

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 527826

(P2003 - 527826A)

(43)公表日 平成15年9月24日(2003.9.24)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 35/12	4 B 0 2 4
A 6 1 K 35/12		39/00	H 4 B 0 6 3
38/00		39/39	4 B 0 6 4
39/00		39/395	D 4 B 0 6 5
39/39		45/00	4 C 0 8 4

審査請求 未請求 予備審査請求 (全152数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 506864(P2001 - 506864)

(86)(22)出願日 平成12年6月23日(2000.6.23)

(85)翻訳文提出日 平成13年12月28日(2001.12.28)

(86)国際出願番号 PCT/US00/17207

(87)国際公開番号 W001/000874

(87)国際公開日 平成13年1月4日(2001.1.4)

(31)優先権主張番号 09/346,498

(32)優先日 平成11年6月30日(1999.6.30)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ルードヴィッヒ インスティテュート フ
ォー キャンサー リサーチ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州10158、ニ
ューヨーク、サード アベニュー 605

(72)発明者 ザーヒン、ウグール
ドイツ連邦共和国 デー - 66421 ハンブル
ク、ユニベルジテート デス ザールラン
デス、メド.クリニ-ク 1

(72)発明者 ツレチ、オズレム
ドイツ連邦共和国 デー - 66421 ハンブル
ク、ユニベルジテート デス ザールラン
デス、メド.クリニ-ク 1

(74)代理人 弁理士 葛和 清司

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌関連抗原およびその使用

(57)【要約】

精上皮腫患者からの抗血清を用いて、精巣細胞中で発現される核酸のライブラリーの自系抗体スクリーニングにより、癌関連抗原が同定された。本発明は、多様な癌に罹患した患者において発現される癌関連抗原である核酸およびコードされたポリペプチドに関する。本発明は、とりわけ、単離核酸分子、それらの分子を含有する発現ベクター、およびそれらの分子でトランスフェクトされた宿主細胞を提供する。本発明は、単離タンパク質およびペプチド、それらのタンパク質およびペプチドに対する抗体、ならびにタンパク質およびペプチドを認識する細胞傷害性Tリンパ球も提供する。機能的断片および変異体を含めた上記のものの断片も提供される。上記の分子を含有するキットも付加的に提供される。本発明により提供される分子は、1つまたはそれ以上の癌関連抗原の発現により特徴づけられる症状の診断、モニタリング、研究または治療に用いられ得る。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 核酸分子によりコードされるヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる障害の診断方法であって、

対象から単離された生物学的試料を、核酸分子、その発現産物またはHLA分子と複合されたその発現産物の断片と特異的に結合する剤とを接触させること、ここで核酸分子はNA群1核酸分子であり、および障害を決定づけるものとして、剤と核酸分子または発現産物との間の相互作用を決定すること、を含む、前記方法。

【請求項2】 剤が、

(a) NA群1核酸分子またはその断片を含む核酸分子、

(b) NA群3核酸分子またはその断片を含む核酸分子、

(c) NA群5核酸分子またはその断片を含む核酸分子、

(d) NA群1核酸の発現産物と結合する抗体、

(e) NA群3核酸の発現産物と結合する抗体、

(f) NA群5核酸の発現産物と結合する抗体、

(g) HLA分子およびNA群1核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤、

(h) HLA分子およびNA群3核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤、

および

(i) HLA分子およびNA群5核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤

からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 障害が複数のヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられ、そして剤はその各々が異なるヒト癌関連抗原前駆体に特異的である複数の剤であり、そしてその複数の剤は少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも4、少なくとも6、少なくとも7、または少なくとも8、少なくとも9または少なくとも10のそのような剤である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 剤が、精上皮種癌関連抗原前駆体であるヒト癌関連抗原前駆体に特異的である、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】 NA群1分子である核酸分子によりコードされるタンパク質

の異常レベルの発現により特徴づけられる症状の回帰、進行または発症の決定方法であって、

症状を有するかまたは有することが疑われる患者からの試料を、

(i) タンパク質、

(i i) タンパク質由来のペプチド、

(i i i) タンパク質またはペプチドを選択的に結合する抗体、及び

(i v) タンパク質由来のペプチドおよびMHC分子の複合体に特異的な細胞溶解性T細胞

からなる群から選択されるパラメーターに関して、

前記症状の回帰、進行または発症を決定づけるものとしてモニタリングすること

、

を含む、前記方法。

【請求項6】 試料が、体液、身体滲出液または組織である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】 モニタリングの工程が、試料を、

(a) (i) のタンパク質または(i i) のペプチドを選択的に結合する抗体

、

(b) (i i i) の抗体と結合するタンパク質またはペプチド、及び

(c) (i v) のペプチドおよびMHC分子の複合体を呈示する細胞

からなる群から選択される検出可能な剤と接触させることを含む、請求項5に記載の方法。

【請求項8】 抗体、タンパク質、ペプチドまたは細胞が放射性標識または酵素で標識される、請求項7に記載の方法。

【請求項9】 ペプチドに関して試料をアッセイすることを含む、請求項5に記載の方法。

【請求項10】 核酸分子がNA群3分子である、請求項5に記載の方法。

【請求項11】 核酸分子がNA群5分子である、請求項5に記載の方法。

【請求項12】 タンパク質が複数のタンパク質であり、パラメーターが複数のパラメーターであり、複数のパラメーターの各々が複数のタンパク質の異なる

る1つに特異的であり、そのうちの少なくとも1つがNA群1分子によりコードされる癌関連タンパク質である、請求項5に記載の方法。

【請求項13】 ヒト対象のための医薬製剤であって、対象に投与された場合、HLA分子およびヒト癌関連抗原の複合体の存在を選択的に豊富化する剤、ならびに薬学的に許容し得る担体を含み、ヒト癌関連抗原がNA群1分子を含む核酸分子によりコードされるヒト癌関連抗原前駆体の断片である医薬製剤。

【請求項14】 剤が、その各々がHLA分子および異なるヒト癌関連抗原の複合体を対象中で選択的に豊富化する複数の剤を含み、ヒト癌関連抗原の少なくとも1つがNA群1分子によりコードされる、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項15】 複数の剤が少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4または少なくとも5の異なるものである、請求項14に記載の医薬製剤。

【請求項16】 核酸分子がNA群3核酸分子である、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項17】 剤が、以下の：

- (1) ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体、
 - (2) 単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現するためのプロモーターに作動可能に連結される単離核酸、
 - (3) 単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する宿主細胞、及び
 - (4) ポリペプチドまたはその機能的変異体とHLA分子の単離複合体、
- からなる群から選択される、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項18】 アジュバントをさらに含む、請求項13～17のいずれかに記載の医薬製剤。

【請求項19】 剤が、ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する細胞であり、細胞が非増殖性である、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項20】 剤が、ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する細胞であり、細胞がポリペプチドを結合するHLA分子を発現する、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項21】 剤が、各々が異なるヒト癌関連抗原をコードする少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つまたは少なくとも5つの異なるポリペプチド、あるいはそれらの機能的変異体であって、ヒト癌関連抗原の少なくとも1つがNA群1分子によりコードされる、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項22】 剤がPP群2ポリペプチドである、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項23】 剤がPP群3ポリペプチドまたはPP群4ポリペプチドである、請求項13に記載の医薬製剤。

【請求項24】 細胞がポリペプチドおよびHLA分子の、一方または両方を組換え的に発現する、請求項20に記載の医薬製剤。

【請求項25】 細胞が非増殖性である、請求項20に記載の医薬製剤。

【請求項26】 PP群1ポリペプチドを選択的に結合する単離された剤、を含む物質の組成物。

【請求項27】 剤がPP群2ポリペプチドを選択的に結合する、請求項26に記載の物質の組成物。

【請求項28】 剤がPP群3ポリペプチドを選択的に結合する、請求項26に記載の物質の組成物。

【請求項29】 剤がPP群4ポリペプチドを選択的に結合する、請求項26に記載の物質の組成物。

【請求項30】 剤がPP群5ポリペプチドを選択的に結合する、請求項26に記載の物質の組成物。

【請求項31】 剤が、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つまたは少なくとも5つの異なるこのようなポリペプチドを選択的に結合する異なる複数の剤である、請求項26～30のいずれかに記載の物質の組成物。

【請求項32】 剤が抗体である、請求項26～30のいずれかに記載の物質の組成物。

【請求項33】 剤が抗体である、請求項31に記載の物質の組成物。

【請求項34】 請求項26～30のいずれかに記載の剤および治療薬または診断薬の複合体、を含む物質の組成物。

【請求項35】 請求項31に記載の剤および治療薬または診断薬の複合体、を含む物質の組成物。

【請求項36】 剤および治療薬または診断薬の複合体が毒素である、請求項34に記載の物質の組成物。

【請求項37】 NA群1分子およびNA群2分子からなる群から選択される単離核酸分子ならびに薬学的に許容し得る担体を含む医薬組成物。

【請求項38】 単離核酸分子がNA群3またはNA群4分子を含む、請求項37に記載の医薬組成物。

【請求項39】 単離核酸分子が、2つの異なるポリペプチドをコードする少なくとも2つの単離核酸分子を含み、各ポリペプチドが異なるヒト癌関連抗原を含む、請求項37に記載の医薬組成物。

【請求項40】 単離核酸分子と作動可能に連結されたプロモーターを有する発現ベクターをさらに含む、請求項37～39のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項41】 単離核酸分子を組換え的に発現する宿主細胞をさらに含む、請求項37～39のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項42】 PP群1またはPP群2ポリペプチドを含む単離ポリペプチド、ならびに薬学的に許容し得る担体、を含む医薬組成物。

【請求項43】 単離ポリペプチドがPP群3またはPP群4ポリペプチドを含む、請求項42に記載の医薬組成物。

【請求項44】 単離ポリペプチドが、各々が異なるヒト癌関連抗原を含む少なくとも2つの異なるポリペプチドを含む、請求項42に記載の医薬組成物。

【請求項45】 アジュバントをさらに含む、請求項42～44のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項46】 NA群3分子を含む単離核酸分子。

【請求項47】 NA群4分子を含む単離核酸分子。

【請求項48】 以下の：

(a) ヒトゲノム内に配列ユニークを呈示するのに十分な長さの、ヒト癌関連抗原前駆体をコードする核酸を同定する、配列番号4～10として既述されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を有する核酸分子の断片、

(b) (a)の相補体からなる群から選択される単離核酸分子であるが、但し、断片が、以下の：

- (1) 表6のGenBank寄託番号を有する配列、
 - (2) (1)の相補体、ならびに
 - (3) (1)および(2)の断片
- からなる配列群から選択されるいずれの配列とも同一でない連続ヌクレオチドの配列を含む、単離核酸分子。

【請求項49】 連続ヌクレオチドの配列が、

- (1) 配列群と同一でない少なくとも2つの連続ヌクレオチド、
 - (2) 配列群と同一でない少なくとも3つの連続ヌクレオチド、
 - (3) 配列群と同一でない少なくとも4つの連続ヌクレオチド、
 - (4) 配列群と同一でない少なくとも5つの連続ヌクレオチド、
 - (5) 配列群と同一でない少なくとも6つの連続ヌクレオチド、
 - (6) 配列群と同一でない少なくとも7つの連続ヌクレオチド
- からなる群から選択される、請求項48に記載の単離核酸分子。

【請求項50】 断片が、少なくとも8のヌクレオチド、10のヌクレオチド、12のヌクレオチド、14のヌクレオチド、16のヌクレオチド、18のヌクレオチド、20のヌクレオチド、22のヌクレオチド、24のヌクレオチド、26のヌクレオチド、28のヌクレオチド、30のヌクレオチド、50のヌクレオチド、75のヌクレオチド、100のヌクレオチド、および200のヌクレオチドからなる群から選択されるサイズを有する、請求項48に記載の単離核酸分子。

【請求項51】 ヒトHLA受容体またはヒト抗体を結合するポリペプチドまたはその断片をコードする、請求項48に記載の単離核酸分子。

【請求項52】 プロモーターと作動可能に連結される請求項46～51の

いずれかに記載の単離核酸分子を含む発現ベクター。

【請求項53】 プロモーターと作動可能に連結される核酸を含む発現ベクターであって、核酸がNA群2分子である、前記発現ベクター。

【請求項54】 NA群1または群2分子ならびにHLA分子をコードする核酸を含む発現ベクター。

【請求項55】 請求項52に記載の発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞。

【請求項56】 請求項53または54に記載の発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞。

【請求項57】 請求項52に記載され、かつHLAをコードする核酸をさらに含む発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞。

【請求項58】 請求項53に記載され、かつHLAをコードする核酸をさらに含む発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞。

【請求項59】 請求項46または47に記載の単離核酸分子によりコードされる単離ポリペプチド。

【請求項60】 免疫原性である請求項59に記載のポリペプチドの断片。

【請求項61】 断片または断片の一部がHLAまたはヒト抗体を結合する、請求項60に記載の断片。

【請求項62】 HLAまたはヒト抗体を結合するヒト癌関連抗原前駆体の単離断片またはその一部であって、前駆体が、NA群1分子である核酸分子によりコードされる、前記断片。

【請求項63】 断片がHLAとの複合体の一部である、請求項62に記載の断片。

【請求項64】 断片が8～12アミノ酸長である、請求項63に記載の断片。

【請求項65】 ヒトゲノム内に配列ユニークを呈示するのに十分な長さの、ヒト癌関連抗原前駆体であるポリペプチドを同定する、請求項59に記載のポリペプチドの断片を含む単離ポリペプチド。

【請求項66】 ヒト癌関連抗原前駆体の発現の存在を検出するためのキッ

トにおいて、

一对の単離核酸分子であって、その各々が (a) N A 群 1 分子のいずれかのヌクレオチド配列の 1 2 ~ 3 2 ヌクレオチド連続セグメントおよび (b) (“ a ”) の相補体からなる群から選択される分子から本質的になり、該連続セグメントは重複していない、前記一对の単離核酸分子を含む、前記キット。

【請求項 6 7】 単離核酸分子の対が構築され、配置されて、N A 群 3 分子である単離核酸分子を選択的に増幅する、請求項 6 6 に記載のキット。

【請求項 6 8】 ヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる障害を有する対象の治療方法であって、

障害を改善するのに有効な H L A 分子とヒト癌関連抗原の複合体の存在を対象中で選択的に豊富化する量の剤を対象に投与することを含む方法であり、ヒト癌関連抗原が、以下の：

(a) N A 群 1 核酸分子を含む核酸分子、

(b) N A 群 3 核酸分子を含む核酸分子、

(c) N A 群 5 核酸分子を含む核酸分子、

からなる群から選択される核酸分子によりコードされるヒト癌関連抗原前駆体の断片である、前記方法。

【請求項 6 9】 障害が複数のヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられ、剤が、その各々が H L A 分子および異なるヒト癌関連抗原の複合体の存在を対象中で選択的に豊富化する複数の剤であり、ヒト癌関連抗原の少なくとも 1 つが N A 群 1 分子によりコードされる、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 0】 複数が少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つまたは少なくとも 5 つのこのような剤である、請求項 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】 剤が P P 群 1、P P 群 2、P P 群 3、P P 群 4 および P P 群 5 からなる群から選択される単離ポリペプチドである、請求項 6 8 ~ 7 0 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 2】 障害が癌である、請求項 6 8 ~ 7 0 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 3】 障害が癌である、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項74】 対象の細胞中のヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法であって、

(i) 対象から免疫反応性細胞含有試料を取り出すこと、

(ii) 前駆体の断片であるヒト癌関連抗原に対する細胞溶解性T細胞の産生に好都合な条件下で宿主細胞に免疫反応性細胞含有試料を接触させること、

(iii) ヒト癌関連抗原を発現する細胞を溶解するのに有効な量で対象に細胞溶解性T細胞を導入すること、

を含む方法であって、宿主細胞がプロモーターと作動可能に連結される単離核酸分子を含む発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされ、単離核酸分子がNA群1、NA群2、NA群3、NA群4およびNA群5からなる核酸分子の群から選択される、前記方法。

【請求項75】 宿主細胞が、ヒト癌関連抗原を結合するHLA分子を組換え的に発現する、請求項74に記載の方法。

【請求項76】 宿主細胞が、ヒト癌関連抗原を結合するHLA分子を内因的に発現する、請求項74に記載の方法。

【請求項77】 対象の細胞中のヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法であって、

(i) 症状に関連した細胞により発現される核酸分子を同定することであって、核酸分子はNA群1分子であること、

(ii) (a) 同定された核酸分子、(b) ヒト癌関連抗原をコードするセグメントを含有する同定された核酸の断片、(c) (a) または (b) に対する欠失、置換または付加、ならびに (d) (a)、(b) または (c) の縮重からなる群から選択される核酸で宿主細胞をトランスフェクトすること、

(iii) トランスフェクトした宿主細胞を培養して、トランスフェクトした核酸分子を発現させること、

(iv) 症状に関連した対象の細胞に対する免疫応答を増大するのに有効な量の宿主細胞またはその抽出物を対象に導入すること、を含む、前記方法。

【請求項78】 核酸分子の発現産物の一部分を呈示するMHC分子を同定

することをさらに含み、宿主細胞が同定されたものと同一のMHC分子を発現し、宿主細胞が核酸分子の発現産物のMHC結合部分を呈示する、請求項77に記載の方法。

【請求項79】 免疫応答がB細胞応答またはT細胞応答を含む、請求項77に記載の方法。

【請求項80】 応答が、核酸分子の発現産物の一部を呈示する宿主細胞またはヒト癌関連抗原を発現する対象の細胞に特異的な細胞溶解性T細胞の生成を含むT細胞応答である、請求項79に記載の方法。

【請求項81】 核酸分子がNA群3分子である、請求項77に記載の方法。

【請求項82】 宿主細胞を処理してそれらを非増殖性にさせることをさらに含む、請求項77または78に記載の方法。

【請求項83】 NA群1分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の発現により特徴づけられる症状を有する対象を治療し、または診断し、またはモニタリングするための方法であって、

タンパク質またはそれに由来するペプチドと特異的に結合する抗体であって、治療的に有用な剤に結合された抗体を、症状を治療するのに有効な量で対象に投与すること、
を含む、前記方法。

【請求項84】 抗体がモノクローナル抗体である、請求項83に記載の方法。

【請求項85】 モノクローナル抗体がキメラ抗体またはヒト化抗体である、請求項84に記載の方法。

【請求項86】 NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の対象中での発現により特徴づけられる症状の治療方法であって、

対象における症状を防止し、その発症を遅延し、または抑制するのに有効な量で、請求項13～25および37～45のいずれかに記載の医薬組成物を対象に投与すること

を含む、前記方法。

【請求項87】 症状が癌である、請求項86に記載の方法。

【請求項88】 組織内で異常量のタンパク質を対象が発現することを最初に同定することをさらに含む、請求項86に記載の方法。

【請求項89】 対象が組織内で異常量のタンパク質を発現することを最初に同定することをさらに含む、請求項87に記載の方法。

【請求項90】 NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法であって、

(i) 異常量のタンパク質を発現する対象からの細胞を同定すること、

(ii) 細胞の試料を単離すること、

(iii) 細胞を培養すること、

(iv) 細胞に対する免疫応答を惹起するのに有効な量で対象に細胞を導入すること、

を含む、前記方法。

【請求項91】 対象にそれらを導入する前に細胞を非増殖性にするのをさらに含む、請求項90に記載の方法。

【請求項92】 NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされるタンパク質の異常発現により特徴づけられる病理学的細胞症状の治療方法であって、

それを必要とする対象に、タンパク質の発現または活性を抑制する有効量の剤を投与すること、

を含む、前記方法。

【請求項93】 剤が、タンパク質と選択的に結合する抑制抗体であり、抗体がモノクローナル抗体、キメラ抗体またはヒト化抗体である、請求項92に記載の方法。

【請求項94】 剤が、タンパク質をコードする核酸分子と選択的に結合するアンチセンス核酸分子である、請求項92に記載の方法。

【請求項95】 核酸分子がNA群3核酸分子である、請求項92に記載の方法。

【請求項96】 NA群1分子である核酸分子によりコードされる複数のタンパク質に対する免疫応答を刺激するのに有用な物質の組成物であって、タンパク質のアミノ酸配列に由来する複数のペプチドを含み、ペプチドが、異常量のタンパク質を発現する細胞の表面に呈示される1またはそれ以上のMHC分子と結合する、前記物質の組成物。

【請求項97】 複数のペプチドの少なくとも一部分がMHC分子と結合し、それに対する細胞溶解性応答を引き出す、請求項96に記載の物質の組成物。

【請求項98】 アジュバントをさらに含む、請求項97に記載の物質の組成物。

【請求項99】 アジュバントがサポニン、GM-CSFまたはインターロイキンである、請求項98に記載の物質の組成物。

【請求項100】 NA群1分子である核酸分子によりコードされない少なくとも1つのタンパク質に対する免疫応答を刺激するのに有用な少なくとも1つのペプチドをさらに含み、少なくとも1つのペプチドが1またはそれ以上のMHC分子と結合する、請求項96に記載の物質の組成物。

【請求項101】 以下の：

(i) NA群1分子である核酸分子によりコードされるタンパク質に由来するペプチド、および

(ii) ペプチドと結合して複合体を形成するMHC分子の複合体と選択的に結合する単離抗体であって、(i)または(ii)単独とは結合しない、前記単離抗体。

【請求項102】 抗体が、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体またはそれらの断片である、請求項101に記載の抗体。

【請求項103】 核酸またはそれによりコードされるポリペプチドの製造方法であって、

請求項55または請求項56に記載の宿主細胞を培養すること、および宿主細胞または培養培地から核酸またはポリペプチドを単離することを包む、前記方法。

【請求項104】 核酸またはそれによりコードされるポリペプチドの製造

方法であって、

核酸の転写および/または翻訳のための非細胞系を提供すること、

請求項46～48のいずれかに記載の核酸または請求項52に記載の発現ベクターを非細胞系に導入すること、

請求項46～48のいずれかに記載の核酸または請求項52に記載の発現ベクターの転写または翻訳に十分な条件下で非細胞系をインキュベートすること、および

転写核酸または翻訳ポリペプチドを非細胞系から単離することを含む、前記方法を。

【発明の詳細な説明】**【0001】****[発明の分野]**

本発明は、癌関連抗原である核酸およびコードされたポリペプチドに関する。本発明は、核酸またはポリペプチドを結合する剤にも関する。核酸分子、このような分子によりコードされるポリペプチドおよびそれらから得られるペプチド、ならびに関連抗体および細胞溶解性Tリンパ球は、とりわけ診断および治療状況において有用である。

【0002】**[発明の背景]**

T細胞が外来物質を認識するメカニズムは、癌に関係があるとされてきた。自系黒色腫抗原、精巣抗原およびメラノサイト分化抗原に対して向けられる多数の細胞溶解性Tリンパ球（CTL）クローンが記載されている。多くの場合、これらのクローンにより認識される抗原は、特徴づけられている。

【0003】

腫瘍抗原を同定するための自系CTLの使用は、抗原を発現する標的細胞が*in vitro*で培養することができることを、そして抗原発現細胞を認識する自系CTLクローンの安定株が単離され、増殖することができることを必要とする。このアプローチは黒色腫抗原に関して十分に作用してきたが、一方、他の種類の腫瘍、例えば乳癌および結腸癌を含めた上皮癌は、本アプローチに不応性であることが立証されている。

【0004】

さらに近年、SEREXと呼ばれる血清学のクローニングアプローチ（組換えcDNA発現クローニングによる腫瘍抗原の血清学的分析）が、Sahin等（*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 11810-11813, 1995）により記載された。同様にして、本明細書中に参照として援用する米国特許第5,698,396号も参照されたい。このアプローチによれば、腫瘍細胞cDNAから構築される発現ライブラリーをスクリーニングすることにより、自系抗血清を用いて癌細胞中で発現される免疫原性タンパク質抗原を同定する。そのように同定された抗原コードクロー

ーンは、抗血清が得られる患者における高力価体液性免疫応答を引き出すことが見出された。このような高力価 I g G 応答は、検出された抗原のヘルパー T 細胞認識を意味する。次に、これらの腫瘍抗原は、M H C / H L A クラス I およびクラス II モチーフの存在ならびに C T L との反応性に関してスクリーニングすることができる。

【0005】

S E R E X を多様な腫瘍型に適用して、多数の新規の癌関連免疫原性遺伝子産物がクローン化されており (Tureci et al., Mol. Med. Today, 3:342-349, 1997; Sahin et al., Curr. Opin. Immunol., 9:709-716, 1997; Old et al., J. Exp. Med., 187:1163-1167, 1998で検討されている)、それらのうちの1つが、例えばM A G E およびチロシナーゼのような、C T L の標的として最初は同定されていた腫瘍特異的抗原である。それらの発現プロフィール、遺伝子/転写体構造および免疫原性によれば、異なる群の腫瘍抗原が識別され得る。これらの例としては、分化抗原、過剰発現免疫原性タンパク質、突然変異遺伝子産物および腫瘍特異的スプライス変異体が挙げられる (Sahin, et al., 1997)。

【0006】

最も興味深いものの1つは、癌/精巣抗原 (C T 抗原またはC T A) の群であり、これはその興味深い発現パターンにより特徴づけられる。C T 抗原は、可変的割合 (1 0 % ~ 7 0 % の範囲) の広範囲の異なるヒト腫瘍型により発現される (Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:1914-1918, 1997)。癌/精巣抗原は、それら各々のコード遺伝子 - いわゆる癌/精巣遺伝子 (C T G) (Tureci et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:5211-5216, 1998) が悪性細胞中で転写されるだけであるため、精巣以外の正常組織中に見出されない。C T A、M A G E、B A G E およびG A G E の原型は、C T L に対する標的として最初に同定された。

【0007】

いくつかの新しいメンバーは、S E R E X によりこの範疇に付加された (Tureci et al., Cancer Res. 56:4766-4772, 1996; Chen et al., 1997; Tureci et al., 1998; Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:6919-6923, 1998)

。それらの発現パターンのストリンジेंटな制限は、C T Aを癌予防接種の理想的候補にする。

【0008】

個々のC T Aは所定の実体の可变的割合の腫瘍中でのみ発現されるため、付加的C T Aの利用可能性は、療法的介入のために適格であると思われる患者の割合を有意に拡大することになる。S E R E Xの導入以来、利用可能な腫瘍抗原のプールが増殖したという事実にもかかわらず、抗原陰性腫瘍の割合は、特に頻発する新生物、例えば結腸および前立腺癌において依然として高い(Sahin et al., Int. J. Cancer, 78:387-389, 1998)。したがって、種々の癌を有するより多数の癌患者に適用可能な治療薬および診断薬の開発のためのさらなる癌抗原が、目下必要とされている。

【0009】

[発明の概要]

自系抗体スクリーニングは、精上皮腫患者からの抗血清を用いて精巢豊富化cDNAライブラリに目下適用されている。C T Aの検出を強化するために、独自のS E R E X技術は変形された。このために、精巢特異的転写体に関して精巢発現ライブラリを差引技法(subtractive techniques)により豊富化し、癌患者からの同種異系血清を用いて免疫スクリーニングした。新規の癌関連抗原がいくつか同定されている。本発明は、とりわけ、単離核酸分子、それらの分子を含有する発現ベクターおよびそれらの分子によりトランスフェクトされる宿主細胞を提供する。本発明は、単離タンパク質およびペプチド、それらのタンパク質およびペプチドに対する抗体ならびにタンパク質およびペプチドを認識するC T Lも提供する。上記のものの機能的断片および変異体を含めた断片も提供される。付加的に上記の分子を含有するキットも提供される。上記のものは、1つまたはそれ以上の癌関連抗原の発現により特徴づけられる症状の診断、モニタリング、研究または治療に用いることができる。

【0010】

本発明の前、過去20年で同定されたのは少数の癌関連遺伝子に過ぎない。本発明は、数個の遺伝子の意外な発見を包含し、そのうちの1つは従来既知であり

、残りは従来未知であって、これらは癌を有する個体中で発現される。これらの個体はすべて、これらの遺伝子によりコードされるタンパク質（またはそれらの断片）に対する血清抗体を有する。したがって、異常発現遺伝子は、宿主の免疫系により認識され、したがって診断、モニタリングおよび治療のための基礎を形成し得る。

【0011】

本発明は、単一物質、複数の異なる物質、そして物質の大型パネルおよび組合せの使用さえも含む。例えば単一遺伝子、遺伝子によりコードされる単一タンパク質、その単一機能的断片、それに対する単一抗体等は、本発明の方法および製品に用いることができる。同様に、これらの物質の対、群、そしてパネルでさえ、ならびに任意にその他の癌関連抗原遺伝子および/または遺伝子産物は、診断、モニタリングおよび治療のために用いることができる。対、群またはパネルは、2、3、4、5またはそれ以上の遺伝子、遺伝子産物、その断片またはこのような物質を認識する剤を包含し得る。複数のこのような物質は、このような遺伝子を異常に発現する細胞をモニタリングし、類型分類し、特徴づけし、そして診断するのに有用なだけでなく、複数のこのような物質は治療的にも用いることができる。この一例としては、このような遺伝子を発現しているかまたは発現するであろう細胞内の癌の予防、発症の遅延、改善等のための複数のこのような物質の予防的または急性の使用である。遺伝子、遺伝子産物、ならびに遺伝子および遺伝子産物を認識する物質の任意のおよびすべての組合せが試験され、本発明による使用に関して同定することができる。このような組合せをすべて列挙するのはあまりに冗長過ぎる。当業者は、特に本明細書中に含入された教示に鑑みて、どの組合せがどの状況に最も適しているかを容易に決定し得るであろう。

【0012】

以下の考察から明らかになるように、本発明は、治療的、診断的、モニタリングおよび研究目的のためを含めて、*in vivo*および*in vitro*用途を有する。本発明の一態様は、例えばこのような遺伝子産物の発現を定量することによる本発明にしたがって同定される多数の遺伝子を発現する細胞をフィンガープリントする能力である。このようなフィンガープリントは、例えば癌の段階、癌の種類の特

性を、または癌に及ぼす治療の動物モデルにおける影響の特性さえ示す。このような細胞が本発明により同定された遺伝子を異常に発現するか否かを決定するために、細胞はさらにスクリーニングすることができる。

【0013】

本発明は、一態様において、核酸分子によりコードされる癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる障害の診断方法である。本方法は、対象から単離された生物学的試料を、核酸分子、その発現産物またはMHC分子、好ましくはHLA分子と複合されたその発現産物の断片と特異的に結合する剤に接触させる過程（この場合、核酸分子はNA群1核酸分子である）、そして、障害を決定づけるものとして、剤と核酸分子または発現産物との間の相互作用を決定する過程を含む。

【0014】

一実施形態では、剤は、(a) NA群1核酸分子またはその断片を含む核酸分子、(b) NA群3核酸分子またはその断片を含む核酸分子、(c) NA群5核酸分子またはその断片を含む核酸分子、(d) NA群1核酸の発現産物またはその断片と結合する抗体、(e) NA群3核酸の発現産物またはその断片と結合する抗体、(f) NA群5核酸の発現産物またはその断片と結合する抗体、(g) MHC分子、好ましくはHLA分子およびNA群1核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤、(h) MHC分子、好ましくはHLA分子およびNA群3核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤、ならびに(i) MHC分子、好ましくはHLA分子およびNA群5核酸の発現産物の断片の複合体と結合する剤からなる群から選択される。

【0015】

疾患は複数の癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけすることができる。したがって、診断方法は、その各々が異なるヒト癌関連抗原前駆体（本明細書中に開示した癌関連抗原前駆体のうちの少なくとも1つを含む）に特異的である複数の剤の使用を含み得るし、この場合、上記の複数の剤は、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9または少なくとも10のこのような剤である。

【0016】

上記の実施形態の各々において、剤は、本明細書中に開示した精上皮腫癌関連抗原前駆体を含むヒト癌関連抗原前駆体に特異的であり得る。

【0017】

別の態様では、本発明は、NA群1分子である核酸分子によりコードされるタンパク質の異常レベルの発現により特徴づけられる症状の回帰、進行または発症の決定方法である。本方法は、症状を有するかまたは有することが疑われる患者からの試料を、(i)タンパク質、(ii)タンパク質由来のペプチド、(iii)タンパク質またはペプチドを選択的に結合する抗体、ならびに(iv)タンパク質由来のペプチドおよびMHC分子の複合体に特異的な細胞溶解性T細胞からなる群から選択されるパラメーターに関して、上記の症状の回帰、進行または発症の決定としてモニタリングする過程を含む。一実施形態では、試料は体液、身体滲出液または組織である。

【0018】

別の実施形態では、モニタリングの過程は、(a)(i)のタンパク質または(ii)のペプチドを選択的に結合する抗体、(b)(iii)の抗体と結合するタンパク質またはペプチド、ならびに(c)(iv)のペプチドおよびMHC分子の複合体を呈示する細胞からなる群から選択される検出可能な剤と試料を接触させることを含む。好ましい実施形態では、抗体、タンパク質、ペプチドまたは細胞は、放射性標識または酵素などの検出可能な分子で標識される。好ましい実施形態における試料は、ペプチドに関して検定される。

【0019】

別の実施形態によれば、核酸分子は以下の：NA群3分子またはNA群5分子のうちの1つである。さらに別の実施形態では、タンパク質は、複数のタンパク質であり、パラメーターは複数のパラメーターであり、複数のパラメーターの各々は、複数のタンパク質の異なる1つに特異的である。

【0020】

本発明は、別の態様では、ヒト対象のための医薬製剤である。医薬製剤は、対象に投与された場合に、HLA分子およびヒト癌関連抗原の複合体の存在を選択

的に豊富化する剤ならびに薬学的に許容し得る担体を含むが、この場合、ヒト癌関連抗原は、N A群1分子を含む核酸分子によりコードされるヒト癌関連抗原前駆体の断片である。一実施形態では、核酸分子はN A群3核酸分子である。

【0021】

剤は、一実施形態では、その各々がH L A分子および異なるヒト癌関連抗原の複合体を対象中で選択的に豊富化する複数の剤を含む。好ましくは、複数は、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4または少なくとも5の異なるこのような剤である。

【0022】

別の実施形態では、剤は、(1)ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体、(2)単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現するためのプロモーターに作動可能に(operably)連結される単離核酸、(3)単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する宿主細胞、ならびに(4)ポリペプチドまたはその機能的変異体とH L A分子の単離複合体からなる群から選択される。

【0023】

剤は、単離ポリペプチドを発現する細胞であり得る。一実施形態では、剤は、ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する細胞である。別の実施形態では、剤は、ヒト癌関連抗原を含む単離ポリペプチドまたはその機能的変異体を発現する細胞であり、この場合、細胞はポリペプチドを結合するH L A分子を発現する。細胞は、ポリペプチドおよびH L A分子の一方または両方を組換え的に発現し得る。好ましい実施形態では、細胞は非増殖性である。さらに別の実施形態では、剤は、各々が異なるヒト癌関連抗原を示す少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つまたは少なくとも5つの異なるポリペプチド、あるいはそれらの機能的変異体である。

【0024】

剤は、一実施形態では、P P群2ポリペプチドである。他の実施形態では、剤はP P群3ポリペプチドまたはP P群4ポリペプチドである。

【0025】

一実施形態では、本明細書中に記載された医薬製剤の各々は、アジュバントも含む。

【0026】

本発明の別の態様によれば、PP群1ポリペプチドを選択的に結合する単離剤を含む組成物が提供される。別の実施形態では、剤は、以下の：PP群2ポリペプチド、PP群3ポリペプチド、PP群4ポリペプチドおよびPP群5ポリペプチドから選択されるポリペプチドと選択的に結合する。その他の実施形態では、剤は、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つまたは少なくとも5つの異なるこのようなポリペプチドを選択的に結合する異なる複数の剤である。上記の実施形態の各々において、剤は抗体であり得る。

【0027】

別の態様では、本発明は、本発明の上記の組成物の剤と治療薬または診断薬の複合体からなる物質の組成物である。好ましくは、複合体は剤と抗新生物薬である治療薬または診断薬とからなる。

【0028】

本発明は、別の態様においては、(1)NA群1分子および(2)NA群2分子からなる群から選択される単離核酸分子、ならびに薬学的に許容し得る担体を含む医薬組成物である。一実施形態では、単離核酸分子は、NA群3分子またはNA群4分子を含む。別の実施形態では、単離核酸分子は、2つの異なるポリペプチドをコードする少なくとも2つの単離核酸分子を包含し、各ポリペプチドは異なる癌関連抗原を含む。

【0029】

好ましくは、医薬組成物は、また、単離核酸分子と作動可能に連結されたプロモーターを有する発現ベクターを含む。別の実施形態では、医薬組成物は、また、単離核酸分子を組換え的に発現する宿主細胞を含む。

【0030】

本発明の別の態様によれば、医薬組成物が提供される。医薬組成物は、PP群1またはPP群2ポリペプチドを含む単離ポリペプチドならびに薬学的に許容し得る担体を含む。一実施形態では、単離ポリペプチドはPP群3またはPP群4

ポリペプチドを含有する。

【0031】

別の実施形態では、単離ポリペプチドは、各々が異なる癌関連抗原を含み、その少なくとも1つが本明細書中に開示したようなNA群1分子によりコードされる少なくとも2つの異なるポリペプチドを含む。別の実施形態では、単離ポリペプチドは、以下の：PP群3ポリペプチドまたはそのHLA結合断片、およびPP群5ポリペプチドまたはそのHLA結合断片から選択される。

【0032】

一実施形態では、本明細書中に記載した医薬組成物は各々、アジュバントも含む。

【0033】

別の態様では、本発明は、NA群3分子を含む単離核酸分子である。別の態様では、本発明は、NA群4分子を含む単離核酸分子である。

【0034】

本発明は、別の態様においては、(a)ヒトゲノム内に非反復配列を呈示するのに十分な長さの、ヒト癌関連抗原前駆体をコードする核酸を同定する、以下に列挙する配列番号からなり配列番号5～10の間の核酸配列全てを含む配列核酸分子の群から選択される核酸の断片、(b)(a)の相補体からなる群から選択される単離核酸分子であるが、但し、断片は、(1)表6のGenBank寄託番号を有する配列、(2)(1)の相補体、ならびに(3)(1)および(2)の断片からなる配列群から選択されるいずれの配列とも同一でない連続ヌクレオチドの配列を含む。

【0035】

一実施形態では、連続ヌクレオチドの配列は、(1)表6中の配列と同一でない少なくとも2つの連続ヌクレオチド、(2)表6中の配列と同一でない少なくとも3つの連続ヌクレオチド、(3)表6中の配列と同一でない少なくとも4つの連続ヌクレオチド、(4)表6中の配列と同一でない少なくとも5つの連続ヌクレオチド、(5)表6中の配列と同一でない少なくとも6つの連続ヌクレオチド、または(6)表6中の配列と同一でない少なくとも7つの連続ヌクレオチド

からなる群から選択される。

【0036】

別の実施形態では、断片は、少なくとも8つのヌクレオチド、10のヌクレオチド、12のヌクレオチド、14のヌクレオチド、16のヌクレオチド、18のヌクレオチド、20のヌクレオチド、22のヌクレオチド、24のヌクレオチド、26のヌクレオチド、28のヌクレオチド、30のヌクレオチド、50のヌクレオチド、75のヌクレオチド、100のヌクレオチド、200のヌクレオチド、1000のヌクレオチドおよびそれらの間のあらゆる整数長のヌクレオチドからなる群から選択されるサイズを有する。

【0037】

さらに別の実施形態では、分子は、ヒトHLA受容体またはヒト抗体を結合するポリペプチドまたはその断片をコードする。

【0038】

本発明の別の態様は、プロモーターと作動可能に連結される上記の本発明の単離核酸分子を含む発現ベクターである。

【0039】

一態様によれば、本発明は、プロモーターと作動可能に連結される核酸を含む発現ベクターであって核酸がNA群1、群2または群3分子である。別の態様では、本発明は、NA群1または群2分子ならびにMHC分子、好ましくはHLA分子をコードする核酸を含む発現ベクターである。

【0040】

さらに別の態様では、本発明は、上記の本発明の発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞である。

【0041】

別の態様において、本発明は、プロモーターに作動可能に連結される上記の本発明の単離核酸分子を含む発現ベクター、あるいはプロモーターに作動可能に連結される核酸を含む発現ベクターであって、核酸がNA群1分子または2分子であり、HLAをコードする核酸をさらに含む発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされる宿主細胞である。

【0042】

別の態様では、本明細書中に記載した核酸およびそれによりコードされるポリペプチドの製造方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、宿主細胞を培養すること、および宿主細胞または培地から核酸またはポリペプチドを単離することを包含する。他の実施形態では、本方法は、核酸の転写および/または翻訳のための非細胞系、例えばウサギ網状赤血球または小麦胚芽抽出物の無細胞転写/翻訳溶解産物を提供することを包含する。本方法は、核酸または発現ベクターを非細胞系に導入すること、核酸の転写または翻訳のために十分な条件下で系をインキュベートすること、および転写核酸または翻訳ポリペプチドを非細胞系から単離することも包含する。

【0043】

本発明の別の態様によれば、上記の本発明の単離核酸分子によりコードされる単離ポリペプチドが提供される。これらは、PP群1~5ポリペプチドを含む。本発明は、免疫原性であるポリペプチドの断片も含む。一実施形態では、断片または断片の一部は、HLAまたはヒト抗体を結合する。

【0044】

本発明は、別の態様において、HLAまたはヒト抗体を結合するヒト癌関連抗原前駆体の単離断片またはその一部を含み、この場合、前駆体がNA群1分子である核酸分子によりコードされる。一実施形態では、断片は、HLAとの複合体の一部である。別の実施形態では、断片は、8~12アミノ酸長である。別の実施形態では、本発明は、ヒトゲノム内に非反復配列を呈示するのに十分な長さの、ヒト癌関連抗原前駆体であるポリペプチドを同定するポリペプチドの断片を含む単離ポリペプチドを含む。

【0045】

本発明の別の態様によれば、癌関連抗原前駆体の発現の存在を検出するためのキットが提供される。キットは、その各々が(a)NA群1分子のいずれかのヌクレオチド配列の12~32ヌクレオチド連続セグメント、および(b)(「a」)の相補体からなる群から選択される分子から本質的に構成される一対の単離核酸分子を含み、この場合、連続セグメントは非重複性である。一実施形態では

、単離核酸分子の対が構築され、整列されて、N A 群 3 分子である単離核酸分子を選択的に増幅する。好ましくは、対は、ヒト N A 群 3 分子を増幅する。

【0046】

本発明の別の態様によれば、ヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる障害を有する対象の治療方法が提供される。本方法は、障害を改善するのに有効な H L A 分子とヒト癌関連抗原の複合体の存在を対象中で選択的に豊富化する量の剤を対象に投与する過程を含み、この場合、ヒト癌関連抗原が、(a) N A 群 1 核酸分子を含む核酸分子、(b) N A 群 3 核酸分子を含む核酸分子、(c) N A 群 5 核酸分子を含む核酸分子からなる群から選択される核酸分子によりコードされるヒト癌関連抗原前駆体の断片である。

【0047】

一実施形態では、障害は、複数のヒト癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられ、剤はその各々が H L A 分子および異なるヒト癌関連抗原の複合体の存在を対象中で選択的に豊富化する複数の剤である、好ましくは、複数の、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つまたは少なくとも 5 つのこのような剤である。

【0048】

別の実施形態では、剤は、P P 群 1、P P 群 2、P P 群 3、P P 群 4 および P P 群 5 ポリペプチドからなる群から選択される単離ポリペプチドである。

【0049】

さらに別の実施形態では、障害は癌である。

【0050】

別の態様によれば、本発明は、対象の細胞中の癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法である。本方法は、(i) 対象から含有する免疫反応性細胞含有試料を取り出す過程、(i i) 前駆体の断片であるヒト癌関連抗原に対する細胞溶解性 T 細胞の産生に好都合な条件下で宿主細胞に免疫反応性細胞含有試料を接触させる過程、および (i i i) ヒト癌関連抗原を発現する細胞を溶解するのに有効な量で対象に細胞溶解性 T 細胞を導入する過程を含むが、この場合、宿主細胞は、プロモーターと作動可能に連結される単離核

酸分子を含む発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされ、単離核酸分子は、NA群1、NA群2、NA群3、NA群4、NA群5からなる核酸分子の群から選択される。

【0051】

一実施形態では、宿主細胞は、ヒト癌関連抗原を結合するHLA分子を組換え的に発現する。別の実施形態では、宿主細胞は、ヒト癌関連抗原を結合するHLA分子を内因的に発現する。

【0052】

本発明は、別の態様において、対象の細胞中の癌関連抗原前駆体の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法を含む。本方法は、(i)上記の症状に関連した細胞により発現される核酸分子を同定する過程であって、上記の核酸分子はNA群1分子である過程と、(ii)(a)同定された核酸分子、(b)癌関連抗原をコードするセグメントを含有する同定された核酸の断片、(c)(a)または(b)に対する欠失、置換または付加、ならびに(d)(a)、(b)または(c)の縮重からなる群から選択される核酸で宿主細胞をトランスフェクトする過程と、(iii)上記のトランスフェクトした宿主細胞を培養して、トランスフェクトした核酸分子を発現させる過程と、(iv)症状に関連した対象の細胞に対する免疫応答を増大するのに有効な量の上記の宿主細胞またはその抽出物を対象に導入する過程とを含む。好ましくは、抗原はヒト抗原であり、対象はヒトである。

【0053】

一実施形態では、本方法は、(a)核酸分子の発現産物の一部を呈示するMHC分子を同定する過程も含むが、この場合、宿主細胞は(a)で同定されたものと同じのMHC分子を発現し、そして宿主細胞は核酸分子の発現産物のMHC結合部分を呈示する。

【0054】

別の実施形態では、本方法は、宿主細胞を非増殖性にさせるようそれら进行处理する過程も含む。

【0055】

さらに別の実施形態では、免疫応答は、B細胞応答またはT細胞応答を含む。好ましくは、応答は、核酸分子の発現産物の一部を呈示する宿主細胞またはヒト癌関連抗原を発現する対象の細胞に特異的な細胞溶解性T細胞の生成を含むT細胞応答である。

【0056】

別の実施形態では、核酸分子はNA群3分子である。

【0057】

本発明の別の態様は、NA群1分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の発現により特徴づけられる症状を有する対象を治療し、または診断し、またはモニタリングするための方法である。本方法は、タンパク質またはそれに由来するペプチドと特異的に結合する抗体であって、治療的に有用な剤に結合される抗体を、症状を治療するのに有効な量で対象に投与する過程を含む。

【0058】

一実施形態では、抗体はモノクローナル抗体である。好ましくは、モノクローナル抗体はキメラ抗体またはヒト化抗体である。

【0059】

別の態様では、本発明は、NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の対象中での発現により特徴づけられる症状の治療方法である。本方法は、対象における症状を防止し、その開始を遅延し、または抑制するのに有効な量で、上記の本発明の医薬組成物のうちの少なくとも1つを対象に投与する過程を含む。一実施形態では、症状は癌である。別の実施形態では、本方法は、組織中に異常量のタンパク質を対象が発現することを最初に同定する過程を含む。

【0060】

本発明は、別の態様において、NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされる異常量のタンパク質の発現により特徴づけられる症状を有する対象の治療方法である。本方法は、(i)異常量のタンパク質を発現する対象からの細胞を同定する過程と、(ii)細胞の試料を単離する過程と、(iii)細胞を培養する過程と、(iv)細胞に対する免疫応答を惹起するのに有効な量で対象に細

胞を導入する過程とを含む。

【0061】

一実施形態では、本発明は、対象に細胞を導入する前に細胞を非増殖性にさせる過程を含む。

【0062】

別の態様では、本発明は、NA群1核酸分子である核酸分子によりコードされるタンパク質の異常発現により特徴づけられる病理学的細胞症状の治療方法である。本方法は、それを必要とする対象に、タンパク質の発現または活性を抑制する有効量の剤を投与する過程を含む。

【0063】

一実施形態では、剤はタンパク質と選択的に結合する抑制抗体であって、この場合、抗体はモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体またはそれらの断片である。別の実施形態では、剤は、タンパク質をコードする核酸分子と選択的に結合するアンチセンス核酸分子である。さらに別の重要な実施形態では、核酸分子はNA群3核酸分子である。

【0064】

本発明は、別の態様において、NA群1分子である核酸分子によりコードされる複数のタンパク質に対する免疫応答を刺激するのに有用な物質の組成物を含む。組成物は、タンパク質のアミノ酸配列に由来する複数のペプチドであって、この場合、ペプチドは、異常量のタンパク質を発現する細胞の表面に呈示される1つまたはそれ以上のMHC分子と結合する。

【0065】

一実施形態では、複数のペプチドの少なくとも一部分はMHC分子と結合し、それに対する細胞溶解性または抗体応答を引き出す。別の実施形態では、物質の組成物はアジュバントおよび/または同時刺激分子を含む。別の実施形態では、アジュバントは、サポニン、GM-CSFまたはインターロイキンである。さらに別の実施形態では、組成物は、NA群1分子である核酸分子によりコードされない少なくとも1つのタンパク質に対する免疫応答を刺激するのに有用な少なくとも1つのペプチドも含むが、この場合、少なくとも1つのペプチドは1つまた

はそれ以上のMHC分子と結合する。

【0066】

別の態様によれば、本発明は、(i)NA群1分子である核酸分子によりコードされるタンパク質に由来するペプチド、および(ii)ペプチドと結合して複合体を形成するMHC分子の複合体と選択的に結合する単離抗体であって、この場合、単離抗体は、(i)または(ii)単独とは結合しない。

【0067】

一実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体またはそれらの断片である。

【0068】

本発明は、薬剤の調製における遺伝子、遺伝子産物、それらの断片、それらと結合する剤等の使用も包含する。特定の薬剤は癌を治療するためのものであり、さらに特定の薬剤は、精上皮腫、黒色腫、奇形腫、神経膠腫、肺癌、卵巣癌、および/または結腸直腸癌を治療するためのものである。

【0069】

[発明の詳しい説明]

新規のCTA、HOM-TES-85(CTA-8)を含めた癌関連抗原(CTA)であるいくつかの新しい遺伝子がクローン化され、分子的に特徴づけられた。これらの癌関連抗原は、精巣豊富化cDNAライブラリーおよび精上皮腫患者の血清中の高力価化IgGを用いてSEREXにより同定された。配列分析およびデータベース探索は、HOM-TES-85が新規のロイシンジッパータンパク質であることを明示した。したがって、それは腫瘍細胞中のDNA結合および遺伝子転写に関与し得る。HOM-TES-85癌遺伝子機能および他の癌関連抗原の機能は、特定の免疫学的および遺伝子療法的介入により抑制され得る。

【0070】

上記の概要および以下の説明において、配列のリストが提供される。リストは、各々の単一配列を別々に、2つまたはそれ以上の配列が同一遺伝子の一部を形成する場合にはそれらを一緒に、各々及びすべての組合せが別々にかつ特定的に列挙されるかのように、リスト上の総数を含めてその数までの異なる遺伝子に関

連がある2つまたはそれ以上の配列の任意の組合せを含むよう意図される。同様に、断片サイズを既述する場合、各々及びすべての断片長が具体的に列挙されるかのように意図される配列（それが断片であるよう1ヌクレオチドまたはアミノ酸より小さい）の言及した最小断片から全長までを一範囲が含むよう意図される。したがって、断片が長さ10～15であり得る場合、それは長さ10、11、12、13、14または15を意味するよう明瞭に意図される。

【0071】

概要および特許請求の範囲は、抗原前駆体および抗原を既述する。概要および特許請求の範囲で用いる場合、前駆体は、単離DNAのコード領域によりコードされる実質的に全長のタンパク質であり、抗原は、MHC、好ましくはHLAと複合体をなし、その複合体の一部として免疫応答に關与するペプチドである。このような抗原は、典型的には9アミノ酸長（HLAクラスII分子に關して）であるが、これはわずかに変わり得る。

【0072】

本明細書中に記載する核酸分子は単離されていることが好ましい。核酸に関して本明細書中で用いる場合、「単離された」という用語は、(i)例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によりin vitroで増幅されるか、(ii)クローニングにより組換え的に生産されるか、(iii)例えば切断およびゲル分離により精製されるか、または(iv)例えば化学合成により合成されることを意味する。単離核酸は、当分野で周知の組換えDNA技術により容易に操作可能であるものである。したがって、5'および3'制限部位が既知であるか、またはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)プライマー配列が開示されているベクター中に含まれたヌクレオチド配列は、単離されたとみなされるが、その天然宿主中にそのネイティブ状態で存在する核酸配列はそうではない。単離核酸は実質的に精製することができるが、そうである必要はない。例えば、クローニングまたは発現ベクター内で単離される核酸は、それが存在する細胞中の物質を極小パーセンテージのみ含み得るという点で純粋ではない。しかしながらこのような核酸は、当業者に既知の標準技法によりそれが容易に操作されるため、その用語が本明細書中で用いられるように、単離される。単離核酸とは、本明細書中で用いる場合、天然

染色体ではない。

【0073】

本明細書中に記載するポリペプチドも単離されていることが好ましい。ポリペプチドに関して本明細書中で用いる場合、「単離された」とは、そのネイティブ環境から分離され、その同定または使用を可能にするのに十分な量で存在することを意味する。単離されたとは、タンパク質またはポリペプチドを指す場合、例えば、(i)発現クローニングにより選択的に産生されるか、あるいは(ii)例えばクロマトグラフィーまたは電気泳動により精製されることを意味する。単離タンパク質またはポリペプチドは実質的に純粋であってもよいが、そうである必要はない。「実質的に純粋」という用語は、タンパク質またはポリペプチドが、それらが天然にまたはin vivo系で、それらの意図された使用のために実際のおよび適切な程度に見出されることができるその他の物質を本質的に含有しないことを意味する。実質的に純粋なポリペプチドは、当分野で周知の技法により産生することができる。単離タンパク質は薬学的に許容し得る担体とともに医薬製剤中に混合することができるため、タンパク質は小重量%の調製物のみを構成し得る。タンパク質は、それが生きている系に関連し得る物質から分離されたという点で、それでもなお単離される、即ち、他のタンパク質から単離される。

【0074】

本明細書中で用いる場合、対象は、ヒト、非ヒト霊長類、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、齧歯類またはその他の獣医学的動物である。全実施形態において、ヒト癌抗原およびヒト対象が好ましい。

【0075】

本発明は、一態様において、精上皮腫癌を有する対象の自系抗血清を用いたヒト癌関連抗原前駆体をコードするcDNAのクローニングを包含する。本明細書中に記載した方法により同定される遺伝子を表すクローンの配列は、添付の配列表に示されている。上記のうち、いくつかのクローンは、コード領域とのヌクレオチドまたはアミノ酸相同性が検索したデータベース中に見出されなかったため、完全に新規であると考えられるということが認められる。その他のクローンは新規であるが、しかしデータベースに寄託された配列(主にEST配列)と何ら

かの相同性を有する。それにもかかわらず、全遺伝子配列は、従来、未知であった。ある場合には機能が推測されず、他の場合には、機能が推測された場合でも、遺伝子が癌に関連があることが分からなかった。すべての場合に、遺伝子が、自系血清からの抗体と反応する癌抗原をコードすることが分からないかまたは推測されなかった。核酸およびタンパク質データベースとの比較によるクローン配列の分析は、クローンの中のさらに他のものが意外にも前にクローン化された他の遺伝子と密接に関連があることを決定した。これらの関連遺伝子の配列も、配列表に示されている。癌患者の免疫系により認識される抗原をコードする場合の上記の遺伝子の性質は、もちろん予測されない。

【0076】

したがって、本発明は、一態様において、癌関連抗原ポリペプチド、それらのポリペプチドをコードする遺伝子、上記のものの機能的修飾および変異体、上記のものの有用な断片、ならびにそれに関連がある診断薬および治療薬を包含する。

【0077】

本発明の癌関連抗原核酸の相同体および対立遺伝子は、慣用的技法により同定され得る。したがって、本発明の一態様は、癌関連抗原前駆体をコードする核酸配列である。好ましい核酸分子は、表6中のGenBank寄託番号により同定される分子のヌクレオチド配列で完全に構成される核酸分子を除外する。この適用はいくつかのヌクレオチドおよびアミノ酸配列を含有するために、特許請求の範囲および概要で考察される種々の群の配列を同定するための以下のチャートが提供される。

【0078】

核酸配列

NA群1。

(a) 癌関連抗原前駆体をコードし、配列番号4~11の間の核酸配列からなる群から選択される核酸配列からなる分子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子、

(b) それぞれの癌関連抗原前駆体をコードする欠失、付加および置換、

(c) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列が(a)または(b)の核酸分子とは異なる核酸分子、ならびに

(d) (a)、(b)または(c)の補体。

NA群2。

NA群1の断片。これは、MHC分子と結合して自系抗体またはリンパ球により認識される複合体を形成するポリペプチドまたはポリペプチドの一部をコードする。

NA群3。

NA群1のサブセット。この場合、ヌクレオチド配列は以下の：

(a) ヒト癌関連抗原前駆体をコードする従来未知のヒト核酸(即ち、配列番号5~10の間の核酸配列)、

(b) それぞれのヒト癌関連抗原前駆体をコードする欠失、付加および置換

(c) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列が(a)または(b)の核酸分子とは異なる核酸分子、ならびに

(d) (a)、(b)または(c)の補体

からなる群から選択される。

NA群4。

NA群3の断片。これは、MHC分子と結合して自系抗体またはリンパ球により認識される複合体を形成するポリペプチドまたはポリペプチドの一部をコードする。

NA群5。

同種異系癌抗血清と反応するヒト癌関連抗原を包含するNA群1のサブセット

。

【0079】

ポリペプチド配列

PP群1。 NA群1によりコードされるポリペプチド。

PP群2。 NA群2によりコードされるポリペプチド。

PP群3。 NA群3によりコードされるポリペプチド。

PP群4。 NA群4によりコードされるポリペプチド。

PP群5。 NA群5によりコードされるポリペプチド。

【0080】

「ストリンジェントな条件」という用語は、本明細書中で用いる場合、当分野が精通しているパラメーターを指す。核酸ハイブリダイゼーションパラメーターは、このような方法を編集する参考文献、例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989またはCurrent Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New Yorkに見出され得る。特に、ストリンジェントな条件は、本明細書中で用いる場合、例えば、ハイブリダイゼーション緩衝液(3.5 x SSC、0.02%フィコール、0.02%ポリビニルピロリドン、0.02%ウシ血清アルブミン、2.5 mMのNaH₂PO₄(pH7)、0.5% SDS、2 mMのEDTA)中での65 °Cでのハイブリダイゼーションを指す。SSCは、0.15 Mの塩化ナトリウム/0.15 Mのクエン酸ナトリウム、pH7であり、SDSはドデシル硫酸ナトリウムであり、EDTAはエチレンジアミン四酢酸である。ハイブリダイゼーション後、DNAが転移された膜を、例えば2 x SSC中で室温で洗浄し、次に0.1 ~ 0.5 x SSC / 0.1 x SDS中で68 °Cまでの温度で洗浄する。

【0081】

使用できる、同程度のストリンジェンシーを生じるその他の条件、試薬などが存在する。当業者はこのような条件に精通しており、したがって、それらはここでは示されない。しかしながら、当業者は、本発明の癌関連抗原核酸の相同体および対立遺伝子の明白な同定を可能にするような方法で(例えば、より低いストリンジェントな条件を用いて)条件を操作し得る、と理解されるであろう。当業者は、このような分子の発現のための細胞およびライブラリーをスクリーニングし、次にルーチンに単離した後、関連する核酸分子を単離し、そしてシーケンシングするための方法にも精通している。

【0082】

概して、相同体および対立遺伝子は、典型的にはそれぞれ、癌関連抗原核酸およびポリペプチドの配列と少なくとも40%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも50%のアミノ酸同一性を共有し、いくつかの場合には、少なくとも50%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも65%のアミノ酸同一性を共有し、そしてさらに他の場合には、少なくとも60%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも75%のアミノ酸同一性を共有するであろう。好ましくは、相同体および対立遺伝子は、少なくとも80%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも90%のアミノ酸同一性を共有し、さらに好ましくは少なくとも90%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも95%のアミノ酸同一性を共有するであろう。最も好ましくは、相同体および対立遺伝子は、少なくとも95%のヌクレオチド同一性および/または少なくとも99%のアミノ酸同一性を共有するであろう。相同性は、インターネット (<ftp://ncbi.nlm.nih.gov/pub/>) を介して得られるNCBI (Bethesda, Maryland) により開発された種々の公的に利用可能なソフトウェアツールを用いて算定され得る。ツールの例としては、デフォルト設定を用いて、米国バイオテクノロジー情報センター (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) から利用可能なBLASTシステムが挙げられる。Pairwise and ClustalWアラインメント (BLOSUM30マトリックス設定) ならびにKyte-Doolittle水治療法分析は、例えば、Mac Vector配列分析ソフトウェア (Oxford Molecular Group) を用いて得られる。前記の核酸のワトソン-クリック補体も本発明に包含される。

【0083】

癌関連抗原遺伝子に関するスクリーニングにおいて、サザンブロットは、放射性プローブとともに前記の条件を用いて実施され得る。DNAが最終的に転移された膜を洗浄後、その膜は、放射性シグナルを検出するためにX線フィルムに接触するように置かれる。癌関連抗原核酸の発現に関するスクリーニングにおいて、前記の条件を用いるノーザンブロットハイブリダイゼーション (実施例も参照) は、癌患者から、または癌関連抗原遺伝子の発現により特徴づけられる症状を有する疑いのある対象から採取された試料に対して実施され得る。示された配列とハイブリダイズするプライマーを用いるポリメラーゼ連鎖反応のような増幅プ

ロトコルも、癌関連抗原遺伝子またはその発現の検出のために用いられ得る。

【0084】

癌関連遺伝子は、配列番号4～10に対応する。本明細書中に開示された診断方法のための好ましい癌関連抗原は、同種異系癌抗血清と反応するものである（即ち、NA群5）。コードされるポリペプチド（例えばタンパク質）、ペプチドおよびそれに対する抗血清も、診断のために好ましい。

【0085】

本発明は、ネイティブ物質中に存在するものに対する代替的コドンを含む縮重核酸も含む。例えば、セリン残基は、コドンTCA、AGT、TCC、TCG、TCTおよびAGCによりコードされる。6つのコドンの各々は、セリン残基をコードする目的に関して等価である。したがって、延長癌関連抗原ポリペプチドにin vitroまたはin vivoでセリン残基を組み入れるようセリンコードヌクレオチドトリプレットのいずれかを、タンパク質合成装置を指図するために用いることができる、ということは当業者には明らかである。同様に、他のアミノ酸残基をコードするヌクレオチド配列トリプレットとしては、CCA、CCC、CCGおよびCCT（プロリンコドン）；CGA、CGC、CGG、CGT、AGAおよびAGG（アルギニンコドン）；ACA、ACC、ACGおよびACT（トレオニンコドン）；AACおよびAAT（アスパラギンコドン）；ならびにATA、ATCおよびATT（イソロイシンコドン）が挙げられるが、これらに限定されない。その他のアミノ酸残基は、多重ヌクレオチド配列により同様にコードされる。したがって、本発明は、遺伝暗号の縮重のためにコドン配列中の生物学的単離核酸とは異なる縮重核酸を含む。

【0086】

本発明は、1つまたはそれ以上のヌクレオチドの付加、置換および欠失を含む修飾核酸分子も提供する。好ましい実施形態では、これらの修飾核酸分子および/またはそれらがコードするポリペプチドは、非修飾核酸分子および/またはポリペプチドの少なくとも1つの活性または機能、例えば抗原性、酵素活性、受容体結合、MHCクラスIおよびクラスII分子によるペプチドの結合による複合体の形成等を保持する。ある種の実施形態では、修飾核酸分子は、修飾ポリペプ

チド、好ましくは本明細書中に別記されているような保存的アミノ酸置換を有するポリペプチドをコードする。修飾核酸分子は、非修飾核酸分子と構造的に関連があり、好ましい実施形態では、修飾および非修飾核酸分子が当業者に既知のストリンジェントな条件下でハイブリダイズするよう、非修飾核酸分子と十分に構造的に関連がある。

【0087】

例えば、単一のアミノ酸変化を有するポリペプチドをコードする修飾核酸分子を調製することができる。これらの核酸分子は各々、本明細書中に記載するような遺伝暗号の縮重に対応するヌクレオチド変化と相容れない1、2または3つのヌクレオチド置換を有し得る。同様に、2つのアミノ酸変化を有するポリペプチドをコードする修飾核酸分子を調製することができるが、これらは例えば2～6のヌクレオチド変化を有する。例えばアミノ酸2および3、2および4、2および5、2および6等をコードするコドンのヌクレオチドの置換を含めたこれらと同様の多数の修飾核酸分子が当業者により容易に想像される。上記の例では、2つのアミノ酸の各組合せは、修飾核酸分子組に、ならびにアミノ酸置換をコードするすべてのヌクレオチド置換に含まれる。当業者に容易に想像されるように、さらなる置換（即ち、3またはそれ以上）、付加または欠失（例えば、停止コドンまたはスプライス部位（単数または複数）の導入による）を有するポリペプチドをコードする付加的核酸分子も調製することができるし、本発明に包含される。上記の核酸またはポリペプチドはいずれも、本明細書中に開示される核酸および/またはポリペプチドに対する構造的関連または活性の保持に関して、ルーチン実験により試験することができる。

【0088】

本発明は、癌関連抗原核酸配列またはその相補体の単離非反復断片も提供する。非反復断片は、大型核酸に関する「特徴」である断片である。それは、例えば、上記の癌関連抗原核酸外のヒトゲノム（およびヒト対立遺伝子）内の分子中にその正確な配列が見出されないことを保証するのに十分な長さである。当業者は、断片がヒトゲノム内で非反復(unique)であるか否かを決定するためにルーチン手法を適用するだけでよい。非反復断片は、しかしながら、表6に列挙されたGe

nBank寄託番号のいずれかのヌクレオチド配列またはそれぞれの優先権文書に列挙された配列に関する優先権文書の出願日の時点で、あるいは本発明の配列とオーバーラップする本出願で初めて列挙された配列に関する本出願の出願日の時点でのその他の従来から公表されている配列で完全に構成される断片を排除する。

【0089】

上記のGenBank寄託に記載された配列で完全に構成される断片は、本発明の配列に独特のヌクレオチドのいずれも含まない断片である。したがって、非反復断片は、GenBankのものの正確な配列以外のヌクレオチド配列またはそれらの断片を含有しなければならない。差は、GenBank配列に関する付加、欠失または置換であるか、あるいはそれらはGenBank配列とは全く別の配列であり得る。

【0090】

非反復断片は、このような核酸を同定するために、サザンおよびノーザンプロット検定におけるプローブとして用いることができ、あるいはPCRを用いる検定のような増幅検定に用いることができる。当業者には既知のように、大型プローブ、例えば200、250、300またはそれ以上のヌクレオチドが、ある種の用途、例えばサザンおよびノーザンプロットには好ましいが、一方、小型断片は、PCRのような用途のために好ましい。非反復断片は、抗体を生成するか、またはポリペプチド断片の結合を決定するために、あるいはイムノ検定構成成分を生成するために融合タンパク質を産生するためにも用いることができる。同様に、非反復断片は、例えば抗体の調製に、およびイムノ検定に有用な癌関連抗原ポリペプチドの非融合断片を産生するために用いることができる。非反復断片はさらに、特に以下でより詳細に記載されるような治療目的のために、癌関連抗原核酸およびポリペプチドの発現を抑制するためのアンチセンス分子として用いることができる。

【0091】

当業者に認識されるように、非反復断片のサイズは、遺伝暗号中のその保存によって異なる。したがって、癌関連抗原配列およびその相補体のいくつかの領域は、より長いセグメントが非反復であるよう求める（例えば、50、75、100、150、200、250、300、400、500、750、1000ヌクレ

オチド)が、一方、その他は、開示された配列の全長までの、典型的には12~32ヌクレオチド間(例えば、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31および32)の短いセグメントのみを要する。上記のように、本開示は、第1ヌクレオチドから開始して、第2ヌクレオチド...と、最後の8ヌクレオチドまでの長さで、各配列に関して第8、9、10...から最後のヌクレオチドまで、あらゆる場所で終わる、各配列の各々のおよびすべての断片を含むよう意図する(但し、配列は上記のように非反復性である)。

【0092】

25またはそれ以上のヌクレオチド長である新規の癌関連抗原核酸またはその相補体のポリペプチドコード領域のあらゆるセグメントが、事実上非反復性であるだろう。当業者は、典型的に必要なすべてである既知のデータベース上の配列に対する断片のヒトゲノム中の他の配列から、当該配列を選択的に区別する非反復断片の能力に典型的に基づいて、かかる配列を選択する方法によく精通しているが、*in vitro*確認ハイブリダイゼーションおよびシーケンシング分析を実施しても良い。

【0093】

特に好ましい核酸分子としては、「ポリトープ」として既知の一連のエピトープをコードする核酸が挙げられる。エピトープは、天然フランキング配列を用いて、または用いずに、シークエンシャルまたはオーバーラップ方式で整列することができる(例えば、Thomson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 5845-5849, 1995; Gilbert et al., Nature Biotechnol. 15:1280-1284, 1997を参照)し、所望により、非関連リンカー配列により分離することができる。ポリトープは、免疫応答の発生のための免疫系により認識される個々のエピトープを生成するようプロセッシングされる。

【0094】

したがって、例えば本明細書中に開示された核酸分子の1つによりコードされるアミノ酸配列を有するポリペプチド由来のペプチドであって、MHC分子により呈示され、CTLまたはTヘルパーリンパ球により認識されるペプチドは、1

つまたはそれ以上のその他の癌関連抗原からのペプチドと併合されて（例えば、ハイブリッド核酸またはポリペプチドの調製により）、「ポリトープ」を形成し得る。2つまたはそれ以上のペプチド（またはペプチドをコードする核酸）は、本明細書中に記載されたものから選択され得るか、あるいはそれらは、従来から知られている癌関連抗原の1つまたはそれ以上のペプチドを含み得る。免疫応答を誘導または強化するために投与することができる癌関連ペプチド抗原（MHCクラスIまたはIIにより呈示される）の例は、腫瘍関連遺伝子およびコードされたタンパク質、例えばMAGE - A 1、MAGE - A 2、MAGE - A 3、MAGE - A 4、MAGE - A 5、MAGE - A 6、MAGE - A 7、MAGE - A 8、MAGE - A 9、MAGE - A 10、MAGE - A 11、MAGE - A 12、GAGE - 1、GAGE - 2、GAGE - 3、GAGE - 4、GAGE - 5、GAGE - 6、GAGE - 7、GAGE - 8、GAGE - 9、BAGE - 1、RAGE - 1、LB33/MUM - 1、PRAME、NAG、MAGE - B 2、MAGE - B 3、MAGE - B 4、チロシナーゼ、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、メラニン - A、MAGE - C 1、MAGE - C 2、NY ESO - 1、LAGE - 1、SSX - 1、SSX - 2（HOM - MEL - 40）、SSX - 4、SSX - 5、SCP - 1およびCT - 7から得られる（例えば、PCT出願公告第WO 96 / 10577号を参照）。その他の例は、当業者に既知であり（例えば、Coulie, Stem Cells 13:393-403, 1995参照）、ここに開示されたような同様の方式で本発明に用いることができる。当業者は、本発明の1つまたはそれ以上のペプチドおよび1つまたはそれ以上の上記の既知の癌関連ペプチドを含むポリペプチド、あるいはこのようなポリペプチドをコードする核酸を、分子生物学の標準手法にしたがって、調製することができる。

【0095】

したがって、ポリトープは、種々の配列で（例えば連鎖状、オーバーラッピング）ともに接合することができる2つまたはそれ以上の潜在性免疫原性または免疫応答刺激性ペプチドの群である。ポリトープ（またはポリトープをコードする核酸）は、免疫応答を刺激し、強化し、および/または惹起する場合のポリトープの有効性を試験するために、標準免疫処置プロトコルで、例えば動物に投与す

ることができる。

【0096】

ペプチドは、直接的に、またはフランキング配列の使用を介して、ともに接合されポリトープを形成することができる。ワクチンとしてのポリトープの使用は当分野で周知である（例えば、Thomson et al., Proc. Acad. Natl. Acad. Sci. USA 92 (13):5845-5849, 1995; Gilbert et al., Nature Biotechnol. 15 (12):1280-1284, 1997; Thomson et al., J. Immunol. 157 (2):822-826, 1996; Tam et al., J. Exp. Med. 171 (1):299-306, 1990を参照）。例えば、Tamは、MHCクラスIおよびクラスII結合エピトープの両方からなるポリトープがマウスモデルにおいて抗体および防御免疫を首尾よく生成することを示した。Tamは、エピトープの「列」を含むポリトープがプロセッシングされて、MHC分子により呈示されCTLにより認識される個々のエピトープを産生することも実証した。したがって、種々の数および組合せのエピトープを含有するポリトープが調製され、CTLによる認識に関して、および免疫応答を増大する効力に関して試験することができる。

【0097】

腫瘍は一組の腫瘍抗原を発現し、そのうちのある種のサブセットのみが任意の所与の患者の腫瘍で発現され得ることが知られている。特定の患者に発現される腫瘍拒絶抗原のサブセットを示すエピトープの異なる組合せに対応するポリトープを調製することができる。ポリトープは、腫瘍型により発現されることが知られているより広範囲の腫瘍拒絶抗原を反映するよう調製することができる。ポリトープは、ポリペプチド構造物として、または当分野で既知の核酸送達系の使用を介して、このような治療を必要とする患者に導入することができる（例えば、Allsopp et al., Eur. J. Immunol. 26 (8):1951-1959, 1996を参照）。アデノウイルス、ポックスウイルス、Ty-ウイルス様粒子、アデノ関連ウイルス、プラスミド、細菌等を、このような送達に用いることができる。ポリトープ送達系の効力を決定するために、マウスモデルにおいて該送達系を試験し得る。この系は、ヒト臨床試験においても試験することができる。

【0098】

ヒトHLA分子が癌関連核酸から得られる腫瘍拒絶抗原を呈示する場合、発現ベクターは、これらの核酸およびポリペプチドに由来する任意の特定の腫瘍拒絶抗原を呈示するHLA分子をコードする核酸配列も含み得る。あるいは、このようなHLA分子をコードする核酸分子は、別個の発現ベクター内に含入することができる。ベクターが両コード配列を含有する状況では、単一ベクターは、いずれか一方を正常に発現しない細胞をトランスフェクトするために用いることができる。癌関連抗原前駆体、およびそれを呈示するHLA分子をコードする配列が別個の発現ベクターに含有される場合、発現ベクターは共トランスフェクトされ得る。癌関連抗原前駆体コード配列は、例えば宿主細胞がすでに前駆体分子由来の癌関連抗原を呈示するHLA分子を発現している場合には、単独で用いることができる。もちろん、用いることできる特定の宿主細胞に関して制限はない。2つのコード配列を含有するベクターは所望により任意の抗原呈示細胞に用いることできるので、癌関連抗原前駆体に関する遺伝子は、癌関連抗原を呈示するHLA分子を発現しない宿主細胞で用いることができる。さらに、無細胞転写系を、細胞の代わりに用いることができる。

【0099】

本明細書中で用いる場合、「ベクター」とは、異なる遺伝子環境間の輸送のための、または宿主細胞中での発現のための制限および連結により所望の配列を挿入することができる多数の核酸のいずれかであり得る。ベクターは、典型的にはDNAで構成されるが、RNAベクターも利用可能である。ベクターとしては、プラスミド、ファージミドおよびウイルスゲノムが挙げられるが、これらに限定されない。クローニングベクターは、宿主細胞中で自律的に複製可能であるか、またはゲノム中に組み込まれ得るものであって、かつ新規の組換えベクターが宿主細胞中で複製するその能力を保持するようにベクターが決定可能な様式で切断され、そしてこれに所望のDNA配列を連結することができる1つまたはそれ以上のエンドヌクレアーゼ制限部位によりさらに特徴づけられるものである。プラスミドの場合、所望の配列の複製は、プラスミドが宿主細菌内でコピー数を増大する場合は多数回起こるし、あるいは宿主が有糸分裂により繁殖する前には宿主当たり1回だけ起こり得る。ファージの場合は、複製は、溶菌期中は能動的に起

こり、溶原期中は受動的に起こり得る。発現ベクターは、調節配列に作動可能に連結され、そしてRNA転写体として発現することができるように、所望のDNA配列を制限および連結により挿入することができるものである。ベクターは、細胞がベクターで形質転換またはトランスフェクトされていたかあるいはされていなかったかを同定する際に用いるのに適した1つまたはそれ以上のマーカー配列をさらに含有し得る。マーカーとしては、例えば、抗生物質またはその他の化合物に対する耐性または感受性を増大または低減するタンパク質をコードする遺伝子、その活性が当分野で既知の標準検定により検出可能である酵素（例えば、
- ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼまたはアルカリ性ホスファターゼ）をコードする遺伝子、ならびに形質転換したまたはトランスフェクトした細胞、宿主、コロニーまたはプラークの表現型に視覚的に作用する遺伝子（例えば、グリーン蛍光タンパク質）が挙げられる。好ましいベクターは、それらが作動可能に連結されるDNAセグメント中に存在する構造遺伝子産物の自律的複製および発現が可能なベクターである。

【0100】

本明細書中で用いる場合、コード配列および調節配列は、調節配列の影響または制御下にコード配列の発現または転写を置くような方法でそれらが共有結合される場合、「作動可能に (operably)」連結されると言われている。コード配列が機能性タンパク質に翻訳されるのが望ましい場合、5'調節配列中のプロモーターの誘導がコード配列の転写を生じ、二つのDNA配列間の結合の性質が(1) フレームシフト突然変異の導入を生じない、(2) コード配列の転写を指図するプロモーター領域の能力を妨げない、または(3) タンパク質に翻訳されるべき対応するRNA転写体の能力を妨げないならば、二つのDNA配列は作動可能に連結されると言われている。したがって、結果的に生じる転写体が所望のタンパク質またはポリペプチドに翻訳することができるようにプロモーター領域がそのDNA配列の転写を実行可能であった場合には、プロモーター領域はコード配列と作動可能に連結されるであろう。

【0101】

遺伝子発現に必要とされる調節配列の的確な性質は種または細胞型間で変わり

得るが、概して、必要な場合には、TATAボックス、キャッピング配列、CAAT配列等のような、それぞれ転写および翻訳の開始に関与する5'非転写化および5'非翻訳化配列を含むであろう。特に、このような5'非転写調節配列は、作動可能に連結された遺伝子の転写制御のためのプロモーター配列を含むプロモーター領域を含むであろう。調節配列は、望ましい場合には、エンハンサー配列または上流アクチベーター配列も含み得る。本発明のベクターは、5'リーダーまたはシグナル配列を任意に含み得る。適切なベクターの選定および設計は、当業者の能力および自由裁量の範囲内である。

【0102】

発現のための必要な要素をすべて含有する発現ベクターは市販されており、当業者に既知である（例えば、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989を参照）。細胞は、癌関連抗原ポリペプチドあるいはその断片または変異体をコードする異種DNA（RNA）の細胞への導入により遺伝子工学処理される。その異種DNA（RNA）は、宿主細胞中での異種DNAの発現を可能にするために転写性素子の操作可能制御下に置かれる。

【0103】

哺乳類細胞中でのmRNA発現のための好ましい系は、G418耐性を付与する遺伝子（安定トランスフェクトした細胞系の選択を促す）、およびヒトサイトメガロウイルス（CMV）エンハンサー-プロモーター配列のような選択可能マーカ-含有するpcDNA3.1およびpRc/CMV（Invitrogen, Carlsbad, CAから入手可能）のような系である。さらに、霊長類またはイヌ細胞系中での発現に適しているのは、エプスタイン-バーウイルス（EBV）複製起点を含有し、多重コピー染色体外要素としてのプラスミドの保持を促すpCEP4ベクター（Invitrogen）である。別の発現ベクターは、in vitroでの転写を効率的に刺激するポリペプチド延長因子1のプロモーターを含有するpEF-BOSプラスミドである。本プラスミドは、Mishizuma and Nagata (*Nuc. Acids Res.* 18:5322, 1990)により記載されており、トランスフェクション実験におけるその使用は、例えばDemoulin (*Mol. Cell. Biol.* 16:4710-4716, 1996)により開示

されている。さらに別の好ましい発現ベクターは、Stratford-Perricaudetにより記載されたアデノウイルスであり、これはE 1およびE 3タンパク質を欠いている(J. Clin. Invest. 90:626-630, 1992)。抗原の発現のためのAdeno. P 1 A組換え体としてのアデノウイルスの使用は、P 1 Aに対する免疫処置のためのマウスにおける皮内注射において、Warnier等により開示されている(Int. J Cancer, 67:303-310, 1996)。核酸の送達のための付加的ベクターを以下に提示する。

【0104】

本発明は、当業者が所望の単数または複数の発現ベクターを調製するのを可能にするいわゆる発現キットも含む。このような発現キットは、少なくとも別々の部分のベクターおよび1つまたはそれ以上の上述の癌関連抗原核酸分子を含む。その他の構成成分は、必要とされる上述の核酸分子が含まれる限り、所望により添加することができる。本発明は、癌関連抗原核酸とハイブリダイズする少なくとも一対の増幅プライマーを含めた癌関連抗原核酸の増幅のためのキットも含む。プライマーは、好ましくは12~32のヌクレオチド長であり、「プライマー二量体」の形成を防止するために非重複性である。癌関連抗原核酸の増幅を可能にする配列で、プライマーの1つは、癌関連抗原核酸の一方の鎖とハイブリダイズし、第二プライマーは癌関連抗原核酸の相補的鎖とハイブリダイズする。適切なプライマー対の選択は、当分野の標準である。例えば、選択は、このような目的のために設計されたコンピュータープログラムの助けを借りて、任意にその後、増幅特異性および効率に関してプライマーを検査することによりなすることができる。

【0105】

本発明は、細胞および動物における癌関連抗原遺伝子「ノックアウト」の構築および安定したまたは一過性のトランスジェニック発現も可能にして、癌および癌に対する免疫系応答のある種の態様を試験するための物質を提供する。

【0106】

上述したように、本発明は癌関連抗原ポリペプチドをコードする核酸分子と選択的に結合するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、癌関連抗原の発現を減

少させる。これは、癌関連抗原の発現の減少が望ましい実質的にあらゆる医療状態において、例えば癌治療において望ましい。これはまた、1つまたはそれ以上の癌関連抗原の発現の減少の効果をin vitroまたはin vivoにて試験するのに有用である。

【0107】

本明細書中で用いる場合、「アンチセンスオリゴヌクレオチド」または「アンチセンス」という用語は、生理学的条件下で、特定の遺伝子を包含するDNAと、またはその遺伝子のmRNA転写体とハイブリダイズして、それによりその遺伝子の転写および/またはそのmRNAの翻訳を抑制するオリゴリボヌクレオチド、オリゴデオキシリボヌクレオチド、修飾オリゴリボヌクレオチドまたは修飾オリゴデオキシリボヌクレオチドであるオリゴヌクレオチドを表現する。アンチセンス分子は、標的遺伝子または転写体とのハイブリダイゼーション時に標的遺伝子の転写または翻訳を妨げるよう設計される。アンチセンスオリゴヌクレオチドの正確な長さおよびその標的とのその相補性の程度は、標的の配列、ならびにその配列を包含する特定の塩基を含めて、選択される特異的な標的に依存すると当業者は認識するであろう。生理学的条件下で標的と選択的に結合するよう、即ち、生理学的条件下で標的細胞中の他のいかなる配列とよりも実質的に多く、標的配列とハイブリダイズするように、アンチセンスオリゴヌクレオチドが構築され、配列されるのが好ましい。癌関連抗原をコードする核酸の配列を基礎にして、あるいは対立遺伝子または相同性ゲノムおよび/またはcDNA配列を基礎にして、当業者は、本発明にしたがって用いるための任意の多数の適切なアンチセンス分子を容易に選定し、合成し得る。抑制に対して十分に選択的で、かつ効力があるようにするために、このようなアンチセンスオリゴヌクレオチドは、標的と相補的である少なくとも10、さらに好ましくは少なくとも15の連続した塩基を包含すべきであるが、場合によっては、7塩基長という短い修飾オリゴヌクレオチドがアンチセンスオリゴヌクレオチドとして首尾よく用いられている(Wagner et al., Nature Biotechnol. 14:840-844, 1996)。最も好ましくは、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、20~30塩基の相補的配列を包含する。

【0108】

遺伝子またはmRNA転写体の任意の領域に対してアンチセンスであるオリゴヌクレオチドを選択してもよいが、好ましい実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドはN-末端または5'上流部位、例えば翻訳開始、転写開始またはプロモーター部位に対応する。さらに、3'-非翻訳領域を標的化してもよい。mRNAスプライシング部位に対する標的化も当分野で用いられてきたが、代替的mRNAスプライシングが起こる場合には、あまり好ましくないこともある。さらに、アンチセンスは、好ましくは、mRNA二次構造が予期されず(例えば、Sainio et al., Cell Mol. Neurobiol. 14(5):439-457, 1994を参照)、かつタンパク質が結合することが予期されない部位に対して標的化される。最後に、列挙した配列はcDNA配列であるが、当業者は、癌関連抗原のcDNAに対応するゲノムDNAを容易に得る場合がある。したがって、本発明は、癌関連抗原をコードする核酸に対応するゲノムDNAと相補的であるアンチセンスオリゴヌクレオチドも提供する。同様に、対立遺伝子または相同性cDNAおよびゲノムDNAに対するアンチセンスは、過度の実験を伴わずに与えられる。

【0109】

一組の実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、「天然」デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチドまたはそれらの任意の組合せで構成することができる。即ち、天然系における場合と同様に、ホスホジエステルヌクレオシド間結合により、あるネイティブヌクレオチドの5'末端および別のネイティブヌクレオチドの3'末端は共有結合することができる。これらのオリゴヌクレオチドは、手動で実行することができる、当分野で認識された方法により、または自動合成機により調製することができる。該オリゴヌクレオチドはまた、ベクターにより組換え的に生産することができる。

【0110】

しかしながら、好ましい実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、「修飾」オリゴヌクレオチドも含み得る。即ち、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドがそれらの標的とハイブリダイズしないようにするが、それらの安定性または標的化を強化する、あるいはそうでなければそれらの治療的有効性を強化する多数の方法で修飾することができる。

【0111】

「修飾オリゴヌクレオチド」という用語は、本明細書中で用いられる場合、(1) そのヌクレオチドのうちの少なくとも2つが合成ヌクレオシド間結合(即ち、あるヌクレオチドの5'末端および別のヌクレオチドの3'末端間のホスホジエステル結合以外の結合)により共有結合され、および/または(2) 核酸と正常に連合されない化学基がオリゴヌクレオチドと共有結合されたオリゴヌクレオチドを記述する。好ましい合成ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート、アルキルホスホネート、ホスホロジチオエート、ホスフェートエステル、アルキルホスホノチオエート、ホスホルアミデート、カルバメート、カルボネート、ホスフェートトリエステル、アセトアミデート、カルボキシメチルエステルおよびペプチドである。

【0112】

「修飾オリゴヌクレオチド」という用語は、共有的修飾塩基および/または糖を有するオリゴヌクレオチドも含む。例えば、修飾オリゴヌクレオチドは、3'位置のヒドロキシル基以外の、および5'位置のホスフェート基以外の低分子量有機基と共有結合される主鎖糖を有するオリゴヌクレオチドを含む。したがって、修飾オリゴヌクレオチドは、2'-O-アルキル化リボース基を含み得る。さらに、修飾オリゴヌクレオチドは、リボースの代わりにアラビノースのような糖を含み得る。したがって本発明は、癌関連抗原ポリペプチドをコードする核酸と、相補的であり、かつ生理学的条件下で、それらとハイブリダイズすることができる修飾アンチセンス分子を、薬学的に許容し得る担体とともに含有する医薬製剤を意図する。

【0113】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、医薬組成物の一部として投与することができる。このような医薬組成物は、当分野で既知の任意の標準的生理学的および/または薬学的に許容し得る担体と組合せて、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含み得る。組成物は滅菌性であるべきであり、患者への投与に適した重量または容量単位で治療的有效量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含有する。「薬学的に許容し得る」という用語は、有効成分の生物学的活性の有効性を妨げない

非毒性物質を意味する。「生理学的に許容し得る」という用語は、生物学的系、例えば細胞、細胞培養、組織または生物体と適合性である非毒性物質を指す。担体の特性は、投与経路に依存している。生理学的および薬学的に許容し得る担体としては、以下でさらに記載されるような希釈剤、充填剤、塩、緩衝剤、安定剤、可溶化剤および当分野で周知のその他の物質が挙げられる。

【0114】

本発明は、上記の癌関連抗原核酸によりコードされる単離ポリペプチド（全タンパク質および部分タンパク質を含む）も提供する。このようなポリペプチドは、例えば単独で、または抗体を生成するための融合タンパク質として、イムノ検定または診断検定の構成成分として、あるいは治療薬として有用である。癌関連抗原ポリペプチドは、組織または細胞ホモジネートを含めた生物学的試料から単離されて、発現系に適した発現ベクターを構築し、発現系に発現ベクターを導入し、かつ組換え的発現タンパク質を単離することにより、種々の原核生物および真核生物発現系中で組換え的に発現することができる。抗原性ペプチド（免疫認識のために細胞の表面のMHC分子により呈示されるような）を含めた短いポリペプチドも、ペプチド合成の十分に確立された方法を用いて化学的に合成することができる。

【0115】

癌関連抗原ポリペプチドの非反復断片は、概して、核酸と関連して上記のような非反復断片の特徴および特性を有する。当業者に認識されるように、非反復断片のサイズは、断片が保存タンパク質ドメインの一部を構成するか否かといったような剤に依存している。したがって、癌関連抗原のいくつかの領域は、より長いセグメントが非反復（例えば、全長までの各整数を含めた15、20、25、30、40、50、75または100あるいはそれ以上のアミノ酸）であるよう求めるが、その他は、典型的には5～12アミノ酸（例えば、全長までの各整数を含めた5、6、7、8、9、10、11または12）の短いセグメントのみを要する。

【0116】

ポリペプチドの非反復断片は、好ましくはポリペプチドの別個の機能的容量を

保持する断片である。ポリペプチドの非反復断片中に保持することができる機能的容量は、抗体との相互作用、他のポリペプチドまたはその断片との相互作用、核酸またはタンパク質の選択的結合、および酵素活性を含む。重要な一活性は、ポリペプチドを同定するための徴候として作用する能力である。別のものは、HLAと複合体をなし、ヒトにおいて免疫応答を惹起する能力である。当業者は、典型的には、非ファミリー構成要素から当該配列を選択的に区別する非反復断片の能力に基づいて、非反復アミノ酸配列を選択するための方法に精通している。典型的に、断片の配列と既知のデータベース上の配列との比較が、必要なすべてである。

【0117】

本発明は、上記の癌関連抗原ポリペプチドの変異体を含む。本明細書中で用いる場合、癌関連抗原ポリペプチドの「変異体」とは、癌関連抗原ポリペプチドの一次のアミノ酸配列に対する1つまたはそれ以上の修飾を含有するポリペプチドである。癌関連抗原変異体を作り出す修飾は、癌関連抗原ポリペプチドに対してなされて、1)癌関連抗原ポリペプチドの活性を低減または排除し、2)癌関連抗原ポリペプチドの特性、例えば発現系におけるタンパク質安定性またはタンパク質-タンパク質結合の安定性を強化し、3)癌関連抗原ポリペプチドに対する新規の活性または特性、例えば抗原性エピトープの付加または検出可能部分の付加を提供し、あるいは4)HLA分子との等価のまたはより良好な結合を提供する。

【0118】

癌関連抗原ポリペプチドに対する修飾は、典型的には癌関連抗原ポリペプチドをコードする核酸に対してなされ、欠失、点突然変異、切頭化、アミノ酸置換およびアミノ酸または非アミノ酸部分の付加を含み得る。あるいは、修飾は、例えば切断、リンカー分子の付加、ビオチンのような検出可能部分の付加、脂肪酸の付加等により、ポリペプチドに対して直接なすことができる。修飾は、癌関連抗原アミノ酸配列の全部または一部を含む融合タンパク質も含む。当業者は、タンパク質配列における変化のタンパク質配座に及ぼす作用の予測方法に精通しており、したがって、既知の方法により変異体癌関連抗原ポリペプチドを「設計」し

得る。このような方法の一例は、Dahiyat and MayoによりScience 278: 82-87, 1997に記載されており、それによりタンパク質は新規に設計することができる。本方法は、既知のタンパク質に適用されて、ポリペプチド配列の一部のみを変更し得る。DahiyatとMayoの計算方法を適用することにより、癌関連抗原ポリペプチドの特定の変異体が提唱され、その変異体が所望の配座を保持するか否かを決定するために試験することができる。

【0119】

概して、変異体は、その所望の生理学的活性に関連しないポリペプチドの特徴を変更するために特異的に修飾される癌関連抗原ポリペプチドを含む。例えば、システイン残基は、置換または欠失されて、望ましくないジスルフィド結合を防止し得る。同様に、ある種のアミノ酸は、発現系におけるプロテアーゼによるタンパク質分解を排除することにより癌関連抗原ポリペプチドの発現を強化するよう変更することができる（例えば、KEX2プロテアーゼ活性が存在する酵母発現系中の二塩基性アミノ酸残基）。

【0120】

癌関連抗原ポリペプチドをコードする核酸の突然変異は、好ましくはコード配列のアミノ酸リーディングフレームを保存し、好ましくは、ハイブリダイズして変異体ポリペプチドの発現に有害であり得るヘアピンまたはループのような二次構造を形成すると思われる核酸中の領域を作製しない。

【0121】

突然変異は、アミノ酸置換を選択することにより、またはポリペプチドをコードする核酸中の選定部位のランダム突然変異誘発によりなすことができる。次に変異体ポリペプチドが発現され、1つまたはそれ以上の活性に関して試験されて、どの突然変異が所望の特性を有する変異体ポリペプチドを提供するか否かを決定する。ポリペプチドのアミノ酸配列についてサイレントであるが、特定の宿主中での翻訳のための好ましいコドンを提供するさらに別の突然変異が、変異体に対して（または非変異体癌関連抗原ポリペプチドに対して）なすことができる。例えば大腸菌中での核酸の翻訳のための好ましいコドンは、当業者には周知である。癌関連抗原遺伝子またはcDNAクローンの非コード配列に対して、さ

らに他の突然変異がなされて、ポリペプチドの発現を強化し得る。癌関連抗原ポリペプチドの変異体の活性は、細菌または哺乳類発現ベクター中に変異体癌関連抗原ポリペプチドをコードする遺伝子をクローニングし、このベクターを適切な宿主細胞に導入し、変異体癌関連抗原ポリペプチドを発現させ、そして本明細書中に開示した上記のような癌関連抗原ポリペプチドの機能的能力に関して試験することにより、試験することができる。

【0122】

例えば、変異体癌関連抗原ポリペプチドは、実施例に開示されているような自系および同種異系血清との反応に関して試験することができる。その他の変異体ポリペプチドの調製は、当業者には理解されるように、その他の活性の試験に好都合であり得る。

【0123】

当業者は、癌関連抗原ポリペプチドで保存的アミノ酸置換がなされて、上記のポリペプチドの機能的変異体、即ち、免疫応答の刺激、HLA分子への結合等のような癌関連抗原ポリペプチドの機能的能力を保持する変異体を提供し得るということも認識するであろう。本明細書中で用いる場合、「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸置換がなされるタンパク質の相対的電荷またはサイズ特徴を変更しないアミノ酸置換を指す。変異体は、当業者に既知のポリペプチド配列を変更するための方法をまとめた参考文献中に、例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989またはCurrent Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New Yorkに見出されるような方法により調製することができる。癌関連抗原ポリペプチドの機能的変異体の例としては、本明細書中に開示したタンパク質のアミノ酸配列の保存的アミノ酸置換が挙げられる。アミノ酸の保存的置換としては、以下の群内のアミノ酸間でなされる置換が挙げられる：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；および(g) E、D。

【0124】

例えば、癌関連抗原ポリペプチド由来のペプチドがMHC分子により呈示され、CTLにより認識されることを決定する際に（例えば、実施例に記載のように）、ペプチドのアミノ酸配列に対して、特にMHC分子との直接接点ではないと考えられる残基での、保存的アミノ酸置換をなし得る。例えば、HLAクラスII結合ペプチドの機能的変異体の同定方法は、StromingerとWucherpfennigの公開済PCT出願（PCT/US96/03182）に提供されている。1つまたはそれ以上のアミノ酸置換を保有するペプチドも、例えばD' AmaroとDrijfhout（D' Amaro et al., Human Immunol. 43: 13-18, 1995; Drijfhout et al., Human Immunol. 43: 1-12, 1995）により記載されたコンピュータプログラムを用いた合成の前に、既知のHLA/MHCモチーフとの一致に関して試験することができる。次に置換ペプチドは、MHC分子との結合、ならびにMHCに結合された場合にはCTLによる認識に関して試験することができる。これらの変異体は、改良された安定性に関して試験され、とりわけワクチン組成物中で有用である。

【0125】

癌関連抗原ポリペプチドの機能的変異体を産生するための癌関連抗原ポリペプチドのアミノ酸配列中の保存的アミノ酸置換は、典型的には、癌関連抗原ポリペプチドをコードする核酸の変更によりなされる。このような置換は、当業者に既知の種々の方法によりなすことができる。例えば、アミノ酸置換は、Kunkel（Kunkel, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 82: 488-492, 1985）の方法によるPCR特異的突然変異、部位特異的突然変異誘発により、あるいは癌関連抗原ポリペプチドをコードする遺伝子の化学合成によりなすことができる。アミノ酸置換が、自系または同種異系血清あるいは細胞溶解性Tリンパ球により認識される抗原性エピトープのような癌関連抗原ポリペプチドの小非反復断片に対してなされる場合、置換は、ペプチドを直接合成することによりなすことができる。癌関連抗原ポリペプチドの機能的等価断片の活性は、細菌または哺乳類発現ベクターに改変された癌関連抗原ポリペプチドをコードする遺伝子をクローニングし、ベクターを適切な宿主細胞に導入し、改変された癌関連抗原ポリペプチドを発現させ、そして本明細書中に開示したような癌関連抗原ポリペプチドの機能的な能力

に関して試験することにより、試験することができる。化学的に合成されたペプチドは、機能に関して、例えば関連抗原を認識する抗血清との結合に関して直接試験することができる。

【0126】

本発明は、本明細書中に記載されているように多数の用途を有し、そのいくつかは本明細書中の他の箇所に記載されている。第一に、本発明は、癌関連抗原タンパク質分子の単離を可能にする。当業者に周知の種々の方法は、単離された癌関連抗原分子を得るために利用することができる。ポリペプチドは、クロマトグラフィック的手段または免疫学的認識によりポリペプチドを天然に産生する細胞から精製することができる。あるいは、発現ベクターが細胞中に導入されて、ポリペプチドの産生を生じ得る。別の方法では、mRNA転写体が微量注射され、または他の方法が細胞中に導入されて、コードされたポリペプチドの産生を生じ得る。無細胞抽出物、例えば網状赤血球溶解物系におけるmRNAの翻訳も、ポリペプチドを産生するために用いることができる。当業者は、癌関連抗原ポリペプチドを単離するための既知の方法にも容易に従い得る。これらには、免疫クロマトグラフィック、HPLC、サイズ排除クロマトグラフィック、イオン交換クロマトグラフィックおよび免疫アフィニティークロマトグラフィックが挙げられるが、これらに限定されない。

【0127】

癌関連抗原遺伝子の単離および同定は、癌関連抗原の発現により特徴づけられる障害を当業者が診断することも可能にする。これらの方法は、1つまたはそれ以上の癌関連抗原核酸および/またはコードされた癌関連抗原ポリペプチドおよび/またはそれらに由来するペプチドの発現を決定することを含む。前者の場合には、このような決定は、ポリメラーゼ連鎖反応を含めた任意の標準核酸決定検定、あるいは標識化ハイブリダイゼーションプローブを用いた検定により実行することができる。後者の場合には、ポリペプチドの認識に関して患者抗血清をスクリーニングすることによりこのような決定は実行することができる。

【0128】

本発明は、癌関連抗原の抗体および細胞結合相手を含めて、本明細書中に開示

されたような癌関連抗原と結合するタンパク質の単離も可能にする。さらなる用途もさらに本明細書中に記載される。

【0129】

本発明は、ある実施形態では、癌関連抗原ポリペプチド由来の「優性ネガティブ」ポリペプチドも提供する。優性ネガティブポリペプチドは、細胞機構との相互作用により、細胞機構とのその相互作用からの活性タンパク質を置き換え、あるいは活性タンパク質と競合し、それにより活性タンパク質の作用を低減するタンパク質の不活性変異体である。例えば、リガンドを結合するが、リガンドの結合に応答してシグナルを伝達しない優性ネガティブ受容体は、リガンドの発現の生物学的作用を低減し得る。同様に、標的タンパク質と正常に相互作用するが、標的タンパク質をリン酸化しない優性ネガティブ触媒的不活性キナーゼは、細胞シグナルに反応して標的タンパク質のリン酸化を低減し得る。同様に、遺伝子の制御領域におけるプロモーター部位と結合するが、遺伝子転写を増大しない優性ネガティブ転写因子は、転写の増大を伴わずにプロモーター結合部位を占めることにより、正常転写因子の作用を低減し得る。

【0130】

細胞中の優性ネガティブポリペプチドの発現の最終結果は、活性タンパク質の機能の低減である。当業者は、タンパク質の優性ネガティブ変異体に関する潜在性を査定することができ、標準的な突然変異誘発技法を用いて1つまたはそれ以上の優性ネガティブ変異体ポリペプチドを作製する。例えば、癌関連抗原、特に既知の活性を有する既知のタンパク質と同様であるものについて本明細書中に含入された教示を前提として、当業者は、部位特異的突然変異誘発、走査突然変異誘発、部分遺伝子欠失または切頭化等により癌関連抗原の配列を修飾できる（例えば、米国特許第5,580,723号およびSambrook et al., Molecular Cloning A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989参照）。次に当業者は、選定された活性の縮小および/またはこのような活性の保持に関して突然変異ポリペプチドの集団を試験し得る。タンパク質の優性ネガティブ変異体を作製し、試験するためのその他の同様の方法は、当業者には明らかであろう。

【0131】

本発明は、癌関連抗原ポリペプチドと結合するポリペプチドのような剤も含む。このような結合剤は、例えば癌関連抗原ポリペプチドおよび癌関連抗原ポリペプチドとそれらの結合相手との複合体の存在または非存在を検出するためのスクリーニング検定に、ならびに単離された癌関連抗原ポリペプチドおよび癌関連抗原ポリペプチドとそれらの結合相手との複合体のための精製プロトコルに用いることができる。このような剤は、例えばこのようなポリペプチドとの結合により、癌関連抗原ポリペプチドのネイティブ活性を抑制するためにも用いることができる。

【0132】

したがって、本発明は、例えば癌関連抗原ポリペプチドと選択的に結合する能力を有する抗体または抗体の断片であり得るペプチド結合剤を含む。抗体は、慣用的方法により調製されるポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を含む。

【0133】

有意には、当分野で周知のように、抗体分子の小部分のみ、即ちパラトープが、抗体のそのエピトープとの結合に関与する（概して、Clark, W.R. (1986) The Experimental Foundations of Modern Immunology Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991) Essential Immunology 7th Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford参照）。例えばpFc'およびFc領域は相補体カスケードのエフェクターであるが、抗原結合に関与しない。pFc'領域が酵素的に切断されていた、またはpFc'領域を伴わずに産生されていた、F(ab')₂断片と呼ばれる抗体は、無傷抗体の抗原結合部位の両方を保持する。同様に、Fc領域が酵素的に切断されていた、またはFc領域を伴わずに産生されていた、Fab断片と呼ばれる抗体は、無傷抗体分子の抗原結合部位の一方を保持する。さらに続けると、Fab断片は、共有結合された抗体軽鎖、およびFdと示される抗体重鎖の一部分からなる。Fd断片は、抗体特異性の主要決定因子であり（単一Fd断片は、抗体特異性の变化を伴わずに10までの異なる軽鎖と会合することができる）、Fd断片は単離した状態でエピトープ結合能力を保持する。

【0134】

当分野で周知であるように、抗体の抗原結合部分内には、相補性決定領域が(CDR)が存在し、これが抗原のエピトープ、およびパラトープの三次構造を保持する枠組み構造領域(FR)と直接相互作用する(概して、Clark, 1986; Rott, 1991参照)。IgG免疫グロブリンの重鎖Fd断片および軽鎖の両方において、3つの相補性決定領域(CDR1~CDR3)により別々に分けられる4つの枠組み構造領域(FR1~FR4)が存在する。CDR、特にCDR3領域、より詳細には重鎖CDR3は、抗体特異性に大いに寄与する。

【0135】

哺乳類抗体の非CDR領域は、元の抗体のエピトープ特異性を保持しながら、同種異系抗体または異種抗体の同様領域と置換することができる、ということは、当分野で目下十分に確立されている。これは、非ヒトCDRがヒトFRおよび/またはFc/pFc'領域と共有結合されて機能性抗体を産生する「ヒト化」抗体の開発および使用において最も明白に示される(例えば、米国特許第4,816,567号、第5,225,539号、第5,585,089号、第5,693,762号および第5,859,205号参照)。

【0136】

したがって、例えばPCT国際公開第WO92/04381号は、ネズミFR領域の少なくとも一部分がヒト起源のFR領域により置き換えられたヒト化ネズミRSV抗体の産生および使用を教示する。このような抗体は、抗原結合能力を有する無傷抗体の断片を含めて、しばしば「キメラ」抗体と呼ばれる。

【0137】

したがって、当業者には明らかなように、本発明は、F(ab')₂、Fab、FvおよびFd断片；Fcおよび/またはFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖CDR3領域が相同性ヒトまたは非ヒト配列により置き換えられたキメラ抗体；FRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖CDR3領域が相同性ヒトまたは非ヒト配列により置き換えられたキメラF(ab')₂断片抗体；FRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖CDR3領域が相同性ヒトまたは非

ヒト配列により置き換えられたキメラF a b断片抗体；ならびにFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2領域が相同性ヒトまたは非ヒト配列により置き換えられたキメラF d断片抗体も提供する。本発明は、いわゆる一本鎖抗体も含む。

【0138】

したがって、本発明は、癌関連抗原ポリペプチド、ならびに癌関連抗原ポリペプチドとそれらの結合相手との複合体と特異的に結合する多数のサイズおよび種類のポリペプチドを含む。これらのポリペプチドは、抗体技術以外の供給源からも得られる。例えば、このようなポリペプチド結合剤は、溶液中で、固定化形態でまたはファージディスプレイライブラリーとして容易に調製することができる縮重ペプチドライブラリーにより提供することができる。1つまたはそれ以上のアミノ酸を含有するペプチドの組合せライブラリーも合成することができる。ペプチドおよび非ペプチド合成部分のライブラリーをさらに合成することができる。

【0139】

ファージディスプレイは、本発明により有用な結合ペプチドを同定するのに特に有効であり得る。要するに、慣用的手法を用いて、4～約80個のアミノ酸残基の挿入物を表示するファージライブラリー（例えば、m13、fdまたはファージを用いる）を調製する。挿入物は、例えば完全縮重またはバイアス化アレイを表し得る。次に、癌関連抗原ポリペプチドと結合するファージ保有挿入物を選択し得る。この過程は、癌関連抗原ポリペプチドと結合するファージの、数サイクルの再選択により反復することができる。反復回数は、ファージ保有特定配列の豊富化をもたらす。DNA配列分析を実行して、発現されたポリペプチドの配列を同定し得る。癌関連抗原ポリペプチドと結合する配列の最小線状部分を決定することができる。最小線状部分の一部または全部を含有する挿入物+それらの上流または下流の1つまたはそれ以上の付加的縮重残基を含有するバイアス化ライブラリーを用いて、当該手法を反復し得る。癌関連抗原ポリペプチドと結合するポリペプチドを同定するために、酵母2ハイブリッドスクリーニング法も用いることができる。したがって、本発明の癌関連抗原ポリペプチドまたはそれらの

断片を用いて、ファージディスプレイライブラリーを含めたペプチドライブラリーをスクリーニングして、本発明の癌関連抗原ポリペプチドのペプチド結合相手を同定し、選定し得る。このような分子は、上記のように、スクリーニング検定に、精製プロトコルに、癌関連抗原の機能の直接的妨害に、ならびに当業者には明らかであろうその他の目的に用いることができる。

【0140】

本明細書中に詳述されているように、上記の抗体およびその他の結合分子は、例えばタンパク質を発現する組織を同定し、またはタンパク質を精製するために用いることができる。抗体はさらに標準カップリング手法により、癌関連抗原を発現する細胞および組織の画像化のための特異的診断用標識剤と、あるいは治療的に有用な剤と結合することができる。診断剤としては、硫酸バリウム、ヨーセタム酸、ヨーパン酸、イポデートカルシウム、ジアトリゾアートナトリウム、ジアトリゾアートメグルミン、メトリザマイド、チロパノエートナトリウムおよび放射線診断剤、例えば陽電子放出体、例えばフッ素 - 18 および炭素 - 11、放出体、例えばヨウ素 - 123、テクネチウム - 99m、ヨウ素 - 131 およびインジウム - 111、ならびに核磁気共鳴のための核種、例えばフッ素およびガドリニウムが挙げられるが、これらに限定されない。本発明で有用なその他の診断剤は、当業者には明らかであろう。本明細書中で用いる場合、「治療的に有用な剤」は、望ましくは、本明細書中に開示された癌抗原のうちの1つを発現する細胞を選択的に標的とする任意の治療用分子を含み、それらの例としては、抗腫瘍剤、放射性ヨウ素化合物、毒素、その他の細胞増殖抑制剤または細胞溶解剤等が挙げられる。抗腫瘍性治療薬は周知であり、その例としては以下のものが挙げられる：アミノグルテチミド、アザチオプリン、硫酸ブレオマイシン、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、シクロスポリン、シタラビジン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、タキソール、エトポシド、フルオロウラシル、インターフェロン - 、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキセート、ミトタン、プロカルバジン HCl、チオグアニン、硫酸ビンブラスチンおよび硫酸ビンクリスチン。さらに別の抗腫瘍剤としては、Antineoplastic Agents (Paul Calabres

i and Bruce A. Chabner) の52章およびその序文、Goodman and Gilmanの “The Pharmacological Basis of Therapeutics,” Eighth Edition, 1990, McGraw-Hill, Inc. (Health Professions Division) の1202~1263ページに開示されているものが挙げられる。毒素は例えばアメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質のようなタンパク質、コレラ毒素、百日咳毒素、リシン、ゲロニン(gelonin)、アブリン、ジフテリア体外毒素、またはシュードモナス体外毒素であり得る。毒素部分は、コバルト60のような高エネルギー放出放射性核種でもあり得る。

【0141】

上記の方法において、本発明により調製される抗体は、好ましくは、本明細書中に記載した癌関連抗原/MHC複合体に特異的でもある。

【0142】

「障害」という用語が本明細書中で用いられる場合、それは、癌関連抗原が発現される任意の病理学的症状を指す。このような障害の一例が癌であり、特定の例としては精上皮腫、黒色腫、奇形腫、神経膠腫、結腸直腸、卵巣および肺癌が挙げられる。

【0143】

本明細書中に記載した種々の方法に用いるための組織および/または細胞の試料は、パンチ生検および細胞掻き取りを含めた組織生検、ならびに吸引またはその他の方法による血液またはその他の体液の収集のような標準的方法により採取することができる。

【0144】

本発明のある種の実施形態では、免疫反応性細胞試料が対象から取り出される。「免疫反応性細胞」とは、適切な刺激時に、免疫細胞(例えば、B細胞、ヘルパーT細胞または細胞溶解性T細胞)中で成熟し得る細胞を意味する。したがって、免疫反応性細胞としては、CD34⁺造血性幹細胞、未熟T細胞および未熟B細胞が挙げられる。癌関連抗原を認識する細胞溶解性T細胞を産生するのが望ましい場合、免疫反応性細胞は、細胞溶解性T細胞の産生、分化および/または選択に好都合な条件下で癌関連抗原を発現する細胞と接触させられる。抗原への曝露時のT細胞前駆体の細胞溶解性T細胞への分化は、免疫系のクローン選択と

同様である。

【0145】

本開示に基づいたいくつかの治療的アプローチは、対象の免疫系による応答が前提であって、1つまたはそれ以上の癌関連抗原を呈示する癌細胞のような抗原呈示細胞の溶解をもたらす。このようなアプローチの1つは、問題の表現型の異常細胞を有する対象への癌関連抗原/MHC複合体に特異的な自系CTLの投与である。in vitroでのこのようなCTLを開発することは、当業者の能力の範囲内である。T細胞分化のための方法の一例は、国際出願第PCT/US96/05607号に示されている。一般に血液細胞のような対象から採取される細胞の試料は、複合体を呈示する細胞であって、CTLが増殖するのを惹起することが可能な細胞（例えば樹状細胞）と接触させられる。標的細胞は、COS細胞のようなトランスフェクト体であり得る。これらのトランスフェクト体はそれらの表面に所望の複合体を呈示し、当該CTLと組合されると、その増殖を刺激する。COS細胞は、他の適切な宿主細胞と同様に、広範に利用可能である。CTLクローンの特異的産生は、当分野で周知である。クローン拡張性自系CTLは次に対象に投与される。

【0146】

抗原特異的CTLクローンを選択するための別の方法が近年記載されており（Altman et al., Science 274:94-96, 1996; Dunbar et al., Curr. Biol. 8:413-416, 1998）、この場合、特異的CTLクローンを検出するために、MHCクラスI分子/ペプチド複合体の蛍光原性四量体が用いられる。要するに、 α_2 -ミクログロブリン、およびクラスI分子を結合するペプチド抗原の存在下で、可溶性MHCクラスI分子がin vitroで折り畳まれる。精製後、MHC/ペプチド複合体が精製され、ビオチンで標識される。ビオチニル化ペプチド-MHC複合体を標識化アビジン（例えば、フィコエリトリン）と4:1のモル比で混合することにより四量体を形成する。四量体は次に、末梢血またはリンパ節のようなCTLの供給源と接触させられる。四量体は、ペプチド抗原/MHCクラスI複合体を認識するCTLを結合する。四量体により結合された細胞は、蛍光活性化細胞分類により分類されて、反応性CTLを単離し得る。単離されたCTLは次に、

本明細書中に記載するような使用のために *in vitro* で拡張することができる。

【0147】

養子移入 (Greenberg, J. Immunol. 136 (5) :1917, 1986; Riddel et al., Science 257:238, 1992; Lynch et al., Eur. J. Immunol. 21:1403-1410, 1991; Kast et al., Cell 59:603-614, 1989) と呼ばれる治療方法論を詳述するために、所望の複合体を呈示する細胞 (例えば樹状細胞) はCTLと組合されて、それに特異的なCTLの増殖をもたらす。増殖したCTLは次に、特定の複合体を呈示するある種の異常細胞により特徴づけられる細胞異常を有する対象に投与される。CTLは次に、異常細胞を溶解し、それにより所望の治療目的を達成する。

【0148】

上記の治療は、対象の異常細胞の少なくともいくつかに関連HLA/癌関連抗原複合体を呈示することを想定する。これは、特定のHLA分子を呈示する細胞を同定するための方法、ならびに関連する配列、この場合は癌関連抗原配列のDNAを発現する細胞の同定方法に当分野が精通しているので、非常に容易に決定することができる。いったん関連複合体を呈示する細胞が上記のスクリーニング方法論により同定されれば、細胞は患者からの試料と組合せることができるが、この場合、試料はCTLを含有する。複合体呈示細胞が、混合されたCTL試料により溶解される場合には、癌関連抗原が呈示されていること、および対象が上記の治療的アプローチのための適切な候補者であることが想定することができる。

【0149】

養子移入は、本発明により利用可能な治療の唯一の形態であるというわけではない。CTLは、多数のアプローチを用いて、*in vivo* でも惹起することができる。一アプローチは、複合体を発現する非増殖性細胞の使用である。本アプローチに用いられる細胞は、複合体を正常に発現する細胞、例えば照射腫瘍細胞、あるいは複合体の呈示に必要な遺伝子の一方または両方でトランスフェクトされた細胞 (即ち、抗原性ペプチドおよび呈示HLA分子) であり得る。Chen等 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:110-114, 1991) はこのアプローチを例証して、治

療レジメンにおけるHPVE7ペプチドを発現するトランスフェクトした細胞の使用を示している。種々の細胞型を用いることができる。同様に、当該遺伝子の一方または両方を保有するベクターを用いることができる。ウイルスまたは細菌ベクターが特に好ましい。例えば、癌関連抗原ポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸は、ある種の組織または細胞型における癌関連抗原ポリペプチドまたはペプチドの発現を導くプロモーターおよびエンハンサー配列と作動可能に連結することができる。核酸は、発現ベクター中に組み入れられ得る。発現ベクターは、本明細書中の他の箇所に記載されているように、癌関連抗原をコードする核酸のような外因性核酸の挿入を可能にするよう構築されまたは修飾されたウイルスゲノム、プラスミド、または非修飾細胞外染色体核酸であり得る。癌関連抗原をコードする核酸は、レトロウイルスゲノム中にも挿入されることが可能であり、それにより標的組織または細胞型のゲノムへの核酸の組込みを促し得る。これらの系では、当該遺伝子は、微生物、例えばワクシニアウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルス、レトロウイルスまたはアデノウイルス、ならびに事実上、宿主細胞を「感染」させる物質により保有される。結果として生じる細胞は、当該複合体を呈示し、自系CTLにより認識され、その後、細胞が増殖する。

【0150】

同様の作用は、癌関連抗原またはその刺激断片をアジュバントと組合せてin vivoでの抗原呈示細胞中への組み入れを促すことにより達成することができる。癌関連抗原ポリペプチドは、HLA分子のペプチド相手を産生するようプロセッシングされるが、一方、癌関連抗原ペプチドはさらなるプロセッシングを必要とせずに呈示することができる。一般に、対象は、有効量の癌関連抗原の皮内注射を受けることができる。当分野での免疫処置プロトコル標準にしたがって、初期用量と、その後の追加免疫用量を投与することができる。好ましい癌関連抗原としては、以下の実施例に示された同種異系癌抗血清と反応することが判明しているものが挙げられる。

【0151】

本発明は、対象を「免疫処置する」ための、または「ワクチン」としての、本

明細書中に開示された種々の物質の使用を含む。本明細書中で用いる場合、「免疫処置」または「予防接種」とは、抗原に対する免疫応答を増大または活性化することを意味する。それは症状の排除または根絶を必要とせず、むしろ抗原に対する免疫応答の臨床的に好都合な強化を意図する。一般的に許容される動物モデルは、癌関連抗原核酸を用いた癌に対する免疫処置の試験のために用いることができる。例えばヒト癌細胞は、マウスに導入されて、腫瘍を作り出し、1つまたはそれ以上の癌関連抗原核酸を本発明書中に記載された方法により送達することができる。癌細胞に及ぼす作用（例えば腫瘍サイズの低減）は、癌関連抗原核酸免疫処置の有効性の測定値として査定することができる。もちろん、免疫処置のためのより慣用的な方法を用いた上記の動物モデルの試験には、免疫応答を高めるための、1つまたはそれ以上の癌関連抗原ポリペプチドまたはそれらに由来するペプチドの、任意に1つまたはそれ以上のアジュバントおよび/またはサイトカインと組合せた投与が挙げられる。ワクチン組成物の処方ならびに用量、投与経路および投与計画（例えば、初回および1回またはそれ以上の追加免疫投与）の選択を含めた免疫処置のための方法は、当分野で周知である。試験はヒトでも実施することができるが、この場合、終点は抗原を保有する細胞に対する増大レベルの循環CTLの存在に関して試験すること、抗原に対する循環抗体のレベルに関して試験すること、抗原を発現する細胞の存在に関して試験すること等である。

【0152】

免疫処置組成物の一部として、1つまたはそれ以上の癌関連抗原またはその刺激断片が、1つまたはそれ以上のアジュバントとともに投与されて、免疫応答を誘導するか、または免疫応答を高める。アジュバントは、抗原に組み入れられるかまたは抗原とともに投与される物質であり、これが免疫応答を増強する。アジュバントは、抗原の貯蔵所（細胞外またはマクロファージ内）を提供し、マクロファージを活性化し、かつ特定組のリンパ球を刺激することにより、免疫学的応答を高め得る。多数の種類のアジュバントが、当分野で周知である。アジュバントの特定の例としては、モノホスホリルリピドA（MPL、SmithKline Beecham）、サルモネラ属のSalmonella minnesota Re 595リポ多糖の精製および酸加水

分解後に得られる同属体；サポニン、例えばQ S 2 1 (SmithKline Beecham)、Quillja saponaria抽出物から精製される純Q A - 2 1 サポニン；P C T出願W O 9 6 / 3 3 7 3 9 (SmithKline Beecham)に記載されたD Q S 2 1；Q S - 7、Q S - 1 7、Q S - 1 8およびQ S - L 1 (So et al., Mol. Cells 7:178-186, 1997)；フロイントの不完全アジュバント；フロイントの完全アジュバント；ビタミンE；モンタニド；ミョウバン；C p Gオリゴヌクレオチド(例えば、Kreig et al., Nature 374:546-9, 1995を参照)；ならびにスクアレンおよび/またはトコフェロールのような生分解性油から調製される種々の油中水エマルションが挙げられる。好ましくは、ペプチドは、D Q S 2 1 / M P Lの組合せと混合して投与される。D Q S 2 1対M P Lの比は、典型的には約1 : 1 0 ~ 1 0 : 1、好ましくは約1 : 5 ~ 5 : 1、さらに好ましくは約1 : 1である。典型的には、ヒト投与に関しては、D Q S 2 1およびM P Lは、約1 μ g ~ 約1 0 0 μ gの範囲でワクチン処方物中に存在する。その他のアジュバントが当分野で既知であり、本発明に用いることできる(例えば、Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 2nd Ed., 1986を参照)。ペプチドおよびアジュバントの混合物またはエマルションの製造方法は、予防接種の当業者には周知である。

【0153】

対象の免疫応答を刺激するその他の剤も、対象に投与することができる。例えばその他のサイトカインも、それらのリンパ球調節特性の結果として、予防接種プロトコルに有用である。このような目的のために有用な多数のその他のサイトカインは当業者に既知であり、その例としては、ワクチンの防御作用を強化することが示されている(例えば、Science 268:1432-1434, 1995を参照)インターロイキン - 1 2 (I L - 1 2)、G M - C S FおよびI L - 1 8が挙げられる。したがって、サイトカインは抗原およびアジュバントと一緒に投与されて、抗原に対する免疫応答を増大し得る。

【0154】

予防接種プロトコルに用いることできる多数の免疫応答助長化合物が存在する。これらは、タンパク質または核酸形態で提供される共刺激分子を含む。このような共刺激分子としては、樹状細胞(D C)で発現される分子であって、T細胞

で発現されるCD28分子と相互作用するB7-1およびB7-2(それぞれCD80およびCD86)分子が挙げられる。この相互作用は、抗原/MHC/TCR刺激(シグナル1)T細胞に共刺激(シグナル2)を提供して、T細胞増殖およびエフェクター機能を増大する。B7はT細胞でCTLA4(CD152)とも相互作用し、CTLA4およびB7リガンドを含む試験は、B7-CTLA4相互作用が抗腫瘍免疫性およびCTL増殖を強化し得るということを示す(Zheng P., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(11):6284-6289(1998))。

【0155】

B7は、典型的には腫瘍細胞で発現されないため、それらはT細胞に関する効率的抗原呈示細胞(APC)ではない。B7発現の誘発は、CTL増殖およびエフェクター機能を、より効率的に腫瘍細胞が刺激するのを可能にする。B7/IL-6/IL-12共刺激の組合せは、T細胞母集団中にIFN- γ およびTh1サイトカインプロファイルを誘導して、T細胞活性のさらなる強化をもたらすことが示されている(Gajewski et al., J. Immunol, 154:5637-5648(1995))。B7による腫瘍細胞トランスフェクションは、Wang等(J. Immunol., 19:1-8(1986))による養子移入免疫治療に関するin vitroでのCTL拡張に関連して考察されている。B7分子のためのその他の送達メカニズムは、核酸(裸DNA)免疫処置(Kim J., et al. Nat Biotechnol., 15:7:641-646(1997))および組換えウイルス、例えばアデノおよびポックス(Wendtner et al., Gene Ther., 4:7:726-735(1997))を含む。これらの系は、他の選定分子、例えば特に、本明細書中で考察される抗原または抗原の断片(単数または複数)(ポリトープを含む)またはサイトカインとのB7の同時発現のための発現カセットの構築および使用をすべて施し易い。これらの送達系は、in vitroでの適切な分子の導入のために、ならびにin vivoでの予防接種の場合のために用いることができる。T細胞をin vitroおよびin vivoで直接刺激するための抗CD28抗体の使用も考慮することができる。同様に、外来抗原に対するT細胞応答を誘導する誘導可能共刺激分子ICOSは、例えば抗ICOS抗体の使用により調整することができる(Hutloff et al., Nature 397: 263-266, 1999)。

【0156】

リンパ球機能関連抗原 - 3 (L F A - 3) は A P C およびいくつかの腫瘍細胞で発現され、T細胞で発現される C D 2 と相互作用する。この相互作用は、T細胞 I L - 2 および I F N - 産生を誘導し、したがって B 7 / C D 2 8 共刺激相互作用を補足し得るが、置換しない (Parra et al., J. Immunol., 158: 637-642 (1997), Fenton et al., J. Immunother., 21: 2: 95-108 (1998))。

【 0 1 5 7 】

リンパ球機能関連抗原 - 1 (L F A - 1) は白血球で発現され、A P C およびいくつかの腫瘍細胞で発現される I C A M - 1 と相互作用する。この相互作用は、T細胞 I L - 2 および I F N - 産生を誘導し、したがって B 7 / C D 2 8 共刺激相互作用を補足し得るが、置換しない (Fenton et al., J. Immunother., 21: 2: 95-108 (1998))。したがって L F A - 1 は、上記で B 7 に関して考察した種々の方法における予防接種プロトコルにおいて提供することができる共刺激分子のさらなる一例である。

【 0 1 5 8 】

完全 C T L 活性化およびエフェクター機能は、T h 細胞 C D 4 0 L (C D 4 0 リガンド) 分子および D C により発現される C D 4 0 分子間の相互作用による T h 細胞ヘルプを要する (Ridge et al., Nature, 393: 474 (1998)、Bennett et al., Nature, 393: 478 (1998)、Schoenberger et al., Nature, 393: 480 (1998))。この共刺激シグナルのこのメカニズムは、D C (A P C) による B 7 および関連 I L - 6 / I L - 1 2 産生の上向き調節を含むと思われる。したがって C D 4 0 - C D 4 0 L 相互作用は、シグナル 1 (抗原 / M H C - T C R) およびシグナル 2 (B 7 - C D 2 8) の相互作用を補足する。

【 0 1 5 9 】

D C 細胞を直接刺激するための抗 C D 4 0 抗体の使用は、常態では炎症状況の外周で遭遇するかまたは非専門的 A P C (腫瘍細胞) により提示される腫瘍抗原に対する応答を増強すると予測される。これらの状況では、T h ヘルプおよび B 7 同時刺激シグナルは、提供されない。このメカニズムは、抗原を間欠的に投与した D C ベースの療法状況で、または T h エピトープが既知の T R A 前駆体内に限定されなかった状況で用いられ得る。例えば C D 4 0 - C D 4 0 L 相互作用を

増大することにより、またはDCをCpG含有オリゴデオキシヌクレオチドまたは細胞外マトリックスからの刺激性糖部分と接触させることにより樹状細胞の成熟を誘導するための他の方法は、当分野では既知である。

【0160】

癌関連抗原ポリペプチドまたはその断片は、それらのネイティブ結合相手を単離するためにも用いることができる。このような結合相手の単離は、周知の方法により実施することができる。例えば単離された癌関連抗原ポリペプチドは、支持体（例えば、クロマトグラフィー媒質、例えばポリスチレンビーズまたはフィルター）に結合され、次に結合相手を含有する疑いのある溶液を支持体に適用することができる。癌関連抗原ポリペプチドと相互作用し得る結合相手が溶液中に存在する場合には、それは支持体結合癌関連抗原ポリペプチドと結合する。次に結合相手を単離することができる。

【0161】

本発明は、発現ベクター中の癌関連抗原cDNA配列の使用、ならびに宿主細胞および細胞株（これらが原核生物（例えば、大腸菌）または真核生物（例えば、樹状細胞、B細胞、CHO細胞、COS細胞、酵母発現系および昆虫細胞中の組換えバキュロウイルス発現）である場合）をトランスフェクトすることを包含するという認識されるであろう。特に有用なのは、哺乳類細胞、例えばヒト、マウス、ハムスター、ブタ、ヤギ、霊長類等である。それらは、広範な種々の組織型であり得るし、一次細胞および細胞株を含み得る。特定の例としては、ケラチノサイト、末梢血白血球、骨髄幹細胞および胚幹細胞が挙げられる。発現ベクターは、関連配列、即ち上記の核酸がプロモーターと作動可能に結合されることを必要とする。

【0162】

本発明は、予防接種のための核酸、ポリペプチドまたはペプチドの送達も意図する。ポリペプチドおよびペプチドの送達は、当分野で周知の標準予防接種プロトコルにしたがって成し遂げられ得る。別の実施形態では、核酸の送達は、*ex vivo*方法により、即ち対象から細胞を取り出し、細胞を遺伝子工学処理して、癌関連抗原を含有させ、そして工学処理細胞を対象に再導入することにより成し遂

げられる。このような手法の一例は、米国特許第5,399,346号に、そしてこの特許の包袋履歴に提出される参照書類に略記されている（これらはすべて、公的利用可能文書である）。概して、それは対象の細胞（単数または複数）中への遺伝子の機能的コピーのin vitroでの導入、および遺伝子工学処理細胞（単数または複数）を対象に戻すことを包含する。遺伝子の機能的コピーは、遺伝子工学処理細胞（単数または複数）中の遺伝子の発現を可能にする調節要素の操作可能な制御下にある。多数のトランスフェクションおよび形質導入技法ならびに適切な発現ベクターは、当業者には周知であり、そのいくつかは、PCT出願WO95/00654に記載されている。ウイルスおよび標的リポソームのようなベクターを用いたin vivo核酸送達も、本発明により意図される。

【0163】

好ましい実施形態では、癌関連抗原をコードする核酸を送達するためのウイルスベクターは、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ポックスウイルス、例えばワクシニアウイルスおよび弱毒化ポックスウイルス、セムリキ森林熱ウイルス、ベネズエラウマ脳脊髄炎ウイルス、レトロウイルス、シンドビスウイルスおよびTyウイルス様粒子からなる群から選択される。外因性核酸を送達するために用いられてきたウイルスおよびウイルス様粒子の例としては、複製欠陥アデノウイルス（例えば、Xiang et al., *Virology* 219: 220-227, 1996; Eloit et al., *J. Virol.* 7: 5375-5381, 1997; Chengalvala et al., *Vaccine* 15: 335-339, 1997）、修飾レトロウイルス（Townsend et al., *J. Virol.* 71: 3365-3374, 1997）、非複製レトロウイルス（Irwin et al., *J. Virol.* 68: 5036-5044, 1994）、複製欠陥セムリキ森林熱ウイルス（Zhao et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 3009-3013, 1995）、カナリア痘ウイルスおよび高弱毒化ワクシニアウイルス誘導體（Paoletti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 11349-11353, 1996）、非複製ワクシニアウイルス（Moss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 11341-11348, 1996）、複製ワクシニアウイルス（Moss, *Dev. Biol. Stand.* 82:55-63, 1994）、ベネズエラウマ脳脊髄炎ウイルス（Davis et al., *J. Virol.* 70: 3781-3787, 1996）、シンドビスウイルス（Pugachev et al., *Virology* 212: 587-594, 1995）およびTyウイルス様粒子（Allsopp et al., *Eur. J. Immunol* 26:

1951-1959, 1996) が挙げられる。好ましい実施形態では、ウイルスベクターはアデノウイルスである。

【0164】

ある種の用途のための別の好ましいウイルスは、アデノ関連ウイルス、二本鎖DNAウイルスである。アデノ関連ウイルスは、広範囲の細胞型および細胞種を感染させ得るし、複製欠損性になるよう工学処理することができる。それはさらに、熱および脂質溶媒安定性、造血細胞を含めた多様な系統の細胞における高形質導入頻度、ならびに重複感染抑制の欠如といった利点を有するため多数組みの形質導入を可能にする。アデノ関連ウイルスは、部位特異的様式でヒト細胞DNA中に組み込まれ、それにより挿入性突然変異誘発の可能性および挿入遺伝子発現の変動性を最小限にし得る。さらに、野生型アデノ関連ウイルス感染は、選定圧の非存在下で100より多い継代の間組織培養で継がれるが、これは、アデノ関連ウイルスゲノム組込みが相対的に安定した事象であることを意味する。アデノ関連ウイルスは、染色体外様式でも機能し得る。

【0165】

概して、その他の好ましいウイルスベクターは、非必須遺伝子が当該遺伝子に置き換えられた非細胞障害性真核生物ウイルスを基礎にしている。非細胞障害性ウイルスとしては、その生活環が、DNAへのゲノムウイルスRNAの逆転写とその後の宿主細胞DNAへのプロウイルス組込みを含むレトロウイルスが挙げられる。アデノウイルスおよびレトロウイルスは、ヒト遺伝子治療試験に関して承認されている。概して、レトロウイルスは、複製欠損性である（即ち、所望のタンパク質の合成を指示し得るが、感染性粒子を製造できない）。このような遺伝的に改変されたレトロウイルス発現ベクターは、*in vivo*での遺伝子の高効率性形質導入のための一般的実用性を有する。複製欠損性レトロウイルスを産生するための標準プロトコル（プラスミドへの外因性遺伝物質の組み入れの過程、プラスミドによるパッケージング細胞系のトランスフェクションの過程、パッケージング細胞系による組換えレトロウイルスの産生の過程、組織培地からのウイルス粒子の収集の過程、ならびにウイルス粒子による標的細胞の感染の過程を含む）は、Kriegler, M., "Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual,"

W.H. Freeman Co., New York (1990) および Murry, E.J. Ed. "Methods in Molecular Biology," vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, New Jersey (1991) に提示されている。

【0166】

好ましくは、上記の核酸送達ベクターは、(1) 哺乳類細胞中へ転写され、翻訳されることができる、そして宿主中での免疫応答を誘導し得る外因性遺伝物質を含有し、ならびに(2) 標的細胞、例えば哺乳類細胞の表面の受容体と選択的に結合し、それにより標的細胞への進入を獲得する配位子を表面に含有する。

【0167】

核酸が宿主中に *in vitro* で導入されるかまたは *in vivo* で導入されるかによって、細胞中に本発明の核酸を導入するための種々の技法を用いることができる。このような技法としては、核酸 - $CaPO_4$ 沈殿物のトランスフェクション、DEAEに関連した核酸のトランスフェクション、当該核酸を含めた上記のウイルスによるトランスフェクションまたは感染、リポソーム媒介性トランスフェクション等が挙げられる。ある種の用途のためには、特定の細胞に対して核酸を標的化するのが好ましい。このような場合、細胞中に本発明の核酸を送達するために用いられるビヒクル(例えば、レトロウイルスまたはその他のウイルス; リポソーム)は、それに結合されたターゲティング分子を有し得る。例えば、標的細胞上の表面膜タンパク質に特異的な抗体のような分子、または標的細胞上の受容体に対するリガンドは、核酸送達ビヒクルに結合されるか、またはその中に組み入れられ得る。好ましい抗体としては、癌関連抗原を、単独でまたはMHC分子との複合体として、選択的に結合する抗体が挙げられる。特に好ましいのは、モノクローナル抗体である。本発明の核酸を送達するためにリポソームが用いられる場合、エンドサイトーシスに関連した表面膜タンパク質と結合するタンパク質は、ターゲティングのためにおよび/または取込みを促すために、リポソーム処方物中に組み入れられ得る。このようなタンパク質としては、特定の細胞型に向性であるキャプシドタンパク質またはその断片、周期中にインターナリゼーションを受けるタンパク質に対する抗体、細胞内局在化を標的とし、細胞内半減期を強化するタンパク質等が挙げられる。当業者に既知であるように、高分子送達

系も、細胞中に核酸を送達するために首尾よく用いられている。このような系は、核酸の経口送達さえ可能にする。

【0168】

投与される場合、本発明の治療用組成物は、薬学的に許容し得る調製物中で投与され得る。このような調製物は、薬学的に許容し得る濃度の塩、緩衝剤、防腐剤、相溶性担体、補助免疫強化剤、例えばアジュバントおよびサイトカイン、ならびに任意にその他の治療剤をルーチンに含有し得る。

【0169】

本発明の治療薬は、注射を含めた任意の慣用的経路により、または長時間に亘る漸進的注入により投与することができる。投与は、例えば経口的、静脈内、腹腔内、筋内、腔内、皮下または経皮的であり得る。抗体が治療的に用いられる場合、好ましい投与経路は、肺エアロゾルによる。抗体を含有するエアロゾル送達系を調製するための技法は、当業者には周知である。一般に、このような系は、抗体の生物学的特性、例えばパラトープ結合能力を有意に損傷しない構成成分を利用すべきである（例えば、Sciarra and Cutie, "Aerosols," in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, 1990, pp 1694-1712参照、この記載内容は参照により本明細書中に援用される）。当業者は、過度の実験に頼ることなく、抗体エアロゾルを生成するための種々のパラメーターおよび条件を容易に決定し得る。本発明のアンチセンス調製物を用いる場合には、緩徐静脈内投与が好ましい。

【0170】

本発明の組成物は、有効量で投与される。「有効量」とは、単独でまたはさらなる用量とともに、所望の応答を生じる、例えば癌関連抗原に対する免疫応答を増大する癌関連抗原組成物の量である。1つまたはそれ以上の癌関連抗原の発現により特徴づけられる特定の疾患または症状、例えば精上皮腫を治療する場合には、望ましい応答は、疾患の進行の抑制である。これは、疾患の進行を一時的に遅くすることのみを包含し得るが、さらに好ましくは、永続的に疾患の進行を停止させることを含む。これは、ルーチン法により監視することができるし、あるいは本明細書中で考察される本発明の診断方法により監視することができる。疾

患または症状の治療に対する望ましい応答は、疾患または症状の発症を遅らせることでもあり、あるいは発症を防止することでさえある。

【0171】

このような量は、もちろん、治療中の特定の症状、症状の重篤度、年齢、体調、サイズおよび体重を含めた個々の患者パラメーター、治療の継続期間、併用治療の性質（もしあれば）、特定の投与経路、ならびに健康従事者の知識および専門的技術の範囲内の同様の剤によっている。これらの剤は、当業者には周知であって、ルーチンに過ぎない実験を用いて扱われ得る。個々の構成成分またはその組合せの最大用量が用いられるのが、即ち健全な医学的判断による最大安全用量が用いられるのが一般に好ましい。しかしながら、患者は、医学的理由、心理学的理由、または事実上あらゆるその他の理由のために低用量または耐容可能用量を主張し得るということが当業者には理解されよう。

【0172】

上記の方法に用いられる医薬組成物は、好ましくは滅菌性であり、患者への投与に適した重量または容量の単位での所望の応答を得るための有効量の癌関連抗原または癌関連抗原をコードする核酸を含有する。応答は、例えば遺伝子発現のような下流作用を測定することによって、または腫瘍の後退または疾患症状の低減といった癌関連抗原組成物の生理学的作用を測定することによって、レポーター系を介して癌関連抗原組成物の投与後の免疫応答を決定することにより測定することができる。その他の検定は当業者に既知であり、応答のレベルを測定するために用いることができる。

【0173】

対象に投与される癌関連抗原組成物（例えば、ポリペプチド、ペプチド、抗体、細胞または核酸）の用量は、異なるパラメーターにしたがって、特に用いられる投与方式および対象の状態にしたがって選定することができる。その他の剤としては、所望の治療期間が挙げられる。対象における応答が適用された初期用量で不十分である場合には、患者の耐容性が許す程度まで、より高用量（または異なるより局在化された送達経路による有効高用量）を用いることができる。

【0174】

概して、免疫応答を引き出すかまたは増大するための治療に関しては、癌関連抗原の用量が処方され、当分野の任意の標準手法により、1 ng ~ 1 mg の、好ましくは10 ng ~ 100 µg の用量で投与される。癌関連抗原またはその変異体をコードする核酸が用いられる場合、標準手法にしたがって1 ng ~ 0.1 mg の用量が一般に処方され、投与されるであろう。癌関連抗原組成物の投与のためのその他のプロトコルは当業者には既知であり、その場合、投与量、注射計画、注射部位、投与方式（例えば、腫瘍内）等は、上記とは変わる。例えば試験目的または獣医学的治療目的のためのヒト以外の哺乳類への癌関連抗原組成物の投与は、上記と実質的に同一条件下で実行される。

【0175】

癌関連抗原ペプチドが予防接種用に用いられる場合、抗原に対する免疫応答が増大されるように、癌関連抗原およびアジュバントを効率的に送達する投与方式が用いられ得る。アジュバント中の癌関連抗原ペプチドの投与のためには、好ましい方法としては、皮内、静脈内、筋肉内および皮下投与が挙げられる。これらは好ましい実施形態であるが、しかし本発明は、本明細書中に開示された特定の投与方式に限定されない。当分野の標準的参考文献（例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, 1990）は、免疫原をアジュバントとともに、または非アジュバント担体中で送達するための投与方式および処方物を提供する。

【0176】

投与される場合、本発明の医薬製剤は、薬学的に許容し得る量で、ならびに薬学的に許容し得る組成物で適用される。「薬学的に許容し得る」という用語は、活性成分の生物学的活性の有効性を妨げない非毒性物質を意味する。このような調製物は、塩、緩衝剤、防腐剤、相溶性担体および任意にその他の治療薬をルーチン的に含有し得る。製剤中に用いられる場合、塩は製薬上許容可能であるべきであるが、非製薬上許容可能塩は、その薬学的に許容し得る塩を調製するために便利に用いることできるし、本発明の範囲から除外されない。このような薬理学的および薬学的に許容し得る塩としては、以下の酸：塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、蟻酸、マロン酸、コ

ハク酸等から調製されるものが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、薬学的に許容し得る塩は、アルカリ金属またはアルカリ土類金属塩として、例えばナトリウム、カリウムまたはカルシウム塩として調製することができる。

【0177】

癌関連抗原組成物は、所望により薬学的に許容し得る担体と組合せられ得る。本明細書中で用いられる「薬学的に許容し得る担体」という用語は、ヒトへの投与に適した1つまたはそれ以上の相溶性固体または液体充填剤、希釈剤または封入物質を意味する。「担体」という用語は、活性成分がそれと組合せられて適用を促進する天然または合成の、有機または無機成分を意味する。医薬組成物の構成成分は、所望の製薬効力を実質的に減損する相互作用が存在しないような方式で、本発明の分子と、そして互いに混合することができる。

【0178】

医薬組成物は、適切な緩衝剤、例えば塩の酢酸、塩のクエン酸、塩のホウ酸および塩のリン酸を含有し得る。

【0179】

医薬組成物は、任意に、適切な防腐剤、例えば塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベンおよびチメロサルも含有し得る。

【0180】

医薬組成物は、単位投与形態で呈示されるのが便利であり得るし、製薬分野で周知の方法のいずれかにより調製することができる。すべての方法が、1つまたはそれ以上の補助成分を構成する担体と活性剤を会合させる過程を含む。概して、組成物は、均一にかつ密接に活性化合物を液体担体、微粉固体担体または両方と会合させることにより、そして次に、必要な場合には、生成物を造形することにより調製される。

【0181】

経口投与に適した組成物は、各々が予定量の活性化合物を含有する、カプセル、錠剤、ロゼンジのような離散単位として呈示することができる。その他の組成物としては、水性液体または非水性液体中の懸濁液、例えばシロップ、エリキシルまたはエマルションが挙げられる。

【0182】

非経口投与に適した組成物は、好ましくはレシピエントの血液と等張である、癌関連抗原ポリペプチドまたは核酸の滅菌水性または非水性調製物を含むのが便利である。この調製物は、適切な分散剤または湿潤剤および沈澱防止剤を用いて既知の方法により処方することができる。滅菌注射可能調製物は、例えば1,3-ブタンジオール中の溶液のような、非毒性非経口的に許容し得る希釈剤または溶媒中の滅菌注射可能溶液または懸濁液でもあり得る。用いることのできる許容し得るビヒクルおよび溶媒に、水、リンガー液および等張塩化ナトリウム溶液がある。さらに、滅菌固定油は、溶媒または懸濁媒体として用いられるのが便利である。この目的のために、合成モノ-またはジ-グリセリドを含めた任意の無刺激固定油が用いることできる。さらに、脂肪酸、例えばオレイン酸は、注射可能薬物の調製物中に用いることできる。経口、皮下、静脈内、筋内投与等に適した担体処方物は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PAに見出すことができる。

【0183】

[実施例]

材料と方法

血清、組織および細胞株

ルーチンの診断または療法手順中に、血清および腫瘍組織を得た。使用するまで、血清を - 80 で貯蔵した。無腫瘍患者の剖検から、正常組織を収集した。本研究は、地方倫理検討委員会 (local ethical review board (「Ethikkommission der Arztekammer des Saarlandes」)) により承認されていた。

【0184】

cDNA発現ライブラリーの構築

精巢特異的転写物に関して豊富化されたcDNA発現ライブラリーの構築は、他所に記載されている (Tureci et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5211-5216, 1998)。要するに、前に記載された抑制差引ハイブリッド形成PCRプロトコル (Diatchenko et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 93:6025-6030, 1996) に基づいて、テスタープローブとして精巢mRNAを用いて精巢特異的cD

NA断片のプールを調製し、一方、10例の健常組織（結腸、胃、脳、休止中および活性化末梢血単核球（PBMC）、骨格筋、肝臓、腎臓、肺および皮膚）由来のmRNAのプールにより、ドライバプローブを表した。差引により生成された精巢特異的cDNAの分画を用いて、オリジナル精巢mRNAから構築された慣用的cDNAファージミドライブラリーからそれらの長い等価物を捕獲した。捕獲のために、一本鎖pBK-CMVファージミドDNA（Stratagene, Heidelberg, Germany）を、標準プロトコルを用いた慣用的ファージ発現ライブラリーのin vivo大量切除後に抽出し、抑制PCR由来の精巢cDNAとハイブリダイズさせたが、後者はニトロセルロース膜上に固定されていた（Schleicher & Schull, Heidelberg, Germany）。

【0185】

ハイブリダイゼーション後、ニトロセルロース膜を洗浄し、固定化cDNAに結合されたファージミドDNAを溶離した。ピロコッカス属のPyrococcus furiosusからの熱安定性ポリメラーゼ（Stratagene）およびフランキングベクター特異的プライマー（pBK Reverse and Universe）を用いて二本鎖cDNA挿入物を合成した。制限酵素消化により合成cDNAを切断し、予め切断しておいた脱リン酸化ZAP Expressベクターに再連結した。連結生成物をファージ粒子中にパッケージングして、トランスフェクションおよびライブラリー増幅のために用いた。

【0186】

トランスフェクト体の免疫スクリーニング

精上皮腫（pT2N0M0）を有する31歳精上皮腫患者からの血清（1:5000稀釈）を用いて、前に詳細に記載された（Sahin, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:11810-11813, 1995; Tureci et al., Cancer Res. 56:4766-4772, 1996）と同様に、IgG抗体と反応性のクローンに関して免疫スクリーニングした。

【0187】

同定抗原の配列分析

陽性クローンをモノクローナル性に対してサブクローニングし、pBK-CM

Vファージミドのin vivo切除を施した。Li-CORシーケンサー上でEXCELサイクルシーケンシングキット (Epicentre) を用いて、cDNA挿入物のヌクレオチド配列を決定した。メーカーの使用説明書にしたがって、ベクター特異的プライマーで開始して、シーケンシングが進行した場合には転写体特異的プライマーを意図して、シーケンシングを実施した。DNASIS (Pharmacia Biotech) およびBLAST、ならびにEMBL、GenbankおよびPROSITEデータベースに関するソフトウェアを用いて、配列アラインメントを実施した。

【0188】

ノーザンブロット分析

標準プロトコルを用いて腫瘍および正常組織から抽出したRNAで、ノーザンブロットを実施した。ホルマリン/MOPS-ゲル中での電気泳動により、RNAの完全性を検査した。10 µg RNA/レーンを含むゲルをナイロン膜上にブロットした。予備ハイブリダイゼーション後、メンバーを転写体特異的³²P標識化cDNAプローブとともにハイブリダイゼーション溶液 (ExpressHyb, Clontech, Heidelberg, Germany) 中で65 °Cで一夜インキュベートした。次に膜を漸増的で高いストリンジェンシー (stringency) で洗浄し、1 × SSCおよび0.2% SDS中で65 °Cで最終洗浄した。Kodak X-OMAT-ARフィルムを用いて、スクリーンを強化して7日間まで、-70 °Cでオートラジオグラフィーを実行した。

【0189】

逆転写PCR

全細胞RNAを抽出し、無作為六量体およびdT(18)オリゴヌクレオチドを用いてプライム化し、Superscript II酵素 (Gibco/BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD) で逆転写した。このようにして得られたcDNAを、30サイクルPCR反応におけるβ-アクチン転写体の増幅により、完全性に関して試験した。2組の特定のプライマー対を用いて、HOM-TES-85転写体の存在を検査した。250-S (5' -gga gag gct act caa gat gca gaa gc-3' ; 配列番号1) および1480-AS (5' -gtt cag ctg ccc aaa gat aca tct acc-3' ; 配列番号2) による増幅は1230 bp断片を産生したが、一方、250

- Sおよび865 - AS (5' -ctg agt gac tat gag atc tct ctg agt-3' ; 配列番号3) は、HOM - TES - 85 cDNA中のそれぞれの配列との3' - オリゴヌクレオチドのアニーリングのために、2つの断片(615bpおよび429bp)を生じた。両プライマーはゲノムDNAからの断片を増幅せず、このことは、それらが異なるエキソンとハイブリダイズしたことを確証する。増幅cDNA産物を電気泳動により検査した。

【0190】

サザンブロット分析

2つの正常対照からの末梢血リンパ球から抽出した消化DNAを用いて、標準プロトコルによりサザンブロット分析を実施した(Tureci et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 5211-5216, 1998)。臭化エチジウムによる染色およびUV光下でのDNAの可視化により、等負荷の試料を検査した。一次クローンの全挿入物を含む [^{32}P] dCTP放射能標識化HOM - TES - 85プローブを用いたハイブリダイゼーションを、ExpressHyb緩衝液中で65°Cで実行した。洗浄およびオートラジオグラフィーは、ノーザンブロット分析の場合と同様に実施した。

【0191】

血清のスクリーニング

健常対照およびその他の腫瘍患者からの同種異系血清中の抗体の検出のために、陽性クローンHOM - TES - 85からのファージを内部陰性対照としてのcDNAライブラリーの非反応性ファージと1:10の比で混合し、細菌をトランスフェクトするために用いた。同種異系患者および健常対照からの1:200稀釈大腸菌吸収血清を、前記の免疫スクリーニング検定を用いて高力価化HOM - TES - 85特異的IgGの存在に関して試験した。

【0192】

実施例1: 反応性クローンの検出および予備的特徴づけ

精上皮腫患者からの1:200稀釈血清を用いて、約200,000クローンをスクリーニングした。6つの異なる転写体を示す9つの一次陽性クローンを見出した(表1)。他所に記載したように、ヌクレオチド配列、異なる健常および

腫瘍性組織における発現パターン、ならびに健常対照および腫瘍患者からの血清との反応性を査定することにより、各抗原に関する最初の特徴づけを実施した。Genbank、EMBLおよびSwissprotデータベースのBLASTプログラムを用いて、配列相同性を決定した。相同データベース登録の寄託番号は括弧内に示される。同定された抗原転写体の配列をGenbankに寄託した。寄託番号を表1に示す。正常肺、結腸、筋肉、末梢血リンパ球(PBL)、肝臓、腎臓、乳房、脾臓、精巣組織由来の正常cDNAのパネル中の特異的RT-PCRにより、組織発現のパターンを調べた。選定症例では、ノーザンプロットによっても発現を査定した。精上皮腫および卵巣癌患者ならびに健常個体由来の血清のパネルを用いてファージ検定により、体液性免疫応答の頻度を決定した。同一転写体を示す抗原は、表1中では一群とみなされる。

【0193】

表1. 差引cDNA精巣発現ライブラリーの免疫スクリーニングにより同定された抗原の塩基分析結果

【表1】

表 1:

抗原	Genbank 寄託番号	既知の遺伝子 との相同性	正常組織中の 発現	血清との 反応性
HOM-TES-83 (SEQ ID NO:4)	AF044923	ヒトhookタンパク質 と同一	ノーザンプロットにより示された 精巣中での高過剰発現。 わずかな遍在性発現。	0/10 健常 0/14 精上皮腫
HOM-TES-84 HOM-TES-86 (SEQ ID NO:5)	AF124433	ユビキチン- カルボキシル末端 ヒドラーゼ遺伝子と 同様のドメインを有する	検出されず	3/12 健常
HOM-TES-87 (SEQ ID NO:7)	AF124431	<i>X. laevis</i> 有糸分裂 pp43 [U95097] と同様	ノーザンプロットにより示された 精巣中での高過剰発現。 RT-PCRにより検出可能な 正常組織中での発現。	0/10 健常 1/10 精上皮腫
HOM-TES-88	AF124434	相同性なし	RT-PCRによる遍在性発現	0/12 健常

【表2】

抗原	Genbank 寄託番号	既知の遺伝子 との相同性	正常組織中の 発現	血清との 反応性
HOM-TES-94 HOM-TES-95 (SEQ ID NO:8)			ノーザンプロットによる試験なし。	1/11 精上皮腫
HOM-TES-103 (SEQ ID NO:9)	AF124432	相同性なし	RT-PCRによる遍在性発現。 ノーザンプロットによる試験なし。	0/12 健常 1/10 精上皮腫
HOM-TES-85 (SEQ ID NO:10)	NM_016383; AF124430	相同性なし	精巣に限定される 発現	0/12 健常 2/10 精上皮腫 1/7 卵巣癌

【0194】

配列決定およびデータベースとの比較は、クローンHOM-TES-83(配列番号4)の配列が、エンドサイトーシスの調節に関与することが知られているショウジョウバエhook-1タンパク質(Kramer and Phistry, J. Cell. Biol., 133:1205-1215, 1996)の推定ヒト同等物と同一である、ということを明示した。

【0195】

2つの抗原は、既知のタンパク質との配列類似性を共有する。HOM-TES-87(配列番号7)はアフリカツメガエル*X. laevis*有糸分裂タンパク質p43(Stukenberg et al., Curr. Biol. 7:338-348, 1997)との高相同性を有し、この増殖関連遺伝子のヒト同等物であるという見込みが最も大きい。クローンHOM-TES-88、HOM-TES-94およびHOM-TES-95(配列番号8)は、マウス形質細胞腫に特異的であると報告された生成物をコードするマウス遺伝子PC326(Bergsagel et al., Oncogene 7:2059-2064, 1992)と有意の相同性を有する同一転写体を表す。しかしながら、この転写体についての我々の予備的RT-PCR発現分析は、正常組織中での非限定性発現を実証した。それにもかかわらず、我々の最初のin silicoクローニングの試みは、この転写体が関連配列の、そしてこの遺伝子産物のマウス相同体に関して記載された特定発現パターンに関して全ファミリーに属することを明示したため、本明細書中に記載した種類の付加的研究(例えばRT-PCR、ノーザンプロット)は、このファミリーの個々のメンバーがより限定された発現パターンを有するか否かを決定し得る。

【0196】

B L A S Tアルゴリズム (Altschul, J. Mol. Biol., 215:403-410, 1990; National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> が主催) を用いた検索は、クローンHOM - TES 84 / 86 (DNA = 配列番号5、タンパク質 = 配列番号6、リーディングフレーム3中のnt 370で開始) に関する有意のヌクレオチド配列相同性を明示しなかった。アミノ酸パターン検索は、この抗原が、ユビキチン - カルボキシ末端ヒドロラーゼタンパク質の特性を有意に示す2つのドメインを含有するということを実証した。本遺伝子はイントロンを欠くため、この転写体のRT - PCR分析は、ゲノムDNA夾雑により妨害された。

【0197】

実施例2 : HOM - TES - 85の配列分析

クローンHOM - TES - 85からの1747bp cDNA挿入物のシーケンシングおよび分析は、翻訳開始部位の一般的特徴にしたがうN末端メチオニンを示した。この後には、39.5kDaの予測分子量を有するタンパク質 (配列番号11) をコードする939bpのORF (配列番号10のnt 34 ~ 972) が、そして典型的ポリアデニル化信号を含有する長い3' - UTRが続く。公的データベースとの配列比較は、核酸またはタンパク質レベルでのいかなる有意の同一性または相同性適合も生じなかった。

【0198】

HOM - TES - 85タンパク質のカルボキシ末端部分は、相同性7残基の2つの長い連続一列整列反復で構成される (配列番号11のAA 160 ~ 288 ; AA 160 ~ 236およびAA 237 ~ 288)。第二7残基反復 (配列番号11のAA 237 ~ 288) は、8つのロイシン反復からなる異常に長いロイシンジッパーを含有する。図1は、HOM - TES - 85ロイシンジッパーのらせんホイール図を示すが、この場合、7残基反復の残基はa ~ gとして標識されている。

【0199】

HOM - TES - 85は、N末端近くのcAMP依存性プロテインキナーゼに関する3つの部位 (配列番号11のAA 5 ~ 8、AA 56 ~ 59およびAA 90

～93)を含めて、いくつかのキナーゼに関する推定リン酸化部位を有する。いくつかのアルゴリズムを用いた配座分析(Garnier et al., Methods Enzymol. 266:540-553, 1996; Geourjon and Deleage, Comput. Appl. Biosci. 11:681-684, 1995; Deleage and Roux, Protein Eng. 1:289-294, 1987)は、ロイシンジッパー領域における、ならびに一般的塩基性アミノ酸を有するN末端領域におけるらせん構造に関する高い確率を明示した。信号配列に関するスクリーニングおよびpSORTツールを用いた区画化モチーフ(Horton and Nakai, Intell. Syst. Molec. Biol. 4:109-115, 1996)は、遺伝子産物の核局在化に関する65%の肯定的予測を開示した。

【0200】

疎水性残基の小群はらせんの位置bおよびcに出現するので、HOM-TESS-85のロイシンジッパー領域は、非定型両親媒性を示す。その結果、らせんは全方向に疎水性面を露呈する。これらの位置に脂肪族残基を有する他のロイシンジッパータンパク質に関するSwissprotデータベースの検索は、HOM-TESS-85が専らN-myc癌原遺伝子とこの特徴を共有することを明示した。DNA結合ロイシンジッパー分子においては、ジッパー領域は通常C末端に置かれ、特定のタンパク質二量化の媒介に関与し、このタンパク質二量化は次に、N末端塩基性領域のDNA結合活性に本質的に先要である。同様に、HOM-TESS-85のらせんN末端塩基性領域は、DNAとの相互作用に関与し得る。リン酸化モチーフおよび予測核局在化とともに、HOM-TESS-85は、腫瘍細胞中の転写過程に関与する調節腫瘍特異的DNA結合タンパク質であり得る。

【0201】

実施例3：HOM-TESS-85のサザンプロット分析

3つの異なる個体の末梢血リンパ球(PBL)および腎臓からのHa e I I I -消化高分子量ゲノムDNAのサザンプロットハイブリダイゼーションは、個体間多型性を有する5または6つの帯域を明示した。HOM-TESS-85全長プローブの5または6つの帯域とのハイブリダイゼーションは、大型単一遺伝子を、または密接に関連した遺伝子(単数または複数)の共存を示唆する。

【0202】

実施例4：HOM - TES - 85の発現範囲

ノーザンブロットハイブリダイゼーションおよび無作為六量体 - プライム化総RNAでの転写特異的オリゴヌクレオチドによりRT - PCR正常組織および腫瘍検体におけるHOM - TES - 85の発現を分析した。分析した組織は、正常組織（肺、脾臓、筋肉、PBMC、精巣、肝臓、腎臓、乳房および結腸）および腫瘍検体（11の黒色腫）であった。発現は、精巣以外のいかなる正常成人組織でも検出されなかった。さらに別の種類の組織を用いて、RT - PCRおよびノーザンブロットによる正常組織の分析を反復した。結果は、前記の結果と一致し、表2に報告する。

【0203】

表2．正常組織におけるHOM - TES - 85 / CT - 8発現のRT - PCRおよびノーザンブロット*分析

【表3】

組織	発現 (陽性/試験された数)
脳	0/4
結腸	0/2
肺	0/2
脾臓	0/2
肝臓	0/2
末梢血リンパ球	0/2
扁桃	0/2
卵巣	0/4
前立腺	0/2
精巣	0/2

*HOM - TES - 85 / CT - 8に特異的なオリゴヌクレオチドを用いたRT - PCRにより、発現分析を実施した。選定試料に関しては、ノーザンブロット分析により発現を確認した。

【0204】

さらに腫瘍由来第一鎖cDNAの大型パネルの特異的RT - PCRにより腫瘍

組織における発現を、選定試料に関してはノーザンブロットによりさらに調べた。プライマー対293S/865ASおよび293S/1480ASをRT-PCRのために用いて、同一結果を得た。HOM-TEST-85発現は、7/22の卵巣癌、4/13の精上皮腫、2/21の結腸直腸腫瘍、4/12の肺癌、8/22の悪性黒色腫、7/20の神経膠腫、1/1の奇形癌および2つの黒色腫細胞株で、特異的RT-PCRにより検出した(表3)。前立腺、乳房、腎臓の癌および髄膜腫においては、発現は見出されなかった。

【0205】

表3. 悪性組織におけるHOM-TEST-85/CT-8の発現

【表4】

腫瘍型	HOM-TEST-85/CT-8発現 (陽性/試験された数)
黒色腫	8/22
黒色腫細胞株	2/2
乳癌	0/25
結腸直腸癌	2/21
精上皮腫	5/13
奇形腫	1/1
前立腺癌	0/15
神経膠腫	7/20
髄膜腫	0/5
肺癌	4/12
卵巣癌	7/22

【0206】

組織学的サブタイプ、等級分類および段階に関しては、体腔上皮由来の卵巣癌ならびに性索支質由来の卵巣癌はともに、HOM-TEST-85を発現した。本研究に含まれた大多数の卵巣腫瘍が上皮起源のものであり、それらのうちの5つがHOM-TEST-85/CT-8を発現した。2つの検体は、性索支質由来のもの(一方はSertoli-Leydig細胞腫瘍で、もう一方は中等度分化顆粒膜細胞腫)であって、ともにHOM-TEST-85/CT-8を発現した。データは、HO

M - T E S - 8 5 / C T - 8 発現が特定起源の卵巣癌に限定されないことを示す。

【0207】

ノーザンブロットにおける陽性検体のプロービングは、ポリ(A) - 尾部とともにクローン化された全長配列と適合性である1.85 kbの転写体を明示した。曝露時間の長さは、精巣と比較して、腫瘍における中等度に豊富な転写体レベルを示唆した。

【0208】

H O M - T E S - 8 5 は、その発現が精巣を除く正常組織中で検出されない(表2)が、しかし種々の割合の異なる種類の腫瘍中では検出される(表3)ので、C T 抗原に関する判定規準を満たす。C T A の示唆される命名法(Gaugler et al., J. Exp. Med., 79:921-930, 1995)にしたがって、C T - 8 としてのH O M - T E S - 8 5 の名称が提唱される。多数のC T A が黒色腫中で発現されることが示されているが、しかしH O M - T E S - 8 5 はおそらくは、精上皮腫、神経膠腫、肺癌および卵巣癌に関して多大の臨床的興味を有するが、この場合、今日までに知られているC T A の発現は、比較的稀である。

【0209】

実施例5：抗H O M - T E S - 8 5 抗体に関する同種異系血清のスクリーニング

抗H O M - T E S - 8 5 I g G 抗体の頻度を評価するために、患者および正常対照の血清を、ファージ検定を用いてスクリーニングした。卵巣癌患者7名のうちの1名、および精上皮腫を有する患者15名のうちのさらに別の1名はH O M - T E S - 8 5 に対する検出可能血清反応性を有したが、一方、対照および他の種類の癌に罹患した患者からの血清は陰性であった(表4)。抗H O M - T E S - 8 5 抗体応答を有する患者3名はすべて、R T - P C R により査定したところH O M - T E S - 8 5 を発現する腫瘍を有した。

【0210】

表4. ファージ検定により査定した場合のH O M - T E S - 8 5 / C T - 8 に対する体液性免疫応答

【表5】

患者の診断	陽性の血清の数／試験された数
精上皮腫	2／15
卵巣癌	1／7
乳癌	0／8
黒色腫	0／10
健常対照	0／20

【0211】

実施例6：組換え体癌関連抗原の調製

例えば、ELISAにより、癌関連抗原に反応性である抗原に関する患者血清のスクリーニングを促すために、標準手法にしたがって組換え体タンパク質を調製する。一製造方法では、癌関連抗原をコードするクローンをバキュロウイルス発現ベクター中にサブクローニングして、組換え発現ベクターを適切な昆虫細胞中に導入する。バキュロウイルス／昆虫クローニング系は、昆虫細胞中で翻訳後修飾が実行されるために、好ましい。別の好ましい真核生物系は、Invitrogen社からのショウジョウバエ発現系である。多量の組換え体タンパク質を発現するクローンを選択し、それを用いて、組換え体タンパク質を生産する。特定のクローンを単離するために用いられた患者からの血清を用いて、あるいは同種異系血清により認識される癌関連抗原の場合には、クローンを単離するために用いられた患者のいずれかからの血清あるいはクローンの遺伝子産物を認識する血清により、抗体認識に関して組換え体タンパク質を試験する。

【0212】

あるいは、細菌中での組換え体タンパク質の産生のために、癌関連抗原クローンを原核生物発現ベクター中に挿入する。酵母発現系および哺乳類細胞培養系を含めたその他の系も用い得る。

【0213】

実施例7：癌関連抗原に対する抗体の調製

上記の実施例6と同様に産生した組換え体癌関連抗原を用いて、標準手法にしたがって、ポリクローナル抗血清およびモノクローナル抗体を生成する。そのよ

うにして生成した抗血清および抗体を、特定の癌関連抗原を発現することが既知の患者の細胞抽出物の検定（例えばE L I S A検定）における抗血清／抗体を用いることにより、癌関連抗原の的確な認識に関して試験する。これらの抗体は、実験目的（例えば、癌関連抗原の局在化、免疫沈降、ウエスタンブロット等）ならびに診断目的（例えば、組織生検の抽出物の試験、癌関連抗原の存在に関する試験）に用い得る。

【0214】

実施例8：類似のおよび異なる起源の癌における癌関連抗原の発現

本明細書中に記載した方法により、1つまたはそれ以上の癌関連抗原の発現を多様な腫瘍試料で検査して、もし存在する場合には、どの他の悪性疾患が診断されおよび／または治療されるべきであるかを決定する。好ましくは前記のようにR T - P C Rおよびノーザンブロット手法により、すでに検査済みではない癌関連抗原の発現（例えば、H O M - T E S - 84、86、88、94、95、103）に関して、腫瘍細胞株および腫瘍試料を検査する。すべての癌関連抗原のタンパク質発現を調べるために、E L I S Aおよびウエスタンブロットのような抗体ベースの検定も用い得る。癌関連抗原の発現を検査するための好ましい方法（他の癌およびさらなる同一型癌患者における）は、修飾S E R E Xプロトコル（前記と同様）を用いる同種異系血清型分類である。

【0215】

上記のすべてにおいて、癌関連抗原の初期単離のための血清を提供した患者の腫瘍からの抽出物を、好ましくは陽性対照として用いる。上記の実施例に記載した組換え発現ベクターを含有する細胞も、陽性対照として用い得る。

【0216】

上記の実験から生じた結果は、診断法（例えば癌の存在を決定する、治療を受けている患者の予後を決定する等）および治療法（例えば、ワクチン組成物等）に用いるための多数の癌関連核酸および／またはポリペプチドのパネルを提供する。

【0217】

実施例9：癌関連抗原に陽性の患者のH L A型分類

どのHLA分子が本明細書中に開示する癌関連抗原由来のペプチドを呈示するかを決定するために、癌関連抗原を発現する患者の細胞をHLA型分類する。末梢血リンパ球を患者から採取して、HLAクラスIまたはクラスIIに関して、ならびにクラスIまたはクラスIIの特定のサブタイプに関して型分類する。型分類のために、腫瘍生検試料も用い得る。臨床免疫学の分野における標準的方法のいずれかにより、例えば特異的モノクローナル抗体による認識により、またはHLA対立遺伝子特異的PCR（例えば、WO97/31126に記載されているような）により、HLA型分類を実行し得る。

【0218】

実施例10：MHCクラスIおよびクラスII分子により呈示される癌関連抗原ペプチドの特徴づけ

対象における抗体応答を惹起する抗原は、細胞媒介性免疫応答も惹起し得る。細胞は、免疫監視機構のための細胞表面のMHCクラスIまたはクラスII分子上での呈示のために、タンパク質をペプチドに処理する。ある種のMHC/HLA分子により呈示されるペプチドは、一般に、モチーフに合致する。これらのモチーフはいくつかの場合に既知であり、潜在のクラスIおよび/またはクラスIIペプチドの存在に関して癌関連抗原をスクリーニングするために用い得る。クラスIおよびクラスIIモチーフの要約は、公表されている（例えば、Rammensee et al., Immunogenetics 41:178-228, 1995）。上記のような実験結果に基づいて、個々の癌関連抗原を示すHLA型が既知である。したがって、これらのHLA分子により示されるペプチドのモチーフを優先的に調べる。

【0219】

コンピューターアルゴリズムを用いてクラスIおよびクラスIIモチーフを調べることができる。例えば、既知のクラスIモチーフに基づいた潜在のCTLエピトープを予測するためのコンピュータープログラムが記載されている（例えば、Parker et al., J Immunol. 152:163, 1994; D'Amato et al., Human Immunol. 43:13-18, 1995; Drijfhout et al., Human Immunol. 43:1-12, 1995参照）。HLA結合予測は、National Institutes of Health WWWサイト（URL <http://bimas.dcrt.nih.gov>）でインターネットを介して利用可能なアルゴリズム

ムを用いて、例えばデフォルト設定を用いて、便利になし得る。例えば、HOM - TES - 84およびHOM - TES - 85タンパク質に関して予測されるいくつかのHLA結合ペプチドを同定し、以下の表に列挙する。

【0220】

表5：HOM - TES - 85における予測されるHLAクラスI結合モチーフ

【表6】

HOM-TES-84 HLA ペプチド

HLA	配列	位置	配列番号
A1	KVEPNNYLSI	447 - 456	12
A1	ELEYNQMCK	481 - 490	13
A1	NNEQVYIPK	525 - 533	14
A1	NADLQRFQR	600 - 608	15
A1	VTESTNGFY	708 - 716	16
A1	MGDPLQAYR	816 - 824	17
A1	ISDVYDFQK	842 - 850	18
A_0201	KLKEALIVTV	21 - 30	19
A_0201	FQLSNNIRSV	51 - 60	20
A_0201	QLSNNIRSV	52 - 60	21
A_0201	RLTLKNNVFL	73 - 82	22
A_0201	NVFLFIDKL	79 - 87	23
A_0201	KLSYRDAKQL	86 - 95	24
A_0201	KQLNMFLDI	93 - 101	25
A_0201	SVFESRNML	118 - 126	26
A_0201	NMLKEIDKT	124 - 132	27
A_0201	FMSKSPTHV	149 - 157	28
A_0201	KLGPSENTNC	223 - 232	29
A_0201	NLDETVLAT	237 - 245	30
A_0201	QLQOGFPNL	282 - 290	31
A_0201	YMNAVLQSL	295 - 303	32
A_0201	AVLQSLFAI	298 - 306	33
A_0201	SLFAIPSA	302 - 310	34
A_0201	ALIMTLTQL	327 - 335	35
A_0201	IMTLTQLLAL	329 - 338	36
A_0201	QLLALKDFC	334 - 342	37
A_0201	LLALKDFCST	335 - 344	38
A_0201	ELLGNVKKV	349 - 357	39

【0221】

【表7】

A_0201	NMQNDAHEFL	368 - 377	40
A_0201	MQNDAHEFL	369 - 377	41
A_0201	FLGQCLDQL	376 - 384	42
A_0201	VVANFEFEL	424 - 432	43
A_0201	FEFELQLSLI	428 - 437	44
A_0201	YLSINLHQET	453 - 462	45
A_0201	NLHQETKPL	457 - 465	46
A_0201	QMCKQKSCV	487 - 495	47
A_0201	COMCKQKSCV	486 - 495	48
A_0201	RLSRVLI IHL	502 - 511	49
A_0201	WLLVKNNEQV	520 - 529	50
A_0201	LLVKNNEQV	521 - 529	51
A_0201	MISEINSPL	569 - 577	52
A_0201	KLTSESSDSL	582 - 591	53
A_0201	AIGEKELPV	639 - 647	54
A_0201	SLMDQGDISL	650 - 659	55
A_0201	VMYEDGGKLI	661 - 670	56
A_0201	KLISSPDTRL	668 - 677	57
A_0201	RLVEVHLQEV	676 - 685	58
A_0201	GMAEQLOQC	729 - 737	59
A_0201	SIIDEFLQQA	741 - 750	60
A_0201	FLQQAPPGV	746 - 755	61
A_0201	TLNQSTELRL	767 - 776	62
A_0201	RLQKADLNHL	775 - 784	63
A_0201	LQAYRLISV	820 - 828	64
A_0201	RLISVVSHI	824 - 832	65
A_0201	YIFFYMHNGI	878 - 887	66
A_0201	YMHNGIFEEL	882 - 891	67
A_0201	RLPSTQAGV	899 - 907	68
A3	KLVVTFKSGK	37 - 46	69
A3	FLFIDKLSY	81 - 89	70
A3	FLDI IHQNK	98 - 106	71
A3	SVFESRMLK	118 - 127	72
A3	FMSKSPTHVK	149 - 158	73
A3	SLKYIQSNRK	199 - 208	74
A3	VLATQTLNAK	242 - 251	75
A3	TLTQLLALK	331 - 339	76
A3	ALKDFCSTK	337 - 345	77
A3	FLGQCLDQLK	376 - 385	78
A3	KLNATLNTGK	390 - 399	79
A3	QMHVGSAAATK	409 - 418	80
A3	SLVLPVEPDK	590 - 599	81
A3	KMGDPLQAY	815 - 823	82
A3	RLHSGYIFFY	873 - 882	83
A3	GIFEELLRK	886 - 894	84
A24	SYRDAKQLNM	88 - 97	85
A24	SYQKMPLFM	142 - 150	86
A24	KYKTDSLKYI	194 - 203	87
A24	CYMNAVLQSL	294 - 303	88
A24	EYIPFEALI	321 - 329	89
A24	EFLGQCLDQL	375 - 384	90

【0222】

【表8】

A24	VFVCPVVANF	419 - 428	91
A24	NFEFELQLSL	427 - 436	92
A24	TFSRLSRVL	499 - 507	93
A24	RYSFNNAWL	513 - 521	94
A24	VYIPKSLSL	529 - 537	95
A24	MYEDGGKLI	662 - 670	96
A24	FYDCKENRI	715 - 723	97
A24	HYISDVYDF	840 - 848	98
A24	VYDFQKQAWF	845 - 854	99
A24	TYNDLCVSEI	855 - 864	100
B7	VQRQKEIKL	30 - 38	101
B7	TVQRQKEIKL	29 - 38	102
B7	NVFLFIDKL	79 - 87	23
B7	SVFESRNL	118 - 126	26
B7	KPSYQKMPL	140 - 148	103
B7	SPTHVKKGIL	153 - 162	104
B7	DVQTNEDIL	176 - 184	105
B7	SNRKNPSSL	205 - 213	106
B7	NPNLDETVL	235 - 243	107
B7	DPRCNKAQV	266 - 274	108
B7	VPLDSHSQQL	274 - 283	109
B7	FPNLGNTCYM	287 - 296	110
B7	IPSFADDLL	306 - 314	111
B7	IPFEALIMTL	323 - 332	112
B7	VVANFEFEL	424 - 432	43
B7	EPNNYLSINL	449 - 458	113
B7	LPLSIONSL	465 - 473	114
B7	VARHTFSRL	495 - 503	115
B7	CVARHTFSRL	494 - 503	116
B7	LSRVLIHHL	503 - 511	117
B7	QVYIPKSLSL	528 - 537	118
B7	APVGKCEVL	555 - 563	119
B7	SPLTPSMKL	575 - 583	120
B7	DTRLVEVHL	674 - 682	121
B7	APPPGVRKL	750 - 758	122
B7	ELRLQKADL	773 - 781	123
B7	NTRGEAKEL	802 - 810	124
B7	LLRKAENSRL	891 - 900	125
B8	MTKLKEALI	19 - 27	126
B8	VQRQKEIKL	30 - 38	101
B8	HCKKRQSHL	64 - 72	127
B8	DAKQLNMFL	91 - 99	128
B8	STKIKRELL	343 - 351	129
B8	FSRLSRVLII	500 - 509	130
B8_8mer	MTKLKEAL	19 - 26	131
B8_8mer	STKIKREL	343 - 350	132
B8_8mer	MCKQKSCV	488 - 495	133
B_3501	KPSYQKMPL	140 - 148	103
B_3501	SPTHVKKGIL	153 - 162	104
B_3501	NPNLDETVL	235 - 243	107

【表9】

B_3501	VPLDSHSQQL	274 - 283	109
B_3501	FPNLGNTCY	287 - 295	134
B_3501	IPSFADDLL	306 - 314	111
B_3501	IPFEALIMTL	323 - 332	112
B_3501	CPVVANFEF	422 - 430	135
B_3501	EPNNYLSINL	449 - 458	113
B_3501	LPLSIQNSL	465 - 473	114
B_3501	IPKSLSLSSY	531 - 540	136
B_3501	APVVGKCEVL	555 - 563	119
B_3501	SPLTPSMKL	575 - 583	120
B_3501	VPQHPELQKY	685 - 694	137
B_3501	APPPGVRKL	750 - 758	122
B3501_8mer	NPVVPNKKY	188 - 195	138
B3501_8mer	NPSSLEDL	209 - 216	139
B3501_8mer	IPSFADDL	306 - 313	140
B3501_8mer	VPWEYIPF	318 - 325	141
B3501_8mer	IPFEALIM	323 - 330	142
B3501_8mer	KSLSLSSY	533 - 540	143
B3501_8mer	LPVADSLM	645 - 652	144
B3501_8mer	NPGNKNIL	791 - 798	145
B3501_8mer	DPLQAYRL	818 - 825	146
B_4403	KEIKLVVTF	34 - 42	147
B_4403	KEIDKTSFY	127 - 135	148
B_4403	EDNPVPNKKY	186 - 195	149
B_4403	DNPVPNKKY	187 - 195	150
B_4403	DETVLATQT	239 - 247	151
B_4403	RELLGNVKKV	348 - 357	152
B_4403	SEINSPLTPS	571 - 580	153
B_4403	KELPVADSL	643 - 651	154
B_4403	GDISLPVMY	655 - 663	155
B_4403	YEKTNTFVEF	694 - 703	156
B_4403	IEESIIDEF	738 - 746	157
B_4403	QEARLHSGY	870 - 878	158

【0224】

【表10】

HOM-TES-85 HLA ペプチド

HLA	配列	位置	配列番号
A1	SLDDIIYK	29 - 37	159
A1	NSEEGNHDK	82 - 90	160
A_0201	FLEMSLDDI	25 - 33	161
A_0201	DLIVTQRDL	272 - 280	162
A_0201	DLIATQRDL	265 - 273	163
		258 - 266	163
		244 - 252	163
A_0201	LIVTQRDLV	273 - 281	164
A_0201	LIATQRDLI	266 - 275	165
		259 - 257	165
		252 - 260	165

【0225】

【表11】

A_0201	DLIATQKDL	251 - 259	166
A_0201	DLVDTQSDL	237 - 245	167
A_0201	I IYKELEGT	34 - 242	168
A_0201	DLVATERDL	279 - 287	169
A_0201	KVNFLDMSL	22 - 30	170
A_0201	TLSEKVPPN	8 - 16	171
A_0201	SLDDI I IYK	29 - 37	159
A_0201	LVATERDLI	280 - 288	172
A_0201	VTQRDLVAT	275 - 283	173
A_0201	IATQRDLIV	267 - 275	174
A_0201	SRNHLESL	162 - 170	175
A_0201	MASFRKLT	1 - 9	176
A_0201	ATQRDLIAT	261 - 269	177
		247 - 255	177
A_0201	ATQKDLIAT	254 - 262	178
A_0201	I I IYKELEG	33 - 41	179
A_0201	DMSLDDI I I	27 - 35	180
A_0201	RKLTSEKV	5 - 13	181
A_0201	ATQRDLIVT	268 - 276	182
A_0201	LVDTQSDLI	238 - 246	183
A_0201	LIATQRDLIV	266 - 275	184
A_0201	DLIVTQRDLV	272 - 281	185
A_0201	I I IYKELECT	33 - 42	186
A_0201	SLDDI I IYKE	29 - 38	187
A_0201	DLIATQRDLI	265 - 274	188
		258 - 257	188
		244 - 253	188
A_0201	DLIATQKDLI	251 - 260	189
A_0201	FLDMSLDDI I	25 - 34	190
A_0201	DLVDTQSDLI	237 - 246	191
A_0201	DLVATERDLI	279 - 288	192
A_0201	LIATQRDLIA	259 - 268	193
		245 - 254	193
A_0201	LIATQKDLIA	252 - 261	194
A_0201	IVTQRDLVAT	274 - 283	195
A3	SLDDI I IYK	29 - 37	159
A24	GFKSGQHPL	98 - 106	196
A24	RYSTGKNTI	303 - 311	197
B7	KVNFLDMSL	22 - 30	170
B7	HPSRKKVNFL	17 - 26	198
B7	RSRNHLESL	161 - 170	199
B_3501	HPSRKKVNF	17 - 25	200
B_3501	MSLDDI I IY	28 - 36	201
B_3501	KPSQKPSGF	91 - 99	202
B_3501	RSRNHLESL	161 - 170	199
B3501_8mer	HPLNGQPL	104 - 111	203
B3501_8mer	RSRSQGDL	231 - 238	204
B_4403	IEQEKCDNY	112 - 121	205

H L AクラスIIペプチドの測定方法およびそれに対する置換方法もまた既知である(例えばStrominger and Wucherpfenning (P C T / U S 9 6 / 0 3 1 8 2))。

【0227】

実施例11: 抗原をコードする癌関連ポリペプチドの部分の同定

前記のように単離された癌関連抗原が細胞溶解性Tリンパ球応答を引き出し得るか否かを決定するために、前記の予測H L Aペプチドを用いたC D 8⁺T細胞の生成のための以下の方法を実施する。

【0228】

要するに、H L A - A 2 0 1⁺健常ドナー(または検査中のどのようなH L A結合ペプチドに対しても陽性のドナー)の血液から、ficoll-Hypaque (Pharmacia)を用いて、末梢血単核球(P B M C)を単離する。プラスチック上での37

度の一晩インキュベーションによるプラスチック付着により、非付着性末梢血リンパ球(P B L)から付着単球を分離する。非付着性P B Lは必要になるまで低温保存するが、一方、付着細胞は、1000 U / m lのI L - 4および1000 U / m lのG M - C S Fを含有するA I M V培地(Gibco)中での5日間のインキュベーションにより、樹状細胞(D C)に分化するよう刺激する。

【0229】

7日目に、 8×10^5 D Cに50 m g / m lの外因的添加ペプチドを、1000 U / m lのT N F および10,000 U / m lのI L - 1 を含有する培地中で37 度で2時間負荷する。次に、ペプチドを間欠的に投与したD Cを、ペプチドを含有しない過剰量の培地中で2回洗浄する。自系P B Lを解氷し、5 n g / m lのI L - 7および20 U / m lのI L - 2を含有する培地中で、 4×10^7 P B Lを 8×10^5 ペプチド負荷D Cとともに同時インキュベートする(比率50 : 1)。次にこれらの培養を、37 度でインキュベートする。

【0230】

14、21および28日目に、リンパ球培養を、7日目の自系ペプチドを間欠的に投与したD C細胞でさらに刺激する。エリスポット(Elispot)のような機能検定、ならびに細胞傷害性検定を、14、21および/または28日目に実行

する。エリスポット検定は、メーカーの使用説明書にしたがって、IFN- γ 用の市販のエリスポット系、NCプレート(Millipore)、抗体(Holzel)を用いて実施する。細胞傷害性検定は、クロム放出型検定と類似のユーロピウム標識ペーアの検定を用いて実施する(Blomberg et al., J. Immunol Methods 114:191-195, 1988)。

【0231】

同様の方法を実施して、癌関連抗原がT細胞により認識される1つまたはそれ以上のHLAクラスIIペプチドを含有するか否かを決定する。前記のようなHLAクラスIIモチーフに関して癌関連抗原ポリペプチドの配列を検索し得る。クラスIペプチドと対照して、クラスIIペプチドは限定数の細胞型により提示される。したがって、これらの実験のためには、好ましくはHLAクラスII分子を発現する樹状細胞またはB細胞クローンを用いる。

【0232】

表6：配列相同性のGenBank寄託番号リスト

【表12】

HOM-TE5-83 (SEQ ID NO:4)

AF044923, AF045432, U52868, AF032922, U48696, AF039698, U65376, S78798, U66300, AF033565, U44386, Y15421, U39066, Y17148, AF030515, AJ010903, Z97178, AF101425, U41811, AC004787, AC004513, AF027174, AF001551, AC004054, AC004649, AF033096, AB011481, AC004459, AF061786, AF047464, U37573, AL034583, Z49980, AL009227, AL023823, L06133, Z97066, AF077538, AJ222586, U91522, U96967, L04663, U48697, Z82215, X68367, AF034416, U91521, Z80361, AC004679, AB004546, AB000617, D14824, Z97196, AF000196, U67595, AA159497, W02610, T78470, AA317590, H40247, H77785, T90811, AA707590, T25043, H90416, H90470, N84722, AA093861, AA214702, N83992, N55669, N83993, N86694, N84721, N84718, AA263076, AA216240, AA093224, AA094237, AA248551, N84601, N56555, N84733, AA210625, N84712, N83991, N84048, AA247827, AA249064, N55681, AA471140, N85900, AA471338, N84711, N84602, N84874, N89520, N84734, N55717, AA285245, AA089553, T85713, H58760, N84735, N84855, N87989, T78548, N84873, N56118, N87317, AA089554, N84828, N84561, N84720, N55641, N88601, N84723, N84736, N84830, AA096066, N84714, AA095641, AA096046, N84665, N55698, N84016, N88496, AA248055, N84764, AA248540, AA215911, AA247965, N55658, AA247964, N55684, N88518, N83168, N88782, AA263154, AA249295, N84563, AA090034, AA093897, AA210635, N55697, N55639, N85930, N88643, AA095359, N87898, N55653, N85031, N84569, N84829, N56179, N84300, AA215908, N55675, N83897, AA210634, AA460287, N88760, N84262, H40248, AA094769, N88107, AA247755, AA527091, N86441, N84562, AA471132, N71515, N93688, H62375, N55724, N71071, AA962562, AA249232, N63557, H82122, A1263206, W15324, W45549, A1264341, N84892, N88721, R26158, R38030, AA040091, W72586, AA210636, AA837398, R33839, N75863, N30346, A1253021, T50744, N89732, AA777852, R76796, AA009488, AA210641, Z42580, H21958, H54881, H14743, H49102, AA127602, A1167483, N93281, A1253022, N56396, AA971439, N31511, AA938908, A1201960, AA635743, AA063769, A1153154, AA259895, AA221179, AA175431, AA222683, A1119050, AA510576, AA163741.

【 0 2 3 3 】

【表 1 3】

AA271287, AA423048, AA734534, AA163559, AA146103, AU041276, W62646, AI390568, AU020283, AA760466, AA960429, AU042263, AA655629, AA265339, AI313592, AA208274, AA959259, AI390199, AA623568, C89476, AA793357, AI325590, AA285408, W40959, AA555783, C89109, AA473205, W64733, AA138684, AA474354, AA562556, AA755428, C89043, AI353166, AI354060, AI353694, AI353413, AI353159, AI353169, AA933116, AI235773, AA819471, AA925593, C39845, AA996568, AI112818, AA819501, AI176018, Z48423, AI11865, AI177662, AI180243, AI072388, AI177791, AA933363, AI176043, AI013473, AF041408, C46551, AI060205, AA997478, C29768, AA925635, AI177765, AI178946, AI179929, AI136932, AI103944, C34993, AU008936, D36745, C62715, AI172257, AI231787, AI176821, AI406819, R62064, AI103956, AA998655, AA818207, AI397313, C19512, AI103922, T15173, C65586, AI384895, AI137215, AA851347, AA924928, H07834, AI103571, AA875102, AA996719, AI176754, AI397732, AI072219, AI138031, AI170365, AA754038, AA819017, AA957411, AA925826, AA818841, AI012811, AI385276, R61938, AA842387, AI030644, AA996678, AI007606, AI014038, AI059391, AI071253, AI030753, AI113700, AI170891, AI172516, AI392014, AA933448, AA900231, AI180384, AA842493, AI179593, AI175763, AI045102, AA955950, AA964252, R62026, AA257572, C98703, AA956796, AI043996, AI175769, AI137671, AI136868, AI144660, AI045429, AI177440, AA962989, AI073174, N94700, AI013886, AA875549, AI169598, AI045345, AA924877, AI146156, AA965045, AI112960, AA754176, AI068754, AA996517, AI136870, AI045182, AI176687, AI070067, AI070455, AA547871, T00607, AI112152, AA840646, N81438, AA998743, AI178187, AI178690, AA118224, AA933231, C67287, C69931, AI007649, AI137216, AI102951, AA963034, AA660535, AI145091, AI169162, AI104015, AI176643, AI392367, AA957045, AA933499, AI007651, AI010361, AI071429, AI136544, AI169315, AU005075, AA858479, AA956869, N98171, AA246112, AI030919, AI059533, AI073245, AI136600, AI137539, AI137400, AI138001, AA142295, AI233966, AT001096, AU005198, AI170293, AA925197, AA841342, AI044524, AI137301, AI029013, AI136171, AI137140, AI007864, AI104309, AI176249, R47115, AA925652, AI179399, AA955824, AI176867, AI176813, AI137442, AI137403, AA675831, AI072261, AA999172, AI029010, AI072290, AI176635, AI176263, AA998891, AA964987, AA908025, AU032968, AI385297, L19154, AA866480, AI392595, AU033109, AI178908, AI177405, AA956780, AI397565, AA933362, AI043755, AI030526, AI044807, AA433148, AA925057, I43668, I02094, E00915, I30479, I40371, I41023, A08351, AR018830, A39966, I86849, AR008278, THC205223, THC150248, THC152424, THC179487, THC154497, THC149197, THC214674, THC149159, THC147005, THC149371, THC213088, THC179408, THC206981, THC207073, THC173043, THC113540, THC172082, THC180340, THC180341, THC207073, THC200913, THC155246, THC202325, THC177377, THC177574, THC177377, THC155246, THC156636, THC176027, THC155246, THC213587, THC93502, THC149538.

HOM-TES-84/86 3' (SEQ ID NO:5)

Z81365, AC002524, AC006204, U80017, D50925, U46753, AC006088, AL031228, Z97356, U79240, AC004919, AC004130, AC004594, AC002352, Z82076, M74716, AC004841, AC004415, AF030882, AA909508, N31434, AA084051, AA228062, AA195129, AI475696.1, AI051291, AA961654, AI291256, AU051119, AI503662, AA692931, AA549132, AA239122, W77412, AI006611, AI006648, AI558238.1, AA145053, AA168206, AI463784, AA276678, AI181898, W29515, AA617497, AA694709, AA950554, AI100102, AA817713, D34318, R47180, AA875513, D27555, AA696871, AA202154, D64500, AA946427.

【 0 2 3 4 】

【表 1 4】

AI233726, AI516726, AA850599, AA820767, AI045306, AI543460, AA893725, AI547608, AI102863, AI514445, AA392877, AI543459, AI170351, AI574901.1, AI530959, A60169.1, A46020.1, A46012.1, I87380, I89868, AR014270, A50831.1, I62304, E02138, I59889, A39300.1, AR014241, AI2360.1, A04707.1, I09513, I31140, A26182.1, A05350.1, A03789.1, A50828.1, A57756.1, I73182, A09995.1, AR014271, AR014269, I73180, A07020.1.

HOM-TE5-84/86 5' (SEQ ID NO:6)

UI4567, AC004656, AL009174, M31951, AC004463, AC004143, AC005577, M90058, AC005585, AC004212, AC004997, AC004025, U91323, AL021937, Z98941, AL009179, AL021155, AC005972, AC002365, X82126, AC005099, AL022324, AF030876, Z86064, AF031078, AC002378, AC004677, AC000090, M10065, Z93023, AC005192, AC003037, AL031293, AC004472, AC005803, AD000864, AC005562, AC004160, AC006163, AC005932, AC003695, U07563, AD000833, AF024533, AC002985, AF001548, AC006501, AC004699, AL009181, AC002116, AC004876.2, AC002477, AC003071, AC004129, AC007014, AC002549, AC005330, AC005295, AC005912, AC002312, AC004125, AC002349, Z49918, AC000067, AC004084, AC003086, AC004778, AC005899, AC004236, AL022476.2, AC004408, AC002395, AC005529, AC000379, AC004132, AC002070, AC005211, U47924, AC003684, AC005952, AC005329, AC002364, Z84484, AL022334, Z68162, AC005781, AC003010, Z98257, AC005356, AC004983, AC002300, Z99774, AC004762, AC002369, AC000159, AC004805, U52112, AC005778, AF111168, C87864, W62377, AI430519, AA501297, AU018489, AU019533, AI326216, AI503861, AA501128, AA516955, AI413410, AA501262, W51648, C88193, AA261001, W61986, AI425687, AI042727, W62449, C87438, AI272569, W77222, AA435247, AI526365, C87922, C88111, AI042721, AI425650, AI046782, C86532, AI042687, AA470242, AA270527, AA544076, AI551876.1, C87581, AI550077.1, AA537471, AA114713, AI463886, C87512, AI550714.1, AA086548, AA863851, W09657, AU016622, AA117753, AI506614, AU043112, AI413665, AI506213, AI467583, AA711962, AI066909, H39328, AI539956, H39389, AI51560, AI218793, AA550283, AI044039, AI145414, W06387, H39351, AI411496, AI138025, AI144749, AI549274, AI176698, AI137385, AA964476, AI066064, AI111838, AA819889, AA818261, AI044651, AI555357.1, AI058918, AI180353, AI137218, AI232721, AI234683, AI104953, AI103758, AI535033, AI071598, AA924075, AI556467.1, AI071716, AI145388, C69332, AI547778, AA924214, AI104547, AI013373, AA946023, AA800835, AI233681, AA963340, AA923893, AI237409, T00372, AI556862.1, AI501019, AA923995, C69739, AA891772, AA997533, D67872, D70097, AA859499, M79850, AI178891, AA946419, AI548486, AI010741, AI136965, AA893373, AI177088, AI233014, AI412119, AI070034, AI232696, D74926, AI535528, AI549051, AI105188, AI071477, AI045871, AI233888, AA957761, AI171208, AA817997, AI548785, AA925900, AI169541, AI043787, AI179734, AI556644.1, AI008802, AI170964, AI556772.1, AI548343, AA946366, AI229818, AI146082, A39482.1, A39479.1, I74786, A52294.1, AR016035, I31750, A12027.1, I38532, I19138, A62791.1, A51133.1, I59730, I40899, I40904, I09371, A62786.1, A51132.1, I43100, I43096, I73182, I73246, A62802.1, I59642, AR014241, A51135.1, A62777.1, A47886.1, I17291, A47885.1, I22254, I22241, I96182, I08667, I55948, I25678, I15157, AR020909, I96203, A48605.1, I66249, I21323, E05293, AR003505, I73181, I17548, I45974, I11727, E01058, I23499, A62792.1, I04664, AR007160, AR007159, I51997, AR007118, I31097, A58884.1, A19035.1, A19036.1, I38891, I34294, I76960, I18513, AR022305, A65972.1, E12183, A62731.1, A28005.1, AR000118, AR000113, AR022524, A03929.1, I34189, AR008154.

【 0 2 3 5 】

【表 1 5】

A45331.1, A42944.1, I24738, E01888, I36306, E02193, I74660, A62929.1, E00140, A38669.1, I38533, A51134.1, A12032.1, E01662, A26236.1, AR022523, E12964, A28928.1, I31125, I16884, I15767, AR009805, AR002554, A26415.1, I76967, I08711, I08101, A63257.1, I01958, AR016729, I92783, AR009214, I15549, I34187, I96204, AR014571, I62418, A58551.1, A42329.1, A45340.1, I17129, I02034, I08362, I34190, A37262.1, AR011888, I40313, I07269, A45367.1, I16885, I02155, I09076, I17130, I01147, I41409, I47706, I25849, AR022304, I81226, E03351, A37264.1, I09383, I80049, A64383.1, AR016442, E12647, I09380, A00794.1, I24432, I04391, E02192, E03829, A64531.1, A64510.1, A64529.1, AR008155, I15970, A25212.1, E05931, I07993, I05479, A22672.1, I56088, I41411, E03350, A62778.1, I80039, I79967, A45356.1, I14076, I89273, A65890.1, I02857, A43445.1, I08406, I09139, I08349, I07890, E12979, I36934, I40908, I93602, I89344, I66342, I68025, I67702, A43764.1, I28360, I86854, I62750, I67703, A25214.1, A51136.1, I62419, I13706, A08862.1, A62780.1, I09337, I08110, A62781.1, I26614, I86415, A62764.1, A21829.1, I71461, I71463, E12100, E03352, A22938.1, I76969, I00326, E02302, AR021107, I08032, AR014384, E02588, AR013984, I51756, I43820, AR007149, I87420, A48600.1, I08636, I05274, I89811, A08856.1, I86855, E03600, A65971.1, A63032.1, E02252, I65583, I27606, I27609, I82202, I31089, I43668, I40314, A45355.1, AR014294, A62794.1, A62795.1, I06826, I96178, I76959, I76970, A41486.1, I09216, I89274, I08764, I26616, A65264.1, I52002, E08844, AR002262, I05094, A02514.1, I76956, I05724, A62784.1, I60524, I82133, A13669.1, A13672.1, A62482.1, A37109.1, I01960, I08571, E08652, I86156, I79963, I28845, A01733.1, I36464, A37107.1, I86159, A19638.1.

HOM-TES-87 (SEQ ID NO:7)

AF001548, U95097, AF001501, AF015037, Z36949, X13666, U40270, J03158, U70374, AC004648, AF049895, U68249, AC005915, AF072268.1, U68072, AC004612, Y07642, U50871, AF068862, AC005373, Z96810, D64002, M33336, S54705, U18678, AF069291, M18468, AA813001, AA286988, A1457781, AI221417, AI092521, AI278369, AA027065, AA846365, AA766287, AA535104, AA286989, AA909880, AA644529, AA360087, AI400692.1, AI092126, AI092523, H24090, AA442918, Z42805, R55738, A1536016, AA843559, AA203108, AA263154, H06476, AA502875, AA247964, N87317, AA332821, N40100, N55684, A1525171, W22363, AA143570, F02425, AA976582, AA015682, AA089553, AA312215, T83757, AA383441, H16636, W05105, A1552096.1, AA086744, AI115481, AA014964, AA037969, AA497991, AA530017, AA184072, AA798929, AI483047, AI483356, AI483156, AI408920, Z92686, AI397652, AI483182, AI483326, AI483209, AI483386, AI483346, AI483139, AI483224, AI397853, AA754092, AI483157, AI483344, AI483328, AA257755, AI483331, AI483123, C19877, AI483142, AI534191, AI483153, AI483197, AA754068, AI483126, AA471673, AI398237, AI483150, AI483191, AI483176, AI483162, AI483340, AA257424, AI483332, AI105522, AI483146, AI392322, AI392465, AI483233, AI228145, AI391994, AI483337, AI483320, AI483342, AI483215, AI483158, AI483190, AI109261, AI483333, AI483148, D39376, AA818425, AA471641, AI483119, AI483341, C98607, AI483298, AA406690, AI483283, AI483111, AI483316, C96750, AI483279, AI228978, AI392388, AI398149, AI398196, AI483327, T22798, AI105486, AI483155, AI483164, AI483220, AI058098, AI483228, AI483261, AA454249, AI392453, AI483347, AI483175, AI483235, AI353694, AI483225, AI483237, AI483242, AI483263, AI483343, R90674, AA054906, H07815, AI483250, AA430929, AI483312, AI483212, AI012887, AI353159, AA754053, N96914, AI483211, AI483280, AI397752, AI483137, AI483545, AA257682, AI483373, AI483115, AI483265, AI113274.

【 0 2 3 6 】

【表 1 6】

AI483185, AI483204, AI483181, AI483205, AI483100, AI483056, AI483335, AI483252, D23855, AI483329, AI068590, AA752481, H36500, H07829, AI483247, AI483257, AI353413, AI399616, AI483281, I32740, I38469, I77040, A50265.1, A50263.1, I08883, I46766, A38680.1.

HOM-TES-88/94/95 (SEQ ID NO:8)

D50617, D44602, AF071095, AF071097, AE000711, U28374, M85293, AF051934, U05676, Z54196, J04815, AC005966, X17017, U93264, AF049634, AA479513, W19888, AA626631, AA447852, W00613, AI334344, AA447700, AA150083, AA486299, H82142, H08089, AA085991, H71626, AA909807, AA888983, AI026772, C05160, AA347780, R61226, AA971016, AA677738, AI004624, AA340276, AI217393, AA130053, T32511, AA337664, R14260, H08090, N54388, C04239, AA897589, AA652646, AA328725, Z28501, Z38367, AA370106, R96217, AA301061, Z42140, Z19403, AA371349, T31977, R86231, H54488, R61225, AI086866, AA479515, N63302, AA973047, AA936602, AA883965, AI263407, Z24943, AI275063, AA458950, AA150018, AA923063, AI554276.1, AA236098, AI472144, AA486193, AI287605, Z42097, C02287, D62662, AI082201, AI274243, AA909806, AI565387.1, AA085621, AI141767, AA835001, T39190, AA622645, AA458812, H20695, AI241319, T90895, AA886340, T40464, AA377965, AA401704, AA522852, AA225842, N49411, N55669, AA184049, AA184050, AA154852, AU024524, AA119248, AU023952, AA998195, H31119, AA848541, AA848540, AI011035, AI484782, AI072661, AI483241, D32315, D64488, D34006, T75876, AI483097, D64678, I89392, AR022360, E02219, E08016, I76964, AR018830, E04316, A58381.1, E02869, AI2519.1, I73380, E02376.

HOM-TES-103 (SEQ ID NO:9)

Z65613, Z58697, AB010070, AF024654, AB015474, X71428, S75762, X99005, L11366, S62138, S62140, Z83219, AB022223, S75763, U10438, AF071213, AC004266, X71427, AE001006, AF076183, AL032637, Z97025, AF076184, M32281, AC006585.6, Z75543, AB016882, X95262, AL031369.1, AL009028, M32280, U19270, Z32687, X90869, U40799, Z48583, Z66559, AC004433, AB003107, AC004755, AF079444, AF025424, M59318, U89695, L38513, AF006002, Z19158, M60978, D45890.1, X13595, L38512, U66526, AF047428, U31164.1, U25281, U09964, L26320, M95490, Z72004, AC002447, U83230, X81325, X03912, M10058, Z50875, AC000098, AF045571, L38514, U33175, U70211, U83231, U31159.1, AC005854, U64603, X56226, X53374, X62716.1, AA043139, AI096830, AI161033, AI367873, AI423929.1, AA029284, AA040870, AA707496, AA121381, AI374945, AI216022, AI264487, AI473234.1, AA121575, AI015278, AA343698, D31076, AI201752, D30927, AA251428, N47018, AA368626, D31203, AI468485, AA635737, AI247682, AA251427, U25930, AA232601, AA340991, R35742, AI497627, T80687, H09206, R12342, AA148871, AA781174, R74490, AA805673, C15931, N69291, AA195853, AI090561, AI278132, AI393008.1, AA978015, AI205970, W42886, AI095706, AA749259, H58598, W42792, AA514046, AI242705, H39660, AI554918.1, AI554087.1, T11997, AA226982, AA614097, AA714104, AI206080, AA808052, AA582301.

【 0 2 3 7 】

【表 1 7】

AA615677, AA124754, AA870414, AA637162, AA137700, W44164, AA915237, AA590789, AU015748, AA693246, AU017040, AA914852, AA197621, W34772, W29410, AI197723, W84035, AA183775, AA139018, AA387873, AA940503, AA615957, AA116469, AI006420, AU035924, AA387647, AA930164, AI411183, AI575205.1, AI578460.1, AI070580, AI411178, AA924434, AA858819, AI577981.1, AI170079, AI104361, AI103143, AI070284, AI166371, AI177669, AI227782, AI069081, C22780, C63872, C94106, AI502501, C24819, D48959, C20232, D48988, C74340, AU033205, AU004975, C74221, AI399489, AI496191, D48372, D41023, C99275, C25189, D49283, C90102, C90097, AU003729, C69236, Z47394, C41670, AI437843, C44945, AI134261, C43691, AI010961, AI180435, T04717, AI238015, T70653, C43953, AA697982, AI231905, D73619, C39661, C47272, E08233, E12702, I16765, A27284.1, A27258.1, I50804, I41349, A27276.1, I50805, A27274.1, I08056, A51776.1, E13193, I60505, A48404.1, I96207, I23305, I73389, E07277, A23635.1, I12551, I56080, I34034, I08038, I73380, I14943, I59730, AR007301, AR021160, I22065.

HOM-TE5-85 (SEQ ID NO:10)

AF032922, U65376, AI004935, Y15421, AF045432, S78798, AF103726, AF039698, U48696, U52868, U39066, AF033565, AF030515, Y17148, U66300, U44386, AJ010903, Z97178, AF101425, U41811, AF033096, AF027174, Z72514, AF061786, Z49980, U37573, U78082, U32582, X96604, AA471140, AA210625, N84601, N83991, N84712, N84602, N89520, AA471338, AA249064, AA093861, AA094237, AA093224, N55681, N84733, N84711, N55669, AA214702, N83993, N84874, N84722, N83992, N85900, N56555, AA263076, AA248551, AA216240, N84718, N84721, AA247827, N86694, N84048, N84723, N84734, N84714, N55698, N84735, N84665, N87317, AA096066, H58760, N84828, N84873, AA248540, AA089554, AA096046, N55658, N84561, N88782, AA248055, AA215911, N55717, N88496, AA095641, N84736, N55684, N88601, N84830, N84720, AA247965, N55641, N84016, AA247964, N88518, AA089553, N84764, N84855, N83168, AA285245, N56118, N87989, N84563, N55653, AA263154, AA249295, N55697, AA093897, N87898, AA095359, N84300, AA210635, N85930, AA090034, N55639, N85031, AA247755, N84569, N84829, AA210634, AA215908, N56179, N55675, N83897, T25017, N84262, N86441, AA527091, N88760, N84562, N88107, H82122, N71594, N93837, AA094769, N88643, W45549, AI263206, R26158, AA040091, AA471132, AA249232, N84892, N88721, R38030, AA837398, AA156784, N71071, AA047536, W15324, AA421059, AA693963, R76796, AA421544, N70806, N93294, AA210636, W76542, W72586, N30346, N62435, AA421082, N55724, AA834824, T27986, N93688, AA022469, AA524123, AA693497, AI077556, N58190, N48161, C05801, N72255, N83262, AI241303, T69289, N31060, AA045799, H70027, AA634087, H54881, W68672, N75202, C19100, AA412561, AI309044, AA210641, W44426, D51124, AA423230, AI551609.1, AI428388, AI467555, AA212810, AA208274, AA561517, W11774, AI573582.1, AA617092, AA866732, AA755285, AA815727, AA874170, AI050479, AI553236.1, AI353166, AI353169, AI354060, AI553159, AI353694, AI353413, AA933116, AI010101, AA946507, AA819377, AA965190, AI170254, AI179306, AI104294, AI175760, AA901096, AI058297, AI044932, AA752812, AI179399, H07769, AI104356, AA754227, AA933363, AI072813, AI059160, AI176018, AI180243, AA435473, AI137632, AI030526, AA925643, AF041408, AI071191, AI11701, AI136334, AA088161, AI179890, AI137118, AI137686, AA964298, AI177851, AI102562, AI072188, AA944363, AA998274, AI072016, AA925983, AA944344, AI176613, AI045145, D43357, AI179918, AI178318, AA406761, AA752761, AI137103, AI170346, AI072358, AA842512, AA944465, AI144718, AI060296, AI045112, AA996580.

【 0 2 3 8 】

【表 1 8】

AI043714, AI009641, AI138042, AI137138, AI137227, AI176056, AA859564, AA859963, AA901411, D48239, AA109365, AI045829, AI071234, AA109423, AA957307, AA858599, AI065703, AI071422, AI138012, AI104268, AI100474, AI137107, AA925514, AI137436, AI177791, N28061, AI237589, AA840999, AA997716, AF083278, D47088, L19151, AI102579, AA901058, AI136747, AI237633, AI113047, AI385354, AI072294, AI029665, AI070626, AI178709, AI508166, AI044277, AI104339, AA803772, AI044436, AI044641, AA866527, AI398012, AI179446, AA819708, AI177786, AI353750, AA818816, AI137813, AI060318, AI072849, AA998866, AA997449, AA925512, AA890966, AA901138, AI070323, AI179272, AI387267, AI112438, AI029667, AI137785, AI045056, AI234795, AI072421, AI144764, AA875194, AI072480, AA924543, AI111659, AI170114, AA964744, AI179614, AI060006, AA956716, AI102791, AA819011, AI392346, AA964530, AA394539, AI029595, AI072676, AA901150, AA963888, AI071964, AA997431, AI071719, AA849393, AA858789, AA956285, AI177300, AA866250, AI137956, AI070065, AA997359, AI071540, AA964863, AI052950, AA957111, AA964820, AA900519, AA859635, AF083281, AI229521, AI180108, AI179134, AI179052, AI144966, AI144946, AI137495, AI111696, AI112050, AI068434, AI044264, AI045957, AI398048, AI011837, AI009615, AA997586, AA161655, AI136235, AI177046, AI137067, AI178243, AI397741, AA956309, AA926254, AA924987, AA925962, AA875580, AA817956, AI385176, AI236652, AI177116, AI105189, AA963669, AA818196, AI137645, AI030627, AI045239, AI409867, AA925257, AA875071, AA858759, AI398332, AI172515, AI171211, D47119, AI103909, AI102007, AI137954, AI012599, AA818888, AI045508, AI236198, AI072043, AI406899, AA900194, AA900054, AI072293, AA818985, AI178550, AI177916, AA900186, AI169730, AI137897, AI137765, AI072664, AA964780, AI136884, AI071804, AI112389, AI045758, AI044489, AI044248, AA852040, AI137060, AA944487, AA754182, AI137091, AI179451, AI175912, AI175779, AI029369, AI137726, AI144819, AI145347, AI059283, AI170350, AI175907, AI137276, AI104035, AI178762, AI177290, AI229494, AI180251, AI253806, AA924156, AI385307, AA509328, AA952317, AI136623, AI072383, AA859469, AI058604, AI044993, AI030774, AA963992, AI009143, AA964269, AA957874, AA965599, AA754215, Z29190, D39884, AA819165, AA998593, AA858856, AI166854, AI012876, AI234100, AI180399, AI136429, AI111529, AI069945, AI066048, AI059814, AA874993, D47170, AI398022, AA955886, AI044301, AI045697, AA924441, AI180364, AA875218, AI102947, AI137521, AI136662, AI136629, AI136376, AI112210, AI112188, AI058963, AI070205, AI029238, AA999324, AI136934, AA924125, AA072471, AA956675, AI137226, AA955424, AA924539, AA900367, AI104107, AI389074, AI175985, AI172614, AI170355, AI103247, AI144861, AI144669, AI398143, AI070514, AI070362, AI052952, AI028947, AI399523, AI043605, AI043686, AI404137, C83596, C82740, AA161657, E03585, I86415, E12936, AR008277, I68296, AR025455, A19976, I81219, A19977, A45655, I86389, I44902, AR008281, THC205223, THC150248, THC179487, THC149197, THC147005, THC152424, THC154497, THC149159, THC214674, THC149371, THC213088, THC179408, THC206981, THC155886, THC212609, THC159576, THC136194, THC165367, THC165368.

【図面の簡単な説明】

【図 1】 HOM - TES - 85 ロイシンジッパーのらせんホイール図を示す

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Ludwig Institute for Cancer Research

5 <120> CANCER ASSOCIATED ANTIGENS AND USES THEREFOR

<130> L0461/7058WO

<150> US 09/346,498

10 <151> 1999-06-30

<160> 205

<170> FastSEQ for Windows Version 3.0

15 <210> 1
<211> 26
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20 <400> 1
ggagaggcta ctcaagatgc agaagc 26

<210> 2

25 <211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 2

30 gttcagctgc ccaaagatac atctacc 27

<210> 3
<211> 27
<212> DNA

35 <213> Homo sapiens

<400> 3
ctgagtgact atgagatctc tctgagt 27

40 <210> 4
<211> 1367
<212> DNA
<213> Homo sapiens

45 <400> 4
ctagtggatc caaagaattc ggcacgagga aacaagagcc ctgaaagatg aaatagatgt 60
tcttagggct acctctgata aagcaaataa actggagtca acagttgaga tatatcgtca 120
gaagctacaa gatctgaatg accttcgcaa gcaggtgaaa actttacagg aaaccaacat 180
gatgtatatg cataatacag tcagcttaga agaagaatta aaaaaagcaa atgcagcacg 240
50 tacacaatta gaaacataca aaaggcaggt tcaagatctt catgttaaac tttcctccga 300
atccaagagg gcagacacac tagcgtttga aatgaagcgg cttgaagaaa aacatgaagc 360
tttacttaag gaaaaagaga gactaattga gcagcgtgat actttgaaag aaacaaatga 420
agagcttcga tgttcacaag tacaacagga ccacctaac caaacagatg catctgctac 480
aaaaagttat gagaatcttg ctgctgagat tatgccagtg gaatataggg aggtgtttat 540
55 tcgactgcaa catgaaaata agatgcttcg cttacagcaa gaaggctctg agaatgaacg 600
tattgaggaa cttcaggagc agctagaaca gaaacaccgt aaaatgaatg aactggaac 660
tgagcagagg ctgagcaaag agcgtattag agaattgcag cagcagattg aggacctcca 720
gaaatcttta caggaacaag gttccaagtc tgaaggcgaa agttccagca aattaaagca 780
gaagttgaa gctcatatgg aaaaactcac agaggtccat gaagaattac agaagaaaca 840
60 agaactcatt gaagatcttc agccagatat aaatcaaaat gtacaaaaga tcaatgaact 900

	tgaagctgct	cttcagaaga	aagatgaaga	tatgaaagca	atggaggaaa	gatataaaat	960
	gtacttggag	aaagccagaa	atgtaataaa	aactttggat	cccaagttaa	atccagcatc	1020
	agctgaaata	atgctactaa	gaaagcagtt	ggcagagaaa	gagagaagaa	ttgagattct	1080
	ggagagttaa	tgcaaaagtag	caaaaattccg	tgattatgaa	gaaaactcat	tgtttctgcg	1140
5	tggtataata	agagtctagc	attccagaaa	ctggggatgg	aatctagact	tgtagagcggc	1200
	ggtggtgcct	gcagtgacac	tggtgcgtgc	actcctgcgc	ggtctttctt	agcgcagcaa	1260
	cggcacatca	ccaacaccag	aagaaatctc	tctgttaaag	tccttgctac	aacatctgat	1320
	taaactgcaa	aaaaaacaaa	acaaaacaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaac		1367
10		<210> 5					
		<211> 3635					
		<212> DNA					
		<213> Homo sapiens					
15		<400> 5					
	gaattcggca	cgaggctcat	gcctgtaatc	ccagcacttt	gggaggccga	ggcgggagga	60
	tcgcttgtgc	ccaggagttg	gagaccagcc	tgggcaacat	agcgcctatgg	agtctaatacc	120
	aggcactttg	gaaggctgag	gctggaggat	cgattgaggc	caggagtttg	ggaccaccct	180
	gggcaacata	gcaagatctc	atctctgaaa	aaagaattat	catccactca	cccagaacag	240
20	ctctocaaac	ttaacagccg	tggcagtcag	agctctgcct	gcagtgtagc	catggacagc	300
	tctccaaaagc	ttaaacttca	gtaaattgac	tcaagtttct	tgggaaagaa	ctgttacata	360
	aagaaaggat	gatatctcta	aaggatgtg	gattcatcca	aatttggagc	cagaagactg	420
	ggatgactaa	gctgaaagaa	gctctcattg	aaacagtgca	aagacaaaag	gaaattaaac	480
	tggtggtcac	tttcaaactc	ggaaaattta	taagaatttt	tcagctgagc	aacaacatta	540
25	gaagtgtggg	ccttagacat	tgtaaaaaaa	gacaaagtca	cctgcgttta	actttgaaaa	600
	acaacgtggt	cctgtttatt	gacaaattat	cctacagaga	tgctaaacag	ttgaatatgt	660
	tcttggacat	aatccaccaa	aacaaatctc	agcaaccctc	gaaatctgat	gatgattgga	720
	gtgtgtttga	aagcaggaat	atgctgaagg	aaattgacaa	aacttcattt	tacagcattt	780
	gtaacaagcc	aagttatcag	aagatgcctt	tgtttatgtc	aaaatcacca	acacatgga	840
30	aaaaggggat	attagaaaaat	caagggtggg	aggggcaaaa	cacactatca	tctgatgtac	900
	agacaaatga	ggacattctg	aaggaagata	accctgtacc	aaacaagaaa	tataagacag	960
	attcctttaa	atatatacaa	agcaatagga	agaaccctac	aagtttagag	gatttagaaa	1020
	aagatagaga	tttgaaactc	gggccttcat	tcaatacca	ctgtaatgga	aatcctaacc	1080
	tagatgagac	tggtcttgca	accagactc	tcaatgccaa	aaatggtttg	acatctccat	1140
35	tggaaaccaga	gcacagccag	ggtgacccaa	gatgcaacaa	agcccagggtg	cctcttgact	1200
	ctcattcaca	gcaactgcag	caggggttcc	ccaatttggg	aaacacctgt	tacatgaatg	1260
	cagttttaca	atcgctatct	gcaattccat	cttttgctga	tgacttactc	actcaagggtg	1320
	tcccatggga	atatattccc	tttgaggctc	ttattatgac	cttgaccagc	ctgcttgctt	1380
	tgaaagattt	ctgtagtaca	aagatcaaga	gagaattact	tgggaatggt	aaaaaagctc	1440
40	tttcagcagt	tgcaaaaata	ttttctggca	acatgcagaa	tgatgctcat	gagtttttag	1500
	gtcagtggtt	agaccagctg	aaagaagaca	tggaaaaatt	aaatgccact	ttgaatactg	1560
	ggaagaatg	tggggatgaa	aattcatctc	cacaaatgca	tgttggtagt	gctgccacca	1620
	aagtgtttgt	ttgcctggtt	ggttctaatt	ttgagtttga	attgcagctc	tcccttattt	1680
	gtaaagcttg	tggtcatgct	gttctcaagg	tagaacctaa	taattatctc	tccatcaacc	1740
45	tgaccaaga	aacaaaacca	cttcccttgt	ccattcagaa	ttcttttagat	cttttcttta	1800
	aagaagaaga	gcttgaatat	aactgtcaga	tgtgtaagca	gaagagttgt	ggtgcaaggc	1860
	atacatttag	taggctctcc	agggctctta	tcattcatct	gaaaagctat	agcttcaaca	1920
	atgcttgggt	gctggtgaag	aataacgagc	aagttttata	tcccaaatct	ttaagtttat	1980
	cttcttattg	caatgaaagc	accaaaccac	ctcttccctt	gagcagtagt	gcacctgttg	2040
50	ggaatgtgaa	agtcttgaa	gtctctcagg	agatgatttc	tgagatcaac	agcccattga	2100
	caccatcaat	gaagctgacc	tcagaatcca	gtgatccctt	ggttctaccc	ggtgaccagc	2160
	acaagaatgc	cgacctacaa	agattccaga	gagactgtgg	agatgcaagc	caagagcagc	2220
	atcagagaga	cctggaaaaat	ggctctgcac	tagagtcaga	attggtccac	tttagagata	2280
	gggcaatcgg	tgaaaaggag	cttccagtg	ctgactcact	gatggaccag	ggagacattt	2340
55	ctcttctgt	gatgtatgaa	gatggaggga	agctgatcag	cagcccagac	acaaggcttg	2400
	tcgaggttca	tcttcaagag	gtgcctcaac	atccagaact	tcagaagtat	gagaaaacca	2460
	atacattcgt	agagttcaat	tttgacagtg	tcactgagtc	caccaatggc	ttttatgact	2520
	gtaaagaaaa	caggattcca	gaaggatctc	aaggaatggc	tgaacagctc	cagcagtgta	2580
	ttgaggagag	catcatagat	gaatttcttc	agcagggacc	acctccaggt	gtaggaagc	2640
60	tgatgcccc	ggaacataca	gaagagacc	tcaatcagtc	tacagaatta	agacttcaaaa	2700

```

aggetgacct gaatcacctt ggggcactgg gttctgacaa cccaggaaac aaaaacattt 2760
tagatgcaga gaacacaaga ggtgaagcca aggaactaac aagaaactgt aagatggggg 2820
atcctctcca ggcttacaga ctcatcagtg ttgtcagcca tatcgggagc tccccaaatt 2880
caggccatta catcagcgat gtgtatgact ttcagaagca ggcttgggtc acatacaacg 2940
5 atctatgtgt atcagaaatc tcagagacca aaatgcagga ggcgaggctt cactctgggt 3000
atatcttctt ttacatgcac aatgggattt ttgaggagct gtaagaaaa gcagagaact 3060
ctcggctacc tagcacacag gcaggggtga tccctcaggg ggaataagaa ggtgactctt 3120
tgtacagacc tgcttgacag actcactcgg cctcacttca tccttgcaaa gagaatcctg 3180
tacttcatcc ttgcaaagag aatcctgtac ttcactcaga atgaaggaac aagtatctca 3240
10 ggatgaaatc tcaatgaaaa acacttattt tgggggaata tctattttaa ctgcttcaga 3300
cacctagatc ccagaactca ggcgcatatg catattttcc ctgcaagatt agaatgggtgc 3360
tcttcacggt ttgacgggtg ttttcaaaat gttgttcttc aaccagcaac agcaacagct 3420
agggactgat tagaaatgca aattcttggg tcaactctta gaccaactga tgcagaaaca 3480
ggaggtgtga gccagcaatc agatggagat tctagtgtct atgaaagttt gaagaacact 3540
15 ggtaatgtgt ggagtatctt ggtgtatttt gctactgttg atatggattg cttatgttat 3600
ataaacgatt ttcattaaaa aaaaaaaaaa aaact 3635

```

```

20 <210> 6
    <211> 912
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

```

```

    <400> 6
25 Met Ile Ser Leu Lys Val Cys Gly Phe Ile Gln Ile Trp Ser Gln Lys
    1 5 10 15
    Thr Gly Met Thr Lys Leu Lys Glu Ala Leu Ile Glu Thr Val Gln Arg
    20 25 30
    Gln Lys Glu Ile Lys Leu Val Val Thr Phe Lys Ser Gly Lys Phe Ile
    35 40 45
30 Arg Ile Phe Gln Leu Ser Asn Asn Ile Arg Ser Val Val Leu Arg His
    50 55 60
    Cys Lys Lys Arg Gln Ser His Leu Arg Leu Thr Leu Lys Asn Asn Val
    65 70 75 80
    Phe Leu Phe Ile Asp Lys Leu Ser Tyr Arg Asp Ala Lys Gln Leu Asn
    85 90 95
35 Met Phe Leu Asp Ile Ile His Gln Asn Lys Ser Gln Gln Pro Met Lys
    100 105 110
    Ser Asp Asp Asp Trp Ser Val Phe Glu Ser Arg Asn Met Leu Lys Glu
    115 120 125
40 Ile Asp Lys Thr Ser Phe Tyr Ser Ile Cys Asn Lys Pro Ser Tyr Gln
    130 135 140
    Lys Met Pro Leu Phe Met Ser Lys Ser Pro Thr His Val Lys Lys Gly
    145 150 155 160
    Ile Leu Glu Asn Gln Gly Gly Lys Gly Gln Asn Thr Leu Ser Ser Asp
    165 170 175
45 Val Gln Thr Asn Glu Asp Ile Leu Lys Glu Asp Asn Pro Val Pro Asn
    180 185 190
    Lys Lys Tyr Lys Thr Asp Ser Leu Lys Tyr Ile Gln Ser Asn Arg Lys
    195 200 205
50 Asn Pro Ser Ser Leu Glu Asp Leu Glu Lys Asp Arg Asp Leu Lys Leu
    210 215 220
    Gly Pro Ser Phe Asn Thr Asn Cys Asn Gly Asn Pro Asn Leu Asp Glu
    225 230 235 240
    Thr Val Leu Ala Thr Gln Thr Leu Asn Ala Lys Asn Gly Leu Thr Ser
    245 250 255
55 Pro Leu Glu Pro Glu His Ser Gln Gly Asp Pro Arg Cys Asn Lys Ala
    260 265 270
    Gln Val Pro Leu Asp Ser His Ser Gln Gln Leu Gln Gln Gly Phe Pro
    275 280 285
60 Asn Leu Gly Asn Thr Cys Tyr Met Asn Ala Val Leu Gln Ser Leu Phe

```

		290				295				300									
		Ala	Ile	Pro	Ser	Phe	Ala	Asp	Asp	Leu	Leu	Thr	Gln	Gly	Val	Pro	Trp		
		305					310					315							320
5		Glu	Tyr	Ile	Pro	Phe	Glu	Ala	Leu	Ile	Met	Thr	Leu	Thr	Gln	Leu	Leu		
						325					330								335
		Ala	Leu	Lys	Asp	Phe	Cys	Ser	Thr	Lys	Ile	Lys	Arg	Glu	Leu	Leu	Gly		
					340					345					350				
		Asn	Val	Lys	Lys	Val	Ile	Ser	Ala	Val	Ala	Glu	Ile	Phe	Ser	Gly	Asn		
				355				360						365					
10		Met	Gln	Asn	Asp	Ala	His	Glu	Phe	Leu	Gly	Gln	Cys	Leu	Asp	Gln	Leu		
				370				375						380					
		Lys	Glu	Asp	Met	Glu	Lys	Leu	Asn	Ala	Thr	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Glu		
		385				390						395							400
		Cys	Gly	Asp	Glu	Asn	Ser	Ser	Pro	Gln	Met	His	Val	Gly	Ser	Ala	Ala		
15						405					410								415
		Thr	Lys	Val	Phe	Val	Cys	Pro	Val	Val	Ala	Asn	Phe	Glu	Phe	Glu	Leu		
					420					425					430				
		Gln	Leu	Ser	Leu	Ile	Cys	Lys	Ala	Cys	Gly	His	Ala	Val	Leu	Lys	Val		
				435				440						445					
20		Glu	Pro	Asn	Asn	Tyr	Leu	Ser	Ile	Asn	Leu	His	Gln	Glu	Thr	Lys	Pro		
				450				455					460						
		Leu	Pro	Leu	Ser	Ile	Gln	Asn	Ser	Leu	Asp	Leu	Phe	Phe	Lys	Glu	Glu		
		465				470					475								480
		Glu	Leu	Glu	Tyr	Asn	Cys	Gln	Met	Cys	Lys	Gln	Lys	Ser	Cys	Val	Ala		
25						485					490								495
		Arg	His	Thr	Phe	Ser	Arg	Leu	Ser	Arg	Val	Leu	Ile	Ile	His	Leu	Lys		
					500					505					510				
		Arg	Tyr	Ser	Phe	Asn	Asn	Ala	Trp	Leu	Leu	Val	Lys	Asn	Asn	Glu	Gln		
				515				520						525					
30		Val	Tyr	Ile	Pro	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Ser	Tyr	Cys	Asn	Glu	Ser		
				530				535						540					
		Thr	Lys	Pro	Pro	Leu	Pro	Leu	Ser	Ser	Ser	Ala	Pro	Val	Gly	Lys	Cys		
		545				550					555								560
		Glu	Val	Leu	Glu	Val	Ser	Gln	Glu	Met	Ile	Ser	Glu	Ile	Asn	Ser	Pro		
35						565					570								575
		Leu	Thr	Pro	Ser	Met	Lys	Leu	Thr	Ser	Glu	Ser	Ser	Asp	Ser	Leu	Val		
				580					585					590					
		Leu	Pro	Val	Glu	Pro	Asp	Lys	Asn	Ala	Asp	Leu	Gln	Arg	Phe	Gln	Arg		
				595				600						605					
40		Asp	Cys	Gly	Asp	Ala	Ser	Gln	Glu	Gln	His	Gln	Arg	Asp	Leu	Glu	Asn		
				610				615					620						
		Gly	Ser	Ala	Leu	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	His	Phe	Arg	Asp	Arg	Ala	Ile		
		625				630						635							640
		Gly	Glu	Lys	Glu	Leu	Pro	Val	Ala	Asp	Ser	Leu	Met	Asp	Gln	Gly	Asp		
45						645					650								655
		Ile	Ser	Leu	Pro	Val	Met	Tyr	Glu	Asp	Gly	Gly	Lys	Leu	Ile	Ser	Ser		
				660				665						670					
		Pro	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Glu	Val	His	Leu	Gln	Glu	Val	Pro	Gln	His		
				675				680						685					
50		Pro	Glu	Leu	Gln	Lys	Tyr	Glu	Lys	Thr	Asn	Thr	Phe	Val	Glu	Phe	Asn		
				690				695						700					
		Phe	Asp	Ser	Val	Thr	Glu	Ser	Thr	Asn	Gly	Phe	Tyr	Asp	Cys	Lys	Glu		
		705				710						715							720
		Asn	Arg	Ile	Pro	Glu	Gly	Ser	Gln	Gly	Met	Ala	Glu	Gln	Leu	Gln	Gln		
55						725					730								735
		Cys	Ile	Glu	Glu	Ser	Ile	Ile	Asp	Glu	Phe	Leu	Gln	Gln	Ala	Pro	Pro		
				740					745					750					
		Pro	Gly	Val	Arg	Lys	Leu	Asp	Ala	Gln	Glu	His	Thr	Glu	Glu	Thr	Leu		
				755				760						765					
60		Asn	Gln	Ser	Thr	Glu	Leu	Arg	Leu	Gln	Lys	Ala	Asp	Leu	Asn	His	Leu		

	tccacgccc	ttgctcaccg	aggaccaccg	tcaagtttaa	acacacctgg	gagcttcaga	720
	cgtggcctgg	acgactccac	cgggggaccc	ccctcacact	gcggcccgga	tatcagccct	780
	caacattgtg	ggagacctac	tgcggaaagt	cggggcactg	gagtccaaac	tcgcttcctg	840
	ccggaacctc	gtgtacgntc	agtccccaaa	ccgaacaggt	ggcccagcct	ctgggcgagg	900
5	cagcaagaac	agagatggcg	gggagagacg	gccaagcagc	accagcgtgc	ctttgggtga	960
	taagggnctc	gtaccttcta	ataaacctct	cgctggcggg	gagaaccgcg	ctgcccacgg	1020
	caagananac	tcaca					1035
	<210>	8					
10	<211>	2448					
	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	8					
15	aaagaattcg	gcacgagtaa	ggagaggttt	ctcatcagag	gttttgacaa	caattcgttc	60
	agggcaccga	gcaaacatat	ttagtgcaaa	gttcttacct	tgtacaaatg	ataaacagat	120
	tgtatcctgc	tctggagatg	gagtaatatt	ttataccaac	gttgagcaag	atgcagaaac	180
	caacagacaa	tgccaattta	cgtgtcatta	tggaaactact	tatgagatta	tgactgtacc	240
	caatgacctc	tacacttttc	tctcttgtgg	tgaagagtgg	aactgttagg	tggtttgata	300
20	cacgcatcaa	aactagctgc	acaaaagaag	attgtaaaga	tgatatttta	attaactgtc	360
	gacgtgctgc	cacgtctggt	tgctattttg	cccaccaata	ccatattacc	cttgctgttg	420
	gttgttctga	cagctcagta	cgaatatatg	atcggcgaat	gctgggcaca	agagctacag	480
	ggaattatgc	aggtcgaggg	actactggaa	tggttgccgt	tttattcctt	cccattctaa	540
	taataagttc	tgcagagtga	catctctgtg	ttacagtga	gatggtcaag	agattctcgt	600
25	tagttactct	tcagattaca	tatatctttt	tgacccgaaa	gatgatacag	cacgagaact	660
	taaaactcct	tctgcggaag	agagaagaga	agagttgcga	caaccaccag	ttaagcgttt	720
	gagacttctg	ggtgattggt	cagatactgg	accagagca	aggccggaga	gtgaacgaga	780
	acgagatgga	gagcagagtc	ccaatgtgtc	attgatgcag	agaatgtctg	atatgttata	840
	aagatggttt	gaagaagcaa	gtgaggtgtc	acaaagcaat	agaggacgag	gaagatctcg	900
30	accagaggtg	ggaacaagtc	aatcagatat	ttcaactctt	cctacgggtc	catcaagttc	960
	tgatttgga	gtgagtga	ctgcaatgga	agtagatact	ccagctgaac	aatttcttca	1020
	gccttctaca	tcctctacaa	tgctcagctca	ggctcattcg	acatcatctc	ccacagaaag	1080
	ccctcattct	actcctttgc	tatcttctcc	agacagtga	caaaggcagt	ctgttgaggg	1140
	atctggacac	cacacacatc	atcagctctga	ttctccttct	tctgtggtta	acaaacagct	1200
35	cggatccatg	tcacttgacg	agcaacagga	taccataatg	aaagctgagc	ccaaaccagg	1260
	gacaggtgaa	ccagttttaa	gtttgcaacta	cagcacagaa	ggaaccaacta	caagcacaat	1320
	aaaaactgaa	tttacagatg	aatggagcag	tatagcatca	agtcttagag	gaattgggag	1380
	ccattgcaaa	cttgagggtc	aggagggaatc	ttctgctcca	cagagctcag	tgcaaccacc	1440
	agaaggagac	agtgaacaaa	aagctcctga	agaatcatca	gaggatgcga	caaaatatca	1500
40	ggaaggagta	tctgcagaaa	accagtttga	gaaccatata	aatataacac	aatcagataa	1560
	gttcacagcc	aagccattgg	attccaactc	aggagaaaaga	aatgacctca	atcttgatcg	1620
	ctcttgtggg	gttccagaag	aatctgcttc	atctgaaaaa	gccaaggaac	cagaaacttc	1680
	agatcagact	agcactgaga	gtgctaccaa	tgaaaataac	accaatcctg	agcctcagtt	1740
	ccaaacagaa	gccactgggc	cttcagctca	tgaagaaaca	tccaccaggg	actctgctct	1800
45	tcagacacag	atgacagtga	tgatgacctca	gtctgacccc	agtcaagta	tcgagcagga	1860
	cctgggtgata	gacgctctgc	tggttcccgt	attcaggagt	tcttcagacg	gagaaaagaa	1920
	aggaaagaaa	tggagaat	ggatactttg	aacattagaa	ggccgctagt	aaaaatgggt	1980
	tataaaggcc	atcgcaactc	caggacaatg	ataaaaagaag	ccaatttctg	gggtgctaac	2040
	tttgaatga	gtggttctga	ctgtggccac	atthtcatct	gggatcggca	cactgctgag	2100
50	catttgatgc	ttctggaagc	tgataatcat	gtggtaaact	gcctgcagcc	acatccgttt	2160
	gacccaattt	tagcctcctc	tggtcatagat	tatgacataa	agatctggtc	accattagaa	2220
	gagtcaagga	tttttaaccg	aaaacttgct	gatgaagtta	taactcgaaa	cgaactcatg	2280
	ctggaagaaa	ctagaaacac	cattacagtt	ccagcctctt	tcatggtgag	gatgttggtc	2340
	tcacttaatc	atatccgagc	tgaccggttg	gagggtgaca	gatcagaagg	ctctggtcaa	2400
55	gagaatgaaa	atgaggatga	ggaataataa	actctttttg	gcaagcaa		2448
	<210>	9					
	<211>	2370					
	<212>	DNA					
60	<213>	Homo sapiens					

<220>
 <221> unsure
 <222> 114..114
 5 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 133..133
 10 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 134..134
 15 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 182..182
 20 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 197..197
 25 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 322..322
 30 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 376..376
 35 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 466..466
 40 <223> n = a, c, g or t

<220>
 <221> unsure
 <222> 472..472
 45 <223> n = a, c, g or t

<400> 9
 agagaattcg gcacgggttg agaagcaact gcagcaagct ctggaggagg gtaagcaggg 60
 ccggcggggc ctggggtcgt cgcgaccagg cagtgcagac cggcttcgtc agnccatcc 120
 50 ggccccctggg genncagctg ggcgccccggc cggcgcctgt ctgcagccct ttggagcgcg 180
 tncctgggctc gcccgcnccg tccccggccg gccccctcgc gccctccgcg gccagcctct 240
 cgtcgtcctc cactccacc tccaccacct attcctcgtc ggcccgcttc atgcccggca 300
 ccatctggtc gttctcgcac gnccgcccgc tcgggcccgg actggagccc actctggtgc 360
 aagggcctgg gttgtngtgg gtgcaccgg atgggtgggc gtccagatcg acaccatcac 420
 55 gcccgagatc cgcgctctct acaacgtgct ggccaaagtg aagcngagc gngacgagta 480
 caagcggagg tgggaagagg agtacacggt gcggatccag ctgcaagatc gtgtaaatga 540
 gctccaggag gaagcccagg aggctgatgt ctgccaggag gagctggcac tgaaggtgga 600
 acagttgaag gctgagctgg tggcttcaa ggggctcatg agtaacaacc tgtcggagct 660
 ggacaccaag atccaggaga aagccatgaa ggtggatatg gacatctgcc gccgcatcga 720
 60 catcaccgcc aagctctgcg atgtggctca gcagcgaac tgcgaggaca tgatccagat 780

	gttccagaag	aagctgggcc	catccatggg	ggggcggaag	cgggagcgca	aggctgcccgt	840
	cgaggaggac	acctccctgt	cggagagtga	ggggcccgcc	agcccgatgg	ggatgaggag	900
	gagagcacag	ccctcagcat	caacgaggag	atgcagcgca	tgctcaacca	gctgagggag	960
	tatgatTTTT	aggacgactg	tgacagcctg	acttggggag	agactgagga	gaccctgctg	1020
5	ctttggggagg	atTTctcagg	ctatgccatg	gcagctgcag	aggcccaggg	agagcaggaa	1080
	gatagcctgg	agaagtgatg	taaagatacg	gagtcctgtg	tcaaaaaccg	ggagatggag	1140
	tatcatgaga	ccattgacca	gatagagctg	gagttggcca	cggccaagaa	cgacatgaac	1200
	cggcacctgc	acgagtacat	ggagatgtgc	agcatgaagc	gcggcctgga	cgtgcagatg	1260
	gagacctgcc	gccggctcat	cacccagtct	ggagaccgaa	agtctcctgc	tttcaactgcg	1320
10	gtcccgttta	gggacccgcc	gccgccgcca	agcagggctg	aggactccga	tcgcatgtgc	1380
	tcatctgaca	gctccatgag	atagagacct	gcctcccctt	tgaccccagc	gccctcgagc	1440
	cagggagctc	agcagggcag	agggtggggc	tgacacagag	ggaacatcag	ctgcagctct	1500
	gcaccaggcc	ggcccctggg	gactggggcg	ctctcccctc	aggctttctc	cctcagctct	1560
	ggcttctcca	gggctctggg	gtgtctggag	ctaggcttgg	ccctaccatt	ctggggccat	1620
15	ttccaaccaca	gTTggggctc	tcttgccttc	acgctggggg	gtctgctact	tcccactctt	1680
	taaaatgctg	ccagagcgat	tgccggccct	taacctgtcc	acgtatcagg	aatgtgaatg	1740
	tgggaccttt	cctccatccc	tgttgtccgg	agccagctca	ctgtcttcca	cactgggtgct	1800
	aaactggccca	ggcactgagt	ggaatagaat	gcagctggag	gctacgcatg	gcctctgcag	1860
	caacagcagc	tggagagggc	ttctgtccct	gtcagcggca	gagggcgctg	gggctggccg	1920
20	gggcaacttg	ccctgctatg	gtccacatgc	taacgctgtc	cacctgccag	gtgagtgtat	1980
	gtgctctgtg	ccctccctcg	tggagggtgc	gtgctttaa	gaggccttag	tgcccgggat	2040
	gggcacagtg	ttttgaaggg	aggtgggagc	tcttgccttc	ctggtcactg	cagaatgaca	2100
	gagaaggtga	agctccatgc	atgtgtgcgc	gggtgtatgt	gcgctcaggg	tctctgttta	2160
	agtatcagct	aaagatgtgc	ttcctccgtg	tctgtcatac	actgagacca	acaggctaca	2220
25	gtgtccctga	ttcttggaaa	agcctggaga	agctggggag	atgctggttca	caatgcctcg	2280
	gtataggagg	ctgtgttgag	ctgacattca	aatggattct	ttaataataa	tgaaactagc	2340
	gagtatttat	tttgcaaaaa	aaaaaaaaaa				2370
	<210>	10					
30	<211>	1745					
	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	10					
35	ctagtggatc	caaagaattc	ggcacgaggg	aagatggctt	cgtttcggaa	gctaacgctt	60
	tctgaaaaag	tgccgccaaa	tcatcccagt	cggaaaaagg	ttaacttctc	agatatgtct	120
	ctagacgaca	ttataatcta	taaagagtta	gaagggacaa	atgctgaaga	agaaaagaat	180
	aaaagacaga	accatagtaa	aaaggaatcg	ccttcaagac	agcaatcaa	agctcataga	240
	catcgccatc	ggagaggcta	ctcaagatgc	agaagcaact	ctgaggaagg	aaatcatgat	300
40	aaaaaacat	cccaaaaacc	ttctggatc	aagtctggac	aacacccttt	aaatgggcag	360
	cctttaattg	agcaggagaa	gtgcagtgac	aattatgagg	cccaagcaga	gaagaatcaa	420
	ggccagtcag	aggggaacca	gcatcaatca	gaaggaaatc	cggacaaatc	agaagaatcc	480
	cagggccaac	cagaagaaaa	tcatcattct	gagcgatccc	gaaaccactt	agagagatct	540
	ctttctcagt	cagacagatc	tcaaggcgag	ctaaagagac	atcatcccca	atatgagaga	600
45	tctcatggcc	aatacaagag	atctcatggt	caatctgaga	gatctcatgg	ccactcagag	660
	agatctcatg	gtcactcaga	gagatctcat	ggtcactcag	agagatctca	tggtcactca	720
	aagagatctc	gtagccaggg	agatcttgtg	gacactcaga	gtgatctcat	agccactcag	780
	agagatctca	tagccactca	gaaagatctc	atagccactc	agagagatct	catagccact	840
	cagagagatc	tcatagtcac	tcaagagatg	ctcgtggcca	ctgagagaga	tctcataaat	900
50	cagttagggg	gatctcatgg	ccaatcagaa	agacatcaga	gatactcaac	aggtaaaaat	960
	acaataacta	cttaatcatc	agaacaatgt	gttgaattct	gtggaatatg	aaaagcatat	1020
	atctatattc	taatggctaa	atatgtatct	gttgaaacat	gtatatggg	acaaagacat	1080
	aaatattaga	atggaggtaa	tacatacata	gtatcaatat	tgtttcaact	tgatgtcctc	1140
	taagctatca	tccagttacc	caagatgtcc	cattaagtgg	ttcccggtag	gtctgctttc	1200
55	cctggaagag	ccgatgtgac	tcagcctttc	ctattggggc	ttcccacaaa	ttagaatatt	1260
	ttgacttagt	gtcctgtccc	ccttggacgt	tccaacttga	cttagtgtec	agtgcccctt	1320
	ggacattcca	acctggtagg	taagctaata	taacacttaa	ctgccaattt	gataatata	1380
	aatctatgat	aatgaaatc	tcttttgtgt	ctccttctca	agccatcctc	agagagctct	1440
	tagcagacaa	atggtagatg	tatcttggg	cagctgaact	tttctgcttt	cctcaaatca	1500
60	gaccatata	gaggatata	tctatgcata	gatgtaatgc	taaccttctg	aatatatttt	1560

	gaatacattt	atatattcac	tgttgcctta	taaaactggt	agggtaggtc	tgtctaccct	1620									
	agcaaaagaa	acacagaaat	ttaaatgtac	tgggagttat	gttgtaaaaa	acacaagata	1680									
	tgtaactgc	agtttgttg	gttattcaat	aaaagtttta	gttttaaaaa	aaaaaaaaaa	1740									
	aaaac						1745									
5		<210>	11													
		<211>	313													
		<212>	PRT													
		<213>	Homo sapiens													
10		<400>	11													
	Met	Ala	Ser	Phe	Arg	Lys	Leu	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Val	Pro	Pro	Asn
	1				5					10					15	
	His	Pro	Ser	Arg	Lys	Lys	Val	Asn	Phe	Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Asp	Asp
15			20					25						30		
	Ile	Ile	Ile	Tyr	Lys	Glu	Leu	Glu	Gly	Thr	Asn	Ala	Glu	Glu	Glu	Lys
			35					40						45		
	Asn	Lys	Arg	Gln	Asn	His	Ser	Lys	Lys	Glu	Ser	Pro	Ser	Arg	Gln	Gln
	50					55						60				
20	Ser	Lys	Ala	His	Arg	His	Arg	His	Arg	Arg	Gly	Tyr	Ser	Arg	Cys	Arg
	65				70						75				80	
	Ser	Asn	Ser	Glu	Glu	Gly	Asn	His	Asp	Lys	Lys	Pro	Ser	Gln	Lys	Pro
				85					90					95		
	Ser	Gly	Phe	Lys	Ser	Gly	Gln	His	Pro	Leu	Asn	Gly	Gln	Pro	Leu	Ile
25			100						105					110		
	Glu	Gln	Glu	Lys	Cys	Ser	Asp	Asn	Tyr	Glu	Ala	Gln	Ala	Glu	Lys	Asn
			115					120						125		
	Gln	Gly	Gln	Ser	Glu	Gly	Asn	Gln	His	Gln	Ser	Glu	Gly	Asn	Pro	Asp
	130						135							140		
30	Lys	Ser	Glu	Glu	Ser	Gln	Gly	Gln	Pro	Glu	Glu	Asn	His	His	Ser	Glu
	145					150						155			160	
	Arg	Ser	Arg	Asn	His	Leu	Glu	Arg	Ser	Leu	Ser	Gln	Ser	Asp	Arg	Ser
				165						170				175		
	Gln	Gly	Gln	Leu	Lys	Arg	His	His	Pro	Gln	Tyr	Glu	Arg	Ser	His	Gly
35			180						185					190		
	Gln	Tyr	Lys	Arg	Ser	His	Gly	Gln	Ser	Glu	Arg	Ser	His	Gly	His	Ser
			195					200						205		
	Glu	Arg	Ser	His	Gly	His	Ser	Glu	Arg	Ser	His	Gly	His	Ser	Glu	Arg
	210						215							220		
40	Ser	His	Gly	His	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Ser	Gln	Gly	Asp	Leu	Val	Asp
	225					230						235			240	
	Thr	Gln	Ser	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr	Gln	Arg	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr	Gln
				245							250				255	
	Lys	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr	Gln	Arg	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr	Gln	Arg	Asp
45			260						265					270		
	Leu	Ile	Val	Thr	Gln	Arg	Asp	Leu	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	Asp	Leu	Ile
			275					280						285		
	Asn	Gln	Ser	Gly	Arg	Ser	His	Gly	Gln	Ser	Glu	Arg	His	Gln	Arg	Tyr
	290						295							300		
50	Ser	Thr	Gly	Lys	Asn	Thr	Ile	Thr	Thr							
	305					310										
		<210>	12													
		<211>	10													
55		<212>	PRT													
		<213>	Homo sapiens													
		<400>	12													
60	Lys	Val	Glu	Pro	Asn	Asn	Tyr	Leu	Ser	Ile						
	1				5					10						

<210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 13
 Glu Leu Glu Tyr Asn Cys Gln Met Cys Lys
 1 5 10
 10
 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 14
 Asn Asn Glu Gln Val Tyr Ile Pro Lys
 1 5
 20
 <210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 15
 Asn Ala Asp Leu Gln Arg Phe Gln Arg
 1 5
 30
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 16
 Val Thr Glu Ser Thr Asn Gly Phe Tyr
 1 5
 40
 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 17
 Met Gly Asp Pro Leu Gln Ala Tyr Arg
 1 5
 50
 <210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 18
 Ile Ser Asp Val Tyr Asp Phe Gln Lys
 1 5
 60
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Lys Leu Lys Glu Ala Leu Ile Glu Thr Val
 1 5 10
 5 <210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 20
 Phe Gln Leu Ser Asn Asn Ile Arg Ser Val
 1 5 10
 15 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 21
 Gln Leu Ser Asn Ile Arg Ser Val
 1 5
 25 <210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 22
 Arg Leu Thr Leu Lys Asn Asn Val Phe Leu
 1 5 10
 35 <210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 23
 Asn Val Phe Leu Phe Ile Asp Lys Leu
 1 5
 45 <210> 24
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 24
 Lys Leu Ser Tyr Arg Asp Ala Lys Gln Leu
 1 5 10
 55 <210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60 <400> 25
 Lys Gln Leu Asn Met Phe Leu Asp Ile
 1 5
 <210> 26
 <211> 9

```

      <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <400> 26
5   Ser Val Phe Glu Ser Arg Asn Met Leu
   1                               5

      <210> 27
      <211> 9
10  <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <400> 27
15  Asn Met Leu Lys Glu Ile Asp Lys Thr
   1                               5

      <210> 28
      <211> 9
20  <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <400> 28
25  Phe Met Ser Lys Ser Pro Thr His Val
   1                               5

      <210> 29
      <211> 10
      <212> PRT
30  <213> Homo sapiens
      <400> 29
   Lys Leu Gly Pro Ser Phe Asn Thr Asn Cys
   1                               5                10

35  <210> 30
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens

40  <400> 30
   Asn Leu Asp Glu Thr Val Leu Ala Thr
   1                               5

45  <210> 31
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <400> 31
50  Gln Leu Gln Gln Gly Phe Pro Asn Leu
   1                               5

      <210> 32
      <211> 9
55  <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <400> 32
60  Tyr Met Asn Ala Val Leu Gln Ser Leu
   1                               5

```

<210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 Ala Val Leu Gln Ser Leu Phe Ala Ile
 1 5

<210> 34
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 34
 15 Ser Leu Phe Ala Ile Pro Ser Phe Ala
 1 5

<210> 35
 20 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 35
 25 Ala Leu Ile Met Thr Leu Thr Gln Leu
 1 5

<210> 36
 30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36
 Ile Met Thr Leu Thr Gln Leu Leu Ala Leu
 1 5 10

35 <210> 37
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 37
 40 Gln Leu Leu Ala Leu Lys Asp Phe Cys
 1 5

45 <210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 38
 50 Leu Leu Ala Leu Lys Asp Phe Cys Ser Thr
 1 5 10

55 <210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 39
 60 Glu Leu Leu Gly Asn Val Lys Lys Val

<400> 46
 Asn Leu His Gln Glu Thr Lys Pro Leu
 1 5
 5
 <210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 47
 Gln Met Cys Lys Gln Lys Ser Cys Val
 1 5
 15
 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 48
 Cys Gln Met Cys Lys Gln Lys Ser Cys Val
 1 5 10
 25
 <210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 49
 Arg Leu Ser Arg Val Leu Ile Ile His Leu
 1 5 10
 35
 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 50
 Trp Leu Leu Val Lys Asn Asn Glu Gln Val
 1 5 10
 45
 <210> 51
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 51
 Leu Leu Val Lys Asn Asn Glu Gln Val
 1 5
 55
 <210> 52
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 52
 Met Ile Ser Glu Ile Asn Ser Pro Leu
 1 5
 <210> 53

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

5 <400> 53
 Lys Leu Thr Ser Glu Ser Ser Asp Ser Leu
 1 5 10

<210> 54
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 54
 15 Ala Ile Gly Glu Lys Glu Leu Pro Val
 1 5

<210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 55
 25 Ser Leu Met Asp Gln Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5 10

<210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 56
 Val Met Tyr Glu Asp Gly Gly Lys Leu Ile
 1 5 10

35

<210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40

<400> 57
 Lys Leu Ile Ser Ser Pro Asp Thr Arg Leu
 1 5 10

45

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50

<400> 58
 Arg Leu Val Glu Val His Leu Gln Glu Val
 1 5 10

<210> 59
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55

<400> 59
 60 Gly Met Ala Glu Gln Leu Gln Gln Cys

<400> 66
 Tyr Ile Phe Phe Tyr Met His Asn Gly Ile
 1 5 10
 5
 <210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 67
 Tyr Met His Asn Gly Ile Phe Glu Glu Leu
 1 5 10
 15
 <210> 68
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 68
 Arg Leu Pro Ser Thr Gln Ala Gly Val
 1 5
 25
 <210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 69
 Lys Leu Val Val Thr Phe Lys Ser Gly Lys
 1 5 10
 35
 <210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 70
 Phe Leu Phe Ile Asp Lys Leu Ser Tyr
 1 5
 45
 <210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 71
 Phe Leu Asp Ile Ile His Gln Asn Lys
 1 5
 55
 <210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 72
 Ser Val Phe Glu Ser Arg Asn Met Leu Lys
 1 5 10
 <210> 73

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 73
 Phe Met Ser Lys Ser Pro Thr His Val Lys
 1 5 10

<210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

<400> 74
 15 Ser Leu Lys Tyr Ile Gln Ser Asn Arg Lys
 1 5 10

<210> 75
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20

<400> 75
 25 Val Leu Ala Thr Gln Thr Leu Asn Ala Lys
 1 5 10

<210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30

<400> 76
 35 Thr Leu Thr Gln Leu Leu Ala Leu Lys
 1 5

<210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40

<400> 77
 45 Ala Leu Lys Asp Phe Cys Ser Thr Lys
 1 5

<210> 78
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50

<400> 78
 50 Phe Leu Gly Gln Cys Leu Asp Gln Leu Lys
 1 5 10

<210> 79
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55

<400> 79
 60 Lys Leu Asn Ala Thr Leu Asn Thr Gly Lys

	1		5		10
		<210>	80		
		<211>	10		
5		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	80		
10	Gln	Met	His	Val	Gly Ser Ala Ala Thr Lys
	1			5	10
		<210>	81		
		<211>	10		
15		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	81		
20	Ser	Leu	Val	Leu	Pro Val Glu Pro Asp Lys
	1			5	10
		<210>	82		
		<211>	9		
25		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	82		
30	Lys	Met	Gly	Asp	Pro Leu Gln Ala Tyr
	1			5	
		<210>	83		
		<211>	10		
35		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	83		
40	Arg	Leu	His	Ser	Gly Tyr Ile Phe Phe Tyr
	1			5	10
		<210>	84		
45		<211>	9		
		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	84		
50	Gly	Ile	Phe	Glu	Glu Leu Leu Arg Lys
	1			5	
		<210>	85		
		<211>	10		
55		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	85		
60	Ser	Tyr	Arg	Asp	Ala Lys Gln Leu Asn Met
	1			5	10
		<210>	86		
		<211>	9		
		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		

<400> 86
 Ser Tyr Gln Lys Met Pro Leu Phe Met
 1 5
 5
 <210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 87
 Lys Tyr Lys Thr Asp Ser Leu Lys Tyr Ile
 1 5 10
 15
 <210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 88
 Cys Tyr Met Asn Ala Val Leu Gln Ser Leu
 1 5 10
 25
 <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 89
 Glu Tyr Ile Pro Phe Glu Ala Leu Ile
 1 5
 35
 <210> 90
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 90
 Glu Phe Leu Gly Gln Cys Leu Asp Gln Leu
 1 5 10
 45
 <210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 91
 Val Phe Val Cys Pro Val Val Ala Asn Phe
 1 5 10
 55
 <400> 92
 Asn Phe Glu Phe Glu Leu Gln Leu Ser Leu
 1 5 10
 60
 <210> 93
 <211> 9

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 100
 Thr Tyr Asn Asp Leu Cys Val Ser Glu Ile
 1 5 10

<210> 101
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

<400> 101
 15 Val Gln Arg Gln Lys Glu Ile Lys Leu
 1 5

<210> 102
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20

<400> 102
 25 Thr Val Gln Arg Gln Lys Glu Ile Lys Leu
 1 5 10

<210> 103
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30

<400> 103
 Lys Pro Ser Tyr Gln Lys Met Pro Leu
 1 5

<210> 104
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35

<400> 104
 40 Ser Pro Thr His Val Lys Lys Gly Ile Leu
 1 5 10

<210> 105
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45

<400> 105
 50 Asp Val Gln Thr Asn Glu Asp Ile Leu
 1 5

<210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55

<400> 106
 60 Ser Asn Arg Lys Asn Pro Ser Ser Leu

```

1           5
           <210> 107
           <211> 9
5           <212> PRT
           <213> Homo sapiens
           <400> 107
Asn Pro Asn Leu Asp Glu Thr Val Leu
10          1           5
           <210> 108
           <211> 9
           <212> PRT
15          <213> Homo sapiens
           <400> 108
Asp Pro Arg Cys Asn Lys Ala Gln Val
20          1           5
           <210> 109
           <211> 10
           <212> PRT
25          <213> Homo sapiens
           <400> 109
Val Pro Leu Asp Ser His Ser Gln Gln Leu
30          1           5           10
           <210> 110
           <211> 10
           <212> PRT
           <213> Homo sapiens
35          <400> 110
Phe Pro Asn Leu Gly Asn Thr Cys Tyr Met
          1           5           10
           <210> 111
           <211> 9
           <212> PRT
           <213> Homo sapiens
           <400> 111
45          Ile Pro Ser Phe Ala Asp Asp Leu Leu
          1           5
           <210> 112
           <211> 10
           <212> PRT
50          <213> Homo sapiens
           <400> 112
Ile Pro Phe Glu Ala Leu Ile Met Thr Leu
55          1           5           10
           <210> 113
           <211> 10
           <212> PRT
60          <213> Homo sapiens

```

<400> 113
 Glu Pro Asn Asn Tyr Leu Ser Ile Asn Leu
 1 5 10
 5
 <210> 114
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 114
 Leu Pro Leu Ser Ile Gln Asn Ser Leu
 1 5
 15
 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 115
 Val Ala Arg His Thr Phe Ser Arg Leu
 1 5
 25
 <210> 116
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 116
 Cys Val Ala Arg His Thr Phe Ser Arg Leu
 1 5 10
 35
 <210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 117
 Leu Ser Arg Val Leu Ile Ile His Leu
 1 5
 45
 <210> 118
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 118
 Gln Val Tyr Ile Pro Lys Ser Leu Ser Leu
 1 5 10
 55
 <210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 119
 Ala Pro Val Gly Lys Cys Glu Val Leu
 1 5
 <210> 120

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 120
 Ser Pro Leu Thr Pro Ser Met Lys Leu
 1 5

<210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

<400> 121
 15 Asp Thr Arg Leu Val Glu Val His Leu
 1 5

<210> 122
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20

<400> 122
 25 Ala Pro Pro Pro Gly Val Arg Lys Leu
 1 5

<210> 123
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30

<400> 123
 35 Glu Leu Arg Leu Gln Lys Ala Asp Leu
 1 5

<210> 124
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40

<400> 124
 45 Asn Thr Arg Gly Glu Ala Lys Glu Leu
 1 5

<210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50

<400> 125
 55 Leu Leu Arg Lys Ala Glu Asn Ser Arg Leu
 1 5 10

<210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60

<400> 126
 60 Met Thr Lys Leu Lys Glu Ala Leu Ile

<400> 133
 Met Cys Lys Gln Lys Ser Cys Val
 1 5
 5
 <210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 134
 Phe Pro Asn Leu Gly Asn Thr Cys Tyr
 1 5
 15
 <210> 135
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 135
 Cys Pro Val Val Ala Asn Phe Glu Phe
 1 5
 25
 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 136
 Ile Pro Lys Ser Leu Ser Leu Ser Ser Tyr
 1 5 10
 35
 <210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 137
 Val Pro Gln His Pro Glu Leu Gln Lys Tyr
 1 5 10
 45
 <210> 138
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 138
 Asn Pro Val Pro Asn Lys Lys Tyr
 1 5
 55
 <210> 139
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 139
 Asn Pro Ser Ser Leu Glu Asp Leu
 1 5
 <210> 140

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 140
 Ile Pro Ser Phe Ala Asp Asp Leu
 1 5

 <210> 141
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

 <400> 141
 15 Val Pro Trp Glu Tyr Ile Pro Phe
 1 5

 <210> 142
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20

 <400> 142
 25 Ile Pro Phe Glu Ala Leu Ile Met
 1 5

 <210> 143
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30

 <400> 143
 35 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Ser Tyr
 1 5

 <210> 144
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40

 <400> 144
 45 Leu Pro Val Ala Asp Ser Leu Met
 1 5

 <210> 145
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50

 <400> 145
 55 Asn Pro Gly Asn Lys Asn Ile Leu
 1 5

 <210> 146
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60

 <400> 146
 60 Asp Pro Leu Gln Ala Tyr Arg Leu

<400> 153
 Ser Glu Ile Asn Ser Pro Leu Thr Pro Ser
 1 5 10
 5
 <210> 154
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 154
 Lys Glu Leu Pro Val Ala Asp Ser Leu
 1 5
 15
 <210> 155
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 155
 Gly Asp Ile Ser Leu Pro Val Met Tyr
 1 5
 25
 <210> 156
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 156
 Tyr Glu Lys Thr Asn Thr Phe Val Glu Phe
 1 5 10
 35
 <210> 157
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 157
 Ile Glu Glu Ser Ile Ile Asp Glu Phe
 1 5
 45
 <210> 158
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 158
 Gln Glu Ala Arg Leu His Ser Gly Tyr
 1 5
 55
 <210> 159
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 159
 Ser Leu Asp Asp Ile Ile Ile Tyr Lys
 1 5
 60
 <210> 160

```

      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
5      <400> 160
      Asn Ser Glu Glu Gly Asn His Asp Lys
       1                               5
10     <210> 161
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
15     <400> 161
      Phe Leu Asp Met Ser Leu Asp Asp Ile
       1                               5
20     <210> 162
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
25     <400> 162
      Asp Leu Ile Val Thr Gln Arg Asp Leu
       1                               5
30     <210> 163
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
35     <400> 163
      Asp Leu Ile Ala Thr Gln Arg Asp Leu
       1                               5
40     <210> 164
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
45     <400> 164
      Leu Ile Val Thr Gln Arg Asp Leu Val
       1                               5
50     <210> 165
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
55     <400> 165
      Leu Ile Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile
       1                               5
60     <210> 166
      <211> 9
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens
      <400> 166
      Asp Leu Ile Ala Thr Gln Lys Asp Leu

```

1		5
	<210> 167	
	<211> 9	
5	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 167	
10	Asp Leu Val Asp Thr Gln Ser Asp Leu	
	1 5	
	<210> 168	
	<211> 9	
15	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 168	
20	Ile Ile Tyr Lys Glu Leu Glu Gly Thr	
	1 5	
	<210> 169	
	<211> 9	
25	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 169	
30	Asp Leu Val Ala Thr Glu Arg Asp Leu	
	1 5	
	<210> 170	
	<211> 9	
35	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 170	
40	Lys Val Asn Phe Leu Asp Met Ser Leu	
	1 5	
	<210> 171	
45	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 171	
50	Thr Leu Ser Glu Lys Val Pro Pro Asn	
	1 5	
	<210> 172	
55	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 172	
60	Leu Val Ala Thr Glu Arg Asp Leu Ile	
	1 5	
	<210> 173	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	

5 <400> 173
 Val Thr Gln Arg Asp Leu Val Ala Thr
 1 5
 <210> 174
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 174
 Ile Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile Val
 1 5
 <210> 175
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 175
 Ser Arg Asn His Leu Glu Arg Ser Leu
 1 5
 <210> 176
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 176
 Met Ala Ser Phe Arg Lys Leu Thr Leu
 1 5
 <210> 177
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 177
 Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile Ala Thr
 1 5
 <210> 178
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45 <400> 178
 Ala Thr Gln Lys Asp Leu Ile Ala Thr
 1 5
 <210> 179
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 179
 Ile Ile Ile Tyr Lys Glu Leu Glu Gly
 1 5
 60 <210> 180

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 180
 Asp Met Ser Leu Asp Asp Ile Ile Ile
 1 5
 <210> 181
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 181
 15 Arg Lys Leu Thr Leu Ser Glu Lys Val
 1 5
 <210> 182
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 182
 25 Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile Val Thr
 1 5
 <210> 183
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 183
 Leu Val Asp Thr Gln Ser Asp Leu Ile
 1 5
 35
 <210> 184
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 184
 Leu Ile Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile Val
 1 5 10
 45
 <210> 185
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 185
 Asp Leu Ile Val Thr Gln Arg Asp Leu Val
 1 5 10
 55
 <210> 186
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 186
 Ile Ile Ile Tyr Lys Glu Leu Glu Gly Thr

	1		5		10
		<210>	187		
		<211>	10		
5		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	187		
10	Ser	Leu	Asp	Asp	Ile Ile Ile Tyr Lys Glu
	1			5	10
		<210>	188		
		<211>	10		
15		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	188		
20	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr Gln Arg Asp Leu Ile
	1			5	10
		<210>	189		
		<211>	10		
25		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	189		
30	Asp	Leu	Ile	Ala	Thr Gln Lys Asp Leu Ile
	1			5	10
		<210>	190		
		<211>	10		
35		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	190		
40	Phe	Leu	Asp	Met	Ser Leu Asp Asp Ile Ile
	1			5	10
		<210>	191		
45		<211>	10		
		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	191		
50	Asp	Leu	Val	Asp	Thr Gln Ser Asp Leu Ile
	1			5	10
		<210>	192		
		<211>	10		
55		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		
		<400>	192		
60	Asp	Leu	Val	Ala	Thr Glu Arg Asp Leu Ile
	1			5	10
		<210>	193		
		<211>	10		
		<212>	PRT		
		<213>	Homo sapiens		

<400> 193
 Leu Ile Ala Thr Gln Arg Asp Leu Ile Ala
 1 5 10
 5
 <210> 194
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 194
 Leu Ile Ala Thr Gln Lys Asp Leu Ile Ala
 1 5 10
 15
 <210> 195
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 195
 Ile Val Thr Gln Arg Asp Leu Val Ala Thr
 1 5 10
 25
 <210> 196
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 196
 Gly Phe Lys Ser Gly Gln His Pro Leu
 1 5
 35
 <210> 197
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 197
 Arg Tyr Ser Thr Gly Lys Asn Thr Ile
 1 5
 45
 <210> 198
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 198
 His Pro Ser Arg Lys Lys Val Asn Phe Leu
 1 5 10
 55
 <210> 199
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 199
 Arg Ser Arg Asn His Leu Glu Arg Ser Leu
 1 5 10
 <210> 200

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 200
 His Pro Ser Arg Lys Lys Val Asn Phe
 1 5

 <210> 201
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

 <400> 201
 15 Met Ser Leu Asp Asp Ile Ile Ile Tyr
 1 5

 <210> 202
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20

 <400> 202
 25 Lys Pro Ser Gln Lys Pro Ser Gly Phe
 1 5

 <210> 203
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30

 <400> 203
 His Pro Leu Asn Gly Gln Pro Leu
 1 5
 35

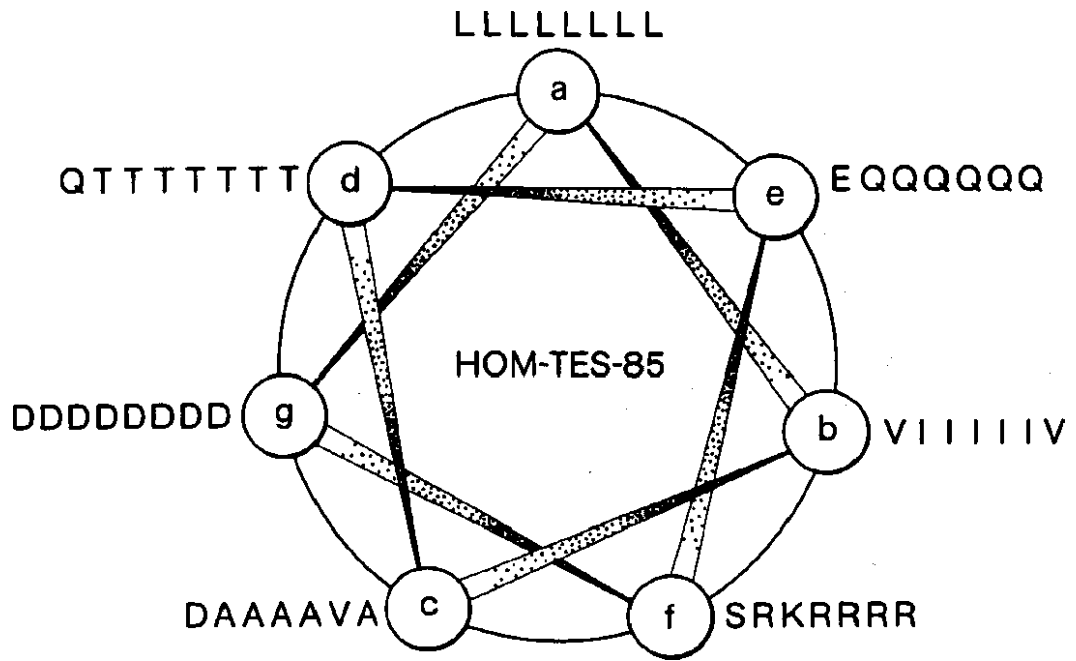
 <210> 204
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40

 <400> 204
 Arg Ser Arg Ser Gln Gly Asp Leu
 1 5
 45

 <210> 205
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50

 <400> 205
 Ile Glu Gln Glu Lys Cys Ser Asp Asn Tyr
 1 5 10

【図1】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Inter. Application No. PCT/US 00/17207
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12Q1/68 C12N5/10 A61K48/00	G01N33/574 A61K39/00
	C07K14/47 A61K39/395	C07K16/18 A61K35/14
		C12N15/63 C07K7/04
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 7	C07K C12Q G01N A61K	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE EMBL 'Online! 6 April 1998 (1998-04-06) "Homo sapiens hook1 protein mRNA" Database accession no. AF044923 XP002177710 cited in the application the whole document</p>	26, 27, 29-33, 48-65, 101-104
X	<p>KRÄMER H & PHISTRY M: "Genetic analysis of hook, a gene required for endocytic trafficking in Drosophila." GENETICS, vol. 151, no. 2, February 1999 (1999-02), pages 675-684, XP002177709 figure 1</p>	26, 27, 29-33, 48-65, 101-104

-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*G* document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
6 December 2001		18. 12. 2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Teyssier, B

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 00/17207

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEN ET AL: "Identification of multiple cancer/testis antigens by allogenic antibody screening of a melanoma cell line library" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE USA, vol. 95, June 1998 (1998-06), pages 6919-6923, XP002132946 cited in the application -----	
P,X	DATABASE EMBL 'Online! 1 February 2000 (2000-02-01) "Homo sapiens HOM-TES-85 tumor antigen mRNA" Database accession no. AF124430 XP002184893 the whole document -----	1-104

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 international application No.
 PCT/US 00/17207
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 68-94 are directed to methods of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compositions.
2. Claims Nos.: -
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-9, 11-14, 17-22, 25-27, 30-37, 39-42, 45, 48-66, 68-94, 96-104 partially (SEQ ID 4); 1-104 partially (SEQ ID 10, 11, 159-205)
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims: it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1-9, 11-14, 17-22, 25-27, 30-37, 39-42, 45, 48-66, 68-94, 96-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 4

Methods and compositions featuring SEQ ID 4 or derivatives (complementary sequence, expression vectors, corresponding protein, peptide fragments, antibodies thereto).

2. Claims: 1-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 5, 6 or 12-158

Methods and compositions featuring SEQ ID 5, 6, 12-158 or derivatives.

3. Claims: 1-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 7

Methods and compositions featuring SEQ ID 7 or derivatives.

4. Claims: 1-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 8

Methods and compositions featuring SEQ ID 8 or derivatives.

5. Claims: 1-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 9

Methods and compositions featuring SEQ ID 9 or derivatives.

6. Claims: 1-104,
all partially as far as they relate to SEQ ID 10, 11 or 159-205

Methods and compositions featuring SEQ ID 10, 11, 159-205 or derivatives.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/SA/ 210

Continuation of Box I.2

The terms "NA group 1", "NA group 2" and so forth are applicant's own reference signs, used in the claims in contradiction with Rule 6.2 (a) PCT; for search purpose they have been interpreted as defined at pages 16 and 17 of the description. In relation with the finding of non-unity, it is noted that "NA group 3" and "NA group 4" are the same as "NA group 1" and "NA group 2", respectively, exclusive of the first subject. Similar considerations apply to the terms "PP group 1" and so forth.

The present claims relate to an extremely large number of possible compounds defined by reference to desirable properties, namely to bind an MHC molecule (claim 96) and form a recognizable complex ("group 2"), or to bind said complex (claim 2 g-i), to react with allogenic cancer antisera ("group 5"), to bind a HLA molecule (claims 51, 62), to be of sufficient length to represent a sequence unique within the human genome (claim 48), to bind a polypeptide (claim 26), to enrich the presence of a cancer antigen or MHC complexes thereof (claims 13, 68) or conversely to inhibit expression or activity of a polypeptide (claim 92). The claims cover all compounds having the applicable property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible.

Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the compound by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely:
--for "group 2", "group 4" and "group 5", for "a fragment that binds an HLA molecule" and for "a fragment of sufficient length to represent a sequence unique in the human genome", the complete nucleic acid of SEQ ID 4 or SEQ ID 10 where claims are directed to nucleic acids or the whole corresponding protein (SEQ ID 11) and the peptides of SEQ ID 159-205 where claims are directed to proteins or polypeptides;
--for an agent which binds a polypeptide or a complex of a polypeptide and an MHC molecule, an antibody;
--for an agent which "enriches the presence of a cancer antigen", the antigen itself, a corresponding nucleic acid, an expression vector or a transformed host cell;
--for an agent which "inhibits expression or activity", an antisense or an antibody.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

专利名称(译)	癌症相关抗原及其用途		
公开(公告)号	JP2003527826A	公开(公告)日	2003-09-24
申请号	JP2001506864	申请日	2000-06-23
[标]申请(专利权)人(译)	路德维格癌症研究所		
申请(专利权)人(译)	路德维格癌症研究所		
[标]发明人	ザーヒンウグール ツレチオズレム フロイントシューミヒャエル		
发明人	ザーヒン,ウグール ツレチ,オズレム フロイントシュー,ミヒャエル		
IPC分类号	G01N33/53 A61K35/12 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/39 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/574		
CPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61K39/0011 A61K2039/5152 A61K2039/5156 A61K2039/53 A61P35/00 C07K14/4748 G01N33/57484		
FI分类号	A61K35/12 A61K39/00.H A61K39/39 A61K39/395.D A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/53.D C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/BA41 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA15 4B024/HA19 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS35 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA14 4B065/AA90X 4B065/AA99Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA14 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA23 4C084/BA35 4C084/BA44 4C084/CA18 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/CA59 4C084/DA01 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/NA01 4C084/NA05 4C084/NA10 4C084/NA13 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA02 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB01 4C085/BB11 4C085/CC03 4C085/CC04 4C085/CC05 4C085/CC21 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/EE06 4C085/FF13 4C085/FF14 4C085/FF18 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB63 4C087/BB65 4C087/BC83 4C087/CA04 4C087/CA12 4C087/MA02 4C087/MA05 4C087/NA01 4C087/NA05 4C087/NA13 4C087/NA14 4C087/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/CA41 4H045/DA75 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	09/346498 1999-06-30 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

已经通过使用来自精原细胞瘤患者的抗血清通过自体抗体筛选在睾丸细胞中表达的核酸文库来鉴定与癌症相关的抗原。本发明涉及核酸和编码的多肽，它们是在患有多种癌症的患者中表达的癌症相关抗原。本发明提供了除其他外分离的核酸分子，包含那些分子的表达载体和被那些分子转染的宿主细胞。本发明还提供分离的蛋白质和肽，针对那些蛋白质和肽的抗体以及识别该蛋白质和肽的细胞毒性T淋巴细胞。还提供了前述片段，包括功能片段和变体。还提供了包含上述分子的试剂盒。本发明提供的分子可用于诊断，监测，研究或治疗以表达一种或多种癌症相关抗原为特征的疾病。

抗原	Genbank 寄託番号	既知の遺伝子 との相同性	正常組織中の 発現	血清との 反応性
HOM-TES-83 (SEQ ID NO:4)	AF044923	ヒトhookタンパク質 と同一	ノーザンブロットにより示された 精巣中での高過剰発現。 わずかな遍在性発現。	0/10 健常 0/14 精上皮腫
HOM-TES-84 HOM-TES-86 (SEQ ID NO:5)	AF124433	エピキチン- カルボキシ末端 ヒドラーゼ遺伝子と 同様のドメインを有する	検出されず	3/12 健常
HOM-TES-87 (SEQ ID NO:7)	AF124431	<i>X. laevis</i> 有糸分裂 pp43 [U95097] と同様	ノーザンブロットにより示された 精巣中での高過剰発現。 RT-PCRにより検出可能な 正常組織中での発現。	0/10 健常 1/10 精上皮腫
HOM-TES-88	AF124434	相同性なし	RT-PCRによる遍在性発現	0/12 健常