc ctt ggt cgg tta agt gaa aaa agc tca ggg				393
Lys Glu Pro Gln Cys Ile Leu Gly Arg Leu Ser Glu Lys Ser Ser Gly				
	95	100	105	
cag atg gca cag aaa ttc agt ttt tcc aag gtt ttt ggc cca gca act				441
Gln Met Ala Gln Lys Phe Ser Phe Ser Lys Val Phe Gly Pro Ala Thr				
	110	115	120	
aca cag aag gaa ttc ttt cag ggt tgc att atg caa cca gta aaa gac				489
Thr Gln Lys Glu Phe Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp				
	125	130	135	
ctc ttg aaa gga cag agt cgt ctg att ttt act tac ggg cta acc aat				537
Leu Leu Lys Gly Gln Ser Arg Leu Ile Phe Thr Tyr Gly Leu Thr Asn				
	140	145	150	155
tca gga aaa aca tat aca ttt caa ggg aca gaa gaa aat att ggc att				585
Ser Gly Lys Thr Tyr Thr Phe Gln Gly Thr Glu Glu Asn Ile Gly Ile				
	160	165	170	

ctg cct cga act ttg aat gta tta ttt gat agt ctt caa gaa aga ctg	633
Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu	
175 180 185	
tat aca aag atg aac ctt aaa cca cat aga tcc aga gaa tac tta agg	681
Tyr Thr Lys Met Asn Leu Lys Pro His Arg Ser Arg Glu Tyr Leu Arg	
190 195 200	
tta tca tca gaa caa gag aaa gaa gaa att gct agc aaa agt gca ttg	729
Leu Ser Ser Glu Gln Glu Lys Glu Glu Ile Ala Ser Lys Ser Ala Leu	
205 210 215	
ctt cgg caa att aaa gag gtt act gtg cat aat gat agt gat gat act	777
Leu Arg Gln Ile Lys Glu Val Thr Val His Asn Asp Ser Asp Asp Thr	
220 225 230 235	
ctt tat gga agt tta act aac tct ttg aat atc tca gag ttt gaa gaa	825
Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu Asn Ile Ser Glu Phe Glu Glu	
240 245 250	
tcc ata aaa gat tat gaa caa gcc aac ttg aat atg gct aat agt ata	873
Ser Ile Lys Asp Tyr Glu Gln Ala Asn Leu Asn Met Ala Asn Ser Ile	
255 260 265	
aaa ttt tct gtg tgg gtt tct ttc ttt gaa att tac aat gaa tat att	921
Lys Phe Ser Val Trp Val Ser Phe Phe Glu Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile	
270 275 280	
tat gac tta ttt gtt cct gta tca tct aaa ttc caa aag aga aag atg	969
Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val Ser Ser Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met	
285 290 295	
ctg cgc ctt tcc caa gac gta aag ggc tat tct ttt ata aaa gat cta	1017
Leu Arg Leu Ser Gln Asp Val Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu	
300 305 310 315	
caa tgg att caa gta tct gat tcc aaa gaa gcc tat aga ctt tta aaa	1065
Gln Trp Ile Gln Val Ser Asp Ser Lys Glu Ala Tyr Arg Leu Leu Lys	
320 325 330	
cta gga ata aag cac cag agt gtt gcc ttc aca aaa ttg aat aat gct	1113

Leu Gly Ile Lys His Gln Ser Val Ala Phe Thr Lys Leu Asn Asn Ala	
335 340 345	
tcc agt aga agt cac agc ata ttc act gtt aaa ata tta cag att gaa	1161
Ser Ser Arg Ser His Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile Glu	
350 355 360	
gat tct gaa atg tct cgt gta att cga gtc agt gaa tta tct tta tgt	1209
Asp Ser Glu Met Ser Arg Val Ile Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu Cys	
365 370 375	
gat ctt gct ggt tca gaa cga act atg aag aca cag aat gaa ggt gaa	1257
Asp Leu Ala Gly Ser Glu Arg Thr Met Lys Thr Gln Asn Glu Gly Glu	
380 385 390 395	
agg tta aga gag act ggg aat atc aac act tct tta ttg act ctg gga	1305
Arg Leu Arg Glu Thr Gly Asn Ile Asn Thr Ser Leu Leu Thr Leu Gly	
400 405 410	
aag tgt att aac gtc ttg aag aat agt gaa aag tca aag ttt caa cag	1353
Lys Cys Ile Asn Val Leu Lys Asn Ser Glu Lys Ser Lys Phe Gln Gln	
415 420 425	
cat gtg cct ttc cgg gaa agt aaa ctg act cac tat ttt caa agt ttt	1401
His Val Pro Phe Arg Glu Ser Lys Leu Thr His Tyr Phe Gln Ser Phe	
430 435 440	
ttt aat ggt aaa ggg aaa att tgt atg att gtc aat atc agc caa tgt	1449
Phe Asn Gly Lys Gly Lys Ile Cys Met Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys	
445 450 455	
tat tta gcc tat gat gaa aca ctc aat gta ttg aag ttc tcc gcc att	1497
Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile	
460 465 470 475	
gca caa aaa gtt tgt gtc cca gac act tta aat tcc tct caa gag aaa	1545
Ala Gln Lys Val Cys Val Pro Asp Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys	
480 485 490	
tta ttt gga cct gtc aaa tct tct caa gat gta tca cta gac agt aat	1593
Leu Phe Gly Pro Val Lys Ser Ser Gln Asp Val Ser Leu Asp Ser Asn	

495	500	505	
tca aac agt aaa ata tta aat gta aaa aga gcc acc att tca tgg gaa			1641
Ser Asn Ser Lys Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile Ser Trp Glu			
510	515	520	
aat agt cta gaa gat ttg atg gaa gac gag gat ttg gtt gag gag cta			1689
Asn Ser Leu Glu Asp Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val Glu Glu Leu			
525	530	535	
gaa aac gct gaa gaa act caa aat gtg gaa act aaa ctt ctt gat gaa			1737
Glu Asn Ala Glu Glu Thr Gln Asn Val Glu Thr Lys Leu Leu Asp Glu			
540	545	550	555
gat cta gat aaa aca tta gag gaa aat aag gct ttc att agc cac gag			1785
Asp Leu Asp Lys Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile Ser His Glu			
560	565	570	
gag aaa aga aaa ctg ttg gac tta ata gaa gac ttg aaa aaa aaa ctg			1833
Glu Lys Arg Lys Leu Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu Lys Lys Lys Leu			
575	580	585	
ata aat gaa aaa aag gaa aaa tta acc ttg gaa ttt aaa att cga gaa			1881
Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu Thr Leu Glu Phe Lys Ile Arg Glu			
590	595	600	
gaa gtt aca cag gag ttt act cag tat tgg gct caa cgg gaa gct gac			1929
Glu Val Thr Gln Glu Phe Thr Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp			
605	610	615	
ttt aag gag act ctg ctt caa gaa cga gag ata tta gaa gaa aat gct			1977
Phe Lys Glu Thr Leu Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu Glu Glu Asn Ala			
620	625	630	635
gaa cgt cgt ttg gct atc ttc aag gat ttg gtt ggt aaa tgt gac act			2025
Glu Arg Arg Leu Ala Ile Phe Lys Asp Leu Val Gly Lys Cys Asp Thr			
640	645	650	
cga gaa gaa gca gcg aaa gac att tgt gcc aca aaa gtt gaa act gaa			2073
Arg Glu Glu Ala Ala Lys Asp Ile Cys Ala Thr Lys Val Glu Thr Glu			
655	660	665	

gaa gct act gct tgt tta gaa cta aag ttt aat caa att aaa gct gaa	2121
Glu Ala Thr Ala Cys Leu Glu Leu Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu	
670 675 680	
tta gct aaa acc aaa gga gaa tta atc aaa acc aaa gaa gag tta aaa	2169
Leu Ala Lys Thr Lys Gly Glu Leu Ile Lys Thr Lys Glu Glu Leu Lys	
685 690 695	
aag aga gaa aat gaa tca gat tca ttg att caa gag ctt gag aca tct	2217
Lys Arg Glu Asn Glu Ser Asp Ser Leu Ile Gln Glu Leu Glu Thr Ser	
700 705 710 715	
aat aag aaa ata att aca cag aat caa aga att aaa gaa ttg ata aat	2265
Asn Lys Lys Ile Ile Thr Gln Asn Gln Arg Ile Lys Glu Leu Ile Asn	
720 725 730	
ata att gat caa aaa gaa gat act atc aac gaa ttt cag aac cta aag	2313
Ile Ile Asp Gln Lys Glu Asp Thr Ile Asn Glu Phe Gln Asn Leu Lys	
735 740 745	
tct cat atg gaa aac aca ttt aaa tgc aat gac aag gct gat aca tct	2361
Ser His Met Glu Asn Thr Phe Lys Cys Asn Asp Lys Ala Asp Thr Ser	
750 755 760	
tct tta ata ata aac aat aaa ttg att tgt aat gaa aca gtt gaa gta	2409
Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val	
765 770 775	
cct aag gac agc aaa tct aaa atc tgt tca gaa aga aaa aga gta aat	2457
Pro Lys Asp Ser Lys Ser Lys Ile Cys Ser Glu Arg Lys Arg Val Asn	
780 785 790 795	
gaa aat gaa ctt cag caa gat gaa cca cca gca aag aaa ggg tct atc	2505
Glu Asn Glu Leu Gln Gln Asp Glu Pro Pro Ala Lys Lys Gly Ser Ile	
800 805 810	
cat gtt agt tca gct atc act gaa gac caa aag aaa agt gaa gaa gtg	2553
His Val Ser Ser Ala Ile Thr Glu Asp Gln Lys Lys Ser Glu Glu Val	
815 820 825	
cga ccg aac att gca gaa att gaa gac atc aga gtt tta caa gaa aat	2601

Arg Pro Asn Ile Ala Glu Ile Glu Asp Ile Arg Val Leu Gln Glu Asn	
830 835 840	
aat gaa gga ctg aga gca ttt tta ctc act att gag aat gaa ctt aaa	2649
Asn Glu Gly Leu Arg Ala Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu Lys	
845 850 855	
aat gaa aag gaa gaa aaa gca gaa tta aat aaa cag att gtt cat ttt	2697
Asn Glu Lys Glu Glu Lys Ala Glu Leu Asn Lys Gln Ile Val His Phe	
860 865 870 875	
cag cag gaa ctt tct ctt tct gaa aaa aag aat tta act tta agt aaa	2745
Gln Gln Glu Leu Ser Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr Leu Ser Lys	
880 885 890	
gag gtc caa caa att cag tca aat tat gat att gca att gct gaa tta	2793
Glu Val Gln Gln Ile Gln Ser Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu	
895 900 905	
cat gtg cag aaa agt aaa aat caa gaa cag gag gaa aag atc atg aaa	2841
His Val Gln Lys Ser Lys Asn Gln Glu Gln Glu Glu Lys Ile Met Lys	
910 915 920	
ttg tca aat gag ata gaa act gct aca aga agc att aca aat aat gtt	2889
Leu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala Thr Arg Ser Ile Thr Asn Asn Val	
925 930 935	
tca caa ata aaa tta atg cac acg aaa ata gac gaa cta cgt act ctt	2937
Ser Gln Ile Lys Leu Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu Arg Thr Leu	
940 945 950 955	
gat tca gtt tct cag att tca aac ata gat ttg ctc aat ctc agg gat	2985
Asp Ser Val Ser Gln Ile Ser Asn Ile Asp Leu Leu Asn Leu Arg Asp	
960 965 970	
ctg tca aat ggt tct gag gag gat aat ttg cca aat aca cag tta gac	3033
Leu Ser Asn Gly Ser Glu Glu Asp Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp	
975 980 985	
ctt tta ggt aat gat tat ttg gta agt aag caa gtt aaa gaa tat cga	3081
Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu Val Ser Lys Gln Val Lys Glu Tyr Arg	

990	995	1000	
att caa gaa ccc aat agg gaa aat tct ttc cac tct agt att gaa gct			3129
Ile Gln Glu Pro Asn Arg Glu Asn Ser Phe His Ser Ser Ile Glu Ala			
1005	1010	1015	
att tgg gaa gaa tgt aaa gag att gtg aag gcc tct tcc aaa aaa agt			3177
Ile Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile Val Lys Ala Ser Ser Lys Lys Ser			
1020	1025	1030	1035
cat cag att gag gaa ctg gaa caa caa att gaa aaa ttg cag gca gaa			3225
His Gln Ile Glu Glu Leu Glu Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala Glu			
1040	1045	1050	
gta aaa ggc tat aag gat gaa aac aat aga cta aag gag aag gag cat			3273
Val Lys Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu Lys Glu Lys Glu His			
1055	1060	1065	
aaa aac caa gat gac cta cta aaa gaa aaa gaa act ctt ata cag cag			3321
Lys Asn Gln Asp Asp Leu Leu Lys Glu Lys Glu Thr Leu Ile Gln Gln			
1070	1075	1080	
ctg aaa gaa gaa ttg caa gaa aaa aat gtt act ctt gat gtt caa ata			3369
Leu Lys Glu Glu Leu Gln Glu Lys Asn Val Thr Leu Asp Val Gln Ile			
1085	1090	1095	
cag cat gta gtt gaa gga aag aga gcg ctt tca gaa ctt aca caa ggt			3417
Gln His Val Val Glu Gly Lys Arg Ala Leu Ser Glu Leu Thr Gln Gly			
1100	1105	1110	1115
gtt act tgc tat aag gca aaa ata aag gaa ctt gaa aca att tta gag			3465
Val Thr Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu Glu			
1120	1125	1130	
act cag aaa gtt gaa tgt agt cat tca gcc aag tta gaa caa gac att			3513
Thr Gln Lys Val Glu Cys Ser His Ser Ala Lys Leu Glu Gln Asp Ile			
1135	1140	1145	
ttg gaa aag gaa tct atc atc tta aag cta gaa aga aat ttg aag gaa			3561
Leu Glu Lys Glu Ser Ile Ile Leu Lys Leu Glu Arg Asn Leu Lys Glu			

1150	1155	1160	
ttt caa gaa cat ctt cag gat tct gtc aaa aac acc aaa gat tta aat			3609
Phe Gln Glu His Leu Gln Asp Ser Val Lys Asn Thr Lys Asp Leu Asn			
1165	1170	1175	
gta aag gaa ctc aag ctg aaa gaa gaa atc aca cag tta aca aat aat			3657
Val Lys Glu Leu Lys Leu Lys Glu Glu Ile Thr Gln Leu Thr Asn Asn			
1180	1185	1190	1195
ttg caa gat atg aaa cat tta ctt caa tta aaa gaa gaa gaa gaa gaa			3705
Leu Gln Asp Met Lys His Leu Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu Glu Glu			
1200	1205	1210	
acc aac agg caa gaa aca gaa aaa ttg aaa gag gaa ctc tct gca agc			3753
Thr Asn Arg Gln Glu Thr Glu Lys Leu Lys Glu Glu Leu Ser Ala Ser			
1215	1220	1225	
tct gct cgt acc cag aat ctg aaa gca gat ctt cag agg aag gaa gaa			3801
Ser Ala Arg Thr Gln Asn Leu Lys Ala Asp Leu Gln Arg Lys Glu Glu			
1230	1235	1240	
gat tat gct gac ctg aaa gag aaa ctg act gat gcc aaa aag cag att			3849
Asp Tyr Ala Asp Leu Lys Glu Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile			
1245	1250	1255	
aag caa gta cag aaa gag gta tct gta atg cgt gat gag gat aaa tta			3897
Lys Gln Val Gln Lys Glu Val Ser Val Met Arg Asp Glu Asp Lys Leu			
1260	1265	1270	1275
ctg agg att aaa att aat gaa ctg gag aaa aag aaa aac cag tgt tct			3945
Leu Arg Ile Lys Ile Asn Glu Leu Glu Lys Lys Lys Asn Gln Cys Ser			
1280	1285	1290	
cag gaa tta gat atg aaa cag cga acc att cag caa ctc aag gag cag			3993
Gln Glu Leu Asp Met Lys Gln Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln			
1295	1300	1305	
tta aat aat cag aaa gtg gaa gaa gct ata caa cag tat gag aga gca			4041
Leu Asn Asn Gln Lys Val Glu Glu Ala Ile Gln Gln Tyr Glu Arg Ala			

1310	1315	1320	
tgc aaa gat cta aat gtt aaa gag aaa ata att gaa gac atg cga atg			4089
Cys Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg Met			
1325	1330	1335	
aca cta gaa gaa cag gaa caa act cag gta gaa cag gat caa gtg ctt			4137
Thr Leu Glu Glu Gln Glu Gln Thr Gln Val Glu Gln Asp Gln Val Leu			
1340	1345	1350	1355
gag gct aaa tta gag gaa gtt gaa agg ctg gcc aca gaa ttg gaa aaa			4185
Glu Ala Lys Leu Glu Glu Val Glu Arg Leu Ala Thr Glu Leu Glu Lys			
1360	1365	1370	
tgg aag gaa aaa tgc aat gat ttg gaa acc aaa aac aat caa agg tca			4233
Trp Lys Glu Lys Cys Asn Asp Leu Glu Thr Lys Asn Asn Gln Arg Ser			
1375	1380	1385	
aat aaa gaa cat gag aac aac aca gat gtg ctt gga aag ctc act aat			4281
Asn Lys Glu His Glu Asn Asn Thr Asp Val Leu Gly Lys Leu Thr Asn			
1390	1395	1400	
ctt caa gat gag tta cag gag tct gaa cag aaa tat aat gct gat aga			4329
Leu Gln Asp Glu Leu Gln Glu Ser Glu Gln Lys Tyr Asn Ala Asp Arg			
1405	1410	1415	
aag aaa tgg tta gaa gaa aaa atg atg ctt atc act caa gcg aaa gaa			4377
Lys Lys Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu			
1420	1425	1430	1435
gca gag aat ata cga aat aaa gag atg aaa aaa tat gct gag gac agg			4425
Ala Glu Asn Ile Arg Asn Lys Glu Met Lys Lys Tyr Ala Glu Asp Arg			
1440	1445	1450	
gag cgt ttt ttt aag caa cag aat gaa atg gaa ata ctg aca gcc cag			4473
Glu Arg Phe Phe Lys Gln Gln Asn Glu Met Glu Ile Leu Thr Ala Gln			
1455	1460	1465	
ctg aca gag aaa gat agt gac ctt caa aag tgg cga gaa gaa cga gat			4521
Leu Thr Glu Lys Asp Ser Asp Leu Gln Lys Trp Arg Glu Glu Arg Asp			

1470	1475	1480	
caa ctg gtt gca gct tta gaa ata cag cta aaa gca ctg ata tcc agt			4569
Gln Leu Val Ala Ala Leu Glu Ile Gln Leu Lys Ala Leu Ile Ser Ser			
1485	1490	1495	
aat gta cag aaa gat aat gaa att gaa caa cta aaa agg atc ata tca			4617
Asn Val Gln Lys Asp Asn Glu Ile Glu Gln Leu Lys Arg Ile Ile Ser			
1500	1505	1510	1515
gag act tct aaa ata gaa aca caa atc atg gat atc aag ccc aaa cgt			4665
Glu Thr Ser Lys Ile Glu Thr Gln Ile Met Asp Ile Lys Pro Lys Arg			
1520	1525	1530	
att agt tca gca gat cct gac aaa ctt caa act gaa cct cta tcg aca			4713
Ile Ser Ser Ala Asp Pro Asp Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr			
1535	1540	1545	
agt ttt gaa att tcc aga aat aaa ata gag gat gga tct gta gtc ctt			4761
Ser Phe Glu Ile Ser Arg Asn Lys Ile Glu Asp Gly Ser Val Val Leu			
1550	1555	1560	
gac tct tgt gaa gtg tca aca gaa aat gat caa agc act cga ttt cca			4809
Asp Ser Cys Glu Val Ser Thr Glu Asn Asp Gln Ser Thr Arg Phe Pro			
1565	1570	1575	
aaa cct gag tta gag att caa ttt aca cct tta cag cca aac aaa atg			4857
Lys Pro Glu Leu Glu Ile Gln Phe Thr Pro Leu Gln Pro Asn Lys Met			
1580	1585	1590	1595
gca gtg aaa cac cct ggt tgt acc aca cca gtg aca gtt aag att ccc			4905
Ala Val Lys His Pro Gly Cys Thr Thr Pro Val Thr Val Lys Ile Pro			
1600	1605	1610	
aag gct cgg aag agg aag agt aat gaa atg gag gag gac ttg gtg aaa			4953
Lys Ala Arg Lys Arg Lys Ser Asn Glu Met Glu Glu Asp Leu Val Lys			
1615	1620	1625	
tgt gaa aat aag aag aat gct aca ccc aga act aat ttg aaa ttt cct			5001
Cys Glu Asn Lys Lys Asn Ala Thr Pro Arg Thr Asn Leu Lys Phe Pro			

1630	1635	1640	
att tca gat gat aga aat tct tct gtc aaa aag gaa caa aag gtt gcc			5049
Ile Ser Asp Asp Arg Asn Ser Ser Val Lys Lys Glu Gln Lys Val Ala			
1645	1650	1655	
ata cgt cca tca tct aag aaa aca tat tct tta cgg agt cag gca tcc			5097
Ile Arg Pro Ser Ser Lys Lys Thr Tyr Ser Leu Arg Ser Gln Ala Ser			
1660	1665	1670	1675
ata att ggt gta aac ctg gcc act aag aaa aaa gaa gga aca cta cag			5145
Ile Ile Gly Val Asn Leu Ala Thr Lys Lys Lys Glu Gly Thr Leu Gln			
1680	1685	1690	
aaa ttt gga gac ttc tta caa cat tct ccc tca att ctt caa tca aaa			5193
Lys Phe Gly Asp Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu Gln Ser Lys			
1695	1700	1705	
gca aag aag ata att gaa aca atg agc tct tca aag ctc tca aat gta			5241
Ala Lys Lys Ile Ile Glu Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val			
1710	1715	1720	
gaa gca agt aaa gaa aat gtg tct caa cca aaa cga gcc aaa cgg aaa			5289
Glu Ala Ser Lys Glu Asn Val Ser Gln Pro Lys Arg Ala Lys Arg Lys			
1725	1730	1735	
tta tac aca agt gaa att tca tct cct att gat ata tca ggc caa gtg			5337
Leu Tyr Thr Ser Glu Ile Ser Ser Pro Ile Asp Ile Ser Gly Gln Val			
1740	1745	1750	1755
att tta atg gac cag aaa atg aag gag agt gat cac cag att atc aaa			5385
Ile Leu Met Asp Gln Lys Met Lys Glu Ser Asp His Gln Ile Ile Lys			
1760	1765	1770	
cga cga ctt cga aca aaa aca gcc aaa			5430
taaatacac ttatggaaat			
Arg Arg Leu Arg Thr Lys Thr Ala Lys			
1775	1780		
gtttaatata aattttatag tcatagtcac tggaacttgc atcctgtatt gtaaatataa			5490

atgtatatat tatgcattaa atcactctgc atatagattg ctgttttata catagtataa 5550

ttttaattca ataaatgagt caaaatttgt atatttttat aaggcttttt tataatagct 5610

tctttcaaac tgtatttccc tattatctca gacattggat cagtgaagat cctaggaaag 5670

aggctgttat tctcatttat ttgctatac aggatgtaat aggtcaggta tttggtttac 5730

ttatatttaa caatgtctta tgaatttttt ttactttatc tgttatacaa ctgattttac 5790

atatctgttt ggattatagc taggatttgg agaataagtg tgtacagatc acaaaacatg 5850

tatatacatt atttagaaaa gatctcaagt cttaattag aatgtctcac ttattttgta 5910

aacattttgt gggtacatag tacatgtata tatttacggg gtatgtgaga tgttttgaca 5970

caggcatgca atgtgaaata cgtgtatcat ggagaatgag gtatccatcc cctcaagcat 6030

ttttcctttg aattacagat aatccaatta cattcttttag atcattttaa aatatacaag 6090

taagttatta ttgattatag tcactctatt gtgctatcag atagtagatc attcttttta 6150

tcttatttgt ttttgtacce attaaccatc cccacctccc cctgcaaccg tcagtaccct 6210

taccagccac tggtaacatc tcttctactc tgtatgccca tgaagtcaat tgattttatt 6270

tttagatccc ataaataaat gagaacatgc agtctttgtc aaaaaaaaaa 6319

<210> 2

<211> 1780

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Ser Asn Phe Asn Gln Glu Gly Val Pro Arg Pro Ser Tyr Val

1 5 10 15

Phe Ser Ala Asp Pro Ile Ala Arg Pro Ser Glu Ile Asn Phe Asp Gly

20 25 30

Ile Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu Val Ala Pro Asn Thr

35 40 45

Glu Ala Asn Ser Phe Glu Ser Lys Asp Tyr Leu Gln Val Cys Leu Arg

50 55 60

Ile Arg Pro Phe Thr Gln Ser Glu Lys Glu Leu Glu Ser Glu Gly Cys

65 70 75 80

Val His Ile Leu Asp Ser Gln Thr Val Val Leu Lys Glu Pro Gln Cys

85 90 95

Ile Leu Gly Arg Leu Ser Glu Lys Ser Ser Gly Gln Met Ala Gln Lys
 100 105 110
 Phe Ser Phe Ser Lys Val Phe Gly Pro Ala Thr Thr Gln Lys Glu Phe
 115 120 125
 Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu Lys Gly Gln
 130 135 140
 Ser Arg Leu Ile Phe Thr Tyr Gly Leu Thr Asn Ser Gly Lys Thr Tyr
 145 150 155 160
 Thr Phe Gln Gly Thr Glu Glu Asn Ile Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu
 165 170 175
 Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu Tyr Thr Lys Met Asn
 180 185 190
 Leu Lys Pro His Arg Ser Arg Glu Tyr Leu Arg Leu Ser Ser Glu Gln
 195 200 205
 Glu Lys Glu Glu Ile Ala Ser Lys Ser Ala Leu Leu Arg Gln Ile Lys
 210 215 220
 Glu Val Thr Val His Asn Asp Ser Asp Asp Thr Leu Tyr Gly Ser Leu
 225 230 235 240
 Thr Asn Ser Leu Asn Ile Ser Glu Phe Glu Glu Ser Ile Lys Asp Tyr
 245 250 255
 Glu Gln Ala Asn Leu Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val Trp
 260 265 270
 Val Ser Phe Phe Glu Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val
 275 280 285
 Pro Val Ser Ser Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu Ser Gln
 290 295 300
 Asp Val Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Ser Asp Ser Lys Glu Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile Lys His
 325 330 335
 Gln Ser Val Ala Phe Thr Lys Leu Asn Asn Ala Ser Ser Arg Ser His

340	345	350
Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile Glu Asp Ser Glu Met Ser		
355	360	365
Arg Val Ile Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu Cys Asp Leu Ala Gly Ser		
370	375	380
Glu Arg Thr Met Lys Thr Gln Asn Glu Gly Glu Arg Leu Arg Glu Thr		
385	390	395
Gly Asn Ile Asn Thr Ser Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val		
405	410	415
Leu Lys Asn Ser Glu Lys Ser Lys Phe Gln Gln His Val Pro Phe Arg		
420	425	430
Glu Ser Lys Leu Thr His Tyr Phe Gln Ser Phe Phe Asn Gly Lys Gly		
435	440	445
Lys Ile Cys Met Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu Ala Tyr Asp		
450	455	460
Glu Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile Ala Gln Lys Val Cys		
465	470	475
Val Pro Asp Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu Phe Gly Pro Val		
485	490	495
Lys Ser Ser Gln Asp Val Ser Leu Asp Ser Asn Ser Asn Ser Lys Ile		
500	505	510
Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile Ser Trp Glu Asn Ser Leu Glu Asp		
515	520	525
Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val Glu Glu Leu Glu Asn Ala Glu Glu		
530	535	540
Thr Gln Asn Val Glu Thr Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr		
545	550	555
Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile Ser His Glu Glu Lys Arg Lys Leu		
565	570	575
Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu Lys Lys Lys Leu Ile Asn Glu Lys Lys		
580	585	590

Glu Lys Leu Thr Leu Glu Phe Lys Ile Arg Glu Glu Val Thr Gln Glu
 595 600 605
 Phe Thr Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp Phe Lys Glu Thr Leu
 610 615 620
 Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu Glu Glu Asn Ala Glu Arg Arg Leu Ala
 625 630 635 640

 Ile Phe Lys Asp Leu Val Gly Lys Cys Asp Thr Arg Glu Glu Ala Ala
 645 650 655
 Lys Asp Ile Cys Ala Thr Lys Val Glu Thr Glu Glu Ala Thr Ala Cys
 660 665 670
 Leu Glu Leu Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu Ala Lys Thr Lys
 675 680 685
 Gly Glu Leu Ile Lys Thr Lys Glu Glu Leu Lys Lys Arg Glu Asn Glu
 690 695 700
 Ser Asp Ser Leu Ile Gln Glu Leu Glu Thr Ser Asn Lys Lys Ile Ile

 705 710 715 720
 Thr Gln Asn Gln Arg Ile Lys Glu Leu Ile Asn Ile Ile Asp Gln Lys
 725 730 735
 Glu Asp Thr Ile Asn Glu Phe Gln Asn Leu Lys Ser His Met Glu Asn
 740 745 750
 Thr Phe Lys Cys Asn Asp Lys Ala Asp Thr Ser Ser Leu Ile Ile Asn
 755 760 765
 Asn Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val Pro Lys Asp Ser Lys
 770 775 780

 Ser Lys Ile Cys Ser Glu Arg Lys Arg Val Asn Glu Asn Glu Leu Gln
 785 790 795 800
 Gln Asp Glu Pro Pro Ala Lys Lys Gly Ser Ile His Val Ser Ser Ala
 805 810 815
 Ile Thr Glu Asp Gln Lys Lys Ser Glu Glu Val Arg Pro Asn Ile Ala
 820 825 830
 Glu Ile Glu Asp Ile Arg Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu Arg
 835 840 845

Ala Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu Lys Asn Glu Lys Glu Glu

850	855	860	
Lys Ala Glu Leu Asn Lys Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu Ser			
865	870	875	880
Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr Leu Ser Lys Glu Val Gln Gln Ile			
	885	890	895
Gln Ser Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu His Val Gln Lys Ser			
900	905	910	
Lys Asn Gln Glu Gln Glu Glu Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Glu Ile			
915	920	925	

Glu Thr Ala Thr Arg Ser Ile Thr Asn Asn Val Ser Gln Ile Lys Leu			
930	935	940	
Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu Arg Thr Leu Asp Ser Val Ser Gln			
945	950	955	960
Ile Ser Asn Ile Asp Leu Leu Asn Leu Arg Asp Leu Ser Asn Gly Ser			
	965	970	975
Glu Glu Asp Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu Leu Gly Asn Asp			
980	985	990	
Tyr Leu Val Ser Lys Gln Val Lys Glu Tyr Arg Ile Gln Glu Pro Asn			

995	1000	1005	
Arg Glu Asn Ser Phe His Ser Ser Ile Glu Ala Ile Trp Glu Glu Cys			
1010	1015	1020	
Lys Glu Ile Val Lys Ala Ser Ser Lys Lys Ser His Gln Ile Glu Glu			
1025	1030	1035	1040
Leu Glu Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala Glu Val Lys Gly Tyr Lys			
	1045	1050	1055
Asp Glu Asn Asn Arg Leu Lys Glu Lys Glu His Lys Asn Gln Asp Asp			
1060	1065	1070	

Leu Leu Lys Glu Lys Glu Thr Leu Ile Gln Gln Leu Lys Glu Glu Leu			
1075	1080	1085	
Gln Glu Lys Asn Val Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val Val Glu			

1090	1095	1100	
Gly Lys Arg Ala Leu Ser Glu Leu Thr Gln Gly Val Thr Cys Tyr Lys			
1105	1110	1115	1120
Ala Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu Glu Thr Gln Lys Val Glu			
	1125	1130	1135
Cys Ser His Ser Ala Lys Leu Glu Gln Asp Ile Leu Glu Lys Glu Ser			
	1140	1145	1150
Ile Ile Leu Lys Leu Glu Arg Asn Leu Lys Glu Phe Gln Glu His Leu			
	1155	1160	1165
Gln Asp Ser Val Lys Asn Thr Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Leu Lys			
	1170	1175	1180
Leu Lys Glu Glu Ile Thr Gln Leu Thr Asn Asn Leu Gln Asp Met Lys			
1185	1190	1195	1200
His Leu Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu Glu Glu Thr Asn Arg Gln Glu			
	1205	1210	1215
Thr Glu Lys Leu Lys Glu Glu Leu Ser Ala Ser Ser Ala Arg Thr Gln			
	1220	1225	1230
Asn Leu Lys Ala Asp Leu Gln Arg Lys Glu Glu Asp Tyr Ala Asp Leu			
	1235	1240	1245
Lys Glu Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile Lys Gln Val Gln Lys			
	1250	1255	1260
Glu Val Ser Val Met Arg Asp Glu Asp Lys Leu Leu Arg Ile Lys Ile			
1265	1270	1275	1280
Asn Glu Leu Glu Lys Lys Lys Asn Gln Cys Ser Gln Glu Leu Asp Met			
	1285	1290	1295
Lys Gln Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln Leu Asn Asn Gln Lys			
	1300	1305	1310
Val Glu Glu Ala Ile Gln Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu Asn			
	1315	1320	1325
Val Lys Glu Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg Met Thr Leu Glu Glu Gln			
	1330	1335	1340
Glu Gln Thr Gln Val Glu Gln Asp Gln Val Leu Glu Ala Lys Leu Glu			

1345 1350 1355 1360

 Glu Val Glu Arg Leu Ala Thr Glu Leu Glu Lys Trp Lys Glu Lys Cys
 1365 1370 1375
 Asn Asp Leu Glu Thr Lys Asn Asn Gln Arg Ser Asn Lys Glu His Glu
 1380 1385 1390
 Asn Asn Thr Asp Val Leu Gly Lys Leu Thr Asn Leu Gln Asp Glu Leu
 1395 1400 1405
 Gln Glu Ser Glu Gln Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu Glu
 1410 1415 1420
 Glu Lys Met Met Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Arg

 1425 1430 1435 1440
 Asn Lys Glu Met Lys Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe Phe Lys
 1445 1450 1455
 Gln Gln Asn Glu Met Glu Ile Leu Thr Ala Gln Leu Thr Glu Lys Asp
 1460 1465 1470
 Ser Asp Leu Gln Lys Trp Arg Glu Glu Arg Asp Gln Leu Val Ala Ala
 1475 1480 1485
 Leu Glu Ile Gln Leu Lys Ala Leu Ile Ser Ser Asn Val Gln Lys Asp
 1490 1495 1500

 Asn Glu Ile Glu Gln Leu Lys Arg Ile Ile Ser Glu Thr Ser Lys Ile
 1505 1510 1515 1520
 Glu Thr Gln Ile Met Asp Ile Lys Pro Lys Arg Ile Ser Ser Ala Asp
 1525 1530 1535
 Pro Asp Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr Ser Phe Glu Ile Ser
 1540 1545 1550
 Arg Asn Lys Ile Glu Asp Gly Ser Val Val Leu Asp Ser Cys Glu Val
 1555 1560 1565
 Ser Thr Glu Asn Asp Gln Ser Thr Arg Phe Pro Lys Pro Glu Leu Glu

 1570 1575 1580
 Ile Gln Phe Thr Pro Leu Gln Pro Asn Lys Met Ala Val Lys His Pro
 1585 1590 1595 1600

Gly Cys Thr Thr Pro Val Thr Val Lys Ile Pro Lys Ala Arg Lys Arg
1605 1610 1615

Lys Ser Asn Glu Met Glu Glu Asp Leu Val Lys Cys Glu Asn Lys Lys
1620 1625 1630

Asn Ala Thr Pro Arg Thr Asn Leu Lys Phe Pro Ile Ser Asp Asp Arg
1635 1640 1645

Asn Ser Ser Val Lys Lys Glu Gln Lys Val Ala Ile Arg Pro Ser Ser
1650 1655 1660

Lys Lys Thr Tyr Ser Leu Arg Ser Gln Ala Ser Ile Ile Gly Val Asn
1665 1670 1675 1680

Leu Ala Thr Lys Lys Lys Glu Gly Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe
1685 1690 1695

Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu Gln Ser Lys Ala Lys Lys Ile Ile
1700 1705 1710

Glu Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val Glu Ala Ser Lys Glu

1715 1720 1725

Asn Val Ser Gln Pro Lys Arg Ala Lys Arg Lys Leu Tyr Thr Ser Glu
1730 1735 1740

Ile Ser Ser Pro Ile Asp Ile Ser Gly Gln Val Ile Leu Met Asp Gln
1745 1750 1755 1760

Lys Met Lys Glu Ser Asp His Gln Ile Ile Lys Arg Arg Leu Arg Thr
1765 1770 1775

Lys Thr Ala Lys

1780

<210> 3

<211> 5318

<212> DNA

<213

> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (79)..(2511)

<400> 3

gagactcgcc actgccgcgg ccgctgggcc tgagtgtcgc cttcgccgcc atggacgcca

60

ccgggcgctg acagacct	atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat	111
	Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr	
	1 5 10	
cgg gcc acc aag ctg tgg aat gaa gtt acc aca tct ttt cga gca gga		159
Arg Ala Thr Lys Leu Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly		
	15 20 25	
atg cct cta aga aaa cac aga caa cac ttt aaa aaa tat ggc aat tgt		207
Met Pro Leu Arg Lys His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys		
	30 35 40	
ttc aca gca gga gaa gca gtg gat tgg ctt tat gac cta tta aga aat		255
Phe Thr Ala Gly Glu Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn		
	45 50 55	
aat agc aat ttt ggt cct gaa gtt aca agg caa cag act atc caa ctg		303
Asn Ser Asn Phe Gly Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu		
60 65 70 75		
ttg agg aaa ttt ctt aag aat cat gta att gaa gat atc aaa ggg agg		351
Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg		
	80 85 90	
tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctc ttc aga ttt cct		399
Trp Gly Ser Glu Asn Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro		
	95 100 105	
gca act tcg cca ctt aaa act cta cca cga agg tat cca gaa ttg aga		447
Ala Thr Ser Pro Leu Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg		
	110 115 120	
aaa aac aac ata gag aac ttt tcc aaa gat aaa gat agc att ttt aaa		495
Lys Asn Asn Ile Glu Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys		
	125 130 135	
tta cga aac tta tct cgt aga act cct aaa agg cat gga tta cat tta		543
Leu Arg Asn Leu Ser Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu		
140 145 150 155		
tct cag gaa aat ggc gag aaa ata aag cat gaa ata atc aat gaa gat		591

Ser Gln Glu Asn Gly Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp	
160 165 170	
caa gaa aat gca att gat aat aga gaa cta agc cag gaa gat gtt gaa	639
Gln Glu Asn Ala Ile Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu	
175 180 185	
gaa gtt tgg aga tat gtt att ctg atc tac ctg caa acc att tta ggt	687
Glu Val Trp Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly	
190 195 200	
gtg cca tcc cta gaa gaa gtc ata aat cca aaa caa gta att ccc caa	735
Val Pro Ser Leu Glu Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln	
205 210 215	
tat ata atg tac aac atg gcc aat aca agt aaa cgt gga gta gtt ata	783
Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile	
220 225 230 235	
cta caa aac aaa tca gat gac ctc cct cac tgg gta tta tct gcc atg	831
Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met	
240 245 250	
aag tgc cta gca aat tgg cca aga agc aat gat atg aat aat cca act	879
Lys Cys Leu Ala Asn Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr	
255 260 265	
tat gtt gga ttt gaa cga gat gta ttc aga aca atc gca gat tat ttt	927
Tyr Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe	
270 275 280	
cta gat ctc cct gaa cct cta ctt act ttt gaa tat tac gaa tta ttt	975
Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe	
285 290 295	
gta aac att ttg gtt gtt tgt ggc tac atc aca gtt tca gat aga tcc	1023
Val Asn Ile Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser	
300 305 310 315	
agt ggg ata cat aaa att caa gat gat cca cag tct tca aaa ttc ctt	1071
Ser Gly Ile His Lys Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu	

320	325	330	
cac tta aac aat ttg aat tcc ttc aaa tca act gag tgc ctt ctt ctc			1119
His Leu Asn Asn Leu Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu			
335	340	345	
agt ctg ctt cat aga gaa aaa aac aaa gaa gaa tca gat tct act gag			1167
Ser Leu Leu His Arg Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu			
350	355	360	
aga cta cag ata agc aat cca gga ttt caa gaa aga tgt gct aag aaa			1215
Arg Leu Gln Ile Ser Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys			
365	370	375	
atg cag cta gtt aat tta aga aac aga aga gtg agt gct aat gac ata			1263
Met Gln Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile			
380	385	390	395
atg gga gga agt tgt cat aat tta ata ggg tta agt aat atg cat gat			1311
Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp			
400	405	410	
cta tcc tct aac agc aaa cca agg tgc tgt tct ttg gaa gga att gta			1359
Leu Ser Ser Asn Ser Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val			
415	420	425	
gat gtg cca ggg aat tca agt aaa gag gca tcc agt gtc ttt cat caa			1407
Asp Val Pro Gly Asn Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln			
430	435	440	
tct ttt ccg aac ata gaa gga caa aat aat aaa ctg ttt tta gag tct			1455
Ser Phe Pro Asn Ile Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser			
445	450	455	
aag ccc aaa cag gaa ttc ctg ttg aat ctt cat tca gag gaa aat att			1503
Lys Pro Lys Gln Glu Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile			
460	465	470	475
caa aag cca ttc agt gct ggt ttt aag aga acc tct act ttg act gtt			1551
Gln Lys Pro Phe Ser Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val			
480	485	490	

caa gac caa gag gag ttg tgt aat ggg aaa tgc aag tca aaa cag ctt	1599
Gln Asp Gln Glu Glu Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu	
495 500 505	
tgt agg tct cag agt ttg ctt tta aga agt agt aca aga agg aat agt	1647
Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser	
510 515 520	
tat atc aat aca cca gtg gct gaa att atc atg aaa cca aat gtt gga	1695
Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala Glu Ile Ile Met Lys Pro Asn Val Gly	
525 530 535	
caa ggc agc aca agt gtg caa aca gct atg gaa agt gaa ctc gga gag	1743
Gln Gly Ser Thr Ser Val Gln Thr Ala Met Glu Ser Glu Leu Gly Glu	
540 545 550 555	
tct agt gcc aca atc aat aaa aga ctc tgc aaa agt aca ata gaa ctt	1791
Ser Ser Ala Thr Ile Asn Lys Arg Leu Cys Lys Ser Thr Ile Glu Leu	
560 565 570	
tca gaa aat tct tta ctt cca gct tct tct atg ttg act ggc aca caa	1839
Ser Glu Asn Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln	
575 580 585	
agc ttg ctg caa cct cat tta gag agg gtt gcc atc gat gct cta cag	1887
Ser Leu Leu Gln Pro His Leu Glu Arg Val Ala Ile Asp Ala Leu Gln	
590 595 600	
tta tgt tgt ttg tta ctt ccc cca cca aat cgt aga aag ctt caa ctt	1935
Leu Cys Cys Leu Leu Leu Pro Pro Pro Asn Arg Arg Lys Leu Gln Leu	
605 610 615	
tta atg cgt atg att tcc cga atg agt caa aat gtt gat atg ccc aaa	1983
Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val Asp Met Pro Lys	
620 625 630 635	
ctt cat gat gca atg ggt acg agg tca ctg atg ata cat acc ttt tct	2031
Leu His Asp Ala Met Gly Thr Arg Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser	
640 645 650	
cga tgt gtg tta tgc tgt gct gaa gaa gtg gat ctt gat gag ctt ctt	2079

Arg Cys Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu Asp Glu Leu Leu	
655	660
665	
gct gga aga tta gtt tct ttc tta atg gat cat cat cag gaa att ctt	2127
Ala Gly Arg Leu Val Ser Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu	
670	675
680	
caa gta ccc tct tac tta cag act gca gtg gaa aaa cat ctt gac tac	2175
Gln Val Pro Ser Tyr Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu Asp Tyr	
685	690
695	
tta aaa aag gga cat att gaa aat cct gga gat gga cta ttt gct cct	2223
Leu Lys Lys Gly His Ile Glu Asn Pro Gly Asp Gly Leu Phe Ala Pro	
700	705
710	715
ttg cca act tac tca tac tgt aag cag att agt gct cag gag ttt gat	2271
Leu Pro Thr Tyr Ser Tyr Cys Lys Gln Ile Ser Ala Gln Glu Phe Asp	
720	725
730	
gag caa aaa gtt tct acc tct caa gct gca att gca gaa ctt tta gaa	2319
Glu Gln Lys Val Ser Thr Ser Gln Ala Ala Ile Ala Glu Leu Leu Glu	
735	740
745	
aat att att aaa aac agg agt tta cct cta aag gag aaa aga aaa aaa	2367
Asn Ile Ile Lys Asn Arg Ser Leu Pro Leu Lys Glu Lys Arg Lys Lys	
750	755
760	
cta aaa cag ttt cag aag gaa tat cct ttg ata tat cag aaa aga ttt	2415
Leu Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe	
765	770
775	
cca acc acg gag agt gaa gca gca ctt ttt ggt gac aaa cct aca atc	2463
Pro Thr Thr Glu Ser Glu Ala Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile	
780	785
790	795
aag caa cca atg ctg att tta aga aaa cca aag ttc cgt agt cta aga	2511
Lys Gln Pro Met Leu Ile Leu Arg Lys Pro Lys Phe Arg Ser Leu Arg	
800	805
810	
taactaact gaattaaaaa ttatgtaata cttgtggaac ttgataaat gaagccatat	2570

ctgagaatgt agctactcaa aaggaagtct gtcattaata aggtatttct aaataaacac	2630
attatgtaag gaagtgccaa aatagttatc aatgtgagac tcttaggaaa ctaactagat	2690
ctcaattgag agcacataac aatagatgat accaaatact ttttgTTTTT aacacagcta	2750
tccagtaagg ctatcatgat gtgtgctaaa attttattta cttgaatttt gaaaactgag	2810
ctgtgttagg gattaaacta taattctgtt cttaaaagaa aatttatctg caaatgtgca	2870
agtctgaga tattagctaa tgaattagtt gtttgggggtt acttctttgt ttctaagtat	2930
aagaatgtga agaataattg aaaactcaat gaaataattc tcagctgcca aatgttgcac	2990
tcttttatat attcttttct cacttttgat ctatttatat atatgtatgt gtttttaaaa	3050
tatgtgtata ttttatcaga tttggTTTTg ccttaaatat tatccccaat tgcttcagtc	3110
attcatttgt tcagtatata tattttgaat tctagttttc ataacttatt agaagatggg	3170
gatataaaag aagataaagg caatcatata ttcatcctaa agatatttat ttagcaactg	3230
ctatgtgcct ttcgttgttc cagatatgca gagacaatga taaataaaac atataatctc	3290
ttccataagg tatttatttt ttaatcaagg gagatacacc tatcagatgt ttaaaataac	3350
aacactaccc actgaaatca gggcatatag aatcattcag ctaaagagtg acttctatga	3410
tgatggaaca ggtctctaag ctagtgggtt tcaaactggg acacattaga ctcacccgag	3470
gaattttaaa acagcctata tgcccagggc ctaacttaca ctaattaaat ctgaattttg	3530
gggatgttgt atagggatta gtattttttt taatctaggt gattccaata ttcagccaac	3590
tgtgagaatc aatggcctaa atgcttttta taaacatttt tataagtgtc aagataatgg	3650
cacattgact ttattttttc attggaagaa aatgcctgcc aagtataaat gactctcatc	3710
ttaaaacaag gttcttcagg tttctgcttg attgacttgg taaaaacttg aagcaagtig	3770
ccttctaatt ttactccaa gattgtttca tatctattcc ttaagtgtaa agaaatatat	3830
aatgcatggg ttgtaataaa atcttaatgt ttaatgactg ttctcatttc tcaatgtaat	3890
ttcatactgt ttctctataa aatgatatga ttccatttaa cattactgat ttttattaaa	3950
aacctggaca gaaaattata aattataaat atgactttat cctggctata aaattattga	4010
acaaaatga attctttcta aggcatttga atactaaaac gtttattgtt tatagatatg	4070
taaaatgtgg attatgttgc aaattgagat taaaattatt tggggTTTTg taacaatata	4130
atTTTgcttt tgtattatag acaaatatat aaataataaa ggcaggcaac tttcatttgc	4190
actaatgtac atgcaattga gattacaaaa tacatggtac aatgctttta taacaaactc	4250
tgccagtcag gtttgaatcc tactgtgcta ttaactagct agtaaactca gacaagttac	4310

ttaacttctc taagccccag tttgtttatc tataaaatga atattataat agtacctctt 4370
 ttttaggattg cgaggattaa gcaggataat gcatgtaaag tgtagcaca gtgtctcaca 4430
 tagaataagc actctataaa ttttttacta gaatcaccta ggattatagc actagaagag 4490
 atcttagcaa aaatgtggtc ctttctgttg ctttggacag acatgaacca aaacaaaatt 4550
 acggacaatt gatgagcctt attaactatc ttttcattat gagacaaagg ttttgattat 4610
 gcctactggt tgaattttt taatctagtc aagaaggaaa atttgatgag gaaggaagga 4670
 atggatatct tcagaagggc ttcgcctaag ctggaacatg gatagattcc attctaacat 4730

aaagatcttt aagttcaaat atagatgagt tgactggtag atttgggtgt agttgctttc 4790
 tcgggatata agaagcaaaa tcaactgcta caagtaaaga ggggatgggg aagtggttgc 4850
 acatttaaag agagaaagtg tgaaaaagcc taattgtggg aatgcacagg tttcaccaga 4910
 tcagatgatg tctggttatt ctgtaaatta tagttcttat cccagaaatt actgcctcca 4970
 ccatccctaa tatcttctaa ttggtatcat ataatgaccc actcttctta tgttatccaa 5030
 acagttatgt ggcatcttagt aatggaatgt acatggaatt tccactgac ttacctttct 5090
 gtccttggga agcttaaaact ctgaatcttc tcactgttaa aatgtgaatt aaagtatcta 5150

cctaactgag ttgtgattgt agtgaaagaa aggcaatata tttaaatctt gaatttagca 5210
 agcccacgct cgatttttat gtcctttcct cttgccttgt attgagttta agatctctac 5270
 tgattaaaac tcttttgcta tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 5318

<210> 4

<211> 811

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr Arg Ala Thr Lys Leu

1 5 10 15

Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys

20 25 30

His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe Thr Ala Gly Glu

35 40 45

Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn Asn Ser Asn Phe Gly

50 55 60

Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu

65 70 75 80

Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg Trp Gly Ser Glu Asn
 85 90 95
 Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
 100 105 110
 Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile Glu
 115 120 125
 Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys Leu Arg Asn Leu Ser
 130 135 140
 Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu Ser Gln Glu Asn Gly
 145 150 155 160
 Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp Gln Glu Asn Ala Ile
 165 170 175
 Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu Glu Val Trp Arg Tyr
 180 185 190
 Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu
 195 200 205
 Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln Tyr Ile Met Tyr Asn
 210 215 220
 Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile Leu Gln Asn Lys Ser
 225 230 235 240
 Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu Ala Asn
 245 250 255
 Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr Tyr Val Gly Phe Glu
 260 265 270
 Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu
 275 280 285
 Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 290 295 300
 Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
 305 310 315 320
 Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu

325	330	335	
Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Arg			
340	345	350	
Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser			
355	360	365	
Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn			
370	375	380	
Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Cys			
385	390	395	400
His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser			
405	410	415	
Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val Pro Gly Asn			
420	425	430	
Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln Ser Phe Pro Asn Ile			
435	440	445	
Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser Lys Pro Lys Gln Glu			
450	455	460	
Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile Gln Lys Pro Phe Ser			
465	470	475	480
Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu			
485	490	495	
Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser			
500	505	510	
Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser Tyr Ile Asn Thr Pro			
515	520	525	
Val Ala Glu Ile Ile Met Lys Pro Asn Val Gly Gln Gly Ser Thr Ser			
530	535	540	
Val Gln Thr Ala Met Glu Ser Glu Leu Gly Glu Ser Ser Ala Thr Ile			
545	550	555	560
Asn Lys Arg Leu Cys Lys Ser Thr Ile Glu Leu Ser Glu Asn Ser Leu			
565	570	575	
Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu Gln Pro			

580 585 590
 His Leu Glu Arg Val Ala Ile Asp Ala Leu Gln Leu Cys Cys Leu Leu
 595 600 605

 Leu Pro Pro Pro Asn Arg Arg Lys Leu Gln Leu Leu Met Arg Met Ile
 610 615 620
 Ser Arg Met Ser Gln Asn Val Asp Met Pro Lys Leu His Asp Ala Met
 625 630 635 640
 Gly Thr Arg Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val Leu Cys
 645 650 655
 Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu Asp Glu Leu Leu Ala Gly Arg Leu Val
 660 665 670
 Ser Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu Gln Val Pro Ser Tyr

 675 680 685
 Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu Asp Tyr Leu Lys Lys Gly His
 690 695 700
 Ile Glu Asn Pro Gly Asp Gly Leu Phe Ala Pro Leu Pro Thr Tyr Ser
 705 710 715 720
 Tyr Cys Lys Gln Ile Ser Ala Gln Glu Phe Asp Glu Gln Lys Val Ser
 725 730 735
 Thr Ser Gln Ala Ala Ile Ala Glu Leu Leu Glu Asn Ile Ile Lys Asn
 740 745 750

 Arg Ser Leu Pro Leu Lys Glu Lys Arg Lys Lys Leu Lys Gln Phe Gln
 755 760 765
 Lys Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr Thr Glu Ser
 770 775 780
 Glu Ala Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile Lys Gln Pro Met Leu
 785 790 795 800
 Ile Leu Arg Lys Pro Lys Phe Arg Ser Leu Arg
 805 810

 <210> 5
 <211> 8666
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (79)..(1659)

<400> 5

gagactcgcc actgccgagg ccgctgggcc tgagtgtcgc cttcgccgcc atggacgcca 60

ccggcgctg acagacct atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat 111

Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr

1 5 10

egg gcc acc aag ctg tgg aat gaa gtt acc aca tct ttt cga gca gga 159

Arg Ala Thr Lys Leu Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly

15 20 25

atg cct cta aga aaa cac aga caa cac ttt aaa aaa tat ggc aat tgt 207

Met Pro Leu Arg Lys His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys

30 35 40

ttc aca gca gga gaa gca gtg gat tgg ctt tat gac cta tta aga aat 255

Phe Thr Ala Gly Glu Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn

45 50 55

aat agc aat ttt ggt cct gaa gtt aca agg caa cag act atc caa ctg 303

Asn Ser Asn Phe Gly Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu

60 65 70 75

ttg agg aaa ttt ctt aag aat cat gta att gaa gat atc aaa ggg agg 351

Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg

80 85 90

tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctc ttc aga ttt cct 399

Trp Gly Ser Glu Asn Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro

95 100 105

gca act tcg cca ctt aaa act cta cca cga agg tat cca gaa ttg aga 447

Ala Thr Ser Pro Leu Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg

110 115 120

aaa aac aac ata gag aac ttt tcc aaa gat aaa gat agc att ttt aaa 495

Lys Asn Asn Ile Glu Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys

125	130	135	
tta cga aac tta tct cgt aga act cct aaa agg cat gga tta cat tta			543
Leu Arg Asn Leu Ser Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu			
140	145	150	155
tct cag gaa aat ggc gag aaa ata aag cat gaa ata atc aat gaa gat			591
Ser Gln Glu Asn Gly Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp			
160	165	170	
caa gaa aat gca att gat aat aga gaa cta agc cag gaa gat gtt gaa			639
Gln Glu Asn Ala Ile Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu			
175	180	185	
gaa gtt tgg aga tat gtt att ctg atc tac ctg caa acc att tta ggt			687
Glu Val Trp Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly			
190	195	200	
gtg cca tcc cta gaa gaa gtc ata aat cca aaa caa gta att ccc caa			735
Val Pro Ser Leu Glu Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln			
205	210	215	
tat ata atg tac aac atg gcc aat aca agt aaa cgt gga gta gtt ata			783
Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile			
220	225	230	235
cta caa aac aaa tca gat gac ctc cct cac tgg gta tta tct gcc atg			831
Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met			
240	245	250	
aag tgc cta gca aat tgg cca aga agc aat gat atg aat aat cca act			879
Lys Cys Leu Ala Asn Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr			
255	260	265	
tat gtt gga ttt gaa cga gat gta ttc aga aca atc gca gat tat ttt			927
Tyr Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe			
270	275	280	
cta gat ctc cct gaa cct cta ctt act ttt gaa tat tac gaa tta ttt			975
Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe			
285	290	295	

gta aac att ttg gtt gtt tgt ggc tac atc aca gtt tca gat aga tcc 1023

Val Asn Ile Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser
300 305 310 315

agt ggg ata cat aaa att caa gat gat cca cag tct tca aaa ttc ctt 1071

Ser Gly Ile His Lys Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu
320 325 330

cac tta aac aat ttg aat tcc ttc aaa tca act gag tgc ctt ctt ctc 1119

His Leu Asn Asn Leu Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu
335 340 345

agt ctg ctt cat aga gaa aaa aac aaa gaa gaa tca gat tct act gag 1167

Ser Leu Leu His Arg Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu
350 355 360

aga cta cag ata agc aat cca gga ttt caa gaa aga tgt gct aag aaa 1215

Arg Leu Gln Ile Ser Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys
365 370 375

atg cag cta gtt aat tta aga aac aga aga gtg agt gct aat gac ata 1263

Met Gln Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile
380 385 390 395

atg gga gga agt tgt cat aat tta ata ggg tta agt aat atg cat gat 1311

Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp
400 405 410

cta tcc tct aac agc aaa cca agg tgc tgt tct ttg gaa gga att gta 1359

Leu Ser Ser Asn Ser Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val
415 420 425

gat gtg cca ggg aat tca agt aaa gag gca tcc agt gtc ttt cat caa 1407

Asp Val Pro Gly Asn Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln
430 435 440

tct ttt ccg aac ata gaa gga caa aat aat aaa ctg ttt tta gag tct 1455

Ser Phe Pro Asn Ile Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser
445 450 455

aag ccc aaa cag gaa ttc ctg ttg aat ctt cat tca gag gaa aat att	1503
Lys Pro Lys Gln Glu Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile	
460 465 470 475	
caa aag cca ttc agt gct ggt ttt aag aga acc tct act ttg act gtt	1551
Gln Lys Pro Phe Ser Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val	
480 485 490	
caa gac caa gag gag ttg tgt aat ggg aaa tgc aag tca aaa cag ctt	1599
Gln Asp Gln Glu Glu Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu	
495 500 505	
tggtagg tct cag agt ttg ctt tta aga agt agt aca aga agg aat agt	1647
Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser	
510 515 520	
tat atc aat aca c cagtggctga aattatcatg aaaccaaag ttggacaagg	1700
Tyr Ile Asn Thr	
525	
cagcacaagt gtgcaaacag ctatggaaag tgaactcgga gagtctagtg ccacaatcaa	1760
taaaagactc tgcaaaagta caatagaact ttcagaaaat tctttacttc cagcttcttc	1820
tatgttgact ggccacacaaa gcttgctgca acctcattta gagagggttg ccatcgatgc	1880
tctacagtta tgttgtttgt tacttcccc accaaatcgt agaaagcttc aacttttaat	1940
gcgtatgatt tcccgaatga gtcaaaatgt tgatgatgcc aaacttcatg atgcaatggg	2000
tacgaggcca ctgatgatac ataccttttc tcgatgtgtg ttatgctgtg ctgaagaagt	2060
ggatcttgat gagcttcttg ctggaagatt agtttctttc ttaatggatc atcatcagga	2120
aattcttcaa gtaccctctt acttacagac tgcagtggaa aaacatcttg actacttaa	2180
aaaggacat attgaaaac ctggagatgg actatgtgct cctttgccaa cttactcata	2240
ctgtaagcag attagtgtc aggagtttga tgagcaaaaa gtttctacct ctcaagctgc	2300
aattgcagaa cttttagaaa atattattaa aaacaggagt ttacctctaa aggagaaaag	2360
aaaaaaaaa aaacagtttc agaaggaata tcctttgata tatcagaaaa gatttccaac	2420
cacggagagt gaagcagcac tttttgttga caaacctaca atcaagcaac caatgctgat	2480
tttaagaaaa ccaaagttcc gtagtctaag ataactaact gaattaaaaa ttatgtaata	2540

cttgtggaac tttgataaat gaagccatat ctgagaatgt agctactcaa aaggaagtct	2600
gtcattaata aggtatttct aaataaacac attatgtaag gaagtccaa aatagttatc	2660
aatgtgagac tcttaggaaa ctaactagat ctcaattgag agcacataac aatagatgat	2720
accaaatact ttttgttttt aacacagcta tccagtaagg ctatcatgat gtgtgctaaa	2780
attttattta cttgaatttt gaaaactgag ctgtgttagg gattaaacta taattctgtt	2840
cttaaaagaa aatttatctg caaatgtgca agttctgaga tattagctaa tgaattagtt	2900
gtttgggggtt acttctttgt ttctaagtat aagaatgtga agaataattg aaaactcaat	2960
gaaataattc tcagctgcca aatgttgac tcttttatat attcttttct cacttttgat	3020
ctattttatat atatgtatgt gtttttaaaa tatgtgtata ttttatcaga tttggttttg	3080
ccttaaatat tatcccaat tgcctcagtc attcatttgt tcagtatata tattttgaat	3140
tctagttttc ataatctatt agaagatggg gatataaaag aagtataagg caatcatata	3200
ttcattcaaa agatatttat ttagcaactg ctatgtgcct ttcgttgttc cagatatgca	3260
gagacaatga taaataaaac atataatctc ttccataagg tattttattt ttaatcaagg	3320
gagatacacc tatcagatgt ttaaaataac aacactaccc actgaaatca gggcatatag	3380
aatcattcag ctaaagatgt acttctatga tgatggaaca ggtctctaag ctagtggttt	3440
tcaaactggg acacattaga ctaccccgag gaattttaaa acagcctata tgcccagggc	3500
ctaacttaca ctaattaaat ctgaattttg gggatgttgt atagggatta gtattttttt	3560
taatctaggt gattccaata ttcagccaac tgtgagaatc aatggcctaa atgcttttta	3620
taaacatttt tataagtgtc aagataatgg cacattgact ttattttttc attggaagaa	3680
aatgcctgcc aagtataaat gactctcacc ttaaaacaag gttcttcagg tttctgcttg	3740
attgacttgg tacaacttgg aagcaagtgg ctttctaatt ttactccaa gattgtttca	3800
tatctattcc ttaagtgtaa agaaatatat aatgcatggg ttgtaataaa atcttaatgt	3860
ttaatgactg ttctcatttc tcaatgtaat ttcatactgt ttctctataa aatgatagta	3920
ttccatttaa cattactgat ttttattaaa aacctggaca gaaaattata aattataaat	3980
atgactttat cctggctata aaattattga accaaaatga attctttcta aggcatttga	4040
atactaaaac gtttattgtt tatagatatg taaaatgtgg attatgttgc aaattgagat	4100
taaaattatt tggggttttg taacaatata attttgcttt tgtattatag acaaatatat	4160
aaataataaa ggcaggcaac ttctatttgc actaatgtac gagactgcc actgccggcg	4220
ccgctgggcc tgagtgtcgc cttcgccgcc atggacgcca ccgggcgctg acagacctat	4280

ggagagtcag ggtgtgcctc ccgggcctta tcgggccacc aagctgtgga atgaagttac	4340
cacatctttt cgagcaggaa tgcctctaag aaaacacaga caacacttta aaaaatatgg	4400
caattgtttc acagcaggag aagcagtgga ttggctttat gacctattaa gaaataatag	4460
caattttggc cctgaagtta caaggcaaca gactatccaa ctgttgagga aatttcttaa	4520
gaatcatgta attgaagata tcaaaggag gtggggatca gaaaatgttg atgataacaa	4580
ccagctcttc agatttctcg caacttcgcc acttaaaact ctaccacgaa ggtatccaga	4640
attgagaaaa aacaacatag agaacttttc caaagataaa gatagcattt ttaaattacg	4700
aaacttatct cgtagaactc ctaaaaggca tggattacat ttatctcagg aaaatggcga	4760
gaaaaataag catgaaataa tcaatgaaga tcaagaaaat gcaattgata atagagaact	4820
aagccaggaa gatgttgaag aagtttgag atatgttatt ctgatctacc tgcaaaccat	4880
tttaggtgtg ccatccctag aagaagtc ataatccaaa caagtaattc cccaatatat	4940
aatgtacaac atggccaata caagtaaacg tggagtagtt atactacaaa acaaatcaga	5000
tgacctccct cactgggtat tatctgcat gaagtgccta gcaaattggc caagaagcaa	5060
tgatatgaat aatccaactt atgttggatt tgaacgagat gtattcagaa caatcgcaga	5120
ttattttcta gatctccctg aacctctact tacttttgaa tattacgaat tatttgtaaa	5180
cattttgggc ttgtctgaac ctcatctaga gagggttgcc atcgatgctc tacagttag	5240
ttgtttgtta cttccccac caaatcgtag aaagcttcaa cttttaatgc gtatgatttc	5300
ccgaatgagt caaaaatgtg atatgcccaa acttcatgat gcaatgggta cgaggtcact	5360
gatgatacat accttttctc gatgtgtgtt atgctgtgct gaagaagtgg atcttgatga	5420
gcttcttctt ggaagattag tttctttctt aatggatcat catcaggaaa ttcttcaagt	5480
acctctttac ttacagactg cagtggaaaa acatcttgac tacttaaaaa agggacatat	5540
tgaaaatcct ggagatggac tatttgctcc tttccaact tactcact gtaagcagat	5600
tagtgctcag gagtttgatg agcaaaaagt ttctacctt caagctgcaa ttgcagaact	5660
tttagaaaat attattaaaa acaggagttt acctctaaag gagaaaagaa aaaaactaaa	5720
acagtttcag aaggaatatc ctttgatata tcagaaaaga tttccaacca cggagagtga	5780
agcagcactt tttggtgaca aacctacaat caagcaacca atgctgattt taagaaaacc	5840
aaagtccgt agtctaagat aactaactga attaaaaatt atgtaatact tgtggaactt	5900
tgataaatga agccatatct gagaatgtag ctactcaaaa ggaagtctgt cattaataag	5960
gtatttttaa ataacacat tatgtaagga agtgccaaaa tagttatcaa tgtgagactc	6020
ttaggaaact aactagatct caattgagag cacataacaa tagatgatac caaatacttt	6080
ttgtttttaa cacagctatc cagtaaggct atcatgatgt gtgctaaaa tttatttact	6140

tgaattttga aaactgagct gtgttaggga ttaaactata attctgttct taaaagaaaa	6200
tttatctgca aatgtgcaag ttctgagata ttagctaag aattagtgtg ttggggttac	6260
ttctttgttt ctaagtataa gaatgtgaag aatatitgaa aactcaatga aataattctc	6320
agctgccaaa tgttgcactc ttttatatat tctttttcca cttttgatct atttatatat	6380
atgtatgtgt ttttaaaata tgtgtatatt ttatcagatt tggttttgcc ttaaatatta	6440
tcccaaatg cttcagtcac tcatttgttc agtatatata ttttgaattc tagttttcat	6500
aatctattag aagatgggga tataaaagaa gtataaggca atcatatatt cattcaaaag	6560
atattttatt agcaactgct atgtgccttt cgttgttcca gatatgcaga gacaatgata	6620
aataaaacat ataatctctt ccataaggta tttatTTTTT aatcaaggga gatacaccta	6680
tcagatgttt aaaataacaa cactaccac tgaaatcagg gcatatagaa tcattcagct	6740
aaagagtac ttctatgatg atggaacagg tctctaagct agtggttttc aaactggtac	6800
acattagact caccgagga attttaaac agcctatatg cccagggcct aacttacct	6860
aattaaatct gaattttggg gatgttgtat agggattagt atttttttta atctaggiga	6920
ttccaatatt cagccaactg tgagaatcaa tggcctaaat gctttttata aacattttta	6980
taagtgtcaa gataatggca cattgacttt attttttcat tgggaagaaa tgcctgccaa	7040
gtataaatga ctctcatctt aaaacaagg tcttcagggt tctgcttgat tgacttggtg	7100
caaacitgaa gcaagttgcc ttctaatttt tactccaaga ttgtttcata tctattcctt	7160
aagtgtaaag aaatatataa tgcattggtt gtaataaaat cttaatgttt aatgactgtt	7220
ctcatttctc aatgtaattt catactgttt ctctataaaa tgatagtatt ccatttaaca	7280
ttactgattt ttattaaaaa cctggacaga aaattataaa ttataaatat gactttatcc	7340
tggctataaa attattgaac caaaatgaat tctttctaag gcatttgaat actaaaacgt	7400
ttattgttta tagatatgta aaatgtggat tatgttgcaa attgagatta aaattatttg	7460
gggtttttgta acaatataat ttgtcttttg tattatagac aaatatataa ataataaagg	7520
caggcaactt tcatttgcaac taatgtacat gcaattgaga ttacaaaata catggtacaa	7580
tgttttaata acaaactctg ccagtcagggt ttgaatccta ctgtgctatt aactagctag	7640
taaactcaga caagttactt aacttctcta agccccagtt ttgttatcta taaaatgaat	7700
attataatag tacctctttt taggattgcg aggattaagc aggataatgc atgtaaagtg	7760
ttagcacagt gtctcacata gaataagcac tctataaata ttttactaga atcacctagg	7820
attatagcac tagaagagat cttagcaaaa atgtggtcct ttctgttgct ttggacagac	7880
atgaacaaaa acaaaattac ggacaattga tgagccttat taactatctt ttcattatga	7940
gacaaagggt ctgattatgc ctactggttg aaatttttta atctagtcaa gaaggaaaat	8000

ttgatgagga aggaaggaat ggatatcttc agaagggtt cgcctaagct ggaacatgga 8060

tagattccat tctaacataa agatctttaa gttcaaata agatgagtg actggtagat 8120

ttggtgtag ttgctttctc gggatataag aagcaaaatc aactgctaca agtaaagagg 8180

ggatggggaa ggtgttcac atttaaagag agaaagtgtg aaaaagccta attgtgggaa 8240

tgcacagggtt tcaccagatc agatgatgtc tggttattct gtaaattata gttcttatcc 8300

cagaaattac tgcctccacc atccctaata tcttctaatt ggtatcatat aatgaccac 8360

tcttcttatg ttatccaaac agttatgtgg catttagtaa tggaatgtac atggaatttc 8420

ccactgactt acctttctgt ccttgggaag cttaaactct gaatcttctc atctgtaaaa 8480

tgtgaattaa agtatctacc taactgagtt gtgattgtag tgaagaaag gcaatatatt 8540

taaatcttga atttagcaag cccacgtcg atttttatgt cctttctct tgccttgat 8600

tgagttaaag atctctactg attaaaactc ttttgctatc aaaaaaaaa aaaaaaaaa 8660

aaaaaa 8666

<210> 6

<211> 527

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr Arg Ala Thr Lys Leu

1 5 10 15

Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys

20 25 30

His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe Thr Ala Gly Glu

35 40 45

Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn Asn Ser Asn Phe Gly

50 55 60

Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu

65 70 75 80

Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg Trp Gly Ser Glu Asn

85 90 95

Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu

100 105 110

Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile Glu
 115 120 125
 Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys Leu Arg Asn Leu Ser
 130 135 140
 Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu Ser Gln Glu Asn Gly
 145 150 155 160

 Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp Gln Glu Asn Ala Ile
 165 170 175
 Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu Glu Val Trp Arg Tyr
 180 185 190
 Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu
 195 200 205
 Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln Tyr Ile Met Tyr Asn
 210 215 220
 Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile Leu Gln Asn Lys Ser

 225 230 235 240
 Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu Ala Asn
 245 250 255
 Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr Tyr Val Gly Phe Glu
 260 265 270
 Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu
 275 280 285
 Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 290 295 300

 Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
 305 310 315 320
 Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu
 325 330 335
 Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Arg
 340 345 350
 Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser
 355 360 365

Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn

370 375 380
 Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Cys
 385 390 395 400
 His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser
 405 410 415
 Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val Pro Gly Asn
 420 425 430
 Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln Ser Phe Pro Asn Ile
 435 440 445

Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser Lys Pro Lys Gln Glu
 450 455 460
 Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile Gln Lys Pro Phe Ser
 465 470 475 480
 Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu
 485 490 495
 Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser
 500 505 510
 Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser Tyr Ile Asn Thr

515 520 525
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 7

Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu

1 5
 <210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 8

Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe

1 5 10

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 9

Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 10

Arg Leu Ala Ile Phe Lys Asp Leu Val

1 5

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 11

Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val

1 5 10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 12
 Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile
 1 5
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400>
 > 13
 Asp Tyr Ala Asp Leu Lys Glu Lys Leu
 1 5
 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 14
 Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu
 1 5
 <210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 15
 Cys Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu
 1 5
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 16

Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val Leu

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 17

Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 18

Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu

1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 19

Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400>

> 20

Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu

1 5
 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 21

Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu Leu

1 5
 <210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 22

Asp Tyr Leu Gln Val Cys Leu Arg Ile

1 5
 <210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 23

Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu

1 5
 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 24

Ser Tyr Val Phe Ser Ala Asp Pro Ile

1 5
 <210> 25

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 25
 Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile
 1 5
 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 26
 Asp Tyr Glu Gln Ala Asn Leu Asn Met
 1 5
 <210> 27
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400>
 > 27
 Asn Phe Asp Gly Ile Lys Leu Asp Leu
 1 5
 <210> 28
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 28
 Leu Phe Val Pro Val Ser Ser Lys Phe
 1 5
 <210> 29
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 29

Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 30

Lys Phe Ser Val Trp Val Ser Phe Phe

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 31

Lys Leu Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 32

Arg Phe Pro Lys Pro Glu Leu Glu Ile

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 33

Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400>

> 34

Arg Thr Gln Asn Leu Lys Ala Asp Leu

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 35

Lys Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 36

Lys Ser Asn Glu Met Glu Glu Asp Leu

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 37

Lys Ile Glu Asp Gly Ser Val Val Leu

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 38

Lys Gln Gln Asn Glu Met Glu Ile Leu

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 39

Lys Thr Gln Asn Glu Gly Glu Arg Leu

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 40

Lys Trp Lys Glu Lys Cys Asn Asp Leu

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400>

> 41

Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 42

Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 43

Ser Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 44

Lys Leu Thr Asn Leu Gln Asp Glu Leu

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 45

Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu

1 5
 <210> 46
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 46

Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu

1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 47

Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe Phe

1 5 10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 48

Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp Phe

1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 49

Leu Tyr Thr Ser Glu Ile Ser Ser Pro Ile

1 5 10

<210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 50

Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu

1 5 10
 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 51

Ala Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu

1 5 10
 <210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 52

Thr Tyr Ser Leu Arg Ser Gln Ala Ser Ile

1 5 10
 <210>
 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 53

Asp Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu

1 5 10
 <210> 54

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 54

Arg Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu

1 5 10

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 55

Lys Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu

1 5 10

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 56

Lys Leu Leu Arg Ile Lys Ile Asn Glu Leu

1 5 10

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 57

Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg Met Thr Leu

1 5 10

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 58

Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln Leu

1 5 10

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 59

Lys Val Glu Cys Ser His Ser Ala Lys Leu

1 5 10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 60

Lys Asn Glu Lys Glu Glu Lys Ala Glu Leu

1 5 10

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 61

Lys Leu Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu

1 5 10

<210>

62

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 62

Lys Leu Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 63

Arg Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu

1 5 10

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 64

Arg Val Ile Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu

1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 65

Arg Asn Leu Lys Glu Phe Gln Glu His Leu

1 5 10

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 66

Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val

1 5 10

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 67

Lys Met Leu Arg Leu Ser Gln Asp Val

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 68

Ala Leu Leu Arg Gln Ile Lys Glu Val

1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 69

Ala Leu Ser Glu Leu Thr Gln Gly Val

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 70

Lys Leu Gly Ile Lys His Gln Ser Val

1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 71

Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 72

Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400>

> 73

Gln Leu Thr Glu Lys Asp Ser Asp Leu

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 74

Asn Leu Gln Asp Met Lys His Leu Leu

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 75

Ser Val Trp Val Ser Phe Phe Glu Ile

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 76

Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 77

Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 78

Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val

1 5
 <210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 79

Ala Ile Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile

1 5
 <210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400

> 80

Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu

1 5
 <210> 81
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 81

Asp Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val

1 5
 <210> 82
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 82

Ser Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile

1 5

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 83

Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val

1 5

<210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 84

Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val Leu

1 5

<210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 85

Lys Ile Cys Ser Glu Arg Lys Arg Val

1 5

<210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 86

Ser Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr

1 5

<210> 87
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400>

> 87

Leu Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 88

Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu Ile

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 89

Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala

1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 90

Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 91
 Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu
 1 5
 <210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 92
 Lys Gln Val Gln Lys Glu Val Ser Val
 1 5
 <210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 93
 Lys Leu Lys Glu Glu Ile Thr Gln Leu
 1 5
 <210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400>
 > 94
 Thr Leu Ser Lys Glu Val Gln Gln Ile
 1 5
 <210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 95

Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 96

Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr

1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 97

Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 98

Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 99
 Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val Leu
 1 5
 <210> 100
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 100
 Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu
 1 5
 <210> 101
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <
 400> 101
 Lys Leu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala
 1 5
 <210> 102
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 102
 Lys Glu His Glu Asn Asn Thr Asp Val
 1 5
 <210> 103
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 103
 Asp Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu Val

1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 104

Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Glu Ile

1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 105

Ile Leu Gln Ser Lys Ala Lys Lys Ile

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 106

Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile

1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 107

Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu Glu Thr

1 5

<210> 108
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 108
 Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu
 1 5

<210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 109
 Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val
 1 5

<210> 110
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 110
 Thr Leu Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu
 1 5

<210> 111
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 111
 Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile
 1 5

<210> 112

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 112
 Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu
 1 5
 <210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 113
 Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu
 1 5
 <210> 114
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 114
 Lys Met Ala Val Lys His Pro Gly Cys
 1 5
 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

 <400> 115
 Ser Glu Met Ser Arg Val Ile Arg Val
 1 5
 <210> 116
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 116

Gln Leu Thr Asn Asn Leu Gln Asp Met

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 117

Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 118

Asn Ile Ser Glu Phe Glu Glu Ser Ile

1 5

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 119

Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu

1 5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 120

Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu Ile

1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 121

Leu Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu

1 5

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 122

Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr

1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 123

Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val

1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 124

Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val

1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 125

Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu

1 5 10

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 126

Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val

1 5 10

<

210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 127

Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu

1 5 10

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 128

Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 129

Gln Val Leu Glu Ala Lys Leu Glu Glu Val

1 5 10

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 130

Ser Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr Leu

1 5 10

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 131

Thr Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu

1 5 10

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 132

Ala Ile Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile Val

1 5 10

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 133

Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr Leu

1 5 10

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 134

Val Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val

1 5 10

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 135

Lys Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile

1 5 10

<

210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 136

Gly Leu Thr Asn Ser Gly Lys Thr Tyr Thr

1 5 10
 <210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 137

Asn Ile Ala Glu Ile Glu Asp Ile Arg Val

1 5 10
 <210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 138

Ser Leu Gln Glu Arg Leu Tyr Thr Lys Met

1 5 10
 <210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 139

Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala Glu Val

1 5 10
 <210> 140
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 140

Gln Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu

1 5 10

<210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 141

Met Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu

1 5 10

<210> 142
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 142

Lys Leu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala Thr

1 5 10

<210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 143

Lys Gln Ile Lys Gln Val Gln Lys Glu Val

1 5 10

<210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 144

Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu Leu

1 5 10

<

210> 145

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 145
 Gln Leu Asp Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu
 1 5 10
 <210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 146
 Met Met Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu Ala
 1 5 10
 <210> 147
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 147
 Gln Ile Met Asp Ile Lys Pro Lys Arg Ile
 1 5 10
 <210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 148
 Gln Leu Val Ala Ala Leu Glu Ile Gln Leu
 1 5 10
 <210> 149
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 149

Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile

1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 150

Lys Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile

1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 151

Thr Leu Glu Glu Gln Glu Gln Thr Gln Val

1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 152

Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu Cys Asp Leu

1 5 10

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 153

Val Val Leu Asp Ser Cys Glu Val Ser Thr

1 5 10

<

210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 154

Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile

1 5 10

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 155

Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile

1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 156

Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val Val

1 5 10

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 157

Gly Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu

1 5 10

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 158

Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile Gln Val

1 5 10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 159

Thr Leu Ile Gln Gln Leu Lys Glu Glu Leu

1 5 10

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 160

Thr Ile Leu Glu Thr Gln Lys Val Glu Cys

1 5 10

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 161

Ala Ala Leu Glu Ile Gln Leu Lys Ala Leu

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 162

Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val Leu

1 5 10

<

210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 163

Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 164

Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 165

Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn

1 5
 <210> 166
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 166

Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu

1 5
 <210> 167
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 167

Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu

1 5
 <210> 168
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 168

Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe

1 5
 <210> 169
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 169

His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe

1 5

<210> 170
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 170

Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser

1 5

<210> 171
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 171

Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu Leu

1 5

<210> 172
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 172

Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu

1 5 10

<210> 173
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 173

Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu

1 5 10

<210> 174
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 174
 Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile
 1 5 10

<210> 175
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 175

Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe
 1 5 10

<210> 176
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 176

Thr Tyr Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe
 1 5 10

<210> 177
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 177

Ser Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala Glu Ile
 1 5 10

<210> 178
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 178

Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu

1 5 10

<

210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 179

Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr

1 5 10

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 180

Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 181

Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu

1 5 10

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 182

Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu

1 5 10

<210> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 183

Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu

1 5 10

<210> 184

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 184

Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 185

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 185

Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile

1 5 10

<210> 186

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 186
 Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu
 1 5 10
 <210> 187
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 187
 Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu
 1 5 10
 <
 210> 188
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 188
 Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu Ser Leu
 1 5 10
 <210> 189
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 189
 Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 1 5 10
 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 190

Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe

1 5 10

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 191

Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile

1 5

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 192

Leu Leu Gln Pro His Leu Glu Arg Val

1 5

<210> 193

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 193

Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu

1 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 194

Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu

1 5

<210> 195

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 195

Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met

1 5

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 196

Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu

1 5

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 197

Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu

1 5

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 198

Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr

1 5

<210> 199
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 199
 Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu
 1 5

<210> 200
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 200
 Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile
 1 5

<210> 201
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 201
 Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu
 1 5

<210> 202
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 202
 Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr
 1 5

<210> 203

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 203

Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 204

Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu

1 5

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 205

Ile Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 206

Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val

1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 207
 Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu
 1 5
 <210> 208
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 208
 Ala Leu Gln Leu Cys Cys Leu Leu Leu
 1 5

 <210> 209
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 209
 Arg Leu Cys Lys Ser Thr Ile Glu Leu
 1 5
 <210> 210
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 210
 Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu
 1 5
 <210> 211
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 211

Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile

1 5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 212

Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val Val

1 5

<210> 213

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 213

Ile Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu

1 5

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 214

Lys Leu Gln Leu Leu Met Arg Met Ile

1 5

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 215

Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val

1 5

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 216

Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu

1 5

<210> 217

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 217

Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val

1 5

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 218

Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val

1 5

<210> 219

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 219
 Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala Glu Ile
 1 5
 <210> 220
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 220
 Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu
 1 5
 <210> 221
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 221
 Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val
 1 5
 <210> 222
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 222
 Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr
 1 5
 <210> 223
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 223

Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val

1 5

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 224

Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys

1 5

<210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 225

Cys Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val

1 5

<210> 226

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 226

Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu

1 5

<210> 227

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 227

Leu Leu Ala Gly Arg Leu Val Ser Phe Leu

1 5 10
 <210> 228
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 228

Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu

1 5 10
 <210> 229
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 229

Ser Leu Leu Gln Pro His Leu Glu Arg Val

1 5 10
 <210> 230
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 230

Ile Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val

1 5 10
 <210> 231
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 231

Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val

1 5 10

<

210> 232
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 232
 Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu Glu Val
 1 5 10
 <210> 233
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 233
 Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val
 1 5 10
 <210> 234
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 234
 Tyr Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu
 1 5 10
 <210> 235
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 235
 Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val
 1 5 10
 <210> 236
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 236
 Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu
 1 5 10

<210> 237
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 237

Arg Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val
 1 5 10

<210> 238
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 238

Gln Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met
 1 5 10

<210> 239
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 239

Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu
 1 5 10

<210> 240
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 240

Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys

1 5 10

<

210> 241

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 241

Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr

1 5 10

<210> 242

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 242

Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val Val

1 5 10

<210> 243

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 243

Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 244

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 244

Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu Ile

1 5 10

<210> 245

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 245

Ile Leu Gln Val Pro Ser Tyr Leu Gln Thr

1 5 10

<210> 246

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 246

Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr

1 5 10

<210> 247

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 247

Gln Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val

1 5 10

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 248
Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu Thr
1 5 10
<210> 249
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 249
Ile Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu Ile
1 5 10
<
210> 250
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 250
Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu
1 5 10
<210> 251
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 251
Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr Thr
1 5 10
<210> 252
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 252

Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu Leu

1 5 10

<210> 253

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 253

Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val

1 5 10

<210> 254

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 254

Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu

1 5 10

<210> 255

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 255

Asn Ile Leu Gly Leu Leu Gln Pro His Leu

1 5 10

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 2 (a)

【변경전】

7 또는 8, 여기서 상기 아미노산 서열의 N-말단으로부터 2번째 아미노산이 페닐알라닌, 메티오닌, 또는 트립토판으로 치환됨, 으로 구성되는 군으로부터 선택되는

【변경후】

7 또는 8에서 상기 아미노산 서열의 N-말단으로부터 2번째 아미노산이 페닐알라닌, 메티오닌, 또는 트립토판으로 치환된

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 2 (c)

【변경전】

메티오닌으로 치환됨, 으로 구성되는 군으로부터 선택되는

【변경후】

메티오닌으로 치환된

【직권보정 3】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 2 (c)

【변경전】

7 또는 8, 여기서

【변경후】

7 또는 8에서

【직권보정 4】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 2 (b)

【변경전】

7 또는 8, 여기서 상기 아미노산 서열의 C-말단의 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 이소류신, 트립토판, 또는 메티오닌으로 치환됨, 으로 구성되는 군으로부터 선택되는

【변경후】

7 또는 8에서 상기 아미노산 서열의 C-말단의 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 이소류신, 트립토판, 또는 메티오닌으로 치환된