(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第5135150号
(P5135150)
(45)発行日　平成25年1月30日(2013.1.30)　(24)登録日　平成24年11月16日(2012.11.16)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00	
A61P 37/02	(2006.01)	A61P	37/02	
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	H
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	

請求項の数 14　(全 183 頁)

(21)出願番号	特願2008-251482 (P2008-251482)
(22)出願日	平成20年9月29日 (2008.9.29)
(62)分割の表示	特願2002-580010 (P2002-580010)の分割
原出願日	平成14年4月4日 (2002.4.4)
(65)公開番号	特開2009-60910 (P2009-60910A)
(43)公開日	平成21年3月26日 (2009.3.26)
審査請求日	平成20年10月29日 (2008.10.29)
(31)優先権主張番号	60/282,211
(32)優先日	平成13年4月6日 (2001.4.6)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	60/337,017
(32)優先日	平成13年11月7日 (2001.11.7)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　503208552
マンカインド　コーポレイション
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９１３５５　バレンシア　ノース　アベニュー　ペイン　２８９０３
(74)代理人　100100549
弁理士　川口　嘉之
(74)代理人　100090516
弁理士　松倉　秀実
(72)発明者　シマード，ジョン　ジェイ．エル．
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９１３２６　ノースリッジ　ロートン　ウェイ　１１９１８

最終頁に続く

(54)【発明の名称】エピトープ配列

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
第１の配列を含むリーディングフレームを有する単離された核酸であって、
前記第１の配列は腫瘍関連抗原ＰＲＡＭＥ（配列番号：７７）の１つのセグメントをコードし、
前記第１の配列は完全なＰＲＡＭＥ抗原をコードせず、該セグメントがエピトープクラスターを有し、
前記クラスターは、同じＭＨＣ受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも２つのアミノ酸配列を有し、
前記リーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結し、
前記セグメントが、３０アミノ酸未満の長さのポリペプチドからなり、
前記エピトープクラスターは次のアミノ酸からなるグループから選択されることを特徴とする単離された核酸；
配列番号７７に記載のＰＲＡＭＥの３３－４７、７１－８１、１２６－１３５、２２２－２３８、２２４－２４６、２９０－３０３、３０５－３２４、３４３－３６３、３９４－４０９、４２２－４４３及び４５９－４８７のアミノ酸。
【請求項２】
第１の配列を含むリーディングフレームを有する単離された核酸であって、
前記第１の配列は腫瘍関連抗原ＰＲＡＭＥ（配列番号：７７）の１つのセグメントをコードし、

前記第１の配列は完全なＰＲＡＭＥ抗原をコードせず、該セグメントがエピトープクラスターからなり、
前記クラスターは、同じＭＨＣ受容体ペプチド結合間隙と既知のまたは予測親和性を有する少なくとも２つのアミノ酸配列を有し、
前記リーディングフレームは、プロモーターとその制御下で連結し、
前記エピトープクラスターは次のアミノ酸からなるグループから選択されることを特徴とする単離された核酸；
配列番号７７に記載のＰＲＡＭＥの１８－５９、７８－１１５及び３６４－４４７のアミノ酸。

【請求項３】
更に第２の配列を含むことを特徴とする請求項１または２に記載の核酸であって、前記第２の配列が、成熟したハウスキーピングエピトープ、または１～数個の更なるアミノ酸が隣接したハウスキーピングエピトープであって、免疫プロテアソームプロセッシングにより直接的に遊離することが可能となるかまたはＮ－末端トリミングとの組み合わせ若しくは外因性の酵素活性との組み合わせにより遊離することが可能となるハウスキーピングエピトープをコードする核酸。

【請求項４】
前記第１及び第２の配列が単一のリーディングフレームを構成することを特徴とする、請求項３に記載の核酸。

【請求項５】
前記リーディングフレームがプロモーターとその制御下で連結することを特徴とする、請求項４に記載の核酸。

【請求項６】
請求項４または５に記載の前記リーディングフレームにおいてコードされるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド。

【請求項７】
請求項４又は請求項５に記載の核酸を含む免疫原性組成物。

【請求項８】
請求項６に記載のポリペプチドを含む免疫原性組成物。

【請求項９】
前記リーディングフレームが、更に、エピトープまたはエピトープ配列から本質的になるポリペプチド配列をコードする第２の配列を有することを特徴とする、請求項１または２に記載の核酸。

【請求項１０】
１つのＰＲＡＭＥエピトープクラスターを有するアミノ酸配列をコードする塩基配列と制御可能なように連結されたプロモーターを有する発現ベクターであって、前記塩基配列が完全なＰＲＡＭＥ抗原をコードせず、前記ＰＲＡＭＥのセグメントが３０アミノ酸未満の長さのポリペプチドからなり、前記エピトープクラスターは次のアミノ酸からなるグループから選択されることを特徴とする発現ベクター；
配列番号７７に記載のＰＲＡＭＥの３３－４７、７１－８１、１２６－１３５、２２２－２３８、２２４－２４６、２９０－３０３、３０５－３２４、３４３－３６３、３９４－４０９、４２２－４４３及び４５９－４８７のアミノ酸。

【請求項１１】
１つのＰＲＡＭＥエピトープクラスターからなるアミノ酸配列をコードする塩基配列と制御可能なように連結されたプロモーターを有する発現ベクターであって、前記塩基配列が完全なＰＲＡＭＥ抗原をコードせず、前記エピトープクラスターは次のアミノ酸からなるグループから選択されることを特徴とする発現ベクター；
配列番号７７に記載のＰＲＡＭＥの１８－５９、７８－１１５及び３６４－４４７のアミノ酸。

【請求項１２】

前記ハウスキーピングエピトープが配列番号１、８～６９、及び８８～５８８のいずれかで表されるポリペプチドであることを特徴とする、請求項３～５のいずれか１項に記載の核酸。

【請求項１３】

ハウスキーピングプロテアソームが優勢に活性である細胞上に提示されるＭＨＣエピトープをコードする、設計されたかまたは操作された核酸配列を更に有する請求項１または２に記載の核酸であって、前記エピトープが、ｐＡＰＣにおけるプロセッシングにより遊離し得る状態となるようにより大きな配列に組み込まれていることを特徴とする核酸。

【請求項１４】

前記エピトープが配列番号１、８～６９、及び８８～５８８のいずれかで表されるポリペプチドであることを特徴とする、請求項１３に記載の核酸。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

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

【背景技術】

【０００２】

［背景技術の説明］

新形成および免疫系

癌として一般に知られる新形成疾患状態は、一般に制御の効かない単一細胞成長に起因すると考えられる。未制御の成長状態は通常、多工程に起因し、ここでは一連の細胞系が衰え、新生細胞の発生をもたらす。生じた新生細胞はそれ自体を迅速に再生し、１つまたは複数の腫瘍を形成し、最終的には宿主の死を招き得る。

【０００３】

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

【０００４】

ウイルスおよび免疫系

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

【０００５】

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

【０００６】

免疫系は、生物にとって内因性の分子（「自己」分子）を、生物に対する外因性または外来性の物質（「非自己分子」）と識別するように機能する。免疫系は、応答を媒介する

構成成分に基づいて異物に対して２つのタイプの適応応答：体液性応答および細胞性応答を有する。体液性応答は抗体により媒介される一方で、細胞性免疫は、リンパ球として類別される細胞に関与する。最近の抗癌および抗ウイルス戦略は、抗癌もしくは抗ウイルス治療または療法の手段として、宿主免疫系を動員することに焦点を当てている。

【０００７】

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

【０００８】

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

【０００９】

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

【００１０】

主要組織適合性複合体およびＴ細胞標的認識

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

【００１１】

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

【００１２】

「プロフェッショナル抗原提示細胞」（ｐＡＰＣ）と呼ばれる細胞は、ＭＨＣタンパク質を用いてＴ細胞に対する抗原を提示するが、ｐＡＰＣの分化／活性化の特定の状態に応じて、様々な共刺激分子をさらに発現する。認識可能なＭＨＣタンパク質に結合されたペプチドに特異的なＴ細胞がｐＡＰＣ上のこれらのＭＨＣ－ペプチド複合体に結合すると、

Ｔ細胞に作用する特定の共刺激分子は、Ｔ細胞が取る分化／活性化の経路を誘導する。すなわち、共刺激分子は、Ｔ細胞が免疫応答の次の段階に進む際に今後の遭遇において抗原シグナルにどのように作用するかに影響を与える。

【００１３】

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

【００１４】

抗癌ワクチン

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

【００１５】

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

【００１６】

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

【００１７】

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

【００１８】

ワクチンとして使用される腫瘍関連抗原の別の例では、Scheinberg等は、ヘルパーペプチドとアジュバントＱＳ－２１とともに、クラスＩ関連ｂｃｒ－ａｂｌペプチドを５回注射することにより、すでにインターフェロン（ＩＦＮ）またはヒドロキシ尿素を施した１２人の慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）患者を治療した。Scheinberg, D.A. et al., 「ＢＣＲ－ＡＢＬブレイクポイント由来癌遺伝子融合ペプチドワクチンは、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）の患者において特定の免疫応答を生成する(BCR-ABL Breakpoint Derived Oncogene Fusion Peptide Vaccines Generate Specific Immune Responses in Patients with C

hronic Myelogenous Leukemia (CML)」, [Abstract 1665], American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta (1999)。Ｔヘルパー活性を示す増殖性および遅延型過敏性（ＤＴＨ）Ｔ細胞応答が誘発されたが、細胞傷害性キラーＴ細胞活性は新鮮な血液試料内では観察されなかった。

【００１９】

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

【００２０】

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

【００２１】

抗ウイルスワクチン

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

【００２２】

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

【００２３】

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

【発明の開示】

【００２４】

［発明の概要］
標的細胞エピトープを提示するためにプロフェッショナル抗原提示細胞（ｐＡＰＣ）を一次刺激する従来の方法は、単にｐＡＰＣに、標的関連抗原（ＴＡＡ）、またはＭＨＣＩ分子に対して高親和性を有すると考えられる抗原のエピトープを発現させることに依存している。しかしながら、かかる抗原のプロテアソームプロセシングは、標的細胞上に存在するエピトープに相当しないｐＡＰＣ上のエピトープの提示をもたらす。
【００２５】
効果的な細胞免疫応答は、ｐＡＰＣが標的細胞により提示される同じエピトープを提示することを必要とするという知見を用いて、本発明は、ＭＨＣ　Ｉに対して高親和性を有し、末梢細胞で活性であるハウスキーピングプロテアソームのプロセシング特異性に相当するエピトープを提供する。したがって、これらのエピトープは、標的細胞上に提示されるエピトープに相応する。ワクチンにおけるかかるエピトープの使用は、細胞免疫応答を活性化して、正確にプロセシングされたＴＡＡを認識することができ、かかるエピトープを提示する標的細胞の除去をもたらし得る。幾つかの実施形態では、本明細書中に提供されるハウスキーピングエピトープは免疫性エピトープと組み合わせて使用することができ、適合性である細胞免疫応答を生成して、インターフェロン導入前および後の両方で、標的細胞を攻撃する。他の実施形態では、エピトープは、標的関連疾患の診断およびモニタリングにおいて、ならびにかかる目的のための免疫学的試薬の生成において有用である。
【００２６】
本発明の実施形態では、単離されたエピトープ、および上記エピトープを含む抗原またはポリペプチドに関する。好ましい実施形態として、表１に記載の配列を有するエピトープまたは抗原が挙げられる。他の実施形態としては、表１由来のポリペプチドを含むエピトープクラスターを挙げることができる。さらに、実施形態としては、上述のエピトープ、ポリペプチド、抗原、またはクラスターに対して実質的類似性を有するポリペプチドが挙げられる。他の好ましい実施形態としては、上記のいずれかに対して機能的類似性を有するポリペプチドが挙げられる。さらなる実施形態は、表１および本明細書に記載されるエピトープ、クラスター、抗原のいずれかのポリペプチドをコードする核酸およびポリペプチドに関する。以下の概要のために、「エピトープ（単数または複数）」を参照する場合、本発明の他の実施形態の議論は、エピトープの上述の形態のすべてに制限されることなく言及し得る。
【００２７】
エピトープは免疫学的に活性であり得る。エピトープを含むポリペプチドは、約３０未満のアミノ酸長であり得て、より好ましくは、ポリペプチドは例えば８～１０アミノ酸長である。実質的類似性または機能的類似性は、例えば少なくとも１つのアミノ酸の付加を含むことができ、少なくとも１つの付加されたアミノ酸は、ポリペプチドのＮ末端にあり得る。実質的類似性または機能的類似性は、少なくとも１つのアミノ酸の置換を含むことができる。
【００２８】
エピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドは、ＨＬＡ－Ａ２分子に対して親和性を有することができる。親和性は、結合アッセイ、エピトープ認識の制限アッセイ、予測アルゴリズム等により決定することができる。エピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドは、ＨＬＡ－Ｂ７、ＨＬＡ－Ｂ５１分子等に対して親和性を有することができる。
【００２９】
好ましい実施形態では、ポリペプチドは、ハウスキーピングエピトープであり得る。エピトープまたはポリペプチドは、腫瘍細胞上に提示されるエピトープ、新生血管系細胞上に提示されるエピトープ等に相当することができる。エピトープまたはポリペプチドは免疫性エピトープであり得る。エピトープ、クラスターおよび／またはポリペプチドは核酸であり得る。
【００３０】

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

【００３１】

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

【００３２】

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

【００３３】

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

【００３４】

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

【００３５】

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

【００３６】

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

【００３７】

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

【００３８】

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

【００３９】

本発明の他の実施形態は、例えば表１に開示するエピトープ、クラスターまたはそれらを含むポリペプチドをコードする構築物を含む本明細書中に記載する組換え構築物を発現する宿主細胞に関する。宿主細胞は樹状細胞、マクロファージ、腫瘍細胞、腫瘍由来細胞

、細菌、真菌、原生動物等であり得る。実施形態はまた、本明細書中に記載の宿主細胞のような宿主細胞、および薬学的に許容可能なアジュバント、キャリア、希釈剤、賦形剤等を含む薬学的組成物に関する。

【００４０】

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

【００４１】

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

【００４２】

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

【００４３】

他の実施形態は、免疫原性を評価する方法であって、上記および本明細書中の他の箇所に記載するもののようなワクチンまたは免疫治療用組成物によるＴ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激、および上記Ｔ細胞の特徴に基づいて免疫原性を評価することを含む方法に関する。刺激は一次刺激であり得る。

【００４４】

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

【００４５】

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

【００４６】

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

【００４７】

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

【００４８】

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

【００４９】

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

【００５０】

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

【００５１】

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

【００５２】

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

【００５３】

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

【００５４】

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

【発明を実施するための最良の形態】

【００５５】

［好適な実施形態の詳細な説明］

定義

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

【００５６】

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

【００５７】

末梢細胞：ｐＡＰＣではない細胞である。

【００５８】

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

【００５９】

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

【００６０】

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

【００６１】

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

【００６２】

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

【００６３】

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

【００６４】

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

【００６５】

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

【００６６】
腫瘍関連抗原（ＴｕＡＡ）：標的細胞が新生細胞であるＴＡＡである。
【００６７】
ＨＬＡエピトープ：ヒトクラスＩまたはクラスＩＩ　ＨＬＡ複合体分子に対して既知または予測された結合親和性を有するポリペプチドである。
【００６８】
抗体：生化学的に得られようと、または組換えＤＮＡを用いて得られようと、天然免疫グロブリン（Ｉｇ）（ポリまたはモノクローナル）、またはＩｇ結合ドメインの全体もしくは部分で構成される任意の分子である。例としては、とりわけＦ（ａｂ）、単鎖Ｆｖ、およびＩｇ可変領域相コートタンパク質融合物が挙げられる。
【００６９】
コード：特定のアミノ酸配列をコードする核酸はその（ポリ）ペプチドを指定するコドンから構成され得るが、また翻訳可能であるか、または転写、翻訳もしくは複製の制御のための、または幾つかの宿主核酸構築物の操作を容易にするためのさらなる配列を含むことができるような制限のない用語である。
【００７０】
実質的類似性：この用語は、配列試験により判断される場合に、重要でない様式で参照配列と異なる配列を指すのに使用される。同じアミノ酸配列をコードする核酸配列は、縮重位置の違い、または任意の非コード領域の長さもしくは組成の中程度の違いにもかかわらず実質的に類似している。保存的置換またはわずかな長さの変動のみが異なるアミノ酸配列は、実質的に類似している。さらに、Ｎ末端フランキング残基の数が異なるハウスキーピングエピトープ、またはいずれかの末端のフランキング残基の数が異なる免疫性エピトープまたはエピトープクラスターを含むアミノ酸配列は、実質的に類似している。実質的に類似性のアミノ酸配列をコードする核酸自体もまた、実質的に類似している。
【００７１】
機能的類似性：この用語は、生物学的特性または生化学的特性試験により判断される場合に、重要でない様式で参照配列と異なる配列を指すのに使用されるが、配列は実質的に類似していない場合がある。例えば、２つの核酸は、同じ配列用のハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得るが、異なるアミノ酸配列をコードする。交差反応性ＣＴＬ応答を誘導する２つのペプチドは、それらが非保存的アミノ酸置換だけ異なる（したがって、実質的類似性の定義を満たさない）場合でも、機能的に類似している。同じエピトープを認識する抗体対、またはＴＣＲは、どんな構造的差異が存在しようとも、互いに機能的に類似し得る。免疫原性の機能的類似性に関して試験する際に、一般に「変性（altered）」抗原で免疫して、誘発される応答（Ａｂ、ＣＴＬ、サイトカイン産生等）の標的抗原を認識する能力を試験する。したがって、２つの配列は、同じ機能を保持しながら、ある特定の点で異なるように設計され得る。このように設計された配列変異体は、本発明の実施形態中にある。
【００７２】

【表１Ａ－１】

表１Ａ　配列番号　*実施例１～７，１３のエピトープを含む

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

【表１Ａ－２】

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

【表１Ａ－３】

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

【００７３】

【表１Ｂ－１】

表１Ｂ　配列番号* 実施例１４及び１５のエピトープを含む

配列番号	性質	配列
70	GP100 タンパク質	**アクセッション番号: P40967
71	MAGE-1 タンパク質	アクセッション番号: P43355
72	MAGE-2 タンパク質	アクセッション番号: P43356
73	MAGE-3 タンパク質	アクセッション番号: P43357
74	NY-ESO- タンパク質	アクセッション番号: P78358
75	LAGE-1a タンパク質	アクセッション番号: CAA11116
76	LAGE-1b タンパク質	アクセッション番号: CAA11117
77	PRAME タンパク質	アクセッション番号: NP 006106
78	PSA タンパク質	アクセッション番号: P07288
79	PSCA タンパク質	アクセッション番号: O43653
80	GP100 cds	アクセッション番号: U20093
81	MAGE-1 cds	アクセッション番号: M77481
82	MAGE-2 cds	アクセッション番号: L18920
83	MAGE-3 cds	アクセッション番号: U03735
84	NY-ESO-1 cDNA	アクセッション番号: U87459
85	PRAME cDNA	アクセッション番号: NM_006115
86	PSA cDNA	アクセッション番号: NM_001648
87	PSCA cDNA	アクセッション番号: AF043498
88	GP100 630-638	LPHSSSHWL
89	GP100 629-638	QLPHSSSHWL
90	GP100 614-622	LIYRRRLMK
91	GP100 613-622	SLIYRRRLMK
92	GP100 615-622	IYRRRLMK
93	GP100 630-638	LPHSSSHWL
94	GP100 629-638	QLPHSSSHWL
95	MAGE-1 95-102	ESLFRAVI
96	MAGE-1 93-102	ILESLFRAVI
97	MAGE-1 93-101	ILESLFRAV
98	MAGE-1 92-101	CILESLFRAV
99	MAGE-1 92-100	CILESLFRA

【表１Ｂ－２】

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

【表１Ｂ－３】

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

【表１Ｂ－４】

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

【表１Ｂ－５】

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

【表１Ｂ－６】

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

[1]このＨは、ＳＷＩＳＳＰＲＯＴデータベースではＹとして報告されていた。

[2]２７４位のアミノ酸は、データベースに依存してＰｒｏまたはＬｅｕであり得る。本明細書中で提示される特定の解析はＰｒｏを使用した。

【００７４】

【表１Ｃ－１】

表１Ｃ

配列番号* 実施例１４のエピトープを含む

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

【表１Ｃ－２】

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

【表１Ｃ－３】

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

【表１Ｃ－４】

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

【表１Ｃ－５】

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

【表１Ｃ－６】

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

【表１Ｃ－７】

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

【表１Ｃ－８】

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

【表１Ｃ－９】

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

【表１Ｃ－１０】

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

【表１Ｃ－１１】

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

*配列番号１、８、９、１１～２３、２６～２９、３２～４４、４７～５４、５６～６３、６６～６８、８８～２５３、および２５６～５８８のいずれかは、本発明の様々な実施形態のいずれかにおいてエピトープとして有用であり得る。配列番号１０、３０、３１、４５、４６、５５、６４、６５、６９、２５４、および２５５のいずれかは、本発明の様々な実施形態に記載されるように、エピトープまたはエピトープクラスターを含有する配列として有用であり得る。

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

【００７５】

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

【００７６】

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

【００７７】

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

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

【００７８】

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

【００７９】

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

【００８０】

活性エピトープを含有する組成物

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

【００８１】

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

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

【００８２】

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

【００８３】

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

【００８４】

変異体はまた、ポリペプチドエピトープ変異体のＮ末端上に任意の配列を付加することにより作製され得る。かかるＮ末端付加は、１個のアミノ酸から少なくとも２５個のアミノ酸であり得る。ペプチドエピトープはｐＡＰＣにおいて活性なＮ末端エキソペプチダーゼによりトリミングされることが多いため、付加された配列における変異体は、エピトープの活性に影響を与えないことが理解される。好ましい実施形態では、最終の上流プロテ

アソーム切断部位とＭＨＣエピトープのＮ末端との間のアミノ酸残基はプロリン残基を含まない。Serwold, T. et al., Nature Immunol. 2:644-651, 2001。したがって、有効なエピトープは、好ましい９量体クラスＩモチーフより大きな前駆体から生成され得る。

【００８５】

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

【００８６】

【表２】

表２

様々なＭＨＣタイプに対するチロシナーゼ$_{207\sim216}$（配列番号１）の予測結合

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

*ＨＬＡペプチド結合予測（ワールドワイドウェブ　hypertext tranfer protocol「access at bimas. dcrt. nih. gov/molbio/hla_bin」）

【００８７】

本発明のさらなる実施形態では、ペプチドまたはコードポリヌクレオチドとしてのエピトープは、例えばワクチンまたは免疫治療用組成物のような薬学的組成物として、単独で、または様々なアジュバント、キャリア、または賦形剤と組み合わせて投与され得る。ワクチンという用語は本明細書中の説明全体にわたって使用され得るが、その概念は本明細

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

【００８８】

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

【００８９】

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

【００９０】

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

【００９１】

好ましい実施形態では、患者の免疫は、ハウスキーピングエピトープを含むワクチンを用いて行われる。多くの好ましいＴＡＡは、特に感染細胞の場合に、標的細胞と独占的に関連される。別の実施形態では、多くの好ましいＴＡＡは、形質転換細胞において調節解除された（deregulated）遺伝子発現の結果であるが、精巣、卵巣および胎児の組織でも見出される。別の実施形態では、有用なＴＡＡは、他の細胞中よりも標的細胞中でより高いレベルで発現される。さらに他の実施形態では、ＴＡＡは他の細胞と比較して標的細胞上で差次的に発現されないが、ＴＡＡは細胞の特定の機能に関連し、ほとんどの他の末梢細胞と標的細胞を識別するため依然として有用である。かかる実施形態では、同様にＴＡ

Ａを示す健常な細胞は、誘導されるＴ細胞応答により副次的に攻撃され得るが、かかる副次的損傷は、標的細胞により引き起こされる状態に対してかなり好ましいとみなされる。

【００９２】

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

【００９３】

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

【００９４】

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

【００９５】

ＤＮＡによる免疫には、ＡＰＣがＤＮＡを採取し、コードタンパク質またはペプチドを発現することが必要である。ＤＮＡ上で別個のクラスＩペプチドをコードすることが可能である。この構築物で免疫することにより、ＡＰＣにハウスキーピングエピトープを発現させることができ、続いて適切なＣＴＬ応答を刺激するために細胞表面上のクラスＩ　ＭＨＣ上に提示される。ハウスキーピングエピトープの適正な末端の生成のための翻訳の終結または非プロテアソームプロテアーゼに概して依存する構築物は、２０００年４月２８日に出願された標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター(EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)という表題の米国特許出願第０９／５６１，５７２号に記載されている。

【００９６】

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

【００９７】

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

【００９８】

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

【００９９】

好ましい実施形態では、ハウスキーピングエピトープは、既知の免疫性エピトープ、またはかかるセグメント間に配置させることができ、それによりプロセシングに適切な状況を提供する。ハウスキーピングエピトープおよび免疫性エピトープの隣接（abutment）は、免疫プロテアソームが、ハウスキーピングエピトープ、または好ましくは正確なＣ末端を含むより大きな断片を遊離させることが可能となるのに必要な状況を作り出すことができる。所望のエピトープが産生されることを確証するために構築物をスクリーニングすることが有用であり得る。ハウスキーピングエピトープの隣接は、免疫プロテアソームにより切断可能な部位を生成することができる。本発明の幾つかの実施形態は、試験基質にお

いてハウスキーピングエピトープに隣接するために既知のエピトープを使用し、他の実施形態では、フランキング領域が天然フランキング配列の任意の配列であろうとあるいは突然変異であろうと、またプロテアソーム切断の優先の知見が基質を設計するのに使用されようと使用されまいと、以下に記載するようなスクリーニングが使用される。

【０１００】

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

【０１０１】

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

【０１０２】

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

【０１０３】

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

【０１０４】

本発明によるワクチンとして有用なさらなる核酸構築物へのガイダンスは、２０００年

４月２８日に出願された「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター(EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)」という表題の米国特許出願第０９／５６１，５７２号に開示されている。さらに、本発明により有用な発現ベクターの発現およびそれらの設計方法は、２００１年７月１１日に出願された「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター、およびそれらの設計方法(EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS AND METHODS FOR THEIR DESIGN」という表題の米国特許出願第６０／３３６，９６８号（代理人整理番号ＣＴＬＩＭＭ．０２２ＰＲ）に開示されている。

【０１０５】

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

【０１０６】

エピトープ認識試薬

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

【０１０７】

他の実施形態では、エピトープおよび／またはエピトープ－ＭＨＣ複合体のいずれかに特異的なＴ細胞を、ｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏで誘発および生成するのに組成物を使用することができる。好ましい実施形態では、エピトープは、例えば、表１に列挙した任意の１つまたは複数のエピトープであり得る。したがって、実施形態はまた、単離されたＴ細胞、Ｔ細胞クローン、Ｔ細胞ハイブリドーマ、またはクローニングした遺伝子に由来するＴ細胞受容体（ＴＣＲ）結合ドメインを含有するタンパク質、ならびにかかるタンパク質を発現する組換え細胞に関し、かつそれらを包含する。かかるＴＣＲ由来タンパク質は、単にＴＣＲの細胞外ドメインであり得るか、または所望の特性および機能を付与するための別のタンパク質の一部との融合物であり得る。かかる融合物の一例は、二価の分子を創出するために、抗体分子の定常領域に、ＴＣＲ結合ドメインを結合することである。この一般的パターンに従った分子の構築および活性は、例えば、Plaksin, D. et al. J. Immunol. 158:2218-2227, 1997、およびLebowitz, M.S. et al. Cell Immunol. 192:175-184, 1999に報告されている。かかる分子のより一般的な構築および使用は、Ｔ細胞受容体、ならびに治療方法および診断方法におけるそれらの使用(T CELL RECEPTORS AND THEIR USE IN THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC METHODS)という表題の米国特許第５，８３０，７５５号でも取り扱われている。

【０１０８】
かかるＴ細胞の生成は、実験室動物の標準的な免疫により容易に達成することができ、ヒト標的細胞に対する反応性は、ヒト標的細胞を用いて免疫することにより、あるいはＨＬＡトランスジェニック動物を抗原／エピトープで免疫することにより獲得することができる。幾つかの治療上のアプローチに関して、同種に由来するＴ細胞が望ましい。かかる細胞は、例えば上述に意図するようにマウスＴＣＲをヒトＴ細胞にクローニングすることにより創出することができる一方で、ヒト細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ免疫は潜在的により迅速な選択を付与する。ナイーブドナーを用いた場合でさえｉｎ　ｖｉｔｒｏ免疫に関する技法はこの分野で既知であり、例えば、Stauss et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7871-7875, 1992、Salgaller et al. Cancer Res. 55:4972-4979, 1995、Tsai et al., J. Immunol. 158:1796-1802, 1997、およびChung et al., J. Immunother. 22:279-287, 1999を参照されたい。

【０１０９】
これらの分子のいずれかを、エピトープに関連した病原状態の診断（イメージング、または他の検出）、モニタリング、および治療で使用するために、酵素、放射化学物質、蛍光タグ、および毒素と結合させることができる。したがって、毒素結合体は、腫瘍細胞を死滅させるのに投与することができ、放射標識は、エピトープ陽性腫瘍のイメージングを容易にすることができ、酵素結合体は、癌を診断し生検組織におけるエピトープ発現を確認するために、ＥＬＩＳＡ様アッセイで使用することができる。さらなる実施形態では、上述に記載するようなＴ細胞は、エピトープおよび／またはサイトカインによる刺激により達成される増殖後に、養子免疫療法として患者に投与することができる。

【０１１０】
エピトープ含有試薬
本発明のさらなる態様は、単離されたエピトープ－ＭＨＣ複合体を提供する。本発明のこの態様の特に好適な実施形態では、複合体は、米国特許第５，６３５，３６３号（四量体）、または米国特許第６，０１５，８８４号（Ｉｇ－二量体）に記載されるもののような可溶性の多量体タンパク質であり得る。かかる試薬は、特定のＴ細胞応答を検出およびモニタリングする際に、ならびにかかるＴ細胞を精製する際に有用である。

【０１１１】
エピトープペプチドと複合体を形成した単離されたＭＨＣ分子はまた、平面状脂質二重層またはリポソームに組み込むことができる。かかる組成物は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはリポソームの場合には、ｉｎ　ｖｉｖｏでＴ細胞を刺激するのに使用することができる。共刺激分子（例えば、Ｂ７、ＣＤ４０、ＬＦＡ－３）を同じ組成物に組み込むことができ、あるいは特にｉｎ　ｖｉｔｒｏの研究に関して、同時刺激は、抗補助受容体抗体（例えば、抗ＣＤ２８、抗ＣＤ１５４、抗ＣＤ２）、またはサイトカイン（例えば、ＩＬ－２、ＩＬ－１２）により提供され得る。かかるＴ細胞の刺激は、ワクチン接種を構成することができるか、免疫療法における続く注入のためのｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＴ細胞の増殖を駆動することができるか、またはＴ細胞機能のアッセイにおける工程を構成することができる。

【０１１２】
エピトープ、またはより直接的にはＭＨＣ分子とのその複合体は、活性化工程もしくは読み取り工程、またはその両方での抗原特異的Ｔ細胞の機能的アッセイの重要な成分であり得る。当該技術分野で知られるＴ細胞機能の多くのアッセイ（詳細な手順は、Current Protocols in Immunology 1999 John Wiley & Sons Inc., N.Yのような標準的な免疫学的参照文献に見出すことができる）のうち、細胞プールの応答を測定するアッセイと個々の細胞の応答を測定するアッセイの２つの広い部類を定義することができる。前者が応答強度の全体的な測定を伝えるのに対して、後者は、応答細胞の相対的頻度の決定が可能である。全体的な応答を測定するアッセイの例は、細胞傷害性アッセイ、ＥＬＩＳＡ、およびサイトカイン分泌を検出する増殖アッセイである。個々の細胞（またはそれらに由来する小クローン）の応答を測定するアッセイとしては、限界希釈解析（ＬＤＡ）、ＥＬＩＳＰ

ＯＴ、未分泌サイトカインのフローサイトメトリー検出（「単球リンパ球免疫系の評価方法(METHOD FOR THE ASSESSMENT OF THE MONONUCLEAR LEUKOCYTE IMMUNE SYSTEM)」という表題の米国特許第５，４４５，９３９号、ならびにともに「単球リンパ球免疫系の評価方法(METHOD FOR ASSESSMENT OF THE MONONUCLEAR LEUKOCYTE IMMUNE SYSTEM)」という表題の米国特許第５，６５６，４４６号および同第５，８４３，６８９号に記載されており、それらのための試薬は、商品名「ＦＡＳＴＩＭＭＵＮＥ」でBecton, Dickinson & Companyで販売されている）、および上述のように、かつ上記に引用するように四量体またはＩｇ－二量体により特異的ＴＣＲの検出が挙げられる。これらの技法の他と比較した場合の長所は、Yee, C. et al. Current Opinion in Immunology, 13:141-146, 2001に概説されている。さらに、特異的ＴＣＲ再配列または発現の検出は、当業者に明らかなように、様々な確立された核酸ベースの技法により、特にｉｎ　ｓｉｔｕおよび単一細胞ＰＣＲ技法において達成され得る。

【０１１３】

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

【０１１４】

この節に記載されるペプチドＭＨＣ複合体は伝統的に、非共有結合であると理解されている。しかしながら、例えば単一タンパク質として、エピトープおよびＭＨＣ重鎖、またはエピトープ、β２－ミクログロブリンおよびＭＨＣ重鎖をコードすることにより、共有結合を創出することが可能であり、かつ好適であり得る（Yu, Y.L.Y., et al., J. Immunol. 168:3145-3149, 2002、Mottez, E., et al., J. Exp. Med. 181:493, 1995、Dela Cruz, C.S., et al., Int. Immunol. 12:1293, 2000、Mage, M.G., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10658, 1992、Toshitani, K., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:236, 1996、Lee, L., et al., Eur. J. Immunol. 24:2633, 1994、Chung, D.H., et al., J. Immunol. 163:3699, 1999、Uger, R.A. and B.H.Barber, J. Immunol. 160:1598, 1998、Uger, R.A., et al., J. Immunol. 162:6024, 1999、およびWhite, J., et al., J. Immunol. 162:2671, 1999）。かかる構築物は、優れた安定性を有することができ、プロセシング－提示経路における障害を克服することができる。かかる構築物は、上述のワクチン、試薬、および類似の様式のアッセイで使用することができる。

【０１１５】

腫瘍関連抗原

本発明のエピトープは、ＴｕＡＡチロシナーゼ（配列番号２）、ＳＳＸ－２（配列番号３）、ＰＳＭＡ（前立腺特異的膜抗原）（配列番号４）、ＧＰ１００（配列番号７０）、ＭＡＧＥ－１（配列番号７１）、ＭＡＧＥ－２（配列番号７２）、ＭＡＧＥ－３（配列番号７３）、ＮＹ－ＥＳＯ－１（配列番号７４）、ＰＲＡＭＥ（配列番号７７）、ＰＳＡ（配列番号７８）、ＰＳＣＡ（配列番号７９）、フィブロネクチンのＥＤ－Ｂドメイン（配列番号５８９および５９０）、ＣＥＡ（癌胎児性抗原）（配列番号５９２）、Ｈｅｒ２／

Ｎｅｕ（配列番号５９４）、ＳＣＰ－１（配列番号５９６）、およびＳＳＸ－４（配列番号５９８）に由来する。これらの１１個のタンパク質に関する天然コード配列、またはそれら内の任意のセグメントは、それらのｃＤＮＡまたは完全コード（ｃｄｓ）配列、すなわちそれぞれ配列番号５～７、８０～８７、５９１、５９３、５９５、５９７および５９９から決定され得る。

【０１１６】

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

【０１１７】

ＰＭｅ１１７としても既知のＧＰ１００もまた、黒色腫において高レベルで発現されるメラニン生合成タンパク質である。ＴｕＡＡとしてのＧＰ１００は、「黒色腫抗原、ならびに診断方法および治療方法におけるそれらの使用(MELANOMA ANTIGENS AND THEIR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC METHODS)」という表題の米国特許第５，８４４，０７５号に開示されている。

【０１１８】

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

【０１１９】

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

【０１２０】

ＮＹ－ＥＳＯ－１は、広範囲の腫瘍において見出される癌精巣抗原であり、ＣＴＡＧ－１（癌精巣抗原－１）およびＣＡＧ－３（癌抗原－３）としても既知である。ＴｕＡＡとしてのＮＹ－ＥＳＯ－１は、食道癌関連抗原をコードする単離された核酸分子、それらの

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

【０１２１】

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

【０１２２】

ＰＳＭＡ　ｍＲＮＡの選択的スプライシングはまた、Met_{58}に見かけの開始を有するタンパク質を導き、それにより「選択的にスプライシングされた前立腺特異的膜抗原をコードする単離された核酸分子、およびそれらの使用(ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULE ENCODING ALTERNATIVELY SPLICED PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANES ANTIGEN AND USES THEREOF)」という表題の米国特許第５，９３５，８１８号に記載されるように、ＰＳＭＡの推定膜アンカー領域を欠失させる。ＰＳＭＡ様タンパク質と称されるタンパク質であるＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＡＦ２６１７１５は、ＰＳＭＡのアミノ酸３０９～７５０にほぼ同一であり、異なる発現プロフィールを有する。したがって、最も好ましいエピトープは、アミノ酸５８～３０８に位置されるＮ末端を有するものである。

【０１２３】

ＭＡＰＥ、ＤＡＧＥおよびＯＩＰ４としても既知のＰＲＡＭＥは、最初は黒色腫抗原と

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

【０１２４】

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

【０１２５】

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

【０１２６】

ＨＯＭ－ＴＥＳ－１４としても既知のシナプトネマ構造タンパク質１（ＳＣＰ－１）は、減数分裂関連タンパク質、および癌精巣抗原である(Tureci, O., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5211-5216, 1998)。癌抗原として、その発現は細胞周期調節性でなく、ＳＣＰ－１は、神経膠腫、胸部、腎細胞および卵巣癌腫において頻繁に見出される。ＳＣＰ－１は、ミオシンに対していくらかの類似性を有するが、数個の十分な同一性を有する場合、その交差反応性エピトープは目下の期待ではない。

【０１２７】

フィブロネクチンのＥＤ－Ｂドメインもまた、潜在的な標的である。フィブロネクチンは、発達上調節される選択的スプライシングの対象であり、ＥＤ－Ｂは、主として腫瘍胎児組織で使用される単一エクソンによりコードされる(Matsuura, H. and S. Hakomori Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:6517-6521, 1985、Carnemolla, B. et al. J. Cell Biol. 108:1139-1148, 1989、Loridon-Rosa, B. et al. Cancer Res. 50:1608-1612, 1990、Nicolo, G. et al. Cell Differ. Dev. 32:401-408, 1990、Borsi, L. et al. Exp. Cell Res. 199:98-105, 1992、Oyama, F. et al. Cancer Res. 53:2005-2011, 1993、Mandel, U. et al. APMIS 102:695-702, 1994、Farnoud, M.R. et al. Int. J. Cancer 61:27-34, 1995、Pujuguet, P. et al. Am. J. Pathol. 148:579-592, 1996、Gabler, U. et al. Heart 75:358-362, 1996、Chevalier, X. Br. Rheumatol. 35:407-415, 1996、Midulla, M. Cancer Res. 60:164-169, 2000)。

【０１２８】

ＥＤ－Ｂドメインはまた、新生血管系のフィブロネクチンでも発現される(Kaczmarek, J. et al. Int. J. Cancer 59:11-16, 1994、Castellani, P. et al. Int. J. Cancer 59:612-618, 1994、Neri, D. et al. Nat. Biotech. 15:1271-1275, 1997、Karelina, T.V. and A.Z.Eisen Cancer Detect. Prev. 22:438-444, 1998、Tarli, L. et al. Blood 94:192-198, 1999、Castellani, P. et al. Acta Neurochir. (Wien) 142:277-282, 2000)。

腫瘍胎児ドメインとして、ＥＤ－Ｂドメインは、新生血管系で発現されるほかに、新生細胞により発現されるフィブロネクチンにおいて一般に見出される。したがって、ＥＤ－Ｂドメインを標的とするＣＴＬ誘発性ワクチンは、２つの作用メカニズム：腫瘍細胞の直接溶解、および腫瘍関連新生血管系の破壊による腫瘍血液供給の崩壊を示すことができる。ＣＴＬ活性はワクチン使用中止後に迅速に遅延することができるため、正常血管新生による妨害は最小限であり得る。新生血管系を標的とするワクチンの設計および試験は、「癌用の抗新生血管系ワクチン(ANTI-NEOVASCULATURE VACCINES FOR CANCER)」という表題の米国特許仮出願第６０／２７４，０６３号、およびこの出願と同日（２００２年３月７日）に出願された「癌用の抗新生血管系調製物(ANTI-NEOVASCULATURE PREPARATIONS FOR CANCER)」という表題の米国特許出願第１０／０９４，６９９号（代理人整理番号ＣＴＬＩＭＭ．０．１５Ａ）に記載されている。腫瘍細胞系は、「ＨＬＡトランスジェニックマウス腫瘍細胞系(HLA-TRANSGENIC MURINE TUMOR CELL LINE)」という表題の２００２年３月７日に出願された米国特許仮出願第６０／３６３，１３１号（代理人整理番号ＣＴＬＩＭＭ．０２８ＰＲ）に開示されている。

【０１２９】

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

【０１３０】

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

【０１３１】

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

【０１３２】

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

【実施例】

【０１３３】

特定の好ましいエピトープの配列

実施例１

エピトープの製造

Ａ．エピトープの合成的生産

配列番号１、８、９、１１～２３、２６～２９、３２～４４、４７～５４、５６～６３、６６～６８、８８～２５３、または２５６～５８８のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドを、ＦＭＯＣ固相合成方法またはｔＢＯＣ固相合成方法のいずれかを用いて合成

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

【０１３４】

薬剤製品配合物

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

【０１３５】

Ｂ．核酸ワクチンとして使用するための発現ベクターの構築

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

【０１３６】

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

【０１３７】

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

【０１３８】

Ｂ．１　ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２の構築

概要：

この構築物用の開始プラスミドは、Invitrogen(Carlsbad, CA)から購入されるｐＶＡＸ１である。エピトープＥＰ１およびＥＰ２は、GIBCO BRL(Rockville, MD)により合成された。ＩＲＥＳは、Clontech(Palo Alto, CA)から購入されるｐＩＲＥＳから切除された。

【０１３９】

手順：

１　ｐＩＲＥＳを、ＥｃｏＲＩおよびＮｏｔＩで消化した。消化した断片を、アガロースゲル電気泳動で分離し、切り出したバンドからＩＲＥＳ断片を精製した。

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

３　精製したｐＶＡＸ１およびＩＲＥＳ断片をともに連結させた。

４　株ＤＨ５αのコンピテント大腸菌を、連結混合物で形質転換した。

５　得られたコロニーのうちの４つからミニプレップを作製した。
６　制限酵素消化解析を、ミニプレップＤＮＡに実施した。ＩＲＥＳ挿入物を有する１つの組換えコロニーを、ＥＰ１およびＥＰ２のさらなる挿入に使用した。この中間体構築物をｐＶＡＸ－ＩＲＥＳと呼んだ。
７　ＥＰ１およびＥＰ２をコードするオリゴヌクレオチドを合成した。
８　ＥＰ１を、ＡｆｌＩＩ部位とＥｃｏＲＩ部位との間でｐＶＡＸ－ＩＲＥＳにサブクローニングして、ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳを作製した。
９　ＥＰ２を、ＳａｌＩ部位とＮｏｔＩ部位との間でｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳにサブクローニングして、最終構築物ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２を作製した。
１０　ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２挿入物の配列をＤＮＡシーケンシングにより確認した。

【０１４０】
Ｂ２．ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＩＳＳ－ＮＩＳの構築
概要：
この構築物用の開始プラスミドは、ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２（実施例１）であった。この構築物に導入されるＩＳＳ（免疫刺激配列）はＡＡＣＧＴＴであり、使用されるＮＩＳ（核内移行配列を意味する）は、ＳＶ４０　７２ｂｐ反復配列である。ＩＳＳ－ＮＩＳは、ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬにより合成された。図２を参照されたい。

【０１４１】
手順：
１　ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２をＮｒｕＩで消化し、直線化プラスミドをゲル精製した。
２　ＩＳＳ－ＮＩＳオリゴヌクレオチドを合成した。
３　精製した直線化ｐＶＡＸ－ＥＰ１－ＩＲＥＳ－ＥＰ２および合成ＩＳＳ－ＮＩＳをともに連結させた。
４　株ＤＨ５αのコンピテント大腸菌を、連結産物で形質転換した。
５　得られたコロニーからミニプレップを作製した。
６　ミニプレップの制限酵素消化を実施した。
７　挿入物を有するプラスミドをシーケンシングした。

【０１４２】
Ｂ３．ｐＶＡＸ－ＥＰ２－ＵＢ－ＥＰ１の構築
概要：この構築物用の開始プラスミドは、ｐＶＡＸ１(Invitrogen)であった。ＥＰ２およびＥＰ１は、GIBCO BRLにより合成された。構築物における７６個のアミノ酸をコードする野生型ユビキチンｃＤＮＡは、酵母からクローニングされた。

【０１４３】
手順：
１　酵母ｍＲＮＡを用いて、ＲＴ－ＰＣＲを実施した。プライマーは、酵母ユビキチンの完全コード配列を増幅するように設計した。
２　ＲＴ－ＰＣＲ産物を、アガロースゲル電気泳動を用いて解析した。予測サイズを有するバンドをゲル精製した。
３　精製したＤＮＡバンドを、ＥｃｏＲＶ部位でｐＺＥＲＯ１にサブクローニングした。得られたクローンをｐＺＥＲＯ－ＵＢと称した。
４　ｐＺＥＲＯ－ＵＢの幾つかのクローンをシーケンシングして、さらに操作する前にユビキチン配列を確認した。
５　ＥＰ１およびＥＰ２を合成した。
６　ＥＰ２、ユビキチン、およびＥＰ１を連結させて、挿入物を、ＢａｍＨＩとＥｃｏＲＩとの間でｐＶＡＸ１にクローニングして、それをＣＭＶプロモーターの制御下に置いた。
７　挿入物ＥＰ２－ＵＢ－ＥＰ１の配列をＤＮＡシーケンシングにより確認した。

【０１４４】

実施例２

有用なエピトープ変異体の同定

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

【０１４５】

ＦＬＰＷＨＲＬＦＬＬの長さ変異体のＨＬＡ－Ａ２結合を評価した。プロテアソーム消化解析は、９量体ＦＬＰＷＨＲＬＦＬ（配列番号８）のＣ末端も産生されることを示す。さらに、９量体ＬＰＷＨＲＬＦＬＬ（配列番号９）は、１０量体のＮ末端トリミングから生じ得る。ともにＨＬＡ－Ａ*０２０１分子に結合すると予測されるが、これら２つの９量体のうち、ＦＬＰＷＨＲＬＦＬがより有意な結合を示し、好ましい（図３Ａおよび図３Ｂを参照）。

【０１４６】

ｉｎ　ｖｉｔｒｏプロテアソーム消化およびＮ末端プールシーケンシングは、チロシナーゼ$_{207}$～$_{216}$（配列番号１）がチロシナーゼ$_{207}$～$_{215}$（配列番号８）よりも一般的に産生されることを示すが、後者のペプチドは、最適なワクチン設計に到達する際に潜在的に重要である優れた免疫原性を示す。ＦＬＰＷＨＲＬＦＬ、すなわちチロシナーゼ$_{207}$～$_{215}$（配列番号８）を、ＨＬＡ－Ａ２$^{+}$血液のｉｎ　ｖｉｔｒｏ免疫で使用して、ＣＴＬを生成させた（以下のＣＴＬ誘発培養を参照）。標準的クロム放出アッセイにおける標的として、ペプチドパルス化Ｔ２細胞を用いて、チロシナーゼ$_{207}$～$_{215}$（配列番号８）により誘発されるＣＴＬが同様にチロシナーゼ$_{207}$～$_{216}$（配列番号１）を認識することを見出した（図３Ｃを参照）。これらのＣＴＬはまた、ＨＬＡ－Ａ２$^{+}$のチロシナーゼ$^{+}$腫瘍細胞系６２４．３８およびＨＴＢ６４を認識するが、６２４．３８のＨＬＡ－Ａ２$^{-}$誘導体である６２４．２８を認識しない（図３Ｃ）。したがって、ｉｎ　ｖｉｖｏで産生されるこれらの２つのエピトープの相対量は、ワクチン設計において重要とならない。

【０１４７】

ＣＴＬ誘導培養

正常ドナー由来のＰＢＭＣを、バフィーコートから、Ficoll-Hypaqueにおける遠心分離により精製した。すべての培養が自家血漿（ＡＰ）を用いて実施され、潜在的異種病原体への暴露およびＦＢＳペプチドの認識を回避した。ペプチド特異的ＣＴＬのｉｎ　ｖｉｔｒｏ生成を選ぶために、本発明者等は、ＡＰＣとして自己樹状細胞（ＤＣ）を使用した。記載される(Keogh et al., 2001)ように、ＤＣが生成され、ＤＣおよびＰＢＭＣ由来のペプチドを用いてＣＴＬが誘発された。すなわち、単球が富化された細胞画分をＧＭ－ＣＳＦおよびＩＬ－４とともに5日間培養して、２μｇ／ｍｌのＣＤ４０を有する培地中でさらに2日間培養して、成熟させた。２×１０^{6}個のＣＤ８＋が富化されたＴリンパ球／ウェル、および２×１０^{5}個のペプチドパルス化ＤＣ／ウェルを、１０％ＡＰ、１０ｎｇ／ｍｌ　ＩＬ－７、および２０ＩＵ／ｍｌ　ＩＬ－２を添加したＲＰＭＩ２ｍｌ中で、２４ウェルプレートで共存培養した。７日目および１４日目に、自家照射ペプチドパルス化ＤＣで培養物を再刺激した。

【０１４８】

ＦＬＰＷＨＲＬＦＬの配列変異体を以下のように構築する。ＮＩＨ／ＢＩＭＡＳ　ＭＨＣ結合予測プログラム（以下の実施例３における参照文献を参照）からの結合係数表（表３を参照）と一貫して、結合は、アンカー位置である位置９にあるＬをＶに変更することにより改善することができる。結合はまた、一般により少ない程度ではあるが、非アンカー位置での変化により変更することができる。概して表３を参照して、結合は、比較的大きな係数を有する残基を使用することにより増大させることができる。配列中の変化もまた。ＭＨＣへの結合に対するそれらの影響に関係なく、免疫原性を変更させることができる。したがって、結合および／または免疫原性は、以下のように改善させることができる。

【０１４９】
位置３にあるＰを、Ｆ、Ｌ、Ｍ、Ｗ、またはＹで置換することによるもの：これらはすべて、結合に対する影響に関係なく、免疫原性を改良することもできる嵩高い(bulkier)残基である。それぞれアミンおよびヒドロキシ保有残基であるＱおよびＮ、ならびにＳおよびＴもまた、より強力な交差反応性応答を誘起することができる。
【０１５０】
位置４にあるＷをＤまたはＥで置換することにより、結合を改善するもの：陰電荷のこの付加もまた、エピトープをより免疫原性とさせることができる一方で、場合によっては、天然エピトープとの交差反応性を減少させる。あるいは、ＦまたはＹの保存的置換は交差反応性応答を誘起することができる。
【０１５１】
位置５にあるＨをＦで置換することにより、結合を改善するもの：Ｈは、部分的に荷電されるとみなすことができ、したがって場合によっては電荷の損失が交差反応性を妨害し得る。この位置での完全に荷電された残基ＲまたはＫの置換は、電荷依存的交差反応性を崩壊することなく、免疫原性を高めることができる。
【０１５２】
位置６にあるＲを、Ｉ、Ｌ、Ｍ、Ｖ、Ｆ、Ｗ、またはＹで置換することによるもの：同じ注意および代替法が位置５と同様にここでも適用される。
【０１５３】
位置７にあるＬをＷまたはＦで置換することにより、結合を改善するもの：この位置でのＶ、Ｉ、Ｓ、Ｔ、Ｑ、またはＮの置換は一般に、このモデルにより結合親和性を減少させると予測されず（ＮＩＨアルゴリズム）、依然として上記のように好適であり得る。
【０１５４】
位置１および８にあるＦとして同様に好ましいＹおよびＷは、有用な交差反応性を誘起することができる。最終的に、嵩高さの方向における置換が一般に免疫原性を改善するのに好まれる一方で、位置３～７でのＡ、Ｓ、およびＣのようなより小さな残基の置換は、本来嵩高さというよりはサイズの対比が免疫原性において重要な要因であるという理論に従って有用であり得る。Ｃにおけるチオール基の反応性は、Chen, J.-L., et al. J. Immunol. 165:948-955, 2000で議論されるように、他の特性を導入することができる。
【０１５５】

【表３】

表3　ＨＬＡ－Ａ*０２０１*に関する９量体係数表

ファイル「Ａ＿０２０１＿標準」に関するＨＬＡ係数表									
アミノ酸タイプ	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th	9th
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
C	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
D	0.075	0.100	0.400	4.100	1.000	1.000	0.490	1.000	0.003
E	0.075	1.400	0.064	4.100	1.000	1.000	0.490	1.000	0.003
F	4.600	0.050	3.700	1.000	3.800	1.900	5.800	5.500	0.015
G	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	0.130	1.000	0.015
H	0.034	0.050	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
I	1.700	9.900	1.000	1.000	1.000	2.300	1.000	0.410	2.100
K	3.500	0.100	0.035	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
L	1.700	72.000	3.700	1.000	1.000	2.300	1.000	1.000	4.300
M	1.700	52.000	3.700	1.000	1.000	2.300	1.000	1.000	1.000
N	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
P	0.022	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
Q	1.000	7.300	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.003
R	1.000	0.010	0.076	1.000	1.000	1.000	0.200	1.000	0.003
S	1.000	0.470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
T	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.500
V	1.700	6.300	1.000	1.000	1.000	2.300	1.000	0.410	14.000
W	4.600	0.010	8.300	1.000	1.000	1.700	7.500	5.500	0.015
Y	4.600	0.010	3.200	1.000	1.000	1.500	1.000	5.500	0.015

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

【０１５６】

実施例３

クラスター解析（ＳＳＸ－２$_{31}$～$_{68}$）

１．エピトープクラスター領域予測：

H.G.Rammensee, J.Bachmann and S.Stevanovicによる書籍「ＭＨＣリガンドおよびペプチドモチーフ」に基づいたコンピュータアルゴリズム：ＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（インターネット　http://syfpeithi.bmi-heidelberg.com/Scripts/MHCServer.dll/EpPredict.htmにアクセス）、およびParker, K.C. , et al., J. Immunol. 152:163, 1994に記載されるＨＬＡペプチド結合予測（ＮＩＨ）（インターネット　http://bimas.dcrt.nih.gov/molbio/hla_binにアクセス）を用いて、ＳＳＸ－２（ＧＩ：１０３３７５８３）のタンパク質配列を解析した。エピトープクラスター（高予測ＭＨＣ親和性を有するペプチド断片の平均密度よりも広い領域）を、２０００年４月２８日に出願された「エピトープクラスター(EPITOPE CLUSTERS)」という表題の米国特許出願第０９／５６１，５７１号に完全に記載されるように規定した。エピトープ密度比カットオフ２を用いて、５個のクラスターおよび２個のクラスターを、それぞれＳＹＦＰＥＴＨＩおよびＮＩＨアルゴリズムを用いて規定し、ペプチドは１６（ＳＹＦＰＥＴＨＩ）および５（ＮＩＨ）のカットオフを得る。１０

００分を超える解離の推定半減期を有する、ＮＩＨアルゴリズムを用いた場合の最高のスコアリングのペプチドであるＳＳＸ－2_{41}～$_{49}$は、任意の他の予測エピトープと重複しないが、ＮＩＨ解析においてＳＳＸ－2_{57}～$_{65}$を有するクラスターと重複する。

【０１５７】

２．ペプチド合成および特性化：

ＳＳＸ－2_{31}～$_{68}$、すなわちＹＦＳＫＥＥＷＥＫＭＫＡＳＥＫＩＦＹＶＹＭＫＲＫＹＥＡＭＴＫＬＧＦＫＡＴＬＰ（配列番号１０）は、標準的な固相化学を用いてＭＰＳ (Multiple Peptide Sytems, San Diego, CA 92121)により合成された。添付の「解析証明書」によれば、このペプチドの純度は９５％であった。

【０１５８】

３．プロテアソーム消化：

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

【０１５９】

ＳＳＸ－2_{31}～$_{68}$をミリＱ水に溶解し、２ｍＭのストック溶液を調製し、２０μＬのアリコートを－２０℃で保管した。

【０１６０】

プロテアソームの１つのチューブ（２５μＬ）を－７０℃の保管から取り出し、氷上で解凍した。続いて、それを再度ピペッティングすることにより２ｍＭのペプチド１２．５μＬと、完全に混合した（試料は氷上に保ったままであった）。混合した後、試料５μＬを即座に取り出して混合し、１０％ＴＦＡ１．２５μＬを含有するチューブに移した（ＴＦＡの最終濃度は２％であった）Ｔ＝０分の試料）。次に、プロテアソーム消化反応を開始させ、プログラム可能な熱制御計において３７℃で実施した。さらに５μLの試料を、それぞれ１５分、３０分、６０分、１２０分、１８０分、および２４０分に取り出した。反応は、上述と同様に試料を１０％ＴＦＡ１．２５μｌに添加することにより停止させた。ＭＡＬＤＩ－ＭＳで解析するまで、試料を氷上に保つか、または凍結させた。ＨＰＬＣ解析およびＮ末端シーケンシングのために、試料はすべて－２０℃で保存および保管された。ペプチドのみ（プロテアソームなし）をブランク対照として使用した（ペプチド２μＬ＋トリス緩衝液（２０ｍＭ、ｐＨ７．６）４μＬ＋ＴＦＡ１．５μＬ）。

【０１６１】

４．ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ　ＭＳ測定：

各時点に関して、マトリックス溶液（１０ｍｇ／ｍｌ　ＡｃＣＮ／H_2O（７０：３０）中のα－シアノ－４－ヒドロキシケイ皮酸）０．３μＬをまず試料スライド上に適用し、続いて等容量の消化した試料をスライド上でマトリックス溶液と穏やかに混合した。スライドを周辺空気で３～５分間乾燥させた後、質量スペクトルを得た。ＭＳは、ペプチド／タンパク質標準物質を用いて較正されるＬａｓｅｒｍａｔ　２０００　ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析計で実施した。測定の精度を向上させるために、ペプチド基質の分子イオン重量（MH^+）を内部較正標準として使用した。Ｔ＝１２０分の消化試料の質量スペクトルを図４に示す。

【０１６２】

５．ＭＳデータ解析およびエピトープの同定：

測定した質量ピークを帰属するために、UCSF Mass Spectrometry Facilityからのツールであるコンピュータプログラムｍｓ－Ｐｒｏｄｕｃｔ（http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml3.4/msprod.htmにアクセス可能）を用いて、すべての考え得る断片（ＮおよびＣ末端イオン、および内部断片）、およびそれらの相当する分子量を生成した。質量分析計

の感度に起因して、平均分子量を使用した。消化の行程で観察される質量ピークを表４に概要するように同定した。

【０１６３】

ＳＹＦＰＥＩＴＨＩまたはＮＩＨアルゴリズムによりＨＬＡを結合すると予測される８～１０アミノ酸長の配列が同時にＣ末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測ＨＬＡ－Ａ２．１結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他のＭＨＣ分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表５に示す。

【０１６４】

【表４－１】

表４

ＳＳＸ－２$_{31\sim68}$質量ピーク同定

MS ピーク (測定値)	ペプチド	配列	計算質量 (MH^+)
988.23	31-37	YFSKEEW	989.08
1377.68±2.38	31-40	YFSKEEWEKM	1377.68
1662.45±1.30	31-43	YFSKEEWEKMKAS	1663.90
2181.72±0.85	31-47	YFSKEEWEKMKASEKIF	2181.52
2346.6	31-48	YFSKEEWEKMKASEKIFY	2344.71
1472.16±1.54	38-49	EKMKASEKIFYV	1473.77
2445.78±1.18	31-49*	YFSKEEWEKMKASEKIFYV	2443.84
2607.	31-50	YFSKEEWEKMKASEKIFYVY	2607.02
1563.3	50-61	YMKRKYEAMTKL	1562.93
3989.9	31-61	YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYEAMTKL	3987.77
1603.74±1.53	51-63	MKRKYEAMTKLGF	1603.98
1766.45±1.5	50-63	YMKRKYEAMTKLGF	1767.16

【表４－２】

1866.32±1.2 2	49-63	VYMKR**KYEAMTKLGF**	1866.29
4192.6	31-63	**YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKR** **KYE** **AMTKLGF**	4192.00
4392.1	31-65**	**YFSKEEWEKMKASEKIFYVYMKRKYE** **AMTKLGFKA**	4391.25

太字体の配列は、ＭＨＣに結合すると予測されるペプチドに相当する。

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

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

【０１６５】

【表５】

表５

プロテアソームにより生成した断片による予測ＨＬＡ結合

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

†予測なし

【０１６６】

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

【０１６７】

６．ＨＬＡ－Ａ０２０１結合アッセイ：

候補エピトープＫＡＳＥＫＩＦＹＶ、すなわちＳＳＸ－2_{41}～$_{49}$（配列番号１５）のＨＬＡ－Ａ２．１への結合を、Stauss等の方法(Proc Natl Acad Sci USA 89(17):7871-5 (1992))の変法を用いてアッセイした。具体的には、表面上で空のＭＨＣ分子または不安定なＭＨＣ分子を発現するＴ２細胞を、Iscove改変Dulbecco培地（ＩＭＤＭ）で２度洗浄して、３μｇ／ｍｌでヒトβ２－ミクログロブリン（Sigma, St. Louis, MO）を添加した無血清ＡＩＭ培地(Life Technologies, Inc., Rockville, MD)中で一晩培養して、９６ウェ

ル平底プレート中で、３×１０^{5}個の細胞／２００μｌ／ウェルで、８００、４００、２００、１００、５０、２５、１２．５、および６．２５μｇ／ｍｌでペプチドを添加した。再度ピペッティングすることによりペプチドを細胞と混合した後、プレートに分配し（あるいは、ペプチドを個々のウェルに添加することができる）、プレートを２分間穏やかに振とうした。インキュベーションは、３７℃で５％　CO_2インキュベータ中で行った。翌日、無血清ＲＰＭＩ培地で２度洗浄することにより、未結合のペプチドを除去し、飽和量の抗クラスＩ　ＨＬＡモノクローナル抗体であるフルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）－結合抗ＨＬＡ　Ａ２,Ａ２８(One Lambda, Canoga Park, CA)を添加した。４℃で３０分間インキュベーションした後、０．５％ＢＳＡ、０．０５％（ｗ／ｖ）アジ化ナトリウムを添加したＰＢＳ（ｐＨ７．４～７．６、染色緩衝液）で３回洗浄した。（あるいは、Ｗ６／３２(Sigma)を抗クラスＩ　ＨＬＡモノクローナル抗体として使用することができ、細胞を染色緩衝液で洗浄した後、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）結合ヤギＦ（ａｂ’）抗マウス－ＩｇＧ(Sigma)とともに４℃で３０分間インキュベートし、上述のように３回洗浄することができる）。細胞を染色緩衝液０．５ｍｌ中の再懸濁させた。ペプチド結合により安定化される表面ＨＬＡ－Ａ２．１分子の解析は、ＦＡＣＳｃａｎ(Becton Dickinson, Sna Jose, CA)を用いて、フローサイトメトリーにより実施した。フローサイトメトリーがすぐに実施されない場合は、１／４容量の２％パラホルムアルデヒドを添加して、暗所において４℃で保管することにより、細胞を固定することができる。

【０１６８】

実験結果を図５に示す。ＳＳＸ－２$_{41}$～$_{49}$（配列番号１５）は、陽性対照として使用される既知のＡ２．１バインダーＥＬＰＳＤＹＦＰＳＶ（ＨＢＶ$_{18}$～$_{27}$、配列番号２４）と同程度に、ＨＬＡ－Ａ２．１に結合することがわかった。ＨＬＡ－Ｂ４４結合ペプチドであるＡＥＭＧＫＹＳＦＹ（配列番号２５）を陰性対照として使用した。陰性対照から得られる蛍光は、アッセイでペプチドを使用しない場合に得られるシグナルと類似していた。陽性および陰性対照ペプチドは、Current Protocols in Immunology p.18.3.2, John Wiley and Sons, New York, 1998中の表１８．３．１から選択した。

【０１６９】

７．免疫原性：

Ａ．マウスのｉｎ　ｖｉｖｏ免疫

ＨＨＤ１トランスジェニックＡ*０２０１マウス(Pascolo ,S., et al. J. Exp. Med. 185:2043-2051, 1997)を麻酔して、ＩＦＡ（不完全フロイントアジュバント）５０μｌを乳化させたＰＢＳ中にＳＳＸ－２$_{41}$～$_{49}$（配列番号１５）１００ｎｍｏｌおよびＨＴＬエピトープペプチド２０μｇを含有する１００μｌを用いて、外側尾静脈を避けて、尾の基部に皮下注射した。

【０１７０】

Ｂ．刺激用細胞（ＬＢＳ芽細胞）の調製

免疫したマウスの各群に関して２匹のナイーブマウスからの脾臓を用いて、非免疫マウスを屠殺して、死体をアルコール中に入れた。滅菌器具を用いて、マウスの左側（中央下部）上に皮膚の最上皮層を切り出し、腹膜を露出させた。腹膜をアルコールに浸し、脾臓を無菌で摘出した。脾臓を無血清培地の入ったペトリ皿に入れた。３ｍｌシリンジからの滅菌プランジャーを用いて脾臓をつぶして、脾細胞を単離した。細胞を５０ｍｌコニカル管中で無血清培地中に回収して、皿を十分にすすいだ。細胞を遠心分離して（１２０００ｒｐｍ、７分）、ＲＰＭＩで一度洗浄した。新鮮な脾臓細胞をＲＰＭＩ－１０％ＦＣＳ（ウシ胎児血清）中に、１ｍｌ当たり１×１０^{6}個の細胞の濃度で再懸濁させた。２５ｇ／ｍｌのリポ多糖および７μｇ／ｍｌの硫酸デキストランを添加した。細胞を、Ｔ－７５フラスコ中で３７℃にて３日間、５％CO_2とともにインキュベートした。脾臓芽細胞を５０ｍｌ管に回収し、ペレット化し（１２０００ｒｐｍ、７分）、ＲＰＭＩ中に３×１０^{7}／ｍｌへと再懸濁した。芽細胞を、５０μｇ／ｍｌで初回刺激用ペプチドにより、室温で４時間パルス標識し、２５μｇ／ｍｌで、３７℃にて２０分間、マイトマイシンＣで処理

して、ＤＭＥＭで３回洗浄した。

【０１７１】

Ｃ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激

芽細胞のＬＰＳ刺激の３日後、およびペプチド負荷と同日に、初回刺激したマウスを屠殺して（免疫後１４日目）上述のように脾臓を取り出した。3×10^{6}個の脾細胞を、１０％ＦＣＳ、5×10^{-5}Ｍ　β－メルカプトエタノール、１００μｇ／ｍｌストレプトマイシン、および１００ＩＵ／ｍｌ　ペニシリンを添加したＤＭＥＭ培地中、５％CO_2で、２４ウェルプレート中で３７℃にて1×10^{6}個のＬＰＳ芽細胞／ウェルと共存培養した。３日目に培養物に５％（ｖｏｌ／ｖｏｌ）ＣｏｎＡ上清を供給し、７日目に、^{51}Ｃｒ－放出アッセイにおいて細胞溶解活性に関してアッセイした。

【０１７２】

Ｄ．ＣＴＬ活性を測定するクロム放出アッセイ

ペプチド特異的溶解を評価するために、2×10^{6}個のＴ２細胞を、５０μｇ／ｍｌのペプチドと一緒に１００μＣｉのクロム酸ナトリウムとともに３７℃にて１時間インキュベートした。インキュベーション中、それらを１５分毎に穏やかに振とうした。標識および負荷後、ＤＭＥＭ－１０％ＦＣＳ１０ｍｌで細胞を３回洗浄し、上清を捨てた後、新しいキムワイプで各チューブを拭った。標的細胞を、ＤＭＥＭ－１０％ＦＢＳ中に1×10^{5}／ｍｌで再懸濁させた。エフェクター細胞をＤＭＥＭ－１０％ＦＣＳ中に1×10^{7}／ｍｌに調節し、エフェクターの段階３倍希釈物１００μｌをＵ底９６ウェルプレート中に調製した。ウェル１つ当たり標的細胞１００μｌを添加した。自発的放出および最大放出を決定するために、標的細胞１００μｌを含有する６つのさらなるウェルを各標的に関して調製した。自発的放出は、標的細胞を培地１００μｌとインキュベートすることにより明らかとなり、最大放出は、標的細胞を２％ＳＤＳ１００μｌとインキュベートすることにより明らかとなった。続いて、プレートを６００ｒｐｍで５分間遠心分離して、５％CO_2および８０％湿度中、３７℃で４時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを１２００ｒｐｍで５分間遠心分離した。上清を回収して、γカウンターを用いて計数した。特異的溶解は以下のように決定した：特異的放出％＝［（実験放出－自発的放出）／（最大放出－自発的放出］×１００。

【０１７３】

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

【０１７４】

８．他のＳＳＸタンパク質との交差反応性：

ＳＳＸ－$2_{41\sim49}$（配列番号１５）は、他のＳＳＸタンパク質の同じ領域と高度の配列同一性を共有する。周辺領域もまた一般に十分に保存されていた。したがって、ハウスキーピングプロテアソームは、５個すべての配列においてV_{49}後に切断することができる。さらに、$SSX_{41\sim49}$はＨＬＡ－Ａ*０２０１を結合すると予測される（表６を参照）。ＳＳＸ－$2_{41\sim49}$による免疫により生成されるＣＴＬは、他のＳＳＸタンパク質を発現する腫瘍細胞と交差反応する。

【０１７５】

【表６】

表6

ＳＳＸ$_{41\sim49}$－Ａ*０２０１予測結合

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

【０１７６】

実施例４

クラスター解析（ＰＳＭＡ$_{163\sim192}$）

前立腺特異的膜抗原由来のＡ１エピトープクラスターであるＰＳＭＡ$_{168\sim190}$（配列番号３１）を含有するペプチドＡＦＳＰＱＧＭＰＥＧＤＬＶＹＶＮＹＡＲＴＥＤＦＦＫＬＥＲＤＭ、すなわちＰＳＭＡ$_{163\sim192}$（配列番号３０）を、４３３Ａ　ＡＢＩペプチド合成機で、標準的な固相Ｆ－ｍｏｃ化学を用いて合成した。側鎖脱保護および樹脂からの切り出し後、まずギ酸中に溶解し続いて３０％酢酸へ希釈したペプチドを、以下の条件：４ｍｌ／分の流速で線形ＡＢ勾配（５％Ｂ／分）（ここで、溶離液Ａは０．１％ＴＦＡ水溶液であり、溶離液Ｂはアセトニトリル中の０．１％ＴＦＡである）で、逆相分取ＨＰＬＣＣ４カラムに流した。質量分析により判断されるように、予測ペプチドを含有する１６．６４２分時点での画分をプールして、凍結乾燥した。次に、本質的に上述のように、ペプチドをプロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表７に要約する。

【０１７７】

【表７】
表７

ＰＳＭＡ$_{163\sim192}$質量ピーク同定

ペプチド	配列	計算質量 (MH^+)
163-177	AFSPQG**MPEGDLVYV**	1610.0
178-189	**NYARTEDFFKLE**	1533.68
170-189	PEGDLVYVNY**ARTEDFFKLE**	2406.66
178-191	**NYARTEDFFKLERD**	1804.95
170-191	PEGDLVYVNYARTEDFFKLERD	2677.93
178-192	**NYARTEDFFKLERDM**	1936.17
163-176	AFSPQ**GMPEGDLVY**	1511.70
177-192	VNYARTEDFFKLERDM	2035.30
163-179	AFSPQGMP**EGDLVYVNY**	1888.12
180-192	**ARTEDFFKLERDM**	1658.89
163-183	AFSPQGMPEGD**LVYVNYARTE**	2345.61
184-192	**DFFKLERDM**	1201.40
176-192	YVNYARTEDFFKLERDM	2198.48
167-185	QGMPEGDLVY**VNYARTEDF**	2205.41
178-186	**NYARTEDFF**	1163.22

太字体の配列は、ＭＨＣに結合すると予測されるペプチドに相当する。
表８を参照。

【０１７８】
Ｎ末端プール配列解析
プロテアソーム消化の１時間目のアリコートの１つ（上記実施例３のパート３を参照）を、ＡＢＩ　４７３Ａタンパク質シーケンサー(Applied Biosystems, Foster City, CA)によりＮ末端アミノ酸配列解析に付した。切断の部位および効率の決定は、配列サイクル、タンパク質シーケンサーの反復収率、および解析した配列中に特有のアミノ酸の相対収率の考慮に基づいていた。すなわち、特有（解析した配列中の）残基Ｘがｎ番目のサイクルのみに出現する場合、切断部位は、Ｎ末端方向でその前のｎ－１残基に存在する。配列に対する質量の帰属における任意の曖昧性を解決するのを助長するほかに、これらのデータはまた質量分析よりも、様々な断片の相対収率のより信頼性の高い徴候を提供する。

【０１７９】

ＰＳＭＡ$_{163}$～$_{192}$（配列番号３０）に関して、このプールシーケンシングは、Ｖ$_{177}$後の単一の主要な切断部位、および幾つかの少量の切断部位（特にＹ$_{179}$後のもの）を支持する。図７Ａ～図７Ｃに提示した結果を参照することにより以下のことが明らかとなる：

３番目のサイクルにあるＳは、基質のＮ末端の存在を示す。

５番目のサイクルにあるＱは、基質のＮ末端の存在を示す。

１番目のサイクルにあるＮは、Ｖ$_{177}$後の切断を示す。

３番目のサイクルにあるＮは、Ｖ$_{175}$後の切断を示す。表７の断片１７６～１９２を留意されたい。

５番目のサイクルにあるＴは、Ｖ$_{177}$後の切断を示す。

１番目～３番目のサイクルにあるＴは、Ｒ$_{181}$、Ａ$_{180}$、およびＹ$_{179}$後のより一般的な切断を示す。これらのうちの最後のみが、質量分析により検出されるピーク、１６３～１７９および１８０～１９２に相当する。表７を参照。他のものが存在しないことは、それらが質量スペクトルにおいて検査されたものよりも小さい断片上に存在することを示すことができる。

４番目、８番目、および１０番目のサイクルにあるＫは、それぞれＥ$_{183}$、Ｙ$_{179}$、およびＶ$_{177}$後の切断を示し、そのすべてが、質量分析により観察される断片に相当する。表７を参照。

１番目および３番目のサイクルにあるＡは、それぞれ基質のＮ末端の存在、およびＶ$_{177}$後の切断を示す。

４番目および８番目のサイクルにあるＰは、基質のＮ末端の存在を示す。

６番目および１０番目のサイクルにあるＧは、基質のＮ末端の存在を示す。

７番目のサイクルにあるＭは、基質のＮ末端の存在、および／またはＦ$_{185}$後の切断を示す。

１５番目のサイクルにあるＭは、Ｖ$_{177}$後の切断を示す。

１番目のサイクルは、Ｄ$_{191}$後の切断を示し得る。表７を参照。

４番目および１３番目のサイクルにあるＲは、Ｖ$_{177}$後の切断を示す。

２番目および１１番目のサイクルにあるＲは、Ｙ$_{179}$後の切断を示す。

２番目、６番目、および１３番目のサイクルにあるＶは、それぞれＶ$_{175}$、Ｍ$_{169}$後の切断、および基質のＮ末端の存在を示す。表７の１７６および１７０で始まる断片に留意されたい。

１番目、２番目、および１４番目のサイクルにあるＹは、それぞれＶ$_{175}$、Ｖ$_{177}$後の切断、および基質のＮ末端の存在を示す。

１１番目および１２番目のサイクルにあるＬは、それぞれＶ$_{177}$後の切断、および基質のＮ末端の存在を示し、他のデータと最も一致した解釈である。質量分析と比較して、本発明者等は、２番目、５番目、および９番目のサイクルにあるＬは、それぞれＦ$_{186}$、Ｅ$_{183}$またはＭ$_{169}$、およびＹ$_{179}$後の切断と一致している。表７を参照。

【０１８０】

エピトープ同定

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

【０１８１】

【表８】

表８

プロテアソームにより生成した断片による予測ＨＬＡ結合

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

†予測なし

【０１８２】

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合アッセイ：

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合研究を、本質的に上記実施例３に記載するように、$PSMA_{168}$～$_{177}$、すなわちＧＭＰＥＧＤＬＶＹＶ（配列番号３３）を用いて実施した。図８に見られるように、このエピトープは、陽性対照ペプチドよりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。このアッセイ（およびこの開示全体にわたって）対照として使用されるＭｅｌａｎ－ＡペプチドであるＥＬＡＧＩＧＩＬＴＶは、実際に天然配列（ＥＡＡＧＩＧＩＬＴＶ）の変異体であり、このアッセイにおいて高親和性を示す。

【０１８３】

実施例５

クラスター解析（$PSMA_{281}$～$_{310}$）

前立腺特異的膜抗原由来のＡ１エピトープクラスターである$PSMA_{283}$～$_{307}$（配列番号４６）を含有する別のペプチドであるＲＧＩＡＥＡＶＧＬＰＳＩＰＶＨＰＩＧＹＹＤＡＱＫＬＬＥＫＭＧ、すなわち$PSMA_{281}$～$_{310}$（配列番号４５）を、４３３Ａ　ＡＢＩペプチド合成機で、標準的な固相Ｆ－ｍｏｃ化学を用いて合成した。側鎖脱保護および樹脂からの切り出し後、ｄｄH_2O中のペプチドを、以下の条件：４ｍｌ／分の流速で線形ＡＢ勾配（５％Ｂ／分）（ここで、溶離液Ａは０．１％ＴＦＡ水溶液であり、溶離液Ｂはア

セトニトリル中の０．１％ＴＦＡである）で、逆相分取ＨＰＬＣ　Ｃ１８カラムに流した。質量分析により判断されるように、予測ペプチドを含有する１７．０６１分時点での画分をプールして、凍結乾燥した。次に、本質的に上述のように、ペプチドをプロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表９に要約する。

【０１８４】

【表９－１】

表９

ＰＳＭＡ$_{281\sim310}$質量ピーク同定

ペプチド	配列	計算質量 (MH^+)
281-297	RGIAEAV**GLPSIPVHPI***	1727.07
286-297	AV**GLPSIPVHPI****	1200.46
287-297	V**GLPSIPVHPI**	1129.38
288-297	**GLPSIPVHPI**	1030.25
298-310	GYYDAQKLLEKMG	1516.5
298-305	GYYDAQKL§	958.05
281-305	RGIAEAVGLPSIPVHP**IGYYDAQKL**	2666.12
281-307	RGIAEAVGLPSIPVHPIG**YYDAQKLLE**	2908.39
286-307	AVGLPSIPVHPIG**YYDAQKLLE**¶	2381.78
287-307	VGLPSIPVHPIG**YYDAQKLLE**	2310.70
288-307	GLPSIPVHPIG**YYDAQKLLE**#	2211.57
281-299	RGIAEAVGLP**SIPVHPIGY**	1947
286-299	AVGLP**SIPVHPIGY**	1420.69
287-299	VGLP**SIPVHPIGY**	1349.61
288-299	GLP**SIPVHPIGY**	1250.48
287-310	VGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMG	2627.14

【表９－２】

288-310	**GLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMG**	2528.01

太字体の配列は、ＭＨＣに結合すると予測されるペプチドに相当する。
表１０を参照。
*質量のみに基づけば、このピークは２９６～３１０または２８８～３０３でもあり得る。
**質量のみに基づけば、このピークは２９８～３０７でもあり得る。ＨＰＬＣおよび質量分析の組合せは、幾つか後の時点で、このピークは両方の種の混合物であることを示す。
†質量のみに基づけば、このピークは２８９～２９８でもあり得る。
≠質量のみに基づけば、このピークは２８１～２９５または２９４～３０６でもあり得る。
§質量のみに基づけば、このピークは２９７～３０３でもあり得る。
¶質量のみに基づけば、このピークは２８５～３０６でもあり得る。
#質量のみに基づけば、このピークは２８８～３０３でもあり得る。
これらの代替的帰属のいずれもＮ末端プール配列分析で支持されない。

【０１８５】
Ｎ末端プール配列解析
プロテアソーム消化の１時間目のアリコートの１つ（上記実施例３のパート３を参照）を、ＡＢＩ　４７３Ａタンパク質シーケンサー(Applied Biosystems, Foster City, CA)によりＮ末端アミノ酸配列解析に付した。切断の部位および効率の決定は、配列サイクル、タンパク質シーケンサーの反復収率、および解析した配列中に特有のアミノ酸の相対収率の考慮に基づいていた。すなわち、特有（解析した配列中の）残基Ｘがｎ番目のサイクルのみに出現する場合、切断部位は、Ｎ末端方向でその前のｎ－１残基に存在する。配列に対する質量の帰属における任意の曖昧性を解決するのを助長するほかに、これらのデータはまた質量分析よりも、様々な断片の相対収率のより信頼性高い徴候を提供する。
【０１８６】
$PSMA_{281\sim310}$（配列番号４５）に関して、このプールシーケンシングは、他の少量の切断部位の中でも、V_{287}およびI_{297}後の２つの主要な切断部位を支持する。図９に提示した結果を参照することにより以下のことが明らかとなる：
４番目および１１番目のサイクルにあるＳは、それぞれV_{287}後の切断、および基質のＮ末端の存在を示す。
８番目のサイクルにあるＨは、V_{287}後の切断を示す。１０～１１にかけて存在する高さの低下に対して、位置９および位置１０のピーク高さの衰退の欠如は、シーケンシング反応における潜伏期を表すピークではなく、同様にA_{286}およびE_{285}後の切断を示唆し得る。
２番目、４番目、および７番目のサイクルにあるＤは、それぞれY_{299}、I_{297}、およびV_{294}後の切断を示す。この最後の切断は、表１０中の断片にいずれにおいても、あるいは以下の注釈における代替的帰属においても観察されない。
６番目のサイクルにあるＱは、I_{297}後の切断を示す。
１０番目および１２番目のサイクルにあるＭは、それぞれY_{299}、およびI_{297}後の切断を示す。
【０１８７】
エピトープ同定

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

【０１８８】

【表１０】

表１０

プロテアソームにより生成した断片：$PSMA_{281\sim310}$による予測ＨＬＡ結合

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

†予測なし

【０１８９】

表１０に見られるように、エピトープへの確証的配列のＮ末端付加は、同じかまたは異なるＭＨＣ制限要素に関するさらに有用な一層優れたエピトープを生成することができる。例えば、（Ｇ）ＬＰＳＩＰＶＨＰＩのＨＬＡ－Ａ*０２０１との対形成（ここでは１０量体はＨＬＡ－Ｂ７、ＨＬＡ－Ｂ*５１０１、およびＨＬＡ－Ｃｗ*０４０１に関するエピトープを創出するために、Ｎ末端トリミングに依存することにより、幾つかのＭＨＣ型とともに有用なワクチンとして使用することができる）に留意されたい。

【０１９０】

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合アッセイ：

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合研究を、本質的に上記実施例３および実施例４に記載するように、$PSMA_{288\sim297}$、すなわちＧＬＰＳＩＰＶＨＰＩ（配列番号４８）を用いて実施した。図８に見られるように、このエピトープは、陽性対照ペプチドよりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。

【０１９１】
実施例６
クラスター解析（ＰＳＭＡ$_{454}$～$_{481}$）
前立腺特異的膜抗原由来のエピトープクラスターを含有する別のペプチドであるＳＳＩＥＧＮＹＴＬＲＶＤＣＴＰＬＭＹＳＬＶＨＬＴＫＥＬ、すなわちＰＳＭＡ$_{454}$～$_{481}$（配列番号５５）を、ＭＰＳにより合成し（純度９５％を上回る）、上述のように、プロテアソーム消化および質量スペクトル解析に付した。質量スペクトルからの顕著なピークを表１１に要約する。
【０１９２】
【表１１】
表１１

ＰＳＭＡ$_{454\sim481}$質量ピーク同定

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

太字体の配列は、ＭＨＣに結合すると予測されるペプチドに相当する。表１２を参照。
*質量のみに基づけば、このピークは同様にペプチド４５５～４７２に帰属させることができたが、Ｎ末端アミノ酸近位のプロテアソーム除去が起こる可能性は低いとみなされる。この問題が重要である場合は、Ｎ末端シーケンシングにより解決することができる。
**質量に基づけば、この断片は４５５～４６４も表し得る。

【０１９３】
エピトープ同定
ＳＹＦＰＥＩＴＨＩまたはＮＩＨアルゴリズムによりＨＬＡを結合することが予測される８～１０アミノ酸長の配列が同時にＣ末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載されるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測ＨＬＡ－Ａ２．１結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他のＭＨＣ分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表１２に示す。
【０１９４】

【表１２】

表１２

プロテアソームにより生成した断片による予測ＨＬＡ結合

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

†予測なし

【０１９５】

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

【０１９６】

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合アッセイ：

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合研究を、本質的に上記実施例３に記載するように、$PSMA_{460\sim469}$、すなわちＴＬＲＶＤＣＴＰＬ（配列番号６０）を用いて実施した。図１０に見られるように、このエピトープは、陽性対照として使用される既知のＡ２．１バインダーＦＬＰＳＤＹＦＰＳＶ（$HBV_{18\sim27}$、配列番号２４）と同程度に、ＨＬＡ－Ａ２．１を結合することがわかった。さらに、$PSMA_{461\sim469}$（配列番号５９）はほぼ同様に結合する。

【０１９７】

ＥＬＩＳＰＯＴ解析：$PSMA_{463\sim471}$（配列番号６２）

ニトロセルロースをコートしたマイクロタイタープレートのウェルを、４μｇ／ｍｌのコーティング緩衝液（３５ｍＭ　炭酸水素ナトリウム、１５ｍＭ　炭酸ナトリウム、ｐＨ

９．５）中のマウス抗ヒトγ－ＩＦＮモノクローナル抗体５０μｌ／ウェルを用いて、４℃で一晩インキュベートすることにより、捕捉抗体でコーティングした。未結合の抗体を、ＰＢＳで５分間４回洗浄することにより除去した。続いて、膜上の未結合部位を、１０％血清を含有するＲＰＭＩ培地２００μｌ／ウェルを添加して、室温で１時間インキュベートすることによりブロックした。１：３の段階希釈物の抗原刺激ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞を、１００μ／ウェルを用いてマイクロタイタープレートのウェルに播種して、２×１０^{5}個の細胞／ウェルから開始した（先立っての抗原刺激は、本質的にScheibenbogen, C. et al. Int. J. Cancer 71:932-936, 1997に記載される通りであった）。ＰＳＭＡ$_{462}$～$_{471}$（配列番号６２）を、最終濃度１０μｇ／ｍｌとなるように、ＩＬ－２を１００Ｕ／ｍｌとなるように添加して、細胞を５％CO_2の水飽和雰囲気中で３７℃で４時間培養した。このインキュベーション後、プレートを、０．０５％ツイーン２０を含有するＰＢＳ（ＰＢＳ－ツイーン）２００μ／ウェルで６回洗浄した。検出抗体である、２ｇ／ｍｌのＰＢＳ＋１０％ウシ胎児血清中のビオチン化マウス抗ヒトγ－ＩＦＮモノクローナル抗体５０μｌ／ウェルを添加して、プレートを室温で２時間インキュベートした。未結合の検出抗体を、ＰＢＳ－ツイーン２００μｌで４回洗浄することにより除去した。アビジン結合ホースラディッシュペルオキシダーゼ(Pharmingen, San Diego, CA)１００μｌを各ウェルに添加して、室温で１時間インキュベートした。未結合の酵素を、ＰＢＳ－ツイーン２００μｌで６回洗浄することにより除去した。Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド２．５ｍｌ中に３－アミノ－９－エチルカルバゾールの２０ｍｇの錠剤を溶解させて、その溶液に０．０５Ｍ　リン酸－クエン酸緩衝液（ｐＨ５．０）４７．５ｍｌを添加することにより基質を調製した。３０％$H_2O_2$２５μｌを基質溶液に添加した直後に、１００μｌ／ウェルで基質を分配して、プレートを室温でインキュベートした。着色後（一般に１５～３０分）、プレートを水で洗浄することにより、反応を停止させた。プレートを風乾させて、立体顕微鏡を用いて、スポットを計数した。

【０１９８】

図１１は、自己樹状細胞＋ペプチドとのＨＬＡ－Ａ１$^{+}$ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の培養物において予め生成されたＰＳＭＡ$_{463}$～$_{471}$（配列番号６２）反応性ＨＬＡ－Ａ１$^{+}$ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の検出を示す。ペプチドなしの培養物からは反応性は検出されない（データは示さず）。この場合、ペプチド反応性Ｔ細胞が２．２×１０^{4}分の１～６．７×１０^{4}分の１の頻度で培養物中に存在することが理解され得る。これが本当にＨＬＡ－Ａ１制限応答であることは、抗ＨＬＡ－Ａ１モノクローナル抗体の、γ－ＩＦＮ産生を阻止する能力により実証される。図１２を参照されたい。

【０１９９】

実施例７

クラスター解析（ＰＳＭＡ$_{653}$～$_{687}$）

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

【０２００】

【表１３】

表１３

ＰＳＭＡ$_{653\sim687}$質量ピーク同定

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

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

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

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

【０２０１】

エピトープ同定

ＳＹＦＰＥＩＴＨＩまたはＮＩＨアルゴリズムによりＨＬＡを結合することが予測される８～１０アミノ酸長の配列が同時にＣ末端にある断片をさらなる研究用に選択した。手順の消化工程および予測工程は任意の順序で有用に実施することができる。ここで記載さ

れるプロテアソーム消化に使用される基質ペプチドは予測ＨＬＡ－Ａ２．１結合配列を包含するように特異的に設計されたが、消化の実際の産物は、他のＭＨＣ分子への実際の結合または予測結合に関する事実の後に試験することができる。選択した結果を表１４に示す。

【０２０２】

【表１４】

表１４

プロテアソームにより生成した断片による予測ＨＬＡ結合

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

†予測なし

【０２０３】

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

【０２０４】

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合アッセイ：

ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合研究を、本質的に上記実施例３に記載するように、$PSMA_{663〜671}$（配列番号６６）、および$PSMA_{662〜671}$、すなわちＲＭＭＮＤＱＬＭＦＬ（配列番号６７）を用いて実施した。図１０、図１３および図１４に見られるように、このエピトープは、陽性対照ペプチド（ＦＬＰＳＤＹＦＰＳＶ（$HBV_{18〜27}$）、配列番号２４）よりもはるかに低濃度で、有意な結合を示す。並行して実施してはないが、対照との比較は、$PSMA_{662〜671}$（これは親和性においてＭｅｌａｎＡペプチドに近い）はこれらの２つのＰＳＭＡペプチドの優れた結合活性を有することを示唆する。

【０２０５】

実施例８

エピトープワクチンによるワクチン接種

１．ペプチドワクチンによるワクチン接種：

Ａ．結節内送達

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

【０２０６】

Ｂ．徐放

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

【０２０７】

Ｃ．遺伝子銃送達

当該技術分野で既知であるようにペプチドが金微粒子に接着されたペプチド配合物を調

製する。粒子は遺伝子銃で送達され、皮膚を浸透するように高速に加速されることにより、ｐＡＰＣを含有する皮膚組織へ粒子を運搬する。

【０２０８】

Ｄ．エーロゾル送達

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

【０２０９】

２．核酸ワクチンによるワクチン接種：

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

【０２１０】

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

【０２１１】

実施例９

エピトープワクチンに関する有効性に関するアッセイ

１．四量体解析：

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

【０２１２】

２．増殖アッセイ：

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

【０２１３】

３．クロム放出アッセイ：

ヒト患者、またはヒトクラスＩ　ＭＨＣを発現するように遺伝子操作した非ヒト動物を、ハウスキーピングエピトープを用いて免疫する。免疫した被験体からのＴ細胞を、同じクラスＩ　ＭＨＣを発現するように操作したヒト腫瘍標的（単数または複数）を用いた標準的なクロム放出アッセイで使用する。標的のＴ細胞による死滅は、患者におけるＴ細胞刺激が類似のＴｕＡＡを発現する腫瘍を死滅させるのに効果的であることを示す。

【０２１４】

実施例１０

裸のＤＮＡによるＣＴＬ応答の誘発は、リンパ節内免疫により効果的である

種々の免疫経路により誘発されるＣＤ８$^{+}$ＣＴＬ応答を定量的に比較するために、以下の系は抗ウイルスＣＩＬ応答の包括的な評価が可能であるため、ＬＣＭＶ－糖タンパク質（Ｇ）由来の十分に特性化された免疫優性ＣＴＬエピトープ（ｇｐ３３、アミノ酸３３～４１）(Oehen, S., et al. Immunology 99, 163-169 2000)を含有するプラスミドＤＮＡワクチン（ｐＥＧＦＰＬ３３Ａ）を使用した。２匹のＣ５７ＢＬ／６マウスの群を、ｉ．ｍ．（筋内）、ｉ．ｄ．（皮内）、ｉ．ｓｐｌ．（脾臓内）、またはｉ．ｌｎ．（リンパ節内）に投与して、滴定用量（２００～０．０２μｇ）のｐＥＧＦＰＬ３３Ａ　ＤＮＡ、または対照プラスミドｐＥＧＦＰ－Ｎ３で一度免疫した。陽性対象マウスには、５００ｐｆｕのＬＣＭＶをｉ．ｖ．（静脈内）に施した。免疫の１０日後、脾臓細胞を単離して、二次ｉｎ　ｖｉｔｒｏ再刺激後にｇｐ３３特異的ＣＴＬ活性を決定した。図１５に示すように、筋内または皮内免疫は、高用量のｐＥＦＧＰＬ３３Ａ　ＤＮＡ（２００μｇ）を投与した場合に、弱々しく検出可能なＣＴＬ応答を誘発した。対照的に、ほんの２μｇのｐＥＦＧＰＬＣ３３　ＤＮＡを脾臓内で免疫することにより、またリンパ節内に付与した０．２μｇ程度と少ないｐＥＦＧＰＬ３３Ａ　ＤＮＡで免疫することにより、強力なｇｐ３３特異的ＣＴＬ応答が誘発された（図１５、記号は個々のマウスを表し、これらの類似の実験のうちの１つを示している）。対照ｐＥＧＦＰ－Ｎ３　ＤＮＡによる免疫は、いかなる検出可能なｇｐ３３特異的ＣＴＬ応答も誘発しなかった（データは示さず）。

【０２１５】

実施例１１

リンパ節内ＤＮＡ免疫は抗腫瘍免疫性を誘発する

リンパ節内での免疫後に誘発される強力なＣＴＬ応答は末梢腫瘍に対する防御を付与することが可能であるかどうかを調べるために、６匹のＣ５７ＢＬ／６マウスの群を、ｐＥＦＧＰＬ３３Ａ　ＤＮＡまたは対照ｐＥＧＦＰ－Ｎ３　ＤＮＡ　１０μｇで、６日間隔で３回免疫した。最後の免疫の５日後に、ｇｐ３３エピトープを発現する固形腫瘍（ＥＬ４－３３）の小片を、両側腹部に皮下移植して、３～４日毎に腫瘍成長を測定した。ＥＬ４－３３腫瘍は、対照ｐＥＧＦＰ－Ｎ３　ＤＮＡで繰り返して免疫したマウスにおいて十分に成長した（図１６）が、ｐＥＦＧＰＬ３３Ａ　ＤＮＡでリンパ節内に免疫したマウスは、末梢ＥＬ４－３３腫瘍を迅速に根絶した（図１６）。

【０２１６】

実施例１２

リンパ節ＤＮＡ含有量の差は、リンパ節内および筋内注射後のＣＴＬ応答の差を反映する

ｐＥＦＧＰＬ３３Ａ　ＤＮＡをリンパ節内または筋内注射して、注射リンパ節または排出リンパ節のプラスミド含有量を、６時間、１２時間、２４時間、４８時間、ならびに４日および３０日後に、リアルタイムＰＣＲにより評価した。６時間目、１２時間目、および２４時間目に、注射リンパ節のプラスミドＤＮＡ含有量は、筋内注射後の排出リンパ節の含有量よりもおよそ３桁大きかった。プラスミドＤＮＡは、次の時点では排出リンパ節において検出されなかった（図１７）。これは、同様のレベルのＣＴＬ活性を達成するのに、リンパ節内注射と比較して筋内を用いて必要とされる３桁多い用量と一致する。このエピトープに対するＣＴＬ応答を発現させないＣＤ８$^{+}$ノックアウトマウスにもリンパ節内注射し、リンパ節からのＤＮＡのクリアランスは、リンパ節における細胞のＣＤ８$^{+}$ＣＴＬ殺傷に起因しないことを示した。この観察はまた、リンパ節内投与が、リンパ節に対する免疫病理学的損傷を誘起しないという結論を支持する。

【０２１７】

実施例１３

黒色腫用の治療用ワクチンのＤＮＡプラスミド配合物のヒトへの投与

ＨＬＡ－Ａ２制限チロシナーゼエピトープ配列番号１およびエピトープクラスター配列番号６９をコードする黒色腫ワクチンであるＳＹＮＣＨＲＯＴＯＰＥ　ＴＡ２Ｍを、１％ベンジルアルコール、１％エチルアルコール、０．５ｍＭ　ＥＤＴＡ、クエン酸－リン酸（ｐＨ７．６）中に配合した。８０、１６０および３２０μｇＤＮＡ／ｍｌのアリコートを、ＭＩＮＩＭＥＤ　４０７Ｃ　注入ポンプへの負荷用に調製した。ＳＩＬＨＯＵＥＴＴ

Ｅ注入セットのカテーテルを、超音波イメージングにより可視化した鼡径リンパ節に入れた。ポンプおよび注入セットの組立品は本来、糖尿病患者にインスリンを送達するために設計され、通常１７ｍｍのカテーテルを、この用途のために３１ｍｍのカテーテルで代用した。約２５μｌ／時間の注入速度で、注入セットを４日間（およそ９６時間）患者に保持させ、総注入容量はおよそ２．４ｍｌとなった。したがって、注入１回当たりの総投与容量は、上述の３つの濃度に関して、それぞれおよそ２００μｇ、および４００μｇ、および８００μｇであり得る。注入後、被験体には、次の注入を開始する前に、１０日の休息期間をもうけた。投与後のリンパ節中のプラスミドＤＮＡの連続残留（実施例１２で見られるような）、および抗原の消失後のＣＴＬ応答の通常の動態を考慮して、このスケジュールは、免疫原性ＣＴＬ応答を維持するのに十分である。

【０２１８】

実施例１４

さらなるエピトープ

上記、および特に実施例３～７に記載される方法論をさらなる合成ペプチド基質に適用し、以下の表１５～３６に記載するようにさらなるエピトープの同定へと導いた。ここで使用される基質は、ＨＬＡ－Ａ*０２０１結合エピトープを生じるハウスキーピングプロテアソームプロセシングの産物を同定するように設計したが、さらなるＭＨＣ結合反応性を、上述のように予測することができる。多くのかかる反応性が開示されるが、これらの列挙は、例示的であることを意味し、包括的または限定的であることを意味しない。また上述のように、解析の個々の成分を、組合せおよび順序を変更させる際に使用することができる。ＮＹ－ＥＳＯ－１基質１３６～１６３および１５０～１７７（それぞれ、配列番号２５４および２５５）の消化物は、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析において十分に飛行しない断片を生じた。しかしながら、それらは、Ｎ末端ペプチドプールシーケンシングに実に順応しやすく、それにより切断部位の同定が可能であった。基質すべてが必ずしも、実施例３で言及したエピトープクラスターの形式上の定義を満たすとは限らない。クラスターによっては、非常に大きくて（例えば、ＮＹ－ＥＳＯ－1_{86}～$_{171}$）、このクラスターの一部のみにかかる基質を使用することがより利便性が高かった。他の場合では、基質は、隣接した予測エピトープを包含するために、形式上の定義を満たすクラスターを超えて伸長された。場合によっては、実際の結合活性は、例えばここで報告されるＭＡＧＥエピトープと同様にどの基質が作製されたかということに影響し、ここでＨＬＡ結合活性は、合成基質が設計される前に、予測親和性を有するペプチドの選択に関して決定された。

【０２１９】

【０２２０】

表１５

GP100: ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

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

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

【表１６Ａ】

表 16A

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
86-109	95-102	ESLFRAVI	95					**16/<5**	
	93-102	ILESLFRAVI	96	**21/<5**		**20/<5**			
	93-101	ILESLFRAV	97	**23/<5**					
	92-101	CILESLFRAV	98	**23/55**					
	92-100	CILESLFRA	99	**20/138**					
263-292	263-271	EFLWGPRAL	100						A26 (R 21), A24 (NIH 30)
	264-271	FLWGPRAL	101					**17/<5**	
	264-273	FLWGPRALAE	102	**16/<5**		**19/<5**			
	265-274	LWGPRALAET	103	**16/<5**					
	268-276	PRALAETSY	104	**15/<5**					
	267-276	GPRALAETSY	105	**15/<5**			**<15/<5**		B4403 (NIH 7); B3501 (NIH 120)
	269-277	RALAETSYV	106	**18/20**					
	271-279	LAETSYVKV	107	**19/<5**					
	270-279	ALAETSYVKV	108	**30/427**		**19/<5<5**			
	272-280	AETSYVKVL	109	**15/<5**					B4403 (NIH 36)
	271-280	LAETSYVKVL	110	**18/<5**			**<15/<5**		
	274-282	TSYVKVLEY	111		**26/<5**				B4403 (NIH 14)
	273-282	ETSYVKVLEY	112		**28/6**				A26 (R 31), B4403 (NIH 14)
	278-286	KVLEYVIKV	113	**26/743**		**16/<5**			

【０２２１】

表 16B

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
168-193	168-177	SYVLVTCLGL	114						A24 (NIH 300)
	169-177	YVLVTCLGL	115	**20/32**		**15/<5**	**<15/20**		
	170-177	VLVTCLGL	116					**17/<5**	
229-258	240-248	TQDLVQEKY	117		**29/<5**				
	239-248	LTQDLVQEKY	118		**23/<5**				A26 (R 22)
	232-240	YGEPRKLLT	119		**24/11**				
	243-251	LVQEKYLEY	120		**21/<5**	**21/<5**			A26 (R 28)
	242-251	DLVQEKYLEY	121		**22/<5**	**19/<5**			A26 (R 30)
	230-238	SAYGEPRKL	122	**21/<5**					B5101 (25/121)
272-297	278-286	KVLEYVIKV	123	**26/743**		**16/<5**			
	277-286	VKVLEYVIKV	124	**17/<5**					
	276-284	YVKVLEYVI	125	**15/<5**		**15/<5**		**17/<5**	
	274-282	TSYVKVLEY	126		**26/<5**				
	273-282	ETSYVKVLEY	127		**28/6**				
	283-291	VIKVSARVR	128			**20/<5**			
	282-291	YVIKVSARVR	129			**24/<5**			

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

【表１７Ａ】

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
107-126	115-122	ELVHFLLL	130					18/<5	
	113-122	MVELVHFLLL	131		21/<5				A26 (R 22)
	109-116	ISRKMVEL	132					17/<5	
	108-116	AISRKMVEL	133	25/7		19/<5	16/12	26/<5	
	107-116	AAISRKMVEL	134	22/<5			14/36	n.p./16	
	112-120	KMVELVHFL	135	27/2800					
	109-117	ISRKMVELV	136	16/<5					
	108-117	AISRKMVELV	137	24/11					
	116-124	LVHFLLLKY	138		23/<5	19/<5			A26 (R 26)
	115-124	ELVHFLLLKY	139		24/<5	19/5			A26 (R 29)
	111-119	RKMVELVHF	140						
145-175	158-166	LQLVFGIEV	141	17/168					
	157-166	YLQLVFGIEV	142	24/1215					
	159-167	QLVFGIEVV	143	25/32		18/<5			
	158-167	LQLVFGIEVV	144	18/20					
	164-172	IEVVEVVPI	145	16/<5					
	163-172	GIEVVEVVPI	146	22/<5					
	162-170	FGIEVVEVV	147	19/<5					B5101(24/69.212)
	154-162	ASEYLQLVF	148		22/68				
	153-162	KASEYLQLVF	149			15/<5			

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

【０２２３】

【表１７Ｂ】

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

基質	エピトープ	配列		HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
213-233	218-225	EEKIWEEL	150					**22/<5**	
	216-225	APEEKIWEEL	151	**15/<5**			**22/72**		
	216-223	APEEKIWE	152					**18/<5**	
	220-228	KIWEELSML	153	**26/804**		**16/<5**		**16/<5**	A26 (R 26)
	219-228	EKIWEELSML	154						A26 (R 22)
271-291	271-278	FLWGPRAL	155					**17/<5**	
	271-279	FLWGPRALI	156	**25/398**		**16/7**			
	278-286	LIETSYVKV	157	**23/<5**					
	277-286	ALIETSYVKV	158	**30/427**		**21/<5**			
	276-284	RALIETSYV	159	**18/19**					B5101 (20/55)
	279-287	IETSYVKVL	160	**15/<5**					
	278-287	LIETSYVKVL	161	**22/<5**					A26 (R 22)

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

【０２２４】

【０２２５】

表１８

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

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

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

40 30 20 10

【表１９Ａ】

表 19A

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

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

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

【０２２６】

【表１９Ｂ】

表 19B

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH)†				
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
136-163 (配列番号 254)	139-147	AADHRQLQL	192	**17/<5**	**17/<5**			**22/<5**	
	148-156	SISSCLQQL	193	**24/7**					A26 (R 25)
	147-156	LSISSCLQQL	194	**18/<5**					
	138-147	TAADHRQLQL	195	**18/<5**					
150-177 (配列番号 255)	161-169	WITQCFLPV	196	**18/84**					
	157-165	SLLMWITQC	197	**18/42**		**17/<5**			
	150-158	SSCLQQLSL	198	**15/<5**					
	154-162	QQLSLLLMWI	199	**15/50**					
	151-159	SCLQQLSLL	200	**18/<5**					
	150-159	SSCLQQLSLL	201	**16/<5**					
	163-171	TQCFLPVFL	202	**<15/12**					
	162-171	ITQCFLPVFL	203	**18/<5**					A26 (R 19)

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

【０２２７】

表 20

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	**A1**	**A3**	**B7**	**B8**	その他
211-245	219-227	PMQDIKMIL	204	**16/<5**				**16/n.d.**	A26 (R 20)
	218-227	MPMQDIKMIL	205				**<15/240**		
411-446	428-436	QHLIGLSNL	206	**18/<5**					
	427-436	LQHLIGLSNL	207	**16/8**					
	429-436	HLIGLSNL	208					**17/<5**	B15 (R 21)
	431-439	IGLSNLTHV	209	**18/7**					B*5101 (R 22)
	430-439	LIGLSNLTHV	210	**24/37**					

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

【０２２８】

40 30 20 10

【表２１】

表 21
ＰＳＡ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測 (SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
42-77	53-61	VLVHPQWVL	211	22/112			<15/6	17/<5	
	52-61	GVLVHPQWVL	212	17/21		16/<5	<15/30		A26 (R 18)
	52-60	GVLVHPQWV	213	17/124					
	59-67	WVLTAAHCI	214	15/16					
	54-63	LVHPQWVLTA	215	19/<5		20/<5			A26 (R 16)
	53-62	VLVHPQWVLT	216	17/22					
	54-62	LVHPQWVLT	217			17/n.d.			
55-95	66-73	CIRNKSVI	218					26/20	
	65-73	HCIRNKSVI	219					<15/16	
	56-64	HPQWVLTAA	220				18/<5		
	63-72	AAHCIRNKSV	221	17/<5					

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

【０２２９】

【０２３０】

表 22

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

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

*Ｌ１２３は、天然タンパク質のＣ末端である。

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

【表２２】

【表２３】

表 23
チロシナーゼ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

基質	エピトープ	配列	配列番号	HLA 結合予測(SYFPEITHI /NIH)†					
				A*0201	A1	A3	B7	B8	その他
128-157	128-137	APEKDKFFAY	227		29/6		15/<5		B4403 (NIH 14)
	129-137	PEKDKFFAY	228		18/<5			21/<5	
	130-138	EKDKFFAYL	229				15/<5		
	131-138	KDKFFAYL	230					20/<5	
197-228	205-213	PAFLPWHRL	231					15/<5	
	204-213	APAFLPWHRL	232				23/360		
	207-216	FLPWHRLFLL	1	25/1310				<15/8	
	208-216	LPWHRLFLL	9	17/26			20/80	24/16	
	214-223	FLLRWEQEIQ	233			15/<5			
	212-220	RLFLLRWEQ	234			16/<5			
191-211	191-200	GSEIWRDIDF	235		18/68				
	192-200	SEIWRDIDF	236					16/<5	B4403 (NIH 400)
207-230	207-215	FLWHRLFL	8	22/540			<15/6	17/<5	
466-484	473-481	RIWSWLLGA	237	19/13		15/<5			
476-497	476-484	SWLLGAAMV	238	18/<5					
	477-486	WLLGAAMVGA	239	21/194		18/<5			
	478-486	LLGAAMVGA	240	19/19		16/<5			

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

【０２３１】

【０２３２】

表 24

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

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

[1]このＨは、ＳＷＩＳＳＰＲＯＴデータベースではＹとして報告された。

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

40 30 20 10

【表２５Ａ】

表 25A

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

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

【０２３３】

【表２５Ｂ】

表 25B

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

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

【０２３４】

【表２６】

表 26

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

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

【０２３５】

【表２７Ａ】

表 27A

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

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

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

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

†イタリック体文字は、ＥＤ－Ｂドメインの外側の配列を示す。

【０２３６】

【表２７Ｂ】

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

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

【０２３７】

【表２７Ｃ】

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
ED-B 20-49	31-38	IGYRITVV	288	B5101	25	該当なし
	30-38	IIGYRITVV	289	A0201	23	15
				A3	17	<1.0
				B08	15	<1.0
				B5101	15	3
	29-38	TIIGYRITVV	290	A0201	26	9
				A26	18	該当なし
				A3	18	<5
	23-30	TPLNSSTI	282	B5101	22	該当なし
	25-33	LNSSTIIGY	285	A1	19	<5
				A26	16	該当なし
	24-33	PLNSSTIIGY	286	A26	24	該当なし
				A3	16	<5
	31-39	IGYRITVVA	291	A3	17	<5
	30-39	IIGYRITVVA	292	A0201	15	<5
				A3	18	<5
	23-31	TPLNSSTII	287	B0702	17	8
				B5101	25	440

【０２３８】

【表２８Ａ】

表 28A

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

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

【０２３９】

【表２８Ｂ】

表 28B

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

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

【０２４０】

【表２８Ｃ】

表 28C

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

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

【０２４１】

【表２８Ｄ】

表 28D

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

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

【０２４２】

【表２９Ａ】

表 29A

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

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

【０２４３】

【表２９Ｂ】

表 29B

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

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

【０２４４】

【表２９Ｃ】

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

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

【０２４５】

【表３０】

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

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

【０２４６】

【表３１Ａ】

表 31A

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
PRAME 103-135	112-119	VRPRRWKL	359	B08	19	
	111-119	EVRPRRWKL	360	A26	27	該当なし
				A24	該当なし	5
				A3	19	該当なし
				B0702	15	(B7) 300.00
				B08	26	160
	113-121	RPRRWKLQV	361	B0702	21	(B7) 40.00
				B5101	19	110
	114-122	PRRWKLQVL	362	B08	26	<5
				B2705	23	200
	113-122	RPRRWKLQVL	363	B0702	24	(B7) 800.00
				B8	該当なし	160
				B5101	該当なし	61
				B5102	該当なし	61
				A24	該当なし	10
	116-124	RWKLQVLDL	364	B08	22	<5
				B2705	17	3
	115-124	RRWKLQVLDL	365	A0201	16	<5
PRAME 161-187	174-182	PVEVLVDLF	366	A26	25	該当なし

【０２４７】

【表３１Ｂ】

表 31B

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
PRAME 185-215	199-206	VKRKKNVL	367	B08	27	8
	198-206	KVKRKKNVL	368	A0201	16	<1.0
				A26	20	該当なし
				A3	22	<1.0
				B08	30	40
				B2705	16	
	197-206	EKVKRKKNVL	369	A26	15	該当なし
	198-205	KVKRKKNV	370	B08	20	6
	201-208	RKKNVLRL	371	B08	20	<5
	200-208	KRKKNVLRL	372	A0201	15	<1.0
				A26	15	該当なし
				B0702	15	<1.0
				B08	21	<1.0
				B2705	28	
				B2709	25	
	199-208	VKRKKNVLRL	373	A0201	16	<1.0
				B0702	16	4
	189-196	DELFSYLI	374	B5101	15	該当なし
	205-213	VLRLCCKKL	375	A0201	22	3
				A26	17	該当なし
				B08	25	8
	204-213	NVLRLCCKKL	376	A0201	17	7
				A26	19	該当なし

【０２４８】

【表３１Ｃ】

表 31C

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

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

【０２４９】

【表３１Ｄ】

表 31D

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

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

【０２５０】
【表３２】

表 32
ＰＳＡ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

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

【０２５１】

【表３３Ａ】

表 33A

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

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

【０２５２】

【表３３Ｂ】

表 33B

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

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

【０２５３】

【表３３Ｃ】

表 33C
ＰＳＭＡ：ハウスキーピングプロテアソーム消化により明らかとなった好ましいエピトープ

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

【０２５４】

【表３４Ａ】

表 34A

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

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

【０２５５】

【表３４Ｂ】

表 34B

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

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

【０２５６】

【表３４Ｃ】

表 34C

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

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

【０２５７】

【表３４Ｄ】

表 34D

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

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

【０２５８】

【表３４Ｅ】

表 34E

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 768 -796	771-778	KEKLKREA	478	B08	21	<5
	777-785	EAKENTATL	479	A0201	18	<5
				A26	18	該当なし
				A24	該当なし	5
				B0702	13	12
				B08	28	48
				B5101	20	121
	776-785	REAKENTATL	480	A0201	16	<5
	773-782	KLKREAKENT	481	A3	17	<5
SCP-1 92-125	112-119	EAEKIKKW	482	B5101	17	該当なし
	101-109	GLSRVYSKL	483	A0201	23	32
				A26	22	該当なし
				A24	該当なし	6
				A3	17	3
				B08	17	<1.0
	100-109	EGLSRVYSKL	484	A26	21	該当なし
				A24	該当なし	9
	108-116	KLYKEAEKI	485	A0201	22	57
				A3	20	9
				B5101	18	5
	98-106	NSEGLSRVY	486	A1	31	68
	97-106	ENSEGLSRVY	487	A26	18	該当なし
	102-110	LSRVYSKLY	488	A1	22	<1.0

【０２５９】

【表３４Ｆ】

表 34F

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

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

【０２６０】

【表３４Ｇ】

表 34G

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

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

【０２６１】

【表３４Ｈ】

表 34H

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

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

【０２６２】

【表３４Ｉ】

表 34I

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

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

【０２６３】

【表３４Ｊ】

表 34J

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

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

【０２６４】

【表３４Ｋ】

表 34K

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

基質	エピトープ	配列	配列番号	結合予測		
				HLA タイプ	SYFPEITHI	NIH
SCP-1 437 -464 (続き)	440-447	LGEKETLL	557	B5101	16	該当なし
	439-447	VLGEKETLL	558	A0201	24	149
				A26	19	該当なし
				B08	29	12
	438-447	KVLGEKETLL	559	A0201	19	24
				A26	20	該当なし
				A24	該当なし	12
				A3	18	<1.0
				B0702	14	20
SCP-1 383 -412	390-398	LLRTEQQRL	560	A0201	22	3
				A26	18	該当なし
				B08	22	1.6
				B2705	15	30
	389-398	ELLRTEQQRL	561	A0201	19	6
				A26	24	該当なし
				A3	15	<1.0
	393-401	TEQQRLENY	562	A1	15	<5
				A26	16	該当なし
	392-401	RTEQQRLENY	563	A1	31	113
				A26	26	該当なし
	402-410	EDQLIILTM	564	A26	18	該当なし
	397-406	RLENYEDQLI	565	A0201	17	<1.0
				A3	15	<1.0

【０２６５】

【表３４Ｌ】

表 34L

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

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

【０２６６】

【表３５】

表 35

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

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

【０２６７】

【表３６】

表 36

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

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

【０２６８】

実施例１５

非標的組織に対するエピトープ交差反応性の可能性の評価

上述のように、ＰＳＡは、カリクレインファミリーのプロテアーゼの成員であり、それ自体がセリンプロテアーゼファミリーのサブセットである。ＰＳＡとの最大度の配列同一性を共有するこのファミリーの成員もまた類似の発現プロフィールを共有すると同時に、個々のエピトープ配列が明確に異なる発現プロフィールを有するタンパク質と共有され得ることが依然として可能である。望ましくない交差反応性の可能性を評価する際の第１の工程は、共有される配列の同定である。これを達成するための方法の１つは、「短いほぼ正確なマッチに関する検索(Search for short nearly exact matches)」オプション；「ncbi.nlm.nih.gov/blast/index.html」にあるワールドワイドウェブにアクセス可能なハイパーテキストトランスファープロトコル(http://www)を用いて、ＳＷＩＳＳＰＲＯＴまたはＥｎｔｒｅｚ非重複ペプチド配列データベースに対するエピトープ配列のＢＬＡＳＴ検索を実施することである。したがって、ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ（ホモサピエンスに関するエントリーに限定）に対して、配列番号２１４、すなわちＷＶＬＴＡＡＨＣＩを検索することにより、ＰＳＡを含む４つの正確なマッチが見出される。他の３つは、カリクレイン１

（組織カリクレイン）、およびエラスターゼ２Ａおよび２Ｂ由来である。これらの９個のアミノ酸セグメントが同一である一方で、フランキング配列は、特にＣ末端側で全く異なっており、プロセシングは異なって進行し得て、したがってこれらの他のタンパク質から同じエピトープが遊離され得ないことを示唆している。（カリクレインの命名が混同されていることに留意されたい）。したがって、カリクレイン１［アクセッション番号Ｐ０６８７０］は、腫瘍関連抗原に関する節における上記ＰＳＡに関するパラグラフに記載するもの［アクセッション番号ＡＡＤ１３８１７］とは異なるタンパク質である。

【０２６９】

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

【０２７０】

実施例１６

エピトープクラスター

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

【０２７１】

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

【０２７２】

【表３７】

表 37

ｇｐ１００に関するＢＩＭＡＳ－ＮＩＨ／Ｐａｒｋｅｒアルゴリズムの結果

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

【０２７３】

【表３８】

表 38

ｇｐ１００に関するＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（Ｒａｍｍｅｎｓｅｅアルゴリズム）の結果

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

【０２７４】

【表３９－１】

表 39

ｇｐ１００に関するクラスターの予測
総アミノ酸: 661
総 9量体: 653
SYFPEITHI ≥16: 109 9量体
NIH≥5: 40 9量体

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

【表３９－２】

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

*隣接しているが、重複していないエピトープ

【０２７５】

【表４０】

表 40

ＰＳＭＡに関するＢＩＭＡＳ－ＮＩＨ／Ｐａｒｋｅｒアルゴリズムの結果

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

【０２７６】

【表４１】

表 41

ＰＳＭＡに関するＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（Ｒａｍｍｅｎｓｅｅアルゴリズム）の結果

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

【０２７７】

【表４２】

表 42

前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 750

総９量体: 742

SYFPEITHI ≥16: 88 ９量体

NIH≥5: 30 ９量体

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

*隣接しているが、重複していないエピトープ

【０２７８】

【表４３】

表 43

ＰＳＡに関するＢＩＭＡＳ－ＮＩＨ／Ｐａｒｋｅｒアルゴリズムの結果

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

【０２７９】

【表４４】

表 44

ＰＳＡに関するＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（Ｒａｍｍｅｎｓｅｅアルゴリズム）の結果

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

【０２８０】

【表４５】

表 45

前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 261

総９量体: 253

SYFPEITHI ≥16: 36 ９量体

NIH≥5: 17 ９量体

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

*これらのクラスターは、あまり好ましくないクラスター番号４の内部にある。

**隣接しているが、重複していないエピトープを含む。

【０２８１】

【表４６】

表 46

ＰＳＣＡに関するＢＩＭＡＳ－ＮＩＨ／Ｐａｒｋｅｒアルゴリズムの結果

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

【０２８２】

【表４７】

表 47

ＰＳＣＡに関するＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（Ｒａｍｍｅｎｓｅｅアルゴリズム）の結果

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

【０２８３】

【表４８】

表 48

前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 123

総 9 量体: 115

SYFPEITHI ≥16: 33;

SYFPEITHI ≥20: 13

NIH≥5: 13

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

*このクラスターは、あまり好ましくないクラスター番号３の内部にある

【０２８４】

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

【０２８５】

【表４９】

表 49

ＭＡＧＥ－１に関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸: 309

総９量体: 301

NIH≥ 5:19 ９量体

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

【０２８６】

【表５０－１】

表 50

ＭＡＧＥ－１に関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 309

総 9 量体: 301

SYFPEITHI ≥ 16: 46 9量体

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	SYFPEITHIスコア	エピトープ/アミノ酸 クラスター	全タンパク質	比
1	7-49	22	7	19	0.233	0.153	1.522
		9	15	22			
		27	18	18			
		16	20	20			
		28	22	18			
		29	24	18			
		33	31	17			
		30	35	18			
		2	38	26			
		17	41	20			
2	89-132	10	89	22	0.273	0.153	1.783
		18	92	20			
		7	93	23			
		23	96	19			
		43	98	16			
		4	101	25			
		8	105	23			
		34	107	17			
		35	108	17			
		36	113	17			
		37	118	17			
		19	124	20			
3	167-203	44	167	16	0.270	0.153	1.766
		20	169	20			
		12	174	21			
		24	181	19			
		6	187	24			

【表５０－２】

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

【０２８７】

【表５１】

表 51

ＭＡＧＥ－２に関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸: 314

総９量体: 308

NIH >= 5: 20 ９量体

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

【０２８８】

【表５２－１】

表 52

ＭＡＧＥ－２に関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 314

総９量体: 308

SYFPEITHI ≥ 16: 52　９量体

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

【表５２－２】

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

【０２８９】

【表５３】

表 53

ＭＡＧＥ－３に関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸: 314
総　９量体: 308
NIH≥ 5: 22　９量体

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

【０２９０】

【表５４－１】

表 54

ＭＡＧＥ－３に関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 314

総９量体: 308

SYFPEITHI ≥ 16: 47　９量体

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

【表５４－２】

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

【０２９１】

【表５５－１】

表 55

ＰＲＡＭＥに関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸: 509
総 9 量体: 501
NIH ≥ 5: 40　9 量体

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

【表５５－２】

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

【０２９２】

【表５６－１】

表 56

ＰＲＡＭＥに関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 509

総 9 量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80　9 量体

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	SYFPEITHIスコア	クラスター	エピトープ/アミノ酸総タンパク質	比
1	18-59	65	18	17	0.238	0.160	1.491
		50	21	18			
		66	26	17			
		35	33	20			
		22	34	22			
		51	37	18			
		5	39	27			
		23	40	22			
		13	44	24			
		46	51	19			
2	78-115	36	78	20	0.263	0.160	1.648
		67	80	17			
		52	84	18			
		24	86	22			
		53	91	18			
		25	93	22			
		9	99	25			
		8	100	26			
		54	103	18			
		55	107	18			
3	191-202	56	191	18	0.167	0.160	1.044
		38	194	20			
4	205-215	26	205	22	0.182	0.160	1.139
		27	207	22			
5	222-238	47	222	19	0.235	0.160	1.474
		14	224	24			
		69	227	17			

【表５６－２】

ＰＲＡＭＥに関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 509

総９量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80　９量体

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

【表５６－３】

ＰＲＡＭＥに関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸: 509

総９量体: 501

SYFPEITHI ≥ 17: 80　９量体

クラスター番号	アミノ酸	エピトープランク	開始位置	SYFPEITHIスコア	クラスター	エピトープ/アミノ酸総タンパク質	比
		77	382	17			
		21	390	23			
		78	391	17			
		1	394	30			
		42	397	20			
		62	403	18			
		33	410	21			
		43	418	20			
		34	419	21			
		7	422	27			
		2	425	29			
		79	426	17			
		63	428	18			
		64	431	18			
		12	432	25			
		16	435	24			
		80	439	17			
10	455-474	29	455	22	0.200	0.160	1.253
		17	459	24			
		4	462	28			
		3	466	29			

【０２９３】

【表５７】

表57
ＣＥＡに関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸:702
総９量体: 694
NIH ≥ 5: 30 ９量体

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

【０２９４】

【表５８－１】

表 58

ＣＥＡに関するクラスターの予測（ＳＹＦＰＥＩＴＨＩアルゴリズム）

総アミノ酸:702

総 9 量体: 694

SYFPEITHI ≥16: 81　9 量体

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

【表５８－２】

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

【表５８－３】

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

【０２９５】

【表５９】

表 59

ＳＣＰ－１に関するクラスターの予測（ＮＩＨアルゴリズム）

総アミノ酸: 976
総９量体: 968
NIH ≥ 5: 37　９量体

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

【０２９６】

【表６０－１】

表 60

ＳＣＰ－１に関するクラスターの予測

総アミノ酸: 976

総 9 量体: 968

Rammensee ≥ 16: 118 9 量体

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

【表６０－２】

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

【表６０－３】

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

【表６０－４】

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

【０２９７】
本発明の実施形態は、ワールドワイドウェブによりアクセス可能である様々なデータベースにおいて開示されるものを含む、本明細書中に提供する標的抗原の配列における変更に適用可能であり、かつそれらを意図する。具体的には、本明細書中に開示する特定の配列に関して、配列中の変更は、各抗原に関する情報にアクセスするための添付のアクセッション番号を使用することにより見出すことができる。
（表６１）
TYROSINASE PROTEIN; SEQ ID NO 2

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

SSX-2 PROTEIN; SEQ ID NO 3

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

PSMA PROTEIN; SEQ ID NO 4

```
  1 MWNLLHETDS AVATARRPRW LCAGALVLAG GFFLLGFLFG WFIKSSNEAT NITPKHNMKA
 61 FLDELKAENI KKFLYNFTQI PHLAGTEQNF QLAKQIQSQW KEFGLDSVEL AHYDVLLSYP
121 NKTHPNYISI INEDGNEIFN TSLFEPPPPG YENVSDIVPP FSAFSPQGMP EGDLVYVNYA
181 RTEDFFKLER DMKINCSGKI VIARYGKVFR GNKVKNAQLA GAKGVILYSD PADYFAPGVK
241 SYPDGWNLPG GGVQRGNILN LNGAGDPLTP GYPANEYAYR RGIAEAVGLP SIPVHPIGYY
301 DAQKLLEKMG GSAPPDSSWR GSLKVPYNVG PGFTGNFSTQ KVKMHIHSTN EVTRIYNVIG
361 TLRGAVEPDR YVILGGHRDS WVFGGIDPQS GAAVVHEIVR SFGTLKKEGW RPRRTILFAS
421 WDAEEFGLLG STEWAEENSR LLQERGVAYI NADSSIEGNY TLRVDCTPLM YSLVHNLTKE
481 LKSPDEGFEG KSLYESWTKK SPSPEFSGMP RISKLGSGND FEVFFQRLGI ASGRARYTKN
541 WETNKFSGYP LYHSVYETYE LVEKFYDPMF KYHLTVAQVR GGMVFELANS IVLPFDCRDY
601 AVVLRKYADK IYSISMKHPQ EMKTYSVSFD SLFSAVKNFT EIASKFSERL QDFDKSNPIV
661 LRMMNDQLMF LERAFIDPLG LPDRPFYRHV IYAPSSHNKY AGESFPGIYD ALFDIESKVD
721 PSKAWGEVKR QIYVAAFTVQ AAAETLSEVA
```

Homo sapiens tyrosinase (oculocutaneous albinism IA) (TYR), mRNA.;
ACCESSION NM_000372
VERSION NM_000372.1 GI:4507752

SEQ ID NO 2 /translation="MLLAVLYCLLWSFQTSAGHFPRACVSSKNLMEKE
CCPPWSGDRS
PCGQLSGRGSCQNILLSNAPLGPQFPFTGVDDRESWPSVFYNRTCQCSGNFMGFNCGN
CKFGFWGPNCTERRLLVRRNIFDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVIPIGTYGQMK
NGSTPMFNDINIYDLFVWMHYYVSMDALLGGSEIWRDIDFAHEAPAFLPWHRLFLLRW
EQEIQKLTGDENFTIPYWDWRDAEKCDICTDEYMGGQHPTNPNLLSPASFFSSWQIVC
SRLEEYNSHQSLCNGTPEGPLRRNPGNHDKSRTPRLPSSADVEFCLSLTQYESGSMDK
AANFSFRNTLEGFASPLTGIADASQSSMHNALHIYMNGTMSQVQGSANDPIFLLHHAF
VDSIFEQWLRRHRPLQEVYPEANAPIGHNRESYMVPFIPLYRNGDFFISSKDLGYDYS
YLQDSDPDSFQDYIKSYLEQASRIWSWLLGAAMVGAVLTALLAGLVSLLCRHKRKQLP
EEKQPLLMEKEDYHSLYQSHL"

SEQ ID NO 5
ORIGIN

```
       1 atcactgtag tagtagctgg aaagagaaat ctgtgactcc aattagccag ttcctgcaga
      61 ccttgtgagg actagaggaa gaatgctcct ggctgttttg tactgcctgc tgtggagttt
     121 ccagacctcc gctggccatt tccctagagc ctgtgtctcc tctaagaacc tgatggagaa
     181 ggaatgctgt ccaccgtgga gcggggacag gagtccctgt ggccagcttt caggcagagg
     241 ttcctgtcag aatatccttc tgtccaatgc accacttggg cctcaatttc ccttcacagg
     301 ggtggatgac cgggagtcgt ggccttccgt cttttataat aggacctgcc agtgctctgg
     361 caacttcatg ggattcaact gtggaaactg caagtttggc ttttggggac caaactgcac
     421 agagagacga ctcttggtga gaagaaacat cttcgatttg agtgccccag agaaggacaa
     481 atttttgcc tacctcactt tagcaaagca taccatcagc tcagactatg tcatccccat
     541 agggacctat ggccaaatga aaaatggatc aacacccatg tttaacgaca tcaatattta
     601 tgacctcttt gtctggatgc attattatgt gtcaatggat gcactgcttg ggggatctga
     661 aatctggaga gacattgatt ttgcccatga agcaccagct tttctgcctt ggcatagact
     721 cttcttgttg cggtgggaac aagaaatcca gaagctgaca ggagatgaaa acttcactat
     781 tccatattgg gactggcggg atgcagaaaa gtgtgacatt tgcacagatg agtacatggg
     841 aggtcagcac cccacaaatc ctaacttact cagcccagca tcattcttct cctcttggca
     901 gattgtctgt agccgattgg aggagtacaa cagccatcag tctttatgca atggaacgcc
     961 cgagggacct ttacggcgta atcctggaaa ccatgacaaa tccagaaccc caaggctccc
    1021 ctcttcagct gatgtagaat tttgcctgag tttgacccaa tatgaatctg gttccatgga
    1081 taaagctgcc aatttcagct ttagaaatac actggaagga tttgctagtc cacttactgg
    1141 gatagcggat gcctctcaaa gcagcatgca caatgccttg cacatctata tgaatggaac
    1201 aatgtcccag gtacagggat ctgccaacga tcctatcttc cttcttcacc atgcatttgt
    1261 tgacagtatt tttgagcagt ggctccgaag gcaccgtcct cttcaagaag tttatccaga
    1321 agccaatgca cccattggac ataaccggga atcctacatg gttccttta taccactgta
    1381 cagaaatggt gatttcttta tttcatccaa agatctgggc tatgactata gctatctaca
    1441 agattcagac ccagactctt ttcaagacta cattaagtcc tatttggaac aagcgagtcg
    1501 gatctggtca tggctccttg gggcggcgat ggtaggggcc gtcctcactg ccctgctggc
    1561 agggcttgtg agcttgctgt gtcgtcacaa gagaaagcag cttcctgaag aaaagcagcc
    1621 actcctcatg gagaaagagg attaccacag cttgtatcag agccatttat aaaaggctta
    1681 ggcaatagag tagggccaaa aagcctgacc tcactctaac tcaaagtaat gtccaggttc
    1741 ccagagaata tctgctggta tttttctgta aagaccattt gcaaaattgt aacctaatac
    1801 aaagtgtagc cttcttccaa ctcaggtaga acacacctgt ctttgtcttg ctgttttcac
    1861 tcagcccttt taacattttc ccctaagccc atatgtctaa ggaaaggatg ctatttggta
    1921 atgaggaact gttatttgta tgtgaattaa agtgctctta tttt
```

Homo sapiens synovial sarcoma, X breakpoint 2 (SSX2), mRNA.
ACCESSION NM_003147
VERSION NM_003147.1 GI:10337582
SEQ ID NO 3
/translation="MNGDDAFARRPTVGAQIPEKIQKAFDDIAKYFSKEEWEKMKASE
KIFYVYMKRKYEAMTKLGFKATLPPFMCNKRAEDFQGNDLDNDPNRGNQVERPQMTFG
RLQGISPKIMPKKPAEEGNDSEEVPEASGPQNDGKELCPPGKPTTSEKIHERSGPKRG
EHAWTHRLRERKQLVIYEEISDPEEDDE"

SEQ ID NO 6
ORIGIN
1 ctctctttcg attcttccat actcagagta cgcacggtct gattttctct ttggattctt
61 ccaaaatcag agtcagactg ctcccggtgc catgaacgga gacgacgcct ttgcaaggag
121 acccacggtt ggtgctcaaa taccagagaa gatccaaaag gccttcgatg atattgccaa
181 atacttctct aaggaagagt gggaaaagat gaaagcctcg gagaaaatct tctatgtgta
241 tatgaagaga aagtatgagg ctatgactaa actaggtttc aaggccaccc tcccaccttt
301 catgtgtaat aaacgggccg aagacttcca ggggaatgat ttggataatg accctaaccg
361 tgggaatcag gttgaacgtc ctcagatgac tttcggcagg ctccagggaa tctccccgaa
421 gatcatgccc aagaagccag cagaggaagg aaatgattcg gaggaagtgc cagaagcatc
481 tggcccacaa aatgatggga aagagctgtg ccccccggga aaaccaacta cctctgagaa
541 gattcacgag agatctggac ccaaaagggg ggaacatgcc tggacccaca gactgcgtga
601 gagaaaacag ctggtgattt atgaagagat cagcgaccct gaggaagatg acgagtaact
661 cccctcaggg atacgacaca tgcccatgat gagaagcaga acgtggtgac ctttcacgaa
721 catgggcatg gctgcggacc cctcgtcatc aggtgcatag caagtg

Homo sapiens folate hydrolase (prostate-specific membrane antigen)
1 (FOLH1), mRNA.
ACCESSION NM_004476
VERSION NM_004476.1 GI:4758397
/translation="MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIK
SSNEATNITPKHNMKAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKE
FGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEPPPPGYENVSDIVPP
FSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFRGNKVKNAQ
LAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANE
YAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVGPGFT
GNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGA
AVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGVAYI
NADSSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSG
MPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFY
DPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKT
YSVSFDSLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLP
DRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQ
AAAETLSEVA"

SEQ ID NO 7
ORIGIN
1 ctcaaaaggg gccggatttc cttctcctgg aggcagatgt tgcctctctc tctcgctcgg
61 attggttcag tgcactctag aaacactgct gtggtggaga aactggaccc caggtctgga

```
 121 gcgaattcca gcctgcaggg ctgataagcg aggcattagt gagattgaga gagactttac
 181 cccgccgtgg tggttggagg gcgcgcagta gagcagcagc acaggcgcgg gtcccgggag
 241 gccggctctg ctcgcgccga gatgtggaat ctccttcacg aaaccgactc ggctgtggcc
 301 accgcgcgcc gcccgcgctg gctgtgcgct ggggcgctgg tgctggcggg tggcttcttt
 361 ctcctcggct tcctcttcgg gtggtttata aaatcctcca atgaagctac taacattact
 421 ccaaagcata atatgaaagc atttttggat gaattgaaag ctgagaacat caagaagttc
 481 ttatataatt ttacacagat accacattta gcaggaacag aacaaaactt tcagcttgca
 541 aagcaaattc aatcccagtg gaaagaattt ggcctggatt ctgttgagct agcacattat
 601 gatgtcctgt tgtcctaccc aaataagact catcccaact acatctcaat aattaatgaa
 661 gatggaaatg agattttcaa cacatcatta tttgaaccac ctcctccagg atatgaaaat
 721 gtttcggata ttgtaccacc tttcagtgct ttctctcctc aaggaatgcc agagggcgat
 781 ctagtgtatg ttaactatgc acgaactgaa gacttcttta aattggaacg ggacatgaaa
 841 atcaattgct ctgggaaaat tgtaattgcc agatatggga aagttttcag aggaaataag
 901 gttaaaaatg cccagctggc aggggccaaa ggagtcattc tctactccga ccctgctgac
 961 tactttgctc ctggggtgaa gtcctatcca gatggttgga atcttcctgg aggtggtgtc
1021 cagcgtggaa atatcctaaa tctgaatggt gcaggagacc ctctcacacc aggttaccca
1081 gcaaatgaat atgcttatag gcgtggaatt gcagaggctg ttggtcttcc aagtattcct
1141 gttcatccaa ttggatacta tgatgcacag aagctcctag aaaaaatggg tggctcagca
1201 ccaccagata gcagctggag aggaagtctc aaagtgccct acaatgttgg acctggcttt
1261 actggaaact tttctacaca aaaagtcaag atgcacatcc actctaccaa tgaagtgaca
1321 agaatttaca atgtgatagg tactctcaga ggagcagtgg aaccagacag atatgtcatt
1381 ctgggaggtc accgggactc atgggtgttt ggtggtattg accctcagag tggagcagct
1441 gttgttcatg aaattgtgag gagctttgga acactgaaaa aggaagggtg gagacctaga
1501 agaacaattt tgtttgcaag ctgggatgca gaagaatttg gtcttcttgg ttctactgag
1561 tgggcagagg agaattcaag actccttcaa gagcgtggcg tggcttatat taatgctgac
1621 tcatctatag aaggaaacta cactctgaga gttgattgta caccgctgat gtacagcttg
1681 gtacacaacc taacaaaaga gctgaaaagc cctgatgaag gctttgaagg caaatctctt
1741 tatgaaagtt ggactaaaaa aagtccttcc ccagagttca gtggcatgcc caggataagc
1801 aaattgggat ctggaaatga ttttgaggtg ttcttccaac gacttggaat tgcttcaggc
1861 agagcacggt atactaaaaa ttgggaaaca aacaaattca gcggctatcc actgtatcac
1921 agtgtctatg aaacatatga gttggtggaa aagttttatg atccaatgtt taaatatcac
1981 ctcactgtgg cccaggttcg aggagggatg gtgtttgagc tagccaattc catagtgctc
2041 ccttttgatt gtcgagatta tgctgtagtt ttaagaaagt atgctgacaa aatctacagt
2101 atttctatga aacatccaca ggaaatgaag acatacagtg tatcatttga ttcacttttt
2161 tctgcagtaa agaattttac agaaattgct tccaagttca gtgagagact ccaggacttt
2221 gacaaaagca acccaatagt attaagaatg atgaatgatc aactcatgtt tctggaaaga
2281 gcatttattg atccattagg gttaccagac aggccttttt ataggcatgt catctatgct
2341 ccaagcagcc acaacaagta tgcaggggag tcattcccag gaatttatga tgctctgttt
2401 gatattgaaa gcaaagtgga cccttccaag gcctggggag aagtgaagag acagatttat
2461 gttgcagcct tcacagtgca ggcagctgca gagactttga gtgaagtagc ctaagaggat
2521 tctttagaga atccgtattg aatttgtgtg gtatgtcact cagaaagaat cgtaatgggt
2581 atattgataa attttaaaat tggtatattt gaaataaagt tgaatattat atataaaaaa
2641 aaaaaaaaaa aaa
```

Human melanocyte-specific (pmel 17) gene, exons 2-5, and complete cds.
ACCESSION U20093
VERSION U20093.1 GI:1142634
SEQ ID NO 70

/translation="MDLVLKRCLLHLAVIGALLAVGATKVPRNQDWLGVSRQLRTKAWN
RQLYPEWTEAQRLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPGSQKVLPDGQVIWVNNTIINGSQVWGGQPVYPQE
TDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGTHTMEVTVYHRRGSRSYVPLAHSSS
AFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQPLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRAPVVTHTYLEPGP
VTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPGTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQ
MPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIM
STESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEAC
MEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPGQEAGLGQVPLIVGILLV
LMAVVLASLIYRRRLMKQDFSVPQLPHSSSHWLRLPRIFCSCPIGENSPLLSGQQV"

SEQ ID NO 80
ORIGIN

```
       1 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttggct gtgataggtg ctttgtggct gtgggggcta
      61 caaaagtacc cagaaaccag gactggcttg gtgtctcaag gcaactcaga accaaagcct
     121 ggaacaggca gctgtatcca gagtggacag aagcccagag acttgactgc tggagaggtg
     181 gtcaagtgtc cctcaaggtc agtaatgatg ggcctacact gattggtgca aatgcctcct
     241 tctctattgc cttgaacttc cctggaagcc aaaaggtatt gccagatggg caggttatct
     301 gggtcaacaa taccatcatc aatgggagcc aggtgtgggg aggacagcca gtgtatcccc
     361 aggaaactga cgatgcctgc atcttccctg atggtggacc ttgcccatct ggctcttggt
     421 ctcagaagag aagctttgtt tatgtctgga agacctgggg tgagggactc ccttctcagc
     481 ctatcatcca cacttgtgtt tacttctttc tacctgatca cctttctttt ggccgccccc
     541 tccaccttaa cttctgtgat tttctctaat cttcattttc ctcttagatc ttttctcttt
     601 cttagcacct agccccccttc aagctctatc ataattcttt ctggcaactc ttggcctcaa
     661 ttgtagtcct accccatgga atgcctcatt aggacccctt ccctgtcccc ccatatcaca
     721 gccttccaaa caccctcaga agtaatcata cttcctgacc tcccatctcc agtgccgttt
     781 cgaagcctgt ccctcagtcc cctttgacca gtaatctctt cttccttgct tttcattcca
     841 aaaatgcttc aggccaatac tggcaagttc tagggggccc agtgtctggg ctgagcattg
     901 ggacaggcag ggcaatgctg ggcacacaca ccatggaagt gactgtctac catcgccggg
     961 gatcccggag ctatgtgcct cttgctcatt ccagctcagc cttcaccatt actggtaagg
    1021 gttcaggaag ggcaaggcca gttgtagggc aaagagaagg cagggaggct tggatggact
    1081 gcaaaggaga aaggtgaaat gctgtgcaaa cttaaagtag aagggccagg aagacctagg
    1141 cagagaaatg tgaggcttag tgccagtgaa gggccagcca gtcagcttgg agttggaggg
    1201 tgtggctgtg aaaggagaag ctgtggctca ggcctggttc tcacctttc tggctccaat
    1261 cccagaccag gtgcctttct ccgtgagcgt gtcccagttg cgggccttgg atggagggaa
    1321 caagcacttc ctgagaaatc agcctctgac ctttgccctc cagctccatg accccagtgg
    1381 ctatctggct gaagctgacc tctcctacac ctgggacttt ggagacagta gtggaaccct
    1441 gatctctcgg gcacctgtgg tcactcatac ttacctggag cctggcccag tcactgccca
    1501 ggtggtcctg caggctgcca ttcctctcac ctcctgtggc tcctccccag ttccaggcac
    1561 cacagatggg cacaggccaa ctgcagaggc ccctaacacc acagctggcc aagtgcctac
    1621 tacagaagtt gtgggtacta cacctggtca ggcgccaact gcagagccct ctggaaccac
    1681 atctgtgcag gtgccaacca ctgaagtcat aagcactgca cctgtgcaga tgccaactgc
    1741 agagagcaca ggtatgacac ctgagaaggt gccagtttca gaggtcatgg gtaccacact
    1801 ggcagagatg tcaactccag aggctacagg tatgacacct gcagaggtat caattgtggt
    1861 gctttctgga accacagctg cacaggtaac aactacagag tgggtggaga ccacagctag
    1921 agagctacct atccctgagc ctgaaggtcc agatgccagc tcaatcatgt ctacggaaag
    1981 tattacaggt tccctgggcc ccctgctgga tggtacagcc accttaaggc tggtgaagag
    2041 acaagtcccc ctggattgtg ttctgtatcg atatggttcc ttttccgtca ccctggacat
    2101 tgtccagggt attgaaagtg ccgagatcct gcaggctgtg ccgtccggtg agggggatgc
    2161 atttgagctg actgtgtcct gccaaggcgg gctgcccaag gaagcctgca tggagatctc
    2221 atcgccaggg tgccagcccc ctgcccagcg gctgtgccag cctgtgctac ccagcccagc
```

```
     2281 ctgccagctg gttctgcacc agatactgaa gggtggctcg gggacatact gcctcaatgt
     2341 gtctctggct gataccaaca gcctggcagt ggtcagcacc cagcttatca tgcctggtag
     2401 gtccttggac agagactaag tgaggaggga agtggataga ggggacagct ggcaagcagc
     2461 agacatgagt gaagcagtgc ctgggattct tctcacaggt caagaagcag gccttgggca
     2521 ggttccgctg atcgtgggca tcttgctggt gttgatggct gtggtccttg catctctgat
     2581 atataggcgc agacttatga agcaagactt ctccgtaccc cagttgccac atagcagcag
     2641 tcactggctg cgtctacccc gcatcttctg ctcttgtccc attggtgaga atagcccccc
     2701 cctcagtggg cagcaggtct gagtactctc atatgatgct gtgattttcc tggagttgac
     2761 agaaacacct atatttcccc cagtcttccc tgggagacta ctattaactg aaataaa
//
```

Homo sapiens kallikrein 3, (prostate specific antigen) (KLK3), mRNA.
ACCESSION NM_001648
VERSION NM_001648.1 GI:4502172
SEQ ID NO 78

```
                     /translation="MWVPVVFLTLSVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVAS
RGRAVCGGVLVHPQWVLTAAHCIRNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHPLYDMSLLKNRFLRPGDDSSHDLMLL
RLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTCYASGWGSIEPEEFLTPKKLQCVDLHVISNDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTG
GKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCALPERPSLYTKVVHYRKWIKDTIVANP"
```

SEQ ID NO 86
ORIGIN

```
        1 agccccaagc ttaccacctg cacccggaga gctgtgtgtc accatgtggg tcccggttgt
       61 cttcctcacc ctgtccgtga cgtggattgg tgctgcaccc ctcatcctgt ctcggattgt
      121 gggaggctgg gagtgcgaga agcattccca accctggcag gtgcttgtgg cctctcgtgg
      181 cagggcagtc tgcggcggtg ttctggtgca cccccagtgg gtcctcacag ctgcccactg
      241 catcaggaac aaaagcgtga tcttgctggg tcggcacagc ctgtttcatc ctgaagacac
      301 aggccaggta tttcaggtca gccacagctt cccacacccg ctctacgata tgagcctcct
      361 gaagaatcga ttcctcaggc caggtgatga ctccagccac gacctcatgc tgctccgcct
      421 gtcagagcct gccgagctca cggatgctgt gaaggtcatg gacctgccca cccaggagcc
      481 agcactgggg accacctgct acgcctcagg ctggggcagc attgaaccag aggagttctt
      541 gaccccaaag aaacttcagt gtgtggacct ccatgttatt tccaatgacg tgtgtgcgca
      601 agttcaccct cagaaggtga ccaagttcat gctgtgtgct ggacgctgga caggggggcaa
      661 aagcacctgc tcgggtgatt ctgggggccc acttgtctgt aatggtgtgc ttcaaggtat
      721 cacgtcatgg ggcagtgaac catgtgccct gcccgaaagg ccttccctgt acaccaaggt
      781 ggtgcattac cggaagtgga tcaaggacac catcgtggcc aacccctgag cacccctatc
      841 aacccccctat tgtagtaaac ttggaacctt ggaaatgacc aggccaagac tcaagcctcc
      901 ccagttctac tgacctttgt ccttaggtgt gaggtccagg gttgctagga aaagaaatca
      961 gcagacacag gtgtagacca gagtgtttct taaatggtgt aattttgtcc tctctgtgtc
     1021 ctggggaata ctggccatgc ctggagacat atcactcaat ttctctgagg acacagatag
     1081 gatggggtgt ctgtgttatt tgtggggtac agagatgaaa gaggggtggg atccacactg
     1141 agagagtgga gagtgacatg tgctggacac tgtccatgaa gcactgagca gaagctggag
     1201 gcacaacgca ccagacactc acagcaagga tggagctgaa aacataaccc actctgtcct
     1261 ggaggcactg ggaagcctag agaaggctgt gagccaagga gggagggtct tcctttggca
     1321 tgggatgggg atgaagtaag gagagggact ggacccccctg gaagctgatt cactatgggg
     1381 ggaggtgtat tgaagtcctc cagacaaccc tcagatttga tgatttccta gtagaactca
     1441 cagaaataaa gagctgttat actgtg
//
```

Human autoimmunogenic cancer/testis antigen NY-ESO-1 mRNA, complete cds.
ACCESSION U87459
VERSION U87459.1 GI:1890098
SEQ ID NO 74
/translation="MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGG
PGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPME
AELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPV
FLAQPPSGQRR"

SEQ ID NO 84
ORIGIN
1 atcctcgtgg gccctgacct tctctctgag agccgggcag aggctccgga gccatgcagg
61 ccgaaggccg gggcacaggg ggttcgacgg gcgatgctga tggcccagga ggccctggca
121 ttcctgatgg cccaggggggc aatgctggcg gcccaggaga ggcgggtgcc acgggcggca
181 gaggtccccg gggcgcaggg gcagcaaggg cctcggggcc gggaggaggc gccccgcggg
241 gtccgcatgg cggcgcggct tcagggctga atggatgctg cagatgcggg gccaggggggc
301 cggagagccg cctgcttgag ttctacctcg ccatgccttt cgcgacaccc atggaagcag
361 agctggcccg caggagcctg gcccaggatg ccccaccgct tcccgtgcca ggggtgcttc
421 tgaaggagtt cactgtgtcc ggcaacatac tgactatccg actgactgct gcagaccacc
481 gccaactgca gctctccatc agctcctgtc tccagcagct ttccctgttg atgtggatca
541 cgcagtgctt tctgcccgtg tttttggctc agcctccctc agggcagagg cgctaagccc
601 agcctggcgc cccttcctag gtcatgcctc ctcccctagg gaatggtccc agcacgagtg
661 gccagttcat tgtgggggcc tgattgtttg tcgctggagg aggacggctt acatgtttgt
721 ttctgtagaa aataaaactg agctacgaaa aa
//

LAGE-1a protein [Homo sapiens].
ACCESSION CAA11116
PID g3255959
VERSION CAA11116.1 GI:3255959

SEQ ID NO 75
ORIGIN
1 mqaegrgtgg stgdadgpgg pgipdgpggn aggpgeagat ggrgprgaga arasgprgga
61 prgphggaas aqdgrcpcga rrpdsrllel hitmpfsspm eaelvrrils rdaaplprpg
121 avlkdftvsg nllfirltaa dhrqlqlsis sclqqlsllm witqcflpvf laqapsgqrr
181
//

LAGE-1b protein [Homo sapiens].
ACCESSION CAA11117
PID g3255960
VERSION CAA11117.1 GI:3255960

SEQ ID NO 76
ORIGIN
1 mqaegrgtgg stgdadgpgg pgipdgpggn aggpgeagat ggrgprgaga arasgprgga
61 prgphggaas aqdgrcpcga rrpdsrllel hitmpfsspm eaelvrrils rdaaplprpg

```
     121 avlkdftvsg nllfmsvwdq dregagrmrv vgwglgsasp egqkardlrt pkhkvseqrp
     181 gtpgppppeg aqgdgcrgva fnvmfsaphi
//


Human antigen (MAGE-1) gene, complete cds.
ACCESSION   M77481
VERSION     M77481.1  GI:416114
SEQ ID NO 71
                                /translation="MSLEQRSLHCKPEEALEAQQEALGLVCVQAATS
      SSSPLVLGTLEEVPTAGSTDPPQSPQGASAFPTTINFTRQRQPSEGSSSREEEGPSTSCILESLFRAV
     ITKKVADLVGFLLLKYRAREPVTKAEMLESVIKNYKHCFPEIFGKASESLQLVFGIDVKEADPTGHSY
   VLVTCLGLSYDGLLGDNQIMPKTGFLIIVLVMIAMEGGHAPEEEIWEELSVMEVYDGREHSAYGEPRK
 LLTQDLVQEKYLEYRQVPDSDPARYEFLWGPRALAETSYVKVLEYVIKVSARVRFFFPSLREAALREE
EEGV"

SEQ ID NO 81
ORIGIN
       1 ggatccaggc cctgccagga aaaatataag ggccctgcgt gagaacagag ggggtcatcc
      61 actgcatgag agtggggatg tcacagagtc cagcccaccc tcctggtagc actgagaagc
     121 cagggctgtg cttgcggtct gcaccctgag ggcccgtgga ttcctcttcc tggagctcca
     181 ggaaccaggc agtgaggcct tggtctgaga cagtatcctc aggtcacaga gcagaggatg
     241 cacagggtgt gccagcagtg aatgtttgcc ctgaatgcac accaagggcc ccacctgcca
     301 caggacacat aggactccac agagtctggc ctcacctccc tactgtcagt cctgtagaat
     361 cgacctctgc tggccggctg taccctgagt accctctcac ttcctccttc aggttttcag
     421 gggacaggcc aacccagagg acaggattcc ctggaggcca cagaggagca ccaaggagaa
     481 gatctgtaag taggcctttg ttagagtctc caaggttcag ttctcagctg aggcctctca
     541 cacactccct ctctccccag gcctgtgggt cttcattgcc cagctcctgc ccacactcct
     601 gcctgctgcc ctgacgagag tcatcatgtc tcttgagcag aggagtctgc actgcaagcc
     661 tgaggaagcc cttgaggccc aacaagaggc cctgggcctg gtgtgtgtgc aggctgccac
     721 ctcctcctcc tctcctctgg tcctgggcac cctggaggag gtgcccactg ctgggtcaac
     781 agatcctccc cagagtcctc agggagcctc cgcctttccc actaccatca acttcactcg
     841 acagaggcaa cccagtgagg gttccagcag ccgtgaagag gaggggccaa gcacctcttg
     901 tatcctggag tccttgttcc gagcagtaat cactaagaag gtggctgatt tggttggttt
     961 tctgctcctc aaatatcgag ccagggagcc agtcacaaag gcagaaatgc tggagagtgt
    1021 catcaaaaat tacaagcact gttttcctga gatcttcggc aaagcctctg agtccttgca
    1081 gctggtcttt ggcattgacg tgaaggaagc agaccccacc ggccactcct atgtccttgt
    1141 cacctgccta ggtctctcct atgatggcct gctgggtgat aatcagatca tgcccaagac
    1201 aggcttcctg ataattgtcc tggtcatgat tgcaatggag ggcggccatg ctcctgagga
    1261 ggaaatctgg gaggagctga gtgtgatgga ggtgtatgat gggagggagc acagtgccta
    1321 tggggagccc aggaagctgc tcacccaaga tttggtgcag gaaaagtacc tggagtaccg
    1381 gcaggtgccg gacagtgatc ccgcacgcta tgagttcctg tggggtccaa gggccctcgc
    1441 tgaaaccagc tatgtgaaag tccttgagta tgtgatcaag gtcagtgcaa gagttcgctt
    1501 tttcttccca tccctgcgtg aagcagcttt gagagaggag gaagagggag tctgagcatg
    1561 agttgcagcc aaggccagtg ggagggggac tgggccagtg caccttccag ggccgcgtcc
    1621 agcagcttcc cctgcctcgt gtgacatgag gcccattctt cactctgaag agagcggtca
    1681 gtgttctcag tagtaggttt ctgttctatt gggtgacttg gagatttatc tttgttctct
    1741 tttggaattg ttcaaatgtt ttttttaag ggatggttga atgaacttca gcatccaagt
    1801 ttatgaatga cagcagtcac acagttctgt gtatatagtt taagggtaag agtcttgtgt
    1861 tttattcaga ttgggaaatc cattctattt tgtgaattgg gataataaca gcagtggaat
```

```
     1921 aagtacttag aaatgtgaaa aatgagcagt aaaatagatg agataaagaa ctaaagaaat
     1981 taagagatag tcaattcttg ccttatacct cagtctattc tgtaaaattt ttaaagatat
     2041 atgcatacct ggatttcctt ggcttctttg agaatgtaag agaaattaaa tctgaataaa
     2101 gaattcttcc tgttcactgg ctcttttctt ctccatgcac tgagcatctg ctttttggaa
     2161 ggccctgggt tagtagtgga gatgctaagg taagccagac tcatacccac ccatagggtc
     2221 gtagagtcta ggagctgcag tcacgtaatc gaggtggcaa gatgtcctct aaagatgtag
     2281 ggaaaagtga gagaggggtg agggtgtggg gctccgggtg agagtggtgg agtgtcaatg
     2341 ccctgagctg gggcattttg ggctttggga aactgcagtt ccttctgggg gagctgattg
     2401 taatgatctt gggtggatcc
//

Human MAGE-2 gene exons 1-4, complete cds.
ACCESSION   L18920
VERSION     L18920.1  GI:436180
SEQ ID NO 72
                    /translation="MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQQTASSSSTL
VEVTLGEVPAADSPSPPHSPQGASSFSTTINYTLWRQSDEGSSNQEEEGPRMFPDLE                SEF
QAAISRKMVELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLESVLRNCQDFFPVIFSKASEYLQLVFGIEVVEVVPISHLYILVTCLGLS
YDGLLGDNQVMPKTGLLIIVLAIIAIEGDCAPEEKIWEELSMLEVFEGREDSVFAHPRKLLMQDLVQENYLEYRQVPGSD
PACYEFLWGPRALIETSYVKVLHHTLKIGGEPHISYPPLHERALREGEE"

SEQ ID NO 82
ORIGIN
        1 attccttcat caaacagcca ggagtgagga agaggaccct cctgagtgag gactgaggat
       61 ccacgctcac cacatagtgg gaccacagaa tccagctcag cccctcttgt cagccctggt
      121 acacactggc aatgatctca ccccgagcac acccctcccc ccaatgccac ttcgggccga
      181 ctcagagtca gagacttggt ctgaggggag cagacacaat cggcagagga tggcggtcca
      241 ggctcagtct ggcatccaag tcaggacctt gagggatgac caaaggcccc tcccaccccc
      301 aactcccccg accccaccag gatctacagc ctcaggatcc ccgtcccaat ccctacccct
      361 acaccaacac catcttcatg cttaccccca ccccccccatc cagatcccca tccgggcaga
      421 atccggttcc accgttgccg tgaacccagg gaagtcacgg gcccggatgt gacgccactg
      481 acttgcacat tggaggtcag aggacagcga gattctcgcc ctgagcaacg gcctgacgtc
      541 ggcggaggga agcaggcgca ggctccgtga ggaggcaagg taagacgccg agggaggact
      601 gaggcgggcc tcaccccaga cagagggccc ccaataatcc agcgctgcct ctgctgccgg
      661 gcctggacca ccctgcaggg gaagacttct caggctcagt cgccaccacc tcaccccgcc
      721 acccccccgcc gctttaaccg cagggaactc tggcgtaaga gctttgtgtg accagggcag
      781 ggctggttag aagtgctcag ggcccagact cagccaggaa tcaaggtcag gaccccaaga
      841 ggggactgag ggcaacccac cccctaccct cactaccaat cccatccccc aacaccaacc
      901 ccacccccat ccctcaaaca ccaaccccac ccccaaaccc cattcccatc tcctccccca
      961 ccaccatcct ggcagaatcc ggctttgccc ctgcaatcaa cccacggaag ctccgggaat
     1021 ggcggccaag cacgcggatc ctgacgttca catgtacggc taagggaggg aaggggttgg
     1081 gtctcgtgag tatggccttt gggatgcaga ggaagggccc aggcctcctg gaagacagtg
     1141 gagtccttag gggacccagc atgccaggac agggggccca ctgtaccccct gtctcaaact
     1201 gagccacctt ttcattcagc cgagggaatc ctagggatgc agacccactt cagcaggggg
     1261 ttggggccca gcctgcgagg agtcaagggg aggaagaaga gggaggactg aggggacctt
     1321 ggagtccaga tcagtggcaa ccttgggctg ggggatcctg ggcacagtgg ccgaatgtgc
     1381 cccgtgctca ttgcaccttc agggtgacag agagttgagg gctgtggtct gagggctggg
     1441 acttcaggtc agcagaggga ggaatcccag gatctgccgg acccaaggtg tgccccccttc
     1501 atgaggactg gggatacccc cggcccagaa agaagggatg ccacagagtc tggaagtccc
     1561 ttgttcttag ctctgggggga acctgatcag ggatggccct aagtgacaat ctcatttgta
```

1621 ccacaggcag gaggttgggg aaccctcagg gagataaggt gttggtgtaa agaggagctg
1681 tctgctcatt tcagggggtt gggggttgag aaagggcagt ccctggcagg agtaaagatg
1741 agtaacccac aggaggccat cataacgttc accctagaac caaaggggtc agccctggac
1801 aacgcacgtg ggggtaacag gatgtggccc ctcctcactt gtctttccag atctcaggga
1861 gttgatgacc ttgttttcag aaggtgactc aggtcaacac aggggcccca tctggtcgac
1921 agatgcagtg gttctaggat ctgccaagca tccaggtgga gagcctgagg taggattgag
1981 ggtacccctg ggccagaatg cagcaagggg gccccataga aatctgccct gcccctgcgg
2041 ttacttcaga gaccctgggc agggctgtca gctgaagtcc ctccattatc ctgggatctt
2101 tgatgtcagg gaaggggagg ccttggtctg aaggggctgg agtcaggtca gtagagggag
2161 ggtctcaggc cctgccagga gtggacgtga ggaccaagcg gactcgtcac ccaggacacc
2221 tggactccaa tgaatttgga catctctcgt tgtccttcgc gggaggacct ggtcacgtat
2281 ggccagatgt gggtcccctc atatccttct gtaccatatc agggatgtga gttcttgaca
2341 tgagagattc tcaagccagc aaaagggtgg gattaggccc tacaaggaga aaggtgaggg
2401 ccctgagtga gcacagaggg gaccctccac ccaagtagag tggggacctc acggagtctg
2461 gccaaccctg ctgagacttc tgggaatccg tggctgtgct tgcagtctgc acactgaagg
2521 cccgtgcatt cctctcccag gaatcaggag ctccaggaac caggcagtga ggccttggtc
2581 tgagtcagtg tcctcaggtc acagagcaga ggggacgcag acagtgccaa cactgaaggt
2641 ttgcctggaa tgcacaccaa gggccccacc cgcccagaac aaatgggact ccagagggcc
2701 tggcctcacc ctccctattc tcagtcctgc agcctgagca tgtgctggcc ggctgtaccc
2761 tgaggtgccc tcccacttcc tccttcaggt tctgaggggg acaggctgac aagtaggacc
2821 cgaggcactg gaggagcatt gaaggagaag atctgtaagt aagcctttgt cagagcctcc
2881 aaggttcagt tcagttctca cctaaggcct cacacacgct ccttctctcc ccaggcctgt
2941 gggtcttcat tgcccagctc ctgcccgcac tcctgcctgc tgccctgacc agagtcatca
3001 tgcctcttga gcagaggagt cagcactgca agcctgaaga aggccttgag gcccgaggag
3061 aggccctggg cctggtgggt gcgcaggctc ctgctactga ggagcagcag accgcttctt
3121 cctcttctac tctagtggaa gttaccctgg gggaggtgcc tgctgccgac tcaccgagtc
3181 ctccccacag tcctcaggga gcctccagct tctcgactac catcaactac actctttgga
3241 gacaatccga tgagggctcc agcaaccaag aagaggaggg gccaagaatg tttcccgacc
3301 tggagtccga gttccaagca gcaatcagta ggaagatggt tgagttggtt cattttctgc
3361 tcctcaagta tcgagccagg gagccggtca caaaggcaga aatgctggag agtgtcctca
3421 gaaattgcca ggacttcttt cccgtgatct tcagcaaagc ctccgagtac ttgcagctgg
3481 tctttggcat cgaggtggtg gaagtggtcc ccatcagcca cttgtacatc cttgtcacct
3541 gcctgggcct ctcctacgat ggcctgctgg gcgacaatca ggtcatgccc aagacaggcc
3601 tcctgataat cgtcctggcc ataatcgcaa tagagggcga ctgtgcccct gaggagaaaa
3661 tctgggagga gctgagtatg ttggaggtgt ttgaggggag ggaggacagt gtcttcgcac
3721 atcccaggaa gctgctcatg caagatctgg tgcaggaaaa ctacctggag taccggcagg
3781 tgcccggcag tgatcctgca tgctacgagt tcctgtgggg tccaagggcc ctcattgaaa
3841 ccagctatgt gaaagtcctg caccatacac taaagatcgg tggagaacct cacatttcct
3901 acccacccct gcatgaacgg gctttgagag agggagaaga gtgagtctca gcacatgttg
3961 cagccagggc cagtgggagg gggtctgggc cagtgcacct tccagggccc catccattag
4021 cttccactgc ctcgtgtgat atgaggccca ttcctgcctc tttgaagaga gcagtcagca
4081 ttcttagcag tgagtttctg ttctgttgga tgactttgag atttatcttt ctttcctgtt
4141 ggaattgttc aaatgttcct tttaacaaat ggttggatga acttcagcat ccaagtttat
4201 gaatgacagt agtcacacat agtgctgttt atatagttta ggggtaagag tcctgttttt
4261 tattcagatt gggaaatcca ttccattttg tgagttgtca cataataaca gcagtggaat
4321 atgtatttgc ctatattgtg aacgaattag cagtaaaata catgatacaa ggaactcaaa
4381 agatagttaa ttcttgcctt atacctcagt ctattatgta aaattaaaaa tatgtgtatg
4441 tttttgcttc tttgagaatg caaaagaaat taaatctgaa taaattcttc ctgttcactg
4501 gctcatttct ttaccattca ctcagcatct gctctgtgga aggccctggt agtagtggg

//

Human MAGE-3 antigen (MAGE-3) gene, complete cds.
ACCESSION U03735
VERSION U03735.1 GI:468825
SEQ ID NO 73
/translation="MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTL
VEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYR
AREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLYIFATCLGLSYDGLLGDNQIMPKAGLLIIV
LAIIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVK
VLHHMVKISGGPHISYPPLHEWVLREGEE"

SEQ ID NO 83
ORIGIN

```
        1 acgcaggcag tgatgtcacc cagaccacac cccttccccc aatgccactt caggggggtac
       61 tcagagtcag agacttggtc tgaggggagc agaagcaatc tgcagaggat ggcggtccag
      121 gctcagccag gcatcaactt caggaccctg agggatgacc gaaggccccg cccacccacc
      181 cccaactccc ccgaccccac caggatctac agcctcagga cccccgtccc aatccttacc
      241 ccttgcccca tcaccatctt catgcttacc tccaccccca tccgatcccc atccaggcag
      301 aatccagttc cacccctgcc cggaacccag ggtagtaccg ttgccaggat gtgacgccac
      361 tgacttgcgc attggaggtc agaagaccgc gagattctcg ccctgagcaa cgagcgacgg
      421 cctgacgtcg gcggagggaa gccggcccag gctcggtgag gaggcaaggt aagacgctga
      481 gggaggactg aggcgggcct cacctcagac agagggcctc aaataatcca gtgctgcctc
      541 tgctgccggg cctgggccac cccgcagggg aagacttcca ggctgggtcg ccactacctc
      601 accccgccga cccccgccgc tttagccacg gggaactctg gggacagagc ttaatgtggc
      661 cagggcaggg ctggttagaa gaggtcaggg cccacgctgt ggcaggaatc aaggtcagga
      721 ccccgagagg gaactgaggg cagcctaacc accaccctca ccaccattcc cgtcccccaa
      781 cacccaaccc cacccccatc ccccattccc atccccaccc ccacccctat cctggcagaa
      841 tccgggcttt gcccctggta tcaagtcacg gaagctccgg gaatggcggc caggcacgtg
      901 agtcctgagg ttcacatcta cggctaaggg agggaagggg ttcggtatcg cgagtatggc
      961 cgttgggagg cagcgaaagg gcccaggcct cctggaagac agtggagtcc tgaggggacc
     1021 cagcatgcca ggacaggggg cccactgtac ccctgtctca aaccgaggca ccttttcatt
     1081 cggctacggg aatcctaggg atgcagaccc acttcagcag ggggttgggg cccagccctg
     1141 cgaggagtca tggggaggaa gaagagggag gactgagggg accttggagt ccagatcagt
     1201 ggcaaccttg ggctgggggа tgctgggcac agtggccaaa tgtgctctgt gctcattgcg
     1261 ccttcagggt gaccagagag ttgagggctg tggtctgaag agtgggactt caggtcagca
     1321 gagggaggaa tcccaggatc tgcagggccc aaggtgtacc cccaaggggc ccctatgtgg
     1381 tggacagatg cagtggtcct aggatctgcc aagcatccag gtgaagagac tgagggagga
     1441 ttgagggtac ccctgggaca gaatgcggac tgggggcccc ataaaaatct gccctgctcc
     1501 tgctgttacc tcagagagcc tgggcagggc tgtcagctga ggtccctcca ttatcctagg
     1561 atcactgatg tcagggaagg ggaagccttg gtctgagggg gctgcactca gggcagtaga
     1621 gggaggctct cagaccctac taggagtgga ggtgaggacc aagcagtctc ctcacccagg
     1681 gtacatggac ttcaataaat ttggacatct ctcgttgtcc tttccgggag gacctgggaa
     1741 tgtatggcca gatgtgggtc ccctcatgtt tttctgtacc atatcaggta tgtgagttct
     1801 tgacatgaga gattctcagg ccagcagaag ggagggatta ggccctataa ggagaaaggt
     1861 gagggccctg agtgagcaca gaggggatcc tccaccccag tagagtgggg acctcacaga
     1921 gtctggccaa ccctcctgac agttctggga atccgtggct gcgtttgctg tctgcacatt
     1981 gggggcccgt ggattcctct cccaggaatc aggagctcca ggaacaaggc agtgaggact
     2041 tggtctgagg cagtgtcctc aggtcacaga gtagaggggg ctcagatagt gccaacggtg
     2101 aaggtttgcc ttggattcaa accaagggcc ccacctgccc cagaacacat ggactccaga
```

2161 gcgcctggcc tcaccctcaa tactttcagt cctgcagcct cagcatgcgc tggccggatg
2221 taccctgagg tgccctctca cttcctcctt caggttctga ggggacaggc tgacctggag
2281 gaccagaggc ccccggagga gcactgaagg agaagatctg taagtaagcc tttgttagag
2341 cctccaaggt tccattcagt actcagctga ggtctctcac atgctccctc tctccccagg
2401 ccagtgggtc tccattgccc agctcctgcc cacactcccg cctgttgccc tgaccagagt
2461 catcatgcct cttgagcaga ggagtcagca ctgcaagcct gaagaaggcc ttgaggcccg
2521 aggagaggcc ctgggcctgg tgggtgcgca ggctcctgct actgaggagc aggaggctgc
2581 ctcctcctct tctactctag ttgaagtcac cctgggggag gtgcctgctg ccgagtcacc
2641 agatcctccc cagagtcctc agggagcctc cagcctcccc actaccatga actaccctct
2701 ctggagccaa tcctatgagg actccagcaa ccaagaagag gaggggccaa gcaccttccc
2761 tgacctggag tccgagttcc aagcagcact cagtaggaag gtggccgagt tggttcattt
2821 tctgctcctc aagtatcgag ccagggagcc ggtcacaaag gcagaaatgc tggggagtgt
2881 cgtcggaaat tggcagtatt tctttcctgt gatcttcagc aaagcttcca gttccttgca
2941 gctggtcttt ggcatcgagc tgatggaagt ggaccccatc ggccacttgt acatctttgc
3001 cacctgcctg ggcctctcct acgatggcct gctgggtgac aatcagatca tgcccaaggc
3061 aggcctcctg ataatcgtcc tggccataat cgcaagagag ggcgactgtg cccctgagga
3121 gaaaatctgg gaggagctga gtgtgttaga ggtgtttgag gggagggaag acagtatctt
3181 gggggatccc aagaagctgc tcacccaaca tttcgtgcag gaaaactacc tggagtaccg
3241 gcaggtcccc ggcagtgatc ctgcatgtta tgaattcctg tggggtccaa gggccctcgt
3301 tgaaaccagc tatgtgaaag tcctgcacca tatggtaaag atcagtggag gacctcacat
3361 ttcctaccca cccctgcatg agtgggtttt gagagagggg gaagagtgag tctgagcacg
3421 agttgcagcc agggccagtg ggagggggtc tgggccagtg caccttccgg ggccgcatcc
3481 cttagtttcc actgcctcct gtgacgtgag gcccattctt cactctttga agcgagcagt
3541 cagcattctt agtagtgggt ttctgttctg ttggatgact ttgagattat tctttgtttc
3601 ctgttggagt tgttcaaatg ttccttttaa cggatggttg aatgagcgtc agcatccagg
3661 tttatgaatg acagtagtca cacatagtgc tgtttatata gtttaggagt aagagtcttg
3721 ttttttactc aaattgggaa atccattcca ttttgtgaat tgtgacataa taatagcagt
3781 ggtaaaagta tttgcttaaa attgtgagcg aattagcaat aacatacatg agataactca
3841 agaaatcaaa agatagttga ttcttgcctt gtacctcaat ctattctgta aaattaaaca
3901 aatatgcaaa ccaggatttc cttgacttct ttgagaatgc aagcgaaatt aaatctgaat
3961 aaataattct tcctcttcac tggctcgttt cttttccgtt cactcagcat ctgctctgtg
4021 ggaggccctg ggttagtagt ggggatgcta aggtaagcca gactcacgcc tacccatagg
4081 gctgtagagc ctaggacctg cagtcatata attaaggtgg tgagaagtcc tgtaagatgt
4141 agaggaaatg taagagaggg gtgagggtgt ggcgctccgg gtgagagtag tggagtgtca
4201 gtgc
//

Homo sapiens prostate stem cell antigen (PSCA) mRNA, complete cds.
ACCESSION AF043498
VERSION AF043498.1 GI:2909843
SEQ ID NO 79
/translation="MKAVLLALLMAGLALQPGTALLCYSCKAQVSNEDCLQVENCTQLG
EQCWTARIRAVGLLTVISKGCSLNCVDDSQDYYVGKKNITCCDTDLCNASGAHALQPAAAILALLPALGLLLWGPGQL"

SEQ ID NO 87
ORIGIN
1 agggagaggc agtgaccatg aaggctgtgc tgcttgccct gttgatggca ggcttggccc
61 tgcagccagg cactgccctg ctgtgctact cctgcaaagc ccaggtgagc aacgaggact
121 gcctgcaggt ggagaactgc acccagctgg gggagcagtg ctggaccgcg cgcatccgcg
181 cagttggcct cctgaccgtc atcagcaaag gctgcagctt gaactgcgtg gatgactcac

```
      241 aggactacta cgtgggcaag aagaacatca cgtgctgtga caccgacttg tgcaacgcca
      301 gcggggccca tgccctgcag ccggctgccg ccatccttgc gctgctccct gcactcggcc
      361 tgctgctctg gggacccggc cagctatagg ctctgggggg ccccgctgca gcccacactg
      421 ggtgtggtgc cccaggcctt tgtgccactc ctcacagaac ctggcccagt gggagcctgt
      481 cctggttcct gaggcacatc ctaacgcaag tttgaccatg tatgtttgca ccccttttcc
      541 ccnaaccctg accttcccat gggccttttc caggattccn accnggcaga tcagttttag
      601 tganacanat ccgcntgcag atggcccctc caaccntttn tgttgntgtt tccatggccc
      661 agcattttcc acccttaacc ctgtgttcag gcacttnttc ccccaggaag ccttccctgc
      721 ccaccccatt tatgaattga gccaggtttg gtccgtggtg tcccccgcac ccagcagggg
      781 acaggcaatc aggagggccc agtaaaggct gagatgaagt ggactgagta gaactggagg
      841 acaagagttg acgtgagttc ctgggagttt ccagagatgg ggcctggagg cctggaggaa
      901 ggggccaggc ctcacatttg tggggntccc gaatggcagc ctgagcacag cgtaggccct
      961 taataaacac ctgttggata agccaaaaaa
//


GLANDULAR KALLIKREIN 1 PRECURSOR (TISSUE KALLIKREIN)
           (KIDNEY/PANCREAS/SALIVARY GLAND KALLIKREIN).
ACCESSION   P06870
PID         g125170
VERSION     P06870  GI:125170

SEQ ID NO 600
ORIGIN
        1 mwflvlclal slggtgaapp iqsrivggwe ceqhsqpwqa alyhfstfqc ggilvhrqwv
       61 ltaahcisdn yqlwlgrhnl fddentaqfv hvsesfphpg fnmsllenht rqadedyshd
      121 lmllrltepa dtitdavkvv elptqepevg stclasgwgs iepenfsfpd dlqcvdlkil
      181 pndecekahv qkvtdfmlcv ghleggkdtc vgdsggplmc dgvlqgvtsw gyvpcgtpnk
      241 psvavrvlsy vkwiedtiae ns
//


ELASTASE 2A PRECURSOR.
ACCESSION   P08217
PID         g119255
VERSION     P08217  GI:119255

SEQ ID NO 601
ORIGIN
        1 mirtlllstl vagalscgdp typpyvtrvv ggeearpnsw pwqvslqyss ngkwyhtcgg
       61 slianswvlt aahcisssrt yrvglgrhnl yvaesgslav svskivvhkd wnsnqiskgn
      121 diallklanp vsltdkiqla clppagtilp nnypcyvtgw grlqtngavp dvlqqgrllv
      181 vdyatcsssa wwgssvktsm icaggdgvis scngdsggpl ncqasdgrwq vhgivsfgsr
      241 lgcnyyhkps vftrvsnyid winsviann
//

pancreatic elastase IIB [Homo sapiens].
ACCESSION   NP_056933
PID         g7705648
VERSION     NP_056933.1  GI:7705648
```

SEQ ID NO 602
ORIGIN

```
       1 mirtlllstl vagalscgvs tyapdmsrml ggeearpnsw pwqvslqyss ngqwyhtcgg
      61 slianswvlt aahcisssri yrvmlgqhnl yvaesgslav svskivvhkd wnsnqvskgn
     121 diallklanp vsltdkiqla clppagtilp nnypcyvtgw grlqtngalp ddlkqgrllv
     181 vdyatcsssg wwgstvktnm icaggdgvic tcngdsggpl ncqasdgrwe vhgigsltsv
     241 lgcnyyykps iftrvsnynd winsviann
```

//

PRAME Homo sapiens preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME), mRNA.
ACCESSION NM_006115
VERSION NM_006115.1 GI:5174640
SEQ ID NO 77

/translation="MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLLKDEALAIAAL
ELLPRELFPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMKGQHLHLETFKAVLDGLDVLLAQEVRPRRWKLQVLDLR
KNSHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVDGLSTEAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKKNV
LRLCCKKLKIFAMPMQDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFSPYLGQMINLRRLLLSHIHASSYISPEKEEQYI
AQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLRGRLDQLLRHVMNPLETLSITNCRLSEGDVMHLSQSPSVSQLSVLSLSGVMLTDVS
PEPLQALLERASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSLLQHLIGLSNLTHVLYPVPL
ESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYDPEPILCPCFMPN"

SEQ ID NO 85
ORIGIN

```
       1 gcttcagggt acagctcccc cgcagccaga agccgggcct gcagcccctc agcaccgctc
      61 cgggacaccc cacccgcttc ccaggcgtga cctgtcaaca gcaacttcgc ggtgtggtga
     121 actctctgag gaaaaaccat tttgattatt actctcagac gtgcgtggca acaagtgact
     181 gagacctaga aatccaagcg ttggaggtcc tgaggccagc ctaagtcgct tcaaaatgga
     241 acgaaggcgt ttgtggggtt ccattcagag ccgatacatc agcatgagtg tgtggacaag
     301 cccacggaga cttgtggagc tggcagggca gagcctgctg aaggatgagg ccctggccat
     361 tgccgccctg gagttgctgc ccagggagct cttcccgcca ctcttcatgg cagcctttga
     421 cgggagacac agccagaccc tgaaggcaat ggtgcaggcc tggcccttca cctgcctccc
     481 tctgggagtg ctgatgaagg gacaacatct tcacctggag accttcaaag ctgtgcttga
     541 tggacttgat gtgctccttg cccaggaggt tcgccccagg aggtggaaac ttcaagtgct
     601 ggatttacgg aagaactctc atcaggactt ctggactgta tggtctggaa acagggccag
     661 tctgtactca tttccagagc cagaagcagc tcagcccatg acaaagaagc gaaaagtaga
     721 tggtttgagc acagaggcag agcagccctt cattccagta gaggtgctcg tagacctgtt
     781 cctcaaggaa ggtgcctgtg atgaattgtt ctcctacctc attgagaaag tgaagcgaaa
     841 gaaaaatgta ctacgcctgt gctgtaagaa gctgaagatt tttgcaatgc ccatgcagga
     901 tatcaagatg atcctgaaaa tggtgcagct ggactctatt gaagatttgg aagtgacttg
     961 tacctggaag ctacccacct tggcgaaatt ttctccttac ctgggccaga tgattaatct
    1021 gcgtagactc ctcctctccc acatccatgc atcttcctac atttccccgg agaaggaaga
    1081 gcagtatatc gcccagttca cctctcagtt cctcagtctg cagtgcctgc aggctctcta
    1141 tgtggactct ttatttttcc ttagaggccg cctggatcag ttgctcaggc acgtgatgaa
    1201 ccccttggaa accctctcaa taactaactg ccggctttcg gaaggggatg tgatgcatct
    1261 gtcccagagt cccagcgtca gtcagctaag tgtcctgagt ctaagtgggg tcatgctgac
    1321 cgatgtaagt cccgagcccc tccaagctct gctggagaga gcctctgcca ccctccagga
    1381 cctggtcttt gatgagtgtg ggatcacgga tgatcagctc cttgccctcc tgccttccct
    1441 gagccactgc tcccagctta caaccttaag cttctacggg aattccatct ccatatctgc
```

1501 cttgcagagt ctcctgcagc acctcatcgg gctgagcaat ctgacccacg tgctgtatcc
1561 tgtccccctg gagagttatg aggacatcca tggtaccctc cacctggaga ggcttgccta
1621 tctgcatgcc aggctcaggg agttgctgtg tgagttgggg cggcccagca tggtctggct
1681 tagtgccaac ccctgtcctc actgtgggga cagaaccttc tatgacccgg agcccatcct
1741 gtgcccctgt ttcatgccta actagctggg tgcacatatc aaatgcttca ttctgcatac
1801 ttggacacta aagccaggat gtgcatgcat cttgaagcaa caaagcagcc acagtttcag
1861 acaaatgttc agtgtgagtg aggaaaacat gttcagtgag gaaaaaacat tcagacaaat
1921 gttcagtgag gaaaaaaagg ggaagttggg gataggcaga tgttgacttg aggagttaat
1981 gtgatctttg gggagataca tcttatagag ttagaaatag aatctgaatt tctaaaggga
2041 gattctggct tgggaagtac atgtaggagt taatccctgt gtagactgtt gtaaagaaac
2101 tgttgaaaat aaagagaagc aatgtgaagc aaaaaaaaaa aaaaaaaa

ED-B domain of Fibronectin
Human fibronectin gene ED-B region.
ACCESSION X07717
VERSION X07717.1 GI:31406
SEQ ID NO 590
/translation="CTFDNLSPGLEYNVSVYTVKDDKESVPISDTIIPEVPQLTDLSF
VDITDSSIGLRWTPLNSSTIIGYRITVVAAGEGIPIFEDFVDSSVGYYTVTGLEPGID
YDISVITLINGGESAPTTLTQQTAVPPPTDLRFTNIGPDTMRVTW"

SEQ ID NO 591
ORIGIN
1 ctgcactttt gataacctga gtcccggcct ggagtacaat gtcagtgttt acactgtcaa
61 ggatgacaag gaaagtgtcc ctatctctga taccatcatc ccaggtaata gaaaataagc
121 tgctatcctg agagtgacat tccaataaga gtggggatta gcatcttaat ccccagatgc
181 ttaagggtgt caactatatt tgggatttaa ttccgatctc ccagctgcac tttccaaaac
241 caagaagtca aagcagcgat ttggacaaaa tgcttgctgt taacactgct ttactgtctg
301 tgcttcactg ggatgctgtg tgttgcagcg agtatgtaat ggagtggcag ccatggcttt
361 aactctgtat tgtctgctca catggaagta tgactaaaac actgtcacgt gtctgtactc
421 agtactgata ggctcaaagt aatatggtaa atgcatccca tcagtacatt tctgcccgat
481 tttacaatcc atatcaattt ccaacagctg cctatttcat cttgcagttt caaatccttc
541 tttttgaaaa ttggatttta aaaaaaagtt aagtaaaagt cacaccttca gggttgttct
601 ttcttgtggc cttgaaagac aacattgcaa aggcctgtcc taaggatagg cttgtttgtc
661 cattgggtta taacataatg aaagcattgg acagatcgtg tccccctttg gactcttcag
721 tagaatgctt ttactaacgc taattacatg ttttgattat gaatgaacct aaaatagtgg
781 caatggcctt aacctaggcc tgtctttcct cagcctgaat gtgcttttga atggcacatt
841 tcacaccata cattcataat gcattagcgt tatggccatg atgttgtcat gagttttgta
901 tgggagaaaa aaaatcaatt tatcacccat ttattatttt ttccggttgt tcatgcaagc
961 ttatttttcta ctaaaacagt tttggaatta ttaaaagcat tgctgatact tacttcagat
1021 attatgtcta ggctctaaga atggtttcga catcctaaac agccatatga tttttaggaa
1081 tctgaacagt tcaaattgta ccctttaagg atgttttcaa aatgtaaaaa atatatatat
1141 atatatatat tccctaaaag aatattcctg tttattcttc tagggaagca aactgttcat
1201 gatgcttagg aagtcttttc agagaattta aaacagattg catattacca tcattgcttt
1261 aacattccac caattttact actagtaacc tgatatacac tgctttattt tttcctcttt
1321 ttttccctct attttccttt tgcctccccc tccctttgct ttgtaactca atagaggtgc
1381 cccaactcac tgacctaagc tttgttgata taaccgattc aagcatcggc ctgaggtgga
1441 ccccgctaaa ctcttccacc attattgggt accgcatcac agtagttgcg gcaggagaag
1501 gtatccctat ttttgaagat tttgtggact cctcagtagg atactacaca gtcacagggc

```
     1561 tggagccggg cattgactat gatatcagcg ttatcactct cattaatggc ggcgagagtg
     1621 cccctactac actgacacaa caaacgggtg aattttgaaa acttctgcgt ttgagacata
     1681 gatggtgttg catgctgcca ccagttactc cggttaaata tggatgtttc atgggggaag
     1741 tcagcaattg gccaaagatt cagataggtg gaattggggg gataaggaat caaatgcatc
     1801 tgctaaactg attggagaaa aacacatgca atatcttcag tacactctca tttaaaccac
     1861 aagtagatat aaagcctaga gaaatacaga tgtctgctct gttaaatata aaatagcaaa
     1921 tgttcattca atttgaagac ctagaatttt tcttcttaaa taccaaacac gaataccaaa
     1981 ttgcgtaagt accaattgat aagaatatat caccaaaatg taccatcatg ctcttccttc
     2041 taccctttga taaactctac catgctcctt ctttgtagct aaaaacccat caaaatttag
     2101 ggtagagtgg atgggcattg ttttgaggta ggagaaaagt aaacttggga ccattctagg
     2161 ttttgttgct gtcactaggt aaagaaacac ctctttaacc acagtctggg gacaagcatg
     2221 caacatttta aaggttctct gctgtgcatg ggaaaagaaa catgctgaga accaatttgc
     2281 atgaacatgt tcacttgtaa gtagaattca ctgaatggaa ctgtagctct agatatctca
     2341 catgggggga agtttaggac cctcttgtct ttttgtctgt gtgcatgtat ttctttgtaa
     2401 agtactgcta tgtttctctt tgctgtgtgg caacttaagc ctcttcggcc tgggataaaa
     2461 taatctgcag tggtattaat aatgtacata aagtcaacat atttgaaagt agattaaaat
     2521 ctttttaaa tatatcaatg atggcaaaaa ggttaaaggg ggcctaacag tactgtgtgt
     2581 agtgttttat ttttaacagt agtacactat aacttaaaat agacttagat tagactgttt
     2641 gcatgattat gattctgttt cctttatgca tgaaatattg attttacctt tccagctact
     2701 tcgttagctt taattttaaa atacattaac tgagtcttcc ttcttgttcg aaaccagctg
     2761 ttcctcctcc cactgacctg cgattcacca acattggtcc agacaccatg cgtgtcacct
     2821 ggg
//
```

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

ACCESSION NM_004363

VERSION NM_004363.1 GI:11386170

SEQ ID NO 592

/translation="MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFN
VAEGKEVLLLVHNLPQHLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIY
PNASLLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDK
DAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQ
NPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWFVNGT
FQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNSNP
VEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLLSVTRNDVGPYE
CGIQNELSVDHSDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYYRPGVNLSLSCHAASNPPAQYSWL
IDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTITVSAELPKPSISSN
NSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDA
RAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPIISPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSPQ
YSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPG
LSAGATVGIMIGVLVGVALI"

SEQ ID NO 593

ORIGIN

```
        1 ctcagggcag agggaggaag gacagcagac cagacagtca cagcagcctt gacaaaacgt
       61 tcctggaact caagctcttc tccacagagg aggacagagc agacagcaga gaccatggag
      121 tctccctcgg cccctcccca cagatggtgc atcccctggc agaggctcct gctcacagcc
      181 tcacttctaa ccttctggaa cccgcccacc actgccaagc tcactattga atccacgccg
      241 ttcaatgtcg cagaggggaa ggaggtgctt ctacttgtcc acaatctgcc ccagcatctt
```

```
 301 tttggctaca gctggtacaa aggtgaaaga gtggatggca accgtcaaat tataggatat
 361 gtaataggaa ctcaacaagc taccccaggg cccgcataca gtggtcgaga gataatatac
 421 cccaatgcat ccctgctgat ccagaacatc atccagaatg acacaggatt ctacacccta
 481 cacgtcataa agtcagatct tgtgaatgaa gaagcaactg gccagttccg ggtatacccg
 541 gagctgccca agccctccat ctccagcaac aactccaaac ccgtggagga caaggatgct
 601 gtggccttca cctgtgaacc tgagactcag gacgcaacct acctgtggtg ggtaaacaat
 661 cagagcctcc cggtcagtcc caggctgcag ctgtccaatg gcaacaggac cctcactcta
 721 ttcaatgtca caagaaatga cacagcaagc tacaaatgtg aaacccagaa cccagtgagt
 781 gccaggcgca gtgattcagt catcctgaat gtcctctatg gcccggatgc ccccaccatt
 841 tcccctctaa acacatctta cagatcaggg gaaaatctga acctctcctg ccacgcagcc
 901 tctaacccac ctgcacagta ctcttggttt gtcaatggga ctttccagca atccacccaa
 961 gagctcttta tccccaacat cactgtgaat aatagtggat cctatacgtg ccaagcccat
1021 aactcagaca ctggcctcaa taggaccaca gtcacgacga tcacagtcta tgcagagcca
1081 cccaaaccct tcatcaccag caacaactcc aaccccgtgg aggatgagga tgctgtagcc
1141 ttaacctgtg aacctgagat tcagaacaca acctacctgt ggtgggtaaa taatcagagc
1201 ctcccggtca gtcccaggct gcagctgtcc aatgacaaca ggaccctcac tctactcagt
1261 gtcacaagga atgatgtagg accctatgag tgtggaatcc agaacgaatt aagtgttgac
1321 cacagcgacc cagtcatcct gaatgtcctc tatggcccag acgaccccac catttccccc
1381 tcatacacct attaccgtcc aggggtgaac ctcagcctct cctgccatgc agcctctaac
1441 ccacctgcac agtattcttg gctgattgat gggaacatcc agcaacacac acaagagctc
1501 tttatctcca acatcactga gaagaacagc ggactctata cctgccaggc caataactca
1561 gccagtggcc acagcaggac tacagtcaag acaatcacag tctctgcgga gctgcccaag
1621 ccctccatct ccagcaacaa ctccaaaccc gtggaggaca aggatgctgt ggccttcacc
1681 tgtgaacctg aggctcagaa cacaacctac ctgtggtggg taaatggtca gagcctccca
1741 gtcagtccca ggctgcagct gtccaatggc aacaggaccc tcactctatt caatgtcaca
1801 agaaatgacg caagagccta tgtatgtgga atccagaact cagtgagtgc aaaccgcagt
1861 gacccagtca ccctggatgt cctctatggg ccggacaccc ccatcatttc ccccccagac
1921 tcgtcttacc tttcgggagc gaacctcaac ctctcctgcc actcggcctc taacccatcc
1981 ccgcagtatt cttggcgtat caatgggata ccgcagcaac acacacaagt tctctttatc
2041 gccaaaatca cgccaaataa taacgggacc tatgcctgtt ttgtctctaa cttggctact
2101 ggccgcaata attccatagt caagagcatc acagtctctg catctggaac ttctcctggt
2161 ctctcagctg gggccactgt cggcatcatg attggagtgc tggttggggt tgctctgata
2221 tagcagccct ggtgtagttt cttcatttca ggaagactga cagttgtttt gcttcttcct
2281 taaagcattt gcaacagcta cagtctaaaa ttgcttcttt accaaggata tttacagaaa
2341 agactctgac cagagatcga gaccatccta gccaacatcg tgaaacccca tctctactaa
2401 aaatacaaaa atgagctggg cttggtggcg cgcacctgta gtcccagtta ctcgggaggc
2461 tgaggcagga gaatcgcttg aacccgggag gtggagattg cagtgagccc agatcgcacc
2521 actgcactcc agtctggcaa cagagcaaga ctccatctca aaaagaaaag aaaagaagac
2581 tctgacctgt actcttgaat acaagtttct gataccactg cactgtctga gaatttccaa
2641 aactttaatg aactaactga cagcttcatg aaactgtcca ccaagatcaa gcagagaaaa
2701 taattaattt catgggacta aatgaactaa tgaggattgc tgattcttta aatgtcttgt
2761 ttcccagatt tcaggaaact ttttttcttt taagctatcc actcttacag caatttgata
2821 aaatatactt ttgtgaacaa aaattgagac atttacattt tctccctatg tggtcgctcc
2881 agacttggga aactattcat gaatatttat attgtatggt aatatagtta ttgcacaagt
2941 tcaataaaaa tctgctcttt gtataacaga aaaa
//

Her2/Neu Human tyrosine kinase-type receptor (HER2) mRNA, complete cds.
ACCESSION   M11730
VERSION     M11730.1  GI:183986
```

SEQ ID NO 594

/translation="MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLD
MLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIV
RGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQ
LCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRT
VCAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNT
DTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKC
SKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPL
QPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGI
SWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEG
LACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPE
QPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQ
PCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIVSAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQQKI
RKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWI
PDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANKEILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVT
QLMPYGCLLDHVRENRGRLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSP
NHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWE
LMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFREL
VSEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGF
FCPDPAPGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDG
DLGMGAAKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQPEYVNQPDVR
PQPPSPREGPLPAARPAGATLERAKTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTPQGGAA
PQPHPPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV"

SEQ ID NO 595

ORIGIN Chromosome 17q21-q22.

```
       1 aattctcgag ctcgtcgacc ggtcgacgag ctcgagggtc gacgagctcg agggcgcgcg
      61 cccggccccc acccctcgca gcaccccgcg ccccgcgccc tcccagccgg gtccagccgg
     121 agccatgggg ccggagccgc agtgagcacc atggagctgg cggccttgtg ccgctggggg
     181 ctcctcctcg ccctcttgcc ccccggagcc gcgagcaccc aagtgtgcac cggcacagac
     241 atgaagctgc ggctccctgc cagtcccgag acccacctgg acatgctccg ccacctctac
     301 cagggctgcc aggtggtgca gggaaacctg gaactcacct acctgcccac caatgccagc
     361 ctgtccttcc tgcaggatat ccaggaggtg cagggctacg tgctcatcgc tcacaaccaa
     421 gtgaggcagg tcccactgca gaggctgcgg attgtgcgag gcacccagct ctttgaggac
     481 aactatgccc tggccgtgct agacaatgga gacccgctga acaataccac ccctgtcaca
     541 ggggcctccc caggaggcct gcgggagctg cagcttcgaa gcctcacaga gatcttgaaa
     601 ggaggggtct tgatccagcg gaacccccag ctctgctacc aggacacgat tttgtggaag
     661 gacatcttcc acaagaacaa ccagctggct ctcacactga tagacaccaa ccgctctcgg
     721 gcctgccacc cctgttctcc gatgtgtaag ggctcccgct gctggggaga gagttctgag
     781 gattgtcaga gcctgacgcg cactgtctgt gccggtggct gtgcccgctg caaggggcca
     841 ctgcccactg actgctgcca tgagcagtgt gctgccggct gcacgggccc caagcactct
     901 gactgcctgg cctgcctcca cttcaaccac agtggcatct gtgagctgca ctgcccagcc
     961 ctggtcacct acaacacaga cacgtttgag tccatgccca atcccgaggg ccggtataca
    1021 ttcggcgcca gctgtgtgac tgcctgtccc tacaactacc tttctacgga cgtgggatcc
    1081 tgcaccctcg tctgcccccc gcacaaccaa gaggtgacag cagaggatgg aacacagcgg
    1141 tgtgagaagt gcagcaagcc ctgtgcccga gtgtgctatg gtctgggcat ggagcacttg
    1201 cgagaggtga gggcagttac cagtgccaat atccaggagt ttgctggctg caagaagatc
    1261 tttgggagcc tggcatttct gccggagagc tttgatgggg acccagcctc caacactgcc
    1321 ccgctccagc cagagcagct ccaagtgttt gagactctgg aagagatcac aggttaccta
    1381 tacatctcag catggccgga cagcctgcct gacctcagcg tcttccagaa cctgcaagta
```

1441 atccggggac gaattctgca caatggcgcc tactcgctga ccctgcaagg gctgggcatc
1501 agctggctgg ggctgcgctc actgagggaa ctgggcagtg gactggccct catccaccat
1561 aacacccacc tctgcttcgt gcacacggtg ccctgggacc agctctttcg gaacccgcac
1621 caagctctgc tccacactgc caaccggcca gaggacgagt gtgtgggcga gggcctggcc
1681 tgccaccagc tgtgcgcccg agggcactgc tggggtccag ggcccaccca gtgtgtcaac
1741 tgcagccagt tccttcgggg ccaggagtgc gtggaggaat gccgagtact gcaggggctc
1801 cccagggagt atgtgaatgc caggcactgt ttgccgtgcc accctgagtg tcagccccag
1861 aatggctcag tgacctgttt tggaccggag gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat
1921 aaggaccctc ccttctgcgt ggcccgctgc cccagcggtg tgaaacctga cctctcctac
1981 atgcccatct ggaagtttcc agatgaggag ggcgcatgcc agccttgccc catcaactgc
2041 acccactcct gtgtggacct ggatgacaag ggctgccccg ccgagcagag agccagccct
2101 ctgacgtcca tcgtctctgc ggtggttggc attctgctgg tcgtggtctt gggggtggtc
2161 tttgggatcc tcatcaagcg acggcagcag aagatccgga agtacacgat gcggagactg
2221 ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgctg acacctagcg gagcgatgcc caaccaggcg
2281 cagatgcgga tcctgaaaga gacggagctg aggaaggtga aggtgcttgg atctggcgct
2341 tttggcacag tctacaaggg catctggatc cctgatgggg agaatgtgaa aattccagtg
2401 gccatcaaag tgttgaggga aaacacatcc cccaaagcca acaaagaaat cttagacgaa
2461 gcatacgtga tggctggtgt gggctcccca tatgtctccc gccttctggg catctgcctg
2521 acatccacgg tgcagctggt gacacagctt atgccctatg gctgcctctt agaccatgtc
2581 cgggaaaacc gcggacgcct gggctcccag gacctgctga actggtgtat gcagattgcc
2641 aaggggatga gctacctgga ggatgtgcgg ctcgtacaca gggacttggc cgctcggaac
2701 gtgctggtca agagtcccaa ccatgtcaaa attacagact tcgggctggc tcggctgctg
2761 gacattgacg agacagagta ccatgcagat gggggcaagg tgcccatcaa gtggatggcg
2821 ctggagtcca ttctccgccg gcggttcacc caccagagtg atgtgtggag ttatggtgtg
2881 actgtgtggg agctgatgac ttttggggcc aaaccttacg atgggatccc agcccgggag
2941 atccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg ctgccccagc cccccatctg caccattgat
3001 gtctacatga tcatggtcaa atgttggatg attgactctg aatgtcggcc aagattccgg
3061 gagttggtgt ctgaattctc ccgcatggcc agggaccccc agcgctttgt ggtcatccag
3121 aatgaggact tgggcccagc cagtcccttg gacagcacct tctaccgctc actgctggag
3181 gacgatgaca tgggggacct ggtggatgct gaggagtatc tggtacccca gcagggcttc
3241 ttctgtccag accctgcccc gggcgctggg ggcatggtcc accacaggca ccgcagctca
3301 tctaccagga gtggcggtgg ggacctgaca ctagggctgg agccctctga agaggaggcc
3361 cccaggtctc cactggcacc ctccgaaggg gctggctccg atgtatttga tggtgacctg
3421 ggaatggggg cagccaaggg gctgcaaagc ctccccacac atgaccccag ccctctacag
3481 cggtacagtg aggaccccac agtacccctg ccctctgaga ctgatggcta cgttgccccc
3541 ctgacctgca gcccccagcc tgaatatgtg aaccagccag atgttcggcc ccagcccccc
3601 tcgccccgag agggccctct gcctgctgcc cgacctgctg gtgccactct ggaaagggcc
3661 aagactctct ccccagggaa gaatggggtc gtcaaagacg tttttgcctt tgggggtgcc
3721 gtggagaacc ccgagtactt gacaccccag ggaggagctg cccctcagcc ccaccctcct
3781 cctgccttca gcccagcctt cgacaacctc tattactggg accaggaccc accagagcgg
3841 ggggctccac ccagcacctt caaagggaca cctacggcag agaacccaga gtacctgggt
3901 ctggacgtgc cagtgtgaac cagaaggcca agtccgcaga agccctgatg tgtcctcagg
3961 gagcagggaa ggcctgactt ctgctggcat caagaggtgg gagggccctc cgaccacttc
4021 caggggaacc tgccatgcca ggaacctgtc ctaaggaacc ttccttcctg cttgagttcc
4081 cagatggctg gaaggggtcc agcctcgttg gaagaggaac agcactgggg agtctttgtg
4141 gattctgagg ccctgcccaa tgagactcta gggtccagtg gatgccacag cccagcttgg
4201 ccctttcctt ccagatcctg ggtactgaaa gccttaggga agctggcctg agaggggaag
4261 cggccctaag ggagtgtcta agaacaaaag cgacccattc agagactgtc cctgaaacct
4321 agtactgccc cccatgagga aggaacagca atggtgtcag tatccaggct ttgtacagag
4381 tgcttttctg tttagttttt actttttttg ttttgttttt ttaaagacga aataaagacc

```
     4441 caggggagaa tgggtgttgt atggggaggc aagtgtgggg ggtccttctc cacacccact
     4501 ttgtccattt gcaaatatat tttggaaaac
//


H.sapiens mRNA for SCP1 protein.
ACCESSION   X95654
VERSION     X95654.1  GI:1212982
SEQ ID NO 596
                     /translation="MEKQKPFALFVPPRSSSSQVSAVKPQTLGGDSTFFKSFNKCTED
DLEFPFAKTNLSKNGENIDSDPALQKVNFLPVLEQVGNSDCHYQEGLKDSDLENSEGL
SRVFSKLYKEAEKIKKWKVSTEAELRQKESKLQENRKIIEAQRKAIQELQFGNEKVSL
KLEEGIQENKDLIKENNATRHLCNLLKETCARSAEKTKKYEYEREETRQVYMDLNNNI
EKMITAHGELRVQAENSRLEMHFKLKEDYEKIQHLEQEYKKEINDKEKQVSLLLIQIT
EKENKMKDLTFLLEESRDKVNQLEEKTKLQSENLKQSIEKQHHLTKELEDIKVSLQRS
VSTQKALEEDLQIATKTICQLTEEKETQMEESNKARAAHSFVVTEFETTVCSLEELLR
TEQQRLEKNEDQLKILTMELQKKSSELEEMTKLTNNKEVELEELKKVLGEKETLLYEN
KQFEKIAEELKGTEQELIGLLQAREKEVHDLEIQLTAITTSEQYYSKEVKDLKTELEN
EKLKNTELTSHCNKLSLENKELTQETSDMTLELKNQQEDINNNKKQEERMLKQIENLQ
ETETQLRNELEYVREELKQKRDEVKCKLDKSEENCNNLRKQVENKNKYIEELQQENKA
LKKKGTAESKQLNVYEIKVNKLELELESAKQKFGEITDTYQKEIEDKKISEENLLEEV
EKAKVIADEAVKLQKEIDKRCQHKIAEMVALMEKHKHQYDKIIEERDSELGLYKSKEQ
EQSSLRASLEIELSNLKAELLSVKKQLEIEREEKEKLKREAKENTATLKEKKDKKTQT
FLLETPEIYWKLDSKAVPSQTVSRNFTSVDHGISKDKRDYLWTSAKNTLSTPLPKAYT
VKTPTKPKLQQRENLNIPIEESKKKRKMAFEFDINSDSSETTDLLSMVSEEETLKTLY
RNNNPPASHLCVKTPKKAPSSLTTPGPTLKFGAIRKMREDRWAVIAKMDRKKKLKEAE
 KLFV"

SEQ ID NO 597
ORIGIN
       1 gccctcatag accgtttgtt gtagttcgcg tgggaacagc aacccacggt ttcccgatag
      61 ttcttcaaag atatttacaa ccgtaacaga gaaaatggaa aagcaaaagc cctttgcatt
     121 gttcgtacca ccgagatcaa gcagcagtca ggtgtctgcg gtgaaacctc agaccctggg
     181 aggcgattcc actttcttca agagtttcaa caaatgtact gaagatgatt tggagtttcc
     241 atttgcaaag actaatctct ccaaaaatgg ggaaaacatt gattcagatc ctgctttaca
     301 aaaagttaat ttcttgcccg tgcttgagca ggttggtaat tctgactgtc actatcagga
     361 aggactaaaa gactctgatt tggagaattc agagggattg agcagagtgt tttcaaaact
     421 gtataaggag gctgaaaaga taaaaaaatg gaaagtaagt acagaagctg aactgagaca
     481 gaaagaaagt aagttgcaag aaaacagaaa gataattgaa gcacagcgaa aagccattca
     541 ggaactgcaa tttggaaatg aaaaagtaag tttgaaatta gaagaaggaa tacaagaaaa
     601 taaagattta ataaaagaga ataatgccac aaggcattta tgtaatctac tcaaagaaac
     661 ctgtgctaga tctgcagaaa agacaaagaa atatgaatat gaacgggaag aaaccaggca
     721 agtttatatg gatctaaata ataacattga gaaaatgata acagctcatg gggaacttcg
     781 tgtgcaagct gagaattcca gactggaaat gcattttaag ttaaaggaag attatgaaaa
     841 aatccaacac cttgaacaag aatacaagaa ggaaataaat gacaaggaaa agcaggtatc
     901 actactattg atccaaatca ctgagaaaga aaataaaatg aaagatttaa catttctgct
     961 agaggaatcc agagataaag ttaatcaatt agaggaaaag acaaaattac agagtgaaaa
    1021 cttaaaacaa tcaattgaga aacagcatca tttgactaaa gaactagaag atattaaagt
    1081 gtcattacaa agaagtgtga gtactcaaaa ggctttagag gaagatttac agatagcaac
    1141 aaaaacaatt tgtcagctaa ctgaagaaaa agaaactcaa atggaagaat ctaataaagc
```

1201 tagagctgct cattcgtttg tggttactga atttgaaact actgtctgca gcttggaaga
1261 attattgaga acagaacagc aaagattgga aaaaaatgaa gatcaattga aaatacttac
1321 catggagctt caaaagaaat caagtgagct ggaagagatg actaagctta caaataacaa
1381 agaagtagaa cttgaagaat tgaaaaaagt cttgggagaa aaggaaacac ttttatatga
1441 aaataaacaa tttgagaaga ttgctgaaga attaaaagga acagaacaag aactaattgg
1501 tcttctccaa gccagagaga aagaagtaca tgatttggaa atacagttaa ctgccattac
1561 cacaagtgaa cagtattatt caaaagaggt taaagatcta aaaactgagc ttgaaaacga
1621 gaagcttaag aatactgaat taacttcaca ctgcaacaag ctttcactag aaaacaaaga
1681 gctcacacag gaaacaagtg atatgaccct agaactcaag aatcagcaag aagatattaa
1741 taataacaaa aagcaagaag aaaggatgtt gaaacaaata gaaaatcttc aagaaacaga
1801 aacccaatta agaaatgaac tagaatatgt gagagaagag ctaaaacaga aaagagatga
1861 agttaaatgt aaattggaca agagtgaaga aaattgtaac aatttaagga aacaagttga
1921 aaataaaaac aagtatattg aagaacttca gcaggagaat aaggccttga aaaaaaaagg
1981 tacagcagaa agcaagcaac tgaatgttta tgagataaag gtcaataaat tagagttaga
2041 actagaaagt gccaaacaga aatttggaga aatcacagac acctatcaga aagaaattga
2101 ggacaaaaag atatcagaag aaaatctttt ggaagaggtt gagaaagcaa aagtaatagc
2161 tgatgaagca gtaaaattac agaaagaaat tgataagcga tgtcaacata aaatagctga
2221 aatggtagca cttatggaaa aacataagca ccaatatgat aagatcattg aagaaagaga
2281 ctcagaatta ggactttata agagcaaaga acaagaacag tcatcactga gagcatcttt
2341 ggagattgaa ctatccaatc tcaaagctga acttttgtct gttaagaagc aacttgaaat
2401 agaaagagaa gagaaggaaa aactcaaaag agaggcaaaa gaaaacacag ctactcttaa
2461 agaaaaaaaa gacaagaaaa cacaaacatt tttattggaa acacctgaaa tttattggaa
2521 attggattct aaagcagttc cttcacaaac tgtatctcga aatttcacat cagttgatca
2581 tggcatatcc aaagataaaa gagactatct gtggacatct gccaaaaata ctttatctac
2641 accattgcca aaggcatata cagtgaagac accaacaaaa ccaaaactac agcaaagaga
2701 aaacttgaat atacccattg aagaaagtaa aaaaaagaga aaaatggcct ttgaatttga
2761 tattaattca gatagttcag aaactactga tcttttgagc atggtttcag aagaagagac
2821 attgaaaaca ctgtatagga acaataatcc accagcttct catctttgtg tcaaaacacc
2881 aaaaaaggcc ccttcatctc taacaacccc tggacctaca ctgaagtttg gagctataag
2941 aaaaatgcgg gaggaccgtt gggctgtaat tgctaaaatg gatagaaaaa aaaaactaaa
3001 agaagctgaa aagttatttg tttaatttca gagaatcagt gtagttaagg agcctaataa
3061 cgtgaaactt atagttaata ttttgttctt atttgccaga gccacatttt atctggaagt
3121 tgagacttaa aaaatacttg catgaatgat ttgtgtttct ttatatttt agcctaaatg
3181 ttaactacat attgtctgga aacctgtcat tgtattcaga taattagatg attatatatt
3241 gttgttactt tttcttgtat tcatgaaaac tgtttttact aagttttcaa atttgtaaag
3301 ttagcctttg aatgctagga atgcattatt gagggtcatt ctttattctt tactattaaa
3361 atattttgga tgcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa
//

Homo sapiens synovial sarcoma, X breakpoint 4 (SSX4), mRNA.
ACCESSION NM_005636
VERSION NM_005636.1 GI:5032122
SEQ ID NO 598
/translation="MNGDDAFARRPRDDAQISEKLRKAFDDIAKYFSKKEWEKMKSSEK
IVY
VYMKLNYEVMTKLGFKVTLPPFMRSKRAADFHGNDFGNDRNHRNQVERPQMTFG
SLQRIFPKIMPKKPAEEENGLKEVPEASGPQNDGKQLCPPGNPSTLEKINKTSGPKRG
KHAWTHRLRERKQLVVYEEISDPEEDDE"

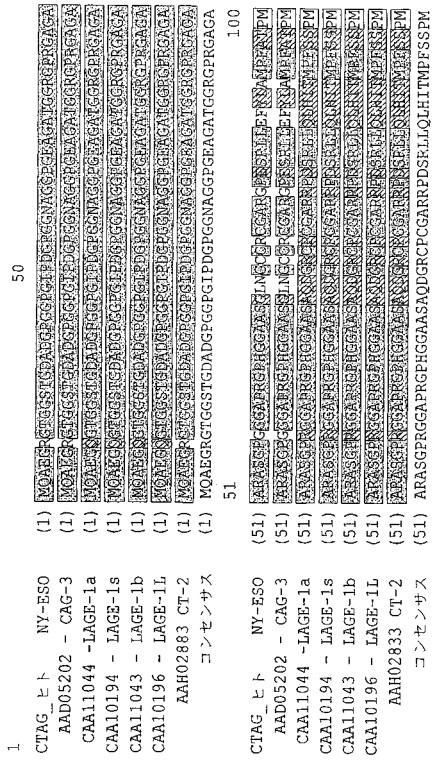
SEQ ID NO 599
ORIGIN

```
       1 atgaacggag acgacgcctt tgcaaggaga cccagggatg atgctcaaat atcagagaag
      61 ttacgaaagg ccttcgatga tattgccaaa tacttctcta agaaagagtg ggaaaagatg
     121 aaatcctcgg agaaaatcgt ctatgtgtat atgaagctaa actatgaggt catgactaaa
     181 ctaggtttca aggtcaccct cccacctttc atgcgtagta aacgggctgc agacttccac
     241 gggaatgatt ttggtaacga tcgaaaccac aggaatcagg ttgaacgtcc tcagatgact
     301 ttcggcagcc tccagagaat cttcccgaag atcatgccca agaagccagc agaggaagaa
     361 aatggtttga aggaagtgcc agaggcatct ggcccacaaa atgatgggaa acagctgtgc
     421 cccccgggaa atccaagtac cttggagaag attaacaaga catctggacc caaaaggggg
     481 aaacatgcct ggacccacag actgcgtgag agaaagcagc tggtggttta tgaagagatc
     541 agcgaccctg aggaagatga cgagtaactc ccctcg
```

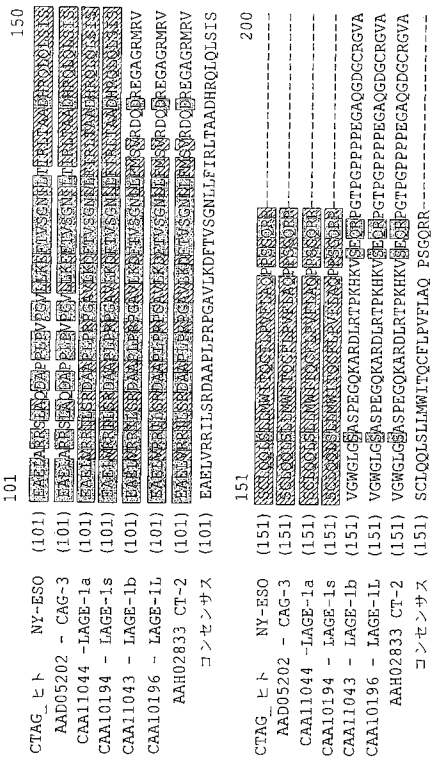
【０２９８】
明細書中に記載した特許および刊行物はすべて、本発明が関連する技術分野の当業者のレベルを示している。
【０２９９】
本明細書中で適切に例示的に記載する本発明は、具体的に本明細書中に開示されない任意の要素（単数または複数）、限定物（単数または複数）の非存在下で実施され得る。使用した用語および表現は、説明の用語として使用されるものであり限定の用語として使用されるものではなく、かかる用語および表現の使用において、示して記載した形態の等価物、またはその一部の排除を示す意図はない。様々な変更が、特許請求した本発明の範囲内で可能であることが理解されよう。したがって、本発明を好ましい実施形態および任意の特徴により具体的に開示してきたが、開示した本明細書中の概念の変更および変形が当業者によりなされてもよく、かかる変更および変形は、添付の特許請求の範囲により規定するような本発明の範囲内であるとみなされることが理解されるべきである。
【図面の簡単な説明】
【０３００】
【図１Ａ】ＮＹ－ＥＳＯ－１および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。
【図１Ｂ】ＮＹ－ＥＳＯ－１および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。
【図１Ｃ】ＮＹ－ＥＳＯ－１および幾つかの類似タンパク質配列の配列アラインメントである。
【図２】核酸コードエピトープを送達するのに有用なプラスミドワクチン骨格を図で表す。
【図３Ａ】チロシナーゼ$_{208}$～$_{216}$に関するＨＬＡ－Ａ２結合アッセイの結果を示すＦＡＣＳプロフィールである。
【図３Ｂ】チロシナーゼ$_{207}$～$_{215}$に関するＨＬＡ－Ａ２結合アッセイの結果を示すＦＡＣＳプロフィールである。
【図３Ｃ】ｉｎ　ｖｉｔｒｏ免疫により誘発されるヒトＣＴＬによるチロシナーゼエピトープに対する細胞傷害活性を示す図である。
【図４】ＳＳＸ$_{31}$～$_{68}$のプロテアソーム切断により産生される断片のＴ＝１２０分の時点のマススペクトルである。
【図５】対照とともにＨＬＡ－Ａ２：ＳＳＸ－２$_{41}$～$_{49}$に関する結合曲線を示す図である。
【図６】ＳＳＸ－２$_{41}$～$_{49}$免疫ＨＬＡ－Ａ２トランスジェニックマウス由来のＣＴＬによるＳＳＸ－２$_{41}$～$_{49}$パルス標識標的の特異的溶解を示す図である。
【図７Ａ】ＰＳＭＡ$_{163}$～$_{192}$プロテアソーム消化物のＴ＝６０分の時点のアリコートのＮ末端プールシーケンシングの結果を示す図である。

【図７Ｂ】ＰＳＭＡ$_{163}$～$_{192}$プロテアソーム消化物のＴ＝６０分の時点のアリコートのＮ末端プールシーケンシングの結果を示す図である。
【図７Ｃ】ＰＳＭＡ$_{163}$～$_{192}$プロテアソーム消化物のＴ＝６０分の時点のアリコートのＮ末端プールシーケンシングの結果を示す図である。
【図８】対照とともにＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{168}$～$_{177}$、およびＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{288}$～$_{297}$に関する結合曲線を示す。
【図９】ＰＳＭＡ$_{281}$～$_{310}$プロテアソーム消化物のＴ＝６０分の時点のアリコートのＮ末端プールシーケンシングの結果を示す図である。
【図１０】対照とともにＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{461}$～$_{469}$、ＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{460}$～$_{469}$、およびＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{663}$～$_{671}$に関する結合曲線を示す図である。
【図１１】ＰＳＭＡ$_{463}$～$_{471}$反応性ＨＬＡ－Ａ１$^{+}$ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞を検出するγ－ＩＦＮベースのＥＬＩＳＰＯＴアッセイの結果を示す図である。
【図１２】抗ＨＬＡ－Ａ１　ｍＡｂによる図１０で使用されるＴ細胞の反応性の阻止を示し、ＨＬＡ－Ａ１制限認識を示す図である。
【図１３】対照とのＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{663}$～$_{671}$に関する結合曲線を示す図である。
【図１４】対照とのＨＬＡ－Ａ２：ＰＳＭＡ$_{662}$～$_{671}$に関する結合曲線を示す図である。
【図１５】種々の注射経路により様々な用量のＤＮＡで免疫した後の抗ペプチドＣＴＬ応答の比較の図である。
【図１６】ｇｐ３３エピトープ発現プラスミド、または対照プラスミドのリンパ節内注入により免疫したマウスにおける移植ｇｐ３３発現腫瘍の成長の図である。
【図１７】それぞれリンパ節内または筋内注射後の様々な時間での注入または排出リンパ節におけるリアルタイムＰＣＲにより検出されるプラスミドＤＮＡ量の図である。

【図１Ａ】



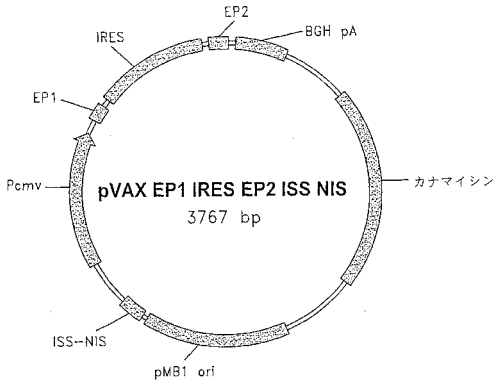
【図１Ｂ】



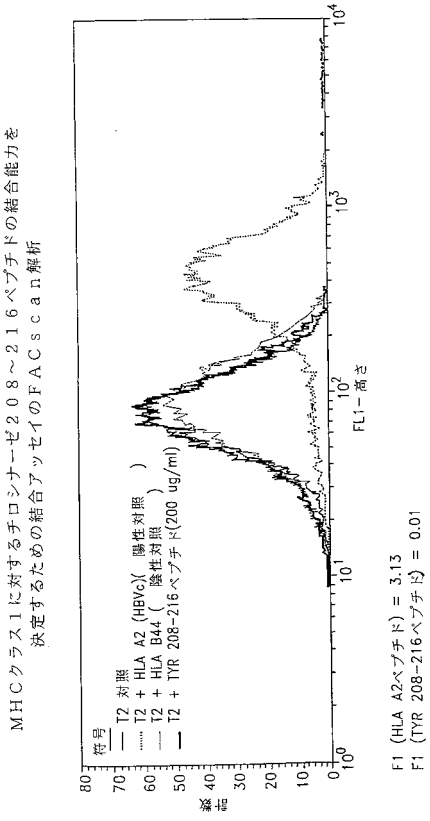
【図１Ｃ】

```
                                  201
CTAG_ヒト    NY-ESO   (181) ----------
  AAD05202 - CAG-3   (181) ----------
 CAA11044 -LAGE-1a   (181) ----------
CAA10194 - LAGE-1s   (181) ----------
CAA11043 - LAGE-1b   (201) FNVMFSAPHI
CAA10196 - LAGE-1L   (201) FNVMFSAPHI
     AAH02833 CT-2   (201) FNVMFSAPHI
         コンセンサス  (201)
```

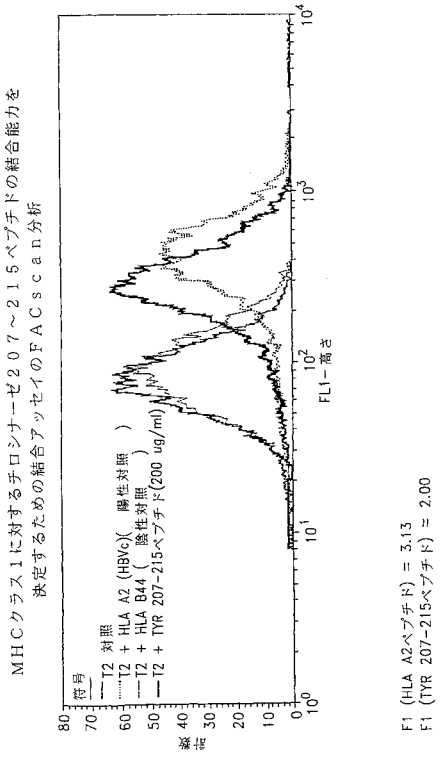
【図２】



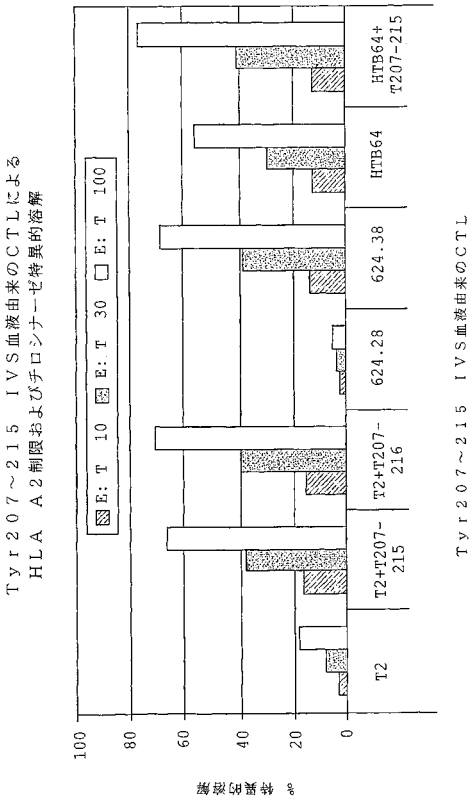
【図３Ａ】



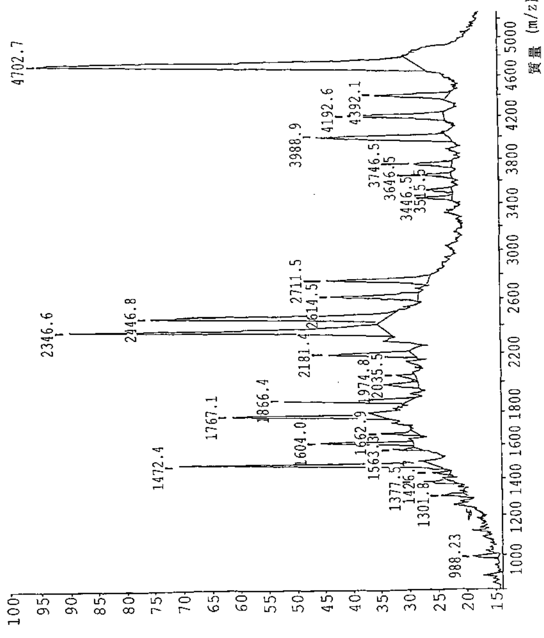
【図３Ｂ】



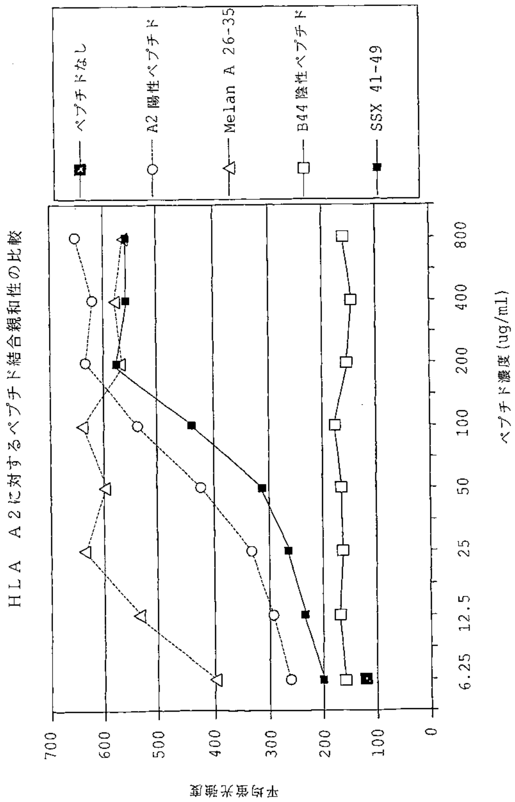
【図３Ｃ】



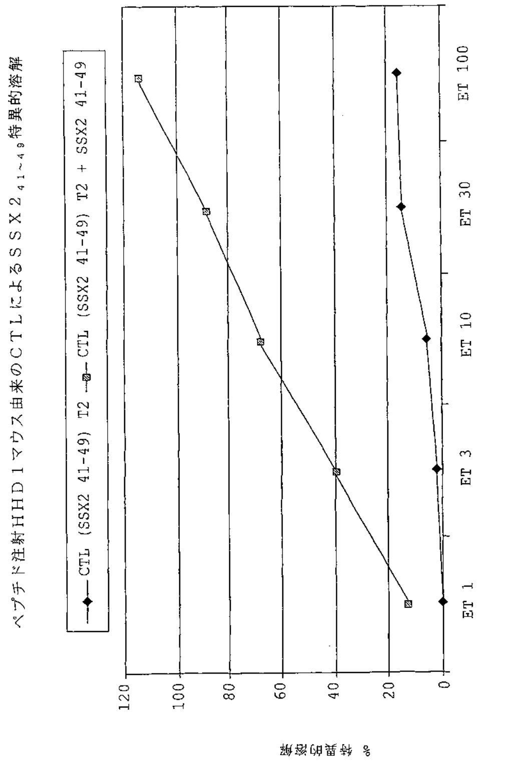
【図４】


質量 (m/z)

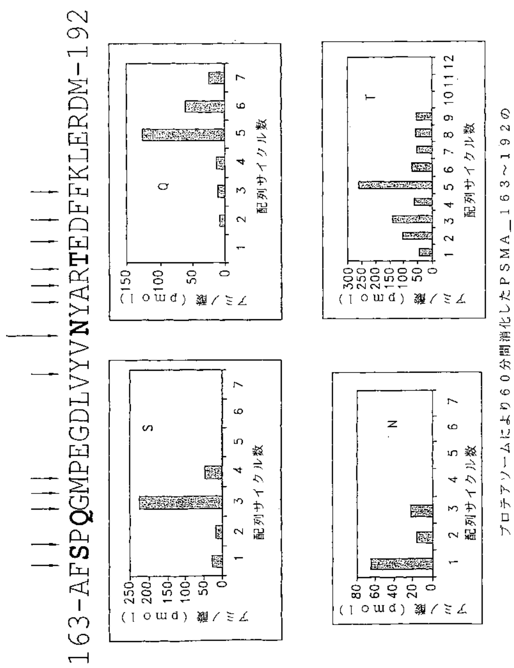
【図５】


HLA A2に対するペプチド結合親和性の比較
ペプチドなし
A2陽性ペプチド
Melan A 26-35
B44陰性ペプチド
SSX 41-49
ペプチド濃度(ug/ml)
平均蛍光強度

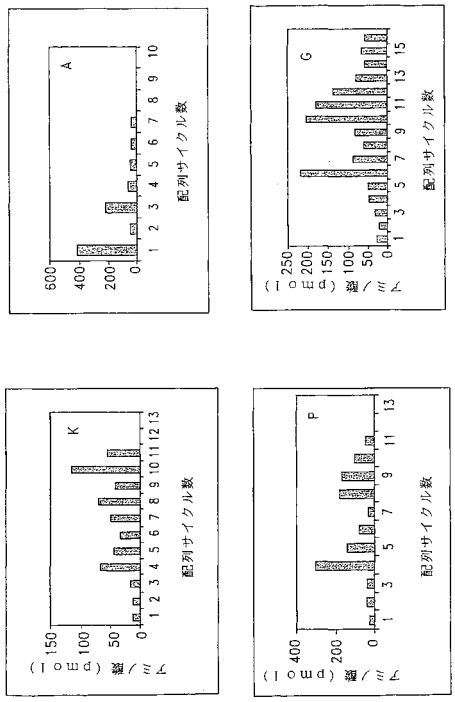
【図６】


ペプチド注射HHD1マウス由来のCTLによるSSX2 41~49特異的溶解
CTL (SSX2 41-49) T2
CTL (SSX2 41-49) T2 + SSX2 41-49
% 特異的溶解

【図７Ａ】

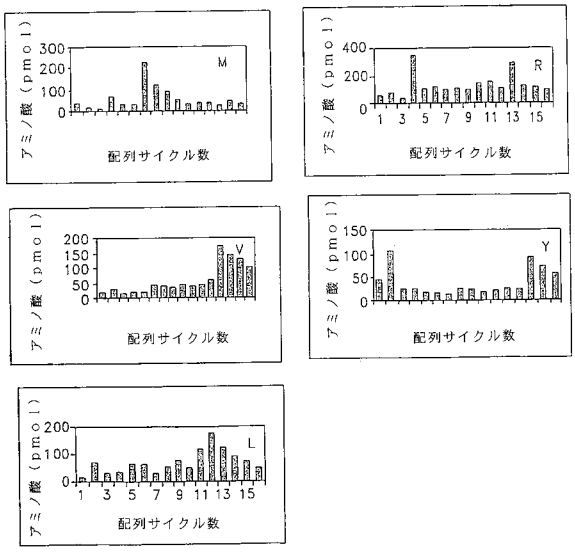

163-AFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDM-192
配列サイクル数
プロテアソームにより60分間消化したPSMA_163~192のプールシーケンシング

【図７Ｂ】



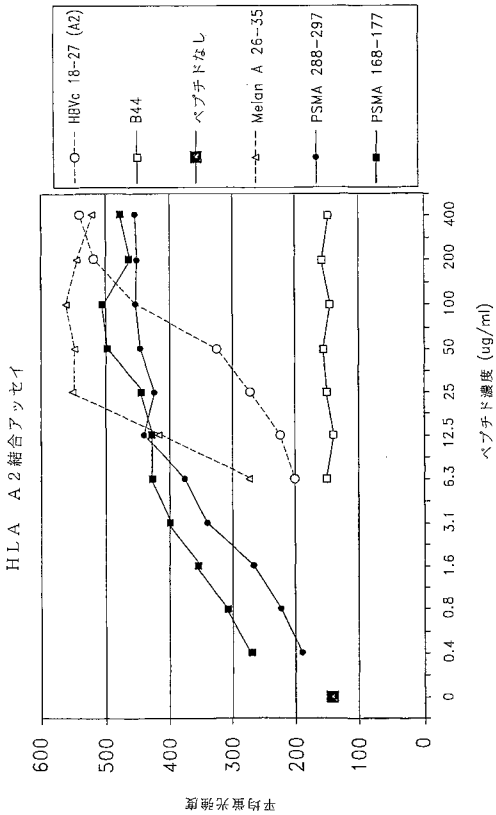
プロテアソームにより６０分間消化したＰＳＭＡ＿１６３～１９２のプールシーケンシング

【図７Ｃ】

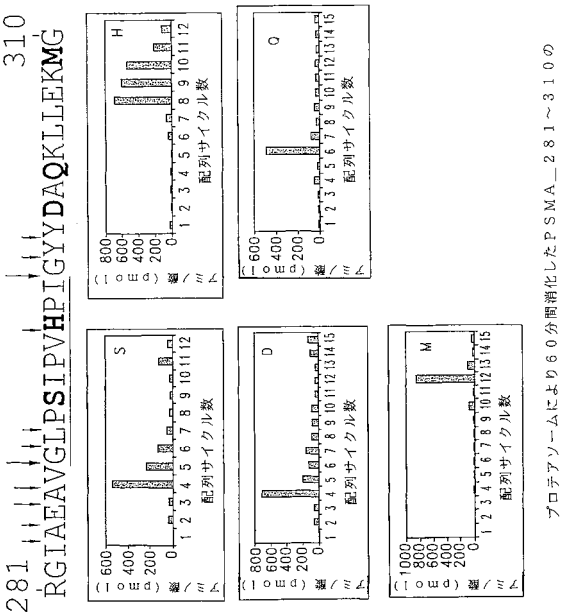


プロテアソームにより６０分間消化したＰＳＭＡ＿１６３～１９２のプールシーケンシング

【図８】

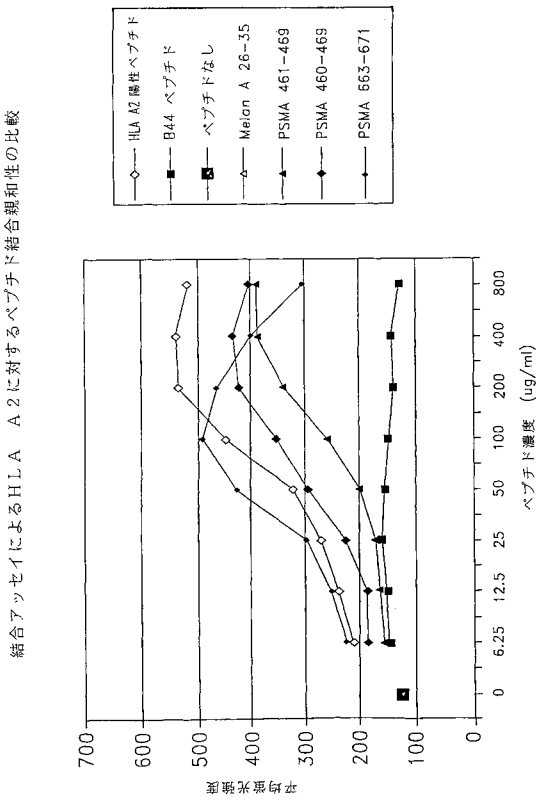


【図９】

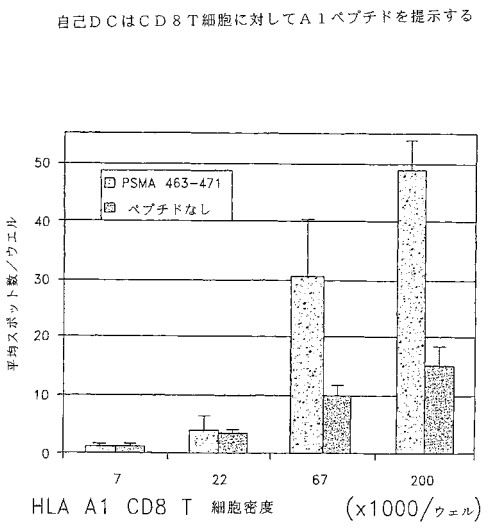


プロテアソームにより６０分間消化したＰＳＭＡ＿２８１～３１０のプールシーケンシング

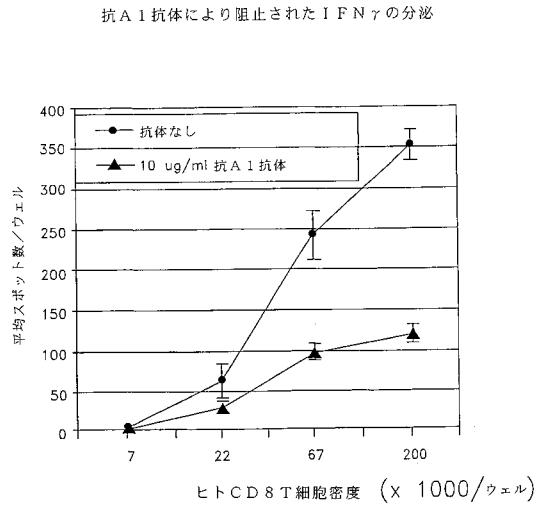
【図１０】



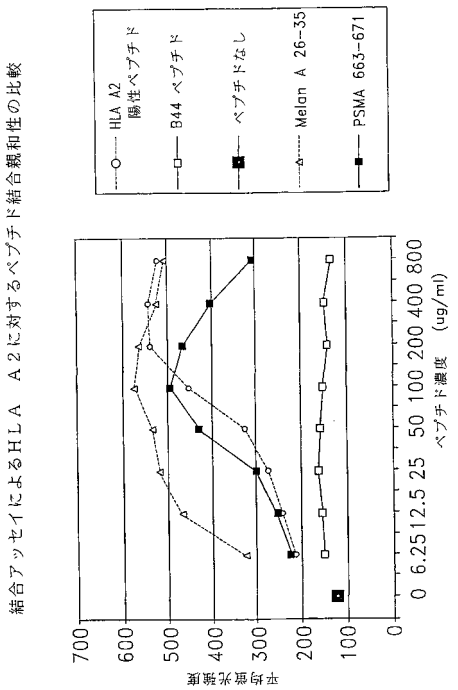
【図１１】



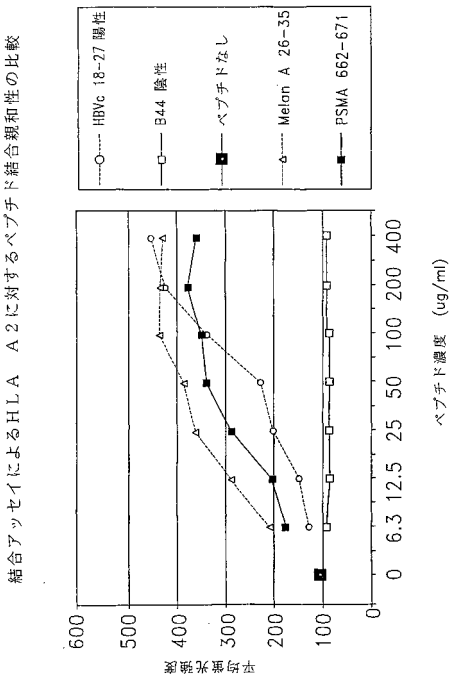
【図１２】



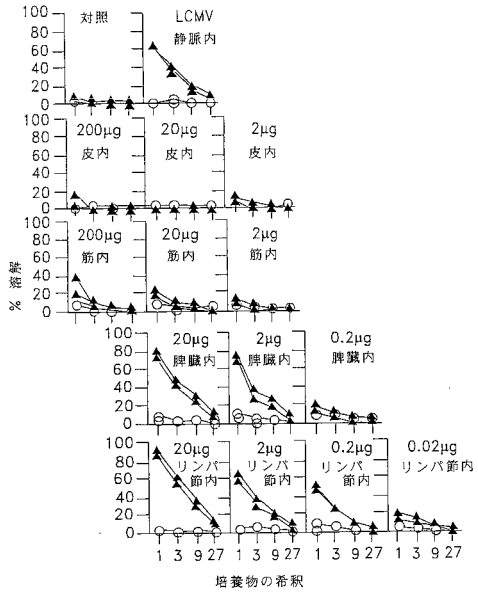
【図１３】



【図１４】

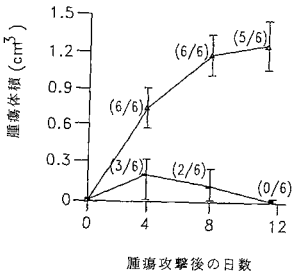


【図１５】



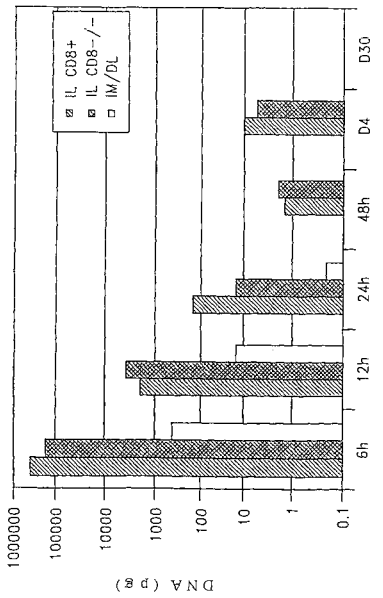
グラフは、非パルス標識ＥＬ４細胞（白丸）、およびｇｐ３３ペプチドでパルス標識したＥＬ４細胞（黒三角）の溶解を示す。記号は個々のマウスを表し、３回の同様の実験のうちの１つを示している。

【図１６】



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

【図１７】



【配列表】
0005135150000001.app

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 60/363,210
(32)優先日 平成14年3月7日(2002.3.7)
(33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

(72)発明者 ダイアモンド, デイビッド シー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９１３０４ ウエスト ヒルズシェーンボーン ストリート ２３１３５
(72)発明者 リウ, リピン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９１３６７ ウッドランド ヒルズ エイチ－１１１ ヴィクトリー ブールバード ２２２２８
(72)発明者 シエ, ジドン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９１３６７ ウッドランド ヒルズ エイチ－１１１ ヴィクトリー ブールバード ２２２２８

審査官 戸来 幸男

(56)参考文献 Immunity, １９９７年, vol.6, no.2, pp.199-208
J. Exp. Med., ２００１年 1月, vol.193, no.1, pp.73-88
Immunogenetics, １９９９年, vol.50, no.3-4, pp.213-219
J. Mol. Biol., ２０００年, vol.298, no.3, pp.417-429

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １５／００－１５／９０
ＣＡ／ＢＩＯＳＩＳ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩ）
ＰｕｂＭｅｄ

专利名称(译)	表位序列		
公开(公告)号	JP5135150B2	公开(公告)日	2013-01-30
申请号	JP2008251482	申请日	2008-09-29
[标]申请(专利权)人(译)	曼金德公司		
申请(专利权)人(译)	人类总公司		
当前申请(专利权)人(译)	人类总公司		
[标]发明人	シマードジョンジェイエル ダイアモンドデイビッドシー リウリピン シエジドン		
发明人	シマード,ジョン ジェイ.エル. ダイアモンド,デイビッド シー. リウ,リピン シエ,ジドン		
IPC分类号	C12N15/09 A61K48/00 A61P37/02 A61K39/00 A61P35/00 G01N33/53 A61K35/12 A61K38/00 A61K39/395 A61P31/12 C07K7/06 C07K14/47 C07K14/74 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/06 C12N5/10 C12N9/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68		
CPC分类号	A61K39/00 A61P13/08 C07K14/4748 C12N9/0059		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K48/00 A61P37/02 A61K39/00.H A61P35/00 A61P31/12 C07K14/705 C07K19/00 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA31 4B024/CA04 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZB052 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA40 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/FA33 4H045/FA74		
代理人(译)	川口义行		
优先权	60/282211 2001-04-06 US 60/337017 2001-11-07 US 60/363210 2002-03-07 US		
其他公开文献	JP2009060910A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供核酸或多肽，其是对MHC I类具有高亲和力并且由靶特异性蛋白酶体产生并且可用于产生免疫试剂的表位。解决方案：分离的核酸编码肿瘤相关抗原PRAME的一个或多个区段序列，其中每个区段具有表位簇，并且簇具有或编码至少两个氨基酸序列，其具有针对相同MHC的已知或预测的亲和力。受体肽结合裂缝，含有该序列的阅读框与受控制的启动子连接。Ž

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