

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-60910
(P2009-60910A)

(43) 公開日 平成21年3月26日(2009.3.26)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/00	Z N A A 4 B 0 2 4
C 07 K 14/705 (2006.01)	C 07 K 14/705	4 C 0 8 5
C 07 K 19/00 (2006.01)	C 07 K 19/00	4 H 0 4 5
A 61 K 39/00 (2006.01)	A 61 K 39/00	H
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00	

審査請求 有 請求項の数 25 O L (全 190 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-251482 (P2008-251482)	(71) 出願人	503208552 マンカインド コーポレイション アメリカ合衆国 カリフォルニア 913 55 バレンシア ノース アベニュー ペイン 28903
(22) 出願日	平成20年9月29日 (2008.9.29)	(74) 代理人	100100549 弁理士 川口 嘉之
(62) 分割の表示	特願2002-580010 (P2002-580010) の分割	(74) 代理人	100090516 弁理士 松倉 秀実
原出願日	平成14年4月4日 (2002.4.4)	(74) 代理人	100106622 弁理士 和久田 純一
(31) 優先権主張番号	60/282, 211	(74) 代理人	100089244 弁理士 遠山 勉
(32) 優先日	平成13年4月6日 (2001.4.6)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/337, 017		
(32) 優先日	平成13年11月7日 (2001.11.7)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/363, 210		
(32) 優先日	平成14年3月7日 (2002.3.7)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】エピトープ配列

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】MHCクラスIに対して高親和性を有し、かつ標的特異的プロテアソームにより產生されるエピトープで、免疫学的試薬の生成に有用である核酸、ポリペプチドを提供する。

【解決手段】腫瘍関連抗原PRAMEの1つ以上のセグメント配列をコードし、それぞれのセグメントがエピトープクラスターを有し、前記クラスターは同じMHC受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも2つのアミノ酸配列を有するかまたはコードし、前記配列を含むリーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結する、単離された核酸。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

第1の配列を含むリーディングフレームを有する単離された核酸であって、

前記第1の配列は腫瘍関連抗原 P R A M E (配列番号：77) の1つ以上のセグメントをコードし、

前記第1の配列は完全な P R A M E 抗原をコードせず、それぞれのセグメントがエピトープクラスターを有し、前記クラスターは、同じ M H C 受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも2つのアミノ酸配列を有するか、またはコードし、

前記リーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結することを特徴とする単離された核酸。

10

【請求項 2】

前記エピトープクラスターは次のアミノ酸からなるグループから選択されることを特徴とする、請求項1に記載の核酸；

配列番号4に記載の P R A M E の 18 - 59、33 - 47、71 - 81、78 - 115、99 - 108、126 - 135、222 - 238、224 - 246、290 - 303、305 - 324、343 - 363、364 - 447、394 - 409、422 - 443 及び 459 - 487 塩基。

【請求項 3】

前記1つ以上のセグメントが前記エピトープクラスターからなることを特徴とする、請求項1又は2に記載の核酸。

20

【請求項 4】

前記第1の配列が P R A M E のフラグメントをコードすることを特徴とする、請求項1～3のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項 5】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 90 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

【請求項 6】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 80 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

30

【請求項 7】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 60 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

【請求項 8】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 50 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

【請求項 9】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 25 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

【請求項 10】

前記コードされたフラグメントが、 P R A M E の長さの 10 % 以下長さのポリペプチドからなることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

40

【請求項 11】

前記コードされたフラグメントが、基本的に、 P R A M E の 18、33、71、78、99、126、222、224、290、305、343、364、394、422 及び 459 からなる群から選択されるアミノ酸の一つから始まり、 P R A M E の 47、59、81、108、115、135、238、246、303、324、363、409、443、447 及び 487 からなる群から選択されるアミノ酸の一つで終わるアミノ酸配列からなるフラグメントをコードすることを特徴とする、請求項4に記載の核酸。

【請求項 12】

前記コードされたフラグメントが、基本的に、 P R A M E の 18 - 47、18 - 59、

50

1 8 - 8 1、1 8 - 1 0 8、1 8 - 1 1 5、1 8 - 1 3 5、1 8 - 2 3 8、1 8 - 2 4 6
 、1 8 - 3 0 3、1 8 - 3 2 4、1 8 - 3 6 3、1 8 - 4 0 9、1 8 - 4 4 3、1 8 - 4
 4 7、1 8 - 4 8 7、3 3 - 4 7、3 3 - 5 9、3 3 - 8 1、3 3 - 1 0 8、3 3 - 1 1
 5、3 3 - 1 3 5、3 3 - 2 3 8、3 3 - 2 4 6、3 3 - 3 0 3、3 3 - 3 2 4、3 3 -
 3 6 3、3 3 - 4 0 9、3 3 - 4 4 3、3 3 - 4 4 7、3 3 - 4 8 7、7 1 - 8 1、7 1
 - 1 0 8、7 1 - 1 1 5、7 1 - 1 3 5、7 1 - 2 3 8、7 1 - 2 4 6、7 1 - 3 0 3、
 7 1 - 3 2 4、7 1 - 3 6 3、7 1 - 4 0 9、7 1 - 4 4 3、7 1 - 4 4 7、7 1 - 4 8
 7、7 8 - 1 0 8、7 8 - 1 1 5、7 8 - 1 3 5、7 8 - 2 3 8、7 8 - 2 4 6、7 8 -
 3 0 3、7 8 - 3 2 4、7 8 - 3 6 3、7 8 - 4 0 9、7 8 - 4 4 3、7 8 - 4 4 7、7
 8 - 4 8 7、9 9 - 1 0 8、9 9 - 1 1 5、9 9 - 1 3 5、9 9 - 2 3 8、9 9 - 2 4 6
 、9 9 - 3 0 3、9 9 - 3 2 4、9 9 - 3 6 3、9 9 - 4 0 9、9 9 - 4 4 3、9 9 - 4
 4 7、9 9 - 4 8 7、1 2 6 - 1 3 5、1 2 6 - 2 3 8、1 2 6 - 2 4 6、1 2 6 - 3 0
 3、1 2 6 - 3 2 4、1 2 6 - 3 6 3、1 2 6 - 4 0 9、1 2 6 - 4 4 3、1 2 6 - 4 4
 7、1 2 6 - 4 8 7、2 2 2 - 2 3 8、2 2 2 - 2 4 6、2 2 2 - 3 0 3、2 2 2 - 3 2
 4、2 2 2 - 3 6 3、2 2 2 - 4 0 9、2 2 2 - 4 4 3、2 2 2 - 4 4 7、2 2 2 - 4 8
 7、2 2 4 - 2 3 8、2 2 4 - 2 4 6、2 2 4 - 3 0 3、2 2 4 - 3 2 4、2 2 4 - 3 6
 3、2 2 4 - 4 0 9、2 2 4 - 4 4 3、2 2 4 - 4 4 7、2 2 4 - 4 8 7、2 9 0 - 3 0
 3、2 9 0 - 3 2 4、2 9 0 - 3 6 3、2 9 0 - 4 0 9、2 9 0 - 4 4 3、2 9 0 - 4 4
 7、2 9 0 - 4 8 7、3 0 5 - 3 2 4、3 0 5 - 3 6 3、3 0 5 - 4 0 9、3 0 5 - 4 4
 3、3 0 5 - 4 4 7、3 0 5 - 4 8 7、3 4 3 - 3 6 3、3 4 3 - 4 0 9、3 4 3 - 4 4
 3、3 4 3 - 4 4 7、3 4 3 - 4 8 7、3 6 4 - 4 0 9、3 6 4 - 4 4 3、3 6 4 - 4 4
 7、3 6 4 - 4 8 7、3 9 4 - 4 0 9、3 9 4 - 4 4 3、3 9 4 - 4 4 7、3 9 4 - 4 8
 7、4 2 2 - 4 4 3、4 2 2 - 4 4 7、4 2 2 - 4 8 7 又は 4 5 9 - 4 8 7 からなることを特徴とする請求項 1 1 に記載の核酸。
 10

【請求項 1 3】

更に第 2 の配列を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の核酸であって、前記第 2 の配列が、成熟したエピトープ、または 1 ~ 数個の更なるアミノ酸が隣接し、ハウスキーピングエピトープが免疫プロテアソームプロセッシングにより直接的にまたは N - 末端トリミングとの組み合わせ若しくは外因性の酵素活性との組み合わせにより遊離するハウスキーピングエピトープをコードする核酸。

30

【請求項 1 4】

前記第 1 及び第 2 の配列が単一のリードィングフレームを構成することを特徴とする、請求項 1 3 に記載の核酸。

【請求項 1 5】

前記リードィングフレームがプロモーターとその制御下で連結することを特徴とする、請求項 1 4 に記載の核酸。

【請求項 1 6】

請求項 1 4 または 1 5 に記載の前記リードィングフレームにおいてコードされるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド。

40

【請求項 1 7】

請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の核酸を含む免疫原性組成物。

【請求項 1 8】

請求項 1 6 に記載のポリペプチドを含む免疫原性組成物。

【請求項 1 9】

前記リードィングフレームが更に、エピトープまたはエピトープ配列から本質的になるポリペプチド配列をコードする第 2 の配列を有することを特徴とする、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 2 0】

少なくとも 1 つの PRAME エピトープクラスターを有するアミノ酸配列をコードする手段にプロモーターの制御下で連結されたプロモーターを有する発現ベクターであって、

50

前記手段が完全な P R A M E 抗原をコードしないものである発現ベクター。

【請求項 21】

前記ハウスキーピングエピトープが配列番号 1 ~ 599 のいずれかで表されるポリペプチドであることを特徴とする、請求項 13 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 22】

MHC エピトープであり、ハウスキーピングプロテアソームが優勢に活性である細胞上に提示されるエピトープをコードする、設計されたまたは操作された核酸配列を更に有する請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の核酸であって、前記エピトープが、p A P C におけるプロセッシングによりエピトープが遊離し得る状態を提供するより大きな配列に組み込まれていることを特徴とする核酸。

10

【請求項 23】

前記エピトープが配列番号 1 ~ 599 のいずれかで表されるポリペプチドであることを特徴とする、請求項 22 に記載の核酸。

【請求項 24】

第 1 の配列を含むリーディングフレームを有する単離された核酸であって、

前記第 1 の配列は、腫瘍関連抗原 g p 100 (配列番号 70) の 1 つ以上のセグメントをコードし、

前記第 1 の配列は完全な g p 100 抗原をコードせず、それぞれのセグメントがエピトープクラスターを有し、前記クラスターは、同じ MHC 受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも 2 つのアミノ酸配列を有するか、またはコードし、

前記リーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結することを特徴とする単離された核酸。

20

【請求項 25】

第 1 の配列を含むリーディングフレームを有する単離された核酸であって、

前記第 1 の配列は、腫瘍関連抗原 P S A (配列番号 78) の 1 つ以上のセグメントをコードし、

前記第 1 の配列は完全な P S A 抗原をコードせず、それぞれのセグメントがエピトープクラスターを有し、前記クラスターは、同じ MHC 受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも 2 つのアミノ酸配列を有するか、またはコードし、

前記リーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結することを特徴とする単離された核酸。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は概して、標的関連抗原の有用なエピトープであるペプチドおよびペプチドをコードする核酸に関する。より具体的には、本発明は、MHC クラス I に対して高親和性を有し、かつ標的特異的プロテアソームにより産生されるエピトープに関する。

【背景技術】

【0002】

【背景技術の説明】

新形成および免疫系

癌として一般に知られる新形成疾患状態は、一般に制御の効かない单一細胞成長に起因すると考えられる。未制御の成長状態は通常、多工程に起因し、ここでは一連の細胞系が衰え、新生細胞の発生をもたらす。生じた新生細胞はそれ自体を迅速に再生し、1 つまたは複数の腫瘍を形成し、最終的には宿主の死を招き得る。

40

【0003】

新生細胞の前駆体は宿主の遺伝物質を共有するため、新生細胞は宿主免疫系により大いに攻撃されない。宿主免疫系が外来物質を監視して、局在化させるプロセスである免疫監視中、新生細胞は、宿主の免疫監視機構に対し「自己」細胞として出現する。

【0004】

50

ウイルスおよび免疫系

癌細胞と対比して、ウイルス感染は、明らかに非自己抗原の発現を包含する。結果として、多くのウイルス感染は、最低限の臨床的後遺症を伴って、免疫系により首尾よく対処される。さらに、重症な疾患を引き起こす多くの感染に関する効果的なワクチンを開発することが可能となっている。各種ワクチンアプローチは、様々な疾患の治療に首尾よく使用されている。これらのアプローチには、組換えDNA技術により產生される個々のタンパク質から構成されるサブユニットワクチンが含まれる。これらの向上にも関わらず、ウイルスワクチンとして使用するための最小量エピトープの選択および効果的投与は依然として問題が多い。

【0005】

エピトープ選択に關与した難題のほかに、宿主免疫系を逃れる能力を発したウイルスの問題が存在する。多くのウイルス、特に永続的な感染を確立するウイルス（例えばヘルペスウイルスおよびポックスウイルスファミリーの成員）は、ウイルスが宿主免疫系を逃れることを可能にする免疫調節性分子を產生する。抗原提示に対するこれらの免疫調節性分子の影響は、免疫原性組成物としての投与に関する選ばれたエピトープのターゲッティングにより克服され得る。宿主免疫系との、新生細胞およびウイルス感染細胞の相互作用をより良く理解するために、系の構成成分の議論を以下に続ける。

【0006】

免疫系は、生物にとって内因性の分子（「自己」分子）を、生物に対する外因性または外来性の物質（「非自己分子」）と識別するように機能する。免疫系は、応答を媒介する構成成分に基づいて異物に対して2つのタイプの適応応答：体液性応答および細胞性応答を有する。体液性応答は抗体により媒介される一方で、細胞性免疫は、リンパ球として類別される細胞に關与する。最近の抗癌および抗ウイルス戦略は、抗癌もしくは抗ウイルス治療または療法の手段として、宿主免疫系を動員することに焦点を当てている。

【0007】

免疫系は、宿主を異物から防御するように3つの相で機能する：認識相、活性化相、およびエフェクター相。認識相では、免疫系は、身体中の外来抗原または侵入物の存在を認識し、それを知らせる。外来抗原は、例えば新生細胞またはウイルスタンパク質由來の細胞表面マーカーであり得る。いったん系が侵入物に気付くと、免疫系の抗原特異的細胞は、侵入物誘発性シグナルに応答して増殖および分化する。最終段階は、免疫系のエフェクター細胞が検出された侵入物に応答して、それを中和するエフェクタ一段階である。

【0008】

一連のエフェクター細胞は、侵入物に対する免疫応答を実行する。エフェクター細胞の1つのタイプであるB細胞は、宿主に遭遇した外来抗原に対して標的とされる抗体を生成する。補体系と組み合わせて、抗体は、標的とされる抗原を保有する細胞または生物の崩壊を誘導する。別のタイプのエフェクター細胞は、様々なウイルス感染細胞ならびに悪性細胞型を自発的に認識および破壊する能力を有するリンパ球タイプであるナチュラルキラー細胞（NK細胞）である。標的細胞を認識するためにNK細胞により使用される方法はあまり理解されていない。

【0009】

エフェクター細胞の別のタイプであるT細胞は、3つのサブカテゴリーに類別される成員を有し、それぞれが免疫応答において異なる役割を果たす。ヘルパーT細胞は、効果的な免疫応答を高めるのに必要な他の細胞の増殖を刺激するサイトカインを分泌する一方で、サプレッサーT細胞は免疫応答をダウンレギュレートする。T細胞の第3のカテゴリーである細胞傷害性T細胞（CTL）は、表面上に外来抗原を提示する標的とされる細胞を直接溶解することが可能である。

【0010】

主要組織適合性複合体およびT細胞標的認識

T細胞は、特定抗原シグナルに応答して機能する抗原特異的免疫細胞である。Bリンパ球およびそれらが產生する抗体は、また抗原特異的物体である。しかしながら、Bリンパ

10

20

30

40

50

球と異なり、T細胞は、遊離型または可溶型の抗原に応答しない。T細胞が抗原に応答するためには、抗原がペプチドにプロセシングされた後、主要組織適合性複合体（MHC）においてコードされる提示構造に結合されることを要する。この要件は「MHC拘束」と呼ばれ、それは、T細胞が「自己」細胞を「非自己」細胞と識別するメカニズムである。抗原が認識可能なMHC分子により提示されない場合、T細胞は抗原シグナルを認識せず、それに作用しない。認識可能なMHC分子に結合されたペプチドに特異的なT細胞は、これらのMHC-ペプチド複合体に結合し、免疫応答の次の段階に進む。

【0011】

2つのタイプのMHC：クラスI MHC、およびクラスII MHCが存在する。Tヘルパー細胞（CD4⁺）はクラスII MHCタンパク質と優勢的に相互作用する一方で、細胞傷害性T細胞（CD8⁺）はクラスI MHCタンパク質と優勢的に相互作用する。両クラスのMHCタンパク質は、細胞の外部表面上にそれらの構造の大部分を有する膜貫通タンパク質である。さらに、両クラスのMHCタンパク質は、それらの外部にペプチド結合間隙を有する。この間隙において、内因性または外来性のタンパク質の小断片は細胞外環境に結合および提示される。

10

【0012】

「プロフェッショナル抗原提示細胞」（pAPC）と呼ばれる細胞は、MHCタンパク質を用いてT細胞に対する抗原を提示するが、pAPCの分化／活性化の特定の状態に応じて、様々な共刺激分子をさらに発現する。認識可能なMHCタンパク質に結合されたペプチドに特異的なT細胞がpAPC上のこれらのMHC-ペプチド複合体に結合すると、T細胞に作用する特定の共刺激分子は、T細胞が取る分化／活性化の経路を誘導する。すなわち、共刺激分子は、T細胞が免疫応答の次の段階に進む際に今後の遭遇において抗原シグナルにどのように作用するかに影響を与える。

20

【0013】

上述のように、新生細胞は免疫系により大いに無視される。宿主中で新生細胞の存在と闘うことを助長するために、宿主の免疫系を利用するための試みにおいて、今では多くの努力が費やされている。かかる研究分野の1つは、抗癌ワクチンの配合を包含する。

20

【0014】

抗癌ワクチン

癌との戦いにおいて腫瘍遺伝学者に利用可能な様々な手段には、患者の免疫系がある。免疫系をガンまたは新形成疾患と闘わせるための様々な試みにおいて研究がなされてきた。不運にも、今日までの結果は大いに期待に反するものであった。特に興味がもたれる領域の1つに、抗癌ワクチンの生成および使用が包含される。

30

【0015】

ワクチンまたは他の免疫原性組成物を生成するために、免疫応答が高められ得る抗原またはエピトープを被験体に導入することが必要である。新生細胞は正常細胞に由来し、したがって遺伝子レベルでは正常細胞と実質的に同一であるが、多くの新生細胞は腫瘍関連抗原（TuAA）を提示することが知られている。理論的には、これらの抗原は、これらの抗原を認識して、新生細胞を攻撃するのに、被験体の免疫系により使用され得る。しかしながら、実際には、新生細胞は概して、宿主免疫系により無視されるようである。

40

【0016】

新生細胞に対する活性を有するワクチンを生成するための試みにおいて、多数の種々の戦略が開発してきた。これらの戦略には、腫瘍関連抗原を免疫原として使用することが含まれる。例えば、米国特許第5,993,828号は、細胞表面上に泌尿器腫瘍関連抗原、ならびにGM-2、GD-2、胎児抗原、および黒色腫関連抗原からなる群から選択される少なくとも1つの腫瘍関連抗原を有する不活性化腫瘍細胞を含む組成物を有効量、被験体に投与することにより、泌尿器腫瘍関連抗原の特定のサブユニットに対する免疫応答を生じる方法について記載している。したがって、この特許は、抗癌ワクチンにおける免疫原として、不活性化腫瘍細胞全体を使用することについて記載している。

【0017】

50

抗癌ワクチンを用いた別の戦略は、単離された腫瘍抗原を含有する組成物を投与することに關与する。アプローチの1つでは、MAGE-A1抗原性ペプチドを免疫原として使用した(Chaux, P., et al., 「MAGE-A1で形質導入した樹状細胞を用いてin vitro刺激することにより得られる細胞傷害性Tリンパ球により認識される5つのMAGE-A1エピトープの同定(Identification of Five MAGE-A1 Epitopes Recognized by Cytolytic T Lymphocytes Obtained by In Vitro Stimulation with Dendritic Cells Transduced with MAGE-A1)」, J. Immunol., 163 (5): 2928-2936 (1999)を参照)。ワクチン接種のためにMAGE-A1ペプチドを使用する幾つかの治療上の試みが存在するものの、ワクチンレジメンの有効性が制限された。これらの試みの幾つかの結果は、Vose, J.M., 「Tリンパ球により認識される腫瘍抗原(Tumor Antigens Recognized by T Lymphocytes)」, 10th European Cancer Conference, Day 2, Sept. 14, 1999で考察されている。

10

【0018】

ワクチンとして使用される腫瘍関連抗原の別の例では、Scheinberg等は、ヘルパーペプチドとアジュバントQS-21とともに、クラスI関連bcr-ablペプチドを5回注射することにより、すでにインターフェロン(IFN)またはヒドロキシ尿素を施した12人の慢性骨髓性白血病(CML)患者を治療した。Scheinberg, D.A. et al., 「BCR-ABLブレイクポイント由来癌遺伝子融合ペプチドワクチンは、慢性骨髓性白血病(CML)の患者において特定の免疫応答を生成する(BCR-ABL Breakpoint Derived Oncogene Fusion Peptide Vaccines Generate Specific Immune Responses in Patients with Chronic Myelogenous Leukemia (CML)」, [Abstract 1665], American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta (1999)。Tヘルパー活性を示す増殖性および遅延型過敏性(DTH)T細胞応答が誘発されたが、細胞傷害性キラーT細胞活性は新鮮な血液試料内では観察されなかった。

20

【0019】

ワクチンとして使用するためのTuAAを同定する試みのさらなる例は、Cebon等およびScheibenbogen等の最近の研究に見られる。Cebon等は、皮下、または静脈内のいずれかで付与した増加用量のIL-12とともに、皮内投与したMART-1_{26~35}ペプチドを使用して、転移性黒色腫の患者を免疫した。最初の15人の患者のうち、1人が完全な寛解、1人が部分的寛解、1人が混合応答を示した。T細胞生成に関する免疫アッセイはDTHを包含し、それはIL-12ありまたはなしの患者で施された。CTLアッセイは、臨床的有益性(benefit)の徴候を有する患者で陽性であったが、腫瘍後退のない患者ではそのような結果は得られなかった。Cebon, et al. 「第II期および第IV期の悪性黒色腫のHLA-A2+陽性患者におけるMelan-AおよびIL-12による免疫のフェーズI研究(Phase I Studies of Immunization with Melan-A and IL-12 in HLA A2+ Positive Patients with Stage III and IV Malignant Melanoma)」, [Abstract 1671], American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta (1999)。

30

【0020】

Scheibenbogen等は、転移性黒色腫の16人とアジュバント患者2人の18人の患者を、4HLAクラスI制限チロシナーゼペプチドで免疫した。Scheibenbogen, et al., 「転移性黒色腫におけるチロシナーゼペプチドおよびGM-CSFによるワクチン接種: 臨床試験フェーズII(Vaccination with Tyrosinase peptides and GM-CSF in Metastatic Melanoma: a Phase II Trial)」, [Abstract 1680], American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta (1999)。CTL活性の増加は、15人のうち4人の患者、すなわち2人のアジュバント患者、および腫瘍後退の徴候を有する2人の患者で観察された。Cebon等による臨床試験と同様に、進行性疾患の患者は追加免疫された免疫性を示さなかった。有効な抗癌ワクチンを作製するために今まで様々な努力が費やされてきたにもかかわらず、かかる組成物はいまだ開発されていない。

40

【0021】

抗ウイルスワクチン

50

ウイルス疾患に対して防御するためのワクチン戦略は多くの成功を収めている。おそらく、これらのうちで最も注目に値するのが、天然痘疾患に対してなされた発展であり、天然痘は撲滅に至った。ポリオワクチンの成功は同様に偉大である。

【0022】

ウイルスワクチンは、3つの区分に類別することができる：生弱毒ウイルスワクチン（例えば、天然痘用の完全痘疱、セービンポリオウイルスワクチン、ならびに麻疹、おたふくおよび風疹）、全死滅または不活化ウイルスワクチン（例えば、サーク（Salk）ポリオウイルスワクチン、A型肝炎ウイルスワクチンおよび典型的なインフルエンザウイルスワクチン）、およびサブユニットワクチン（例えば、B型肝炎）。完全ウイルスゲノムの欠如により、サブユニットワクチンは、ウイルス全体に基づいたワクチンよりも高い安全性を提供する。

【0023】

成功したサブユニットワクチンの実例は、ウイルスのエンベロープタンパク質に基づいた組換えB型肝炎ワクチンである。個々のエピトープに対する単一タンパク質を超える還元主義者（reductionist）のサブユニット概念を強調する際のかなりの学問的な興味にもかかわらず、努力はいまだにかなりの成果を生み出していない。細胞応答も行われるもの、ウイルスワクチン研究はまた抗体応答の誘発に集中している。しかしながら、サブユニット配合物の多くはCTL応答を生じる際に特に不足している。

【発明の開示】

【0024】

[発明の概要]

標的細胞エピトープを提示するためにプロフェッショナル抗原提示細胞（pAPC）を一次刺激する従来の方法は、単にpAPCに、標的関連抗原（TAA）、またはMHC I分子に対して高親和性を有すると考えられる抗原のエピトープを発現させることに依存している。しかしながら、かかる抗原のプロテアソームプロセシングは、標的細胞上に存在するエピトープに相当しないpAPC上のエピトープの提示をもたらす。

【0025】

効果的な細胞免疫応答は、pAPCが標的細胞により提示される同じエピトープを提示することを必要とするという知見を用いて、本発明は、MHC Iに対して高親和性を有し、末梢細胞で活性であるハウスキーピングプロテアソームのプロセシング特異性に相当するエピトープを提供する。したがって、これらのエピトープは、標的細胞上に提示されるエピトープに相応する。ワクチンにおけるかかるエピトープの使用は、細胞免疫応答を活性化して、正確にプロセシングされたTAAを認識することができ、かかるエピトープを提示する標的細胞の除去をもたらし得る。幾つかの実施形態では、本明細書中に提供されるハウスキーピングエピトープは免疫性エピトープと組み合わせて使用することができ、適合性である細胞免疫応答を生成して、インターフェロン導入前および後の両方で、標的細胞を攻撃する。他の実施形態では、エピトープは、標的関連疾患の診断およびモニタリングにおいて、ならびにかかる目的のための免疫学的試薬の生成において有用である。

【0026】

本発明の実施形態では、単離されたエピトープ、および上記エピトープを含む抗原またはポリペプチドに関する。好ましい実施形態として、表1に記載の配列を有するエピトープまたは抗原が挙げられる。他の実施形態としては、表1由来のポリペプチドを含むエピトープクラスターを挙げることができる。さらに、実施形態としては、上述のエピトープ、ポリペプチド、抗原、またはクラスターに対して実質的類似性を有するポリペプチドが挙げられる。他の好ましい実施形態としては、上記のいずれかに対して機能的類似性を有するポリペプチドが挙げられる。さらなる実施形態は、表1および本明細書に記載されるエピトープ、クラスター、抗原のいずれかのポリペプチドをコードする核酸およびポリペプチドに関する。以下の概要のために、「エピトープ（単数または複数）」を参照する場合、本発明の他の実施形態の議論は、エピトープの上述の形態のすべてに制限されことなく言及し得る。

【0027】

エピトープは免疫学的に活性であり得る。エピトープを含むポリペプチドは、約30未満のアミノ酸長であり得て、より好ましくは、ポリペプチドは例えば8～10アミノ酸長である。実質的類似性または機能的類似性は、例えば少なくとも1つのアミノ酸の付加を含むことができ、少なくとも1つの付加されたアミノ酸は、ポリペプチドのN末端にあり得る。実質的類似性または機能的類似性は、少なくとも1つのアミノ酸の置換を含むことができる。

【0028】

エピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドは、HLA-A2分子に対して親和性を有することができる。親和性は、結合アッセイ、エピトープ認識の制限アッセイ、予測アルゴリズム等により決定することができる。エピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドは、HLA-B7、HLA-B51分子等に対して親和性を有することができる。

10

【0029】

好ましい実施形態では、ポリペプチドは、ハウスキーピングエピトープであり得る。エピトープまたはポリペプチドは、腫瘍細胞上に提示されるエピトープ、新生血管系細胞上に提示されるエピトープ等に相当することができる。エピトープまたはポリペプチドは免疫性エピトープであり得る。エピトープ、クラスターおよび／またはポリペプチドは核酸であり得る。

20

【0030】

他の実施形態は、表1由来のエピトープ、それらを含むクラスターまたはポリペプチドを包含するポリペプチド、および薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等を含む薬学的組成物に関する。アジュバントはポリヌクレオチドであり得る。ポリヌクレオチドはジヌレクオチドを含むことができ、例えばCpGであり得る。アジュバントは、ポリヌクレオチドによりコードされ得る。アジュバントはサイトカインであり得て、サイトカインは例えばGM-CSFであり得る。

20

【0031】

薬学的組成物は、プロフェッショナル抗原提示細胞(pAPC)をさらに含むことができる。pAPCは例えば樹状細胞であり得る。薬学的組成物は第2のエピトープをさらに含むことができる。第2のエピトープはポリペプチド、核酸、ハウスキーピングエピトープ、免疫性エピトープ等であり得る。

30

【0032】

さらなる実施形態は、表1由来のエピトープまたは抗原を含むポリペプチドをコードする核酸を含む本明細書中に記載する核酸のいずれかを含む薬学的組成物に関する。かかる組成物は、薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等を含むことができる。

30

【0033】

他の実施形態は、表1由来のエピトープまたは抗原を含むポリペプチドをコードする核酸を含む、本明細書中に記載するような核酸を含む組換え構築物に関する。構築物は、プラスミド、ウイルスベクター、人工染色体等をさらに含むことができる。構築物は、例えば、第2のエピトープ、IREs、ISS、NIS、およびユビキチンのような少なくとも1つの形質をコードする配列をさらに含むことができる。

40

【0034】

さらなる実施形態は、表1のエピトープの少なくとも1つに特異的に結合する精製抗体に関する。他の実施形態は、表1に開示するエピトープまたは任意の他の適切なエピトープを含むペプチド-MHCタンパク質複合体に特異的に結合する精製抗体に関する。いずれかの実施形態からの抗体はモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体であり得る。

【0035】

さらに他の実施形態は、例えば表1に開示するエピトープのようなエピトープを含む多量体MHC-ペプチド複合体に関する。また、上記複合体に特異的な抗体も意図される。

50

【 0 0 3 6 】

実施形態は、MHC - ペプチド複合体に特異的なT細胞受容体を発現する単離されたT細胞に関する。上記複合体は、例えば表1に開示するエピトープのようなエピトープを含むことができる。T細胞は、in vitro免疫により産生することができ、免疫された動物から単離することができる。実施形態は、上述のT細胞のようなクローニングしたT細胞を含むT細胞クローンに関する。実施形態はまたT細胞のポリクローナル集団に関する。かかる集団は、例えば上述のようなT細胞を含むことができる。

【 0 0 3 7 】

さらなる実施形態は、例えば上述に記載するT細胞のようなT細胞、および薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等を含む薬学的組成物に関する。

10

【 0 0 3 8 】

本発明の実施形態は、MHC - ペプチド複合体に特異的なT細胞受容体の結合ドメインを含む単離されたタンパク質分子に関する。上記複合体は表1に開示されるようなエピトープを含むことができる。タンパク質は多価であり得る。他の実施形態は、かかるタンパク質をコードする単離された核酸に関する。さらなる実施形態はかかる核酸を含む組換え構築物に関する。

【 0 0 3 9 】

本発明の他の実施形態は、例えば表1に開示するエピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドをコードする構築物を含む本明細書中に記載する組換え構築物を発現する宿主細胞に関する。宿主細胞は樹状細胞、マクロファージ、腫瘍細胞、腫瘍由来細胞、細菌、真菌、原生動物等であり得る。実施形態はまた、本明細書中に記載の宿主細胞のような宿主細胞、および薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等を含む薬学的組成物に関する。

20

【 0 0 4 0 】

さらに他の実施形態は、例えば、表1に開示されるか、あるいは本明細書中に記載されるエピトープ、かかるエピトープを含むクラスター、かかるエピトープを含む抗原またはポリペプチド、上記および本明細書中に記載の組成物、上記および本明細書中に記載の構築物、上記および本明細書中に記載のT細胞または宿主細胞のような少なくとも1つの構成成分を含むワクチンまたは免疫治療用組成物に関する。

30

【 0 0 4 1 】

さらなる実施形態は、動物の治療方法に関する。上記方法は、上記および本明細書中に開示するものを含むワクチンまたは免疫治療用組成物のような薬学的組成物を動物に投与することを含むことができる。投与工程は、例えば、経皮、結節内、結節周囲、経口、静脈内、皮内、筋内、腹腔内、粘膜、エーロゾル吸入、滴注等のよう送達様式を含むことができる。上記方法は、アッセイする工程であって、それにより標的細胞(単数または複数)の状態を示す特徴を決定する、アッセイする工程をさらに含むことができる。上記方法は、第1のアッセイ工程、および第2のアッセイ工程をさらに含むことができ、ここで第1のアッセイ工程は上記投与工程前に行われ、該第2のアッセイ工程は上記投与工程後に行われる。上記方法は、第1のアッセイ工程で決定される特徴を、第2のアッセイ工程で決定される特徴と比較する工程であって、それにより結果を得る、比較する工程をさらに含むことができる。結果は、例えば、免疫応答の徴候、標的細胞数の減少、標的細胞を含む腫瘍の質量またはサイズの低下、細胞内寄生生物感染標的細胞の数または濃度の低減等であり得る。

40

【 0 0 4 2 】

実施形態は、ワクチンまたは免疫治療用組成物の免疫原性を評価する方法に関する。上記方法は、上記および本明細書中の他の箇所に記載するもののようなワクチンまたは免疫治療薬を動物に投与すること、および上記動物の特徴に基づいて免疫原性を評価することを含むことができる。動物はHLAトランスジェニックであり得る。

【 0 0 4 3 】

他の実施形態は、免疫原性を評価する方法であって、上記および本明細書中の他の箇所

50

に記載するもののようなワクチンまたは免疫治療用組成物によるT細胞の*in vitro*刺激、および上記T細胞の特徴に基づいて免疫原性を評価することを含む方法に関する。刺激は一次刺激であり得る。

【0044】

さらなる実施形態は、受動／養子免疫治療薬を作製する方法に関する。上記方法は、上記および本明細書中の他の箇所に記載するもののようなT細胞または宿主細胞を、薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等と組み合わせることを含むことができる。

【0045】

他の実施形態は、特異的T細胞頻度を決定する方法に関し、T細胞を、表1に開示するエピトープを含むMHC-ペプチド複合体、またはかかるエピトープを含むクラスターまたは抗原を含む複合体と接触させる工程を含むことができる。接触工程は、例えば、免疫、再刺激、検出、計数等のよう少なくとも1つの形質を含むことができる。上記方法は、ELISPOT解析、限界希釈解析、フローサイトメトリー、*in situ*ハイブリダイゼーション、ポリメラーゼ連鎖反応、それらの任意の組合せ等をさらに含むことができる。

【0046】

実施形態は、免疫学的応答を評価する方法に関する。上記方法は、免疫工程の前および後に実施される特異的T細胞頻度を決定する上記方法を含むことができる。

【0047】

他の実施形態は、免疫学的応答を評価する方法に関する。上記方法は、例えば表1由来のエピトープ、かかるエピトープを含むクラスターまたはポリペプチドのようなエピトープを含むMHC-ペプチド複合体による刺激工程の前および後に、T細胞の頻度、サイトカイン産生、または細胞溶解活性を決定することを含むことができる。

【0048】

さらなる実施形態は、疾患を診断する方法に関する。上記方法は、被験体組織を、上記および本明細書中の他の箇所に記載するもののいずれかを含む、例えばT細胞、宿主細胞、抗体、タンパク質を含む少なくとも1つの構成成分と接触させること、および上記組織または該構成成分の特徴に基づいて疾患を診断することを含むことができる。接触工程は、例えば*in vivo*または*in vitro*で行われ得る。

【0049】

さらに他の実施形態は、ワクチンを作製する方法に関する。上記方法は、上記および本明細書中の他の箇所に記載するもののいずれかを含むエピトープ、組成物、構築物、T細胞、宿主細胞を含めた少なくとも1つの構成成分を、薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等と組み合わせることを含むことができる。

【0050】

実施形態は、配列番号1～602のいずれか1つの配列を包含する分子の物理学的、生化学的、免疫学的、または分子遺伝学的特性を算出するハードウェアまたはソフトウェアを有するマシン等において、上記配列を記録したコンピュータ可読媒体に関する。

【0051】

さらに他の実施形態は動物を治療する方法に関する。上記方法は、上記および本明細書中の他の箇所に記載するようなワクチンまたは免疫治療用組成物を動物に投与することを含む動物の治療方法を、例えば放射線療法、化学療法、生化学療法、手術を含む少なくとも1つの治療様式と組み合わせることを含むことができる。

【0052】

さらなる実施形態は、エピトープクラスターを含む単離されたポリペプチドに関する。好ましい実施形態では、クラスターは、表25～44のいずれか1つに開示されるような配列を有する標的関連抗原由来であり得て、ここでアミノ酸配列は約80%以下の抗原のアミノ酸配列を含む。

【0053】

10

20

30

40

50

他の実施形態は、上記および本明細書中の他の箇所に記載する単離されたペプチドを含むワクチンまたは免疫治療用生成物に関する。さらに他の実施形態は、上記および本明細書中の他の箇所に記載するポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチドに関する。他の実施形態は、これらのポリヌクレオチドを含むワクチンまたは免疫治療用生成物に関する。ポリヌクレオチドは、DNA、RNA等であり得る。

【0054】

さらなる実施形態は、送達デバイス、および上記および本明細書中の他の箇所に記述した実施形態のいずれかを含むキットに関する。送達デバイスは、カテーテル、シリング、内部または外部ポンプ、リザーバ、吸入器、マイクロインジェクター、パッチ、および送達の任意の経路に適した任意の他の同様のデバイスであり得る。上述のように、送達デバイスに加えて、キットはまた、本明細書中に開示する実施形態のいずれかを含むことができる。例えば、キットは、単離されたエピトープ、ポリペプチド、クラスター、核酸、抗原、上述のいずれかを含む薬学的組成物、抗体、T細胞、T細胞受容体、エピトープ-MHC複合体、ワクチン、免疫治療薬等を含むことができるが、これらに限定されない。キットはまた、使用のための詳細な説明書および任意の他の同様の品目のような品目を含むことができる。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0055】

[好適な実施形態の詳細な説明]

20

定義

本明細書中の用語の使用の状況から別の状況が明らかでない限り、以下に列挙した用語は概して、この説明の目的で示した意味を有する。

【0056】

プロフェッショナル抗原提示細胞(pAPC)：T細胞共刺激分子を保有し、T細胞応答を誘発することが可能である細胞である。十分に特性化されたpAPCとしては、樹状細胞、B細胞、およびマクロファージが挙げられる。

【0057】

末梢細胞：pAPCではない細胞である。

【0058】

ハウスキーピングプロテアソーム：一般に末梢細胞で活性であり、pAPCに通常存在しないか、または強力に活性でないプロテアソームである。

30

【0059】

免疫プロテアソーム：pAPCにおいて一般に活性なプロテアソームであり、免疫プロテアソームはまた、感染組織における幾つかの末梢細胞で活性である。

【0060】

エピトープ：免疫応答を刺激することが可能な分子または物質である。好ましい実施形態では、この定義に従ったエピトープとしては、ポリペプチドおよびポリペプチドをコードする核酸（ここで、ポリペプチドは免疫応答を刺激することが可能である）が挙げられるが、必ずしもこれらに限定されない。他の好ましい実施形態では、この定義に従ったエピトープとしては、細胞の表面上に提示されるペプチドが挙げられるが、必ずしもこれに限定されず、ペプチドは、クラスI MHCの結合間隙に非共有結合的に結合され、その結果、ペプチドはT細胞受容体と相互作用することができる。

40

【0061】

MHCエピトープ：哺乳動物クラスIまたはクラスII主要組織適合性複合体(MHC)分子に対して既知または予測結合親和性を有するポリペプチドである。

【0062】

ハウスキーピングエピトープ：好ましい実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、MHCエピトープであり、かつハウスキーピングプロテアソームが優勢に活性である細胞上に提示されるポリペプチド断片として定義される。別の好ましい実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、1個～数個のさらなるアミノ酸が隣接した、先述の定義に従

50

ったハウスキーピングエピトープを含有するポリペプチドとして定義される。別の好ましい実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、先述の定義に従ったハウスキーピングエピトープをコードする核酸として定義される。

【0063】

免疫性エピトープ：好ましい実施形態では、免疫性エピトープは、MHCエピトープであり、かつ免疫プロテアソームが優勢に活性である細胞上に提示されるポリペプチド断片として定義される。別の好ましい実施形態では、免疫性エピトープは、1個～数個のさらなるアミノ酸が隣接した、先述の定義に従った免疫性エピトープを含有するポリペプチドとして定義される。別の好ましい実施形態では、免疫性エピトープは、クラスI MHCに対して既知または予測親和性を有する少なくとも2つのポリペプチド配列を有する、エピトープクラスター配列を含むポリペプチドとして定義される。さらに別の好ましい実施形態では、免疫性エピトープは、先述の定義のいずれかに従った免疫性エピトープをコードする核酸として定義される。

10

【0064】

標的細胞：本発明のワクチンおよび方法により標的とされる細胞である。この定義に従った標的細胞の例としては、新生細胞、および細胞内寄生生物（例えばウイルス、細菌、または原生動物のような）を保有する細胞が挙げられるが、必ずしもこれらに限定されない。

【0065】

標的関連抗原（TAA）：標的細胞に存在するタンパク質またはポリペプチドである。

20

【0066】

腫瘍関連抗原（TuAA）：標的細胞が新生細胞であるTAAである。

【0067】

HLAエピトープ：ヒトクラスIまたはクラスII HLA複合体分子に対して既知または予測された結合親和性を有するポリペプチドである。

30

【0068】

抗体：生化学的に得られようと、または組換えDNAを用いて得られようと、天然免疫グロブリン（Ig）（ポリまたはモノクローナル）、またはIg結合ドメインの全体もしくは部分で構成される任意の分子である。例としては、とりわけF(ab)、単鎖Fv、およびIg可変領域相コートタンパク質融合物が挙げられる。

【0069】

コード：特定のアミノ酸配列をコードする核酸はその（ポリ）ペプチドを指定するコドンから構成され得るが、また翻訳可能であるか、または転写、翻訳もしくは複製の制御のための、または幾つかの宿主核酸構築物の操作を容易にするためのさらなる配列を含むことができるような制限のない用語である。

40

【0070】

実質的類似性：この用語は、配列試験により判断される場合に、重要でない様式で参照配列と異なる配列を指すのに使用される。同じアミノ酸配列をコードする核酸配列は、縮重位置の違い、または任意の非コード領域の長さもしくは組成の中程度の違いにもかかわらず実質的に類似している。保存的置換またはわずかな長さの変動のみが異なるアミノ酸配列は、実質的に類似している。さらに、N末端フランкиング残基の数が異なるハウスキーピングエピトープ、またはいずれかの末端のフランкиング残基の数が異なる免疫性エピトープまたはエピトープクラスターを含むアミノ酸配列は、実質的に類似している。実質的に類似性のアミノ酸配列をコードする核酸自体もまた、実質的に類似している。

【0071】

機能的類似性：この用語は、生物学的特性または生化学的特性試験により判断される場合に、重要でない様式で参照配列と異なる配列を指すのに使用されるが、配列は実質的に類似していない場合がある。例えば、2つの核酸は、同じ配列用のハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得るが、異なるアミノ酸配列をコードする。交差反応性CTL応答を誘導する2つのペプチドは、それらが非保存的アミノ酸置換だけ異なる（したが

50

つて、実質的類似性の定義を満たさない)場合でも、機能的に類似している。同じエピトープを認識する抗体対、またはT C Rは、どんな構造的差異が存在しようとも、互いに機能的に類似し得る。免疫原性の機能的類似性に関して試験する際に、一般に「変性(altered)」抗原で免疫して、誘発される応答(A b、C T L、サイトカイン産生等)の標的抗原を認識する能力を試験する。したがって、2つの配列は、同じ機能を保持しながら、ある特定の点で異なるように設計され得る。このように設計された配列変異体は、本発明の実施形態中にある。

【 0 0 7 2 】

【表1A-1】

表1A 配列番号 *実施例1～7, 13のエピトープを含む

配列番号	性質	配列
1	チロシン 207-216	FLPWHRLFLL
2	チロシナーゼタンパク質	アクセッション番号**: P14679
3	SSX-2 タンパク質	アクセッション番号: NP_003138
4	PSMA タンパク質	アクセッション番号: NP_004467
5	チロシナーゼ cDNA	アクセッション番号: NM_000372
6	SSX-2 cDNA	アクセッション番号: NM_003147
7	PSMA cDNA	アクセッション番号: NM_004476
8	チロシン 207-215	FLPWHRLFL
9	チロシン 208-216	LPWHRLFLL
10	SSX-2 31-68	YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYEAMTKLGFK ATLP
11	SSX-2 32-40	FSKEEWEKM
12	SSX-2 39-47	KMKASEKIF
13	SSX-2 40-48	MKASEKIFY
14	SSX-2 39-48	KMKASEKIFY
15	SSX-2 41-49	KASEKIFYV
16	SSX-2 40-49	MKASEKIFYV
17	SSX-2 41-50	KASEKIFYVY
18	SSX-2 42-49	ASEKIFYVY
19	SSX-2 53-61	RKYEAMTKL
20	SSX-2 52-61	KRKYEAMTKL
21	SSX-2 54-63	KYEAMTKLGF
22	SSX-2 55-63	YEAMTKLGF
23	SSX-2 56-63	EAMTKLGF
24	HBV18-27	FLPSDYFPSV
25	HLA-B44 バインダー	AEMGKYSFY
26	SSX-1 41-49	KYSEKISYV
27	SSX-3 41-49	KVSEKIVYV
28	SSX-4 41-49	KSSEKIVYV
29	SSX-5 41-49	KASEKIIYV

10

20

30

40

【表 1 A - 2】

30	PSMA163-192	AFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDM
31	PSMA 168-190	GMPEGDLVYVNYARTEDFFKLER
32	PSMA 169-177	MPEGDLVYV
33	PSMA 168-177	GMPEGDLVYV
34	PSMA 168-176	GMPEGDLVY
35	PSMA 167-176	QGMPEGDLVY
36	PSMA 169-176	MPEGDLVY
37	PSMA 171-179	EGDLVYVNY
38	PSMA 170-179	PEGDLVYVNY
39	PSMA 174-183	LVYVNYARTE
40	PSMA 177-185	VNYARTEDF
41	PSMA 176-185	YVNYARTEDF
42	PSMA 178-186	NYARTEDFF
43	PSMA 179-186	YARTEDFF
44	PSMA 181-189	RTEDFFKLE
45	PSMA 281-310	RGIAEAVGLPSIPVHPIGYYYDAQKLLEKMG
46	PSMA 283-307	IAEAVGLPSIPVHPIGYYYDAQKLLE
47	PSMA 289-297	LPSIPVHPI
48	PSMA 288-297	GLPSIPVHPI
49	PSMA 297-305	IGYYDAQKL
50	PSMA 296-305	PIGYYDAQKL
51	PSMA 291-299	SIPVHPIGY
52	PSMA 290-299	PSIPVHPIGY
53	PSMA 292-299	IPVHPIGY
54	PSMA 299-307	YYDAQKLLE
55	PSMA454-481	SSIEGNYTLRVDCTPLMYSVHLTKE
56	PSMA 456-464	IEGNYTLRV
57	PSMA 455-464	SIEGNYTLRV
58	PSMA 457-464	EGNYTLRV
59	PSMA 461-469	TLRVDCTPL
60	PSMA 460-469	YTLRVDCTPL
61	PSMA 462-470	LRVDCTPLM
62	PSMA 463-471	RVDCTPLM
63	PSMA 462-471	LRVDCTPLM
64	PSMA653-687	FDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAIDPLGLPDRPFY

10

20

30

40

【表 1 A - 3】

65	PSMA 660-681	VLRMMNDQLMFLERAFLIDPLGL
66	PSMA 663-671	MMNDQLMFL
67	PSMA 662-671	RMMNDQLMFL
68	PSMA 662-670	RMMNDQLMF
69	チロシン 1-17	MLLAVLYCLLWSFQTSA

【0 0 7 3】

【表1B-1】

表1B 配列番号* 実施例14及び15のエピトープを含む

配列番号	性質	配列
70	GP100 タンパク質	**アクセッショングループ番号: P40967
71	MAGE-1 タンパク質	アクセッショングループ番号: P43355
72	MAGE-2 タンパク質	アクセッショングループ番号: P43356
73	MAGE-3 タンパク質	アクセッショングループ番号: P43357
74	NY-ESO-1 タンパク質	アクセッショングループ番号: P78358
75	LAGE-1a タンパク質	アクセッショングループ番号: CAA11116
76	LAGE-1b タンパク質	アクセッショングループ番号: CAA11117
77	PRAME タンパク質	アクセッショングループ番号: NP_006106
78	PSA タンパク質	アクセッショングループ番号: P07288
79	PSCA タンパク質	アクセッショングループ番号: O43653
80	GP100 cds	アクセッショングループ番号: U20093
81	MAGE-1 cds	アクセッショングループ番号: M77481
82	MAGE-2 cds	アクセッショングループ番号: L18920
83	MAGE-3 cds	アクセッショングループ番号: U03735
84	NY-ESO-1 cDNA	アクセッショングループ番号: U87459
85	PRAME cDNA	アクセッショングループ番号: NM_006115
86	PSA cDNA	アクセッショングループ番号: NM_001648
87	PSCA cDNA	アクセッショングループ番号: AF043498
88	GP100 630-638	LPHSSSHWL
89	GP100 629-638	QLPHSSSHWL
90	GP100 614-622	LIYRRRLMK
91	GP100 613-622	SLIYRRRLMK
92	GP100 615-622	IYRRRLMK
93	GP100 630-638	LPHSSSHWL
94	GP100 629-638	QLPHSSSHWL
95	MAGE-1 95-102	ESLFRAVI
96	MAGE-1 93-102	IILESLFRAVI
97	MAGE-1 93-101	IILESLFRAV
98	MAGE-1 92-101	CILESLFRAV
99	MAGE-1 92-100	CILESLFRA

10

20

30

40

【表 1 B - 2】

100	MAGE-1 263-271	EFLWGPRAL
101	MAGE-1 264-271	FLWGPRAL
102	MAGE-1 264-273	FLWGPRALAE
103	MAGE-1 265-274	LWGPRALAET
104	MAGE-1 268-276	PRALAETSY
105	MAGE-1 267-276	GPRALAETSY
106	MAGE-1 269-277	RALAETSYV
107	MAGE-1 271-279	LAETSYVKV
108	MAGE-1 270-279	ALAETSYVKV
109	MAGE-1 272-280	AETSYVKVL
110	MAGE-1 271-280	LAETSYVKVL
111	MAGE-1 274-282	TSYVKVLEY
112	MAGE-1 273-282	ETSYVKVLEY
113	MAGE-1 278-286	KVLEYVIKV
114	MAGE-1 168-177	SYVLVTCLGL
115	MAGE-1 169-177	YVLVTCLGL
116	MAGE-1 170-177	VLVTCLGL
117	MAGE-1 240-248	TQDLVQEKY
118	MAGE-1 239-248	LTQDLVQEKY
119	MAGE-1 232-240	YGEPRKLLT
120	MAGE-1 243-251	LVQEKEYLEY
121	MAGE-1 242-251	DLVQEKEYLEY
122	MAGE-1 230-238	SAYGEPRKL
123	MAGE-1 278-286	KVLEYVIKV
124	MAGE-1 277-286	VKVLEYVIKV
125	MAGE-1 276-284	YVKVLEYVI
126	MAGE-1 274-282	TSYVKVLEY
127	MAGE-1 273-282	ETSYVKVLEY
128	MAGE-1 283-291	VIKVSARVR
129	MAGE-1 282-291	YVIKVSARVR
130	MAGE-2 115-122	ELVFHLLL
131	MAGE-2 113-122	MVELVFHLLL
132	MAGE-2 109-116	ISRKMV
133	MAGE-2 108-116	AISRKMV
134	MAGE-2 107-116	AAISRKMV

10

20

30

40

【表 1 B - 3】

135	MAGE-2 112-120	KMVELVHFL
136	MAGE-2 109-117	ISRKMVELV
137	MAGE-2 108-117	AISRKMVELV
138	MAGE-2 116-124	LVHFLLLKY
139	MAGE-2 115-124	ELVHFLLLKY
140	MAGE-2 111-119	RKMVELVHF
141	MAGE-2 158-166	LQLVFGIEV
142	MAGE-2 157-166	YLQLVFGIEV
143	MAGE-2 159-167	QLVFGIEVV
144	MAGE-2 158-167	LQLVFGIEVV
145	MAGE-2 164-172	IEVVEVVPI
146	MAGE-2 163-172	GIEVVEVVPI
147	MAGE-2 162-170	FGIEVVEVV
148	MAGE-2 154-162	ASEYLQLVF
149	MAGE-2 153-162	KASEYLQLVF
150	MAGE-2 218-225	EEKIWEEL
151	MAGE-2 216-225	APEEKIWEEL
152	MAGE-2 216-223	APEEKIWE
153	MAGE-2 220-228	KIWEELSML
154	MAGE-2 219-228	EKIWEELSML
155	MAGE-2 271-278	FLWGPRAL
156	MAGE-2 271-279	FLWGPRALI
157	MAGE-2 278-286	LIETSYVKV
158	MAGE-2 277-286	ALIETSYVKV
159	MAGE-2 276-284	RALIETSYV
160	MAGE-2 279-287	IETSYVKVL
161	MAGE-2 278-287	LIETSYVKVL
162	MAGE-3 271-278	FLWGPRAL
163	MAGE-3 270-278	EFLWGPRAL
164	MAGE-3 271-279	FLWGPRALV
165	MAGE-3 276-284	RALVETSYV
166	MAGE-3 272-280	LWGPRALVE
167	MAGE-3 271-280	FLWGPRALVE
168	MAGE-3 27 2-281	LWGPRALVET
169	NY-ESO-1 82-90	GPESRLLEF

10

20

30

40

【表 1 B - 4】

170	NY-ESO-1 83-91	PESRLLEFY
171	NY-ESO-1 82-91	GPESRLLEFY
172	NY-ESO-1 84-92	ESRLLEFYL
173	NY-ESO-1 86-94	RLLEFYLAM
174	NY-ESO-1 88-96	LEFYLAMPF
175	NY-ESO-1 87-96	LLEFYLAMPF
176	NY-ESO-1 93-102	AMPFATPMEA
177	NY-ESO-1 94-102	MPFATPMEA
178	NY-ESO-1 115-123	PLPVPGVLL
179	NY-ESO-1 114-123	PPLPVPGVLL
180	NY-ESO-1 116-123	LPVPGVLL
181	NY-ESO-1 103-112	ELARRSLAQD
182	NY-ESO-1 118-126	VPGVLLKEF
183	NY-ESO-1 117-126	PVPGVLLKEF
184	NY-ESO-1 116-123	LPVPGVLL
185	NY-ESO-1 127-135	TVSGNILTI
186	NY-ESO-1 126-135	FTVSGNILTI
187	NY-ESO-1 120-128	GVLLKEFTV
188	NY-ESO-1 121-130	VLLKEFTVSG
189	NY-ESO-1 122-130	LLKEFTVSG
190	NY-ESO-1 118-126	VPGVLLKEF
191	NY-ESO-1 117-126	PVPGVLLKEF
192	NY-ESO-1 139-147	AADHRQLQL
193	NY-ESO-1 148-156	SISSCLQQL
194	NY-ESO-1 147-156	LSISSCLQQL
195	NY-ESO-1 138-147	TAADHRQLQL
196	NY-ESO-1 161-169	WITQCFLPV
197	NY-ESO-1 157-165	SLLMWITQC
198	NY-ESO-1 150-158	SSCLQQQLSL
199	NY-ESO-1 154-162	QQLSLLMWI
200	NY-ESO-1 151-159	SCLQQQLSLL
201	NY-ESO-1 150-159	SSCLQQQLSLL
202	NY-ESO-1 163-171	TQCFLPVFL
203	NY-ESO-1 162-171	ITQCFLPVFL
204	PRAME 219-227	PMQDIKMIL

10

20

30

40

【表 1 B - 5】

205	PRAME 218-227	MPMQDIKMIL
206	PRAME 428-436	QHLIGLSNL
207	PRAME 427-436	LQHLIGLSNL
208	PRAME 429-436	HLIGLSNL
209	PRAME 431-439	IGLSNLTHV
210	PRAME 430-439	LIGLSNLTHV
211	PSA 53-61	VLVHPQWVL
212	PSA 52-61	GVLVHPQWVL
213	PSA 52-60	GVLVHPQWV
214	PSA 59-67	WVLTAACI
215	PSA 54-63	LVHPQWVLTA
216	PSA 53-62	VLVHPQWVLT
217	PSA 54-62	LVHPQWVLT
218	PSA 66-73	CIRNKS VI
219	PSA 65-73	HCIRNKS VI
220	PSA 56-64	HPQWVL TAA
221	PSA 63-72	AAHCIRNKS V
222	PSCA 116-123	LLWGP GQL
223	PSCA 115-123	LLLWGP GQL
224	PSCA 114-123	GLLWGP GQL
225	PSCA 99-107	ALQPAAAIL
226	PSCA 98-107	HALQPAAAIL
227	チロシン 128-137	APEKDKFFAY
228	チロシン 129-137	PEKDKFFAY
229	チロシン 130-138	EKDKFFAYL
230	チロシン 131-138	KDKFFAYL
231	チロシン 205-213	PAFLPWHRL
232	チロシン 204-213	APAFLPWHRL
233	チロシン 214-223	FLLRWEQEIQ
234	チロシン 212-220	RLFLLRWEQ
235	チロシン 191-200	GSEIWRDIDF
236	チロシン 192-200	SEIWRDIDF
237	チロシン 473-481	RIWSWLLGA
238	チロシン 476-484	SWLLGAAMV
239	チロシン 477-486	WLLGAAMVGA

10

20

30

40

【表1B-6】

240	チロシン 478-486	LLGAAMVGA
241	PSMA 4-12	LLHETDSAV
242	PSMA 13-21	ATARRPRWL
243	PSMA 53-61	TPKHNMKAF
244	PSMA 64-73	ELKAENIKKF
245	PSMA 69-77	NIKKFLH ¹ NF
246	PSMA 68-77	ENIKKFLH ¹ NF
247	PSMA 220-228	AGAKGVILY
248	PSMA 468-477	PLMYSLVHNL
249	PSMA 469-477	LMYSLVHNL
250	PSMA 463-471	RVDCTPLMY
251	PSMA 465-473	DCTPLMYSL
252	PSMA 507-515	SGMPRISKL
253	PSMA 506-515	FSGMPRISKL
254	NY-ESO-1 136-163	RLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWIT
255	NY-ESO-1 150-177	SSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSG

¹このHは、SWISSPROTデータベースではYとして報告されていた。

²274位のアミノ酸は、データベースに依存してProまたはLeuであり得る。本明細書中で提示される特定の解析はProを使用した。

10

20

【0074】

【表1C-1】

表1C

配列番号* 実施例14のエピトープを含む

配列番号	性質	配列
256	Mage-1 125-132	KAEMLESV
257	Mage-1 124-132	TKAEMLESV
258	Mage-1 123-132	VTKAEMLESV
259	Mage-1 128-136	MLESVIKNY
260	Mage-1 127-136	EMLESVIKNY
261	Mage-1 125-133	KAEMLESVI
262	Mage-1 146-153	KASESQL
263	Mage-1 145-153	GKASESQL
264	Mage-1 147-155	ASESQLVLF
265	Mage-1 153-161	LVFGIDVKE
266	Mage-1 114-121	LLKYRARE
267	Mage-1 106-113	VADLVGFL
268	Mage-1 105-113	KVADLVGFL
269	Mage-1 107-115	ADLVGFLLL
270	Mage-1 106-115	VADLVGFLLL
271	Mage-1 114-123	LLKYRAREPV
272	Mage-3 278-286	LVETSYVKV
273	Mage-3 277-286	ALVETSYVKV
274	Mage-3 285-293	KVLHHMVKI
275	Mage-3 283-291	YVKVLHHMV
276	Mage-3 275-283	PRALVETSY
277	Mage-3 274-283	GPRALVETSY
278	Mage-3 278-287	LVETSYVKVL
279	ED-B 4'-5	TIIPEVPQL
280	ED-B 5'-5	DTIYPEVPQL
281	ED-B 1-10	EVPQLTDLSF
282	ED-B 23-30	TPLNSSTI
283	ED-B 18-25	IGLRWTPL
284	ED-B 17-25	SIGLRWTPL
285	ED-B 25-33	LNSSTIIGY
286	ED-B 24-33	PLNSSTIIGY
287	ED-B 23-31	TPLNSSTII

10

20

30

40

【表 1 C - 2】

288	ED-B 31-38	IGYRITVV
289	ED-B 30-38	IIGYRITVV
290	ED-B 29-38	TIIGYRITVV
291	ED-B 31-39	IGYRITVVA
292	ED-B 30-39	IIGYRITVVA
293	CEA 184-191	SLPVSPRL
294	CEA 183-191	QSLPVSPRL
295	CEA 186-193	PVSPRLQL
296	CEA 185-193	LPVSPRLQL
297	CEA 184-193	SLPVSPRLQL
298	CEA 185-192	LPVSPRLQ
299	CEA 192-200	QLSNGNRTL
300	CEA 191-200	LQLSNGNRTL
301	CEA 179-187	WVNNQSLPV
302	CEA 186-194	PVSPRLQLS
303	CEA 362-369	SLPVSPRL
304	CEA 361-369	QSLPVSPRL
305	CEA 364-371	PVSPRLQL
306	CEA 363-371	LPVSPRLQL
307	CEA 362-371	SLPVSPRLQL
308	CEA 363-370	LPVSPRLQ
309	CEA 370-378	QLSNDNRTL
310	CEA 369-378	LQLSNDNRTL
311	CEA 357-365	WVNNQSLPV
312	CEA 360-368	NQSLPVSPR
313	CEA 540-547	SLPVSPRL
314	CEA 539-547	QSLPVSPRL
315	CEA 542-549	PVSPRLQL
316	CEA 541-549	LPVSPRLQL
317	CEA 540-549	SLPVSPRLQL
318	CEA 541-548	LPVSPRLQ
319	CEA 548-556	QLSNGNRTL
320	CEA 547-556	LQLSNGNRTL
321	CEA 535-543	WVNGQSLPV
322	CEA 533-541	LWWVNGSQL

10

20

30

40

【表 1 C - 3】

323	CEA 532-541	YLWWVNGQSL
324	CEA 538-546	GQSLPVSPR
325	Her-2 30-37	DMKLRLPA
326	Her-2 28-37	GTDMKLRLPA
327	Her-2 42-49	HLDMLRHHL
328	Her-2 41-49	THLDMLRHHL
329	Her-2 40-49	ETHLDMLRHHL
330	Her-2 36-43	PASPETHL
331	Her-2 35-43	LPASPETHL
332	Her-2 34-43	RLPASPETHL
333	Her-2 38-46	SPETHLDML
334	Her-2 37-46	ASPETHLDML
335	Her-2 42-50	HLDMLRHLY
336	Her-2 41-50	THLDMLRHLY
337	Her-2 719-726	ELRKVKVL
338	Her-2 718-726	TELRKVKVL
339	Her-2 717-726	ETELRKVKVL
340	Her-2 715-723	LKETELRKV
341	Her-2 714-723	ILKETELRKV
342	Her-2 712-720	MRILKETEL
343	Her-2 711-720	QMRILKETEL
344	Her-2 717-725	ETELRKVKV
345	Her-2 716-725	KETELRKVKV
346	Her-2 706-714	MPNQAQMRI
347	Her-2 705-714	AMPNQAQMRI
348	Her-2 706-715	MPNQAQMRL
349	HER-2 966-973	RPRFRELV
350	HER-2 965-973	CRPRFRELV
351	HER-2 968-976	RFRELVSEF
352	HER-2 967-976	PRFRELVSEF
353	HER-2 964-972	ECRPRFREL
354	NY-ESO-1 67-75	GAASGLNGC
355	NY-ESO-1 52-60	RASGPGGGA
356	NY-ESO-1 64-72	PHGGAASGL
357	NY-ESO-1 63-72	GPHGGAASGL

10

20

30

40

【表 1 C - 4】

358	NY-ESO-1 60-69	APRGPHGGAA
359	PRAME 112-119	VRPRRWKL
360	PRAME 111-119	EVRPRRWKL
361	PRAME 113-121	RPRRWKLQV
362	PRAME 114-122	PRRWKLQVL
363	PRAME 113-122	PRRWKLQVL
364	PRAME 116-124	RWKLQVLDL
365	PRAME 115-124	RRWKLQVLDL
366	PRAME 174-182	PVEVLVDLF
367	PRAME 199-206	VKRKKNVL
368	PRAME 198-206	KVKRKKNVL
369	PRAME 197-206	EKVKRKKNVL
370	PRAME 198-205	KVKRKKNV
371	PRAME 201-208	RKKNVRL
372	PRAME 200-208	KRKKNVRL
373	PRAME 199-208	VKRKKNVRL
374	PRAME 189-196	DELFSYLI
375	PRAME 205-213	VLRLCCKKL
376	PRAME 204-213	NVLRLCCKKL
377	PRAME 194-202	YLIEKVKRK
378	PRAME 74-81	QAWPFTCL
379	PRAME 73-81	VQAWPFTCL
380	PRAME 72-81	MVQAWPFTCL
381	PRAME 81-88	LPLGVLMK
382	PRAME 80-88	CLPLGVLMK
383	PRAME 79-88	TCLPLGVLMK
384	PRAME 84-92	GVLMKGQHL
385	PRAME 81-89	LPLGVLMKG
386	PRAME 80-89	CLPLGVLMKG
387	PRAME 76-85	WPFTCLPLGV
388	PRAME 51-59	ELFPPLFMA
389	PRAME 49-57	PRELFPPPLF
390	PRAME 48-57	LPRELFPPPLF
391	PRAME 50-58	RELFPPLFM
392	PRAME 49-58	PRELFPPPLFM

10

20

30

40

【表 1 C - 5】

393	PSA 239-246	RPSLYTKV
394	PSA 238-246	ERPSLYTKV
395	PSA 236-243	LPERPSLY
396	PSA 235-243	ALPERPSLY
397	PSA 241-249	SLYTKVVHY
398	PSA 240-249	PSLYTKVVHY
399	PSA 239-247	RPSLYTKVV
400	PSMA 211-218	GNKVKNAQ
401	PSMA 202-209	IARYGKVF
402	PSMA 217-225	AQLAGAKGV
403	PSMA 207-215	KVFRGNKVK
404	PSMA 211-219	GNKVKNAQL
405	PSMA 269-277	TPGYPANEY
406	PSMA 268-277	LTPGYPANEY
407	PSMA 271-279	GYPANEYAY
408	PSMA 270-279	PGYPANEYAY
409	PSMA 266-274	DPLTPGYPA
410	PSMA 492-500	SLYESWTKK
411	PSMA 491-500	KSLYESWTKK
412	PSMA 486-494	EGFEGKSLY
413	PSMA 485-494	DEGFEGKSLY
414	PSMA 498-506	TKKSPSPEF
415	PSMA 497-506	WTKKSPSPEF
416	PSMA 492-501	SLYESWTKKS
417	PSMA 725-732	WGEVKRQI
418	PSMA 724-732	AWGEVKRQI
419	PSMA 723-732	KAWGEVKRQI
420	PSMA 723-730	KAWGEVKR
421	PSMA 722-730	SKAWGEVKR
422	PSMA 731-739	QIYVAAFTV
423	PSMA 733-741	YVAAFTVQA
424	PSMA 725-733	WGEVKRQIY
425	PSMA 727-735	EVKRQIYVA
426	PSMA 738-746	TVQAAAETL
427	PSMA 737-746	FTVQAAAETL

10

20

30

40

【表 1 C - 6】

428	PSMA 729-737	KRQIYVAAF
429	PSMA 721-729	PSKAWGEVK
430	PSMA 723-731	KAWGEVKRQ
431	PSMA 100-108	WKEFGLDSV
432	PSMA 99-108	QWKEFGLDSV
433	PSMA 102-111	EFGLDSVELA
434	SCP-1 126-134	ELRQKESKL
435	SCP-1 125-134	AELRQKESKL
436	SCP-1 133-141	KLQENRKII
437	SCP-1 298-305	QLEEKTKL
438	SCP-1 297-305	NQLEEKTKL
439	SCP-1 288-296	LLEESRDKV
440	SCP-1 287-296	FLLEESRDKV
441	SCP-1 291-299	ESRDKVNL
442	SCP-1 290-299	EESRDKVNL
443	SCP-1 475-483	EKEVHDLEY
444	SCP-1 474-483	REKEVHDLEY
445	SCP-1 480-488	DLEYSYCHY
446	SCP-1 477-485	EVHDLEYSY
447	SCP-1 477-486	EVHDLEYSYC
448	SCP-1 502-509	KLSSKREL
449	SCP-1 508-515	ELKNTEYF
450	SCP-1 507-515	RELKNTEYF
451	SCP-1 496-503	KRGQRPKL
452	SCP-1 494-503	LPKRGQRPKL
453	SCP-1 509-517	LKNTEYFTL
454	SCP-1 508-517	ELKNTEYFTL
455	SCP-1 506-514	KRELKNTEY
456	SCP-1 502-510	KLSSKRELK
457	SCP-1 498-506	GQRPKLSSK
458	SCP-1 497-506	RGQRPKLSSK
459	SCP-1 500-508	RPKLSSKRE
460	SCP-1 573-580	LEYVREEL
461	SCP-1 572-580	ELEYVREEL
462	SCP-1 571-580	NELEYVREEL

10

20

30

40

【表 1 C - 7】

463	SCP-1 579-587	ELKQKREDEV
464	SCP-1 575-583	YVREELKQK
465	SCP-1 632-640	QLNVYEIKV
466	SCP-1 630-638	SKQLNVYEI
467	SCP-1 628-636	AESKQLNVY
468	SCP-1 627-636	TAESKQLNVY
469	SCP-1 638-645	IKVNKLEL
470	SCP-1 637-645	EIKVNKLEL
471	SCP-1 636-645	YEIKVNKLEL
472	SCP-1 642-650	KLELELESA
473	SCP-1 635-643	VYEIKVNKL
474	SCP-1 634-643	NVYEIKVNKL
475	SCP-1 646-654	ELESAKQKF
476	SCP-1 642-650	KLELELESA
477	SCP-1 646-654	ELESAKQKF
478	SCP-1 771-778	KEKLKREA
479	SCP-1 777-785	EAKENTATL
480	SCP-1 776-785	REAKENTATL
481	SCP-1 773-782	KLKREAKENT
482	SCP-1 112-119	EAEKIKKW
483	SCP-1 101-109	GLSRVYSKL
484	SCP-1 100-109	EGLSRVYSKL
485	SCP-1 108-116	KLYKEAEKI
486	SCP-1 98-106	NSEGGLSRVY
487	SCP-1 97-106	ENSEGLSRVY
488	SCP-1 102-110	LSRVYSKLY
489	SCP-1 101-110	GLSRVYSKLY
490	SCP-1 96-105	LENSEGLSRV
491	SCP-1 108-117	KLYKEAEKIK
492	SCP-1 949-956	REDRWAVI
493	SCP-1 948-956	MREDRWAVI
494	SCP-1 947-956	KMREDRWAVI
495	SCP-1 947-955	KMREDRWAV
496	SCP-1 934-942	TTPGSTLKF
497	SCP-1 933-942	LTTPGSTLKF

10

20

30

40

【表 1 C - 8】

498	SCP-1 937-945	GSTLKGAI
499	SCP-1 945-953	IRKMREDRW
500	SCP-1 236-243	RLEMHFKL
501	SCP-1 235-243	SRLEMHFKL
502	SCP-1 242-250	KLKEDYEKI
503	SCP-1 249-257	KIQHLEQEY
504	SCP-1 248-257	EKIQHLEQEY
505	SCP-1 233-242	ENSRLEMHF
506	SCP-1 236-245	RLEMHFKLKE
507	SCP-1 324-331	LEDIKVSL
508	SCP-1 323-331	ELEDIKVSL
509	SCP-1 322-331	KELEDIKVSL
510	SCP-1 320-327	LTKELEDI
511	SCP-1 319-327	HLTKELEDI
512	SCP-1 330-338	SLQRSVSTQ
513	SCP-1 321-329	TKELEDIKV
514	SCP-1 320-329	LTKELEDIKV
515	SCP-1 326-335	DIKVSLQRSV
516	SCP-1 281-288	KMKDLTFL
517	SCP-1 280-288	NKMKDLTFL
518	SCP-1 279-288	ENKMKDLTFL
519	SCP-1 288-296	LLEESRDKV
520	SCP-1 287-296	FLLEESRDKV
521	SCP-1 291-299	ESRDKVNQL
522	SCP-1 290-299	EESRDKVNQL
523	SCP-1 277-285	EKENMKDL
524	SCP-1 276-285	TEKENMKDL
525	SCP-1 279-287	ENKMKDLTF
526	SCP-1 218-225	IEKMITAF
527	SCP-1 217-225	NIEKMITAF
528	SCP-1 216-225	SNIEKMITAF
529	SCP-1 223-230	TAFEELRV
530	SCP-1 222-230	ITAFEELRV
531	SCP-1 221-230	MITAFEELRV
532	SCP-1 220-228	KMITAFEEL

10

20

30

40

【表 1 C - 9】

533	SCP-1 219-228	EKMITAFEEL
534	SCP-1 227-235	ELRVQAENS
535	SCP-1 213-222	DLNSNIEKMI
536	SCP-1 837-844	WTSAKNTL
537	SCP-1 846-854	TPLPKAYTV
538	SCP-1 845-854	STPLPKAYTV
539	SCP-1 844-852	LSTPLPKAY
540	SCP-1 843-852	TLSTPLPKAY
541	SCP-1 842-850	NTLSTPLPK
542	SCP-1 841-850	KNTLSTPLPK
543	SCP-1 828-835	ISKDKRDY
544	SCP-1 826-835	HGISKDKRDY
545	SCP-1 832-840	KRDYLWTSA
546	SCP-1 829-838	SKDKRDYLWT
547	SCP-1 279-286	ENKMKDLT
548	SCP-1 260-268	EINDKEKQV
549	SCP-1 274-282	QITEKENKM
550	SCP-1 269-277	SLLLIQITE
551	SCP-1 453-460	FEKIAEEL
552	SCP-1 452-460	QFEKIAEEL
553	SCP-1 451-460	KQFEKIAEEL
554	SCP-1 449-456	DNKQFEKI
555	SCP-1 448-456	YDNKQFEKI
556	SCP-1 447-456	LYDNKQFEKI
557	SCP-1 440-447	LGEKETLL
558	SCP-1 439-447	VLGEKETLL
559	SCP-1 438-447	KVLGEKETLL
560	SCP-1 390-398	LLRTEQQRL
561	SCP-1 389-398	ELLRTEQQRL
562	SCP-1 393-401	TEQQRLENY
563	SCP-1 392-401	RTEQQRLENY
564	SCP-1 402-410	EDQLIILTM
565	SCP-1 397-406	RLENYEDQLI
566	SCP-1 368-375	KARAAHSF
567	SCP-1 376-384	VVTEFETTV

10

20

30

40

【表 1 C - 10】

568	SCP-1 375-384	FVVTEFETTV	
569	SCP-1 377-385	VTEFETTVVC	
570	SCP-1 376-385	VVTEFETTVVC	
571	SCP-1 344-352	DLQIATNTI	10
572	SCP-1 347-355	IATNTICQL	
573	SCP-1 346-355	QIATNTICQL	
574	SSX4 57-65	VMTKLGFKY	
575	SSX4 53-61	LNYEVMTKL	
576	SSX4 52-61	KLNYEVMTKL	
577	SSX4 66-74	TLPPFMRSK	
578	SSX4 110-118	KIMPKKPAE	
579	SSX4 103-112	SLQRIFPKIM	
580	チロシン 463-471	YIKSYLEQA	
581	チロシン 459-467	SFQDYIKSY	
582	チロシン 458-467	DSFQDYIKSY	20
583	チロシン 507-514	LPEEKQPL	
584	チロシン 506-514	QLPEEKQPL	
585	チロシン 505-514	KQLPEEKQPL	
586	チロシン 507-515	LPEEKQPLL	
587	チロシン 506-515	QLPEEKQPLL	
588	チロシン 497-505	SLLCRHKRK	
589	フィブロネクチン の ED-B ドメイン	EVPQLTDLSFVDITDSSIGLRWTPLNSSTIIGYRI TVVAAGEGIPIFEDFVDSSVGYYTGTGLEPGID YDISVITLINGGESAPTTLTQQT	30
590	フィブロネクチン 由来のランキン グ配列を有するフ ィブロネクチンの ED-B ドメイン	CTFDNLSPGLEYNVSVYTVKDDKESVPISDTIIP EVPQLTDLSFVDITDSSIGLRWTPLNSSTIIGYRI TVVAAGEGIPIFEDFVDSSVGYYTGTGLEPGID YDISVITLINGGESAPTTLTQQT AVPPPTDLRFTNIGPDTMRVTW	
591	フィブロネクチン の ED-B ドメイン	アクセッション番号: X07717	40
592	CEA タンパク質	アクセッション番号: P06731	
593	CEA cDNA	アクセッション番号: NM_004363	
594	Her2/Neu タンパ ク質	アクセッション番号: P04626	

【表1C-11】

595	Her2/Neu cDNA	アクセッション番号: M11730
596	SCP-1 タンパク質	アクセッション番号: Q15431
597	SCP-1 cDNA	アクセッション番号: X95654
598	SSX-4 タンパク質	アクセッション番号: O60224
599	SSX-4 cDNA	アクセッション番号: NM_005636

*配列番号1、8、9、11～23、26～29、32～44、47～54、56～6

3、66～68、88～253、および256～588のいずれかは、本発明の様々な実施形態のいずれかにおいてエピトープとして有用であり得る。配列番号10、30、31、45、46、55、64、65、69、254、および255のいずれかは、本発明の様々な実施形態に記載されるように、エピトープまたはエピトープクラスターを含有する配列として有用であり得る。

10

**ここでおよび全体にわたって使用するアクセッション番号はすべて、NCBIデータベースを通じて、例えばワールドワイドウェブ上のthe Entrez seek and retrievalシステムを通じてアクセスすることができる。

20

【0075】

以下の論考は本発明の操作の本発明者等の理解について記載していることに留意されたい。しかしながら、この論考が、本特許を特許請求の範囲に記載しない操作の任意の特定の理論に限定することを意図しない。

【0076】

エピトープワクチンの開発を遂行する際に、他者等がMHC結合モチーフに基づいた予測エピトープのリストを作成した。かかるペプチドは免疫原性であり得るが、任意の天然で產生される抗原性断片に相当しない場合がある。したがって、全抗原が類似の応答を誘発しないか、またはCTLによる細胞溶解に対して標的細胞を敏感にしない。したがって、かかるリストは、ワクチンとして有用であり得る配列と、有用であり得ない配列とを識別しない。これらの予測エピトープのいずれが実際に天然で产生されるかを決定するための努力は、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)とそれらの反応性をスクリーニングすることに依存する場合が多い。しかしながら、TILは強力に免疫性エピトープを認識する傾向にあるのに対して、腫瘍(および慢性感染細胞)は一般にハウスキーピングエピトープを提示する。したがって、エピトープはハウスキーピングプロテアソームおよび免疫プロテアソームの両方により产生される場合を除いて、標的細胞は概して、TIL同定エピトープにより誘発されるCTLに認識されない。対照的に、本発明のエピトープは、特定のプロテアソームの作用により生成され、それらが天然で产生され得ることを示し、それらの適切な使用を可能にする。ワクチン設計に対するハウスキーピングエピトープと免疫性エピトープとの間の区別の重要性は、PCT国際公開第01/82963A2号により詳細に記載されている。

30

【0077】

本発明のエピトープは、ハウスキーピングまたは免疫プロテアソームによるプロテアソーム切断の前駆体または生成物であり、MHC-Iの少なくとも1つの対立遺伝子に関して既知または予測親和性を有する配列を含有するか、またはそれから構成されるTAAのポリペプチド断片を包含するか、またはそれらをコードする。幾つかの実施形態では、エピトープは、約6～25アミノ酸長、好ましくは約7～20アミノ酸長、より好ましくは約8～15アミノ酸長、さらに好ましくは9または10アミノ酸長のポリペプチドを包含するか、またはそれをコードする。しかしながら、ポリペプチドは、N末端トリミングがMHCエピトープを产生することができる限りより長くてもよく、またポリペプチドは、ポリペプチドをプロテアソームから離れて誘導させるか、もしくはプロテアソームに破壊

40

50

させる配列を含有しないことが理解されよう。免疫性エピトープに関して、より大きなペプチドがかかる配列を含有しない場合、それらは免疫性プロテアソームにより p A P C においてプロセシングされ得る。ハウスキーピングエピトープはまた、配列が免疫プロテアソームの作用によりエピトープの C 末端の遊離を促進するように適応される場合には、より長い配列に包埋され得る。先述の論考は、より長いエピトープのプロセシングが p A P C の免疫プロテアソームの作用により進行すると仮定している。しかしながら、プロセシングはまた、プロテアーゼの作用が M H C エピトープを遊離するように適応させた外因性プロテアーゼ活性および配列を提供するなど、幾つかの他のメカニズムの工夫により達成することができる。物理学的、生化学的、免疫学的、または分子遺伝学的特性（例えば、質量、等電点、電気泳動における予測移動度、他の M H C 分子に対する予測結合、核酸プローブの融点、逆翻訳、他の配列に対する類似性または相同性等）を算出するために、これらのエピトープ配列はコンピュータ解析に付すことができる。

10

【 0 0 7 8 】

本発明のポリペプチドエピトープをコードするポリヌクレオチドを構築する際、関連 T A A の遺伝子配列を使用することができるか、またはポリヌクレオチドを、相当するコドンのいずれかから構築することができる。10 アミノ酸エピトープに関して、これは、特定のアミノ酸組成に応じて、およそ 10^6 個オーダーの異なる配列を構成することができる。大きい一方で、これは、この長さを有する 10^{18} 個を超える考え得るポリヌクレオチドの非常に少ない割合を示す別個でのかつ容易に限定可能な組であり、したがって幾つかの実施形態では、本明細書中に開示する特定の配列の等価物は、列挙した配列上にかかる別個のかつ容易に限定可能な変動を包含する。ワクチンにおいて使用するためにこれらの配列のうちの特定の 1 つを選択する場合、コドン使用、自己相補性、制限部位、化学的安定性等のような考慮すべき事柄を、当業者に明らかなように使用することができる。

20

【 0 0 7 9 】

本発明は、ペプチドエピトープを產生することを意図する。具体的には、これらのエピトープは、T A A の配列に由来し、M H C I の少なくとも 1 つの対立遺伝子に対して既知または予測親和性を有する。かかるエピトープは通常、標的細胞または p A P C 上で產生されるエピトープと同一である。

30

【 0 0 8 0 】

活性エピトープを含有する組成物

本発明の実施形態は、ワクチン、治療薬、診断薬、薬理学的組成物および薬学的組成物を含むポリペプチド組成物を提供する。様々な組成物は、T A A の新たに同定されたエピトープ、ならびにこれらのエピトープの変異体を含む。本発明の他の実施形態は、本発明のポリペプチドエピトープをコードするポリヌクレオチドを提供する。本発明はさらに、精製のためのポリペプチドエピトープの発現用ベクターを提供する。さらに、本発明は、抗腫瘍ワクチンとして使用するための A P C におけるポリペプチドエピトープの発現用のベクターを提供する。表 1 のエピトープまたは抗原のいずれか、あるいはそれらをコードする核酸を使用することができる。他の実施形態は、様々な組成物の作製方法および使用方法に関する。

40

【 0 0 8 1 】

クラス I M H C 結合エピトープに関する一般的構造を記載することができ、Madden, D.R. Annu. Rev. Immunol. 13:587-622, 1995 により詳細に概説されている。結合エネルギーの多くは、M H C 分子中の保存残基とペプチドの N 末端および C 末端との間の主鎖接觸から生じる。さらなる主鎖接觸がなされるが、M H C 対立遺伝子間で変化する。配列特異性は、ポケットとのいわゆるアンカー残基の側鎖接觸により付与され、それもまた M H C 対立遺伝子間で変化する。アンカー残基は、一次と二次とに分けることができる。一次アンカー位置は、アミノ酸残基の比較的明確な組に関して強力な優先を示す。二次位置は、より好まれる残基というよりはあまり好まれない残基という観点で良好に記載され得ることが多い、より弱いおよび / またはあまり明確でない優勢を示す。さらに、幾つかの二次アンカー位置の残基は、必ずしも M H C 分子上のポケットと接觸する位置にあるとは限

50

らない。したがって、特定のMHC分子に結合し、問題となっている位置での側鎖-ポケット接触を有するペプチドのサブセットが存在し、ペプチドがMHC分子のペプチド結合溝中で取るコンホメーションに依存しない同じMHC分子への結合を示す別のサブセットが存在する。C末端残基(P-)は好ましくは一次アンカー残基である。よりよく研究されたHLA分子(例えば、A2、A68、B27、B7、B35、およびB53)の多くに関して、第2の位置(P2)もまたアンカー残基である。しかしながら、HLA-B8中のP3およびP5、ならびにそれぞれマウスMHC分子H-2D^bおよびH-2K^b中のP5およびP(-)-3を含む中心アンカー残基もまた観察されている。より安定な結合は一般的に免疫原性を改善するため、アンカー残基は好ましくは、それらの位置に関わらず、変異体の設計において保存または最適化される。

10

【0082】

アンカー残基は概してエピトープの末端付近に位置されるため、ペプチドはペプチド結合溝から上方にねじれて、長さを幾らか変化させることができる。8~11個のアミノ酸の範囲のエピトープがHLA-A68に関して見出され、最大13個のアミノ酸のエピトープがHLA-A2に関して見出された。アンカー位置間の長さ変動のほかに、単一残基切断および伸長が、それぞれN末端およびC末端で報告されている。非アンカー残基のうち幾つかが溝から際立ち、MHC分子との接触を起こさないが、HLA-A2に関するTCR、非常に多くの場合P1、P4およびP(-)-1と接触させるのに利用可能である。非アンカー残基のうち他のものは、ペプチド結合溝の上部縁とTCRとの間に介在するようになり、両方と接触することができる。これらの側鎖残基の正確な位置付け、したがって結合、MHCの繊細なコンホメーション、および最終的には免疫原性に対する影響は非常に配列依存性である。エピトープが高度に免疫原性であるために、活性化が起こるのに十分に安定なTCR結合を促進しなくてはならないだけでなく、TCRはまた、多量体TCR分子が同じペプチド-MHC複合体と順次接触することができるので十分高いオフレート(off-rate)を有さなくてはならない(Kalergis, A.M. et al., *Nature Immunol.* 2: 229-234, 2001)。したがって、変異体を設計する際に、三元複合体に関するさらなる情報なしで、これらの位置での保存的置換および非保存的置換の両方が熟考に値する。

20

【0083】

ポリペプチドエピトープ変異体は、例えば保存的および非保存的突然変異に関する技法およびガイドラインのいずれかを用いて作製することができる。変異体は、自然配列と比較した場合に1つまたは複数のアミノ酸の置換、欠失または挿入に由来し得る。アミノ酸置換は、例えばスレオニンをセリンで置換するように、あるアミノ酸を類似の構造特性および/または化学特性を有する別のアミノ酸で置換することの結果であり得る。かかる置換は、保存的アミノ酸置換と称され、適切な保存的アミノ酸置換はすべて本発明の実施形態とみなされる。挿入または欠失は任意に、約1~4、好ましくは1~2個のアミノ酸範囲であり得る。問題となっているMHC分子への結合を招くペプチドの「アンカー位置」を維持することが一般に好ましい。実際に、ペプチドの免疫原性は、多くの場合、アンカー位置でより好ましい残基を置換することにより改善され得る(Franco, et al., *Nature Immunology*, 1(2):145-150, 2000)。ペプチドの免疫原性はまた、有用なワクチンを構成するための本来のエピトープとの十分な交差反応性を維持しながら、非アンカー位置に見出される小アミノ酸をより嵩高いアミノ酸で置換することにより改善され得ることが多い。可能とされる変動は、配列中にアミノ酸をルーチンに挿入、欠失または置換すること、および得られた変異体を、ポリペプチドエピトープにより示される活性に関して試験することにより決定され得る。ポリペプチドエピトープは9個のアミノ酸である場合が多いため、置換は好ましくは、最短の活性エピトープ、例えば9個のアミノ酸のエピトープになされる。

30

【0084】

変異体はまた、ポリペプチドエピトープ変異体のN末端上に任意の配列を付加することにより作製され得る。かかるN末端付加は、1個のアミノ酸から少なくとも25個のアミノ酸であり得る。ペプチドエピトープはpAPCにおいて活性なN末端エキソペプチダ-

40

50

ゼによりトリミングされることが多いため、付加された配列における変異体は、エピトープの活性に影響を与えないことが理解される。好ましい実施形態では、最終の上流プロテアソーム切断部位とMHCエピトープのN末端との間のアミノ酸残基はプロリン残基を含まない。Serwold, T. et al., *Nature Immunol.* 2:644-651, 2001。したがって、有効なエピトープは、好ましい9量体クラスIモチーフより大きな前駆体から生成され得る。

【0085】

一般に、ペプチドは、それらが標的細胞またはPAPCの表面上でMHC Iにより実際に提示されるエピトープに相当する範囲で有用である。単一ペプチドは種々のMHC分子に対し様々な親和性を有することができ、良好に結合するものもあれば、十分に結合するものもあり、感知できるほどには結合しないものもある(表2)。MHC対立遺伝子は伝統的に、同じタイプの異なる対立遺伝子が異なり得る、ペプチド結合溝の構造を反映しない血清学的反応性に従って類別することができる。同様に、結合特性は、タイプを超えて共有され得て、共有結合特性に基づいた群はスーパータイプと呼ばれている。ヒト集団にはMHC Iの無数の対立遺伝子が存在し、ある特定の対立遺伝子に特異的なエピトープは、患者の遺伝子型に基づいて選択され得る。

10

【0086】

【表2】

表2

様々なMHCタイプに対するチロシナーゼ_{207~216}(配列番号1)
の予測結合

20

MHC I タイプ	*解離の半減期 (min)
A1	0.05
A*0201	1311.
A*0205	50.4
A3	2.7
A*1101(A3 スーパータイプの一部)	0.012
A24	6.0
B7	4.0
B8	8.0
B14(B27 スーパータイプの一部)	60.0
B*2702	0.9
B*2705	30.0
B*3501(B7 スーパータイプの一部)	2.0
B*4403	0.1
B*5101(B7 スーパータイプの一部)	26.0
B*5102	55.0
B*5801	0.20
B60	0.40
B62	2.0

30

40

*HLAペプチド結合予測(ワールドワイドウェブ hypertext transfer protocol

「access at bimas. dcrt. nih. gov/molbio/hla_bin」)

【0087】

50

本発明のさらなる実施形態では、ペプチドまたはコードポリヌクレオチドとしてのエピトープは、例えばワクチンまたは免疫治療用組成物のような薬学的組成物として、単独で、または様々なアジュvant、キャリア、または賦形剤と組み合わせて投与され得る。ワクチンという用語は本明細書中の説明全体にわたって使用され得るが、その概念は本明細書中に記載するものを含む任意の他の薬学的組成物とともに適用および使用され得ることに留意されたい。特に好適なアジュvantとしては、様々なサイトカインおよび免疫刺激配列を含有するオリゴヌクレオチド（本明細書中で引用される同時係属中出願により詳細に記載されているような）が挙げられる。さらに、ポリヌクレオチドコードエピトープは、後にポリヌクレオチド用のベクターと使用されるウイルス（例えば、ワクシニアまたはアデノウイルス）、または微生物宿主細胞（例えば、サルモネラ属(*Salmonella*)またはリステリア菌(*Listeria monocytogenes*)）中に含ませることができる(Dietrich, G. et al. *Nat. Biotech.* 16:181-185, 1998)。あるいは、p A P Cは ex vivo で形質転換されて、エピトープを発現することができるかあるいはペプチドエピトープでパルス標識されて、それ自体ワクチンとして投与され得る。これらのプロセス効率を増大するために、コードされたエピトープは、ウイルスまたは細菌ベクターにより運搬され得るか、またはp A P C上に見出される受容体のリガンドと複合体形成され得る。同様に、ペプチドエピトープは、p A P Cリガンドと複合体形成され得るかまたはそれに結合され得る。ワクチンは、単一を越えるエピトープから構成することができる。

10

20

30

40

50

【0088】

エピトープおよび/またはエピトープクラスターをワクチンまたは薬学的組成物に組み込むための特に好適な戦略は、2000年4月28日に出願された「抗原提示細胞におけるエピトープ同調(EPITOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」という表題の米国特許出願第09/560,465号に開示されている。本発明に関連して使用するためのエピトープクラスターは、2000年4月28日に出願された「エピトープクラスター(EPITOPE CLUSTER)」という表題の米国特許出願第09/561,571号に開示されている。

【0089】

本発明の好ましい実施形態は、p A P Cまたはp A P C集団に、特定の標的細胞上に提示されるエピトープに相当するハウスキーピングエピトープを提示させるためのワクチンおよび方法に関する。例えば、表1のエピトープまたは抗原のいずれかを使用することができる。一実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、特定の腫瘍型のハウスキーピングプロテアソームによりプロセシングされるT u A Aエピトープである。別の実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、ウイルスに感染した細胞のハウスキーピングプロテアソームによりプロセシングされるウイルス関連エピトープである。これは、標的細胞に対する特異的T細胞応答を促進する。種々の誘導状態（攻撃前および攻撃後）に相当する複数のエピトープのp A P Cによる同時発現は、それらがハウスキーピングエピトープまたは免疫性エピトープのいずれかを示す場合に、標的細胞に対して有効なC T L応答を駆動することができる。

【0090】

p A P C上にハウスキーピングエピトープおよび免疫性エピトープの両方を提示することにより、この実施形態は、標的細胞に対する細胞傷害性T細胞応答を最適化することができる。二重のエピトープ発現を用いた場合、腫瘍細胞が例えば腫瘍浸潤C T Lにより產生され得るI F Nの誘導により、ハウスキーピングプロテアソームから免疫プロテアソームに切り換える場合に、p A P Cは免疫性エピトープに対するC T L応答を持続し続けることができる。

【0091】

好ましい実施形態では、患者の免疫は、ハウスキーピングエピトープを含むワクチンを用いて行われる。多くの好ましいT A Aは、特に感染細胞の場合に、標的細胞と独占的に関連される。別の実施形態では、多くの好ましいT A Aは、形質転換細胞において調節解除された(deregulated)遺伝子発現の結果であるが、精巣、卵巣および胎児の組織でも

見出される。別の実施形態では、有用な TAA は、他の細胞中よりも標的細胞中でより高いレベルで発現される。さらに他の実施形態では、TAA は他の細胞と比較して標的細胞上で差次的に発現されないが、TAA は細胞の特定の機能に関連し、ほとんどの他の末梢細胞と標的細胞を識別するため依然として有用である。かかる実施形態では、同様に TAA を示す健常な細胞は、誘導される T 細胞応答により副次的に攻撃され得るが、かかる副次的損傷は、標的細胞により引き起こされる状態に対してかなり好ましいとみなされる。

【0092】

ワクチンは、pAPC または pAPC 集団にハウスキーピングエピトープを提示させるのに有効な濃度でハウスキーピングエピトープを含有する。好適には、ワクチンは、任意に 1 つまたは複数の免疫性エピトープと組み合わせて、複数のハウスキーピングエピトープあるいは 1 つまたは複数のハウスキーピングエピトープを含むことができる。ワクチン配合物は、pAPC にエピトープを提示させるのに十分な濃度でペプチドおよび / または核酸を含有する。配合物は好ましくは、約 1 μg ~ 1 mg / (ワクチン調製物 100 μl) の総濃度でエピトープを含有する。ペプチドワクチンおよび / または核酸ワクチンに関する従来の投与量および投薬を本発明とともに使用することができ、かかる投薬レジメンは当該技術分野で十分に理解されている。一実施形態では、成人に関する一回の投与量はかかる組成物約 1 ~ 約 5000 μl であることが好適であり、一回または複数回で、例えば 1 週間、2 週間、1 ヶ月、またはそれ以上に分けた 2 回、3 回、4 回またはそれ以上の投与量で投与される。インスリンポンプは、結節内方法の特許を参照して、1 時間あたり 1 μl (最低頻度) を送達する。

10

20

30

40

【0093】

本明細書中に開示する本発明の組成物および方法はさらに、ワクチンの性能を増強するために、配合物にアジュvant を配合することを意図する。具体的には、配合物へのアジュvant の添加は、pAPC によるエピトープの送達および取り込みを増強するように設計される。本発明により意図されるアジュvant は、当業者に既知であり、例えば GMCSF、GCSF、IL-2、IL-12、BCG、破傷風トキソイド、オステオポンチン、および ETA-1 が挙げられる。

【0094】

本発明の幾つかの実施形態では、ワクチンは、遺伝的に宿主中でエピトープを発現するように操作されたウイルス、細菌または原生動物のような組換え生物を含むことができる。例えば、グラム陽性の条件的細胞内細菌であるリストリア菌は、免疫系に対して TuAA を標的とするための強力なベクターである。好ましい実施形態では、このベクターは、治療上の応答を誘導するために、ハウスキーピングエピトープを発現するように操作することができる。この生物の正常な感染経路は消化管を通るものであり、経口送達することができる。別の実施形態では、TuAA に関するハウスキーピングエピトープをコードするアデノウイルス (Ad) ベクターを使用して、抗ウイルスまたは抗腫瘍応答を誘発することができる。骨髄由来樹状細胞をウイルス構築物で形質転換した後注射する、あるいはウイルスを皮下注射により動物に直接送達して、強力な T 細胞応答を誘発することができる。別の実施形態は、TAA に関するハウスキーピングエピトープに相当するアミノ酸配列をコードするように操作した組換えワクシニアウイルスを使用する。ミニ遺伝子構築物の形態で適切なヌクレオチド置換を有する構築物を有するワクシニアウイルスは、ハウスキーピングエピトープの発現を誘導することができ、エピトープに対する治療上の T 細胞応答を招く。

【0095】

DNA による免疫には、APC が DNA を採取し、コードタンパク質またはペプチドを発現することが必要である。DNA 上で別個のクラス I ペプチドをコードすることが可能である。この構築物で免疫することにより、APC にハウスキーピングエピトープを発現させることができ、続いて適切な CTL 応答を刺激するために細胞表面上のクラス I MHC 上に提示される。ハウスキーピングエピトープの適正な末端の生成のための翻訳の終結または非プロテアソームプロテアーゼに概して依存する構築物は、2000 年 4 月 28

50

日に出願された標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター(EXPRESSION VECTOR S ENCODING EPITOPE OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)という表題の米国特許出願第09 / 561,572号に記載されている。

【0096】

上述のように、より大きなタンパク質の状況でハウスキーピングエピトープを発現することが望ましくあり得る。少数のアミノ酸がエピトープ末端を超えて存在する場合でさえ、プロセシングは検出され得る。小さなペプチドホルモンは通常、多くの場合およそ60から120個のアミノ酸のサイズ範囲にあるより大きな翻訳産物からタンパク質分解的にプロセシングされる。この事実は、これが効率的に翻訳されうる最小サイズであるという仮定に幾らか結びついている。幾つかの実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、少なくとも約60個のアミノ酸の翻訳産物中に包埋され得る。別の実施形態では、ハウスキーピングペプチドは、少なくとも約50個、30個、15個の翻訳産物中に包埋され得る。

10

【0097】

差次的プロテアソームプロセシングに起因して、pAPCの免疫プロテアソームは、末梢身体細胞中のハウスキーピングプロテアソームにより產生されるペプチドとは異なるペプチドを产生する。したがって、より大きなタンパク質の状況でハウスキーピングエピトープを発現する際には、ハウスキーピングエピトープとして、より大きなタンパク質は一般にAPCで活性でないハウスキーピングプロテアソームにより自然タンパク質から単に効率的にプロセシングされるため、その完全長自然配列以外の状況でAPCにおいて発現されることが好ましい。より大きなタンパク質をコードするDNA配列においてハウスキーピングエピトープをコードするために、そのハウスキーピングエピトープを遊離するために免疫プロテアソームによる適切な切断を可能とするエピトープをコードする配列の片側上にフランкиング領域を見出すことが有用である。所望のハウスキーピングエピトープのN末端およびC末端にあるフランキングアミノ酸残基を変更することにより、APCにおけるハウスキーピングエピトープの適切な切断および生成を促進することができる。ハウスキーピングエピトープを含む配列は、新規に設計され、どれがハウスキーピングエピトープを遊離するために免疫性エピトープにより首尾よくプロセシングされ得るかを決定するためにスクリーニングされ得る。

20

【0098】

あるいは、別の戦略は、APCにおけるハウスキーピングエピトープの产生を可能にする配列を同定するのに非常に有効である。アミノ酸の近接配列は、1つまたは複数のハウスキーピングエピトープの頭尾の配列から生成され得る。この配列を発現する構築物を用いて動物を免疫して、生じたT細胞応答を評価して、アレイ中の1つまたは複数のエピトープに対する特異性を決定する。定義により、これらの免疫応答は、pAPCにおいて効率的にプロセシングされるハウスキーピングエピトープを示す。このエピトープ周辺の必要なフランキング領域はそれにより規定される。所望のペプチドの片側上の約4~6個のアミノ酸のフランキング領域を使用することにより、免疫プロテアソームによるハウスキーピングエピトープのプロテアソームプロセシングを促進するための必要な情報を提供することができる。したがって、およそ16~22個のアミノ酸エピトープの同調を請け負う(ensure)配列は、有効に任意のタンパク質配列に挿入することができるか、またはそれらに融合させることができ、APCにおいて產生されるハウスキーピングエピトープを生じる。代替的実施形態では、エピトープの全ての頭尾のアレイ、または正確にプロセシングされるハウスキーピングエピトープにまさにすぐ隣のエピトープは、同様に試験構築物からワクチンベクターに移入することができる。

30

【0099】

好ましい実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、既知の免疫性エピトープ、またはかかるセグメント間に配置させることができ、それによりプロセシングに適切な状況を提供する。ハウスキーピングエピトープおよび免疫性エピトープの隣接(abutment)は、免疫プロテアソームが、ハウスキーピングエピトープ、または好ましくは正確なC末端

40

50

を含むより大きな断片を遊離させることができるとなるのに必要な状況を作り出すことができる。所望のエピトープが產生されることを確証するために構築物をスクリーニングすることが有用であり得る。ハウスキーピングエピトープの隣接は、免疫プロテアソームにより切断可能な部位を生成することができる。本発明の幾つかの実施形態は、試験基質においてハウスキーピングエピトープに隣接するために既知のエピトープを使用し、他の実施形態では、フランキング領域が天然フランキング配列の任意の配列であろうとあるいは突然変異であろうと、またプロテアソーム切断の優先の知見が基質を設計するのに使用されようとして使用されまいと、以下に記載するようなスクリーニングが使用される。

【0100】

エピトープの成熟N末端での切断は、様々なN末端トリミング活性が、プロテアソームプロセシング後にエピトープの成熟N末端を生成することができる細胞において存在するため、好適であるが必要とされない。かかるN末端伸長は約25未満のアミノ酸長であることが好ましく、伸長はより少ない残基を有するか、またはプロリン残基を有さないことがさらに好ましい。好ましくは、スクリーニングにおいて、エピトープの末端での（または少なくともそのC末端での）切断に対してのみ考慮がなされるだけでなく、エピトープ内での限定された切断を確実にするための考慮もなされ得る。

10

【0101】

ショットガンアプローチは、試験基質を設計するのに使用することができ、スクリーニングの効率を上げることができる。一実施形態では、複数のエピトープを、あるものを他のものの後に構築することができ、個々のエピトープは一度以上出現する可能性があると思われる。基質は、どのエピトープが產生され得るかを決定するためにスクリーニングされ得る。特定のエピトープが重要である場合には、特定のエピトープが複数の異なる状況で出現する基質を設計することができる。1つ以上の状況で出現する単一エピトープが基質から遊離される場合、どれが遊離され、エピトープ同調を確実にする配列を真に構成するかを決定するために、エピトープの個々の場合が除去されるか、無能とされるか、または特有であるさらなる二次試験基質が使用され得る。

20

【0102】

幾つかの容易に実施可能なスクリーニングが存在する。好ましいin vitroスクリーニングは、精製免疫プロテアソームを用いて、所望のハウスキーピングエピトープが問題となっている配列を包含する合成ペプチドから遊離され得るかどうかを決定するために、プロテアソーム消化解析を利用する。得られる切断位置は、エピトープの発見方法、抗原提示細胞におけるエピトープ同調(METHOD OF EPITOPE DISCOVERY, EPITOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)という表題の米国特許出願、エピトープ配列(EPITOPE SEQUENCES)という表題の2つの米国特許仮出願に詳述されるように、質量分析、HPLC、およびN末端プールシーケンシングのような技法により決定することができる。

30

【0103】

あるいは、免疫または標的感作のようなin vivoスクリーンを使用することができる。免疫に関しては、問題となっている配列を発現することができる核酸構築物が使用される。回収したCTLは、問題となっているハウスキーピングエピトープを提示する標的細胞を認識するそれらの能力に関して試験することができる。かかる標的細胞は、成熟ハウスキーピングエピトープを包含する合成ペプチドを有する適切なMHC分子を発現する細胞をパルス標識することにより最も容易に獲得される。あるいは、内因的にもしくは遺伝子操作により、ハウスキーピングプロテアソーム、およびハウスキーピングエピトープが由来する抗原を発現することが知られている細胞を使用することができる。スクリーンとして標的感作を使用するために、ハウスキーピングエピトープを認識するCTL、または好ましくはCTLクローニングを使用することができる。この場合、(免疫中のpAPCの代わりに)配置されたハウスキーピングエピトープを発現するのが標的細胞であり、標的細胞は免疫プロテアソームを発現しなくてはならない。一般に、標的細胞は包埋されたハウスキーピングエピトープの発現を付与するために、適切な核酸構築物で形質転換され得る。ペプチド負荷リポソームまたはBIOPORTER(商標)(Gene Therapy System

40

50

s, Sna Diegom CA)のようなタンパク質移入試薬を用いて包埋されたエピトープを包含する合成ペプチドを負荷することは代替法を示す。

【0104】

本発明によるワクチンとして有用なさらなる核酸構築物へのガイダンスは、2000年4月28日に出願された「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター(ADVERTISEMENT VECTORS ENCODING EPITOPE OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)」という表題の米国特許出願第09/561,572号に開示されている。さらに、本発明により有用な発現ベクターの発現およびそれらの設計方法は、2001年7月11日に出願された「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター、およびそれらの設計方法(EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPE OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS AND METHODS FOR THEIR DESIGN)」という表題の米国特許出願第60/336,968号(代理人整理番号CTLIMM.022PR)に開示されている。10

【0105】

本発明の好ましい実施形態は、治療上の免疫応答を誘発するために、エピトープ(単数または複数)を含むワクチンを投与する方法を包含する。ワクチンは、当該技術分野で既知である標準的なワクチン送達プロトコルと一致した様式で患者に投与される。TAAのエピトープ送達方法としては、注射、滴注、または吸入による送達を含む、経皮、結節内、結節周辺、経口、静脈内、皮内、筋内、腹腔内、および粘膜投与を挙げられるが、これらに限定されない。CTL応答を誘発するためのワクチン送達の特に有用な方法は、2002年1月17日に発行されたオーストラリア特許第739189号、とともに「CTL応答を誘発する方法(A METHOD OF INDUCING A CTL RESPONSE)」という表題の1999年9月1日に出願された米国特許出願第09/380,534号、および2001年2月2日に出願されたその一部同時継続の米国特許出願第09/776,232号に開示されている。20

【0106】

エピトープ認識試薬

本発明の別の態様では、エピトープおよび/またはエピトープ-MHC分子複合体に関する結合特異性を有するタンパク質、ならびにそれらが発現され得る単離された細胞が意図される。実施形態の一組では、これらの試薬は、免疫グロブリン、すなわちその生成方法が当該技術分野で周知であるポリクローナル血清またはモノクローナル抗体(mAb)の形態をとる。ペプチド-MHC分子複合体に関する特異性を有するmAbの生成は当該技術分野で既知である。例えば、Aharoni et al. Nature 351:147-150, 1991、Andersen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:1820-1824, 1996、Dadaglio et al. Immunity 6:727-738, 1997、Duc et al. Int. Immunol. 5:427-431, 1993、Eastman et al. Eur. J. Immunol. 26:385-393, 1996、Engberg et al. Immunotechnology 4:273-278, 1999、Por gdor et al. Immunity 6:715-726, 1997、Puri et al. J. Immunol. 158:2471-2476, 1997、およびPolakova, K., et al. J. Immunol. 165:342-348, 2000を参照されたい。30

【0107】

他の実施形態では、エピトープおよび/またはエピトープ-MHC複合体のいずれかに特異的なT細胞を、in vivoおよびin vitroで誘発および生成するのに組成物を使用することができる。好ましい実施形態では、エピトープは、例えば、表1に列挙した任意の1つまたは複数のエピトープであり得る。したがって、実施形態はまた、単離されたT細胞、T細胞クローン、T細胞ハイブリドーマ、またはクローニングした遺伝子に由来するT細胞受容体(TCR)結合ドメインを含有するタンパク質、ならびにかかるタンパク質を発現する組換え細胞に関し、かつそれらを包含する。かかるTCR由来タンパク質は、単にTCRの細胞外ドメインであり得るか、または所望の特性および機能を付与するための別のタンパク質の一部との融合物であり得る。かかる融合物の一例は、二価の分子を創出するために、抗体分子の定常領域に、TCR結合ドメインを結合することである。この一般的パターンに従った分子の構築および活性は、例えば、Plaksin, D. et al. J. Immunol. 158:2218-2227, 1997、およびLebowitz, M.S. et al. Cell Immunol. 50

192:175-184, 1999に報告されている。かかる分子のより一般的な構築および使用は、T細胞受容体、ならびに治療方法および診断方法におけるそれらの使用(T CELL RECEPTORS AND THEIR USE IN THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC METHODS)という表題の米国特許第5,830,755号でも取り扱われている。

【0108】

かかるT細胞の生成は、実験室動物の標準的な免疫により容易に達成することができ、ヒト標的細胞に対する反応性は、ヒト標的細胞を用いて免疫することにより、あるいはHLAトランスジェニック動物を抗原／エピトープで免疫することにより獲得することができる。幾つかの治療上のアプローチに関して、同種に由来するT細胞が望ましい。かかる細胞は、例えば上述に意図するようにマウスTCRをヒトT細胞にクローニングすることにより創出することができる一方で、ヒト細胞のin vitro免疫は潜在的により迅速な選択を付与する。ナイーブドナーを用いた場合でさえin vitro免疫に関する技法はこの分野で既知であり、例えば、Stauss et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7871-7875, 1992、Salgaller et al. Cancer Res. 55:4972-4979, 1995、Tsai et al., J. Immunol. 158:1796-1802, 1997、およびChung et al., J. Immunother. 22:279-287, 1999を参照されたい。

10

【0109】

これらの分子のいずれかを、エピトープに関連した病原状態の診断(イメージング、または他の検出)、モニタリング、および治療で使用するために、酵素、放射化学物質、蛍光タグ、および毒素と結合させることができる。したがって、毒素結合体は、腫瘍細胞を死滅させるのに投与することができ、放射標識は、エピトープ陽性腫瘍のイメージングを容易にすことができ、酵素結合体は、癌を診断し生検組織におけるエピトープ発現を確認するために、ELISA様アッセイで使用することができる。さらなる実施形態では、上述に記載するようなT細胞は、エピトープおよび/またはサイトカインによる刺激により達成される増殖後に、養子免疫療法として患者に投与することができる。

20

【0110】

エピトープ含有試薬

本発明のさらなる態様は、単離されたエピトープ-MHC複合体を提供する。本発明のこの態様の特に好適な実施形態では、複合体は、米国特許第5,635,363号(四量体)、または米国特許第6,015,884号(Ig-二量体)に記載されるもののような可溶性の多量体タンパク質であり得る。かかる試薬は、特定のT細胞応答を検出およびモニタリングする際に、ならびにかかるT細胞を精製する際に有用である。

30

【0111】

エピトープペプチドと複合体を形成した単離されたMHC分子はまた、平面状脂質二重層またはリボソームに組み込むことができる。かかる組成物は、in vitroまたはリボソームの場合には、in vivoでT細胞を刺激するのに使用することができる。共刺激分子(例えば、B7、CD40、LFA-3)を同じ組成物に組み込むことができ、あるいは特にin vitroの研究に関して、同時刺激は、抗補助受容体抗体(例えば、抗CD28、抗CD154、抗CD2)、またはサイトカイン(例えば、IL-2、IL-12)により提供され得る。かかるT細胞の刺激は、ワクチン接種を構成することができるか、免疫療法における続く注入のためのin vitroでのT細胞の増殖を駆動することができるか、またはT細胞機能のアッセイにおける工程を構成することができる。

40

【0112】

エピトープ、またはより直接的にはMHC分子とのその複合体は、活性化工程もしくは読み取り工程、またはその両方での抗原特異的T細胞の機能的アッセイの重要な成分であり得る。当該技術分野で知られるT細胞機能の多くのアッセイ(詳細な手順は、Current Protocols in Immunology 1999 John Wiley & Sons Inc., N.Y.のような標準的な免疫学的参考文献に見出すことができる)のうち、細胞プールの応答を測定するアッセイと個々の細胞の応答を測定するアッセイの2つの広い部類を定義することができる。前者が応答強

50

度の全体的な測定を伝えるのに対して、後者は、応答細胞の相対的頻度の決定が可能である。全体的な応答を測定するアッセイの例は、細胞傷害性アッセイ、ELISA、およびサイトカイン分泌を検出する増殖アッセイである。個々の細胞（またはそれらに由来する小クローン）の応答を測定するアッセイとしては、限界希釈解析（LDA）、ELISPOT、未分泌サイトカインのフローサイトメトリー検出（「単球リンパ球免疫系の評価方法(METHOD FOR THE ASSESSMENT OF THE MONONUCLEAR LEUKOCYTE IMMUNE SYSTEM)」という表題の米国特許第5,445,939号、ならびにともに「単球リンパ球免疫系の評価方法(METHOD FOR ASSESSMENT OF THE MONONUCLEAR LEUKOCYTE IMMUNE SYSTEM)」という表題の米国特許第5,656,446号および同第5,843,689号に記載されており、それらのための試薬は、商品名「FAST IMMUNE」でBecton, Dickinson & Companyで販売されている）、および上述のように、かつ上記に引用するように四量体またはIg-二量体により特異的TCRの検出が挙げられる。これらの技法の他と比較した場合の長所は、Yee, C. et al. Current Opinion in Immunology, 13:141-146, 2001に概説されている。さらに、特異的TCR再配列または発現の検出は、当業者に明らかなように、様々な確立された核酸ベースの技法により、特にin situおよび単一細胞PCR技法において達成され得る。

10

【0113】

これらの機能アッセイは、免疫性の内因性レベル、免疫学的刺激（例えば、ワクチン）に対する応答を評価し、疾患と治療の進路による免疫状態をモニタリングするのに使用される。免疫性の内因性レベルを測定する場合を除いて、これらのアッセイのいずれも、対処される問題の性質に応じて、in vivoであろうとin vitroであろうと、免疫の予備工程を前提とする。かかる免疫は、上述の本発明の様々な実施形態を用いて、あるいは同様の免疫性を誘起することができる他の形態の免疫原（例えば、pAPC-腫瘍細胞融合物）を用いて実施することができる。同族TCRの発現を検出することができるPCRおよび四量体/Ig-二量体型解析を除いて、これらのアッセイは概して、特定の機能活性を検出するために、上述のような本発明の様々な実施形態を好適に使用することができるin vitro抗原性刺激の工程から利益を得る（高細胞溶解性応答はときには直接検出され得る）。最終的に、細胞溶解活性の検出はエピトープ提示標的細胞を必要とし、それは本発明の様々な実施形態を用いて生成することができる。任意の特定の工程に関して選択される特定の実施形態は、対処されるべき問題、使用の容易性、コスト等に依存するが、任意の特定組の状況に関する別の実施形態を上回る一実施形態の利点は当業者に明らかである。

20

【0114】

この節に記載されるペプチドMHC複合体は伝統的に、非共有結合であると理解されている。しかしながら、例えば単一タンパク質として、エピトープおよびMHC重鎖、またはエピトープ、2-ミクログロブリンおよびMHC重鎖をコードすることにより、共有結合を創出することができ、かつ好適であり得る（Yu, Y.L.Y., et al., J. Immunol. 168:3145-3149, 2002、Mottez, E., et al., J. Exp. Med. 181:493, 1995、Dela Cruz, C.S., et al., Int. Immunol. 12:1293, 2000、Mage, M.G., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10658, 1992、Toshitani, K., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:236, 1996、Lee, L., et al., Eur. J. Immunol. 24:2633, 1994、Chung, D.H., et al., J. Immunol. 163:3699, 1999、Uger, R.A. and B.H.Barber, J. Immunol. 160:1598, 1998、Uger, R.A., et al., J. Immunol. 162:6024, 1999、およびWhite, J., et al., J. Immunol. 162:2671, 1999）。かかる構築物は、優れた安定性を有することができ、プロセシング-提示経路における障害を克服することができる。かかる構築物は、上述のワクチン、試薬、および類似の様式のアッセイで使用することができる。

30

【0115】

腫瘍関連抗原

本発明のエピトープは、TAAチロシナーゼ（配列番号2）、SSX-2（配列番号3）、PSMA（前立腺特異的膜抗原）（配列番号4）、GP100（配列番号70）、

40

50

MAGE-1(配列番号71)、MAGE-2(配列番号72)、MAGE-3(配列番号73)、NY-ESO-1(配列番号74)、PRAME(配列番号77)、PSA(配列番号78)、PSCA(配列番号79)、フィブロネクチンのED-Bドメイン(配列番号589および590)、CEA(癌胎児性抗原)(配列番号592)、Her2/Neu(配列番号594)、SCP-1(配列番号596)、およびSSX-4(配列番号598)に由来する。これらの11個のタンパク質に関する天然コード配列、またはそれら内の任意のセグメントは、それらのcDNAまたは完全コード(cds)配列、すなわちそれぞれ配列番号5~7、80~87、591、593、595、597および599から決定され得る。

【0116】

10

チロシナーゼは、メラニン細胞分化の最も特異的なマーカーの1つであるとみなされる。チロシナーゼは、数種の細胞型、主にメラニン細胞で発現され、黒色腫において高レベルが見出される場合が多い。TuAAとしてのチロシナーゼの有用性は、「異常細胞の幾つかがHLA-A2/チロシナーゼ由来ペプチドの複合体を提示する細胞異常性を受けている個体を同定する方法、および上記個体を治療する方法(METHOD FOR IDENTIFYING INDIVIDUALS SUFFERING FROM A CELLULAR ABNORMALITY SOME OF WHOSE ABNORMAL CELLS PRESENT COMPLEXES OF HLA-A2/TYROSINASE DERIVED PEPTIDES, AND METHODS FOR TREATING SAI D INDIVIDUALS)」という表題の米国特許第5,747,271号に教示されている。

【0117】

20

PMel117としても既知のGP100もまた、黒色腫において高レベルで発現されるメラニン生合成タンパク質である。TuAAとしてのGP100は、「黒色腫抗原、ならびに診断方法および治療方法におけるそれらの使用(MELANOMA ANTIGENS AND THEIR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC METHODS)」という表題の米国特許第5,844,075号に開示されている。

【0118】

30

Hom-Mel-40としても既知のSSX-2は、高度の保存された癌精巣抗原ファミリーの成員である(Gure, A.O. et al. Int. J. Cancer 72:965-971, 1997)。TuAAとしてのその同定は、「黒色腫特異的抗原をコードする単離された核酸分子、およびそれらの使用(ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULES WHICH ENCODE A MELANOMA SPECIFIC ANTIGEN AND USES THEREOF)」という表題の米国特許第6,025,191号に教示されている。癌精巣抗原は、様々な腫瘍に見出されるが、一般に正常な成人の精巣を除く組織には欠如している。SSXファミリーの種々の成員の発現は、腫瘍細胞系において様々に見出されている。SSXファミリー成員間の高度の配列同一性に起因して、ファミリーの1つを超える成員から類似のエピトープが生成され、MHC分子に結合することが可能であり、その結果、このファミリーの一成員に対する幾つかのワクチンがこのファミリーの他の成員と交差反応することができ、それらに対して効果的であり得る(以下の実施例3を参照)。

【0119】

40

MAGE-1、MAGE-2およびMAGE-3は、本来黒色腫において発見された癌精巣抗原の別のファミリーの成員である(MAGEは、黒色腫関連抗原の短縮形である)が、様々な腫瘍に見出される。TuAAとしてのMAGEタンパク質の同定は、腫瘍拒絶抗原前駆体であるMAGE-1をコードするヌクレオチド配列(NUCLEOTIDE SEQUENCE Encoding THE TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURSOR, MAGE-1)という表題の米国特許第5,342,774号、および多くの続く特許において教示されている。現在、SWISSタンパク質データベースに(ヒト)MAGEに関して17個の記入が存在する。多くの場合、同様にこれらのタンパク質間に広範な類似性が存在し、1つ由来のエピトープは、ファミリーの他の成員に対する交差反応性応答を誘発することができる。これらの数種、最も顕著にはMAGE-H1およびMAGE-D1が腫瘍で観察されず、それらはそれぞれ、精巣および脳、ならびに骨髄間質細胞で発現される。正常組織での交差反応性の可能性は、それらが他のMAGEタンパク質に最も類似していないという事実により改善される。

50

【0120】

NY-ESO-1は、広範囲の腫瘍において見出される癌精巣抗原であり、CTAG-1(癌精巣抗原-1)およびCAG-3(癌抗原-3)としても既知である。TuAAとしてのNY-ESO-1は、食道癌関連抗原をコードする単離された核酸分子、それらの抗原、およびそれらの使用(ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULE ENCODING AN ESOPHAGEAL CANCER ASSOCIATED ANTIGEN, THE ANTIGEN ITSELF, AND USES THEREOF)という表題の米国特許第5,804,381号に開示されている。広範な配列同一性をコードする抗原を有するバラ口ガスな遺伝子座であるLAGE-1a/s(配列番号75)およびLAGE-1b/L(配列番号76)は、ヒトゲノムの公的に利用可能なアセンブリにおいて開示され、選択的スプライシングにより生じると結論付けられている。さらに、CT-2(またはCTAG-2、癌精巣抗原-2)は、LAGE-1b/Lの対立遺伝子、突然変異体、またはシーケンシング不一致のようである。広範な配列同一性に起因して、NY-ESO-1由来の多くのエピトープも、これらの他の抗原を発現する腫瘍に対する免疫性を誘発することができる。図1を参照されたい。タンパク質はアミノ酸70まで事実上同一である。71から134まで、NY-ESO-1とLAGEとの間の最長の同一性の行程は6残基であるが、潜在的交差反応性配列が存在する。また、135から180まで、NY-ESOおよびLAGE-1a/sはたった一つの残基を除いて同一であるが、LAGE-1b/Lは選択的スプライスにより未関連である。CAMELおよびLAGE-2抗原は、LAGE-1 mRNAに由来するようであるが、交互のリーディングフレームに由来し、したがって未関連タンパク質配列を生じる。より最近では、GenBankのアクセション番号AF277315.5であるホモサピエンスの染色体XクローンRP5-865E18、RP5-1087L19の完全配列は、LAGE1(ゲノム構築物中のCTAG-2に相当する)、さらにLAGE2-AおよびLAGE2-B(ともにゲノム構築物中のCTAG-1に相当する)として呼ばれるこの領域での3つの別個の遺伝子座を報告する。

10

20

30

40

【0121】

「前立腺特異的膜抗原(PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANES ANTIGEN)」という表題の米国特許第5,538,866号に記載されるTuAAであるPSMA(前立腺特異的膜抗原)は、正常な前立腺上皮により、および前立腺癌中で高レベルで発現される。PSMAは、非前立腺腫瘍の新生血管系でも見出されている。したがって、PSMAは、前立腺癌および他の腫瘍の新生血管系の両方に対して誘導されるワクチンに関する基礎を形成することができる。この後者の概念は、2001年3月7日に出願された癌用の抗新生血管ワクチン(ANTI-NEOVASCULAR VACCINES FOR CANCER)という表題の米国特許仮出願第60/274,063号、および「癌用の抗新生血管調製物(ANTI-NEOVASCULAR PREPARATIONS FOR CANCER)」という表題の2002年3月7日に出願された米国出願第10/094,699号(代理人整理番号CTLIMM.015A)により詳細に記載されている。すなわち、腫瘍が成長するにつれ、腫瘍が新規血管の内殖を強化する。これは、非血管化腫瘍の中心が概して壊死状態にある場合、成長を持続するのに必要であると理解され、血管新生阻害剤は腫瘍後退を引き起こすことが報告されている。かかる新規血管、すなわち新生血管系は、樹立血管において見出されない抗原を発現し、したがってそれらを特異的に標的とすることができます。新血管抗原に対するCTLを誘発することにより、血管を崩壊することができ、腫瘍に対する栄養の流れ(および腫瘍からの廃棄物の除去)を妨げ、後退を招く。

【0122】

PSMA mRNAの選択的スプライシングはまた、Met₅₈に見かけの開始を有するタンパク質を導き、それにより「選択的にスプライシングされた前立腺特異的膜抗原をコードする単離された核酸分子、およびそれらの使用(ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULE ENCODING ALTERNATIVELY SPLICED PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANES ANTIGEN AND USES THEREOF)」という表題の米国特許第5,935,818号に記載されるように、PSMAの推定膜アンカー領域を欠失させる。PSMA様タンパク質と称されるタンパク質であるGenbankアクセション番号AF261715は、PSMAのアミノ酸309~750に

50

ほぼ同一であり、異なる発現プロフィールを有する。したがって、最も好ましいエピトープは、アミノ酸 58～308に位置されるN末端を有するものである。

【0123】

M A P E 、 D A G E および O I P 4 としても既知の P R A M E は、最初は黒色腫抗原として観察された。続いて、P R A M E は C T 抗原として認識されたが、多くの C T 抗原（例えば、M A G E 、 G A G E および B A G E ）と異なり、急性骨髓性白血病において発現される。P R A M E は、それが限定された配列類似性を共有する仮説のタンパク質から大部分が構成される M A P E ファミリーの成員である。T u A A としての P R A M E の有用性は、腫瘍拒絶抗原前駆体 D A G E をコードする単離された核酸分子、およびそれらの使用 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULES CODING FOR TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURSOR DAGE AND USES THEREOF) 」という表題の米国特許第5,830,753号に教示されている。
10

【0124】

P S A 、すなわち前立腺特異的抗原は、カリクレインファミリーのペプチダーゼ、および前立腺の分化抗原である。胸部組織での発現も報告されている。代わりの名称としては、-セミノプロテイン、カリクレイン3、セミノゲラーゼ(seminogelase)、セミニン、およびP-30抗原が挙げられる。P S A は、様々な選択的スプライシング産物である前立腺／腺のカリクレイン-1および-2、ならびにカリクレイン4と、高度の配列同一性を有し、これは前立腺および胸部組織でも発現される。他のカリクレインは概して、より小さな配列同一性を共有し、異なる発現プロフィールを有する。それにもかかわらず、任意の特定エピトープが非標的組織をプロセシングすることにより（最も一般的にはハウスキーピングプロテアソームにより）遊離される可能性とともに、そのエピトープにより誘起され得る交差反応性が、ワクチンを設計する際に考慮されるべきである。
20

【0125】

S C A H - 2 としても既知の P S C A 、すなわち前立腺幹細胞抗原は、前立腺上皮細胞において優先的に発現される分化抗原であり、前立腺癌で過剰発現される。より低レベルの発現が、消化管および腎臓の集合管の神経内分泌細胞を含む幾つかの正常組織で見られる。P S C A は、「ヒト幹細胞抗原(HUMAN STEM CELL ANTIGENS)」という表題の米国特許第5,856,136号に記載されている。
30

【0126】

H O M - T E S - 1 4 としても既知のシナプトネマ構造タンパク質1 (S C P - 1) は、減数分裂関連タンパク質、および癌精巣抗原である(Tureci, O., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5211-5216, 1998)。癌抗原として、その発現は細胞周期調節性でなく、S C P - 1 は、神経膠腫、胸部、腎細胞および卵巣癌腫において頻繁に見出される。S C P - 1 は、ミオシンに対していくらかの類似性を有するが、数個の十分な同一性を有する場合、その交差反応性エピトープは目下の期待ではない。
40

【0127】

フィブロネクチンのE D - B ドメインもまた、潜在的な標的である。フィブロネクチンは、発達上調節される選択的スプライシングの対象であり、E D - B は、主として腫瘍胎児組織で使用される单一エクソンによりコードされる(Matsuura, H. and S. Hakomori Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:6517-6521, 1985、Carnemolla, B. et al. J. Cell Biol. 108:1139-1148, 1989、Loridon-Rosa, B. et al. Cancer Res. 50:1608-1612, 1990、Nicollo, G. et al. Cell Differ. Dev. 32:401-408, 1990、Borsi, L. et al. Exp. Cell Res. 199:98-105, 1992、Oyama, F. et al. Cancer Res. 53:2005-2011, 1993、Mandel, U. et al. APMIS 102:695-702, 1994、Farnoud, M.R. et al. Int. J. Cancer 61:27-34, 1995、Puiguet, P. et al. Am. J. Pathol. 148:579-592, 1996、Gabler, U. et al. Heart 75:358-362, 1996、Chevalier, X. Br. Rheumatol. 35:407-415, 1996、Midulla, M. Cancer Res. 60:164-169, 2000)。

【0128】

E D - B ドメインはまた、新生血管系のフィブロネクチンでも発現される(Kaczmarek,

10

20

30

40

50

J. et al. Int. J. Cancer 59:11-16, 1994、Castellani, P. et al. Int. J. Cancer 59:612-618, 1994、Neri, D. et al. Nat. Biotech. 15:1271-1275, 1997、Karelina, T.V. and A.Z.Eisen Cancer Detect. Prev. 22:438-444, 1998、Tarli, L. et al. Blood 94:192-198, 1999、Castellani, P. et al. Acta Neurochir. (Wien) 142:277-282, 2000)。腫瘍胎児ドメインとして、ED-Bドメインは、新生血管系で発現されるほかに、新生細胞により発現されるフィブロネクチンにおいて一般に見出される。したがって、ED-Bドメインを標的とするCTL誘発性ワクチンは、2つの作用メカニズム：腫瘍細胞の直接溶解、および腫瘍関連新生血管系の破壊による腫瘍血液供給の崩壊を示すことができる。CTL活性はワクチン使用中止後に迅速に遅延することができるため、正常血管新生による妨害は最小限であり得る。新生血管系を標的とするワクチンの設計および試験は、「癌用の抗新生血管系ワクチン(ANTI-NEOVASCULATURE VACCINES FOR CANCER)」という表題の米国特許仮出願第60/274,063号、およびこの出願と同日(2002年3月7日)に出願された「癌用の抗新生血管系調製物(ANTI-NEOVASCULATURE PREPARATIONS FOR CANCER)」という表題の米国特許出願第10/094,699号(代理人整理番号CTLIMM.0.15A)に記載されている。腫瘍細胞系は、「HLAトランスジェニックマウス腫瘍細胞系(HLA-TRANSGENIC MURINE TUMOR CELL LINE)」という表題の2002年3月7日に出願された米国特許仮出願第60/363,131号(代理人整理番号CTLIMM.028PR)に開示されている。

10

20

30

40

50

【0129】

癌胎児性抗原(CEA)は、1965年に最初に記載された典型的な腫瘍胎児タンパク質である(Gold and Freedman, J. Exp. Med. 121:439-462, 1965。より完全な参考文献は、Online Mendelian Inheritance in Man; record *114890に見出すことができる)。CEAは、癌胎児性抗原関連細胞接着分子5(CEACAM5)と公式に解明された。その発現は、消化管の上皮内層の腺癌および胎児結腸と最も強力に関連している。CEAは、免疫グロブリンスーパー遺伝子ファミリーの成員、およびCEAサブファミリーの特徴的な成員である。

【0130】

HER2/NEUは、上皮成長因子受容体に関連し(van de Vijver, et al., New Eng. J. Med. 319:1239-1245, 1988)、かつc-ERBB2癌遺伝子に外見上同一である(Difiore, et al., Science 237: 178-182, 1987)癌遺伝子である。ERBB2の過剰発現は、前立腺癌の悪性形質転換に関与される。HER2として、ERBB2は、他の腫瘍の中でも乳癌の25~30%で增幅および過剰発現され、ここで発現レベルは、腫瘍の攻撃性と相關している(Slamon, et al., New Eng. J. Med. 344:783-792, 2001)。より詳細な説明が、Online Mendelian Inheritance in Man, record *164870で入手可能である。

【0131】

本発明の実施形態に関連したさらなる開示は、2001年11月7日に出願された「抗原提示細胞におけるエピトープ同調(EPIPOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」という表題の米国特許出願第10/005,905号(代理人整理番号CTLIMM.021CP1)、およびその継続出願である同様に「抗原提示細胞におけるエピトープ同調(EPIPOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」という表題の2000年12月7日に出願された米国出願第 / 号に見出される。

【0132】

有用なエピトープを、以下の実施例で記載されるように同定および試験した。しかしながら、これらの実施例は、単なる説明の目的のために意図され、いかなる場合においても本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【実施例】

【0133】

特定の好みしいエピトープの配列

実施例1

エピトープの製造

A. エピトープの合成的生産

配列番号 1、8、9、11～23、26～29、32～44、47～54、56～63、66～68、88～253、または256～588のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドを、F M O C 固相合成方法または t B O C 固相合成方法のいずれかを用いて合成する。合成後、適切な保護スカベンジャーの存在下で、それぞれトリフルオロ酢酸またはフッ化水素のいずれかを用いて、ペプチドをそれらの支持体から切り出す。蒸発により酸を除去した後、ペプチドをエーテルで抽出して、スカベンジャーおよび粗原料を除去して、続いて沈殿したペプチドを凍結乾燥する。粗製ペプチドの純度を H P L C、配列解析、アミノ酸解析、対イオン含有量解析、および他の適切な手段により測定する。粗製ペプチドが十分に純粋（約 90 % 以上純粋）である場合、粗製ペプチドをそのまま使用することができる。薬剤物質規格を満たすのに精製が必要とされる場合、以下の：再沈殿、逆相クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ、サイズ排除クロマトグラフィもしくは疎水性相互作用クロマトグラフィ、または向流分配のうちの 1 つあるいは組合せを用いて、ペプチドを精製する。

10

【0134】

薬剤製品配合物

G M P グレードのペプチドを、非経口的に許容可能な水性、有機性もしくは水性 - 有機性緩衝液または溶媒系中に配合し、その中ではペプチドは、依然として物理学的および化学的に安定性であり、生物学的に強力のままである。一般に、緩衝液、または緩衝液の組合せ、または緩衝液および有機溶媒の組合せが適切である。p H 範囲は通常、6～9である。有機改質剤または他の賦形剤を添加して、ペプチドを可溶化し、かつそれを安定化するのを助長することができる。これらとしては、界面活性剤、脂質、補助溶媒、酸化防止剤、キレート化剤、および還元剤が挙げられる。凍結乾燥製品の場合には、ショ糖またはマンニトール、あるいは他の凍結乾燥助剤を添加することができる。ペプチド溶液を、それらの最終的な容器施栓系へと膜濾過することにより滅菌し、診療所で溶解するために凍結乾燥するか、または使用するまで保管する。

20

【0135】

B. 核酸ワクチンとして使用するための発現ベクターの構築

3 つの一般的なエピトープ発現ベクターの構築を以下に提示する。これらの設計の特定の利点は、「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター (EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)」という表題の米国特許出願第 09 / 561,572 号に記載されている。

30

【0136】

次に、適切な大腸菌をプラスミドでトランスフェクトし、選択培地に添加した。幾つかのコロニーが、懸濁培養液中で成長し、制限マッピングにより陽性クローニングを同定した。次に、陽性クローニングを成長させて、保管バイアル中に分取して、-70 で保管した。

【0137】

次に、プラスミドのミニプレップ (Q I A p r e p S p i n M i n i - p r e p : Qiagen, Valencia, CA) をこれらの細胞の試料から作製し、自動蛍光ジデオキシ配列解析を用いて、構築物が所望の配列を有するかを確認した。

40

【0138】

B. 1 p V A X - E P 1 - I R E S - E P 2 の構築

概要：

この構築物用の開始プラスミドは、Invitrogen(Carlsbad, CA) から購入される p V A X 1 である。エピトープ E P 1 および E P 2 は、GIBCO BRL(Rockville, MD) により合成された。I R E S は、Clontech(Palo Alto, CA) から購入される p I R E S から切除された。

【0139】

手順：

1 p I R E S を、E c o R I および N o t I で消化した。消化した断片を、アガロースゲル電気泳動で分離し、切り出したバンドから I R E S 断片を精製した。

50

2 pVAX1を、EcoRIおよびNotIで消化し、pVAX1断片をゲル精製した。

3 精製したpVAX1およびIRES断片をともに連結させた。

4 株DH5のコンピテント大腸菌を、連結混合物で形質転換した。

5 得られたコロニーのうちの4つからミニプレップを作製した。

6 制限酵素消化解析を、ミニプレップDNAに実施した。IRES挿入物を有する1つの組換えコロニーを、EP1およびEP2のさらなる挿入に使用した。この中間体構築物をpVAX-IRESと呼んだ。

7 EP1およびEP2をコードするオリゴヌクレオチドを合成した。

8 EP1を、AflII部位とEcoRI部位との間でpVAX-IRESにサブクローニングして、pVAX-EP1-IRESを作製した。 10

9 EP2を、SalI部位とNotI部位との間でpVAX-EP1-IRESにサブクローニングして、最終構築物pVAX-EP1-IRES-EP2を作製した。

10 EP1-IRES-EP2挿入物の配列をDNAシーケンシングにより確認した。
。

【0140】

B2. pVAX-EP1-IRES-ISS-NISの構築

概要：

この構築物用の開始プラスミドは、pVAX-EP1-IRES-EP2（実施例1）であった。この構築物に導入されるISS（免疫刺激配列）はAACGTTであり、使用されるNIS（核内移行配列を意味する）は、SV40 72bp反復配列である。ISS-NISは、GIBCO BRLにより合成された。図2を参照されたい。 20

【0141】

手順：

1 pVAX-EP1-IRES-EP2をNruIで消化し、直線化プラスミドをゲル精製した。

2 ISS-NISオリゴヌクレオチドを合成した。

3 精製した直線化pVAX-EP1-IRES-EP2および合成ISS-NISをともに連結させた。

4 株DH5のコンピテント大腸菌を、連結産物で形質転換した。 30

5 得られたコロニーからミニプレップを作製した。

6 ミニプレップの制限酵素消化を実施した。

7 挿入物を有するプラスミドをシーケンシングした。

【0142】

B3. pVAX-EP2-UB-EP1の構築

概要：この構築物用の開始プラスミドは、pVAX1(Invitrogen)であった。EP2およびEP1は、GIBCO BRLにより合成された。構築物における76個のアミノ酸をコードする野生型ユビキチンcDNAは、酵母からクローニングされた。

【0143】

手順：

1 酵母mRNAを用いて、RT-PCRを実施した。プライマーは、酵母ユビキチンの完全コード配列を増幅するように設計した。

2 RT-PCR産物を、アガロースゲル電気泳動を用いて解析した。予測サイズを有するバンドをゲル精製した。

3 精製したDNAバンドを、EcoRV部位でpZERO1にサブクローニングした。得られたクローンをpZERO-UBと称した。

4 pZERO-UBの幾つかのクローンをシーケンシングして、さらに操作する前にユビキチン配列を確認した。

5 EP1およびEP2を合成した。

6 EP2、ユビキチン、およびEP1を連結させて、挿入物を、BamHIとEco 50

R Iとの間で p V A X 1にクローニングして、それを C M V プロモーターの制御下に置いた。

7 挿入物 E P 2 - U B - E P 1 の配列を D N A シーケンシングにより確認した。

【 0 1 4 4 】

実施例 2

有用なエピトープ変異体の同定

10 量体 F L P W H R L F L L (配列番号 1) は、有用なエピトープとして同定される。この配列に基づいて、多数の変異体が作製される。H L A 結合アッセイで活性を示す変異体(実施例 3、セクション 6 を参照)が有用であると同定され、続いてワクチンに配合される。

10

【 0 1 4 5 】

F L P W H R L F L L の長さ変異体の H L A - A 2 結合を評価した。プロテアソーム消化解析は、9 量体 F L P W H R L F L (配列番号 8) の C 末端も產生されることを示す。さらに、9 量体 L P W H R L F L L (配列番号 9) は、10 量体の N 末端トリミングから生じ得る。ともに H L A - A * 0 2 0 1 分子に結合すると予測されるが、これら 2 つの 9 量体のうち、F L P W H R L F L がより有意な結合を示し、好ましい(図 3 A および図 3 B を参照)。

10

【 0 1 4 6 】

in vitro プロテアソーム消化および N 末端プールシーケンシングは、チロシナーゼ_{207 ~ 216}(配列番号 1) がチロシナーゼ_{207 ~ 215}(配列番号 8) よりも一般的に產生されることを示すが、後者のペプチドは、最適なワクチン設計に到達する際に潜在的に重要である優れた免疫原性を示す。F L P W H R L F L 、すなわちチロシナーゼ_{207 ~ 215}(配列番号 8) を、H L A - A 2⁺ 血液の in vitro 免疫で使用して、C T L を生成させた(以下の C T L 誘発培養を参照)。標準的クロム放出アッセイにおける標的として、ペプチドパルス化 T 2 細胞を用いて、チロシナーゼ_{207 ~ 215}(配列番号 8) により誘発される C T L が同様にチロシナーゼ_{207 ~ 216}(配列番号 1) を認識することを見出した(図 3 C を参照)。これらの C T L はまた、H L A - A 2⁺ のチロシナーゼ⁺腫瘍細胞系 6 2 4 . 3 8 および H T B 6 4 を認識するが、6 2 4 . 3 8 の H L A - A 2⁻ 誘導体である 6 2 4 . 2 8 を認識しない(図 3 C)。したがって、in vivo で產生されるこれらの 2 つのエピトープの相対量は、ワクチン設計において重要とならない。

20

30

【 0 1 4 7 】

C T L 誘導培養

正常ドナー由来の P B M C を、バフィーコートから、Ficoll-Hypaque における遠心分離により精製した。すべての培養が自家血漿(A P) を用いて実施され、潜在的異種病原体への暴露および F B S ペプチドの認識を回避した。ペプチド特異的 C T L の in vitro 生成を選ぶために、本発明者等は、A P C として自己樹状細胞(D C) を使用した。記載される(Keogh et al., 2001) ように、D C が生成され、D C および P B M C 由来のペプチドを用いて C T L が誘発された。すなわち、単球が富化された細胞画分を G M - C S F および I L - 4 とともに 5 日間培養して、2 μg / m l の C D 4 0 を有する培地中でさらに 2 日間培養して、成熟させた。2 × 10⁶ 個の C D 8 + が富化された T リンパ球 / ウエル、および 2 × 10⁵ 個のペプチドパルス化 D C / ウエルを、10 % A P 、10 n g / m l I L - 7 、および 2 0 I U / m l I L - 2 を添加した R P M I 2 m l 中で、2 4 ウエルプレートで共存培養した。7 日目および 14 日目に、自家照射ペプチドパルス化 D C で培養物を再刺激した。

40

【 0 1 4 8 】

F L P W H R L F L の配列変異体を以下のように構築する。N I H / B I M A S M H C 結合予測プログラム(以下の実施例 3 における参考文献を参照)からの結合係数表(表 3 を参照)と一貫して、結合は、アンカー位置である位置 9 にある L を V に変更することにより改善することができる。結合はまた、一般により少ない程度ではあるが、非アンカー位置での変化により変更することができる。概して表 3 を参照して、結合は、比較的大

50

きな係数を有する残基を使用することにより増大させることができる。配列中の変化もまた、MHCへの結合に対するそれらの影響に関係なく、免疫原性を変更させることができる。したがって、結合および／または免疫原性は、以下のように改善させることができる。

【0149】

位置3にあるPを、F、L、M、W、またはYで置換することによるもの：これらはすべて、結合に対する影響に関係なく、免疫原性を改良することもできる嵩高い(bulkier)残基である。それぞれアミンおよびヒドロキシ保有残基であるQおよびN、ならびにSおよびTもまた、より強力な交差反応性応答を誘起することができる。

【0150】

位置4にあるWをDまたはEで置換することにより、結合を改善するもの：陰電荷のこの付加もまた、エピトープをより免疫原性とさせることができる一方で、場合によっては、天然エピトープとの交差反応性を減少させる。あるいは、FまたはYの保存的置換は交差反応性応答を誘起することができる。

【0151】

位置5にあるHをFで置換することにより、結合を改善するもの：Hは、部分的に荷電されるとみなすことができ、したがって場合によっては電荷の損失が交差反応性を妨害し得る。この位置での完全に荷電された残基RまたはKの置換は、電荷依存的交差反応性を崩壊することなく、免疫原性を高めることができる。

【0152】

位置6にあるRを、I、L、M、V、F、W、またはYで置換することによるもの：同じ注意および代替法が位置5と同様にここでも適用される。

【0153】

位置7にあるLをWまたはFで置換することにより、結合を改善するもの：この位置でのV、I、S、T、Q、またはNの置換は一般に、このモデルにより結合親和性を減少させると予測されず(NIHアルゴリズム)、依然として上記のように好適であり得る。

【0154】

位置1および8にあるFとして同様に好ましいYおよびWは、有用な交差反応性を誘起することができる。最終的に、嵩高さの方向における置換が一般に免疫原性を改善するのに好まれる一方で、位置3～7でのA、S、およびCのようなより小さな残基の置換は、本来嵩高さというよりはサイズの対比が免疫原性において重要な要因であるという理論に従って有用であり得る。Cにおけるチオール基の反応性は、Chen, J.-L., et al. J. Immunol. 165:948-955, 2000で議論されるように、他の特性を導入することができる。

【0155】

10

20

30

【表3】

表3 HLA-A*0201*に関する9量体係数表

ファイル「A_0201_標準」に関するHLA係数表									
アミノ酸 タイプ	1 st	2 nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th	9th
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
C	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
D	0.075	0.100	0.400	4.100	1.000	1.000	0.490	1.000	0.003
E	0.075	1.400	0.064	4.100	1.000	1.000	0.490	1.000	0.003
F	4.600	0.050	3.700	1.000	3.800	1.900	5.800	5.500	0.015
G	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	0.130	1.000	0.015
H	0.034	0.050	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
I	1.700	9.900	1.000	1.000	1.000	2.300	1.000	0.410	2.100
K	3.500	0.100	0.035	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
L	1.700	72.000	3.700	1.000	1.000	2.300	1.000	1.000	4.300
M	1.700	52.000	3.700	1.000	1.000	2.300	1.000	1.000	1.000
N	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
P	0.022	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
Q	1.000	7.300	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
R	1.000	0.010	0.076	1.000	1.000	1.000	0.200	1.000	0.003
S	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
T	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.500
V	1.700	6.300	1.000	1.000	1.000	2.300	1.000	0.410	14.000
W	4.600	0.010	8.300	1.000	1.000	1.700	7.500	5.500	0.015
Y	4.600	0.010	3.200	1.000	1.000	1.500	1.000	5.500	0.015

*公的に利用可能であるこの表および他の匹敵するデータは、エピトープ変異体を設計する際に、そして特定の変異体が実質的に類似しているか、または機能的に類似しているかどうかを決定する際に有用である。

【0156】

実施例3

クラスター解析 (SSX-2_{31~68})

1. エピトープクラスター領域予測：

H.G.Rammensee, J.Bachmann and S.Stevanovicによる書籍「MHCリガンドおよびペプチドモチーフ」に基づいたコンピュータアルゴリズム：SYFPEITHI（インターネット <http://syfpeithi.bmi-heidelberg.com/Scripts/MHCServer.dll/EpPredict.htm> にアクセス）、およびParker, K.C. , et al., J. Immunol. 152:163, 1994に記載されるHLAペプチド結合予測（NIH）（インターネット http://bimas.dcrt.nih.gov/molbio/hla_bin にアクセス）を用いて、SSX-2（G1: 10337583）のタンパク質配列を解析した。エピトープクラスター（高予測MHC親和性を有するペプチド断片の平均密度よりも広い領域）を、2000年4月28日に出願された「エピトープクラスター（EPITOPE CLUSTERS）」という表題の米国特許出願第09/561,571号に完全に記載されるように規定した。エピトープ密度比カットオフ2を用いて、5個のクラスターおよび

10

20

30

40

50

2 個のクラスターを、それぞれ S Y F P E T H I および N I H アルゴリズムを用いて規定し、ペプチドは 16 (S Y F P E T H I) および 5 (N I H) のカットオフを得る。100 分を超える解離の推定半減期を有する、N I H アルゴリズムを用いた場合の最高のスコアリングのペプチドである S S X - 2₄₁ ~ 4₉ は、任意の他の予測エピトープと重複しないが、N I H 解析において S S X - 2₅₇ ~ 6₅ を有するクラスターと重複する。

【 0157 】

2 . ペプチド合成および特性化 :

S S X - 2₃₁ ~ 6₈ 、すなわち Y F S K E E W E K M K A S E K I F Y V V Y M K R K Y E A M T K L G F K A T L P (配列番号 10) は、標準的な固相化学を用いて M P S (Multiple Peptide Systems, San Diego, CA 92121) により合成された。添付の「解析証明書」によれば、このペプチドの純度は 95 % であった。

10

【 0158 】

3 . プロテアソーム消化 :

プロテアソームは、2000 年 4 月 28 日に出願された「エピトープの発見方法 (METHOD OF EPITOPE DISCOVERY) 」という表題の米国特許出願第 09 / 561,074 号に記載されるプロテアソーム単離プロトコルを用いて、ヒト赤血球から単離した。S D S - P A G E 、ウェスタンブロッティング、および E L I S A を、品質制御アッセイとして使用した。プロテアソームの最終濃度は 4 m g / m l であり、これは非妨害タンパク質アッセイにより決定された (Geno Technologies Inc.)。プロテアソームは、25 μ l のアリコートで -70 °C で保管した。

20

【 0159 】

S S X - 2₃₁ ~ 6₈ をミリ Q 水に溶解し、2 mM のストック溶液を調製し、20 μ L のアリコートを -20 °C で保管した。

【 0160 】

プロテアソームの 1 つのチューブ (25 μ L) を -70 °C の保管から取り出し、氷上で解凍した。続いて、それを再度ピッティングすることにより 2 mM のペプチド 12.5 μ L と、完全に混合した (試料は氷上に保ったままであった) 。混合した後、試料 5 μ L を即座に取り出して混合し、10 % T F A 1.25 μ L を含有するチューブに移した (T F A の最終濃度は 2 % であった) T = 0 分の試料) 。次に、プロテアソーム消化反応を開始させ、プログラム可能な熱制御計において 37 °C で実施した。さらに 5 μ L の試料を、それぞれ 15 分、30 分、60 分、120 分、180 分、および 240 分に取り出した。反応は、上述と同様に試料を 10 % T F A 1.25 μ L に添加することにより停止させた。M A L D I - M S で解析するまで、試料を氷上に保つか、または凍結させた。H P L C 解析および N 末端シーケンシングのために、試料はすべて -20 °C で保存および保管された。ペプチドのみ (プロテアソームなし) をブランク対照として使用した (ペプチド 2 μ L + トリス緩衝液 (20 mM, pH 7.6) 4 μ L + T F A 1.5 μ L) 。

30

【 0161 】

4 . M A L D I - T O F M S 測定 :

各時点に関して、マトリックス溶液 (10 m g / m l A c C N / H₂O (70 : 30)) 中の - シアノ - 4 - ヒドロキシケイ皮酸) 0.3 μ L をまず試料スライド上に適用し、続いて等容量の消化した試料をスライド上でマトリックス溶液と穏やかに混合した。スライドを周辺空気で 3 ~ 5 分間乾燥させた後、質量スペクトルを得た。M S は、ペプチド / タンパク質標準物質を用いて較正される L a s e r m a t 2000 M A L D I - T O F 質量分析計で実施した。測定の精度を向上させるために、ペプチド基質の分子イオン重量 (M H⁺) を内部較正標準として使用した。T = 120 分の消化試料の質量スペクトルを図 4 に示す。

40

【 0162 】

5 . M S データ解析およびエピトープの同定 :

測定した質量ピークを帰属するために、UCSF Mass Spectrometry Facility からのツールであるコンピュータプログラム M S - P r o d u c t (<http://prospector.ucsf.edu/u>)

50

csfhtml3.4/msprod.htmにアクセス可能)を用いて、すべての考え得る断片(NおよびC末端イオン、および内部断片)、およびそれらの相当する分子量を生成した。質量分析計の感度に起因して、平均分子量を使用した。消化の行程で観察される質量ピークを表4に概要するように同定した。

【0163】

S Y F P E I T H I または N I H アルゴリズムにより H L A を結合すると予測される 8 ~ 10 アミノ酸長の配列が同時に C 末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測 H L A - A 2 . 1 結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他の M H C 分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表5に示す。

【0164】

【表4-1】

表4

SSX-2_{31~68}質量ピーク同定

MS ピーク (測定値)	ペプチド	配列	計算質量 (MH ⁺)
988.23	31-37	YFSKEEW	989.08
1377.68±2.3			
8	31-40	YFSKEEWEKM	1377.68
1662.45±1.3			
0	31-43	YFSKEEWEKMKAS	1663.90
2181.72±0.8			
5	31-47	YFSKEEWEKMKASEKIF	2181.52
2346.6	31-48	YFSKEEWEKMKASEKIFY	2344.71
1472.16±1.5			
4	38-49	EKMKASEKIFYV	1473.77
2445.78±1.1			
8	31-49*	YFSKEEWEKMKASEKIFYV	2443.84
2607.	31-50	YFSKEEWEKMKASEKIFYVV	2607.02
1563.3	50-61	YMKRKYEAMTKL	1562.93
3989.9	31-61	YFSKEEWEKMKASEKIFYVYVMKRKYE AMTKL	3987.77
1603.74±1.5			
3	51-63	MKRKYEAMTKLGF	1603.98
1766.45±1.5	50-63	YMKRKYEAMTKLGF	1767.16

10

20

30

40

【表4-2】

1866.32±1.2 2	49-63	VYMKRKYEAMTKLGF	1866.29
4192.6	31-63	YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYE AMTKLGF	4192.00
4392.1	31-65**	YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYE AMTKLGFKA	4391.25

太字体の配列は、MHCに結合すると予測されるペプチドに相当する。

*質量のみに基づけば、このピークはペプチド32～50に帰属させることもできたが、N末端アミノ酸近位のプロテアソーム除去が起こる可能性は低い。N末端シーケンシング（以下）は31～49への帰属を確証する。

**質量に基づけば、この断片は33～68も表し得る。以下のN末端シーケンシングは31～65への帰属と一致している。

10

20

【0165】

【表5】

表5

プロテアソームにより生成した断片による予測HLA結合

配列番号	ペプチド	HLA	SYFPEITHI	NIH
11	FSKEEWEKM	B*3501	NP†	90
12	KMKASEKIF	B*08	17	<5
13 & (14)	(K)MKASEKI FY	A1	19 (19)	<5
15 & (16)	(M)KASEKIF YV	A*0201	22 (16)	1017
		B*08	17	<5
		B*5101	22 (13)	60
		B*5102	NP	133
		B*5103	NP	121
17 & (18)	(K)ASEKIFY VY	A1	34 (19)	14
19 & (20)	(K)RKYEA MTKL	A*0201	15	<5
		A26	15	NP
		B14	NP	45 (60)
		B*2705	21	15
		B*2709	16	NP
		B*5101	15	<5
21	KYEAMTKLGF	A1	16	<5
22	YEAMTKLGF	A24	NP	300
23	EAMTKLGF	B*4403	NP	80
		B*08	22	<5

†予測なし

【0166】

表5にみられるように、エピトープへの確証的配列のN末端付加は、同じか、または異なるMHC制限要素に関するエピトープを生成することができる。特に、(K)RKYEA
MTKL(配列番号19および(20))のHLA-B14との対形成(ここでは10量体は同時C末端の9量体よりも長い解離の予測半減期を有する)に留意されたい。また、HLA-B*4403およびHLA-B*08に関するエピトープを創出するために、N末端トリミングに依存することにより、幾つかのMHC型とともに有用なワクチンとして使用することができる10量体KYEAMTKLGF(配列番号21)の場合にも留意されたい。

【0167】

6.HLA-A0201結合アッセイ:

候補エピトープKASEKIFYV、すなわちSSX-2₄₁~₄₉(配列番号15)のHLA-A2.1への結合を、Stauss等の方法(Proc Natl Acad Sci USA 89(17):7871-5(1992))の変法を用いてアッセイした。具体的には、表面上で空のMHC分子または不安定なMHC分子を発現するT2細胞を、Iscove改変Dulbecco培地(IMDM)で2度洗浄し

10

20

30

40

50

て、 $3 \mu g / ml$ でヒト 2 - ミクログロブリン (Sigma, St. Louis, MO) を添加した無血清 A I M 培地 (Life Technologies, Inc., Rockville, MD) 中で一晩培養して、96 ウェル平底プレート中で、 3×10^5 個の細胞 / $200 \mu l$ / ウェルで、800、400、200、100、50、25、12.5、および $6.25 \mu g / ml$ でペプチドを添加した。再度ピペッティングすることによりペプチドを細胞と混合した後、プレートに分配し（あるいは、ペプチドを個々のウェルに添加することができる）、プレートを 2 分間穏やかに振とうした。インキュベーションは、37 度 5% CO₂ インキュベータ中で行った。翌日、無血清 R P M I 培地で 2 度洗浄することにより、未結合のペプチドを除去し、飽和量の抗クラス I H L A モノクローナル抗体であるフルオレセインイソチオシアネート (F I T C) - 結合抗 H L A A 2 , A 2 8 (One Lambda, Canoga Park, CA) を添加した。
10 4 度 30 分間インキュベーションした後、0.5% B S A、0.05% (w/v) アジ化ナトリウムを添加した P B S (pH 7.4 ~ 7.6、染色緩衝液) で 3 回洗浄した。（あるいは、W 6 / 32 (Sigma) を抗クラス I H L A モノクローナル抗体として使用することができ、細胞を染色緩衝液で洗浄した後、フルオレセインイソチオシアネート (F I T C) 結合ヤギ F (ab') 抗マウス - I g G (Sigma) とともに 4 度 30 分間インキュベートし、上述のように 3 回洗浄することができる）。細胞を染色緩衝液 0.5 ml 中の再懸濁させた。ペプチド結合により安定化される表面 H L A - A 2 . 1 分子の解析は、F A C S c a n (Becton Dickinson, San Jose, CA) を用いて、フローサイトメトリーにより実施した。フローサイトメトリーがすぐに実施されない場合は、1/4 容量の 2% パラホルムアルデヒドを添加して、暗所において 4 度保管することにより、細胞を固定することができる。
20

【0168】

実験結果を図 5 に示す。S S X - 2_{41 ~ 49} (配列番号 15) は、陽性対照として使用される既知の A 2 . 1 バインダー E L P S D Y F P S V (H B V_{18 ~ 27}、配列番号 24) と同程度に、H L A - A 2 . 1 に結合することがわかった。H L A - B 4 4 結合ペプチドである A E M G K Y S F Y (配列番号 25) を陰性対照として使用した。陰性対照から得られる蛍光は、アッセイでペプチドを使用しない場合に得られるシグナルと類似していた。陽性および陰性対照ペプチドは、Current Protocols in Immunology p.18.3.2, John Wiley and Sons, New York, 1998 中の表 18 . 3 . 1 から選択した。

【0169】

7. 免疫原性：

A. マウスの in vivo 免疫

H H D 1 トランスジェニック A^{*} 0 2 0 1 マウス (Pascolo, S., et al. J. Exp. Med. 185:2043-2051, 1997) を麻酔して、I F A (不完全フロイントアジュバント) $50 \mu l$ を乳化させた P B S 中に S S X - 2_{41 ~ 49} (配列番号 15) $100 nmol$ および H T L 工ピトープペプチド $20 \mu g$ を含有する $100 \mu l$ を用いて、外側尾静脈を避けて、尾の基部に皮下注射した。
30

【0170】

B. 刺激用細胞 (L B S 芽細胞) の調製

免疫したマウスの各群に対して 2 匹のナイーブマウスからの脾臓を用いて、非免疫マウスを屠殺して、死体をアルコール中に入れた。滅菌器具を用いて、マウスの左側（中央下部）上に皮膚の最上皮層を切り出し、腹膜を露出させた。腹膜をアルコールに浸し、脾臓を無菌で摘出した。脾臓を無血清培地の入ったペトリ皿に入れた。3 ml シリンジからの滅菌プランジャーを用いて脾臓をつぶして、脾細胞を単離した。細胞を 50 ml コニカル管中で無血清培地中に回収して、皿を十分にすすいだ。細胞を遠心分離して (12000 rpm、7 分)、R P M I で一度洗浄した。新鮮な脾臓細胞を R P M I - 10% F C S (ウシ胎児血清) 中に、1 ml 当たり 1×10^6 個の細胞の濃度で再懸濁させた。25 g / ml のリポ多糖および $7 \mu g / ml$ の硫酸デキストランを添加した。細胞を、T - 75 フラスコ中で 37 度にて 3 日間、5% CO₂ とともにインキュベートした。脾臓芽細胞を 50 ml 管に回収し、ペレット化し (12000 rpm、7 分)、R P M I 中に 3×10^7
40

/ m¹へと再懸濁した。芽細胞を、50 μg / m¹で初回刺激用ペプチドにより、室温で4時間パルス標識し、25 μg / m¹で、37℃にて20分間、マイトマイシンCで処理して、D MEMで3回洗浄した。

【0171】

C. in vitro 刺激

芽細胞のLPS刺激の3日後、およびペプチド負荷と同日に、初回刺激したマウスを屠殺して（免疫後14日目）上述のように脾臓を取り出した。3 × 10⁶個の脾細胞を、10% FCS、5 × 10⁻⁵M - メルカプトエタノール、100 μg / m¹ストレプトマイシン、および100 IU / m¹ペニシリンを添加したD MEM培地中、5% CO₂で、24ウェルプレート中で37℃にて1 × 10⁶個のLPS芽細胞 / ウェルと共に培養した。3日目に培養物に5% (v₀l / v₀l) Con A上清を供給し、7日目に、⁵¹Cr - 放出アッセイにおいて細胞溶解活性についてアッセイした。

【0172】

D. CTL活性を測定するクロム放出アッセイ

ペプチド特異的溶解を評価するために、2 × 10⁶個のT2細胞を、50 μg / m¹のペプチドと一緒に100 μCiのクロム酸ナトリウムとともに37℃にて1時間インキュベートした。インキュベーション中、それらを15分毎に穏やかに振とうした。標識および負荷後、D MEM - 10% FCS 10m¹で細胞を3回洗浄し、上清を捨てた後、新しいキムワイプで各チューブを拭った。標的細胞を、D MEM - 10% FBS中に1 × 10⁵ / m¹で再懸濁させた。エフェクター細胞をD MEM - 10% FCS中に1 × 10⁷ / m¹に調節し、エフェクターの段階3倍希釈物100 μlをU底96ウェルプレート中に調製した。ウェル1つ当たり標的細胞100 μlを添加した。自発的放出および最大放出を決定するために、標的細胞100 μlを含有する6つのさらなるウェルを各標的に關して調製した。自発的放出は、標的細胞を培地100 μlとインキュベートすることにより明らかとなり、最大放出は、標的細胞を2% SDS 100 μlとインキュベートすることにより明らかとなった。続いて、プレートを600 rpmで5分間遠心分離して、5% CO₂および80% 湿度中、37℃で4時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを1200 rpmで5分間遠心分離した。上清を回収して、カウンターを用いて計数した。特異的溶解は以下のように決定した：特異的放出% = [(実験放出 - 自発的放出) / (最大放出 - 自発的放出)] × 100。

【0173】

ペプチドでパルス標識した標的細胞の特異的溶解を示すクロム放出アッセイの結果を図6に示す。

【0174】

8. 他のSSXタンパク質との交差反応性：

SSX-2_{41~49}（配列番号15）は、他のSSXタンパク質の同じ領域と高度の配列同一性を共有する。周辺領域もまた一般に十分に保存されていた。したがって、ハウスキーピングプロテアソームは、5個すべての配列においてV₄₉後に切断することができる。さらに、SSX_{41~49}はHLA-A*0201を結合すると予測される（表6を参照）。SSX-2_{41~49}による免疫により生成されるCTLは、他のSSXタンパク質を発現する腫瘍細胞と交差反応する。

【0175】

10

20

30

40

【表6】

表6

SSX_{41~49}-A*0201予測結合

配列番号	ファミリー成員	配列	SYFPEITHI スコア	NIH スコア
15	SSX-2	KASEKIFYV	22	1017
26	SSX-1	KYSEKISYV	18	1.7
27	SSX-3	KVSEKIVYV	24	1105
28	SSX-4	KSSEKIVYV	20	82
29	SSX-5	KASEKIIYV	22	175

【0176】

実施例4

10

クラスター解析 (PSMA_{163~192})

20

前立腺特異的膜抗原由来のA1エピトープクラスターであるPSMA_{168~190}(配列番号31)を含有するペプチドAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERD M、すなわちPSMA_{163~192}(配列番号30)を、433AABIペプチド合成機で、標準的な固相F-moc化学を用いて合成した。側鎖脱保護および樹脂からの切り出し後、まずギ酸中に溶解し続いて30%酢酸へ希釈したペプチドを、以下の条件：4ml/分の流速で線形AB勾配(5%B/分)(ここで、溶離液Aは0.1%TFA水溶液であり、溶離液Bはアセトニトリル中の0.1%TFAである)で、逆相分取HPLC C4カラムに流した。質量分析により判断されるように、予測ペプチドを含有する16.642分時点での画分をプールして、凍結乾燥した。次に、本質的に上述のように、ペプチドをプロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表7に要約する。

30

【0177】

【表7】

表7

P SMA_{163~192}質量ピーク同定

ペプチド	配列	計算質量 (MH ⁺)
163-177	AFSPQGMPEGDLVYV	1610.0
178-189	NYARTEDFFKLE	1533.68
170-189	PEGDLVYVNYARTEDFFKLE	2406.66
178-191	NYARTEDFFKLERD	1804.95
170-191	PEGDLVYVNYARTEDFFKLERD	2677.93
178-192	NYARTEDFFKLERDM	1936.17
163-176	AFSPQGMPEGDLVY	1511.70
177-192	VNYARTEDFFKLERDM	2035.30
163-179	AFSPQGMPEGDLVYVNY	1888.12
180-192	ARTEDFFKLERDM	1658.89
163-183	AFSPQGMPEGDLVYVNYARTE	2345.61
184-192	DFFKLERDM	1201.40
176-192	YVNYARTEDFFKLERDM	2198.48
167-185	QGMPEGDLVYVNYARTEDF	2205.41
178-186	NYARTEDFF	1163.22

太字体の配列は、MH Cに結合すると予測されるペプチドに相当する。

表8を参照。

40

【0178】

N末端プール配列解析

プロテアソーム消化の1時間目のアリコートの1つ（上記実施例3のパート3を参照）を、 ABI 473 A タンパク質シーケンサー(Applied Biosystems, Foster City, CA)によりN末端アミノ酸配列解析に付した。切断の部位および効率の決定は、配列サイクル、タンパク質シーケンサーの反復収率、および解析した配列中に特有のアミノ酸の相対収率の考慮に基づいていた。すなわち、特有（解析した配列中の）残基Xがn番目のサイクルのみに出現する場合、切断部位は、N末端方向でその前のn-1残基に存在する。配列

50

に対する質量の帰属における任意の曖昧性を解決するのを助長するほかに、これらのデータはまた質量分析よりも、様々な断片の相対収率のより信頼性の高い徴候を提供する。

【0179】

P S M A_{163 ~ 192}（配列番号30）に関して、このプールシーケンシングは、V₁₇₇後の単一の主要な切断部位、および幾つかの少量の切断部位（特にY₁₇₉後のもの）を支持する。図7A～図7Cに提示した結果を参考することにより以下のことが明らかとなる：

3番目のサイクルにあるSは、基質のN末端の存在を示す。

5番目のサイクルにあるQは、基質のN末端の存在を示す。

1番目のサイクルにあるNは、V₁₇₇後の切断を示す。

3番目のサイクルにあるNは、V₁₇₅後の切断を示す。表7の断片176～192を留意されたい。10

5番目のサイクルにあるTは、V₁₇₇後の切断を示す。

1番目～3番目のサイクルにあるTは、R₁₈₁、A₁₈₀、およびY₁₇₉後より一般的な切断を示す。これらのうちの最後のみが、質量分析により検出されるピーク、163～179および180～192に相当する。表7を参照。他のものが存在しないことは、それらが質量スペクトルにおいて検査されたものよりも小さい断片上に存在することを示すことができる。

4番目、8番目、および10番目のサイクルにあるKは、それぞれE₁₈₃、Y₁₇₉、およびV₁₇₇後の切断を示し、そのすべてが、質量分析により観察される断片に相当する。表7を参照。20

1番目および3番目のサイクルにあるAは、それぞれ基質のN末端の存在、およびV₁₇₇後の切断を示す。

4番目および8番目のサイクルにあるPは、基質のN末端の存在を示す。

6番目および10番目のサイクルにあるGは、基質のN末端の存在を示す。

7番目のサイクルにあるMは、基質のN末端の存在、および/またはF₁₈₅後の切断を示す。30

15番目のサイクルにあるMは、V₁₇₇後の切断を示す。

1番目のサイクルは、D₁₉₁後の切断を示し得る。表7を参照。

4番目および13番目のサイクルにあるRは、V₁₇₇後の切断を示す。

2番目および11番目のサイクルにあるRは、Y₁₇₉後の切断を示す。30

2番目、6番目、および13番目のサイクルにあるVは、それぞれV₁₇₅、M₁₆₉後の切断、および基質のN末端の存在を示す。表7の176および170で始まる断片に留意されたい。

1番目、2番目、および14番目のサイクルにあるYは、それぞれV₁₇₅、V₁₇₇後の切断、および基質のN末端の存在を示す。

11番目および12番目のサイクルにあるLは、それぞれV₁₇₇後の切断、および基質のN末端の存在を示し、他のデータと最も一致した解釈である。質量分析と比較して、本発明者等は、2番目、5番目、および9番目のサイクルにあるLは、それぞれF₁₈₆、E₁₈₃またはM₁₆₉、およびY₁₇₉後の切断と一致している。表7を参照。40

【0180】

エピトープ同定

SYFPEITHIまたはNIHアルゴリズムによりHLAを結合することが予測される8～10アミノ酸長の配列が同時にC末端にある断片をさらなる解析用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測HLA-A1結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他のMHC分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表8に示す。

【0181】

【表8】

表8

プロテアソームにより生成した断片による予測HLA結合

配列番号	ペプチド	HLA	SYFPEITHI	NIH
32 & (33)	(G)MPEGDL VYV	A*0201	17(27)	(2605)
		B*0702	20	<5
		B*5101	22	314
34 & (35)	(Q)GMPEGD LVY	A1	24(26)	<5
		A3	16(18)	36
		B*2705	17	25
		B*5101	15	NP†
37 & (38)	(P)EGDLVY VNY	A1	27(15)	12
		A26	23(17)	NP
39	LVYVNYART E	A3	21	<5
40 & (41)	(Y)VNYART EDF	A26	(20)	NP
		B*08	15	<5
		B*2705	12	50
42	NYARTEDFF	A24	NP†	100
43	YARTEDFF	Cw*0401	NP	120
		B*08	16	<5
44	RTEDFFKLE	A1	21	<5
		A26	15	NP

†予測なし

【0182】

HLA - A*0201結合アッセイ：

HLA - A*0201結合研究を、本質的に上記実施例3に記載するように、PSMA_{68~177}、すなわちGMPEGDLVYV（配列番号33）を用いて実施した。図8に見られるように、このエピトープは、陽性对照ペプチドよりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。このアッセイ（およびこの開示全体にわたって）対照として使用されるMelan-AペプチドであるELAGIGILTVは、実際に天然配列（EAAGIGILTV）の変異体であり、このアッセイにおいて高親和性を示す。

【0183】

実施例5

クラスター解析（PSMA_{281~310}）

前立腺特異的膜抗原由来のA1エピトープクラスターであるPSMA_{283~307}（配列番号46）を含有する別のペプチドであるRGIAEAvgLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMG、すなわちPSMA_{281~310}（配列番号45）を、433AABIペプチド合成機で、標準的な固相F-moc化学を用いて合成した。側鎖脱保護および樹脂

10

20

30

40

50

からの切り出し後、d d H₂O 中のペプチドを、以下の条件：4 ml / 分の流速で線形 A B 勾配（5 % B / 分）（ここで、溶離液 A は 0 . 1 % T F A 水溶液であり、溶離液 B はアセトニトリル中の 0 . 1 % T F A である）で、逆相分取 H P L C C 18 カラムに流した。質量分析により判断されるように、予測ペプチドを含有する 17 . 061 分時点での画分をプールして、凍結乾燥した。次に、本質的に上述のように、ペプチドをプロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表 9 に要約する。

【 0 1 8 4 】

【表9-1】

表9

P S M A_{281~310} 質量ピーク同定

ペプチド	配列	計算質量 (MH ⁺)
281-297	RGIAEAVGLPSIPVHPI*	1727.07
286-297	AVGLPSIPVHPI**	1200.46
287-297	VGLPSIPVHPI	1129.38
288-297	GLPSIPVHPI	1030.25
298-310	GYYDAQKLLEKMG	1516.5
298-305	GYYDAQKLS	958.05
281-305	RGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKL	2666.12
281-307	RGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKL LE	2908.39
286-307	AVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLE#	2381.78
287-307	VGLPSIPVHPIGYYDAQKLLE	2310.70
288-307	GLPSIPVHPIGYYDAQKLLE#	2211.57
281-299	RGIAEAVGLPSIPVHPIGY	1947
286-299	AVGLPSIPVHPIGY	1420.69
287-299	VGLPSIPVHPIGY	1349.61
288-299	GLPSIPVHPIGY	1250.48
287-310	VGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMG	2627.14

10

20

30

40

【表 9 - 2】

288-310	GLPSIPVHPIGYYDAQKLLKEKMG	2528.01
---------	---------------------------------	---------

太字体の配列は、MHCに結合すると予測されるペプチドに相当する。

表10を参照。

*質量のみに基づけば、このピークは296~310または288~303でもあり得る。 10

**質量のみに基づけば、このピークは298~307でもあり得る。HPLCおよび質量分析の組合せは、幾つか後の時点で、このピークは両方の種の混合物であることを示す。

†質量のみに基づけば、このピークは289~298でもあり得る。

#質量のみに基づけば、このピークは281~295または294~306でもあり得る。

§質量のみに基づけば、このピークは297~303でもあり得る。

¶質量のみに基づけば、このピークは285~306でもあり得る。 20

#質量のみに基づけば、このピークは288~303でもあり得る。

これらの代替的帰属のいずれもN末端プール配列解析で支持されない。 20

【0185】

N末端プール配列解析

プロテアソーム消化の1時間目のアリコートの1つ(上記実施例3のパート3を参照)を、ABI 473Aタンパク質シーケンサー(Applied Biosystems, Foster City, CA)によりN末端アミノ酸配列解析に付した。切断の部位および効率の決定は、配列サイクル、タンパク質シーケンサーの反復収率、および解析した配列中に特有のアミノ酸の相対収率の考慮に基づいていた。すなわち、特有(解析した配列中の)残基Xがn番目のサイクルのみに出現する場合、切断部位は、N末端方向でその前のn-1残基に存在する。配列に対する質量の帰属における任意の曖昧性を解決するのを助長するほかに、これらのデータはまた質量分析よりも、様々な断片の相対収率のより信頼性高い徴候を提供する。 30

【0186】

PSMA_{281~310}(配列番号45)に関して、このプールシーケンシングは、他の少量の切断部位の中でも、V₂₈₇およびI₂₉₇後の2つの主要な切断部位を支持する。図9に提示した結果を参考することにより以下のことが明らかとなる:

4番目および11番目のサイクルにあるSは、それぞれV₂₈₇後の切断、および基質のN末端の存在を示す。

8番目のサイクルにあるHは、V₂₈₇後の切断を示す。10~11にかけて存在する高さの低下に対して、位置9および位置10のピーク高さの衰退の欠如は、シーケンシング反応における潜伏期を表すピークではなく、同様にA₂₈₆およびE₂₈₅後の切断を示唆する。 40

2番目、4番目、および7番目のサイクルにあるDは、それぞれY₂₉₉、I₂₉₇、およびV₂₉₄後の切断を示す。この最後の切断は、表10中の断片にいずれにおいても、あるいは以下の注釈における代替的帰属においても観察されない。

6番目のサイクルにあるQは、I₂₉₇後の切断を示す。

10番目および12番目のサイクルにあるMは、それぞれY₂₉₉、およびI₂₉₇後の切断を示す。

【0187】

10

20

30

40

50

エピトープ同定

S Y F P E I T H I または N I H アルゴリズムにより H L A を結合することが予測される 8 ~ 10 アミノ酸長の配列が同時に C 末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測 H L A - A 1 結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他の M H C 分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表 10 に示す。

【0188】

【表 10】

表 10

プロテアソームにより生成した断片：P S M A_{281~310}による予測 H L A 結合

配列番号	ペプチド	HLA	SYFPEITHI	NIH
47 & (48)	(G)LPSIP VHPPI	A*0201	16 (24)	(24)
		B*0702/B7	23	12
		B*5101	24	572
		Cw*0401	NP†	20
49 & (50)	(P)IGYYD AQKL	A*0201	(16)	<5
		A26	(20)	NP
		B*2705	16	25
		B*2709	15	NP
		B*5101	21	57
		Cw*0301	NP	24
51 & (52)	(P)SIPVH PIGY	A1	21 (27)	<5
		A26	22	NP
		A3	16	<5
		B*5101	16	NP
53	IPVHPIGY			
54	YYDAQKLL E	A1	22	<5

†予測なし

10

20

30

40

【0189】

表 10 に見られるように、エピトープへの確証的配列の N 末端付加は、同じかまたは異なる M H C 制限要素に関するさらに有用な一層優れたエピトープを生成することができる。例えば、(G)LPSIPVHPPI の H L A - A * 0 2 0 1 との対形成（ここでは 10 量体は H L A - B 7 、 H L A - B * 5 1 0 1 、および H L A - C w * 0 4 0 1 に関するエピトープを創出するために、N 末端トリミングに依存することにより、幾つかの M H C 型とともに有用なワクチンとして使用することができる）に留意されたい。

【0190】

H L A - A * 0 2 0 1 結合アッセイ：

H L A - A * 0 2 0 1 結合研究を、本質的に上記実施例 3 および実施例 4 に記載するよ

50

うに、P S M A_{288~297}、すなわち G L P S I P V H P I (配列番号 48) を用いて実施した。図 8 に見られるように、このエピトープは、陽性対照ペプチドよりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。

【0191】

実施例 6

クラスター解析 (P S M A_{454~481})

前立腺特異的膜抗原由来のエピトープクラスターを含有する別のペプチドである S S I E G N Y T L R V D C T P L M Y S L V H L T K E L、すなわち P S M A_{454~481} (配列番号 55) を、M P S により合成し (純度 95% を上回る)、上述のように、プロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表 1 1 に要約する。

10

【0192】

【表 1 1】

表 1 1

P S M A_{454~481} 質量ピーク同定

MS ピーク (測定値)	ペプチド	配列	計算質量 (M ^{H+})
1238.5	454-464	SSIEGNYTLRV	1239.78
1768.38±0.60	454-469	SSIEGNYTLRVDCTPL	1768.99
1899.8	454-470	SSIEGNYTLRVDCTPLM	1900.19
1097.63±0.91	463-471	RVDCTPLMY	1098.32
2062.87±0.68	454-471*	SSIEGNYTLRVDCTPLMY	2063.36
1153	472-481**	SLVHNLTKE	1154.36
1449.93±1.79	470-481	MYSLVHNLTKE	1448.73

20

30

太字体の配列は、MHC に結合すると予測されるペプチドに相当する。表 1 2 を参照。

*質量のみに基づけば、このピークは同様にペプチド 455~472 に帰属させることができたが、N 末端アミノ酸近位のプロテアソーム除去が起こる可能性は低いとみなされる。この問題が重要である場合は、N 末端シーケンシングにより解決することができる。

**質量に基づけば、この断片は 455~464 も表し得る。

40

【0193】

エピトープ同定

S Y F P E I T H I または N I H アルゴリズムにより H L A を結合することが予測される 8~10 アミノ酸長の配列が同時に C 末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測 H L A - A 2 . 1 結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他の MHC 分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表 1 2 に示す。

【0194】

【表12】

表12

プロテアソームにより生成した断片による予測HLA結合

配列番号	ペプチド	HLA	SYFPEITHI	NIH
56 & (57)	(S)IEGNYTL RV	A1	(19)	<5
58	EGNYTLRV	A*0201	16(22)	<5
		B*5101	15	NP†
59 & (60)	(Y)TLRVDCT PL	A*0201	20(18)	(5)
		A26	16(18)	NP
		B7	14	40
		B8	23	<5
		B*2705	12	30
		Cw*0301	NP	(30)
61	LRVDCTPLM	B*2705	20	600
		B*2709	20	NP
62 & (63)	(L)RVDCTPL MY	A1	32(22)	125(13.5)
		A3	25	<5
		A26	22	NP
		B*2702	NP	(200)
		B*2705	13(NP)	(1000)

†予測なし

10

20

30

40

【0195】

表12に見られるように、エピトープへの確証的配列のN末端付加は、同じか、または異なるMHC制限要素に関する、さらに有用な一層優れたエピトープを生成することができることが多い。例えば、(L)RVDCTPLMY(配列番号62および(63))のHLA-B*2702/5との対形成(ここでは10量体は解離の実質的予測半減期を有し、同時C末端の9量体はそれを有さない)に留意されたい。また、エピトープを創出するために、N末端トリミングに依存することにより、HLA-B*5101とともに有用なワクチンとして使用することができる予測HLA-A*0201エピトープであるSEGNYTLRV(配列番号57)の場合にも留意されたい。

【0196】

HLA-A*0201結合アッセイ:

HLA-A*0201結合研究を、本質的に上記実施例3に記載するように、PSMA_{60~469}、すなわちTLRVDCTPL(配列番号60)を用いて実施した。図10に見られるように、このエピトープは、陽性対照として使用される既知のA2.1バインダーフルコンピューターモデル(FPSDVPSV(HBV_{18~27}、配列番号24))と同程度に、HLA-A2.1を結合することがわかった。さらに、PSMA_{461~469}(配列番号59)はほぼ同様に結合する。

【0197】

ELISPOT解析: PSMA_{463~471}(配列番号62)

50

ニトロセルロースをコートしたマイクロタイプレートのウェルを、 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ のコーティング緩衝液 (35 mM 炭酸水素ナトリウム、15 mM 炭酸ナトリウム、pH 9.5) 中のマウス抗ヒト - IFNモノクローナル抗体 $50 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ を用いて、4で一晩インキュベートすることにより、捕捉抗体でコーティングした。未結合の抗体を、PBSで5分間4回洗浄することにより除去した。続いて、膜上の未結合部位を、10%血清を含有する RPMI 培地 $200 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ を添加して、室温で1時間インキュベートすることによりブロックした。1:3の段階希釈物の抗原刺激 CD8⁺T細胞を、 $100 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ を用いてマイクロタイプレートのウェルに播種して、 2×10^5 個の細胞 / ウェルから開始した(先立っての抗原刺激は、本質的に Scheibenbogen, C. et al. Int. J. Cancer 71:932-936, 1997 に記載される通りであった)。PSMA_{462~471}(配列番号 62)を、最終濃度 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように、IL-2を $100 \text{U}/\text{ml}$ となるように添加して、細胞を 5% CO₂の水飽和雰囲気中で 37° で 4 時間培養した。このインキュベーション後、プレートを、0.05%ツイーン 20 を含有する PBS (PBS - ツイーン) 200 μl / ウェルで 6 回洗浄した。検出抗体である、 $2 \text{g}/\text{ml}$ の PBS + 10%ウシ胎児血清中のビオチン化マウス抗ヒト - IFNモノクローナル抗体 $50 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ を添加して、プレートを室温で 2 時間インキュベートした。未結合の検出抗体を、PBS - ツイーン 200 μl で 4 回洗浄することにより除去した。アビジン結合ホースラディッシュペルオキシダーゼ(Pharmingen, San Diego, CA) 100 μl を各ウェルに添加して、室温で 1 時間インキュベートした。未結合の酵素を、PBS - ツイーン 200 μl で 6 回洗浄することにより除去した。N,N-ジメチルホルムアミド 2.5 ml 中に 3 - アミノ - 9 - エチルカルバゾールの 20 mg の錠剤を溶解させて、その溶液に 0.05 M リン酸 - クエン酸緩衝液 (pH 5.0) 47.5 ml を添加することにより基質を調製した。30% H₂O₂ 25 μl を基質溶液に添加した直後に、 $100 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ で基質を分配して、プレートを室温でインキュベートした。着色後(一般に 15 ~ 30 分)、プレートを水で洗浄することにより、反応を停止させた。プレートを風乾させて、立体顕微鏡を用いて、スポットを計数した。

【0198】

図 11 は、自己樹状細胞 + ペプチドとの HLA - A1⁺CD8⁺T細胞の培養物において予め生成された PSMA_{463~471}(配列番号 62) 反応性 HLA - A1⁺CD8⁺T細胞の検出を示す。ペプチドなしの培養物からは反応性は検出されない(データは示さず)。この場合、ペプチド反応性 T細胞が 2.2×10^4 分の 1 ~ 6.7×10^4 分の 1 の頻度で培養物中に存在することが理解され得る。これが本当に HLA - A1 制限応答であることは、抗 HLA - A1 モノクローナル抗体の、 - IFN 産生を阻止する能力により実証される。図 12 を参照されたい。

【0199】

実施例 7

クラスター解析 (PSMA_{653~687})

前立腺特異的膜抗原由来の A2エピトープクラスターである PSMA_{660~681}(配列番号 65)を含有する別のペプチドである FDKS N P I V L R M M N D Q L M F L E R A F I D P L G L P D R P F Y、すなわち PSMA_{653~687}(配列番号 64)を、MPSにより合成し(純度 95% を上回る)、上述のように、プロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表 13 に要約する。

【0200】

10

20

30

40

【表13】

表13

P S M A_{653~687} 質量ピーク同定

MS ピーク (測定値)	ペプチド	配列	計算質量 (MH ⁺)
906.17±0.65	681-687**	LPDRPFY	908.05
1287.73±0.76	677-687**	DPLGLPDRPFY	1290.47
1400.3±1.79	676-687	IDPLGLPDRPFY	1403.63
1548.0±1.37	675-687	FIDPLGLPDRPFY	1550.80
1619.5±1.51	674-687**	AVIDPLGLPDRPFY	1621.88
1775.48±1.32	673-687*	RAFIDPLGLPDRPFY	1778.07
2440.2±1.3	653-672	FDKSNPIVLRMMNDQLMFLE	2442.93
1904.63±1.56	672-687*	ERAVIDPLGLPDRPFY	1907.19
2310.6±2.5	653-671	FDKSNPIVLRMMNDQLMFL	2313.82
2017.4±1.94	671-687	LERAVIDPLGLPDRPFY	2020.35
2197.43±1.78	653-670	FDKSNPIVLRMMNDQLMF	2200.66

太字体の配列は、MHCに結合すると予測されるペプチドに相当する。表13を参照。

*質量のみに基づけば、このピークは同様に654から始まるペプチドに帰属させることができたが、N末端アミノ酸近位のプロテアソーム除去が起こる可能性は低いとみなされる。この問題が重要である場合は、N末端シーケンシングにより解決することができる。

**質量のみに基づけば、これらのピークは内部断片にも帰属させることができたが、消化の全体的なパターンを考慮すると、それは可能性が低いとみなされた。

【0201】

エピトープ同定

10

20

30

40

50

SYFPEITHI または NIH アルゴリズムにより HLA を結合することが予測される 8 ~ 10 アミノ酸長の配列が同時に C 末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測 HLA - A2 . 1 結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他の MHC 分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表 14 に示す。

【0202】

【表 14】

表 14

プロテアソームにより生成した断片による予測 HLA 結合

配列番号	ペプチド	HLA	SYFPEITHI	NIH
66 & (67)	(R)MMNDQLMF L	A*0201	24 (23)	1360 (722)
		A*0205	NP†	71 (42)
		A26	15	NP
		B*2705	12	50
68	RMMNDQLMF	B*2705	17	75

†予測なし

10

20

30

40

50

【0203】

表 14 に見られるように、エピトープへの確証的配列の N 末端付加は、同じか、または異なる MHC 制限要素に関する、さらに有用な一層優れたエピトープを生成することができる。例えば、(R) M M N D Q L M F L (配列番号 66 および (67)) の HLA - A * 02 との対形成（ここでは 10 量体は実質的予測結合ポテンシャルを有する）に留意されたい。

【0204】

HLA - A * 0201 結合アッセイ：

HLA - A * 0201 結合研究を、本質的に上記実施例 3 に記載するように、PSMA_{63 ~ 671} (配列番号 66) 、および PSMA_{662 ~ 671} 、すなわち RMMNDQLMFL (配列番号 67) を用いて実施した。図 10 、図 13 および図 14 に見られるように、このエピトープは、陽性対照ペプチド (F L P S D Y F P S V (H B V_{18 ~ 27}) 、配列番号 24) よりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。並行して実施してはないが、対照との比較は、PSMA_{662 ~ 671} (これは親和性において Melan A ペプチドに近い) はこれらの 2 つの PSMA ペプチドの優れた結合活性を有することを示唆する。

【0205】

実施例 8

エピトープワクチンによるワクチン接種

1. ペプチドワクチンによるワクチン接種：

A. 結節内送達

抗菌剤、酸化防止剤、および免疫調節性サイトカインを有する緩衝水溶液中にペプチドを含有する配合物を、インスリン送達用に開発された小型ポンピングシステム (MiniMed; Northridge, CA) を用いて単径リンパ節へ、数日かけて連続的に注入した。この注入周期は、自然感染中の抗原提示の動態を模倣するために選択された。

【0206】

B. 徐放

ペプチド配合物を、当該技術分野で既知であるように制御 PLGA ミクロスフェアを用いて送達する。これは、ペプチドの薬物動態を変更し、免疫原性を改善させる。この配合

物は、注射されるか、または経口摂取される。

【0207】

C. 遺伝子銃送達

当該技術分野で既知であるようにペプチドが金微粒子に接着されたペプチド配合物を調製する。粒子は遺伝子銃で送達され、皮膚を浸透するように高速に加速されることにより、p A P C を含有する皮膚組織へ粒子を運搬する。

【0208】

D. エーロゾル送達

肺中の適切な血管組織またはリンパ組織への取り込みのために、当該技術分野で既知であるように、ペプチド配合物をエーロゾルとして吸入する。

10

【0209】

2. 核酸ワクチンによるワクチン接種：

核酸ワクチンを、M i n i M e d インスリンポンプのような小型ポンピングシステムを用いて、リンパ節に注入する。抗菌剤、酸化防止剤、および免疫調節性サイトカインを含有する緩衝水溶液中に配合された核酸構築物を、天然感染中の抗原提示の動態を模倣するために、数日の注入周期にわたって送達する。

【0210】

核酸構築物は、P L G A ミクロスフェアまたは他の生分解性物質のような徐放性物質を用いて任意に送達される。これらの物質は、注射されるかまたは経口摂取される。核酸ワクチンは、経口送達を用いて付与され、G A L T 組織への取り込みを通じて免疫応答を初回刺激する。あるいは、核酸ワクチンは遺伝子銃を用いて送達され、ここでは核酸ワクチンは微小金粒子に接着される。核酸構築物はまた、肺中の適切な血管組織またはリンパ組織への取り込みのためにエーロゾルとして吸入することができる。

20

【0211】

実施例 9

エピトープワクチンに関する有効性に関するアッセイ

1. 四量体解析：

クラス I 四量体解析を用いて、ハウスキーピングエピトープの投与前および後の動物における T 細胞頻度を測定する。エピトープに応答した T 細胞のクローン増殖は、エピトープが p A P C により T 細胞に提示されることを示す。特異的 T 細胞頻度を動物へのエピトープの投与前および後にハウスキーピングエピトープに対して測定して、エピトープが p A P C 上に存在するかどうかを測定する。投与後のエピトープに特異的な T 細胞の頻度の増加は、エピトープが p A P C 上に提示されたことを示す。

30

【0212】

2. 増殖アッセイ：

動物をハウスキーピングエピトープでワクチン接種したおよそ 24 時間後に、アフィニティ精製用の磁気ビーズに固定した、p P A C 上に存在する特定マーカーに対するモノクローナル抗体を用いて、P B M C 、脾細胞、またはリンパ節細胞から p A P C を回収する。粗製血液または脾細胞調製物に、この技法を用いて p A P C を富化させる。次に、富化した p A P C を、生成され、かつ所定のハウスキーピングエピトープに特異的な T 細胞クローンに対する増殖アッセイに使用する。p A P C を、T 細胞クローンと同時インキュベートし、T 細胞による放射標識チミジンの組み込みを測定することにより増殖活性に関して T 細胞をモニタリングする。増殖は、ハウスキーピングエピトープに特異的な T 細胞が p A P C 上のそのエピトープにより刺激されることを示す。

40

【0213】

3. クロム放出アッセイ：

ヒト患者、またはヒトクラス I M H C を発現するように遺伝子操作した非ヒト動物を、ハウスキーピングエピトープを用いて免疫する。免疫した被験体からの T 細胞を、同じクラス I M H C を発現するように操作したヒト腫瘍標的（単数または複数）を用いた標準的なクロム放出アッセイで使用する。標的の T 紡錘による死滅は、患者における T 紡錘

50

刺激が類似の T u A A を発現する腫瘍を死滅させるのに効果的であることを示す。

【 0 2 1 4 】

実施例 1 0

裸の DNA による CTL 応答の誘発は、リンパ節内免疫により効果的である

種々の免疫経路により誘発される CD 8⁺CTL 応答を定量的に比較するために、以下の系は抗ウイルス C I L 応答の包括的な評価が可能であるため、LCMV - 糖タンパク質 (G) 由来の十分に特異化された免疫優性 CTL エピトープ (gp 33、アミノ酸 33 ~ 41) (Oehen, S., et al. Immunology 99, 163-169 2000) を含有するプラスミド DNA ワクチン (p E G F P L 3 3 A) を使用した。2 匹の C 5 7 B L / 6 マウスの群を、i. m. (筋内)、i. d. (皮内)、i. s p l. (脾臓内)、または i. l n. (リンパ節内) に投与して、滴定用量 (200 ~ 0.02 μg) の p E G F P L 3 3 A DNA、または対照プラスミド p E G F P - N 3 で一度免疫した。陽性対象マウスには、500 pfu の LCMV を i. v. (静脈内) に施した。免疫の 10 日後、脾臓細胞を単離して、二次 i n v i t r o 再刺激後に gp 33 特異的 CTL 活性を決定した。図 15 に示すように、筋内または皮内免疫は、高用量の p E F G P L 3 3 A DNA (200 μg) を投与した場合に、弱々しく検出可能な CTL 応答を誘発した。対照的に、ほんの 2 μg の p E F G P L C 3 3 DNA を脾臓内で免疫することにより、またリンパ節内に付与した 0.2 μg 程度と少ない p E F G P L 3 3 A DNA で免疫することにより、強力な gp 33 特異的 CTL 応答が誘発された (図 15、記号は個々のマウスを表し、これらの類似の実験のうちの 1 つを示している)。対照 p E G F P - N 3 DNA による免疫は、いかなる検出可能な gp 33 特異的 CTL 応答も誘発しなかった (データは示さず)。
10
20

【 0 2 1 5 】

実施例 1 1

リンパ節内 DNA 免疫は抗腫瘍免疫性を誘発する

リンパ節内での免疫後に誘発される強力な CTL 応答は末梢腫瘍に対する防御を付与することが可能であるかどうかを調べるために、6 匹の C 5 7 B L / 6 マウスの群を、p E F G P L 3 3 A DNA または対照 p E G F P - N 3 DNA 10 μg で、6 日間隔で 3 回免疫した。最後の免疫の 5 日後に、gp 33 エピトープを発現する固形腫瘍 (EL 4 - 3 3) の小片を、両側腹部に皮下移植して、3 ~ 4 日毎に腫瘍成長を測定した。EL 4 - 3 3 腫瘍は、対照 p E G F P - N 3 DNA で繰り返して免疫したマウスにおいて十分に成長した (図 16) が、p E F G P L 3 3 A DNA でリンパ節内に免疫したマウスは、末梢 EL 4 - 3 3 腫瘍を迅速に根絶した (図 16)。
30

【 0 2 1 6 】

実施例 1 2

リンパ節 DNA 含有量の差は、リンパ節内および筋内注射後の CTL 応答の差を反映する
p E F G P L 3 3 A DNA をリンパ節内または筋内注射して、注射リンパ節または排出リンパ節のプラスミド含有量を、6 時間、12 時間、24 時間、48 時間、ならびに 4 日および 30 日後に、リアルタイム PCR により評価した。6 時間目、12 時間目、および 24 時間目に、注射リンパ節のプラスミド DNA 含有量は、筋内注射後の排出リンパ節の含有量よりもおよそ 3 衍大きかった。プラスミド DNA は、次の時点では排出リンパ節において検出されなかった (図 17)。これは、同様のレベルの CTL 活性を達成するのに、リンパ節内注射と比較して筋内を用いて必要とされる 3 衍多い用量と一致する。このエピトープに対する CTL 応答を発現させない CD 8⁺ ノックアウトマウスにもリンパ節内注射し、リンパ節からの DNA のクリアランスは、リンパ節における細胞の CD 8⁺ CTL 殺傷に起因しないことを示した。この観察はまた、リンパ節内投与が、リンパ節に対する免疫病理学的損傷を誘起しないという結論を支持する。
40

【 0 2 1 7 】

実施例 1 3

黒色腫用の治療用ワクチンの DNA プラスミド配合物のヒトへの投与

H L A - A 2 制限チロシナーゼエピトープ配列番号 1 およびエピトープクラスター配列

番号 6 9 をコードする黒色腫ワクチンである S Y N C H R O T O P E T A 2 M を、 1 % ベンジルアルコール、 1 % エチルアルコール、 0 . 5 mM E D T A 、 クエン酸 - リン酸 (p H 7 . 6) 中に配合した。 8 0 、 1 6 0 および 3 2 0 μ g D N A / m l のアリコートを、 M I N I M E D 4 0 7 C 注入ポンプへの負荷用に調製した。 S I L H O U E T T E 注入セットのカテーテルを、 超音波イメージングにより可視化した両径リンパ節に入れた。ポンプおよび注入セットの組立品は本来、 糖尿病患者にインスリンを送達するために設計され、 通常 1 7 mm のカテーテルを、 この用途のために 3 1 mm のカテーテルで代用した。約 2 5 μ l / 時間の注入速度で、 注入セットを 4 日間 (およそ 9 6 時間) 患者に保持させ、 総注入容量はおよそ 2 . 4 m l となった。したがって、 注入 1 回当たりの総投与容量は、 上述の 3 つの濃度に関して、 それぞれおよそ 2 0 0 μ g 、 および 4 0 0 μ g 、 および 8 0 0 μ g であり得る。注入後、 被験体には、 次の注入を開始する前に、 1 0 日の休息期間をもうけた。投与後のリンパ節中のプラスミド D N A の連続残留 (実施例 1 2 で見られるような) 、 および抗原の消失後の C T L 応答の通常の動態を考慮して、 このスケジュールは、 免疫原性 C T L 応答を維持するのに十分である。

10

【 0 2 1 8 】

実施例 1 4

さらなるエピトープ

上記、 および特に実施例 3 ~ 7 に記載される方法論をさらなる合成ペプチド基質に適用し、 以下の表 1 5 ~ 3 6 に記載するようにさらなるエピトープの同定へと導いた。ここで使用される基質は、 H L A - A * 0 2 0 1 結合エピトープを生じるハウスキーピングプロテアソームプロセシングの産物を同定するように設計したが、 さらなる M H C 結合反応性を、 上述のように予測することができる。多くのかかる反応性が開示されるが、 これらの列挙は、 例示的であることを意味し、 包括的または限定的であることを意味しない。また上述のように、 解析の個々の成分を、 組合せおよび順序を変更させる際に使用することができる。 N Y - E S O - 1 基質 1 3 6 ~ 1 6 3 および 1 5 0 ~ 1 7 7 (それぞれ、 配列番号 2 5 4 および 2 5 5) の消化物は、 M A L D I - T O F 質量分析において十分に飛行しない断片を生じた。しかしながら、 それらは、 N 末端ペプチドプールシーケンシングに実に順応しやすく、 それにより切断部位の同定が可能であった。基質すべてが必ずしも、 実施例 3 で言及したエピトープクラスターの形式上の定義を満たすとは限らない。クラスターによっては、 非常に大きくて (例えば、 N Y - E S O - 1 ₈₆ ~ ₁₇₁) 、 このクラスターの一部のみにかかる基質を使用することがより利便性が高かった。他の場合では、 基質は、 隣接した予測エピトープを包含するために、 形式上の定義を満たすクラスターを超えて伸長された。場合によっては、 実際の結合活性は、 例えばここで報告される M A G E エピトープと同様にどの基質が作製されたかということに影響し、 ここで H L A 結合活性は、 合成基質が設計される前に、 予測親和性を有するペプチドの選択に関して決定された。

20

【 0 2 1 9 】

30

【表15】

GP100: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ
†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。

表15

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					コメント
			A*0201	A1	A3	B7	B8	
609-644	630-638*	LPHSSSHWL	88			20/80	16/<5	* 609-644 および 622-650 の消化 は、同じエピトー プを生成した。
	629-638*	QLPHSSSHWL	89	21/117				
	614-622	LIYRRRLMK	90		32/20			
	613-622	SLIYRRRLMK	91	14/<5	29/60			
	615-622	IYRRRLMK	92				15/<5	
622-650	630-638*	LPHSSSHWL	93			20/80	16/<5	
	629-638*	QLPHSSSHWL	94	21/117				

【0220】

MAGE-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI / NIH)†				
				A*0201	A1	A3	B7	B8
86-109	95-102	ESLFRAVI	95					16/<5
	93-102	IILESLFRAVI	96	21/<5				20/<5
93-101		IILESLFRAV	97	23/<5				
92-101		CILESLFRAV	98	23/55				
92-100		CILESLFRA	99	20/138				
263-292	263-271	EFLWGPRAL	100					A26 (R 21), A24 (NIH 30)
	264-271	FLWGPRAL	101					17/<5
264-273		FLWGPRALAE	102	16/<5		19/<5		
265-274		LWGPRALAET	103	16/<5				
268-276		PRALAETSY	104	15/<5				
267-276		GPRALAETSY	105	15/<5		<15/<5		B4403 (NIH 7); B3501 (NIH 120)
269-277		RALAETSYY	106	18/20				
271-279		LAETSYVVKV	107	19/<5				
270-279		ALAETSYVVKV	108	30/427	19/<5<5			
272-280		AETSYVVKVL	109	15/<5				
271-280		LAETSYVVKVL	110	18/<5		<15/<5		
274-282		TSYVVKLEY	111		26/<5			B4403 (NIH 14)
273-282		ETSYVVKLEY	112		28/6			A26 (R 31), B4403 (NIH 14)
278-286		KVLEYVIKV	113	26/743		16/<5		

表16B MAG E-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH) [†]				その他
				A*0201	A1	A3	B7	
168-193	168-177	SYVLVTCLGL	114					A24 (NIH 300)
	169-177	YVLVTCLGL	115	20/32		15/<5	<15/20	
	170-177	VLVTCGLL	116				17/<5	
229-258	240-248	TQDLVQEKY	117		29/<5			
	239-248	LrqDLVQEKY	118		23/<5			A26 (R 22)
	232-240	YGEPRKLLT	119		24/11			
	243-251	LVQEKYLEY	120		21/<5	21/<5		A26 (R 28)
	242-251	DLVQEKYLEY	121		22/<5	19/<5		A26 (R 30)
	230-238	SAYGEPRKL	122	21/<5				
	278-286	KVLEYVVKV	123	26/743		16/<5		B5101 (25/121)
	277-286	VKVLEYVVKV	124	17/<5				
	276-284	YVKVLEYVI	125	15/<5		15/<5	17/<5	
	274-282	TSYVKVLEY	126		26/<5			
	273-282	ETSYYVKVLEY	127		28/6			
	283-291	VIKV SARVR	128			20/<5		
	282-291	YVIKV SARVR	129			24/<5		

[†]スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。Rは、SYFPEITHIスコアを示す。

【表 17A】

表 17A MAG E-2 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
107-126	115-122	ELVHFILL	130				18/<5
	113-122	MVELVHFLLL	131	21/<5			A26 (R 22)
109-116	ISRKMVEL	132					17/<5
108-116	AISRKMVEL	133	25/7		19/<5	16/12	26/<5
107-116	AAISRKMVEL	134	22/<5			14/36	n.p./16
112-120	KMVELVHFL	135	27/2800				
109-117	ISRKMVVELV	136	16/<5				
108-117	AISRKMVELV	137	24/11				
116-124	LVHFLLLKY	138		23/<5	19/<5		A26 (R 26)
115-124	ELVHFLLLKY	139		24/<5	19/5		A26 (R 29)
111-119	RKMKVELVHF	140					
145-175	LQLVFGIEV	141	17/168				
	YLQLVFGIEV	142	24/1215				
157-166	OLVFGIEVV	143	25/32		18/<5		
158-167	IQLVFGIEVV	144	18/20				
164-172	IEVVVEVVP1	145	16/<5				
163-172	GIEVVVEVVP1	146	22/<5				
162-170	FGIEVVVEVV	147	19/<5				B5101(24/69.212)
154-162	ASEYLQLVF	148		22/68			
153-162	KASEYLQLVF	149			15/<5		

†スコアは、上述の 2 つの結合予測プログラムから付与される（実施例 3 を参照）。R は、SYFPEITHI スコアを示す。

【0 2 2 3】

MAGE-2 : ハカスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエビトープ
表17B

基質	エビトープ	配列	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH) [†]				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
213-233	218-225	EEKIWEEL	150				22/<5
	216-225	APEEKIWEEL	151	15/<5		22/72	
	216-223	APEEKIWE	152				18/<5
	220-228	KIWEELSML	153	26/804	16/<5		16/<5 A26 (R 26)
	219-228	EKIWEELSML	154				A26 (R 22)
	271-278	FLWGPRAL	155				17/<5
	271-279	FLWGPRALI	156	25/398	16/7		
	278-286	LIETSYVKV	157	23/<5			
	277-286	ALIETSYVKV	158	30/427	21/<5		
	276-284	RALIETSYV	159	18/19			B5101 (20/55)
279-287	IETSYVKVL	160	15/<5				
	278-287	LIETSYVKVL	161	22/<5			A26 (R 22)

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。Rは、SYFPEITHIスコアを示す。

MAGE-3 : ハウスキーピングプログラム消化により明らかとなつた好みエピトープ

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH)†				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
267-286	271-278	FLWGPRAL	162				17/<5
	270-278	EFLWGPRAL	163				A26 (R 21); A24 (NIH 30)
	271-279	FLWGPRALV	164	27/2655		16/<5	
	276-284	RALVETSYV	165	18/19			B5101 (20/55)
	272-280	LWGPRALVE	166			15/<5	
	271-280	FLWGPRALVE	167	15/<5		22/<5	
	272-281	LWGPRALVET	168	16/<5			

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される(実施例3を参照)。Rは、SYFPEITHIスコアを示す。

【表19A】

表19A

NY-ESO-1: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
81-113	82-90	GPESRLLEF	169		16/11		18/<5	22/<5	
	83-91	PESRLLEFY	170		15/<5				B4403 (NIH 18)
	82-91	GPESRLLEFY	171		25/11				
	84-92	ESRLLEFYLY	172					19/8	
	86-94	RLLEFYLYAM	173	21/430		21/<5			
	88-96	LEFYLYAMPF	174						B4403 (NIH 60)
	87-96	LLEFYLYAMPF	175		<15/45	18/<5			
	93-102	AMPFATPMEA	176	15/<5					
	94-102	MPFATPMEA	177				17/<5		
101-133	115-123	PLPVPGVLL	178	20/<5		17/<5	16/<5	18/<5	
	114-123	PPLPVPGVLL	179				23/12		
	116-123*	LPVPGVLL	180					16/<5	コメント * 2つの 消化物 から得 られる 同じエ ピトー プの微 候
	103-112	ELARRSLAQD	181	15/<5		20/<5			
	118-126*	VPGVLLKEF	182				17/<5	16/<5	
	117-126*	PVPGVLLKEF	183			16/<5			
116-145	116-123*	LPVPGVLL	184					16/<5	
	127-135	TVSGNILTI	185	21/<5		19/<5			
	126-135	FTVSGNILTI	186	20/<5					
	120-128	GVLLKEFTV	187	20/130		18/<5			
	121-130	VLLKEFTVSG	188	17/<5		18/<5			
	122-130	LLKEFTVSG	189	20/<5		18/<5			
	118-126*	VPGVLLKEF	190				17/<5	16/<5	
	117-126*	PVPGVLLKEF	191			16/<5			

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。

表 19B

N Y - E S O - 1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好みのエビトープ

【表 19B】

基質 (配列番号)	エビトープ	配列	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH)†				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
136-163 254)	139-147	AADHRQLQL	192	17/<5	17/<5		22/<5
	148-156	SISSCLOQL	193	24/7			A26 (R 25)
147-156 138-147	LSISSCLOQL	194	18/<5				
	TAADHRQLQL	195	18/<5				
150-177 255)	161-169	WITQCFPV	196	18/84			
	SLLMWITQC	197	18/42		17/<5		
150-158 154-162	SSCLOQLSL	198	15/<5				
	QQLSLLMWI	199	15/50				
151-159 150-159	SCLQQLSLL	200	18/<5				
	SSCLOQLSLL	201	16/<5				
163-171 162-171	TQCFLPVFL	202	<15/12				
	ITQCFLPVFL	203	18/<5				A26 (R 19)

†スコアは、上述の 2 つの結合予測プログラムから付与される（実施例 3 を参照）。R は、SYFPEITHI スコアを示す。

【 0 2 2 7 】

50

【表 20】

PRAME：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエビトープ

基質	エビトープ	配列	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH) [†]				その他
			A*0201	A1	A3	B7	
211-245	219-227	PMQDIKML	204	16/<5			16/n.d.
	218-227	MPMQDIKML	205			<15/240	A26 (R 20)
411-446	428-436	QHLIGLSNL	206	18/<5			
	427-436	LQHILIGLSNL	207	16/8			
	429-436	HLJIGLSNL	208				17/<5
	431-439	IGLSNLTHV	209	18/7			B15 (R 21)
	430-439	LIGLSNLTHV	210	24/37			B*5101 (R 22)

*スコアは、上述の 2 つの結合予測プログラムから付与される（実施例 3 を参照）。R は、SYFPEITHI スコアを示す。

【0 2 2 8】

50

40

20

10

表21

PSA：ハカスキー・ビング・プロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

【表21】

(86)

JP 2009-60910 A 2009.3.26

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH) [†]				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
42-77	53-61	VLVHPQWWVL	211	22/112		<15/6	17/<5
	52-61	GVLVHPQWWVL	212	17/21	16/<5	<15/30	A26 (R 18)
	52-60	GVLVHPQWWV	213	17/124			
	59-67	WVLTAAHCl	214	15/16			
	54-63	LVHPQWVLTA	215	19/<5	20/<5		A26 (R 16)
	53-62	VLVHPQWWVLT	216	17/22			
	54-62	LVHPQWVLT	217		17/n.d.		
55-95	66-73	CIRNKSVI	218			26/20	
	65-73	HCIERNKSVI	219			<15/16	
	56-64	HPQWVLTAA	220			18/<5	
	63-72	AAHCIRNKSIV	221	17/<5			

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。Rは、SYFPEITHIスコアを示す。

【0229】

50

10

20

30

40

【表22】

表22 PSA : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエビトープ

基質	エビトープ		配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI/NIH) [†]					
	エビトープ	配列		A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
93-123*	116-123	LIWGPQQL	222						16/<5
	115-123	LLLWGPQQL	223	<15/18					
	114-123	GLLWGPQQL	224	<15/10					
	99-107	ALQPAAAIL	225	26/9	22/<5	<15/12	16/<5	A26 (R 19)	
	98-107	HALQPAAAIL	226	18/<5		<15/12			

* L 1 2 3 は、天然タンパク質の C 末端である。

†スコアは、上述の 2 つの結合予測プログラムから付与される（実施例 3 を参照）。

【表23】

表23
チロシナーゼ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好みエピトープ

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測(SYFPEITHI / NIH) [†]				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
128-157	128-137	APEKDKFFAY	227	29/6		15/<5	
	129-137	PEKDKFFAY	228	18/<5		15/<5	21/<5
	130-138	EKDFFAYL	229				
	131-138	KDKFFAYL	230			20/<5	
197-228	205-213	PAFLPWHRL	231			15/<5	
	204-213	APAFLPWHRL	232			23/360	
	207-216	FLPWHRFLFL	1	25/1310			<15/8
	208-216	LPWHRFLFL	9	17/26		20/80	24/16
	214-223	FLLRWEQEIQ	233		15/<5		
	212-220	RLFLLRWEQ	234		16/<5		
191-211	191-200	GSEIWRDIDF	235	18/68			
	192-200	SEIWRDIDF	236				16/<5
207-230	207-215	FLWHRFLFL	8	22/540		<15/6	17/<5
466-484	473-481	RIWSWLLGA	237	19/13	15/<5		
476-497	476-484	SWLLGAAMV	238	18/<5			
	477-486	WLLGAAMVGA	239	21/194	18/<5		
	478-486	LLGAAMVGA	240	19/19	16/<5		

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。

表24
PSMA：ハウスクーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	HLA 結合予測 (SYFPEITHI / NIH) [†]				
			A*0201	A1	A3	B7	B8
1-30	4-12	LLHETDSA V	241	25/485	15/<5		
	13-21	ATARRPRWL	242	18/<5			18/<5 A26 (R 19)
53-80	53-61	TPKHNMKAF	243				24/<5
	64-73	ELKAENIKKF	244			17/<5	A26 (R 30)
	69-77	NIKKFLH ¹ NF	245				A26 (R 27)
	68-77	ENIKKFLHNF	246				A26 (R 24)
215-244	220-228	AGAKGVIL Y	247		25/<5		
457-489	468-477	PLMYSLVHNL	248	22/<5			
	469-477	LMYSLVHNL	249	27/193		<15/9	
463-471	RVDCTPLMY	250		32/125	25/<5		A26 (R 22)
	465-473	DCTPLMYSL	251				A26 (R 22)
503-533	507-515	SGMPRISKL	252	21/<5			21/<5
	506-515	FSGMPRISKL	253	17/<5			

¹このHは、SWISSPROTデータベースではYとして報告された。

†スコアは、上述の2つの結合予測プログラムから付与される（実施例3を参照）。

【表 25A】

表 25A

MAGE-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好みのエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
Mage-1 119-146	125-132	KAEMLESV	256	B5101	19	該当なし
	124-132	TKAEMLESV	257	A0201	20	<5
	123-132	VTKAEMLESV	258	A0201	20	<5
	128-136	MLESVIKNY	259	A1	28	45
				A26	24	該当なし
				A3	17	5
	127-136	EMLESVIKNY	260	A1	15	<1.0
				A26	23	<1.0
	125-133	KAEMLESVI	261	B5101	23	100
				A24	N.A.	4
Mage-1 143-170	146-153	KASESQL	262	B08	16	<1.0
				B5101	17	該当なし
	145-153	GKASESQL	263	B2705	17	1
				B2709	16	該当なし
	147-155	ASESQLVF	264	A1	22	68
	153-161	LVFGIDVKE	265	A26	16	該当なし
				A3	16	<1.0

【0 2 3 3】

10

20

30

【表25B】

表 25B

MAGE-1：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
Mage-1 99-125	114-121	LLKYRARE	266	B8	25	<1.0
	106-113	VADLVGFL	267	B8	16	<1.0
				B5101	21	該当なし
	105-113	KVADLVGFL	268	A0201	23	44
				A26	25	該当なし
				A3	16	<5
				B0702	14	20
				B2705	14	30
	107-115	ADLVGFLLL	269	A0201	17	<5
				B0702	15	<5
				B2705	16	1
	106-115	VADLVGFLLL	270	A0201	16	<5
				A1	22	3
	114-123	LLKYRAREPV	271	A0201	20	2

10

20

【0 2 3 4】

【表26】

表26

MAGE-3：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好
ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
Mage-3 267-295	271-278	FLWGPRAL	162	B08	17	<5
	270-278	EFLWGPRAL	163	A26	21	該当なし
				A24	N.A.	30
				B1510	16	該当なし
	271-279	FLWGPRALV	164	A0201	27	2655
				A3	16	2
	278-286	LVETSYVKV	272	A0201	19	<1.0
				A26	17	該当なし
	277-286	ALVETSYVKV	273	A0201	28	428
				A26	16	<5
				A3	18	<5
	285-293	KVLHHMVKI	274	A0201	19	27
				A3	19	<5
	276-284	RALVETSYV	165	A0201	18	20
	283-291	YVKVLHHMV	275	A0201	17	<1.0
	275-283	PRALVETSY	276	A1	17	<1.0
	274-283	GPRALVETSY	277	A1	15	<1.0
	278-287	LVETSYVKVL	278	A0201	18	<1.0
	272-281	LWGPRALVET	168	A0201	16	<1.0
	271-280	FLWGPRALVE	167	A3	22	<5

【0 2 3 5】

10

20

30

【表27A】

表27A
フィブロネクチンED-B：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエビトープ

基質	エビトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
ED-B 14'-21*	4'-5** TIIPEVPQL [†]	279	A0201	27	7	
			A26	28	該当なし	
			A3	17	<5	
			B8	15	<5	
			B1510	15	該当なし	
			B2705	17	10	
5'-5**	DTIPEVPQL [†]	280	B2709	15	該当なし	
			A0201	20	<5	
			A26	32	該当なし	
1-10	EVPQLTDLSF	281	A26	29	該当なし	

* この基質は、フィブロネクチンランキンギングED-BからN末端側までの14個のアミノ酸を含有する。

** これらのペプチドは、ED-BドメインのN末端とフィブロネクチンの残部との間の接合部にまたがる。

† イタリック体文字は、ED-Bドメインの外側の配列を示す。

【0 2 3 6】

【表 27B】

表 27B

フィブロネクチンED-B：ハウスキーピングアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
	23-30	TPLNSSTI	282	B5101	22	該当なし
	18-25	IGLRWTPL	283	B5101	18	該当なし
	17-25	SIGLWRWTPL	284	A0201	20	5
ED-B 8-35				A26	18	該当なし
	25-33	LNSSTIGY	285	B08	25	<5
				A1	19	<5
ED-B 8-35	24-33	PLNSSTIGY	286	A26	16	<5
				A1	20	<5
				A26	24	該当なし
	23-31	TPLNSSTII	287	A3	16	<5
				B0702	17	8
				B5101	25	440

【0 2 3 7】

表 27C

フィブロネクチンED-B：ハウスクィーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
ED-B 20-49	31-38	IGYRITVV	288	B5101	25	該当なし
	30-38	IIGYRITVV	289	A0201	23	15
				A3	17	<1.0
				B08	15	<1.0
	29-38	TIGYRITVV	290	B5101	15	3
				A0201	26	9
				A26	18	該当なし
	23-30	TPLNSSTI	282	B5101	22	該当なし
				A1	19	<5
24-33	25-33	LNSSTIIGY	285	A26	16	該当なし
				A26	24	該当なし
	31-39	PLNSSTIIGY	286	A3	16	<5
				A3	17	<5
				A0201	15	<5
30-39	31-39	IGYRITVVA	291	A3	18	<5
				A3	17	8
23-31		TPLNSSTII	287	B0702	25	440
				B5101		

【 0 2 3 8 】

【表28A】

表28A

CEA : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
CEA 176-202	184-191	SLPVSPRL	293	B08	19	<5
	183-191	QSLPVSPRL	294	A0201	15	<5
				B1510	15	
				B2705	18	10
				B2709	15	
	186-193	PVSPRLQL	295	B08	18	<5
	185-193	LPVSPRLQL	296	B0702	26	180
				B08	16	<5
				B5101	19	130
	184-193	SLPVSPRLQL	297	A0201	23	21
				A26	18	該当なし
				A3	18	<5
	185-192	LPVSPRLQ	298	B5101	17	該当なし
	192-200	QLSNGNRTL	299	A0201	21	4
				A26	16	該当なし
				A3	19	<5
				B08	17	<5
				B1510	15	
	191-200	LQLSNGNRTL	300	A0201	16	3
	179-187	WVNNQSLPV	301	A0201	16	28
	186-194	PVSPRLQLS	302	A26	17	該当なし
				A3	15	<5

【0239】

10

20

30

【表28B】

表28B

C EA : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
CEA 354 -380	362-369	SLPVSPRL	303	B08	19	<1.0
	361-369	QSLPVSPRL	304	A0201	15	<1.0
				B2705	18	10
				B2709	15	
	364-371	PVSPRLQL	305	B08	18	<1.0
	363-371	LPVSPRLQL	306	B0702	26	180
				B08	16	<1.0
				B5101	19	130
	362-371	SLPVSPRLQL	307	A0201	23	21
				A26	18	該当なし
				A24	該当なし	6
				A3	18	<5
	363-370	LPVSPRLQ	308	B5101	17	該当なし
	370-378	QLSNDNRTL	309	A0201	22	4
				A26	16	該当なし
				A3	17	<1.0
				B08	17	<1.0
	369-378	LQLSNDNRTL	310	A0201	16	3
	357-365	WVNNQSLPV	311	A0201	16	28
	360-368	NQSLPVSPR	312	B2705	14	100

【0 2 4 0】

10

20

30

【表28C】

表28C

CEA : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
CEA 532- 558	540-547	SLPVSPRL	313	B08	19	<5
	539-547	QSLPVSPRL	314	A0201	15	<5
				B1510	15	<5
				B2705	18	10
				B2709	15	
	542-549	PVSPRLQL	315	B08	18	<5
	541-549	LPVSPRLQL	316	B0702	26	180
				B08	16	<1.0
				B5101	19	130
	540-549	SLPVSPRLQL	317	A0201	23	21
				A26	18	該当なし
				A3	18	<5
	541-548	LPVSPRLQ	318	B5101	17	該当なし
	548-556	QLSNGNRTL	319	A0201	24	4
				A26	16	該当なし
				A3	19	<1.0
				B08	17	<1.0
				B1510	15	
	547-556	LQLSNGNRTL	320	A0201	16	3
	535-543	WVNGQSLPV	321	A0201	18	28
				A3	15	<1.0
	533-541	LWWVNGQSL	322	A0201	15	<5

【0 2 4 1】

【表28D】

表28D

CEA : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
CEA 532- 558 (続き)	532-541	YLWWVNGQSL	323	A0201	25	816
				A26	18	該当なし
	538-546	GQSLPVSPR	324	B2705	17	100

【0 2 4 2】

【表29A】

表29A

H E R 2 / N E U : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
Her-2 25-52	30-37	DMKLRLPA	325	B08	19	8
	28-37	GTDMKLRLPA	326	A1	23	6
	42-49	HLDMLRHL	327	B08	17	<5
	41-49	THLDMLRHL	328	A0201	17	<5
				B1510	24	該当なし
	40-49	ETHLDMLRHL	329	A26	29	該当なし
	36-43	PASPETHL	330	B5101	17	該当なし
	35-43	LPASPETHL	331	A0201	15	<5
				B5101	20	130
				B5102	該当なし	100
	34-43	RLPASPETHL	332	A0201	20	21
	38-46	SPETHLDML	333	A0201	15	<5
				B0702	20	24
				B08	18	<5
				B5101	18	110
	37-46	ASPETHLDML	334	A0201	18	<5
	42-50	HLDMLRHLY	335	A1	29	25
				A26	20	該当なし
				A3	17	4
	41-50	THLDMLRHLY	336	A1	18	<1.0

10

20

30

【0 2 4 3】

【表29B】

表29B

HER2/NEU: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
Her-2 705 -732	719-726	ELRKVKVL	337	B08	24	16
	718-726	TELRKVKVL	338	A0201	16	1
				B08	22	<5
				B5101	16	<5
	717-726	ETELRKVKVL	339	A1	18	2
				A26	28	6
	715-723	LKETELRKV	340	A0201	17	<5
				B5101	15	<5
	714-723	ILKETELRKV	341	A0201	29	8
	712-720	MRILKETEL	342	A0201	15	<5
				B08	22	<5
				B2705	27	2000
				B2709	21	該当なし
20 30	711-720	QMRILKETEL	343	A0201	20	2
				B0702	13	40
	717-725	ETELRKVKV	344	A1	18	5
				A26	18	該当なし
	716-725	KETELRKVKV	345	A0201	16	19
	706-714	MPNQAQMRI	346	B0702	16	8
				B5101	22	629
	705-714	AMPNQAQMRI	347	A0201	18	8
	706-715	MPNQAQMRL	348	B0702	20	80

【0 2 4 4】

【表29C】

HER2/NEU: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ
0 2 4 5】

表29C HER2/NEU: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
	966-973	RPRFRELV	349	B08 B5101	20 18	24 該当なし
	965-973	CRPRFRELV	350	B2709	18	
Her-2 954-982				A26	25	該当なし
				A24	N.A.	32
	968-976	RFRELVSEF	351	A3	15	<5
				B08	16	<5
				B2705	19	
				A26	18	該当なし
	967-976	PRFRELVSEF	352	A26	21	該当なし
				A24	N.A.	6
	964-972	ECRPRFREL	353	B0702 B8	15 27	40 640
				B1510	16	<5

【表30】

表30
NY-E SO-1：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
NY-ESO-1 51-77	67-75	GAASGLNCG	354	A0201	15	<5
	52-60	RASGPGGGA	355	B0702	15	<5
	64-72	PHGGAASGL	356	B1510	21	該当なし
	63-72	GPHGGAASGL	357	B0702	22	80
	60-69	APRGPHGGAA	358	B0702	23	60

【0 2 4 6】

【表31A】

表31A

PRAME : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測			
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH	
PRAME 103-135	112-119	VRPWRWKL	359	B08	19		
	111-119	EVRPWRWKL		A26	27	該当なし	
				A24	該当なし	5	
				A3	19	該当なし	
				B0702	15	(B7) 300.00	
	113-121	RPRRWKLQV	361	B08	26	160	
				B0702	21	(B7) 40.00	
				B5101	19	110	
	114-122	PRRWKLQVL	362	B08	26	<5	
				B2705	23	200	
PRAME 161-187	113-122	RPRRWKLQVL	363	B0702	24	(B7) 800.00	
				B8	該当なし	160	
				B5101	該当なし	61	
				B5102	該当なし	61	
				A24	該当なし	10	
	116-124	RWKLQVLDL	364	B08	22	<5	
				B2705	17	3	
	115-124	RRWKLQVLDL	365	A0201	16	<5	

10

20

30

【0 2 4 7】

【表31B】

表31B

P R A M E : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測			
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH	
PRAME 185-215	199-206	VKRKKNVL	367	B08	27	8	
	198-206	KVKRKKNVL		A0201	16	<1.0	
				A26	20	該当なし	
				A3	22	<1.0	
				B08	30	40	
	197-206	EKVKRKKNVL		B2705	16		
		369	A26	15	該当なし		
			B08	20	6		
	201-208	RKKNVRL	371	B08	20	<5	
	200-208	KRKKNVRL	372	A0201	15	<1.0	
				A26	15	該当なし	
				B0702	15	<1.0	
				B08	21	<1.0	
				B2705	28		
				B2709	25		
	199-208	VKRKKNVLRL	373	A0201	16	<1.0	
				B0702	16	4	
	189-196	DELF SYLI	374	B5101	15	該当なし	
	205-213	VLRLCCKKL	375	A0201	22	3	
				A26	17	該当なし	
				B08	25	8	
	204-213	NVLRLCCKKL	376	A0201	17	7	
				A26	19	該当なし	

【0 2 4 8】

10

20

30

【表31C】

表31C

PRAME：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
PRAME 185-215 (続き)	194-202	YLIEKVKRK	377	A0201	20	<1.0
				A26	18	該当なし
				A3	25	68
				B08	20	<1.0
				B2705	17	
PRAME 71-98	74-81	QAWPFTCL	378	B5101	17	該当なし
	73-81	VQAWPFTCL	379	A0201	14	7
				A24	該当なし	5
				B0702	16	6
	72-81	MVQAWPFTCL	380	A26	22	該当なし
				A24	該当なし	7
				B0702	13	30
	81-88	LPLGVLMK	381	B5101	18	該当なし
	80-88	CLPLGVLMK	382	A0201	17	<1.0
				A3	27	120
	79-88	TCLPLGVLMK	383	A1	12	10
				A3	19	3
	84-92	GVLMKGQHL	384	A0201	18	7
				A26	21	該当なし
				B08	21	4
	81-89	LPLGVLMKG	385	B5101	20	2
	80-89	CLPLGVLMKG	386	A0201	16	<1.0
	76-85	WPFTCLPLGV	387	B0702	18	4

【0 2 4 9】

【表 31D】

表 31D

PRAME : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
PRAME 39-65	51-59	ELFPPLFMA	388	A0201	19	18
				A26	23	該当なし
	49-57	PRELFPPPLF	389	B2705	22	
				B2709	19	
	48-57	LPRELFPPPLF	390	B0702	19	4
	50-58	RELFPPLFM	391	B2705	16	
				B2705	15	
	49-58	PRELFPPPLFM	392	A1	16	<1.0

【0250】

表32

P SA : ハウスキーペングラソーム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
	239-246	RPSLYTKV	393	B5101	21	該当なし
	238-246	ERPSLYTKV	394	B2705	15	60
	236-243	LPERPSLY	395	B5101	18	該当なし
				A1	19	<1.0
				A26	22	該当なし
				A3	26	6
	235-243	ALPERPSLY	396	B08	16	<1.0
				B2705	11	15
				B2709	19	該当なし
PSA 232-258				A0201	20	<1.0
				A1	19	<1.0
				A26	25	該当なし
	241-249	SLYTKVVHY	397	A3	26	60
				B08	20	<1.0
				B2705	13	75
	240-249	PSLYTKVVHY	398	A1	20	<1.0
				A26	16	該当なし
	239-247	RPSLYTKVV	399	B0702	21	4
				B5101	23	110

【表33A】

表33A

P S M A : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
PSMA 202 -228	211-218	GNKVKNAQ	400	B08	22	<5
	202-209	IARYGKVF	401	B08	18	<5
	217-225	AQLAGAKGV	402	A0201	16	26
	207-215	KVFRGNKVK	403	A3	32	15
	211-219	GNKVKNAQL	404	B8	33	80
				B2705	17	20
PSMA 255 -282	269-277	TPGYPANEY	405	A1	16	<5
	268-277	LTPGYPANEY	406	A1	21	1
				A26	24	該当なし
	271-279	GYPANEYAY	407	A1	15	<5
	270-279	PGYPANEYAY	408	A1	19	<5
	266-274	DPLTPGYPA	409	B0702	21	3
				B5101	17	20
PSMA 483 -509	492-500	SLYESWTKK	410	A0201	17	<5
				A3	27	150
				B2705	18	150
	491-500	KSLYESWTKK	411	A3	16	<5
	486-494	EGFEGKSLY	412	A1	19	<5
				A26	21	該当なし
				B2705	16	<5
	485-494	DEGFEGKSLY	413	A1	17	<5
				A26	17	該当なし
	498-506	TKKSPSPEF	414	B08	17	<5

10

20

30

【0252】

【表33B】

表33B

P S M A : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
PSMA 483-509 (続き)	497-506	WTKKSPSPEF	415	A26	24	該当なし
	492-501	SLYESWTKKS	416	A0201	16	<5
				A3	16	<5
PSMA 721-749	725-732	WGEVKRQI	417	B08	17	<5
				B5101	17	該当なし
	724-732	AWGEVKRQI	418	B5101	15	6
	723-732	KAWGEVKRQI	419	A0201	16	<1.0
	723-730	KAWGEVKR	420	B5101	15	該当なし
	722-730	SKAWGEVKR	421	B2705	15	<5
	731-739	QIYVAAFTV	422	A0201	21	177
				A3	21	<1.0
				B5101	15	5
	733-741	YVAAFTVQA	423	A0201	17	6
				A3	20	<1.0
	725-733	WGEVKRQIY	424	A1	26	11
	727-735	EVKRQIYVA	425	A26	22	該当なし
				A3	18	<1.0
	738-746	TVQAAAETL	426	A26	18	該当なし
				A3	19	<1.0
	737-746	FTVQAAAETL	427	A0201	17	<1.0
				A26	19	該当なし

【0253】

10

20

30

【表33C】

表33C
PSMA：ハカスキーピングラム消化により明らかとなつた好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
PSMA 721-749 (continued)	729-737	KROIYVAAF	428	A26	16	該当なし
	721-729	PSKAWGEVK	429	B2705	24	3000
PSMA 95-122	723-731	KAWGEVKRQ	430	B2709	21	該当なし
	100-108	WKEFGLDGV	431	A3	20	<1.0
	99-108	QWKEFGLDGV	432	B5101	16	<1.0
	102-111	EFFGLDSVELA	433	A0201	16	<5
				A26	17	<5
					16	該当なし

【0 2 5 4】

【表34A】

表34A

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 117 -143	126-134	ELRQKESKL	434	A0201	20	<5
				A26	26	該当なし
				A3	17	<5
				B0702	13	(B7) 40.00
				B8	34	320
	125-134	AELRQKESKL	435	A0201	16	<5
SCP-1 281 -308	133-141	KLQENRKII	436	A0201	20	61
	298-305	QLEEKTKL	437	B08	28	2
	297-305	NQLEEKTKL	438	A0201	16	33
				B2705	19	200
	288-296	LLEESRDKV	439	A0201	25	15
				B5101	15	3
	287-296	FLLEESRDKV	440	A0201	27	2378
	291-299	ESRDKVNQL	441	A26	21	該当なし
				B08	29	240
SCP-1 471 -498	290-299	EESRDKVNQL	442	A26	19	該当なし
	475-483	EKEVHDLEY	443	A1	31	11
				A26	17	該当なし
	474-483	REKEVHDLEY	444	A1	21	<1.0
	480-488	DLEYSYCHY	445	A1	26	45
				A26	30	該当なし
				A3	16	<5
	477-485	EVHDLEYSY	446	A1	15	1

【0255】

10

20

30

【表34B】

表34B

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 471 -498 (続き)	477-485	EVHDLEYSY		A26	29	該当なし
				A3	19	<1.0
	477-486	EVHDLEYSYC	447	A26	22	該当なし
SCP-1 493 -520	502-509	KLSSKREL	448	B08	26	4
	508-515	ELKNTEYF	449	B08	24	<1.0
	507-515	RELKNTEYF	450	B2705	18	45
				B4403	該当なし	120
	496-503	KRGQRPKL	451	B08	18	<1.0
	494-503	LPKRGQRPKL	452	B0702	22	120
				B8	該当なし	16
				B5101	該当なし	130
				B3501	該当なし	60
	509-517	LNKTEYFTL	453	A0201	15	<5
	508-517	ELKNTEYFTL	454	A0201	18	<1.0
				A26	27	該当なし
				A3	16	<1.0
				A1	26	2
	506-514	KRELKNTEY	455	B2705	26	3000
	502-510	KLSSKRELK	456	A3	25	60
	498-506	GQRPKLSSK	457	A3	22	4
				B2705	18	200
	497-506	RGQRPKLSSK	458	A3	22	<1.0
	500-508	RPKLSSKRE	459	B08	18	<1.0

10

20

30

【0256】

【表34C】

表34C

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 570 -596	573-580	LEYVREEL	460	B08	19	<5
	572-580	ELEYVREEL	461	A0201	17	<1.0
				A26	23	該当なし
				A24	該当なし	9
				B08	20	該当なし
SCP-1 618 -645	571-580	N ELEYVREEL	462	A0201	16	4
	579-587	ELKQKRDEV	463	A0201	19	<1.0
				A26	18	該当なし
				B08	29	48
	575-583	YVREELKQK	464	A26	17	該当なし
				A3	27	2
	632-640	QLNVYEIKV	465	A0201	24	70
	630-638	SKQLNVYEI	466	A0201	17	<5
	628-636	AESKQLNVY	467	A1	19	<5
				A26	16	該当なし
	627-636	TAESKQLNVY	468	A1	26	45
				A26	15	該当なし

【0 2 5 7】

10

20

30

【表34D】

表34D

SCP-1：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった
好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 633 -660	638-645	IKVNKLEL	469	B08	21	<1.0
	637-645	EIKVNKLEL	470	A0201	17	<1.0
				A26	26	該当なし
				B08	28	8
				B1510	15	該当なし
	636-645	YEIKVNKLEL	471	A0201	17	2
	642-650	KLELELESA	472	A0201	20	1
				A3	16	<1.0
	635-643	VYEIKVNKL	473	A0201	18	<1.0
				A24	該当なし	396
				B08	22	<1.0
SCP-1 640 -668	634-643	NVYEIKVNKL	474	A0201	24	56
				A26	25	該当なし
				A24	該当なし	6
				A3	15	<5
				B0702	11	(B7) 20
				B08	該当なし	6
	646-654	ELESAKQKF	475	A26	27	該当なし
	642-650	KLELELESA	476	A0201	20	1
				A3	16	<1.0
	646-654	ELESAKQKF	477	A26	27	該当なし

10

20

30

【0258】

【表34E】

表34E

SCP-1: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった
好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測			
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH	
SCP-1 768 -796	771-778	KEKLKREA	478	B08	21	<5	
	777-785	EAKENTATL		A0201	18	<5	
				A26	18	該当なし	
				A24	該当なし	5	
				B0702	13	12	
				B08	28	48	
				B5101	20	121	
SCP-1 92-125	776-785	REAKENTATL	480	A0201	16	<5	
	773-782	KLKREAKENT		A3	17	<5	
	112-119	EAEKIKKW	482	B5101	17	該当なし	
	101-109	GLSRVY SKL		A0201	23	32	
				A26	22	該当なし	
				A24	該当なし	6	
				A3	17	3	
				B08	17	<1.0	
	100-109	EGLSRVY SKL	484	A26	21	該当なし	
				A24	該当なし	9	
SCP-1 92-125	108-116	KLYKEAEKI	485	A0201	22	57	
				A3	20	9	
				B5101	18	5	
	98-106	NSEG LSRVY	486	A1	31	68	
	97-106	ENSE G LSRVY		A26	18	該当なし	
	102-110	LSRV YSKLY	488	A1	22	<1.0	

【0259】

10

20

30

【表34F】

表34F

S C P - 1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 92-125 (続き)	101-110	GLSRVYVSKLY	489	A1	18	<1.0
				A26	18	該当なし
				A3	19	18
SCP-1 931 -958	96-105	LENSEGLSRV	490	A0201	17	5
	108-117	KLYKEAEKIK	491	A3	27	150
	949-956	REDRWAVI	492	B5101	15	該当なし
SCP-1 931 -958	948-956	MREDRWAVI	493	B2705	18	600
				B2709	18	該当なし
				B5101	15	1
				A0201	21	6
SCP-1 232 -259	947-956	KMREDRWAVI	494	B08	該当なし	15
	947-955	KMREDRWAV	495	A0201	22	411
	934-942	TTPGSTLKF	496	A26	25	該当なし
	933-942	LTTPGSTLKF	497	A26	23	該当なし
	937-945	GSTLKFGAI	498	B08	19	1
	945-953	IRKMREDRW	499	B08	19	<5
	236-243	RLEMHFKL	500	B08	16	<5
	235-243	SRLEMHFKL	501	A0201	18	<5
				B2705	25	2000
				B2709	22	
	242-250	KLKEDYEKI	502	A0201	22	4

【0 2 6 0】

10

20

30

【表 3 4 G】

表 34G

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 232 -259 (続き)				A26	16	該当なし
				A3	15	3
				B08	24	<5
				B5101	14	2
	249-257	KIQHLEQEY	503	A1	15	<5
				A26	23	該当なし
				A3	17	<5
	248-257	EKIQHLEQEY	504	A1	15	<5
				A26	21	該当なし
	233-242	ENSRLEMHF	505	A26	19	該当なし
SCP-1 310 -340	236-245	RLEMHFKLKE	506	A1	19	<5
				A3	17	<5
	324-331	LEDIKVSL	507	B08	20	<1.0
	323-331	ELEDIKVSL	508	A0201	21	<1.0
				A26	25	該当なし
				A24	該当なし	10
				A3	17	<1.0
				B08	19	<1.0
				B1510	16	該当なし
	322-331	KELEDIKVSL	509	A0201	19	22
	320-327	LTKELEDI	500	B08	18	<5
	319-327	HLTKELEDI	511	A0201	21	<1.0
	330-338	SLQRSVSTQ	512	A0201	18	<1.0

【 0 2 6 1 】

10

20

30

【表34H】

表34H

S C P - 1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 310 -340 (続き)	321-329	TKELEDIKV	513	A1	16	<1.0
	320-329	LTKELEDIKV	514	A0201	19	<1.0
	326-335	DIKVSLQRSV	515	A26	18	該当なし
SCP-1 272 -305	281-288	KMKDLTFL	516	B08	20	3
	280-288	NKMKDLTFL	517	A0201	15	1
	279-288	ENKMKDLTFL	518	A26	19	該当なし
	288-296	LLEESRDKV	519	A0201	25	15
				B5101	15	3
	287-296	FLLEESRDKV	520	A0201	27	2378
	291-299	ESRDKVNQL	521	A26	21	該当なし
				B08	29	240
	290-299	EESRDKVNQL	522	A26	19	該当なし
	277-285	EKENKMKDL	523	A26	19	該当なし
				B08	23	<1.0
SCP-1 211 -239	276-285	TEKENKMKDL	524	A26	15	該当なし
	279-287	ENKMKDLTF	525	A26	18	該当なし
				B08	28	4
	218-225	IEKMITAF	526	B08	17	<5
	217-225	NIEKMITAF	527	A26	26	該当なし
	216-225	SNIEKMITAF	528	A26	19	該当なし
SCP-1 223 -230	223-230	TAFEELRV	529	B5101	23	該当なし
	222-230	ITAFEELRV	530	A0201	18	2
	221-230	MITAFEELRV	531	A0201	18	16

10

20

30

【0262】

【表34Ⅰ】

表34Ⅰ

SCP-1：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 211 -239 (続き)	220-228	KMITAFEEL	532	A0201	23	50
				A26	15	該当なし
				A24	該当なし	16
	219-228	EKMITAFEEL	533	A26	19	該当なし
	227-235	ELRVQAENS	534	A3	16	<1.0
				B08	15	<1.0
SCP-1 836 -863	213-222	DLNSNIEKMI	535	A0201	17	<1.0
				A26	16	該当なし
	837-844	WTSAKNTL	536	B08	20	4
	846-854	TPLPKAYTV	537	A0201	18	2
				B0702	17	4
				B08	16	2
				B5101	25	220
	845-854	STPLPKAYTV	538	A0201	19	<5
	844-852	LSTPLPKAY	539	A1	23	8
	843-852	TLSTPLPKAY	540	A1	16	<1.0
				A26	19	該当なし
				A3	18	2
	842-850	NTLSTPLPK	541	A3	16	3
	841-850	KNTLSTPLPK	542	A3	18	<1.0

【0 2 6 3】

10

20

30

【表34J】

表34J

S C P - 1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 819 -845	828-835	ISKDKRDY	543	B08	21	3
				A26	21	該当なし
	826-835	HGISKDKRDY	544	A1	15	<5
	832-840	KRDYLWTSA	545	B2705	16	600
SCP-1 260 -288	829-838	SKDKRDYLWT	546	A1	18	<5
	279-286	ENKMKDLT	547	B08	22	8
	260-268	EINDKEKQV	548	A0201	17	3
				A26	19	該当なし
				B08	17	<5
	274-282	QITEKENKM	549	A0201	17	3
				A26	22	該当なし
				B08	16	<5
	269-277	SLLLIQITE	550	A0201	16	<1.0
				A3	18	<1.0
SCP-1 437 -464	453-460	FEKIAEEL	551	B08	21	<1.0
	452-460	QFEKIAEEL	552	B2705	15	
	451-460	KQFEKIAEEL	553	A0201	16	56
	449-456	DNKQFEKI	554	B08	16	2
				B5101	16	該当なし
	448-456	YDNKQFEKI	555	B5101	16	1
	447-456	LYDNKQFEKI	556	A1	15	<1.0

【0264】

10

20

30

【表34K】

表34K

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測			
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH	
SCP-1 437 -464 (続き)	440-447	LGEKETLL	557	B5101	16	該当なし	
	439-447	VLGEKETLL		A0201	24	149	
				A26	19	該当なし	
				B08	29	12	
	438-447	KVLGEKETLL	558	A0201	19	24	
				A26	20	該当なし	
				A24	該当なし	12	
				A3	18	<1.0	
				B0702	14	20	
SCP-1 383 -412	390-398	LLRTEQQRL	559	A0201	22	3	
				A26	18	該当なし	
				B08	22	1.6	
				B2705	15	30	
	389-398	ELLRTEQQRL	560	A0201	19	6	
				A26	24	該当なし	
				A3	15	<1.0	
	393-401	TEQQRLENY	561	A1	15	<5	
				A26	16	該当なし	
	392-401	RTEQQRLENY	562	A1	31	113	
				A26	26	該当なし	
	402-410	EDQLIILTM	563	A26	18	該当なし	
	397-406	RLENYEDQLI	564	A0201	17	<1.0	
				A3	15	<1.0	

10

20

30

【0265】

【表 3 4 L】

表 34L

SCP-1 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 366 -394	368-375	KARAAHSF	566	B08	16	<1.0
	376-384	VVTEFETTV	567	A0201	19	161
				A3	16	<1.0
	375-384	FVVTEFETTV	568	A0201	17	106
	377-385	VTEFETTV	569	A1	18	2
SCP-1 331 -357	376-385	VVTEFETTV	570	A3	16	<5
	344-352	DLQIATNTI	571	A0201	22	<5
				A3	15	<1.0
				B5101	17	11
	347-355	IATNTICQL	572	A0201	19	1
				B08	16	<1.0
				B5101	20	79
	346-355	QIATNTICQL	573	A0201	24	7

10

20

【0 2 6 6】

【表35】

表35

S S X - 4 : ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLAタイプ	SYFPEITHI	NIH
SSX4 45-76	57-65	VMTKLGFKV	574	A0201	21	495
	53-61	LNYEVMTKL	575	A0201	17	7
	52-61	KLNYEVMTKL	576	A0201	23	172
				A26	21	該当なし
				A24	該当なし	18
				A3	14	4
				B7	該当なし	4
SSX4 98-124	66-74	TLPPFMRSK	577	A26	16	該当なし
	A3	25	14			
	110-118	KIMPKKPAAE	578	A0201	15	<5
				A26	15	該当なし
				A3	16	<5
	103-112	SLQRIFPKIM	579	A0201	15	8
				A26	16	該当なし
				A3	15	<5

10

20

【0 2 6 7】

【表36】

表36

チロシナーゼ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
チロシン 445-474	463-471	YIKSYLEQA	580	A0201	18	<5
				A26	17	該当なし
	459-467	SFQDYIKSY	581	A1	18	<5
				A26	22	該当なし
	458-467	DSFQDYIKSY	582	A1	19	<5
				A26	24	該当なし
チロシン 490-518	507-514	LPEEKQPL	583	B08	28	5
				B5101	18	該当なし
	506-514	QLPEEKQPL	584	A0201	22	88
				A26	20	該当なし
				A24	該当なし	9
				B08	18	<5
	505-514	KQLPEEKQPL	585	A0201	15	28
				A24	該当なし	17
	507-515	LPEEKQPLL	586	A0201	15	<5
				B0702	21	24
				B08	28	5
				B5101	21	157
	506-515	QLPEEKQPLL	587	A0201	23	88
				A26	20	該当なし
				A24	該当なし	7
	497-505	SLLCRHKRK	588	A3	25	15

【0268】

実施例15

非標的組織に対するエピトープ交差反応性の可能性の評価

上述のように、P S Aは、カリクレインファミリーのプロテアーゼの成員であり、それ自体がセリンプロテアーゼファミリーのサブセットである。P S Aとの最大度の配列同一性を共有するこのファミリーの成員もまた類似の発現プロフィールを共有すると同時に、個々のエピトープ配列が明確に異なる発現プロフィールを有するタンパク質と共有され得ることが依然として可能である。望ましくない交差反応性の可能性を評価する際の第1の工程は、共有される配列の同定である。これを達成するための方法の1つは、「短いほぼ正確なマッチに関する検索(Search for short nearly exact matches)」オプション；「ncbi.nlm.nih.gov/blast/index.html」にあるワールドワイドウェブにアクセス可能なハイパーテキストransファーブルトコル(<http://www>)を用いて、S W I S S P R O TまたはE n t r e z 非重複ペプチド配列データベースに対するエピトープ配列のB L A S T検索を実施することである。したがって、S W I S S P R O T(ホモサピエンスに関する工

10

20

30

40

50

ントリーに限定)に対して、配列番号214、すなわちW V L T A A H C Iを検索することにより、P S Aを含む4つの正確なマッチが見出される。他の3つは、カリクレイン1(組織カリクレイン)、およびエラスター^セ2Aおよび2B由来である。これらの9個のアミノ酸セグメントが同一である一方で、ランキング配列は、特にC末端側で全く異なっており、プロセシングは異なって進行し得て、したがってこれらの他のタンパク質から同じエピトープが遊離され得ないことを示唆している。(カリクレインの命名が混同されていることに留意されたい)。したがって、カリクレイン1[アクセション番号P 0 6 8 7 0]は、腫瘍関連抗原に関する節における上記P S Aに関するパラグラフに記載するもの[アクセション番号A A D 1 3 8 1 7]とは異なるタンパク質である。

【0269】

10

幾つかの方法でこの可能性を試験することが可能である。これらのタンパク質のそれぞれの状況で包埋されたエピトープ配列を含有する合成ペプチドを、上述のようにin vitroプロテアソーム消化および解析に付すことができる。あるいは、エピトープがプロセシングされて、提示されるかどうかを決定するために、天然発現によるものであろうと組換え発現によるものであろうと、これらの他のタンパク質を発現する細胞を、エピトープを認識するCD8⁺T細胞を用いた細胞傷害性(または類似の)アッセイにおける標的として使用することができる。

【0270】

20

実施例16

エピトープクラスター

既知のエピトープおよび予測エピトープは概して、タンパク質抗原の配列にわたって均等に分布しない。上述のように、本発明者等は、エピトープクラスターとして(既知または予測)エピトープの平均密度よりも高い密度を含有する配列のセグメントを定義してきた。なかでも、エピトープクラスターの使用は、本明細書中に記載するように、プロテアソーム消化解析で使用される基質ペプチドにそれらの配列を組み込むことである。エピトープクラスターはまた、ワクチン成分としても有用であり得る。エピトープクラスターの定義および使用のより完全な説明は、エピトープクラスター(EPI TOPE CLUSTER)という表題の米国特許出願第09/561,571号に見出される。

【0271】

30

以下の表(37~60)は、SYFPEITHIおよびN I Hアルゴリズムの両方を用いたHLA-A2結合に関して予測される9量体エピトープ、ならびに重複エピトープの領域のエピトープ密度、および全タンパク質中の密度、およびこれら2つの密度の比を示す。(比は、上述の定義によりそれらがクラスターであるためには1を超えてはならない;この比のより高い値は好ましい実施形態を反映することを要する)。個々の9量体は、スコアによりランク付けされ、完全タンパク質配列中のそれらの最初のアミノの位置により同定される。タンパク質由来の各潜在的クラスターを番号付けする。クラスターが網羅する完全配列内のアミノ酸位置の範囲は、クラスターが構成される個々の予測エピトープの順位と同様に示される。

【0272】

【表37】

表37

gp100に関するBIMAS-NIH/Parkerアルゴリズムの結果

ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア
1	619	1493	21	416	19
2	602	413	22	25	18
3	162	226	23	566	17
4	18	118	24	603	15
5	178	118	25	384	14
6	273	117	26	13	14
7	601	81	27	290	12
8	243	63	28	637	10
9	606	60	29	639	9
10	373	50	30	485	9
11	544	36	31	453	8
12	291	29	32	102	8
13	592	29	33	399	8
14	268	29	34	456	7
15	47	27	35	113	7
16	585	26	36	622	7
17	576	21	37	69	7
18	465	21	38	604	6
19	570	20	39	350	6
20	9	19	40	583	5

10

20

30

【0273】

【表38】

表38

g p 1 0 0 に関する SYFPEITHI (Rammenseeアルゴリズム) の結果

ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア
1	606	30	37	291	20	73	60	18
2	162	29	38	269	20	74	17	18
3	456	28	39	2	20	75	613	17
4	18	28	40	610	19	76	599	17
5	602	27	41	594	19	77	572	17
6	598	27	42	591	19	78	557	17
7	601	26	43	583	19	79	556	17
8	597	26	44	570	19	80	512	17
9	13	26	45	488	19	81	406	17
10	585	25	46	446	19	82	324	17
11	449	25	47	322	19	83	290	17
12	4	25	48	267	19	84	101	17
13	603	24	49	250	19	85	95	17
14	576	24	50	205	19	86	635	16
15	453	24	51	180	19	87	588	16
16	178	24	52	169	19	88	584	16
17	171	24	53	88	19	89	577	16
18	11	24	54	47	19	90	559	16
19	619	23	55	10	19	91	539	16
20	280	23	56	648	18	92	494	16
21	268	23	57	605	18	93	482	16
22	592	22	58	604	18	94	468	16
23	544	22	59	595	18	95	442	16
24	465	22	60	571	18	96	413	16
25	399	22	61	569	18	97	408	16
26	373	22	62	450	18	98	402	16
27	273	22	63	409	18	99	286	16
28	243	22	64	400	18	100	234	16
29	566	21	65	371	18	101	217	16
30	563	21	66	343	18	102	211	16
31	485	21	67	298	18	103	176	16
32	384	21	68	209	18	104	107	16
33	350	21	69	102	18	105	96	16
34	9	21	70	97	18	106	80	16
35	463	20	71	76	18	107	16	16
36	397	20	72	69	18	108	14	16
						109	7	16

【表 39 - 1】

表 39

gp 100に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 661

総 9 量体: 653

SYFPEITHI ≥ 16: 109 9 量体

NIH ≥ 5: 40 9 量体

			エピトープ/アミノ酸	クラス	全タン	比
	クラスター	アミノ酸	エピトープ (ランクによる)	クラスター	パク質	
	一番号					
SYFPEITHI	1	2から26	39, 12, 109, 34, 55, 11, 9, 108, 107, 74, 4	0.440	0.165	2.668
	2	69-115	72, 71, 106, 53, 85, 105, 70, 84, 69, 104	0.213	0.165	1.290
	3	95-115	85, 105, 70, 84, 69	0.238	0.165	1.444
	4	162-188	2, 52, 17, 103, 16, 51	0.222	0.165	1.348
	5	205-225	50, 68, 102, 101	0.190	0.165	1.155
	6	243-258	28, 49	0.125	0.165	0.758
	7	267-306	48, 21, 38, 27, 20, 99, 83, 37, 67	0.225	0.165	1.364
	8	322-332	47, 82	0.182	0.165	1.103
	9	343-358	66, 33	0.125	0.165	0.758
	10	371-381	65, 26	0.182	0.165	1.103
	11	397-421	36, 25, 64, 98, 81, 97, 63, 96	0.320	0.165	1.941
	12	442-476	95, 46, 11, 62, 15, 3, 35, 24, 94	0.257	0.165	1.559
	13	482-502	93, 31, 45, 93	0.190	0.165	1.155
	14	539-552	91, 23	0.143	0.165	0.866
	15	556-627	79, 78, 90, 30, 29, 61, 44, 60, 77, 14, 89, 43, 88, 10, 87, 42, 22, 41, 59, 8, 6, 76, 7, 5, 13, 58, 57, 1, 40, 75, 19	0.431	0.165	2.611
NIH	1	9 to 33	20, 26, 4, 22	0.160	0.061	2.644
	2	268-281	14, 6	0.143	0.061	2.361
	3	290-299	27, 12	0.200	0.061	3.305
	4*	102-121	32, 35	0.100	0.061	1.653

10

20

30

40

【表39-2】

5*	373-392	10, 25	0.100	0.061	1.653
6	453-473	31, 34, 18	0.143	0.061	2.361
7	566-600	23, 19, 17, 40, 16, 13	0.171	0.061	2.833
8	601-614	7, 2, 24, 38, 9	0.357	0.061	5.902
9	619-630	1, 36	0.17	0.061	2.754
10	637-647	28, 29	0.18	0.061	3.005

*隣接しているが、重複していないエピトープ

【0275】

【表40】

表40

PSMAに関するBIMAS-NIH/Parkerアルゴリズムの結果

ランク	開始	スコア
1	663	1360
2	711	1055
3	4	485
4	27	400
5	26	375
6	668	261
7	707	251
8	469	193
9	731	177
10	35	67
11	33	64
12	554	59
13	427	50
14	115	47
15	20	40
16	217	26
17	583	24
18	415	19
19	193	14
20	240	12
21	627	11
22	260	10
23	130	10
24	741	9
25	3	9
26	733	8
27	726	7
28	286	6
29	174	5
30	700	5

10

20

30

40

【0276】

【表41】

表41

PSMAに関するSYFPEITHI (Rammenseeアルゴリズム) の結果

ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア
1	469	27	31	26	20	61	305	17
2	27	27	32	3	20	62	304	17
3	741	26	33	583	19	63	286	17
4	711	26	34	579	19	64	282	17
5	354	25	35	554	19	65	169	17
6	4	25	36	550	19	66	142	17
7	663	24	37	547	19	67	122	17
8	130	24	38	390	19	68	738	16
9	57	24	39	219	19	69	634	16
10	707	23	40	193	19	70	631	16
11	260	23	41	700	18	71	515	16
12	20	23	42	472	18	72	456	16
13	603	22	43	364	18	73	440	16
14	218	22	44	317	18	74	385	16
15	109	22	45	253	18	75	373	16
16	731	21	46	91	18	76	365	16
17	668	21	47	61	18	77	361	16
18	660	21	48	13	18	78	289	16
19	507	21	49	733	17	79	278	16
20	454	21	50	673	17	80	258	16
21	427	21	51	671	17	81	247	16
22	358	21	52	642	17	82	217	16
23	284	21	53	571	17	83	107	16
24	115	21	54	492	17	84	100	16
25	33	21	55	442	17	85	75	16
26	606	20	56	441	17	86	37	16
27	568	20	57	397	17	87	30	16
28	473	20	58	391	17	88	21	16
29	461	20	59	357	17			
30	200	20	60	344	17			

【0 2 7 7】

【表42】

表42

前立腺特異的膜抗原（PSMA）に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 750

総9量体: 742

SYFPEITHI \geq 16: 88 9量体NIH \geq 5: 30 9量体

			エピトープ/アミノ酸	クラス	全タン	比
	クラスタ 一番号	アミノ酸	エピトープ(ランクによる)	ター	パク質	
SYFPEITHI	1	3 から 12	32, 6	0.200	0.117	1.705
	2	13-45	13, 12, 88, 31, 2, 87, 25, 86	0.242	0.117	2.066
	3	57-69	9, 47	0.154	0.117	1.311
	4	100-138	84, 83, 15, 24, 67, 8	0.154	0.117	1.311
	5	193-208	40, 30	0.111	0.117	0.947
	6	217-227	82, 14, 39	0.273	0.117	2.324
	7	247-268	81, 45, 80, 11	0.182	0.117	1.550
	8	278-297	79, 64, 23, 63, 78	0.250	0.117	2.131
	9	354-381	5, 59, 22, 77, 43, 76, 75	0.250	0.117	2.131
	10	385-405	74, 38, 58, 57	0.190	0.117	1.623
	11	440-450	73, 56, 55	0.273	0.117	2.324
	12	454-481	20, 72, 29, 1, 42, 28	0.214	0.117	1.826
	13	507-523	17, 71	0.118	0.117	1.003
	14	547-562	37, 36, 35	0.188	0.117	1.598
	15	568-591	27, 53, 34, 33	0.167	0.117	1.420
	16	603-614	13, 26	0.167	0.117	1.420
	17	631-650	70, 69, 52	0.150	0.117	1.278
	18	660-681	18, 7, 17, 51, 50	0.227	0.117	1.937
	19	700-719	41, 10, 4	0.150	0.117	1.278
	20	731-749	16, 49, 68, 3	0.211	0.117	1.794
NIH	1	3 to 12	25, 3	0.200	0.040	5.000
	2	20-43	15, 5, 4, 11, 10	0.208	0.040	5.208
	3*	415-435	18, 13	0.095	0.040	2.381
	4	663-676	1, 6	0.143	0.040	3.571
	5	700-715	30, 7, 3	0.188	0.040	4.688
	6	726-749	27, 9, 26, 24	0.167	0.040	4.167

*隣接しているが、重複していないエピトープ

【0278】

【表43】

表43

P S Aに関するB I M A S - N I H / P a r k e rアルゴリズムの結果

ランク	開始	スコア
1	7	607
2	170	243
3	52	124
4	53	112
5	195	101
6	165	23
7	72	18
8	245	18
9	2	16
10	59	16
11	122	15
12	125	15
13	191	13
14	9	8
15	14	6
16	175	5
17	130	5

10

20

30

【0 2 7 9】

【表44】

表44

PSAに関するSYFPEITHI (Rammenseeアルゴリズム) の結果

ランク	開始	スコア
1	72	26
2	170	22
3	53	22
4	7	22
5	234	21
6	166	21
7	140	21
8	66	21
9	241	20
10	175	20
11	12	20
12	41	19
13	20	19
14	14	19
15	130	18
16	124	18
17	121	18
18	47	18
19	17	18
20	218	17
21	133	17
22	125	17
23	122	17
24	118	17
25	110	17
26	67	17
27	52	17
28	21	17
29	16	17
30	2	17
31	184	16
32	179	16
33	158	16
34	79	16
35	73	16
36	4	16

10

20

30

40

【表45】

表45

前立腺特異的抗原（P S A）に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 261

総9量体: 253

SYFPEITHI \geq 16: 36 9量体NIH \geq 5: 17 9量体

10

20

30

	クラスター番号	アミノ酸	エピトープ (ランクによる)	エピトープ/アミノ酸		
				クラス	全タンパク質	比
SYFPEITHI	1	2から29	30, 36, 4, 11, 14, 29, 19, 13, 28	0.321	0.138	2.330
	2	41-61	12, 18, 27, 3	0.190	0.138	1.381
	3	66-87	8, 26, 1, 35, 34	0.227	0.138	1.648
	4	110-148	25, 24, 17, 23, 16, 22, 15, 21, 7	0.184	0.138	1.332
	5	158-192	33, 6, 2, 10, 32, 31	0.171	0.138	1.243
	6	234-249	5, 9	0.125	0.138	0.906
	7*	118-133	24, 17, 23, 16, 22	0.313	0.138	2.266
	8*	118-138	24, 17, 23, 16, 22, 15	0.286	0.138	2.071
NIH	1	2-22	9, 1, 14, 15	0.190	0.065	2.924
	2	52-67	3, 4, 10	0.188	0.065	2.879
	3	122-138	11, 12, 17	0.176	0.065	2.709
	4	165-183	6, 2, 16	0.158	0.065	2.424
	5	191-203	13, 5	0.154	0.065	2.362
	6**	52-80	3, 4, 10, 7	0.138	0.065	2.118

*これらのクラスターは、あまり好ましくないクラスター番号4の内部にある。

**隣接しているが、重複していないエピトープを含む。

【0281】

【表46】

表46

P S C Aに関するB I M A S - N I H / P a r k e rアルゴリズムの結果

Rank	Start	Score
1	43	153
2	5	84
3	7	79
4	109	36
5	105	25
6	108	24
7	14	21
8	20	18
9	115	17
10	42	15
11	36	15
12	99	9
13	58	8

【0 2 8 2】

【表47】

表47

PSCAに関するSYFPEITHI (Rammenseeアルゴリズム) の結果

ランク	開始	スコア	ランク	開始	スコア
1	108	30	17	54	19
2	14	30	18	12	19
3	105	29	19	4	19
4	5	28	20	1	19
5	115	26	21	112	18
6	99	26	22	101	18
7	7	26	23	98	18
8	109	24	24	51	18
9	53	23	25	43	18
10	107	21	26	106	17
11	20	21	27	104	17
12	8	21	28	83	17
13	13	20	29	63	17
14	102	19	30	50	17
15	60	19	31	3	17
16	57	19	32	9	16
			33	92	16

10

20

【0 2 8 3】

【表48】

前立腺幹細胞抗原 (PSCA) に関するクラスターの予測
 総アミノ酸: 123
 総9量体: 115
 SYFPEITHI ≥16: 33;
 SYFPEITHI ≥20: 13
 NIH≥5: 13

		クラスター アミノ酸		エピトープ(ランクによる)		エピトープ/アミノ酸	
		一番号	クラスター全タシバ比 ク質	一	クラスター全タシバ比 ク質	一	クラスター全タシバ比 ク質
SYFPEITHI >16	1	1から28	20, 31, 19, 4, 7, 12, 33, 18, 13, 2, 11	0.393	0.268	—	1.464
	2	43-71	25, 30, 24, 9, 17, 16, 15, 29	0.276	0.268	—	1.028
	3	92-123	32, 23, 6, 27, 14, 22, 3, 26, 10, 1, 8, 21, 5	0.406	0.268	—	1.514
SYFPEITHI >20	1	5から28	4, 7, 12, 13, 2, 11	0.250	0.106	—	2.365
	2	99-123	6, 3, 10, 1, 8, 5	0.240	0.106	—	2.271
NIH	1	5から28	2, 3, 7, 8	0.167	0.106	—	1.577
	2	36-51	11, 10, 1	0.188	0.106	—	1.774
	3	99-123	12, 5, 6, 4, 9	0.200	0.106	—	1.892
	4*	105-116	5, 6, 4	0.250	0.106	—	2.365

*このクラスターは、あまり好ましくないクラスター番号3の内部にある

【0284】

表49～60では、各アルゴリズムに関するエピトープ予測およびクラスター解析は、
 単一の表において一緒に示している。

【0285】

【表49】

表49

MAGE-1に関するクラスターの予測 (NIHアルゴリズム)

総アミノ酸: 309

総9量体: 301

NIH≥ 5:19 9量体

10

クラスター番号	アミノ酸エピトープ	開始位置	NIHスコア	クラスター	全タンパク質	エピトープ/アミノ酸比
	番号	ランク				
1	18-32	16	18	9	0.133	0.063 2.112
		19	24	7		
2	101-113	14	101	11	0.154	0.063 2.442
		7	105	44		
3	146-159	9	146	32	0.143	0.063 2.263
		3	151	169		
4	169-202	10	169	32	0.176	0.063 2.796
		13	174	16		
		18	181	8		
		17	187	8		
		6	188	74		
		5	194	110		
5	264-277	2	264	190	0.143	0.063 2.263
		12	269	20		
6	278-290	1	278	743	0.154	0.063 2.437
		11	282	28		

20

30

【0286】

【表 50 - 1】

表 50

MAGE-1に関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 309

総9量体: 301

SYFPEITHI ≥ 16: 46 9量体

番号	クラスター	アミノ酸	エピトープ	開始	SYFPEITHI	エピトープ/アミノ酸		全タン 比
						スコア	クラスター	
1	7-49		22	7	19	0.233	0.153	1.522
				9	22			
				27	18			
				16	20			
				28	18			
				29	18			
				33	17			
				30	18			
				2	26			
				17	20			
2	89-132		10	89	22	0.273	0.153	1.783
				18	20			
				7	23			
				23	19			
				43	16			
				4	25			
				8	23			
				34	17			
				35	17			
				36	17			
				37	17			
				19	20			
3	167-203		44	167	16	0.270	0.153	1.766
				20	20			
				12	21			
				24	19			
				6	24			

【表 5 0 - 2】

		31	188	18			
		25	191	19			
		38	192	17			
		1	194	27			
		13	195	21			
4	230-246	14	230	21	0.118	0.153	0.769
		39	238	17			
5	264-297	15	264	21	0.235	0.153	1.538
		32	269	18			
		40	270	17			
		26	271	19			
		46	275	16			
		3	278	26			
		21	282	20			
		41	289	17			

10

20

【0 2 8 7】

【表51】

表51

MAGE-2に関するクラスターの予測 (NIHアルゴリズム)

総アミノ酸: 314

総9量体: 308

NIH >= 5: 20 9量体

10

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	NIH		エピトープ/アミノ酸比	
				スコア	クラスター	全タンパク質	比
1	101-120	18	101	5.373	0.150	0.065	2.310
		16	108	6.756			
		1	112	2800.697			
2	153-167	8	153	31.883	0.200	0.065	3.080
		4	158	168.552			
		7	159	32.138			
3	169-211	14	169	8.535	0.209	0.065	3.223
		19	174	5.346			
		6	176	49.993			
		11	181	15.701			
		15	188	7.536			
		12	195	12.809			
		5	200	88.783			
		10	201	16.725			
		17	203	5.609			
4	271-284	3	271	398.324	0.143	0.065	2.200
		9	276	19.658			

20

30

【0288】

【表 52 - 1】

表 52

MAGE-2に関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 314

総9量体: 308

SYFPEITHI ≥ 16: 52 9量体

番号	クラスター	アミノ酸	エピトープ	開始	エピトープ/アミノ酸			クラス
					位置	スコア	率	
1	15-32			SYFPEITHI	13	15	21	0.278
					29	18	18	0.169
					43	20	16	1.645
					30	22	18	
					21	24	19	
2	37-56			SYFPEITHI	31	37	18	0.250
					16	40	20	0.169
					44	44	16	1.481
					14	45	21	
					22	48	19	
3	96-133			SYFPEITHI	36	96	17	0.211
					46	101	16	0.169
					6	108	25	1.247
					47	109	16	
					2	112	27	
					37	120	17	
					38	125	17	
					17	131	20	
4	153-216			SYFPEITHI	12	153	22	0.344
					39	158	17	0.169
					7	159	25	2.036
					23	161	19	
					24	162	19	

10

20

30

40

【表 5 2 - 2】

		48	164	16			
		49	167	16			
		32	170	18			
		50	171	16			
		4	174	26			
		9	176	24			
		51	177	16			10
		15	181	21			
		25	188	19			
		18	194	20			
		33	195	18			
		19	198	20			
		3	200	27			
		1	201	28			20
		40	202	17			
		10	203	23			
		52	208	16			
5	237-254	26	237	19	0.167	0.169	0.987
		27	245	19			
		34	246	18			
6	271-299	8	271	25	0.241	0.169	1.430
		35	276	18			
		41	277	17			
		11	278	23			
		28	283	19			
		20	285	20			
		42	291	17			

【0 2 8 9】

【表 5 3】

表 53

MAGE-3に関するクラスターの予測(NIHアルゴリズム)

総アミノ酸: 314

総 9量体: 308

NIH≥ 5: 22 9量体

10

クラスター番号	アミノ酸	エピトープ	開始位置	NIHスコア	エピトープ/アミノ酸		
					クラスター	一	全タンパク質比
1	101-120	15	101	11.002	0.200	0.071	2.800
		21	105	6.488			
		8	108	49.134			
		2	112	339.313			
2	153-167	18	153	7.776	0.200	0.071	2.800
		6	158	51.77			
		22	159	5.599			
3	174-209	17	174	8.832	0.194	0.071	2.722
		7	176	49.993			
		13	181	15.701			
		19	188	7.536			
		14	195	12.809			
		5	200	88.783			
		12	201	16.725			
4	237-251	16	237	10.868	0.200	0.071	2.800
		4	238	148.896			
		20	243	6.88			
5	271-284	1	271	2655.495	0.143	0.071	2.000
		11	276	19.658			

20

30

【0 2 9 0】

40

【表 54 - 1】

表 54

MAGE-3に関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 314

総9量体: 308

SYFPEITHI ≥ 16: 47 9量体

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	SYFPEITHIスコア	エピトープ/アミノ酸		
					クラスター	全タンパク質	比
1	15-32	12	15	21	0.278	0.153	1.820
		26	18	18			
		37	20	16			
		27	22	18			
		18	24	19			
2	38-56	38	38	16	0.263	0.153	1.725
		15	40	20			
		39	44	16			
		13	45	21			
		19	48	19			
3	101-142	28	101	18	0.190	0.153	1.248
		40	105	16			
		1	108	31			
		6	112	25			
		31	120	17			
		32	125	17			
		16	131	20			
		41	134	16			
4	153-216	20	153	19	0.313	0.153	2.048
		29	156	18			
		33	158	17			
		21	159	19			
		34	161	17			
		42	164	16			
		43	167	16			
		10	174	22			
		8	176	23			

10

20

30

40

【表 5 4 - 2】

		14	181	21			
		22	188	19			
		44	193	16			
		11	194	22			
		23	195	19			
		45	197	16			
		17	198	20			
		3	200	27			
		2	201	28			
		35	202	17			
		46	208	16			
5	220-230	5	220	26	0.182	0.153	1.191
		47	222	16			
6	237-246	7	237	25	0.200	0.153	1.311
		9	238	23			
7	271-293	4	271	27	0.217	0.153	1.425
		30	276	18			
		24	278	19			
		36	283	17			
		25	285	19			

10

20

【0 2 9 1】

【表 5 5 - 1】

表 55

PRAMEに関するクラスターの予測 (NIHアルゴリズム)

総アミノ酸: 509

総 9 量体: 501

NIH ≥ 5: 40 9 量体

10

クラスター番号	アミノ酸	エピトープ		NIH	エピトープ/アミノ酸		
		開始位置	ランク		スコア	クラスター	全タンパク質
1	33-47	20	33	18	0.133	0.080	1.670
		17	39	21			
2	71-81	9	71	50	0.2	0.07984	2.505
		32	73	7			
3	99-108	23	100	15	0.2	0.07984	2.505
		24	99	13			
4	126-135	38	126	5	0.2	0.07984	2.505
		35	127	6			
5	224-246	5	224	124	0.130	0.080	1.634
		8	230	63			
		39	238	5			
6	290-303	18	290	18	0.214	0.080	2.684
		14	292	23			
		7	295	66			
7	305-324	28	305	10	0.200	0.080	2.505
		30	308	8			
		25	312	13			
		36	316	6			
8	394-409	2	394	182	0.188	0.080	2.348
		12	397	42			
		31	401	7			
9	422-443	10	422	49	0.227	0.080	2.847
		3	425	182			
		34	431	7			
		29	432	9			

20

30

40

【表 5 5 - 2】

		4	435	160			
10	459-487	15	459	21	0.172	0.080	2.159
		11	462	45			
		22	466	15			
		40	472	5			
		37	479	6			

【0 2 9 2】

【表 56 - 1】

表 56

PRAMEに関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 509

総9量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80 9量体

番号	クラスター	アミノ酸	エピトープ	開始	SYFPEITHI		アミノ酸比
					ランク	位置	
1	18-59			18	17	0.238	0.160 1.491
				50	21	18	20
				66	26	17	20
				35	33	20	20
				22	34	22	20
				51	37	18	20
				5	39	27	20
				23	40	22	20
				13	44	24	20
				46	51	19	20
2	78-115			36	78	20	0.160 1.648
				67	80	17	20
				52	84	18	20
				24	86	22	20
				53	91	18	20
				25	93	22	20
				9	99	25	20
				8	100	26	20
				54	103	18	20
				55	107	18	20
3	191-202			56	191	18	0.160 1.044
				38	194	20	20
4	205-215			26	205	22	0.160 1.139
				27	207	22	20
5	222-238			47	222	19	0.160 1.474
				14	224	24	20
				69	227	17	20

【表 5 6 - 2】

PRAMEに関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 509

総9量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80 9量体

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	SYFPEITHI		エピトープ/アミノ酸比	
				スコア	クラスター	総タンパク質	比
6	241-273	57	230	18			
		70	241	17	0.212	0.160	1.328
		15	248	24			
		71	255	17			
		30	258	21			
		39	259	20			
		58	261	18			
7	290-342	40	265	20			
		72	290	17	0.208	0.160	1.300
		48	293	19			
		31	298	21			
		73	301	17			
		18	305	23			
		6	308	27			
		10	312	25			
		19	316	23			
8	343-363	28	319	22			
		41	326	20			
		74	334	17			
		59	343	18	0.238	0.160	1.491
		60	348	18			
9	364-447	75	351	17			
		20	353	23			
		76	355	17			
		49	364	19	0.250	0.160	1.566
		32	371	21			
		11	372	25			
		61	375	18			

10

20

30

40

【表 5 6 - 3】

PRAMEに関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸: 509

総9量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80 9量体

クラスター番号	アミノ酸エピトープ	開始位置	SYFPEITHIスコア	エピトープ/アミノ酸		
				クラスター	総タンパク質	比
	77	382	17			
	21	390	23			
	78	391	17			
	1	394	30			
	42	397	20			
	62	403	18			
	33	410	21			
	43	418	20			
	34	419	21			
	7	422	27			
	2	425	29			
	79	426	17			
	63	428	18			
	64	431	18			
	12	432	25			
	16	435	24			
	80	439	17			
10	455-474	29	455	22	0.200	0.160
		17	459	24		
		4	462	28		
		3	466	29		

【0 2 9 3】

10

20

30

【表57】

表57

CEAに関するクラスターの予測（NIHアルゴリズム）

総アミノ酸:702

総9量体: 694

NIH ≥ 5: 30 9量体

クラスター 番号	アミノ酸 ペプチド ランク	開始 位置	スコア	ペプチド/アミノ 酸		
				クラスター	全タンパク質	比
1	17-32	5	17	79.041	0.188	0.043 4.388
		7	18	46.873		
		20	24	12.668		
2	113-129	2	113	167.991	0.118	0.043 2.753
		15	121	21.362		
3	172-187	25	172	9.165	0.125	0.043 2.925
		14	179	27.995		
4	278-291	30	278	5.818	0.143	0.043 3.343
		17	283	19.301		
5	350-365	9	350	43.075	0.125	0.043 2.925
		12	357	27.995		
6	528-543	8	528	43.075	0.125	0.043 2.925
		13	535	27.995		
7	631-645	23	631	9.563	0.200	0.043 4.680
		19	634	13.381		
		24	637	9.245		
8	691-702	1	691	196.407	0.167	0.043 3.900
		27	694	7.769		

10

20

30

【0294】

【表 58 - 1】

表 58

CEAに関するクラスターの予測 (SYFPEITHIアルゴリズム)

総アミノ酸:702

総9量体:694

SYFPEITHI ≥16: 81 9量体

10

番号	クラスター	アミノ酸	ペプチド	開始位置	スコア	ペプチド/アミノ酸	
						クラスター	全タンパク質比
1	5-36	67	5	16	0.250	0.117	2.140
		23	12	19			
		24	16	19			
		9	17	22			
		25	18	19			
		32	19	18			
		68	23	16			
		33	28	18			
2	37-62	41	37	17	0.269	0.117	2.305
		20	44	20			
		26	45	19			
		42	46	17			
		27	50	19			
		43	53	17			
		44	54	17			
3	99-115	14	99	21	0.235	0.117	2.014
		5	100	23			
		45	104	17			
		34	107	18			
4	116-129	69	116	16	0.143	0.117	1.223
		21	121	20			
5	172-187	46	172	17	0.125	0.117	1.070
		70	179	16			
6	192-202	3	192	24	0.182	0.117	1.557

20

30

40

【表 5 8 - 2】

		47	194	17			
7	226-241	48	226	17	0.188	0.117	1.605
		49	229	17			
		15	233	21			
8	307-318	11	307	22	0.250	0.117	2.140
		71	308	16			
		51	310	17			
9	319-349	52	319	17	0.129	0.117	1.105
		53	327	17			
		72	335	16			
		35	341	18			
10	370-388	12	370	22	0.211	0.117	1.802
		54	372	17			
		74	375	16			
		6	380	23			
11	403-419	56	403	17	0.235	0.117	2.014
		57	404	17			
		58	407	17			
		28	411	19			
12	427-442	59	427	17	0.188	0.117	1.605
		75	432	16			
		76	434	16			
13	450-462	77	450	16	0.154	0.117	1.317
		13	454	22			
14	488-505	36	488	18	0.167	0.117	1.427
		18	492	21			
		60	497	17			
15	548-558	4	548	24	0.182	0.117	1.557
		61	550	17			
16	565-577	62	565	17	0.154	0.117	1.317
		19	569	21			
17	579-597	78	579	16	0.143	0.117	1.223
		79	582	16			
		7	589	23			
18	605-618	2	605	25	0.143	0.117	1.223
		38	610	18			

10

20

30

40

【表 5 8 - 3】

19	631-669	29	631	19	0.154	0.117	1.317	
		63	637	17				
		80	644	16				
		64	652	17				
		39	660	18				
		81	661	16				
20	675-702	22	675	20	0.286	0.117	2.446	10
		30	683	19				
		31	687	19				
		40	688	18				
		65	690	17				
		1	691	31				
		66	692	17				
		8	694	23				

【0 2 9 5】

20

【表 5 9】

表 59

SCP-1に関するクラスターの予測 (NIHアルゴリズム)

総アミノ酸: 976

総9量体: 968

NIH ≥ 5: 37 9量体

10

クラスター 番号	アミノ酸 ペプチド	ランク	開始 位置	スコア			ペプチド/ アミノ酸 比
				クラスター	全タンパク質	比	
1	101-116	15	101	40.589	0.125	0.038	3.270
		13	108	57.255			
2*	281-305	14	281	44.944	0.12	0.038	3.139
		24	288	15.203			
		17	297	32.857			
3	431-447	8	431	80.217	0.073	0.038	1.914
		26	438	11.861			
		4	439	148.896			
4	557-579	11	557	64.335	0.174	0.038	4.550
		19	560	24.937			
		6	564	87.586			
		18	571	32.765			
5	635-650	10	635	69.552	0.125	0.038	3.270
		34	642	6.542			
6	755-767	36	755	5.599	0.154	0.038	4.025
		35	759	5.928			
7	838-854	2	838	284.517	0.118	0.038	3.078
		28	846	11.426			

20

30

【0 2 9 6】

【表 60 - 1】

表 60

SCP-1に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 976

総9量体: 968

Rammensee ≥ 16: 118 9量体

クラスター番号	アミノ酸ペプチド	ランク	開始位置	スコア	ペプチド/アミノ酸比		
					クラスター	全タンパク質	比
1	8-28	99	8	16	0.143	0.121	1.182
		77	15	17			
		100	20	16			
2	63-80	78	63	17	0.222	0.121	1.838
		50	66	19			
		102	69	16			
		60	72	18			
3	94-123	79	94	17	0.133	0.121	1.103
		12	101	23			
		17	108	22			
		103	115	16			
4	126-158	35	126	20	0.182	0.121	1.504
		36	133	20			
		51	139	19			
		80	140	17			
		61	143	18			
		37	150	20			
5	161-189	38	161	20	0.207	0.121	1.711
		52	165	19			
		81	171	17			
		82	177	17			
		62	178	18			
		39	181	20			
6	213-230	40	213	20	0.167	0.121	1.379
		13	220	23			
		28	222	21			

10

20

30

40

【表 6 0 - 2】

7	235-250	63	235	18	0.125	0.121	1.034	
		18	242	22				
8	260-296	83	260	17	0.243	0.121	2.012	
		105	262	16				10
		84	267	17				
		106	269	16				
		41	270	20				
		64	271	18				
		85	274	17				
		19	281	22				
		3	288	25				
9	312-338	108	312	16	0.148	0.121	1.225	
		29	319	21				
		30	323	21				
		65	330	18				20
10	339-355	66	339	18	0.235	0.121	1.946	
		31	340	21				
		42	344	20				
		53	347	19				
11	376-447	54	376	19	0.194	0.121	1.608	
		43	382	20				
		44	386	20				
		20	390	22				
		55	397	19				30
		6	404	24				
		86	407	17				
		45	411	20				
		67	417	18				
		21	425	22				
		46	431	20				
		68	432	18				
		32	438	21				
		7	439	24				40
12	455-488	33	455	21	0.235	0.121	1.946	
		47	459	20				
		56	462	19				

【表 60 - 3】

		87	463	17			
		88	466	17			
		14	470	23			
		109	473	16			
		34	480	21			
13	515-530	57	515	19	0.125	0.121	1.034
		22	522	22			
14	557-590	8	557	24	0.147	0.121	1.216
		23	564	22			
		9	571	24			
		90	575	17			
		58	582	19			
15	610-625	69	610	18	0.125	0.121	1.034
		91	617	17			
16	633-668	92	633	17	0.222		
		10	635	24			
		70	638	18			
		93	640	17			
		48	642	20			
		49	645	20			
		111	652	16			
		112	660	16			
17	674-685	71	674	18	0.167	0.121	1.379
		11	677	24			
18	687-702	1	687	26	0.125	0.121	1.034
		94	694	17			
19	744-767	113	744	16	0.250	0.121	2.068
		95	745	17			
		4	745	25			
		24	752	22			
		2	755	26			
		72	759	18			
20	812-827	97	812	17	0.125	0.121	1.034
		115	819	16			
21	838-857	116	838	16	0.150	0.121	1.241
		25	846	22			

10

20

30

40

【表 6 0 - 4】

		74	849	18			
22	896-913	117	896	16	0.222	0.121	1.838
		98	899	17			
		26	902	22			
		76	905	18			

【0 2 9 7】

本発明の実施形態は、ワールドワイドウェブによりアクセス可能である様々なデータベースにおいて開示されるものを含む、本明細書中に提供する標的抗原の配列における変更に適用可能であり、かつそれらを意図する。具体的には、本明細書中に開示する特定の配列に関して、配列中の変更は、各抗原に関する情報にアクセスするための添付のアクション番号を使用することにより見出すことができる。

10

(表 6 1)

TYROSINASE PROTEIN; SEQ ID NO 2

1 MLLAVLYCCLL WSFQTSAGHF PRACVSSKNL MEKECCPPWS GDRSPCGQLS GRGSCQNILL
 61 SNAPLGPQFP FTGVDDRESW PSVFYNRTCQ CSGNFMGFNC GNCKFGFWGP NCTERRLLVR
 121 RNIFDLSAPE KDKFFAYLTL AKHTISSLDYV IPIGTYGQMK NGSTPMFNDI NIYDLFVWMH
 181 YYVSMMDALLG GSEIWRDIDF AHEAPAFLPW HRLFLLRWEQ EIQLKLTGDEN FTIPYWDWRD
 241 AEKCDICTDE YMGGQHPTNP NLLSPASFFS SWQIVCSRLE EYNSHQSCLCN GTPEGPLRRN
 301 PGNHDKSRTP RLPSSADVEF CLSLTQYESG SMDKAANFSF RNTLEGFASP LTGIADASQS
 361 SMHNALHIYM NGTMSQVQGS ANDPIFLLHH AFVDSIFEQW LRRHRPLQEV YPEANAPIGH
 421 NRESYMPFI PLYRNGDFFI SSKDLGYDYS YLQDSDPDSF QDYIKSYLEQ ASRIWSWLLG
 481 AAMVGAVLTA LLAGLVSLLC RHKRKQLPEE KQPLLMEKED YHSLYQSHL

20

SSX-2 PROTEIN; SEQ ID NO 3

30

1 MNGDDAFARR PTVGAAQIPEK IQKAFDDIAK YFSKEEWEKM KASEKIFYVY MKRKYEAMTK
 61 LGFKATLPPF MCNKRAEDFQ GNDLDNDPNR GNQVERPQMT FGRLQGISPK IMPKKPAEEG
 121 NDSEEVPEAS GPQNDGKELC PPGKPTTSEK IHERSGPKRG EHAWTHRLRE RKQLVIYEEI
 181 SDPEEDDE

PSMA PROTEIN; SEQ ID NO 4

1 MWNLHETDS AVATARPRW LCAGALVLAG GFLLGFLFG WFIKSSNEAT NITPKHNMKA
 61 FLDELKAENI KKFLYNFTQI PHLAGTEQNF QLAKQIQSQW KEFGLDSVEL AHYDVLLSYP
 121 NKTHPNYISI INEDGNEIFN TSLFEPPPPP YENVSDIVPP FSAFSPQGMP EGDLVYVNYA
 181 RTEDFFKLER DMKINCQGKI VIARYGKVFR GNKVNAQLA GAKGVILYSD PADDYFAPGVK
 241 SYPDGNLPG GGVQRGNILN LNGAGDPLTP GYPANEYAYR RGIAEAVGLP SIPVHPIGYY
 301 DAQKLLEKMG GSAPPDSSWR GSLKVPYNVG PGFTGNFSTQ KVKMHIHSTN EVTRIYNVIG
 361 TLRGAVEPDR YVILGGHRDS WVFGGIDPQS GAAVVHEIVR SFGTLKKEGW RPRRTILFAS
 421 WDAEEFGLLG STEWAEEENR LLQERGVAYI NADSSIEGNY TLRVDCTPLM YSLVHNLTKE
 481 LKSPDEGFEG KSLYESWTKK SPSPEFSGMP RISKLGSGND FEVFFQRLGI ASGRARYTKN
 541 WETNKFSGYP LYHSVYETYE LVEKFYDPMF KYHLTVAQVR GGMVFELANS IVLPFDCRDY
 601 AVVLRKYADK IYSISMKHPQ EMKTYSVSFD SLFSAVKNFT EIASKFSERL QDFDKSNPIV
 661 LRMMNDQLMF LERAVIDPLG LPDRPFYRHV IYAPSSHNKY AGESFPGIYD ALFDIESKVD

40

50

721 PSKAWGEVKR QIYVAAFTVQ AAAETLSEVA

Homo sapiens tyrosinase (oculocutaneous albinism IA) (TYR), mRNA.;

ACCESSION NM_000372

VERSION NM_000372.1 GI:4507752

SEQ ID NO 2

/ translation="MLLAVLYCLLWSFQTSAHFPRACVSSKNLMEKE

CCPPWSDRS

10

```

PCGQLSGRGS CQN ILLSNAPLGQFPFTGVDDRESWPSVFYNRTQCSCGNFMGFNCGN
CKFGFWGPNC TERRLLVRRN IFDL SAPEKD KFFAYLTAKHT I SSDYV I PIGTYGQMK
NGSTPMFND IN I YDLFVWMHYYVSM DALLGGSE I WRD I DFAHEAP AFLPWHRLFLLRW
EQE I QKLTDENFT I PYWDWRDAEKCD I CTDEYMGQHPTNPNLSPASFFSSWQ I VC
SRLEEVNSHQSLCNGTPEGPLRRNPGNHDKSRTPLPSSADVEFCLSLTQYESGSMDK
AANFSFRNTLEGFASPLTG I ADASQSSMHNALH I YMNGTMSQVQGSANDP I FLLHHAF
VDS I FEQWLRRHRPLQE VYPEANAP I GHNRESYMVPF I PLYRNGDFF I SSKDLGYDYS
YLQDSDPDSFQDY I KSYLEQASR I WSWLLGAAMVGAVLTALLAGLVSLLCRHKRKQLP
EEKQPLLMEKEDYHSLYQSHL "

```

20

SEQ ID NO 5

ORIGIN

```

1 atcactgtag tagtagctgg aaagagaaaat ctgtgactcc aattagccag ttccctgcaga
61 ccttgtgagg actagaggaa gaatgctcct ggctgtttt tactgcctgc tggagattt
121 ccagacccctcc gctggccatt tccctagagc ctgtgtctcc tctaagaacc tgatggagaa
181 ggaatgctgt ccaccgtgga gcggggacag gagtccctgt gccagcttt caggcagagg
241 ttccctgtcag aatacccttc tgtccaatgc accacttggg cctcaatttc cttcacagg
301 ggtggatgac cgggatgtcg ggccttcgt ctttataat aggacctgcc agtgctctgg
361 caacttcatg ggattcaact gtggaaactg caagtttggc ttttgggac caaactgcac
421 agagagacga ctcttggta gaagaaacat cttcgatttg agtgc(cc)ag agaaggacaa
481 attttttgcc tacctcaattt tagcaaagca taccatcagc tcagactatg tcatccccat
541 agggacccat ggc当地atga aaaatggatc aacacccatg ttaacgaca tcaatattta
601 tgacctttt gtctggatgc attattatgt gtcaatggat gcactgc(t) gggatctga
661 aatctggaga gacattgatt ttgcccatttga agcaccagct tttctgcctt ggcataact
721 cttctgtt cggtggAAC aagaaatcca gaagctgaca ggagatgaaa acttcactat
781 tccatattgg gactggcggt atgcagaaaa gtgtgacatt tgcacagatg agtacatgg
841 aggtcagcac cccacaatc ctaacttact cagcccagca tcattctct cctcttggca
901 gattgtctgt agccgattgg aggagtacaa cagccatcg tctttatgca atgaaacgcc
961 cgagggaccc ttacggcgta atccctggaaa ccatgacaaa tccagaaccc caaggctccc
1021 ctcttcagct gatgtagaat ttgcctgag ttgcacccaa tatgaatctg gttccatgg
1081 taaagctgcc aatttcagct ttagaaatac actggaaaggat ttgcctgtc cacttactgg
1141 gatagcggat gcctctaaa gcagcatgca caatgccttgc cacatctata tgaatggaa
1201 aatgtccca gtagggat ctgccaacga tcctatcttc cttcttcacc atgcattttgt
1261 tgacagtatt ttgcgtcgt ggctccgaag gcaccgtcctt cttcaagaag ttatccaga
1321 agccaatgca cccattggac ataaccggga atccatcatg ttgccttttta taccactgta
1381 cagaaatggt gatttcttta ttcatccaa agatctggc tatgactata gctatctaca
1441 agattcagac ccagactctt tcaagacta cattaagtcc tatttggAAC aagcgagtcg
1501 gatctggtca tggctccctt gggccggcgt ggtaggggcc gtcctcactg ccctgctggc
1561 agggcttgg agcttgctgt gtcgtcacaag gagaaagcag cttcctgaag aaaaggcagcc
1621 actccatg gagaagagg attaccacag cttgtatcag agccatttat aaaaggctt

```

30

40

50

1681 ggcaatagag tagggccaaa aagcctgacc tcactctaac tcaaagtaat gtccagggttc
 1741 ccagagaata tctgcggta ttttctgt aagaccattt gaaaaattgt aacctaatac
 1801 aaagtgttagc cttctccaa ctcaggtaga acacacctgt ctttgtcttg ctgtttcac
 1861 tcagccctt taacatttc ccctaagccc atatgtctaa ggaaaggatg ctatttggta
 1921 atgaggaact gttatgtta tgtgaattaa agtgcctta tttt

Homo sapiens synovial sarcoma, X breakpoint 2 (SSX2), mRNA.

ACCESSION NM_003147

10

VERSION NM_003147.1 GI:10337582

SEQ ID NO 3

/ translation="MNGDDAFARRPTVGAQIPEKIQKAFDDIAKYFSKEEWEKMKASE
 KIFYVYMKRKYEAMTKLGFKATLPPFMCNKRAEDFQGNDLNDPNRGNQVERPQMTFG
 RLQGI SPKIMPKKPAEGNDSEEVPEASGPQNDGKELCPPGKPTTSEKIHRSGPKRGE
 EHAWTHRLRERKQLVIYEEISDPEEDDE"

SEQ ID NO 6

ORIGIN

1 ctctctttcg attcttccat actcagagta cgcacggct gatttctct ttggattctt
 61 cccaaatcg agtcagactg ctcccggtgc catgaacgga gacgacgcct ttgcaaggag
 121 acccacgggt ggtgctaaa taccagagaa gatccaaaag gccttcgatg atattgcaa
 181 atacttctct aaggaagagt gggaaaagat gaaaggcctg gagaaaaatct tctatgtgta
 241 tatgaagaga aagtatgagg ctatgactaa actaggttt aaggccaccc tcccacctt
 301 catgtataat aaacgggccc aagacttcca gggaaatgat ttggataatg accctaaccg
 361 tggaatcag gttgaacgtc ctcatgatgac tttcggcagg ctccaggaa tctccccgaa
 421 gatcatgccc aagaagccag cagaggaagg aaatgattcg gaggaagtgc cagaagcatc
 481 tggcccacaa aatgatggg aagagctgtg ccccccggaa aaaccaacta cctctgagaa
 541 gattcacgag agatctggac cccaaagggg ggaacatgcc tggaccacaca gactgcgtga
 601 gagaaaaacag ctggtgattt atgaagagat cagcgcacct gaggaagatg acgagtaact
 661 cccctcaggg atacgacaca tgccatgat gagaagcaga acgtggtgac cttcacgaa
 721 catggccatg gctgcggacc cctcgatc aggtgcatac caagtg

20

30

Homo sapiens folate hydrolase (prostate-specific membrane antigen)

1 (FOLH1), mRNA.

ACCESSION NM_004476

40

VERSION NM_004476.1 GI:4758397

/ translation="MWNLHETDSAVATARRPRWLCA GALVLAGGFFLLGFLFGWFIK
 SSNEATNITPKHNMK AFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKE
 FGLDSVELAHYDVLLSYPNKH PNYISIINEDGNEIFNTSLFEPPP PGYENVSDIVPP
 FSAFPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINC SGKIVIARYGKVFRGNKVNAQ
 LAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGVQRGNILNLNGAGDPLTPGPANE
 YAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVPGF
 GNFSTQVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGA
 AVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAENSRLLQERGVAYI
 NADSSIEGNYTLRVDCTPLMSLVHNLT KELKSPDEGFEKGSLYESWTKKSPSPEFSG
 MPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFY
 DPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKT

50

YSVSFDSLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIGDPLGLP
 DRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAFTVQ
 AAAETLSEVA"

SEQ ID NO 7

ORIGIN

1	ctcaaaaagg gccggatttc cttctcctgg aggcatgt tgccctctc tctcgctcg	
61	attggttcaag tgcactctag aaacactgct gtggtgaga aactggaccc caggcttgaa	
121	gcgaattcca gcctgcagg ctgataagcg aggattagt gagattgaga gagactttac	
181	cccgcgtgg tggttggagg ggcgcagta gagcagcagc acaggcgcgg gtcccgaggag	10
241	gccggctctg ctgcgcggc gatgtggaaat ctccctcacg aaaccgactc ggctgtggcc	
301	accgcgcgcc gcccgcgtg gctgtgcgt ggggcgtgg tgctggcggg tggcttctt	
361	ctcctcggt tcctcttcgg gtggttataaaatccca atgaagctac taacattact	
421	ccaaagcata atatgaaagc atttttggat gaatgaaag ctgagaacat caagaagttc	
481	tttatataattt tacacagat accacatttgcagaaacag aacaaaactt tcagcttgca	
541	aagcaaattt aatcccagt gaaagaattt ggcctggatt ctgttgagct agcacattat	
601	gatgtcctgt tgccttaccc aaataagact catcccaact acatctcaat aattaatgaa	
661	gatggaaatg agattttcaa cacatcatat tttgaaccac ctccctccagg atatgaaaat	
721	gtttcgata ttgttaccacc tttcgtgtt ctctctcc aaggaatgcc agagggcgat	
781	ctagtgtatg ttaactatgc acgaactgaa gacttctta aatttggaaacgggacatgaaa	20
841	atcaatttgc ctggaaaat tggaaatttgc agatatggaa aagttttcag agggaaataag	
901	gttaaaaatg cccagctggc aggggc当地 ggagtcatttctactccgc ccctgctgac	
961	tactttgctc ctggggtaa gtcctatcca gatggttggaa atcttcttgg aggtgggtgtc	
1021	cagcgtggaa atatcctaaa tctgaatggt gcaggagacc ctctcacacc aggttaccca	
1081	gcaaatgaat atgcttatacg cgtggaaatttgcagggcttgc ttggcttcc aagtattcc	
1141	gttcatccaa ttggatacta tggatgcacag aagcttccatggaaatggg tggctcagca	
1201	ccaccagata gcagctggag aggaagtctc aaagtgccttacaatgttgg acctggctt	
1261	actggaaact ttctacacaa aaaatcaag atgcacatcc actctaccaa tgaagtgaca	
1321	agaatttaca atgtgatagg tactctcaga ggagcagtgg aaccagacag atatgtcatt	
1381	ctggggaggc accgggactc atgggtgtt ggttgttatttgc accctcagag tggaggcgt	30
1441	gttggttcatg aaatttgcag gagctttggaa acactgaaaa aggaagggtt gagacatgaa	
1501	agaacaattt tggatgcag ctggatgcga gaagaatttgc ttcttcttgg ttctactgag	
1561	tggcagagg agaattcaag actccttcaa gagcgtggcg tggcttataat taatgctgac	
1621	tcatctatag aaggaaacta cactctgaga gttgatttgc caccgctgtatgtacagctt	
1681	gtacacaacc taacaaaaga gctgaaaacgc cctgtatgc gcttgcagg caaatctt	
1741	tatgaaatggt ggactaaaaa aagtcccttcc ccagagttca gtggcatgcc caggataagc	
1801	aaatttggat ctggaaaatga ttttgggttgc ttcttccaaacttgc gacttggaaat tgcttgcagg	
1861	agagcacggt atactaaaaa ttggaaaaca aacaaatttca gcggctatcc actgtatcac	
1921	agtgtctatg aaacatatga gttggggaa aagttttatg atccaatgtt taaatatcac	
1981	ctcactgtgg cccaggttgc aggaggatgt gtgtttgagc tagccatttccatagtgctc	40
2041	ccttttgcattt gtcgagat tgcgttagt ttaagaaatgt atgctgacaa aatctacagt	
2101	atttctatga aacatccaca ggaaatgaag acatacagt tatcatttgc ttctactttt	
2161	tctgcagtaa agaattttac agaaatttgc tccaaatgc gtcgagagact ccaggactt	
2221	gacaaaagca acccaatagt attaagaatgt atgaatgtatc aactcatgtt tctggaaaga	
2281	gcatttatttgc atccatttgc gttaccagac aggcctttt ataggcatgt catctatgt	
2341	ccaaggcacc accaacaagta tgcaggggag tcatccccag gaattttatgc tgctctgtt	
2401	gatattgaaa gcaaatgttgc cccttccaaag gcctggggag aagtgaagag acagatttt	
2461	gttgcagcttgc acacatgttgc ggcagcttgc gagactttgc gtgaagtttgc ctaagaggat	
2521	tcttagaga atccgtatttgc aatttgcgttgc gtatgtact cagaaagaat cgtaatgggt	
2581	atattgataa attttaaaat tggatatttgc gaaataaagt tgaatattat atataaaaaaa	50

2641 aaaaaaaaaaaa aaa

Human melanocyte-specific (pmel 17) gene, exons 2-5, and complete cds.

ACCESSION U20093

VERSION U20093.1 GI:1142634

SEQ ID NO 70

/translation="MDLVLKRLHLAVIGALLAVGATKPRNQDWLGVSRLRTKAWN
 RQLYPEWTEAQRRLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPGSQKVLPDGQVIWVNNTIINGSQVWGGQPVPQE
 TDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYWKWTGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTYHRRGSRSYVPLAHSSS
 AFTITDQVFPFSVSQLRALDGGNKHFRLRNQPLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRAPVVTHTYLEPGP
 VTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPGTTDGHRTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQ
 MPTAESTGMTPEKPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEVETTARELPipePEGPDASSIM
 STESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQGIESAIELQAVPSGEFDAFELTVSCQGGLPKEAC
 MEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSPTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPQEAQLGVPLIVGILLV
 LMAVVLASLIYRRRLMKQDFSVPLPHSSSHWLRLPRIFCSCP1GENSPLLSGQQV"

10

SEQ ID NO 80

ORIGIN

20

1 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttgct gtgataggtg ctttgtggct gtgggggcta
 61 caaaagtacc cagaaccagg gactggcttg gtgtctcaag gcaactcaga accaaaggcc
 121 ggaacaggca gctgtatcca gagtgacag aagcccacag acttgactgc tggagaggtg
 181 gtcaagtgtc cctcaaggc agtaatgtg ggcctacact gatgggtgca aatgcctcc
 241 tctctattgc cttgaacctc ccttggaaagcc aaaaggattt gccagatggg caggttatct
 301 gggtaaccaa taccatcatc aatgggagcc aggtgtgggg aggacagcca gtgtatcccc
 361 aggaaactga cgatgcctgc atcttccctg atggggacc ttgcccacat ggctttgtt
 421 ctccagaagag aagcttgtt tatgtctgga agacctgggg tgagggactc ccttcacgc
 481 ctatcatcca cacttgtgtt tacttcttcc tacctgatca cctttctttt ggccgcccc
 541 tccaccccaa cttctgtat tttcttaat cttcattttc ctcttagatc tttcttctt
 601 cttagcacct agcccccttc aagctctatc ataattctt ctggcaactc ttggcctcaa
 661 ttgttagtcct accccatgga atgcctcatt aggacccctt ccctgtcccc ccatatcaca
 721 gccttccaaa cacccatcaga agtaatcata cttccctgacc tcccatctcc agtgcgttt
 781 cgaaggctgt ccctcagtc ccttggacca gtaatctttt cttcccttgct tttcatcc
 841 aaaatgccttc aggccaatac tggcaagttc tagggggccc agtgtctgg ctgagcatgg
 901 ggacaggcag ggcaatgctg ggcacacaca ccatggaaat gactgtctac catgcgggg
 961 gatcccgag ctatgtgcct ctgtctcatt ccagctcagc ctaccattt actggtaagg
 1021 gttcaggaag ggcaaggcca gttgttagggc aaagagaagg cagggaggct tggatggact
 1081 gcaaaggaga aaggtaaat gctgtcaaa cttaaagtat aaggccagg aagacctagg
 1141 cagagaaatg tgaggcttag tgccagtgaa gggccagcca gtcttgc agtgtggagg
 1201 tggctgtg aaaggagaag ctgtggctca ggcctgggtc tcaccctttc tggctccaaat
 1261 cccagaccag gtgcctttct ccgtgagcgt gtcccagttt cggcccttgg atggagggaa
 1321 caagcacttc ctgagaaatc agcctctgac ctttgccttc cagctccatg accccagttg
 1381 ctatctggct gaagctgacc tctcctacac ctggactttt ggagacagta gtggaaaccct
 1441 gatctctcgg gcacctgtgg tcactcatac ttacctggag cctggccctg tcactgccc
 1501 ggtggcctg caggctgcca ttcccttcac ctccctgtggc tcctcccccag ttccaggc
 1561 cacagatggg cacaggccaa ctgcagaggc ccctaaccacc acagctggcc aagtgcctac
 1621 tacagaagtt gtgggtacta cacctggtca ggcgccaact gcagagccct ctgaaaccac
 1681 atctgtgcag gtgccaacca ctgaagtcat aagcactgca cctgtgcaga tgccaaactgc
 1741 agagagcaca ggtatgacac ctgagaaggt gccagttca gaggtcatgg gtaccacact

30

40

50

1801 ggcagagatg tcaactccag aggctacagg tatgacacct gcagaggat caattgtgg
 1861 gctttctgga accacagctg cacaggtAAC aactacagAG tgggtggaga ccacagctAG
 1921 agagctacct atccctgagC ctgaaggTCC agatGCCAGC tcaatcatGT ctacggAAAG
 1981 tattacaggT tccCTGGGC CCCTGCTGGA tggtaCAGCC accttaAGGC tggtaAGAG
 2041 acaagtcccc ctggattgtG ttctgtatCG atatggtCC tttccgtCA cccTggACAT
 2101 tgcCAGGGT attgaaAGtG ccgagatCCT gcaggCtgG ccgtccggG agggggatGC
 2161 atttgagCTG actgtgtCCT gccaaggCgg gctgcccAAG gaagcctGCA tggagatCTC
 2221 atcgCCAGGG tgccAGCCCC ctgcccAGCG gctgtGCCAG cctgtgtac ccagcccAGC
 2281 ctgCCAGCTG gttctgcACC agataCTGAA gggtggtcG gggacataCT gcctcaatGT
 2341 gtctctggCT gataccaACA gcctggcAGT ggtcagcacc cagcttatCA tgcctggtag
 2401 gtccttggAC agagactaAG tgaggaggGA agtggatAGA ggggacAGt ggcaagcAGC
 2461 agacatgAGt gaagcAGtGC ctggatttCT tctcacAGt caagaAGcAG gccttgggCA
 2521 ggttccgCTG atcgTgggCA tcttgctgtG gttgatggCT gtggcccttG catctctgat
 2581 atataggcGC agacttatGA agcaagACTt ctccgtacCC cagttGCCAC atagcAGcAG
 2641 tcactggCTG cgtctACCCC gcatcttCTG ctctgtCCc attggtaGAGA atagccccCT
 2701 cctcagtggg cagcaggTCT gagtactCTC atatgatGt gtgatttCC tggagttGAC
 2761 agaaacacCCt atattcccc cagtcttCCc tggagacta ctattaactG aaataAA
 //

10

20

Homo sapiens kallikrein 3, (prostate specific antigen) (KLK3), mRNA.

ACCESSION NM_001648

VERSION NM_001648.1 GI:4502172

SEQ ID NO 78

/translation="MWVPVVFLTLSVTWIGAAMPLSRIVGGWECEKHSQPWQVLVAS
 RGRAVCGGVLVHPQWLTAACIRNKSILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHPLYDMSLLKNRFLRPGDDSSHDLMLL
 RLSEPAELDAVKVMDLPTQEPAALGTTCYASGWGSIEPEEFLTPKKLQCVDLHVISNDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTG
 GKSTCSGDGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCALPERPSLYTKVVHYRKWIKDTIVANP"

30

SEQ ID NO 86

ORIGIN

1 agccccaaGC ttaccacCTG caccCGGAGA gctgtgtGtC accatgtggG tcccggttG
 61 ctccctcacc ctgtccgtGA cgtggattGG tgctgcACCC ctcatccTGT ctccggatttG
 121 gggaggctGG gagtgcGAGA agcattCCCA accctggcAG gtgcTTgtGG cctctcgTGG
 181 caggcagTC tgcggcggTtG ttctggTGCA cccccAGtGG gtcctcacAG ctgcccactG
 241 catcaggAAC aaaAGcGTGA tcttgctGGG tcggcacAGC ctgtttcatC ctgaagacAC
 301 aggccaggTA tttcaggTCa gccacAGCTt cccacacCCG ctctacgata tgaggcctCC
 361 gaagaatcGA ttccTcaggc caggtgatGA ctccagCCAC gacctcatGC tgctccgcCT
 421 gtcagagcCT gccgagcTCA cggatgtGT gaaggTCatG gacctGCCA cccaggAGCC
 481 agcactgggg accacCTGtC acgcctcagg ctggggcAGC attgaaccAG agaggTTCT
 541 gacccccaaAG aaacttcAGT gtgtggacCT ccatttttatt tccaatgACG tgggtgcGCA
 601 agttcaccCT cagaaggTGA ccaagttCAT gctgtgtGtC ggacgctGGA cagggggCAA
 661 aagcacCTGc tcgggtgatt ctgggggccc acTTgtCTGT aatgggtgtc ttcaaggat
 721 cacgtcatGG ggcagtGAAC catgtccCT gcccggAAAGG cttccctGT acaccaaggT
 781 ggtgcattAC cggaaggTGA tcaaggACAC catcgtggCC aacccCTGAG caccCCTATC
 841 aaccccCTAT tggtagtaaac ttggAACCTt ggaaatgACC aggccaAGAC tcaaggCCTC
 901 ccagttCTAC tgaccTTGT ctttaggtGT gaggtccAGG gttgctAGGA aaagaaatCA
 961 gcagacacAG gtgttagACCA gagtgTTCT taaatggTGT aatTTgtCC tctctgtGT
 1021 ctggggAATA ctggccatGC ctggagACAT atcactCAAT ttctctgAGG acacAGatAG
 1081 gatggggTGT ctgtgttatt tgggggtac agagatgAAA gaggggtggG atccacactG

40

50

1141 agagagtggaa gagtgacatg tgctggcac acgtccatgaa gcactgagca gaagctggag
 1201 gcacaacgca ccagacactc acagcaagga tggagctgaa aacataaccc actctgtccct
 1261 ggaggcactg ggaagcctag agaaggctgt gagccaagga gggagggctt tcctttggca
 1321 tggatgggg atgaagtaag gagagggact ggaccctcg gaagctgatt cactatgggg
 1381 ggaggtgtat tgaagtcctc cagacaaccc tcagatttga tgatttccta gtagaactca
 1441 cagaaataaa gagctgttat actgtg

//

Human autoimmunogenic cancer/testis antigen NY-ESO-1 mRNA, complete cds.

10

ACCESSION U87459

VERSION U87459.1 GI:1890098

SEQ ID NO 74

/ translation="MQAEGRGTGGSTGDADPGGPGIPDGPGGNAGG
 PGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPME
 AELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRTAADHRQLQLSISCLQQLSLLMWITQCFLPV
 FLAQPPSGQRR"

SEQ ID NO 84

20

ORIGIN

1 atcctcggtgg gccctgacct tctctctgag agccgggcag aggctccgga gccatgcagg
 61 ccgaaggccc gggcacaggg gttcgacgg gcgtatgtga tggcccgagga gcccctggca
 121 ttccctgatgg cccagggggc aatgctggcg gcccaggaga ggcgggtgcc acgggcggca
 181 gaggtccccg gggcgcaggg gcagcaaggg ctcggggcc gggaggaggc gccccgggg
 241 gtccgcattgg cggcgcggct tcagggtctga atggatgctg cagatgcggg gccagggggg
 301 cggagagccg cctgcttgag ttctacctcg ccatgcctt cgacacaccc atgaaagcag
 361 agctggcccg caggagcctg gcccaggatg cccaccgct tccctgcca ggggtgctc
 421 tgaaggagtt cactgtgtcc ggcaacatac tgactatccg actgactgct gcagaccacc
 481 gccaactgca gctctccatc agctcctgtc tccagcagct ttccctgttg atgtggatca
 541 cgcagtgctt tctgcccgtg ttttggctc agcctccctc agggcagagg cgctaagccc
 601 agcctggcgc cccttcctag gtcgtccctc ctcccctagg gaatggtccc agcacgagt
 661 gcccattcat tggggggcc tgattgttg tcgtggagg aggacggctt acatgtttgt
 721 ttctgttagaa aataaaaactg agctacgaaa aa

//

LAGE-1a protein [Homo sapiens].

ACCESSION CAA11116

PID g3255959

VERSION CAA11116.1 GI:3255959

30

SEQ ID NO 75

40

ORIGIN

1 mqaegrtgg stgdadgpgg pgipdgpggn aggpgeagat ggrgprgaga arasgprgga
 61 prgphgaas aqdgrcpcga rrpdsrllel hitmpfsspm eaelvrrils rdaaplprpg
 121 avlkdftvsg nllfirltaa dhrqlqlsis sclqqqlslim witqcflpvf laqapsgqrr
 181

//

LAGE-1b protein [Homo sapiens].

50

ACCESSION CAA11117

PID g3255960

VERSION CAA11117.1 GI:3255960

SEQ ID NO 76

ORIGIN

1 mqaegrgtgg stgdadgpgg pgipdgpggn aggpgeagat ggrgprgaga arasgprgga
 61 prgphggaas aqdgrcpcga rrpdsrllel hitmpfsspm eaelvrrilr rdaaplprpg
 121 avlkdftvsg nllfmsvwdq dregagrmlrv vwgwlgsasp egqkardlrt pkhkvseqrp
 181 gtpgppppeg aqgdgcrgva fnvmfsaphi

10

//

Human antigen (MAGE-1) gene, complete cds.

ACCESSION M77481

VERSION M77481.1 GI:416114

SEQ ID NO 71

/ translation="MSLEQRSLHCKPEEALEAQEALGLVCVQAATS

SSSPLVLGTLEEVTAGSTDPPQSPQGASAFPTTINFTRQRQPSEGSSREEGPSTSCI LESLFRAV

ITKKVADLVGFLLKYRAREPVTAKAEMLESVIKNYKHCPEIFGKASESLQLVFGIDVKEADPTGHSY

20

VLVTCLGLSYDGLLGDNQIMPKTGFLIVLVMIAEGGHAPEEEIWEELSVMEVYDGREHSAYGEPRK

LLTQDLVQEKEYRQVPDSPDPARYEFLWGPRALAETSYVKVLEYVIKVSARVRFFFPSLREAALREE

EEGV"

SEQ ID NO 81

ORIGIN

1 ggatccaggc cctgccagga aaaatataag ggccctgcgt gagaacagag ggggtcatcc
 61 actgcattgatc agtggggatg tcacagatc cagccccacc tccctggtagc actgagaagc

121 cagggctgtg cttgcggct gcaccctgag gcccgtgga ttcccttcc tggagctcca

181 ggaaccaggc agtgaggcct tggctgaga cagtatcctc aggtcacaga gcagaggatg

241 cacagggtgt gccagcagt aatgtttgcc ctgaatgcac accaagggcc ccacctgcca

30 301 caggacacat aggactccac agagtctggc ctcacccccc tactgtcagt cctgtagaat

361 cgacctctgc tggccggctg taccctgagt accctctcac ttcccttcc aggtttcag

421 gggacaggcc aaccaggagg acaggattcc ctggaggcca cagaggagca ccaaggagaa

481 gatcttaag taggccttgc ttagatctc caaggttcag ttctcagctg aggcctctca

541 cacactccct ctctcccaag gcctgtgggt cttcattgcc cagctctgc ccacactcct

601 gcctgctgcc ctgacgagag tcatcatgtc tcttggcagc aggagtcgtc actgcaagcc

661 tgaggaagcc cttgaggccc aacaagaggc cctggggctg gtgtgtgtc aggctgccac

721 ctcccttcc tctccctgg tcctgggcac cctggaggag gtgcccactg ctgggtcaac

781 agatccccc cagagtccctc agggaggccctc cgccttcc actaccatca acttcactcg

841 acagaggcaa cccagtggcgttccagcag ccgtgaagag gagggggccaa gcaccttgc

901 tatccctggag tccttgcgc gacgatgtat cactaagaag gtggctgatt tgggtgggtt

961 tctgccttc aaatatcgat ccaggaggcc agtcacaaag gcagaaatgc tggagatgt

1021 catcaaaaat tacaagact gtttcctga gatcttcggc aaagccctcg agtccttgc

1081 gctggcttt ggcattgacg tgaaggaagc agacccacc ggcactcct atgccttgt

1141 cacctgccta ggtctccct atgatggcct gctgggtgat aatcagatca tgcccaagac

1201 aggcttcctg ataattgtcc tggcatgtat tgcaatggag ggcggccatg ctccctgagga

1261 gaaaaatctgg gaggagctga gtgtatgtat gggagggagc acagtgccta

1321 tggggagccc aggaagctgc tcaccaaga tttggcag gaaaagtacc tggagtaccg

1381 gcagggtgccg gacagtgtatccgcgac ccgcacgcata tgagttccctg tgggtccaa gggccctcg

40

50

1441 taaaaccagc tatgtgaaag tccttgagta tgtgatcaag gtcagtgc当地
 1501 ttcttccca tccctgcgtg aagcagctt gagagaggag gaagaggag tctgagcatg
 1561 agttgcagcc aaggccagtg ggagggggac tggccagtg caccttccag gccgc当地
 1621 agcagcttcc cctgcctcgtagtgcacatgag gccattctt cactctgaag agagc当地
 1681 gtgttctcgatgttagttt ctgttctatt gggtgacttg gagatttatac ttgttctct
 1741 ttggaaattt ttc当地atgtt ttttttaag ggtatgttga atgaaacttca gcatccaatg
 1801 ttatgaatga cagcagtcac acagttctgt gtatataatgtaaaggtaag agtctt当地
 1861 ttatccaga ttggaaatc cattcttatttgtgaatttgg gataataaca gc当地atggat
 1921 aagtacttag aaatgtgaaa aatgagcagt aaaatagatg agataaaagaa ctaaagaaat
 1981 taagagatag tcaattcttgccttataacct cagtttattc tgtaaaatattt ttaaagat
 2041 atgcataccctt ggatttccctt ggcttcttgg agaaatgttga agaaattaaa tctgat
 2101 gaatttccctt ttttactgg ctcttttctt ctccatgcac tgatcttgc当地
 2161 ggccctgggt tagtagtggatgtcttgg gatgctaagg taagccagac tc当地atccac
 2221 gtatgtcttggatgtcttgg gatgcttgg gatgtccctt aaagatgttag
 2281 ggaaaatgttga gagaggggttgg ggggttgg gctccgggttgg agatgttgg agtgc当地
 2341 ccctgagcttggcatttttggcttggaaactgcatttgc当地tgggg gagctgattt
 2401 taatgtatcttggatgttggatcc

10

//

Human MAGE-2 gene exons 1-4, complete cds.

20

ACCESSION L18920

VERSION L18920.1 GI:436180

SEQ ID NO 72

/ translation="MPLERQRSHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQQTASSSSTL
 VEVTLEVPADSPSPHSPQGASSFSTTINYTLWRQSDEGSSNQEEGPRMFDPDLE SEF
 QAAISRKVELVHFLKYRAREPVTKAEMLESVLNCQDFPVIFSKASEYLQLVFGIEVVEVPI SHLYILVTCGLS
 YDGLLGDNQVMPKTGLLIIVLAIIAEGDCAPEEKIWEELSMLEVFEGRDSVFAHPRKLLMQDLVQENYLEYRQVPGSD
 PACYEFLWGPRALIETSYVKVLHHTLKIGGEPHISYPPLHERALREGE"

SEQ ID NO 82

30

ORIGIN

1 attccattcat caaacagcca ggagtggagga agaggaccct cctgagtggag gactgaggat
 61 ccaccctcac cacatagttgg gaccacagaa tccagcttag cccctcttgc当地
 121 acacacttggc aatgatctca ccccgagcac accccctcccc ccaatgc当地
 181 ctcagagtca gagacttggcttggagggag cagacacaat cggcagagga tggcggtcca
 241 ggctcagtcttggcatccaag tcaaggaccctt gaggatgac caaaggcccc tccc当地
 301 aactcccccc accccaccag gatctacagc ctcaggatcc cc当地tccatcccc
 361 acaccaacac catcttcatg ctttccccca cccccc当地atc cagatcccc tccggccaga
 421 atccggttcc acccttgc当地tggaggcc tgaaccagg gaaatcacgg gccc当地atgt gacgccactg
 481 acttgcacat tggaggtcag aggacagcga gatttctgc当地cc ct当地gcaacg gc当地tgc当地
 541 ggccggaggga agcaggcgca ggctccgtga ggaggcaagg taagacgccc agggaggact
 601 gaggcggggcc tc当地cccaag cagagggccc ccaataatcc agc当地tgc当地 ct当地gtccgg
 661 gc当地tggacc cccctgc当地ggg gaagacttct caggctc当地gt cgccaccacc tc当地ccccc
 721 accccccc当地cc gctttaaccg caggaaactc tggcgtaaga gctt当地gttgg accaggcc
 781 ggctgggttag aagtgc当地tca ggccc当地agact cagccaggaa tcaaggatcag gacccca
 841 ggggacttggag ggcaaccac cccctaccct cactaccaat cccatcccc aacacca
 901 ccacccccc当地at cccctcaaaca ccaacccac ccccaaacc cattccatc tc当地ccccc
 961 ccacccatc cccatc当地ggc当地atcc ggctt当地gccc ct当地gcaatcaa cccacggaa
 1021 ggccggccaaag cacgc当地ggatc ct当地gatc当地tca catgtacggc taagggaggg aagg
 1081 gtctcgatgatggccctt gggatgc当地a ggaaggccccc aggccctc当地tgc当地 gaagacatgt

40

50

1141 gagtccttag gggacccagc atgccaggac agggggccca ctgtaccctt gtctcaaact
 1201 gagccacctt ttcatcgcg cgagggaaatc ctagggatgc agacccactt cagcaggggg
 1261 ttggggccca gcctgcgagg agtcaagggg aggaagaaga gggaggactg aggggacctt
 1321 ggagtccaga tcagtgccaa ccttggctg gggatccctg ggcacagtgg ccgaatgtgc
 1381 cccgtctca ttgcacccctc agggtgacag agagttgagg gctgtggct gagggtctgg
 1441 acttcaggic agcagaggga ggaatcccag gatctggcg acccaagggtg tgcccccttc
 1501 atgaggactg gggataccccc cggcccagaa agaaggatg ccacagagtc tggaaagtccc
 1561 ttgttcttag ctctggggg acctgatcag ggtatggccct aagtacaat ctcatttgt
 1621 ccacaggcag gaggttgggg aaccctcagg gagataaggt gtttgttaa agaggagctg
 1681 tctgctcatt tcaggggtt ggggtttag aaagggcagt ccctggcagg agtaaagatg 10
 1741 agtaacccac aggaggccat cataacgttc accctagaac caaagggtc agccctggac
 1801 aacgcacgtg gggtaacag gatgtggccc ctccctactt gtctttccag atctcaggga
 1861 gttgatgacc ttgtttcag aaggtgactc aggtcaacac aggggccccca tctggtcac
 1921 agatgcagtg gttcttaggat ctgccaagca tccaggtgga gggctgagg taggatttag
 1981 ggtacccctg gcccagaatg cagcaagggg gccccataga aatctccct gcccctgccc
 2041 ttacttcaga gaccctggc agggctgtca gctgaagtcc ctccattatc ctggatctt
 2101 tggatgtcagg gaagggggg ccttggctg aaggggctgg agtcaaggcgtca gtagagggg
 2161 ggtctcaggc cctgccagga gtggacgtga ggaccaagcg gactcgtcac ccaggacacc
 2221 tggactccaa tgaatttggc catctctcgt tgtccttcgc gggaggaccc ggtcacgtat
 2281 ggccagatgt gggccccctc atatcccttct gtaccatatc agggatgtga gttcttgaca
 2341 tgagagattc tcaagccagc aaaagggtgg gattaggccc tacaaggaga aaggtgaggg
 2401 ccctgagtga gcacagaggg gaccctccac ccaagtagag tggggaccc acggagtctg
 2461 gccaacccctg ctgagacttc tggaaatccg tggctgtgct tgcagtcgtc acactgaagg
 2521 cccgtgcatt cctctccag gaatcaggag ctccaggaac caggcgtga ggccttggc
 2581 tgagtcaatg tcctcaggc acagagcaga gggacgcac acagtccaa cactgaaggt
 2641 ttgcctggaa tgcacaccaa gggccccacc cggccagaac aaatggact ccagagggcc
 2701 tggcctcacc ctcccttattc tcagtcctgc agccctgagca tggctggcc ggctgtacc
 2761 tgaggtgccc tcccacttcc tccttcaatgt tctgaggggg acaggctgac aagttaggacc
 2821 cgaggcactg gaggagcatt gaaggagaag atctgttaatg aagcctttgt cagaccctcc
 2881 aaggttcagt tcagttctca cctaaggcct cacacacgct cttctctcc ccaggccgt
 2941 gggcttcat tgcccagctc ctgcccgcac tcctgcctgc tggcttgacc agagtcatca
 3001 tgcctttaa gcaaggaggat cagcaactgca agccctgaaga aggccttgag gcccggagg
 3061 agggccctggg cctgggggt ggcgcaggctc ctgcctactga ggacgcaccc accgccttctt
 3121 cctcttctac tctagtgaa gttaccctgg gggaggtgcc tgctggccac tcaccgagtc
 3181 ctccccacag tcctcaggga gcctccagct tctcgtactac catcaactac actctttgg
 3241 gacaatccga tgagggtcc agcaaccaag aagaggaggg gccaagaatg tttcccgacc
 3301 tggagttccga gttccaagca gcaatcagta ggaagatgtt tgagtgttt cattttctgc
 3361 tcctcaagta tcgagccagg gagccggctca caaaggcaga aatgtctggag agtgtccctca
 3421 gaaattgcca ggacttcttt cccgtgatct tcagcaagc ctccgagttac ttgcagctgg
 3481 tcttggcat cgagggtgt gaaatgggtcc ccatcagcca ctgtacatc ttgtcacct
 3541 gcctggccct ctccctacgt ggcctgctgg ggcacaaatca ggtcatgccc aagacaggcc
 3601 tcctgataat cgtccctggcc ataatcgcaa tagagggcga ctgtgcccct gaggagaaaa
 3661 tctggggaga gctgagttatg ttggagggtt ttgaggggag ggaggacagt gtcttcgcac
 3721 atccccaggaa gctgctcatg caagatctgg tgcaggaaaa ctacctggag taccggcagg
 3781 tgccggcag tgatccctgca tgctacgt tccctgtggg tccaaaggccc ctcaattgaaa
 3841 ccagctatgt gaaatccctg caccatacac taaagatcg tggagaacct cacattccct
 3901 accccacccct gcatgaacgg gctttgagag agggagaaga gtgagtcata gcacatgttg
 3961 cagccaggcc cagtgggggg gggctctggc cagtcaccc tccaggccc catccattag
 4021 cttccactgc ctcgtgtatg atgaggccca ttccctgcctc tttgaagaga gcagtcagca
 4081 ttcttagcag tgagttctg ttctgttggg tgacttttag atttatctt cttccctgtt 50

4141 ggaattgttc aaatgttcct ttaacaaat gttggatga acttcagcat ccaagtttat
 4201 gaatgacagt agtcacacat agtgctgtt atatagtttt gggtaagag tcctgtttt
 4261 tattcagatt gggaaatcca ttccatttt tgagttgtca cataataaca gcagtggaat
 4321 atgtatgtc ctatattgtg aacgaattag cagtaaaata catgatacaa ggaactcaaa
 4381 agatagttaa ttctgcctt atacctcgt ctattatgtaa attaaaaaaa tatgtgtatg
 4441 ttttgcctc ttgagaatg caaaagaaat taaatctgaa taaattcttc ctgttcactg
 4501 gtcatttctt accattca cttagcatct gctctgtgaa aggcccttgtt agtagtggg

//

10

Human MAGE-3 antigen (MAGE-3) gene, complete cds.

ACCESSION U03735

VERSION U03735.1 GI:468825

SEQ ID NO 73

/translation="MPLEQRSPHQCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSTL
 VEVTLGEPAAESPDPQQSPGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVFLLLKYR
 AREPVTKAEMLSVVGNWQYFFPVIFSKASSQLLVFGIELMEVDPIGHLYIFATCLGLSYDGLLDNQIMPKAGLLIV
 LAIIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGRDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVK
 VLHHMVKISGGPHISYPPLHEWLREGEE"

20

SEQ ID NO 83

ORIGIN

1 acgcaggcag tgcgttacc cagaccacac ccctcccccc aatgccactt caggggttac
 61 tcagagtcag agacttggtc tgaggggagc agaagcaatc tgcagaggat ggcgggtccag
 121 gctcaggccag gcatcaactt caggaccctg agggatgacc gaaggcccccg cccacccacc
 181 cccaaactccc ccgacccac caggatctac agcctcagga ccccccgtccc aatccttacc
 241 cttgtccccca tcaccatctt catgcttacc tccaccccca tccgatcccc atccaggcag
 301 aatccagttc caccctgcc cggaaacccag ggttagtaccg ttgcccaggat gtgacccac
 361 tgacttgcgc attggagggtc agaagaccgc gagattctcg ccctgagcaa cgagcgacgg
 421 cctgacgtcg gcggaggaa gccggccac gctcggtag gaggcaaggt aagacgttga
 481 gggaggactg aggcgggcct cacctcagac agagggccctc aaataatcca gtgtgcctc
 541 tgctgcccggg cctggccac cccgcagggg aagacttcca ggctgggtcg ccactacctc
 601 acccccgcga ccccccgcgc tttagccac gggaaactctg gggacagagc ttaatgtggc
 661 cagggcaggg ctggtagaa gaggtcaggg cccacgtgt ggcaggaatc aaggtcagga
 721 ccccgagagg gaactgaggg cagcctaacc accaccctca ccaccattcc cgtccccaa
 781 caccacccc caccctatccc atccccaccc ccacccctat cctggcagaa
 841 tccgggttt gccccggta tcaagtacgc gaagctccgg gaatggcggc cagcacgtg
 901 agtcctgagg ttacatcta cggctaaggg agggaaagggg ttcggtatcg cgagtatggc
 961 cgttggagg cagcggaaagg gcccaggct cctggaagac agtggagttc tgaggggacc
 1021 cagcatgccca ggacaggggg cccactgtac ccctgtctca aaccgaggca ctttttattt
 1081 cggctacggg aatccatggg atgcagaccc acttcagcag ggggttgggg cccagccctg
 1141 cgaggagtca tggggaggaa gaagagggag gactgagggg accttggagt ccagatcagt
 1201 ggcaaccttggc ggctggggta tgctggcac agtggccaaa tgtgtctgt gtcattgcg
 1261 ctttcagggtt gaccagagag ttgagggctg tggctgttcaag agtggactt caggcagca
 1321 gagggaggaa tcccaggatc tgcaggccc aagggttacc cccaaaggggc ccctatgtgg
 1381 tggacagatg cagtttttttggatctgcc aagcatccag gtgaagagac tgagggagga
 1441 ttgagggtaac ccctgggaca gaatgcggac tggggcccccc ataaaaatct gcccgtctcc
 1501 tgctgttacc tcagagagcc tggcagggtc tgcgttacc ggtccctcca ttatccttagg
 1561 atcaactgttgc tcagggaaagg ggaaggcttgc gtctgagggg gtcgtactca gggcagtaga
 1621 gggaggctct cagaccctac taggatggaa ggtgaggacc aagcagtctc ctacccagg

30

40

50

11

Homo sapiens prostate stem cell antigen (PSCA) mRNA, complete cds.

ACCESSION AF043498

VERSION AF043498.1 GI:2909843

SEQ ID NO 79

/translation="MKAVI | AI | MAGI | AI | QPGTAI | CYSCKAQSNEDCI | QVENCTQI G

50

EQCWTARIRAVGLLTVISKGCSLNCVDDSQDYYVGKKNITCCDTDLCNASGAHALQPAAIALALLPALGLLWGPQQL"

SEQ ID NO 87

ORIGIN

```

1 agggagaggc agtgaccatg aaggctgtgc tgcttgcctt gtttatggca ggcttggccc
61 tgcagccagg cactgccctg ctgtgtact cctgcaaagc ccaggtgagc aacgaggact
121 gcctgcagggt ggagaactgc acccagctgg gggagcagtg ctggaccgcg cgcatccgcg
181 cagttggcctt cctgaccgtc atcagcaaag gctgcagctt gaactgcgtg gatgactcac
241 aggactacta cgtgggcaag aagaacatca cgtgcgtga caccgacttg tgcaacgcaca
301 gcggggccca tgccctgcag ccggctgccc ccatttcgc gctgccttgc gcactcgcc
361 tgctgctctg gggacccggc cagctatagg ctctgggggg ccccgctgca gcccacactg
421 ggtgtgtgc cccaggccctt tgtgccactc ctcacagaac ctggcccaagt gggagcctgt
481 cctgggttcctt gaggcacatc ctaacgcaag ttgaccatg tatgtttgca cccctttcc
541 ccnaaccctg acctttccat gggccttttc caggattccn accnggcaga tcagtttag
601 tganacanat ccgcntgcag atggcccttc caacnttn tggntgtt tccatggccc
661 agcattttcc acccttaacc ctgtgttcag gcacttttc ccccaagaaag ccttccctgc
721 ccaccccat tatgaattga gccaggtttg gtccgtggtg tccccgcac ccagcagggg
781 acaggcaatc aggagggccc agtaaaggct gagatgaagt ggactgagta gaactggagg
841 acaagagttt acgtgagttc ctggagttt ccagagatgg ggcctggagg cctggaggaa
901 ggggccaggc ctcacatgg tgggnntccc gaatggcagc ctgagcacag cgtaggccct
961 taataaacac ctgttgata agccaaaaaa

```

10

20

20

30

GLANDULAR KALLIKREIN 1 PRECURSOR (TISSUE KALLIKREIN)

(KIDNEY/PANCREAS/SALIVARY GLAND KALLIKREIN).

ACCESSION P06870

PID g125170

VERSION P06870 GI:125170

30

SEQ ID NO 600

ORIGIN

```

1 mwflivlclal slggtgaapp iqsrivggwe ceqhsqpwqa alyhfstfqc ggiilvhrqwv
61 ltaahcisdn yqlwlgrhnl fddentaqfv hvsesfphpg fmsslennht rqadedyshd
121 lmllrltepa dtitdavkvv elptqepevg stclasgwgs iepenfsfpd dlqcvdkil
181 pndecekahv qkvtdfmlcv ghleggkdtc vgdsggplmc dgvlqgvtsw gyvpcgtpnk
241 psvavrvlsy vkwiedtiae ns

```

40

ELASTASE 2A PRECURSOR.

ACCESSION P08217

PID g119255

VERSION P08217 GI:119255

SEQ ID NO 601

ORIGIN

```

1 mirtlllsl vagalscgdp typpyvtrvv ggeearpnsw pwqvslqyss ngkwyhtcgg
61 slianswvlt aahciissrt yrvglgrhnl yvaesgslav svskivvhkd wnsnqiskgn
121 dialikklnap vsldkiqla clppagttilp nnypcyvtgw grlqtngavp dvlqqgrllv

```

50

181 vdyatcsssa wwgssvktsm icaggdgvic scngdsggpI ncqasdgrwq vhgi vsfgsr
 241 lgcnyyhkps vftrvsnyid winsviann

//

pancreatic elastase IIB [Homo sapiens].

ACCESSION NP_056933

PID g7705648

VERSION NP_056933.1 GI:7705648

SEQ ID NO 602

10

ORIGIN

1 mirtlllsl vagalscgvs tyapdmrsml ggeearpnsw pwqvslyqss ngqwyhtcgg
 61 slianswvltaahci ssri yrvmlgqhnl yvaesgslav svskivvhkd wnsnqvskgn
 121 diallklnap vsldkiqla clppagt ilp nnpcyvtgw grlqtnalp ddIkqgrllv
 181 vdyatcsssg wwgstvktm icaggdgvic tcngdsggpI ncqasdgrwe vhgigs ltsv
 241 lgcnyyykps iftrvsnynd winsviann

//

PRAME Homo sapiens preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME), mRNA.

20

ACCESSION NM_006115

VERSION NM_006115.1 GI:5174640

SEQ ID NO 77

/ translation="MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLKDEALAI AAL
 ELLPRELFPPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLKGQHLHLETFKAVIDGLDVLLAQEVPRRRWKLQVLDLR
 KNSHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVDSLSTEAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELSYLIEKVKRKKNV
 LRLCCKKLKFAMPMDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWLPLAKFSPYLGQM INLRRLLSHIHASSYISPEKEEQYI
 AQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLRGRLDQLLRHVMNPLETLSITNCRSEGDMHLSQSPSVSQLSLSGVMLTDVS
 PEPLQALLERASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLHSQSQLTFSYGN SISALQSLLQHLIGLSNLTHVLYPVPL
 ESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYDPEPILCPCFMPN"

30

SEQ ID NO 85

ORIGIN

1 gtttcagggtaacagctcccccgccaga agccgggcctgcagccctc agcacccgtc
 61 cgggacaccccacccgcctccaggcgtga cctgtcaaca gcaacttcgc ggttgtggta
 121 actctctgagaaaaaccattttgatttactctcagac gtgcgtggca acaagtact
 181 gagacctagaaatccaagcttggaggcc tgaggccagc ctaagtgcctcaaaatgg
 241 acgaaggcgtttgtgggtt ccattcagag ccgatacatc agcatgatgt tggacaag
 301 cccacggaga cttgtggagcttggcaggca gagcctgctg aaggatgagg ccctggccat
 361 tgccccccttgagttgtccaggagcttcccccgccttcatgg cagcccttga
 421 cgggagacacagccagaccc tgaaggcaat ggtgcaggcc tggcccttca ctcgcctccc
 481 tctggagtgctgatgaagg gacaacatcttcacctggag accttcaaag ctgtgcttga
 541 tggacttgcgtgtccaggaggttcgccccagg aggtggaaac ttcaagtgc
 601 ggatttacgg aagaactctc atcaggacttctggactgtatggctggaa acaggccag
 661 tctgtactca ttccagagc cagaaggcagtcagccatg acaaagaag gaaaatgaga
 721 tggtttgcacagaggcag agcagccctt cattccagta gaggtgcctcg tagacctgtt
 781 cctcaaggaa ggtgcctgtatgaattgtt ctcctacccattgagaaag tgaagcgaaa
 841 gaaaatgta ctacgcctgt gctgtaaagaa gctgaagatttttgcattgc ccatgcagg
 901 tatcaagatgatcctgaaaa tggcagactggactctatt gaagatttgg aagtgcattt
 961 tacctgaaag ctaccaccccttggcggaaattttctccttaccttggccaga tgattatct

40

50

1021 gcgttagactc ctcctctccc acatccatgc atcttcctac atttccccgg agaaggaaga
 1081 gcagtatafc gcccaggtaa cctctcagtt cctcagtcg cagtgcctgc aggctctcta
 1141 tgtggactct ttattttcc ttagaggccg cctggatcag ttgctcaggc acgtgatgaa
 1201 ccccttggaa accctctcaa taactaactg ccggcttgc gaaggggatg tgatgcac
 1261 gtcccagagt cccagcgtca gtcagctaag tgtcctgagt ctaagtgggg tcacatgtac
 1321 cgatgtaaat cccgagcccc tccaagctct gctggagaga gcctctgcca ccctccagga
 1381 cctggctttt gatgagtgtg ggatcacgga tgatcagtc ctggccctcc tgcctccct
 1441 gagccactgc tcccagctta caacccttaag ctctacggg aattccatct ccataatctgc
 1501 ctgcagagt ctccctgcagc acctcatcg gctgagcaat ctgaccacg tgctgtatcc
 1561 tgtccccctg gagagttatg aggacatcca tggtaaccctc cacctggaga ggcttgccta
 1621 tctgcattgcc aggctcaggg agttgctgtg tgagttgggg cggcccatc tggctcggct
 1681 tagtgcacac ccctgtcctc actgtgggg cagaacacctc tatgaccacgg agcccatcct
 1741 gtgcccctgt ttcatgccta actagctggg tgacatatac aaatgcttca ttctgcatac
 1801 ttggacacta aagccaggat gtgcattgtc cttaagcaaa caaaggcagcc acagtttcag
 1861 acaaattgttc agtgtgatgtg aggaaaacat gttcagtgag gaaaaaaacat tcagacaaat
 1921 gttcagtgag gaaaaaaagg ggaagttggg gataggcaga tggacttg aggagttaat
 1981 gtgatcttg gggagataca tcttatagag ttagaaatag aatctgaatt tctaaaggga
 2041 gattctggct tggaaagtac atgttaggat taatccctgt gtagactgtt gtaaagaaac
 2101 tggaaaaat aaagagaagc aatgtgaagc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

10

20

ED-B domain of Fibronectin

Human fibronectin gene ED-B region.

ACCESSION X07717

VERSION X07717.1 GI:31406

SEQ ID NO 590

/translation="CTFDNLSPGLEYNVSYTVKDDKESVPISDTIIPPEVPQLTDLSF
 VDITDSSIGLRWTPLNSSIIIGYRITVVAAGEGIPIFEDFVDSSVGYYTGTLEPGID
 YDISVITLINGESAPTTLTQQTAVPPPTDLRFTNIGPDTMRVTW"

30

SEQ ID NO 591

ORIGIN

1 ctgcacttt gataacctga gtcggcct ggagtacaat gtcagtgtt acactgtcaa
 61 ggatgacaag gaaagtgtcc ctatctctga taccatcatc ccaggtataa gaaaataaagg
 121 tgctatcctg agagtacat tccaataaga gtggggatta gcatcttaat ccccatatgc
 181 ttaagggtgt caactatatt tggatttaa ttccgatctc ccagctgcac ttccaaaac
 241 caagaagtca aagcagcgat tggacaaaa tgctgtgt taacactgct ttactgtctg
 301 tgcttcactg ggatgctgtg tggcagcg agtataat ggagtggcag ccatggctt
 361 aactctgtat tgtctgtca catggaaagta tgactaaaac actgtcacgt gtctgtactc
 421 agtactgata ggctcaaagt aatatggta atgcattccca tcagtgatatt tctgcccgt
 481 ttacaatcc atatcaattt ccaacagctg ccttattcat ctgcagttt caaatccttc
 541 ttttggaaaa ttggattttt aaaaaaaagt aagtaaaagt cacacccatca gggttgttct
 601 ttcttggtgc ctggaaagac aacattgca aaggcctgtcc taaggatagg ctgtttgtc
 661 cattgggtta taacataatg aaagcattgg acagatcgat tcccccttgc gactcttcag
 721 tagaatgctt ttactaacgc taattacatg tttgattat gaatgaacct aaaatagtgg
 781 caatggcctt aacctaggcc tgcgtttcct cagcctgaat gtcgtttga atggcacatt
 841 tcacaccata cattcataat gcatttagcgt tatggccatg atgttgtcat gagttttgt
 901 tggagaaaaaaa aaaaatcaatt tatcaccat ttattatattt ttccgggtgt tcacatgcaac
 961 ttatttctta ctaaaacagt ttggaaat taaaagcat tgctgatact tacttcagat
 1021 attatgtctaa ggcctctaaga atggtttcga catccctaaac agccatatac ttttttagaa

40

50

1081 tctgaacagt tcaaattgt a cccttaagg atgtttcaa aatgtaaaaa atatatata
 1141 atatatata tccctaaaag aatattcccg ttatttctc taggaaagca aactgttcat
 1201 gatgcttagg aagtctttc agagaattt aaacagattt catattacca tcattgc
 1261 aacattccac caattttact actagtaacc tgatatacac tgctttttt ttccctt
 1321 tttccctct atttccctt tgccccc tcccttgct ttgttaactca atagagggtgc
 1381 cccaaactcac tgacctaagc ttgttgata taaccgattt aagcatcgcc ctgaggg
 1441 ccccgctaaa ctctccacc attattgggt accgcatcac agtagttgc gcaggagaag
 1501 gtatccctat tttgaagat ttgtggact cctcagtagg atactacaca gtcacagg
 1561 tggagccggg cattgactat gatatcagcg ttatcactt cattaatggc ggcgagatg
 1621 cccctactac actgacacaa caaacgggtt aattttgaaa acttctgcgt ttgagacata
 1681 gatggtgtt catgcigcca ccagttactc cggttaaata tggatgttc atggggaaag
 1741 tcagcaattt gccaaagatt cagataggtt gaattgggg gataaggaat caaatgcac
 1801 tgctaaactg attggagaaa aacacatgca atatctttag tacactctca tttaaaccac
 1861 aagtagatataa aagcctaga gaaatacaga tgtctgcgtt gttaaatata aaatagcaaa
 1921 ttttcattca atttgaagac cttagatttt tcttcttaaa tccaaacac gaataccaaa
 1981 ttgcgttaagt accaattttagt aagaatataat caccaaaatg taccatcatg ctttcc
 2041 taccctttga taaactctac catgctcctt ctgttagct aaaaaccat caaaatttag
 2101 ggttaggtgg atggcattt ttttgaggta ggagaaaagt aaacttggg ccattctagg
 2161 tttgttgct gtcacttaggt aaagaaacac ctcttaacc acagtctgg gacaagcatg
 2221 caacattttta aaggtctct gctgtcatg gggaaaagaaa catgctgaga accaatttg
 2281 atgaacatgt tcacttgtaa gttagatttca ctgaatggaa ctgtgcgtt agatatctca
 2341 catgggggaa agtttaggac cctcttgc ttttgcgtt gtgcgttat ttctttgtaa
 2401 agtactgcta ttttcttt tgctgtgtt caacttaagc ctcttcggcc tggataaaa
 2461 taatctgcag tggattttt aatgtacata aagtcaacat atttgaagttt agatttttt
 2521 cttttttttata tatacaatg atggcaaaaa ggttaaagg ggcctaaacag tactgtgtt
 2581 agtggttttaat ttttaacagt agtacactat aactttttt agacttagat tagactgttt
 2641 gcatgattat gattctgtt ctttatgca tggaaatattt attttaccc tccagctact
 2701 tcgttagctt taatttttttata tatacaatg tggatctcc ttcttgcgtt aaaccagctg
 2761 ttccctcccttcc cactgacctg cgattcacca acattggtcc agacaccatg cgtgtcac
 2821 ggg

10

20

30

//

CEA Homo sapiens carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5 (CEACAM5), mRNA.

ACCESSION NM_004363

VERSION NM_004363.1 GI:11386170

SEQ ID NO 592

/translation="MESPSAPPHRWCIPWQRLLL TASLLTFWNPPPTAKLTIESTPFN
 VAEGKEVLLLVHNLPQHLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIY
 PNASLLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDK
 DAVAFTEPETQDATYLWWVNNQLPVSPRLQLSNGNRLLTFLNVTRNDTASYKCETQ
 NPVSARRSDSVILNVLYGPDAPISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWFVNGT
 FQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNNSNP
 VEDEDALVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQLPVSPRLQLSNDNRLLTFLSVTRNDVGPYE
 CGIQNELSVDHDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYYRPGVNLSLSCHAASNPPAQYSWL
 IDGNIQQHTQELFISNITEKNGLYTCQANNSASGHSRRTVKTITVSAELPKPSISSN
 NSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQLPVSPRLQLSNGNRLLTFLNVTRNDA
 RAYVCGIQNSVSANRSDPVTLVLYGPDTPIISPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSPQ
 YSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPG
 LSAGATVGIMIGVLGVVALI"

40

50

SEQ ID NO 593

ORIGIN

1 ctcaggcgag agggaggaag gacagcagac cagacagtca cagcagcctt gacaaaacgt
61 tcctggaact caagctcttc tccacagagg aggacagagc agacagcaga gaccatggag
121 tcccccctcg cccctccccca cagatggtgc atccccctggc agaggctctt gtcacagcc
181 tcacttctaa ccttcggaa cccgcccacc actgccaagc tcacttatgtc atccacgccc
241 ttcaatgtcg cagaggggaa ggagggtgc ttcaatgtcc acaatctgcc ccagcatctt
301 ttggctaca gctggtacaa aggtgaaaga gtggatggca accgtcaaat tataggatata
361 gtaataggaa ctcaacaagc taccccaggg cccgcataca gtggtcgaga gataatatac
421 cccaatgcat ccctgctgat ccagaacatc atccagaatg acacaggatt ctacacccta
481 cacgtcataa agtcagatct tgtgaatgaa gaagcaactg gccagttccg ggtatacccg
541 gagctgccc agccctccat ctccagcaac aactccaaac ccgtggagga caaggatgct
601 gtggccttca cctgtgaacc tgagactcag gacgcaacct acctgtggtg ggtaaaacaat
661 cagagcctcc cggtcagtc caggctgcag ctgtccaaatg gcaacaggac cctactcta
721 ttcaatgtca caagaaatga cacagcaagc tacaaatgtg aaacccagaa cccagttagt
781 gccaggcgca gtgattcagt catcctgaat gtcctctatg gcccggatgc cccaccatt
841 tccccctctaa acacatcttia cagaicaggg gaaaatctiga acctcicctg ccacgcagcc
901 tctaaccac ctgcacagta ctcttggttt gtcaatggga ctttccagca atccacccaa
961 gagctttta tccccaaacat cactgtgaat aatagtggat cctatacgtg ccaagcccat
1021 aactcagaca ctggccctcaa taggaccaca gtcacgacga tcacagtctt tgcaagagcc
1081 cccaaaccct tcatcaccag caacaactcc aacccctgtgg aggtgagga tgctgttagcc
1141 ttaaccttgt aacctgagat tcagaacaca acctacctgt ggtgggtaaa taatcagagc
1201 ctcccggtca gtcccaggct gcagctgtcc aatgacaaca ggaccctcac tctactcagt
1261 gtcacaagga atgatgttagg accctatgag tgtgaatcc agaacgaatt aagtgttgac
1321 cacagcgacc cagtcatcct gaatgtccctc tatggcccag acgaccccac cattcccc
1381 tcatacacct attaccgtcc aggggtgaac cttagcctct cctgcccattgc agccctaaac
1441 ccacactgcac agtattcttgcgtgattgtatggaaacatcc agcaacacac acaagagctc
1501 ttatctcca acatcaactga gaagaacagc ggactctata cctgcccaggc caataactca
1561 gccagtggcc acagcaggac tacagtcaag acaatcacag tctctgcggg gctgcccag
1621 ccctccatct ccagcaacaa ctccaaaccc gtggaggaca aggtgctgt ggccttcacc
1681 tgtgaacctg aggctcagaa cacaacctac ctgtgggtggg taaatggtca gagccccc
1741 gtcagtccca ggctgcagct gtcacatggc aacaggaccc tcactctatt caatgtcaca
1801 agaaatgacg caagagccta tgtatgtgaa atccagaact cagtggatgc aaaccgcagt
1861 gacccagtca ccctggatgt cctctatggg ccggacacccc ccatcatttc ccccccagac
1921 tcgtcttacc ttccgggagc gaacctcaac ctctcctgccc actcggccctc taacccatcc
1981 ccgcagtatt ctggcgtat caatgggata ccgcagcaac acacacaagt tcttttatac
2041 gccaatatacgccaaataa taacgggacc tatgcctgtt ttgtcttta ctggctact
2101 ggccgcaata attccatagt caagagcatc acagtctctg catctggaaac ttctcctgg
2161 ctctcagctg gggccactgt cgccatcatg attggagatgc tggttgggt tgctctgata
2221 tagcagccct ggtgtatgtt ctccatttca ggaagactga cagttgttt gcttcttcc
2281 taaagcattt gcaacagcta cagtctaaa ttgccttta accaaggata tttacagaaa
2341 agactctgac cagagatcga gaccatccta gccaacatcg tgaaacccca tctctactaa
2401 aaataaaaaa atgagctggg ctgggtggcg cgccacatcg gtcggatgtt ctcgggaggc
2461 tgaggcagga gaatcgcttgc aacccggggag gtggagattg cagtggatccc agatcgccacc
2521 actgcactcc agtctggcaa cagagcaaga ctccatctca aaaagaaaaaag aaaagaagac
2581 tctgacactgt actctgtatg acaagttct gataccactg cactgtctga gaatttccaa
2641 aactttaatg aactaactga cagcttcatg aaactgtccca ccaagatcaa gcagagaaaa
2701 taattaattt catggacta aatgaactaa tgaggattgc tgattcttta aatgtcttgt
2761 ttcccaqatt tcaggaaact tttttcttt taagctatcc actcttacag caatttgata

2821 aaatatactt ttgtgaacaa aaattgagac atttacattt tctccctatg tggtcgctcc
 2881 agacttggga aactattcat gaatatttat attgtatggt aatatagttt ttgcacaagt
 2941 tcaataaaaa tctgctctt gtataacaga aaaa

//

Her2/Neu Human tyrosine kinase-type receptor (HER2) mRNA, complete cds.

ACCESSION M11730

VERSION M11730.1 GI:183986

SEQ ID NO 594

/translation="MELAALCRWGLLALLPPGAASTQVCTGTDMLRLPASPEHLD

10

MLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVTQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIV
 RGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTPVTGASPGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPO
 LCYQDTILWKDIFHKNQNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQLTRT
 VCAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLFNHSGICELHCPALVTYNT
 DTFESMPNPEGRYTGFAGASCVTACPYNLSTDVGSTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKC
 SKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPL
 QPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSDLPSVFQNLQVIAGRILHNGAYSLLQGLGI
 SWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDEVGEG
 LACHQLCARHGHCWGPGBTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPE
 QPQNGSVTCFGPEADQCVCACAHYKDPPFCVARPSGVKPDLQSYMPIWKFQDEEGACQ
 PCPIINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIVSAVGILLVVVLGVVFGILIKRRQQKI
 RKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRLKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGWI
 PDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANKEILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVT
 QLMPYGCLLDHVRENGRGLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSP
 NHVKITDFGLARLLIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWE
 LMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECPRFRREL
 VSEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEYLVQQGF
 FCPDPAPGAGGMVHHRHRSSTRSGGGDLTLGLEPSEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDG
 DLGMGAAKGLQLSPLTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQPEYVNQPDVR
 PQPPSPREGPLPAARPAGATLERAKTLSPGKNGVVKDVFAGGAVENPEYLTPQGGAA
 PQPHPPPAFSPAfdnLYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV"

C

20

30

SEQ ID NO 595

ORIGIN Chromosome 17q21-q22.

1 aattctcgag ctcgtcgacc ggtcgacgag ctcgagggtc gacgagctcg agggcgccg
 61 cccggcccccc accccctcgca gcaccccgccg ccccgccccc tcccgccgg gtcccgccgg
 121 agccatgggg ccggagccgc agtgagcacc atggagctgg cggcccttgtc cccgtgggg
 181 ctccctctcg ccctcttgcc ccccgagcc gcgagcaccc aagtgtgcac cggcacagac
 241 atgaagctgc ggctccctgc cagtcccgag acccacctgg acatgctccg ccacccctac
 301 caggcgtgcc aggtggtgca gggaaacctg gaacctcacct acctgcccac caatgccagc
 361 ctgtccctcc tgcaggatat ccaggaggatg cagggctacg tgctcatcgc tcacaaccaa
 421 gtgaggcagg tcccactgca gaggctgcgg attgtgcag gcacccagct ctttgaggac
 481 aactatgccc tggccgtct agacaatgga gacccgctga acaataccac ccctgtcaca
 541 ggggcctccc caggaggcct gcgggagctg cagcttcgaa gcctcacaga gatcttgaaa
 601 ggaggggtct tgatccagcg gaaccccccag ctctgctacc aggacacat ttgtggaaag
 661 gacatcttcc acaagaacaa ccagctggct ctcacactga tagacaccaa ccgccttcgg
 721 gcctgccacc cctgttctcc gatgtgttaag ggctcccgct gctggggaga gagttctgag
 781 gattgtcaga gcctgacgctg cactgtctgt gccgggtggct gtgcccctg caaggggcca
 841 ctgcccactg actgctgcca tgagcagttgt gctgccggct gcacggggccc caagcactct
 901 gactgcctgg cctgcctcca cttcaaccac agtggcatct gtgagctgca ctgcccagcc

40

50

961 ctggtcacct acaacacaga cacgttgag tccatgccc atcccgaggg ccgtataca
1021 tcggcgcca gctgtgtgac tgccctgtccc tacaactacc ttctacgga cgtggatcc
1081 tgcaccctcg tctccccct gcacaaccaa gaggtgacag cagaggatgg aacacagcgg
1141 tgtgagaagt gcagcaagcc ctgtgcccga gtgtgctatg gtctggcat ggagcacttg
1201 cgagaggta gggcgttac cagtccaaat atccaggagt ttgctggctg caagaagatc
1261 ttgggagcc tggcatttct gccggagagc ttgtatgggg acccagccctc caacactgccc
1321 ccgctccagc cagagcagct ccaagtgtt gagactctgg aagagatcac aggttaccta
1381 tacatcttag catggccgga cagccgtcct gaccctcagcg tcttccagaa cctgcaagta
1441 atccgggac gaattctgca caatggcgcct tactcgctga ccctgcaagg gctggcata
1501 agctggctgg ggctgcgctc actgagggaa ctggcagtg gactggccct catccaccat
1561 aacacccacc tctgcitcgt gcacacggtg ccctgggacc agcttttcg gaacccgcac
1621 caagctctgc tccacactgc caaccggcca gaggacgagt gtgtggcga gggctggcc
1681 tgccaccagc tggcgtcccg agggcactgc tgggtccag ggcccacca gtgtgtcaac
1741 tgcagccagt tccttcgggg ccaggagtgc gtggaggaat gccgagttact gcaggggc
1801 cccagggagt atgtgaatgc caggcactgtt ttgccgtgcc accctgagtg tcagccccag
1861 aatggcttag tgacctgttt tggaccggag gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat
1921 aaggaccctc cttctgcgt ggccgctgc cccagcggtg taaaacctga ccttcctac
1981 atgcccattt ggaagttcc agatgaggag ggcgcattgcc agccttgcct catcaactgc
2041 acccactcct gtgtggaccc ggtatgacaag ggctgccccg ccgagcagag agccagccct
2101 ctgacgtcca tcgtctctgc ggtggttggc attctgctgg tcgtggctt ggggtggc
2161 ttgggatcc tcatcaagcg acggcagcag aagatccgga agtacacgat gcggagactg
2221 ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgctg acacctagcg gagcgtatgcc caaccaggcg
2281 cagatgcgga tcctgaaaga gacggagctg aggaagggtga aggtgcttgg atctggcgt
2341 ttggcacag tctacaaggg catctggatc cctgtatgggg agaatgtgaa aattccagtg
2401 gccatcaaag tttgagggaa aacacatcc cccaaagcca acaaagaaat cttagacgaa
2461 gcatacgtga tggctgggtt gggctccca tatgtctccc gccttctggg catctgcctg
2521 acatccacgg tgcagctggt gacacagctt atgcctatg gctgcctt agaccatgtc
2581 cggaaaaacc gcggacgcct gggctcccg gaccctgctg actgggttat gcagattgcc
2641 aaggggatga gctacctgga ggtatgtcgcc ctcgtacaca gggacttggc cgctcggaaac
2701 gtgctggtca agagtccaa ccatgtcaaa attacagact tcggctggc tcggctgctg
2761 gacattgacg agacagagta ccatgcagat ggggcaagg tgcccatcaa gtggatggcg
2821 ctggagtcca ttctccgccc gcgggttacc caccagagtg atgtgtggag ttatggtg
2881 actgtgtggg agctgatgac tttggggcc aaaccttacg atggatccc agccggag
2941 atccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg ctgccccagc ccccatctg caccattgt
3001 gtctacatga tcatggtcaa atgttggatg attgactctg aatgtcgcc aagattccgg
3061 gagttgggtt ctgaattctc ccgcattgcc agggaccccc agcgcttgc ggtcatccag
3121 aatgaggact tggcccccagc cagtccttg gacagcacct tctaccgctc actgctggag
3181 gacgatgaca tgggggaccc ggtggatgtt gaggagttac tggtacccca gcagggcttc
3241 ttctgtccag accctgcccc gggcgttgg ggcattggcc accacaggca ccgcagctca
3301 tctaccagga gtggcggtgg ggacctgaca cttagggctgg agccctctga agaggaggcc
3361 cccaggtctc cactggcacc ciccgaaggg gctggciccg atgtatttga tggtgacc
3421 ggaatggggg cagccaaggg gctgcaaagc ctccccacac atgaccccgcc ccctctacag
3481 cggtacagtg aggacccac agtacccctg ccctctgaga ctgatggcta cgttggcc
3541 ctgacctgca gccccagcc tgaatatgtt aaccagccag atgtcgcc ccagccccct
3601 tcgccccgag agggccctt gcctgctgcc cgaccctgtt gtgcacactt ggaaaggccc
3661 aagactctt ccccaggaa gaatggggtc gtcaaagacg ttttgcctt tgggggtggc
3721 gtggagaacc ccgagactt gacacccag ggaggagctg ccctcagcc ccaccctct
3781 cttgccttca gcccagccctt cgacaacccctt tattactggg accaggaccc accagagcgg
3841 ggggctccac ccagcacctt caaaggaca cctacggcag agaaccacaga gtacctgggt
3901 ctggacgtgc cagtgtaac cagaaggcca aqtcgcqaq aqccctqatq ttttgcctt
4001

3961 gagcagggaa ggcctgactt ctgctggcat caagagggtgg gagggccctc cgaccacttc
 4021 caggggaacc tgccatgccca ggaacctgtc ctaaggaacc ttcccttcgt ctttagttcc
 4081 cagatggctg gaaggggtcc agcctcggtg gaagaggaac agcaactgggg agtctttgtg
 4141 gattctgagg ccctgccccaa tgagactcta gggtccagtg gatgccacag cccagcttgg
 4201 cccttcctt ccagatcctg ggtactgaaa gccttaggga agctggcctg agaggggaag
 4261 cggccctaag ggagtgtcta agaacaaaag cgaccattc agagactgtc cctgaaacct
 4321 agtactgccc cccatgagga aggaacagca atggtgtcag tatccaggct ttgtacagag
 4381 tgctttctg ttttagttttt actttttttt tttttttttt ttaaagacga aataaagacc
 4441 caggggagaaa tgggtgttgt atggggaggc aagtgtgggg ggtccttctc cacaccact
 4501 ttgtccattt gcaaataatat tttggaaaac

10

//

H.sapiens mRNA for SCP1 protein.

ACCESSION X95654

VERSION X95654.1 GI:1212982

SEQ ID NO 596

/ translation="MEKQKPFALFVPPRSSSSQVS AVKPQTLGGDSTFFKSFNKCTED
 DLEFPFAKTNLSNGENIDSDPALQKVNFPLPVLEQVGNSDCHYQEGLKDSLENSEGL
 SRVFSKLYKEAEKIKKWKVSTEAE LRQKESKLQENRKIEAQRKAQELQFGNEKVSL
 KLEEGIQENKDLIKENNATRHLCNLLKETCARS AEKTKYEREETRQVYMDLNNNI
 EKMIAH GELRVQAENS RLEMHFKLKEDYEKI QHLEQEYKKEINDKEKQV SLLL IQIT
 EKENKMKDLTFLLEESRD KVNLQLEEKTKLQSENLKQSIEKQHHLTKELEDIKVSLQRS
 VSTQKALEEDLQIATKTICQLTEEKETQMEE SNKARA AH SFVVTEFETTVCSLELLR
 TEQQRLEKNEDQLKILTMELQKKSSELEEMTKLTNNKEVELEELKKVLGEKETLLYEN
 KQFEKIAEELKGTEQELIGLLQAREKEVHDLEIQLTAITTSEQYYSK EVKDLKTELEN
 EKLKNT ELTSHCNKLSLENKELTQETSDMTLELKNQQQEDINNNKKQEEERMLKQIENLQ
 ETETQLRNELEYVREELKQKRDEVKCKLDKSEENCNNLRKQVENKNYIEELQQENKA
 LKKKGTAESKQLNVYEIKVN KLELELES A KQKFGEITDTYQKEIEDKKISEENLLEEV
 EKAKVIADAEVKLQKEIDKRCQHKIAEMVALMEKH KHQYDKII EERDSELGLYKSKEQ
 EQSSLRASLEIELSNLKAELL SVKKQLEI EREEKEKLKREAKENTATLKEKKDKKTQT
 FLLETPEIYWKLDSKAVPSQTVSRNFTSVDHGISKDKRDYLWTSAKNTLSTPLPKAYT
 VKTPTKPKLQQRENLNIPIEESKKRKMAFEFDINS DSSETTDLLSMVSEEETLKLY
 RNNNPPASHLCVKTPKKAPSSL TTPGPTLKFGAI RKMREDRWAVIAKMDRKKKLKEAE
 KLFV"

20

30

30

SEQ ID NO 597

ORIGIN

1 gccctcatag accgtttgtt gtagttcgcg tggaaacagc aacccacgg tttccgatag
 61 ttcttcaaag atatttacaa ccgtaacaga gaaaatggaa aagcaaaagc ctttgcatt
 121 gttcgatcca ccgagatcaa gcagcagtca ggtgtctgcg gtgaaacctc agaccctggg
 181 aggcgattcc actttcttca agagttcaa caaatgtact gaagatgatt tggagttcc
 241 atttgc aaagactatctt ccaaaaatgg gaaaaacatt gattcagatc ctgttttaca
 301 aaaagttaat ttcttgc cc tgcttgagca ggttgtaat tctgactgtc actatcagga
 361 aggactaaaa gactctgatt tggagaattc agaggattg agcagatgtt tttcaaaaact
 421 gtataaggag gctgaaaaaga taaaaaaaatg gaaagtaatg acagaagctg aactgagaca
 481 gaaagaaagt aagttgcaag aaaacagaaa gataattgaa gcacagcgaa aagccattca
 541 ggaactgcaa ttggaaatg aaaaagtaag ttggaaatta gaagaaggaa tacaagaaaa
 601 taaagattta ataaaaagaga ataatgccac aaggcattt t gtaatctac tcaaagaaaac
 661 ctgtgctaga tctgcagaaa agacaaagaa atatgaatat gaacggaaag aaaccaggca

40

50

721 agtttatatg gatctaaata ataacattga gaaaatgata acagctcatg gggacttcg
 781 tgcagaact gagaattcca gactggaaat gcattttaag ttaaggaaat attatgaaaa
 841 aatccaaacac cttgaacaag aatacaagaa gaaataaat gacaaggaaa agcaggtatc
 901 actactattg atccaaatca ctgagaaaga aaataaaatg aaagatttaa catttctgct
 961 agaggaatcc agagataaag ttaatcaatt agaggaaaag acaaattac agagtaaaaa
 1021 cttaaaacaa tcaattgaga aacagcatca tttgactaaa gaactagaag atattaaagt
 1081 gtcattacaa agaagtgtga gtactcaaaa ggcttagag gaagattac agatagcaac
 1141 aaaaacaatt tgtcagctaa ctgaagaaaa agaaactcaa atggaagaat ctaataaagc
 1201 tagagctgct cattcgttt tggttactga atttgaact actgtctgca gcttggaga
 1261 attattgaga acagaacagc aaagattgaa aaaaaatgaa gatcaattga aaataacttac
 1321 catggagctt caaaagaaat caagttagt ggaagagatg actaagctt caaataacaa
 1381 agaagtagaa cttgaagaat tgaaaaaaat cttggggagaa aaggaaacac ttttatatga
 1441 aaataaaacaa tttgagaaga ttgctgaaga attaaaagga acagaacaag aactaattgg
 1501 tcttcctcaa gccagagaga aagaagtaca tgatttgaa atacagttaa ctgccattac
 1561 cacaagtgaa cagtattt caaaagaggt taaagatcta aaaactgagc ttgaaaacga
 1621 gaagcttaag aatactgaat taacttcaca ctgcaacaag ctttcactag aaaacaaaga
 1681 gctcacacag gaaacaagtg atatgaccct agaactcaag aatcagcaag aagatattaa
 1741 taataacaaa aagcaagaag aaaggatgtt gaaacaaata gaaaatcttc aagaaacaga
 1801 aacccaaatta agaaatgaac tagaatatgt gagagaagag ctAAAacaga aaagagatga
 1861 agttaaatgt aaattggaca agagtgaaga aaattgtaac aatttaagga aacaagtgt
 1921 aaataaaaac aagtatattt aagaacttca gcaggagaat aaggccttga aaaaaaaagg
 1981 tacagcagaa agcaagcaac tgaatgtt tgagataaaag gtcaataat tagatgt
 2041 actagaaagt gccaaacaga aatttgaga aatcacagac acctatcaga aagaaattga
 2101 ggacaaaaag atatcagaag aaaatcttt ggaagaggtt gagaaagcaa aagtaatagc
 2161 tcatgaaatc gtAAAatttac agaaagaaat tgataagcgt tgcacata aaatagctga
 2221 aatggtagca cttatggaaa aacataagca ccaatatgt aagatcattt aagaaagaga
 2281 ctcagaattt ggactttata agagcaaaaga acaagaacag tcattactga gagcatctt
 2341 ggagattgaa ctatccatc tcaaagctga acttttgtct gttagaagac aacttgaat
 2401 agaaagagaa gagaaggaaa aactcaaaag agaggcaaaa gaaaacacag ctactcttaa
 2461 agaaaaaaaaa gacaagaaaa cacaaacatt tttatggaa acacctgaaa tttatggaa
 2521 attggatttc aaagcagttc cttcacaaac tgcatttcga aatttcacat cagttgtatca
 2581 tggcatatcc aaagataaaa gagactatct gtggacatct gccaaaaata ctttatctac
 2641 accattgcc aaggcatata cagtgaagac accaacaaaaa ccaaaactac agcaaagaga
 2701 aaacttgaat ataccattt aagaaagtaa aaaaaagaga aaaaatggct ttgaatttga
 2761 tattaattca gatagttcag aaactactga tcttttgagc atggtttcag aagaagagac
 2821 attgaaaaca ctgtatagga acaataatcc accagttct cattttgtt tcaaaacacc
 2881 aaaaaaggcc ctttcatctc taacaacccc tggacctaca ctgaagttt gggctataag
 2941 aaaaatgcgg gaggaccgtt gggctgtat tgctaaaatg gatagaaaaa aaaaactaaaa
 3001 agaagctgaa aagtatttgc tttatccaa gagaatcagt gtagttaagg agcctaataa
 3061 cgtgaaactt atagttataa tttgttctt atttgcaga gcccacat ttttgcggat
 3121 tgagacttaa aaaatacttg catgaatgtat ttgtgtttct ttatattttt agcctaataatg
 3181 ttaactacat attgtctgga aacctgtcat tgtattcaga taatttagatg attatataatt
 3241 gttgttactt ttcttgtat tcatgaaaac tttttttact aagttttcaa atttgcggat
 3301 ttagcctttt aatgcgttga atgcattatt gagggtcatt ctttattctt tactattaaa
 3361 atattttggaa tgcaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaa

//

VERSION NM_005636.1 GI:5032122

SEQ ID NO 598

/translation="MNGDDAFARRPRDDAQISEKLRKAFDDIAKYFSKKEWEKMKSEK

IVY

VYMKLNVEVMTKLGFKVTLPPFMRSKRAADFHNDFGNDRNHRNQVERPQMTFG
SLQRIFPKIMPKKPAEEENGLKEVPEASGPQNDGKQLCNPSTLEKINKTSGPKRG
KHAWTHRLRERKQLVVYEEISDPEEDDE"

SEQ ID NO 599

ORIGIN

10

1 atgaacggag acgacgcctt tgcaaggaga cccagggatg atgctcaa atcagagaag
61 ttacgaaagg cttcgatga tattgccaaa tacttctcta agaaagagatg ggaaaagatg
121 aaatcctcg agaaaatcgt ctatgtgtat atgaagctaa actatgaggt catgactaaa
181 ctaggtttca aggtcacccct cccacccccc atgcgttagta aacgggctgc agacttccac
241 gggaaatgatt ttggtaacga tcgaaaccac aggaatcagg ttgaacgtcc tcagatgact
301 ttccggcagcc tccagagaat cttcccgaaat atcatgccc agaagccagc agaggaagaa
361 aatgggttga aggaagtgcc agaggcatct ggcccacaaa atgatggaa acagctgtgc
421 cccccgggaa atccaagtac cttggagaag attacaaga catctggacc caaaaggggg
481 aaacatgcct ggaccacag actgcgtgag agaaagcagc tggtggttta tgaagagatc
541 agcgaccctg aggaagatga cgagtaactc ccctcg

20

【0298】

明細書中に記載した特許および刊行物はすべて、本発明が関連する技術分野の当業者のレベルを示している。

【0299】

本明細書中で適切に例示的に記載する本発明は、具体的に本明細書中に開示されない任意の要素（単数または複数）、限定物（単数または複数）の非存在下で実施され得る。使用した用語および表現は、説明の用語として使用されるものであり限定の用語として使用されるものではなく、かかる用語および表現の使用において、示して記載した形態の等価物、またはその一部の排除を示す意図はない。様々な変更が、特許請求した本発明の範囲内で可能であることが理解されよう。したがって、本発明を好ましい実施形態および任意の特徴により具体的に開示してきたが、開示した本明細書中の概念の変更および変形が当業者によりなされてもよく、かかる変更および変形は、添付の特許請求の範囲により規定するような本発明の範囲内であるとみなされることが理解されるべきである。

30

【図面の簡単な説明】

【0300】

【図1A】NY-ESO-1および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。

40

【図1B】NY-ESO-1および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。

【図1C】NY-ESO-1および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。

【図2】核酸コードエピトープを送達するのに有用なプラスミドワクチン骨格を図で表す。

【図3A】チロシナーゼ_{208~216}に関するHLA-A2結合アッセイの結果を示すFACSプロフィールである。

【図3B】チロシナーゼ_{207~215}に関するHLA-A2結合アッセイの結果を示すFACSプロフィールである。

【図3C】in vitro免疫により誘発されるヒトCTLによるチロシナーゼエピトープに対する細胞傷害活性を示す図である。

50

【図4】SSX_{31～68}のプロテアソーム切断により產生される断片のT=120分の時点のマススペクトルである。

【図5】対照とともにHLA-A2:SSX-2_{41～49}に関する結合曲線を示す図である。

【図6】SSX-2_{41～49}免疫HLA-A2トランスジェニックマウス由來のCTLによるSSX-2_{41～49}パルス標識標的的溶解を示す図である。

【図7A】PSMA_{163～192}プロテアソーム消化物のT=60分の時点のアリコートのN末端プールシーケンシングの結果を示す図である。

【図7B】PSMA_{163～192}プロテアソーム消化物のT=60分の時点のアリコートのN末端プールシーケンシングの結果を示す図である。

【図7C】PSMA_{163～192}プロテアソーム消化物のT=60分の時点のアリコートのN末端プールシーケンシングの結果を示す図である。

【図8】対照とともにHLA-A2:PSMA_{168～177}、およびHLA-A2:PSMA_{288～297}に関する結合曲線を示す。

【図9】PSMA_{281～310}プロテアソーム消化物のT=60分の時点のアリコートのN末端プールシーケンシングの結果を示す図である。

【図10】対照とともにHLA-A2:PSMA_{461～469}、HLA-A2:PSMA_{460～469}、およびHLA-A2:PSMA_{663～671}に関する結合曲線を示す図である。

【図11】PSMA_{463～471}反応性HLA-A1⁺CD8⁺T細胞を検出する-IFNベースのELISPOTアッセイの結果を示す図である。

【図12】抗HLA-A1 mAbによる図10で使用されるT細胞の反応性の阻止を示し、HLA-A1制限認識を示す図である。

【図13】対照とのHLA-A2:PSMA_{663～671}に関する結合曲線を示す図である。

【図14】対照とのHLA-A2:PSMA_{662～671}に関する結合曲線を示す図である。

【図15】種々の注射経路により様々な用量のDNAで免疫した後の抗ペプチドCTL応答の比較の図である。

【図16】gp33エピトープ発現プラスミド、または対照プラスミドのリンパ節内注入により免疫したマウスにおける移植gp33発現腫瘍の成長の図である。

【図17】それぞれリンパ節内または筋内注射後の様々な時間での注入または排出リンパ節におけるリアルタイムPCRにより検出されるプラスミドDNA量の図である。

10

20

30

【図1A】

1 CTAG_ヒト NY-ESO (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 AAD05202 - CAG-3 (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 CAA11044 - LAGE-1a (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 CAA10194 - LAGE-1s (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 CAA11043 - LAGE-1b (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 CAA10196 - LAGE-1L (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 AAH02883 CT-2 (1) NYAEREGEESTSODAEGEGEGTIEFREGNAGCPEEEATGEGATGEGRGRGAA
 コンセンサス (1) NYAERGIGGSTGDADEGGPGEATGGCGAGGAGA 50
 51
 CTAG_ヒト NY-ESO (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 AAD05202 - CAG-3 (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA11044 - LAGE-1a (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA10194 - LAGE-1s (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA11043 - LAGE-1b (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA10196 - LAGE-1L (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 AAH02883 CT-2 (51) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 コンセンサス (51) ARASGPRGGAPRGPPIGGAASQDCRCICGARRPSRLQLHITMPSSPM 100

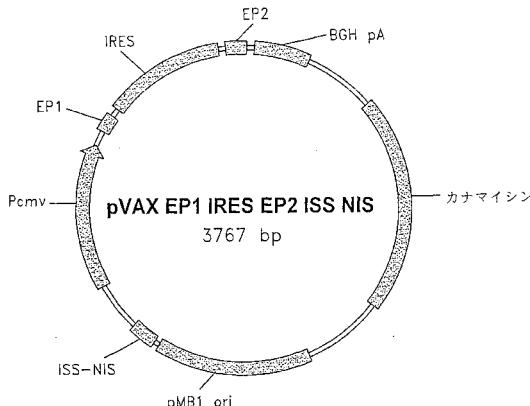
【図1B】

1 CTAG_ヒト NY-ESO (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 AAD05202 - CAG-3 (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA11044 - LAGE-1a (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA10194 - LAGE-1s (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA11043 - LAGE-1b (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 CAA10196 - LAGE-1L (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 AAH02883 CT-2 (101) NYAECGCCAREGEGEGTIEFREGCCESEETFNNAGTPEVW
 コンセンサス (101) ARASGPRGGAPRGPPIGGAASQDCRCICGARRPSRLQLHITMPSSPM 150

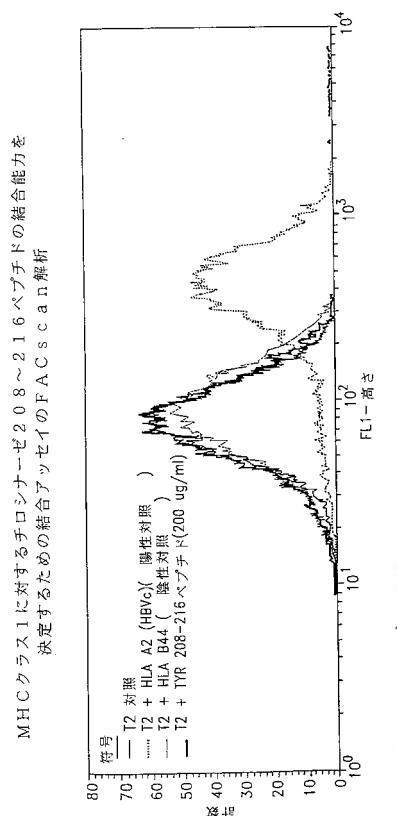
【図1C】

201
 CTAG_ヒト NY-ESO (181) -----
 AAD05202 - CAG-3 (181) -----
 CAA11044 - LAGE-1a (181) -----
 CAA10194 - LAGE-1s (181) -----
 CAA11043 - LAGE-1b (201) FNVMFSAPHI
 CAA10196 - LAGE-1L (201) FNVMFSAPHI
 AAH02883 CT-2 (201) FNVMFSAPHI
 コンセンサス (201)

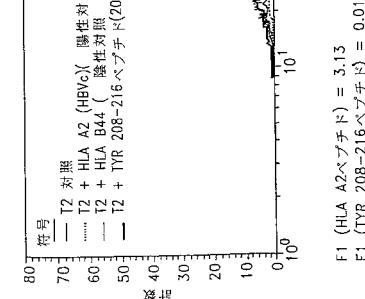
【図2】



【図3A】

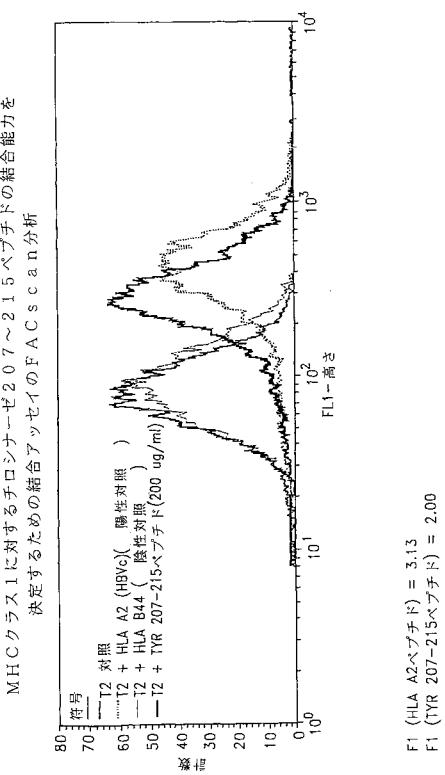


MHCクラス1に対するチロシナーゼ208~216ペプチドの結合能力を
決定するための結合アッセイのFACS解析

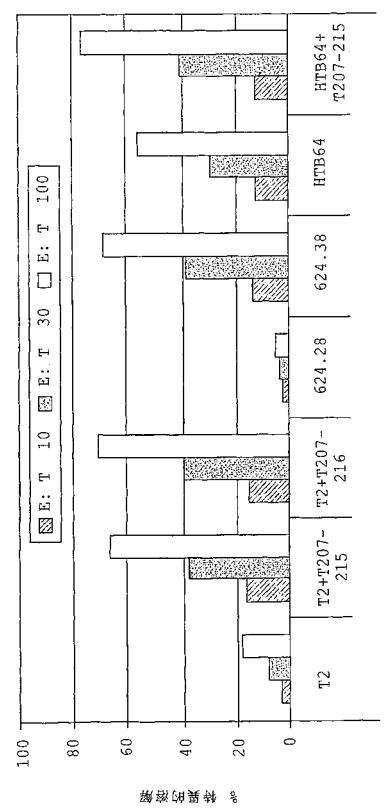


F_1 (HLA A2ペプチド) = 3.13
 F_1 (TYR 208-216ペプチド) = 0.01

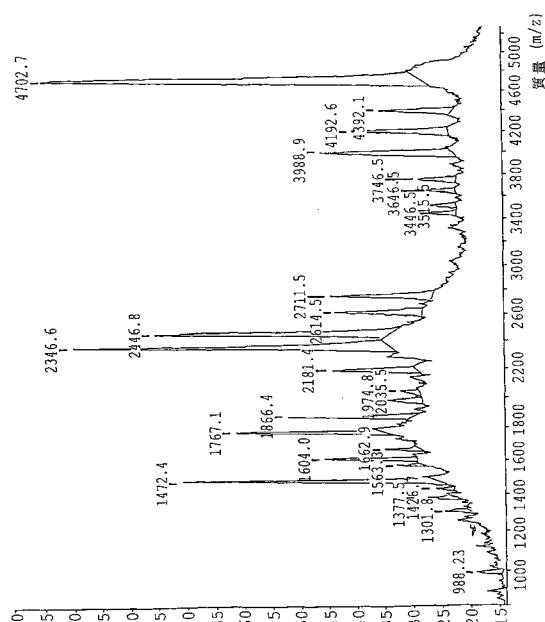
【図 3 B】



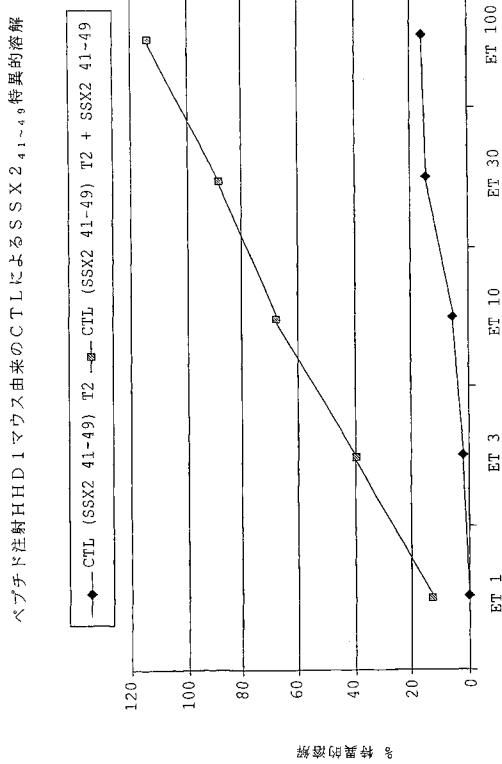
【図 3 C】



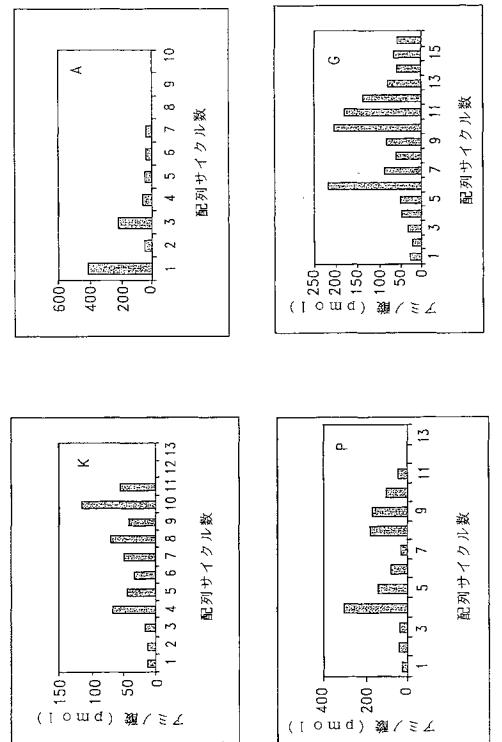
【図 4】



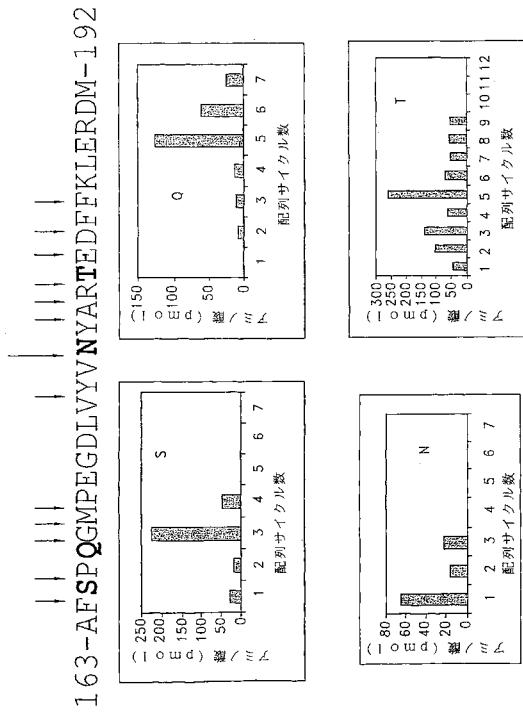
【図6】



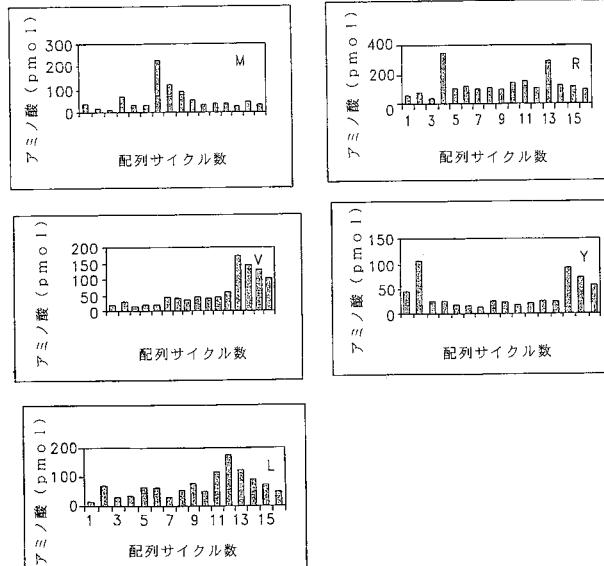
【 図 7 B 】



【図7A】



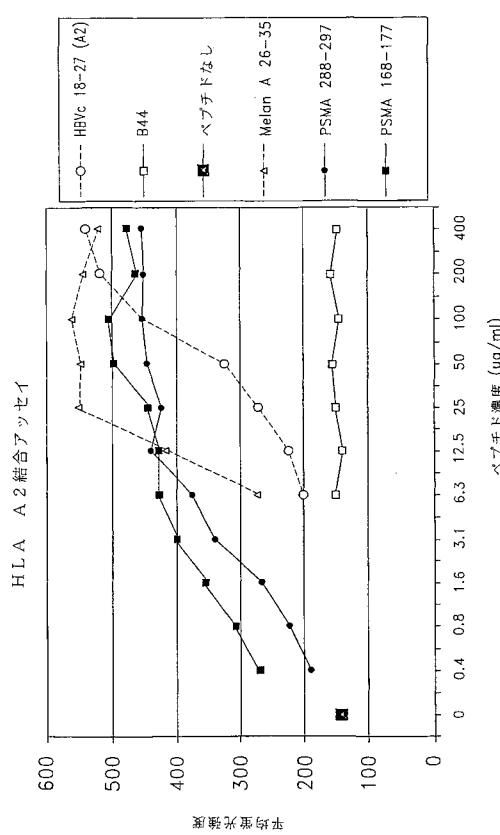
【図7C】



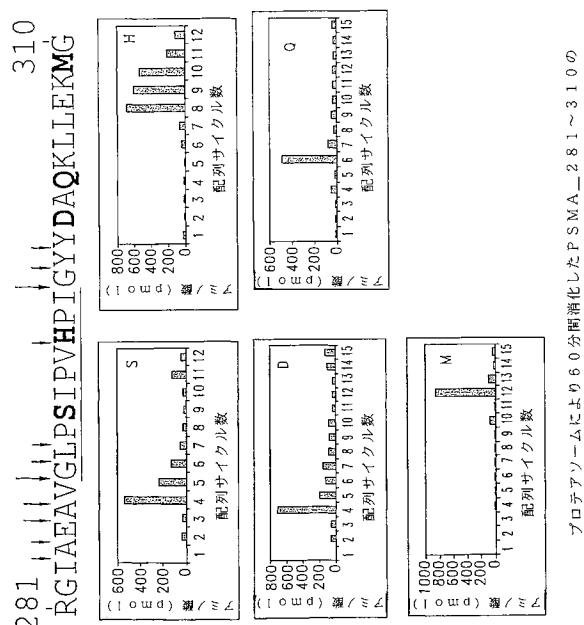
プロテアソームにより 60 分間消化した PSM A-163~192 の
ペルシケンシング

プロテアーソームにより 60 分間消化した PSMA-163~192 の
ペルシケンシング

【図 8】

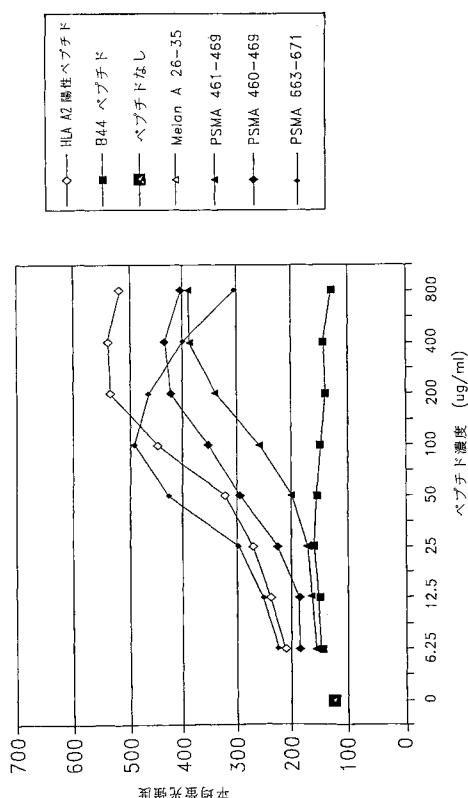


【図 9】



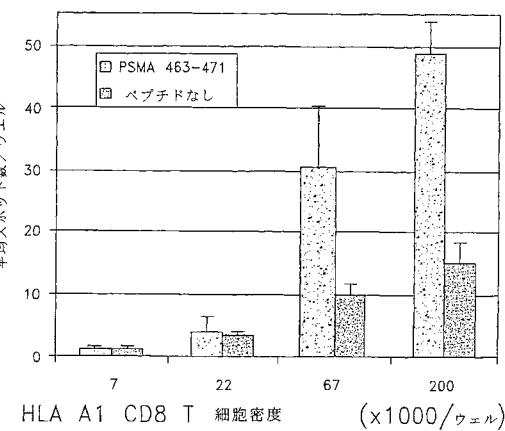
プロテアソームにより 60 分間消化した PSMA-281~310 の
ブールシーケンシング

【図 10】

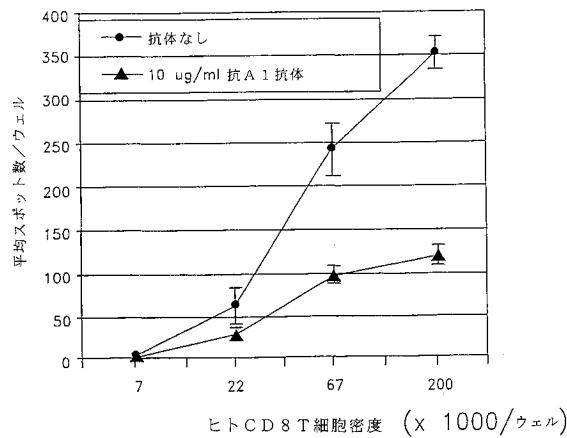


【図 11】

自己DCはCD8 T細胞に対してA1ペプチドを提示する

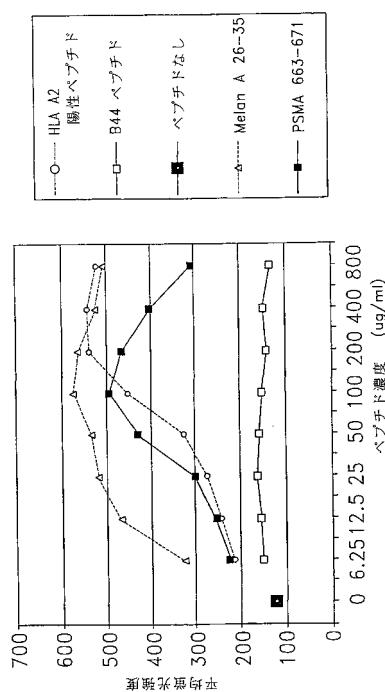


【図12】

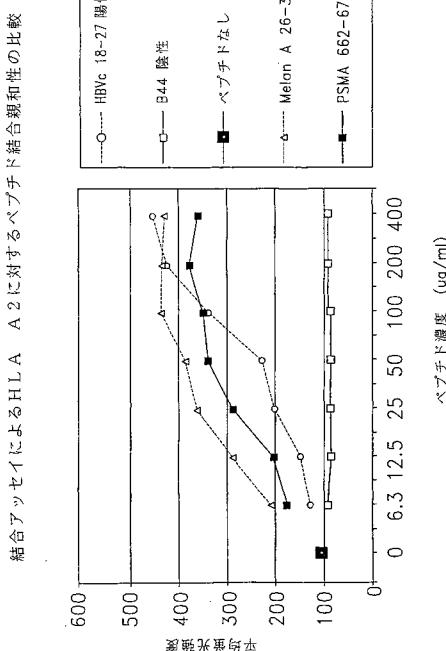
抗A1抗体により阻止されたIFN γ の分泌

【図13】

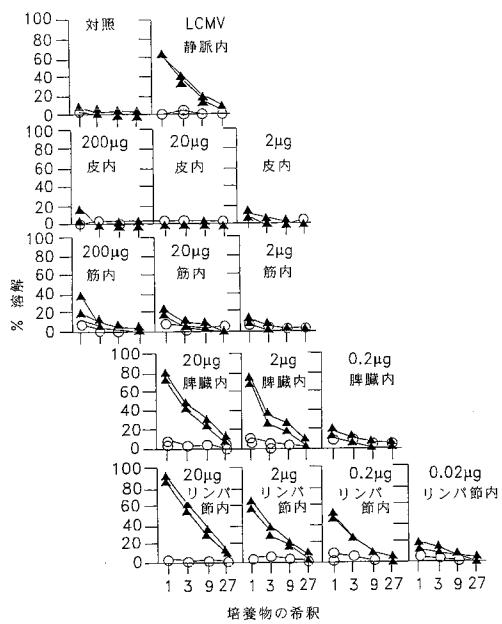
結合アッセイによるHLA-A2に対するペプチド結合親和性の比較



【図14】

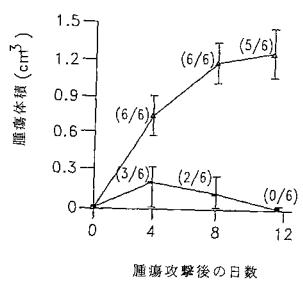


【図15】



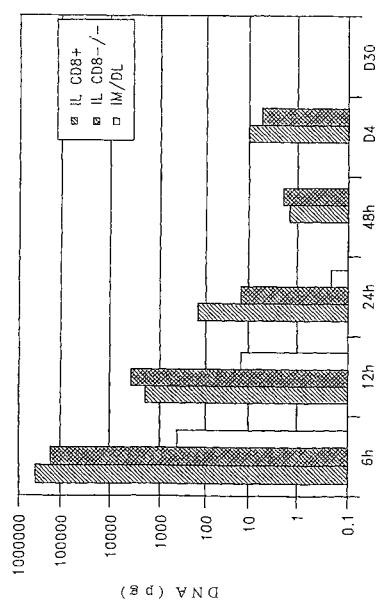
グラフは、非パルス標識E.L.4細胞（白丸）、およびg p 3 3ペプチドでパルス標識したE.L.4細胞（黒三角）の溶解を示す。記号は個々のマウスを表し、3回の同様の実験のうちの1つを示している。

【図 16】



平均腫瘍体積±1 S Dを、pEFGPL33A-DNA（黒丸）または対照pEGFP-N3-DNA（白三角）で免疫したマウスに関して示している。括弧中の数字は、群中の腫瘍を伴うマウス数／マウスの総数を示す。2回の同様の実験のうちの1つを示している。

【図 17】



【配列表】

2009060910000001.app

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	

(72)発明者 シマード, ジョン ジェイ.エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91326 ノースリッジ ロートン ウェイ 11918

(72)発明者 ダイアモンド, デイビッド シー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91304 ウエスト ヒルズシェーンボーン ストリート
23135

(72)発明者 リウ, リピン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91367 ウッドランド ヒルズ エイチ-111 ヴィク
トリー ブールバード 22228

(72)発明者 シエ, ジドン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91367 ウッドランド ヒルズ エイチ-111 ヴィク
トリー ブールバード 22228

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA31 CA04 DA06 DA12 EA04
4C085 AA03 BB11 CC21 DD88 EE01 GG01
4H045 AA11 AA30 BA10 BA40 CA40 DA86 EA22 EA28 FA33 FA74

专利名称(译)	表位序列		
公开(公告)号	JP2009060910A	公开(公告)日	2009-03-26
申请号	JP2008251482	申请日	2008-09-29
[标]申请(专利权)人(译)	曼金德公司		
申请(专利权)人(译)	人类总公司		
[标]发明人	シマードジョンジェイエル ダイアモンドディビッドシー リウリピン シエジドン		
发明人	シマード,ジョン ジェイ.エル. ダイアモンド,ディビッド シー. リウ,リピン シエ,ジドン		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/705 C07K19/00 A61K39/00 A61P35/00 A61P31/12 A61P37/02 G01N33/53 A61K35/12 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 C07K7/06 C07K14/47 C07K14/74 C07K16/28 C12N1 /15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/06 C12N5/10 C12N9/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68		
CPC分类号	A61K39/00 A61P13/08 C07K14/4748 C12N9/0059		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/705 C07K19/00 A61K39/00.H A61P35/00 A61P31/12 A61P37/02 A61K48 /00 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA31 4B024/CA04 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4C085/AA03 4C085 /BB11 4C085/CC21 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA40 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/FA33 4H045/FA74 4C084 /AA13 4C084/NA14 4C084/ZB052 4C084/ZB262		
代理人(译)	川口义行 远山 勉		
优先权	60/282211 2001-04-06 US 60/337017 2001-11-07 US 60/363210 2002-03-07 US		
其他公开文献	JP5135150B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供对I类MHC具有高亲和力并且是由靶标特异性蛋白酶体产生的表位的核酸或多肽，其可用于产生免疫试剂。肿瘤相关抗原PRAME编码一个或多个区段序列，每个区段具有表位簇，所述簇具有至少2个具有已知或预测的亲和力的相同MHC受体肽结合裂缝。具有或编码一个氨基酸序列的分离的核酸和包含所述序列的阅读框在启动子的控制下连接。[选择图]无

配列番号	性質	配列
1	チロシン 207-216	FIPWHRLFLL
2	チロシナーゼタンパク質	アクセッション番号**: P14679
3	SSX-2 タンパク質	アクセッション番号: NM_003138
4	FSMA cDNA	アクセッション番号: NP_004467
5	チロシン 207-216 cDNA	チロシン 207-216
6	SSX-2 cDNA	チロシン 208-216
7	FSMA cDNA	チロシン 208-216
8	チロシン 207-215	チロシン 208-216
9		チロシン 208-216
10		YISKKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYEAMTKLGK
	SSX-2 31-68	ATLP
11	SSX-2 32-40	FSKKEEWEKMK
12	SSX-2 39-47	KMKASEKIF
13	SSX-2 40-48	MKASEKIFY
14	SSX-2 39-48	KMKASEKIFY
15	SSX-2 41-49	KASEKIFYV
16	SSX-2 40-49	MKASEKIFYV
17	SSX-2 41-50	KASEKIFYVV
18	SSX-2 42-49	ASEKIFYVY
19	SSX-2 53-61	RKYEAMTKL
20	SSX-2 52-61	KRKYEAMTKL
21	SSX-2 54-63	KYEAMTKLG
22	SSX-2 55-63	YEAMTKLG
23	SSX-2 56-63	EAAMTKLG
24	HBV 18-27	FILPSDYFPPSV
25	HLA-B44 バインダー	AEMGKYSEY
26	SSX-1 41-49	KYSEKISVY
27	SSX-3 41-49	KVSEKIVVY
28	SSX-4 41-49	KSSEKIVVY
29	SSX-5 41-49	KASEKIIYV