(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0035925**

(51)[8] **C07K 14/47**; A61K 39/00

(13) **B**

(21) 1-2017-04277 (22) 24/03/2016
(86) PCT/EP2016/056557 24/03/2016 (87) WO 2016/156202 06/10/2016
(30) 62/139,189 27/03/2015 US; 1505305.1 27/03/2015 GB
(45) 26/06/2023 423 (43) 25/01/2018 358A
(73) IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH (DE)
Paul-Ehrlich-Strasse 15, 72076 Tuebingen, Germany
(72) MAHR, Andrea (DE); STEVERMANN, Lea (DE); WEINSCHENK, Toni (DE); SCHOOR, Oliver (DE); FRITSCHE, Jens (DE); SINGH, Harpreet (DE).
(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

(54) PEPTIT ĐỂ SỬ DỤNG TRONG LIỆU PHÁP MIỄN DỊCH VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến peptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 157 hoặc chứa trình tự axit amin có mức độ tương đồng ít nhất 88% với SEQ ID No. 157. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến vectơ biểu hiện, tế bào chủ tái tổ hợp, phương pháp tạo ra peptit, phương pháp tạo ra các tế bào lymphô T được hoạt hóa *in vitro*, tế bào lymphô T hoạt hóa, kháng thể, thụ thể tế bào T, phương pháp tạo ra thụ thể tế bào T, dược phẩm và kit bao gồm đồ chứa để đựng dược phẩm này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến peptit, protein, axit nucleic và tế bào để sử dụng trong liệu pháp miễn dịch. Cụ thể, sáng chế đề cập đến liệu pháp miễn dịch đối với bệnh ung thư. Sáng chế còn đề cập đến epitop peptit của tế bào T liên quan đến khối u, một mình hoặc kết hợp với các peptit liên quan đến khối u khác để có thể dùng làm, ví dụ, thành phần dược chất có hoạt tính của chế phẩm vacxin để kích thích các đáp ứng miễn dịch kháng u, hoặc kích thích các tế bào T *ex vivo* và cấy vào bệnh nhân. Các peptit gắn kết với các phân tử của phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex: MHC), hoặc các peptit này cũng có thể là đích của kháng thể, thụ thể tế bào T hòa tan, và các phân tử gắn kết khác.

Sáng chế đề cập đến một số trình tự peptit mới và các biến thể của chúng có nguồn gốc từ các phân tử kháng nguyên bạch cầu ở người (Human Leukocyte Antigen: HLA) nhóm I và nhóm II của các tế bào khối u của người có thể được sử dụng trong các chế phẩm vacxin để tạo ra đáp ứng miễn dịch kháng u hoặc làm đích để phát triển các hợp chất và tế bào có hoạt tính dược học/miễn dịch học.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Theo Tổ chức y tế thế giới (World Health Organization: WHO), bệnh ung thư nằm trong số bốn bệnh gây tử vong không lây nhiễm chủ yếu trên toàn thế giới năm 2012. Cũng trong năm này, bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư vú và bệnh ung thư đường hô hấp được liệt kê trong 10 nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở các nước có thu nhập cao (http://www.who.int/mediacentre/factsheets /fs310/en/).

Dịch tễ học

Năm 2012, ước tính có 14,1 triệu ca mắc bệnh ung thư mới, 32,6 triệu bệnh nhân mắc bệnh ung thư (chẩn đoán trong vòng 5 năm) và 8,2 triệu ca tử vong do bệnh ung thư trên thế giới (Ferlay et al., 2013; Bray et al., 2013).

Trong các nhóm gồm bệnh ung thư não, bệnh bạch cầu và bệnh ung thư phổi, sáng chế này tập trung cụ thể vào u nguyên bào xốp (glioblastoma: GB), bệnh bạch

cầu dạng lymphô mạn tính (chronic lymphocytic leukemia: CLL) và bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (acute myeloid leukemia: AML), bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (non-small cell lung cancer: NSCLC và small cell lung cancer: SCLC), tương ứng.

GB là bệnh ác tính của hệ thần kinh trung ương phổ biến nhất với tỷ lệ mắc theo độ tuổi là 3,19 trên 100000 người ở Mỹ. Bệnh GB có tiên lượng rất thấp với tỷ lệ sống thêm 1 năm là 35% và tỷ lệ sống thêm 5 năm là thấp hơn 5%. Nam giới, người già và chủng tộc là các yếu tố nguy cơ của bệnh GB (Thakkar et al., 2014).

CLL là bệnh bạch cầu phổ biến nhất ở các nước phương Tây, nơi có tỷ lệ mắc bệnh bằng khoảng một phần ba trong tổng số các ca mắc bệnh bạch cầu. Tỷ lệ mắc bệnh này ở Mỹ và châu Âu là tương đương nhau, và ước tính có khoảng 16000 ca mắc bệnh mới mỗi năm. Tỷ lệ mắc bệnh CLL ở người da trắng phổ biến hơn ở người châu Phi, hiếm gặp hơn ở người Tây Ban Nha và người Mỹ bản địa và hiếm gặp ở người châu Á. Ở những người gốc Á, tỷ lệ mắc CLL thấp hơn ba lần so với ở người da trắng (Gunawardana et al., 2008). Thời gian sống thêm toàn bộ 5 năm của các bệnh nhân mắc bệnh CLL là khoảng 79% (http://www.cancer.net/cancer-types/leukemia-chronic-lymphocytic-cll/statistics).

Ung thư phổi là loại bệnh ung thư phổ biến nhất trên thế giới và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu do bệnh ung thư ở nhiều quốc gia. Bệnh ung thư phổi được chia thành bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ. NSCLC bao gồm các loại mô học của caxinom tuyến, caxinom tế bào vảy, và caxinom tế bào lớn và chiếm 85% trong tổng số các ca bệnh ung thư phổi ở Mỹ. Tỷ lệ mắc NSCLC có tương quan chặt chẽ với tỷ lệ hút thuốc lá, bao gồm cả người hút thuốc hiện tại và trước đây và tỷ lệ sống thêm 5 năm được thông báo là 15% (World Cancer Report, 2014; Molina et al., 2008).

Liệu pháp

Bệnh ung thư vú

Phương pháp điều trị chuẩn cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú phụ thuộc vào nhiều thông số khác nhau: giai đoạn khối u, tình trạng thụ thể hormon và kiểu biểu hiện HER2. Tiêu chuẩn chăm sóc bao gồm phẫu thuật cắt bỏ hoàn toàn khối u, sau đó tiến hành liệu pháp xạ trị. Liệu pháp hóa học chủ yếu bằng các thuốc

anthraxyclin và taxan có thể được bắt đầu trước hoặc sau khi phẫu thuật. Các bệnh nhân có khối u dương tính với HER2 được điều trị bằng kháng thể trastuzumab kháng HER2, ngoài các chất hóa trị liệu (S3-Leitlinie Mammakarzinom, 2012). Ung thư vú là bệnh ung thư gây miễn dịch thực thể và các loại tế bào miễn dịch khác nhau thâm nhiễm trong các khối u nguyên phát có ý nghĩa dự đoán và tiên lượng nhất định. Nhiều thử nghiệm liệu pháp miễn dịch giai đoạn sớm đã được tiến hành ở các bệnh nhân ung thư vú. Các số liệu lâm sàng về hiệu quả của việc điều biến sự kiểm soát miễn dịch bằng ipilimumab và các kháng thể hoạt hóa tế bào T khác ở các bệnh nhân ung thư vú đang được tiến hành (Emens, 2012).

Bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính

Trong khi hiện nay không thể chữa khỏi bệnh CLL, nhiều bệnh nhân chỉ có sự tiến triển chậm của bệnh hoặc các triệu chứng xấu đi. Đối với các bệnh nhân có triệu chứng hoặc bệnh tiến triển nhanh, một số lựa chọn điều trị có thể được tiến hành. Các lựa chọn này bao gồm liệu pháp hóa học, liệu pháp hướng đích, các liệu pháp trên cơ sở miễn dịch như kháng thể đơn dòng, thụ thể-kháng nguyên thể khảm (chimeric antigen-receptor: CAR) và liệu pháp miễn dịch chủ động, và ghép tế bào gốc.

Một số thử nghiệm đã hoàn thành và đang được tiến hành trên cơ sở tế bào T có độ đặc hiệu CD19 được cải biến bằng thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) tự thân được thiết kế (Maus et al., 2014). Cho đến nay, chỉ một số ít bệnh nhân có mức thụ thể CAR có thể phát hiện hoặc ổn định. Đã được phát hiện một đáp ứng từng phần (partial response: PR) và hai đáp ứng hoàn toàn (complete response: CR) trong các thử nghiệm tế bào T đối với thụ thể CAR được tiến hành bởi Porter và các đồng tác giả và Kalos và các đồng tác giả (Kalos et al., 2011; Porter et al., 2011).

Liệu pháp miễn dịch chủ động bao gồm các chiến lược sau: liệu pháp gen, các vacxin của tế bào khối u được cải biến hoàn toàn, vacxin trên cơ sở DC và vacxin chứa peptit có nguồn gốc từ kháng nguyên liên quan đến khối u (tumor associated antigen: TAA).

Một số kháng nguyên TAA được biểu hiện quá mức trong bệnh CLL và thích hợp cho việc tiêm chủng vacxin. Các kháng nguyên này bao gồm fibromodulin (Mayr et al., 2005), RHAMM/CD168 (Giannopoulos et al., 2006), MDM2 (Mayr et

al., 2006), hTERT (Counter et al., 1995), protein của thụ thể laminin chưa trưởng thành- kháng nguyên bào thai ung thư (oncofetal antigen-immature laminin receptor protein: OFAiLRP) (Siegel et al., 2003), adipophilin (Schmidt et al., 2004), survivin (Granziero et al., 2001), KW1 đến KW14 (Krackhardt et al., 2002) và vùng IgVHCDR3 có nguồn gốc từ khối u (Harig et al., 2001; Carballido et al., 2012). Thử nghiệm lâm sàng pha I được tiến hành bằng cách sử dụng peptit R3 có nguồn gốc từ RHAMM làm vacxin. 5 trong số 6 bệnh nhân có đáp ứng tế bào T CD8+ đặc hiệu R3 phát hiện được (Giannopoulos et al., 2010).

Bệnh ung thư kết-trực tràng

Tùy thuộc vào giai đoạn của bệnh ung thư kết-trực tràng (colorectal cancer: CRC), có thể sử dụng các liệu pháp chuẩn khác nhau đối với bệnh ung thư ruột kết và bệnh ung thư trực tràng. Các phương pháp chuẩn bao gồm phẫu thuật, liệu pháp xạ trị, liệu pháp hóa học và liệu pháp hướng đích đối với CRC (Berman et al., 2015a; Berman et al., 2015b).

Các thử nghiệm lâm sàng gần đây nhất sử dụng liệu pháp miễn dịch chủ động làm lựa chọn điều trị đối với bệnh CRC. Các chiến lược khác bao gồm tiêm chủng vacxin chứa peptit có nguồn gốc từ kháng nguyên liên quan đến khối u (TAA), toàn bộ tế bào khối u, vacxin chứa tế bào đuôi gai (dendritic cell: DC) và vectơ của virut (Koido et al., 2013).

Cho đến nay, các vacxin chứa peptit kháng lại kháng nguyên ung thư phôi (carcinoembryonic antigen: EA), muxin 1, thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu mô (EGFR), kháng nguyên caxinom tế bào vảy được nhận biết bởi các tế bào T 3 (SART3), hormon kích tố sinh dục màng đệm của người beta (beta-human chorionic gonadotropin: beta-hCG), kháng nguyên khối u Wilms 1 (Wilms' Tumor antigen 1: WT1), Survivin-2B, MAGE3, p53, protein có dạng vòng nhẫn 43 và translocaza của màng ngoài ty thể 34 (translocase of the outer mitochondrial membrane 34: TOMM34), hoặc KRAS thể đột biến. Trong vài thử nghiệm lâm sàng pha I và pha II, các bệnh nhân có đáp ứng của tế bào lymphô T gây độc tế bào (CTL) đặc hiệu kháng nguyên hoặc sự sản sinh kháng thể. Trái với các đáp ứng miễn dịch, nhiều bệnh nhân không thu được lợi ích từ vacxin chứa peptit ở cấp độ lâm sàng (Koido et al., 2013; Miyagi et al., 2001; Moulton et al., 2002; Okuno et al., 2011).

Các vacxin chứa tế bào đuôi gai bao gồm các tế bào DC được gây xung bằng các peptit có nguồn gốc từ TAA, dịch tan tế bào khối u, tế bào khối u gây chết tế bào theo chương trình, hoặc sản phẩm ARN có nguồn gốc từ khối u hoặc sản phẩm dung hợp tế bào DC-tế bào khối u. Trong khi nhiều bệnh nhân trong các thử nghiệm pha I/II có đáp ứng miễn dịch đặc hiệu, chỉ một số ít bệnh nhân có lợi ích lâm sàng (Koido et al., 2013).

Bệnh ung thư thực quản

Chiến lược điều trị chính đối với bệnh ung thư thực quản phụ thuộc vào giai đoạn khối u và sự khu trú, loại mô học và tình trạng bệnh của bệnh nhân. Phác đồ hóa trị liệu bao gồm oxaliplatin kết hợp với flouraxil, carboplatin kết hợp với paclitaxel, xisplatin kết hợp với flouraxil, FOLFOX và xisplatin kết hợp irinotecan. Các bệnh nhân có khối u dương tính với HER2 cần được điều trị theo hướng dẫn đối với bệnh ung thư dạ dày, do dữ liệu ngẫu nhiên trong liệu pháp hướng đích ở bệnh ung thư thực quản rất hạn chế (Stahl et al., 2013).

Dữ liệu đối với phương pháp điều trị miễn dịch trong bệnh ung thư thực quản là rất hiếm, do chỉ có số lượng rất hạn chế các thử nghiệm lâm sàng giai đoạn sớm được tiến hành. Vacxin gồm ba peptit có nguồn gốc từ ba kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư khác nhau (protein kinaza TTK, locus K của phức hợp kháng nguyên tế bào lymphô 6 và protein 3 gắn kết ARN thông tin của yếu tố sinh trưởng giống như insulin (insulin-like growth factor: IGF)-II) được sử dụng cho bệnh nhân có bệnh ung thư thực quản tiến triển trong thử nghiệm pha I có kết quả nhất định. Phương pháp tiêm tế bào T hoạt hóa qua đường trong khối u sau khi thử nghiệm *in vitro* với các tế bào ác tính tự thân tạo ra đáp ứng khối u một phần hoặc hoàn toàn ở 4 trong số 11 bệnh nhân trong thử nghiệm pha I/II (Toomey et al., 2013).

Bệnh ung thư dạ dày

Bệnh ung thư dạ dày (gastric cancer: GC) bắt đầu ở các tế bào lót lớp niêm mạc và lan tỏa ra lớp ngoài khi chúng phát triển. Có bốn phương pháp điều trị chuẩn được sử dụng. Việc điều trị bệnh ung thư dạ dày có thể bao gồm phẫu thuật nội soi hoặc phẫu thuật cắt bỏ, liệu pháp hóa học, liệu pháp xạ trị hoặc liệu pháp hóa xạ trị

đồng thời (Leitlinie Magenkarzinom, 2012).

Hiệu quả của các phác đồ điều trị hiện nay đối với bệnh GC tiến triển là thấp, dẫn đến tỷ lệ sống thêm 5 năm thấp. Liệu pháp miễn dịch có thể là phương pháp khác để làm tăng tỷ lệ sống của bệnh nhân GC. Sự chuyển mượn của các tế bào lymphô liên quan đến khối và tế bào tiêu diệt cảm ứng bởi xytokin, các vacxin trên cơ sở peptit hướng đích là HER2/neu, MAGE-3 hoặc thụ thể yếu tố sinh trưởng nội mô mạch 1 và 2 và các vacxin trên cơ sở tế bào đuôi gai hướng đích là HER2/neu có kết quả hứa hẹn trong các thử nghiệm GC trong lâm sàng. Hiện nay, phương pháp ức chế sự kiểm soát miễn dịch và các tế bào T thiết kế được có thể là các lựa chọn điều trị bổ sung đang được đánh giá trong các nghiên cứu lâm sàng và tiền lâm sàng (Matsueda and Graham, 2014).

U nguyên bào xốp

Lựa chọn điều trị cho bệnh u nguyên bào xốp (WHO loại IV) là rất hạn chế. Các phương pháp điều trị miễn dịch khác nhau được đánh giá để điều trị GB, bao gồm ức chế sự kiểm soát miễn dịch, tiêm chủng vacxin và chuyển mượn tế bào T được thiết kế.

Hiện nay, các chiến lược tiêm chủng vacxin khác nhau đối với bệnh nhân GB được đánh giá bao gồm sử dụng vacxin trên cơ sở peptit, vacxin chứa protein sốc nhiệt, vacxin chứa tế bào khối u tự thân, vacxin trên cơ sở tế bào đuôi gai và vacxin trên cơ sở protein của virut. Trong các phương pháp này, peptit có nguồn gốc từ các protein liên quan đến GB giống như biến thể III của thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu mô (epidermal growth factor receptor variant III: EGFRvIII) hoặc các protein sốc nhiệt hoặc tế bào đuôi gai được gây xung bằng dịch tan của tế bào khối u tự thân hoặc các thành phần của virut cự bào được sử dụng để gây đáp ứng miễn dịch kháng khối u ở bệnh nhân GB. Một số nghiên cứu cho thấy profin về độ an toàn và tính dung nạp tốt cũng như các dữ liệu về hiệu quả hứa hẹn.

Sự chuyển mượn của các tế bào T được cải biến di truyền là phương pháp điều trị miễn dịch bổ sung để điều trị GB. Hiện nay, các thử nghiệm lâm sàng khác nhau đánh giá độ an toàn và hiệu quả của thụ thể kháng nguyên thể khảm mang tế bào T kháng lại HER2, thụ thể IL-13 alpha 2 và EGFRvIII (Ampie et al., 2015).

Bệnh ung thư gan

Việc kiểm soát bệnh phụ thuộc vào giai đoạn khối u ở thời điểm chẩn đoán và tình trạng tổng thể của gan. Liệu pháp hóa học đối với HCC bao gồm hỗn hợp của doxorubicin, 5-flouraxil và xisplatin đối với liệu pháp toàn thân và doxorubicin, floxuridin và mitomycin C đối với phương pháp tiêm truyền vào động mạch gan. Tuy nhiên, phần lớn HCC có tính kháng thuốc cao với các chất hóa trị liệu (Enguita-German and Fortes, 2014).

Các lựa chọn điều trị đối với bệnh HCC tiến triển, không thể cắt bỏ bị hạn chế với Sorafenib, chất ức chế đa tyrosin kinaza (Chang et al., 2007; Wilhelm et al., 2004). Sorafenib là dược chất dùng qua đường toàn thân duy nhất đã được xác nhận là làm tăng thời gian sống thêm khoảng 3 tháng và hiện nay là lựa chọn điều trị thử nghiệm duy nhất cho các bệnh nhân mắc bệnh này (Chapiro et al., 2014; Llovet et al., 2008).

Gần đây, có một số ít thử nghiệm về liệu pháp miễn dịch đối với bệnh HCC đã được tiến hành. Các xytokin đã được sử dụng để hoạt hóa tiểu quần thể của các tế bào miễn dịch và/hoặc làm tăng tính sinh miễn dịch của khối u (Reinisch et al., 2002; Sangro et al., 2004). Các thử nghiệm khác tập trung vào việc tiêm truyền các tế bào lymphô thâm nhiễm khối u hoặc các tế bào lymphô máu ngoại vi được hoạt hóa (Shi et al., 2004a; Takayama et al., 1991; Takayama et al., 2000).

Cho đến nay, một lượng nhỏ thử nghiệm tiêm chủng vacxin để điều trị đã được thực hiện. Butterfield và các đồng tác giả đã tiến hành hai thử nghiệm bằng cách sử dụng các peptit có nguồn gốc từ alpha-fetoprotein (alpha-fetoprotein: AFP) làm vacxin hoặc các tế bào đuôi gai (DC) được tải peptit AFP *ex vivo* (Butterfield et al., 2003; Butterfield et al., 2006). Trong hai nghiên cứu khác nhau, các tế bào đuôi gai (DC) tự thân được gây xung *ex vivo* bằng dịch tan khối u tự thân (Lee et al., 2005) hoặc dịch tan của dòng tế bào u nguyên bào gan HepG2 (Palmer et al., 2009). Cho đến nay, các thử nghiệm tiêm chủng vacxin chỉ cho thấy sự cải thiện có giới hạn về các hiệu quả lâm sàng.

U melanin

Liệu pháp chuẩn đối với u melanin là phẫu thuật cắt bỏ hoàn toàn với các mô khỏe mạnh xung quanh. Các lựa chọn điều trị bao gồm liệu pháp đơn hóa trị, liệu

pháp đa hóa trị và liệu pháp hướng đích với các chất ức chế đặc hiệu (S3-Leitlinie Melanom, 2013).

Một số phương pháp tiêm chủng vacxin khác nhau đã được đánh giá ở bệnh nhân mắc bệnh u melanin tiến triển. Cho đến nay, các thử nghiệm pha III cho thấy kết quả khá thất vọng và rõ ràng là các chiến lược tiêm chủng vacxin cần được cải tiến. Do đó, các thử nghiệm lâm sàng mới như thử nghiệm OncoVEX GM-CSF hoặc thử nghiệm DERMA, nhằm cải thiện hiệu quả lâm sàng mà không làm giảm tính dung nạp (http://www.cancerresearchuk.org).

Phương pháp cấy tế bào T vay mượn có kết quả hứa hẹn đối với việc điều trị u melanin giai đoạn tiến triển. Các tế bào lymphô thâm nhiễm khối u gia tăng *in vitro* cũng như các tế bào T mang thụ thể tế bào T có ái lực cao đối với kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư NY-ESO-1 có lợi ích đáng kể và độc tính thấp khi cấy vào bệnh nhân mắc bệnh u melanin. Đáng tiếc là các tế bào T cùng với thụ thể tế bào T có ái lực cao đối với kháng nguyên đặc hiệu tế bào melanin MART1 và gp100 và kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư MAGEA3 gây độc tính đáng kể trong các thử nghiệm lâm sàng. Do đó, phương pháp cấy tế bào T vay mượn này có khả năng điều trị cao nhưng độ an toàn và tính dung nạp của các phương pháp điều trị này cần được tăng thêm (Phan and Rosenberg, 2013; Hinrichs and Restifo, 2013).

Bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ

Các lựa chọn điều trị được xác định theo loại (tế bào nhỏ hoặc tế bào không nhỏ) và giai đoạn của bệnh ung thư và bao gồm phẫu thuật, liệu pháp xạ trị, liệu pháp hóa học, các liệu pháp sinh học hướng đích như bevacizumab, erlotinib và gefitinib (S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 2011).

Để mở rộng các lựa chọn điều trị đối với bệnh NSCLC, các phương pháp điều trị miễn dịch khác nhau đã được nghiên cứu hoặc vẫn đang được nghiên cứu. Trong khi việc tiêm chủng vacxin chứa L-BLP25 hoặc MAGEA3 không cho thấy lợi thế về tỷ lệ sống thêm qua trung gian vacxin đối với các bệnh nhân mắc bệnh NSCLC, vacxin có nguồn gốc từ dòng tế bào khác alen cùng loài cho thấy kết quả hứa hẹn trong các thử nghiệm lâm sàng. Ngoài ra, các thử nghiệm tiêm chủng vacxin khác hướng đích là gangliosit, thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu mô và một số kháng nguyên

khác đang được tiến hành. Phương pháp khác để làm gia tăng mức độ đáp ứng tế bào T kháng u của bệnh nhân bao gồm ức chế các thụ thể tế bào T hoặc các phối tử của chúng bằng các kháng thể đặc hiệu. Khả năng điều trị của một số kháng thể trong số các kháng thể này bao gồm ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, MPDL3280A và MEDI-4736, ở bệnh NSCLC đang được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng (Reinmuth et al., 2015).

Bệnh ung thư buồng trứng

Phẫu thuật cắt bỏ là liệu pháp chính trong caxinom buồng trứng giai đoạn sớm cũng như caxinom buồng trứng giai đoạn tiến triển (S3-Leitlinie maligne Ovarialtumore, 2013).

Liệu pháp miễn dịch dường như là chiến lược hứa hẹn để cải thiện hiệu quả điều trị của bệnh nhân mắc bệnh ung thư buồng trứng, do sự có mặt của các tế bào lymphô thâm nhiễm khối u tiền viêm, đặc biệt là các tế bào T dương tính với CD8, có tương quan với sự tiên lượng tốt và các tế bào T đặc hiệu với kháng nguyên liên quan đến khối u có thể được phân lập ra khỏi mô ung thư.

Do đó, nhiều nỗ lực khoa học đã tập trung vào việc đánh giá các liệu pháp miễn dịch khác nhau trong bệnh ung thư buồng trứng. Số lượng đáng kể các thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng đã được thực hiện và các nghiên cứu khác đang được tiến hành. Hiện nay có sẵn các số liệu lâm sàng cho liệu pháp xytokin, phương pháp tiêm chủng vacxin, điều trị bằng kháng thể đơn dòng, cấy tế bào vay mượn và điều biến miễn dịch.

Các nghiên cứu tiêm chủng vacxin pha I và pha II, bằng cách sử dụng một hoặc nhiều peptit, có nguồn gốc từ vài protein liên quan đến khối u (Her2/neu, NY-ESO-1, p53, khối u Wilms -1) hoặc toàn bộ kháng nguyên khối u, có nguồn gốc từ các tế bào khối u tự thân cho thấy profin về tính dung nạp và độ an toàn tốt nhưng các hiệu quả lâm sàng chỉ ở mức thấp đến trung bình.

Sự chuyển mượn của các tế bào miễn dịch đạt được kết quả không đồng nhất trong các thử nghiệm lâm sàng. Sự chuyển mượn của các tế bào T tự thân, thâm nhiễm khối u được mở rộng *in vitro* đã được chứng minh là phương pháp hứa hẹn trong thử nghiệm trên quy mô nhỏ. Trái lại, việc cấy các tế bào T mang thụ thể kháng nguyên thể khảm đặc hiệu với thụ thể folat không gây đáp ứng lâm sàng đáng

kể trong thử nghiệm pha I. Các tế bào đuôi gai được gây xung bằng dịch tan tế bào khối u hoặc protein liên quan đến khối u *in vitro* đã được chứng minh là làm tăng mức độ đáp ứng kháng u của tế bào T khi cấy, nhưng mức độ hoạt hóa của tế bào T không tương quan với các hiệu quả lâm sàng. Việc cấy các tế bào tiêu diệt tự nhiên gây độc tính đáng kể trong nghiên cứu pha II.

Tính miễn dịch kháng u nội tại cũng như liệu pháp miễn dịch bị cản trở bởi vi môi trường khối u ức chế miễn dịch. Để khắc phục nhược điểm này, các dược chất điều biến miễn dịch như xyclophosphamit, kháng thể kháng CD25 và doxorubicin thể mỡ pegyl hóa được thử nghiệm kết hợp với liệu pháp miễn dịch. Hiện nay, có sẵn phần lớn các dữ liệu tin cậy đối với ipilimumab, kháng thể kháng CTLA4, các dược chất này làm tăng hoạt tính của tế bào T. Ipilimumab đã được chứng minh là có hiệu quả kháng u đáng kể ở bệnh nhân mắc bệnh ung thư buồng trứng (Mantia-Smaldone et al., 2012).

Bệnh ung thư tụy

Các lựa chọn điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư tụy là rất hạn chế. Một vấn đề chính để việc điều trị có hiệu quả là khối u thường ở giai đoạn tiến triển khi chẩn đoán.

Các chiến lược tiêm chủng được đánh giá là lựa chọn khác có tính sáng tạo và triển vọng để điều trị bệnh ung thư tụy. Các vacxin trên cơ sở peptit hướng đích là sự đột biến KRAS, telomeraza có khả năng phản ứng, gastrin, survivin, CEA và MUC1 đã được đánh giá một phần trong các thử nghiệm lâm sàng với các kết quả hứa hẹn. Ngoài ra, các thử nghiệm lâm sàng đối với vacxin trên cơ sở tế bào đuôi gai, vacxin tiết ra yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF) khác alen cùng loài và algenpantucel-L ở các bệnh nhân ung thư tụy cũng cho thấy các hiệu quả có lợi của liệu pháp miễn dịch. Các thử nghiệm lâm sàng bổ sung đánh giá thêm hiệu quả của các phương pháp tiêm chủng vacxin khác nhau đang được tiến hành (Salman et al., 2013).

Bệnh ung thư tuyến tiền liệt

Chiến lược điều trị đối với bệnh ung thư tuyến tiền liệt chủ yếu phụ thuộc vào giai đoạn của bệnh ung thư. Đối với bệnh ung thư tuyến tiền liệt không di căn được

giới hạn khu trú, các lựa chọn điều trị bao gồm theo dõi tích cực (chờ đợi và theo dõi), phẫu thuật cắt bỏ hoàn toàn tuyến tiền liệt và sử dụng liệu pháp xạ trị liều cao tại chỗ kết hợp với liệu pháp tia phóng xạ để gần hoặc không kết hợp với liệu pháp này (S3-Leitlinie Prostatakarzinom, 2014).

Vacxin trên cơ sở tế bào đuôi gai sipuleucel-T là vacxin kháng ung thư đầu tiên được Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (Food and Drug Administration: FDA) cấp phép cho sử dụng. Do hiệu quả tích cực của nó đối với sự sống của bệnh nhân mắc bệnh CRPC, đã có nhiều nỗ lực tập trung vào việc phát triển các liệu pháp miễn dịch khác. Liên quan đến các chiến lược tiêm chủng vacxin, vacxin chứa peptit là kháng nguyên đặc hiệu với tuyến tiền liệt (prostate-specific antigen: PSA)-TRICOM, vacxin chứa peptit được cá nhân hóa PPV, vacxin chứa ADN pTVG-HP và vacxin chứa tế bào toàn phần biểu hiện yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF) GVAX có kết quả hứa hẹn trong các thử nghiệm lâm sàng khác nhau. Ngoài ra, các vacxin trên cơ sở tế bào đuôi gai không phải sipuleucel-T, cụ thể là BPX-101 và DCVAC/Pa đã được chứng minh là tạo ra đáp ứng lâm sàng ở bệnh nhân mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Hiện nay, các chất ức chế sự kiểm soát miễn dịch như ipilimumab và nivolumab được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng làm liệu pháp đơn cũng như kết hợp với các phương pháp điều trị khác, bao gồm liệu pháp ức chế androgen, liệu pháp xạ trị tại chỗ, PSA-TRICOM và GVAX. Hiện nay, chất điều biến miễn dịch tasquinimod làm chậm đáng kể sự tiến triển của bệnh và làm tăng tỷ lệ sống không có sự tiến triển của bệnh trong thử nghiệm pha II, được đánh giá thêm trong thử nghiệm pha III. Lenalidomide, chất điều biến miễn dịch khác, tạo ra hiệu quả hứa hẹn trong các nghiên cứu lâm sàng giai đoạn sớm nhưng không cải thiện tỷ lệ sống trong thử nghiệm pha III. Mặc dù có kết quả thất vọng, các thử nghiệm thêm với lenalidomide vẫn đang được tiến hành (Quinn et al., 2015).

Caxinom tế bào thận

Việc điều trị ban đầu phổ biến nhất là loại bỏ một phần hoặc toàn bộ thận bị bệnh và duy trì cơ sở chính là điều trị chữa khỏi (Rini et al., 2008). Đối với việc điều trị hàng đầu cho bệnh nhân có điểm số tiên lượng xấu, hướng dẫn được đưa ra bởi một số tổ chức và hiệp hội ung thư khuyến cáo sử dụng các chất ức chế thụ thể

tyrosin kinaza (tyrosine kinase inhibitor: TKI) là sunitinib và pazopanib, kháng thể đơn dòng bevacizumab kết hợp với interferon-α (IFN-α) và chất ức chế mTOR temsirolimus. Dựa trên các hướng dẫn được đưa ra bởi Mạng lưới ung thư toàn diện quốc gia (National Comprehensive Cancer Network: NCCN) Hoa Kỳ cũng như Hiệp hội niệu khoa châu Âu (European Association of Urology: EAU) và Cộng đồng châu Âu về y học ung bướu (European Society for Medical Oncology: ESMO), các chất ức chế TKI sorafenib, pazopanib hoặc gần đây là axitinib được khuyến cáo làm liệu pháp hàng thứ hai ở bệnh nhân RCC bị thất bại với liệu pháp điều trị trước đó với các xytokin (IFN-α, IL-2). Các hướng dẫn của NCCN cũng khuyên sử dụng sunitinib trong trường hợp này (bằng chứng ở mức cao theo NCCN, mục I).

Tính gây miễn dịch đã biết của RCC là cơ sở hỗ trợ cho việc sử dụng liệu pháp miễn dịch và các vacxin ung thư trong RCC tiến triển. Mối tương quan bất ngờ giữa sự biểu hiện của các tế bào lymphô PD-1 và giai đoạn tiến triển của RCC, mức độ và sự tiên lượng, cũng như sự biểu hiện PD-L1 chọn lọc bởi tế bào khối u RCC và mối liên quan tiềm tàng của nó với kết quả lâm sàng kém, dẫn đến sự phát triển chất kháng PD-1/PD-L1, một mình hoặc kết hợp với các dược chất kháng tạo mạch hoặc các phương pháp điều trị miễn dịch khác, để điều trị RCC (Massari et al., 2015). Đối với bệnh RCC thể tiến triển, thử nghiệm với vacxin ung thư pha III được gọi là nghiên cứu TRIST đánh giá xem TroVax (vacxin sử dụng kháng nguyên liên quan đến khối u, 5T4, với vectơ poxvirut), được bổ sung vào tiêu chuẩn hàng đầu của liệu pháp chăm sóc, có kéo dài sự sống của bệnh nhân mắc RCC di căn hoặc tiến triển khu trú hay không. Không đạt được tỷ lệ sống trung bình ở nhóm nào khi còn lại 399 bệnh nhân (54%) trong nghiên cứu, tuy nhiên, việc phân tích dữ liệu khẳng định các kết quả lâm sàng trước đó, điều này chứng tỏ rằng TroVax có hoạt tính miễn dịch và có mối tương quan giữa cường độ của đáp ứng kháng thể đặc hiệu với 5T4 và tỷ lệ sống được cải thiện. Ngoài ra, có một số nghiên cứu để tìm kiếm vacxin chứa peptit bằng cách sử dụng epitop được biểu hiện quá mức trong RCC.

Nhiều phương pháp khác nhau sử dụng vacxin khối u đang được nghiên cứu. Các nghiên cứu sử dụng phương pháp toàn bộ khối u, bao gồm dịch tan tế bào khối u, thể dung hợp của tế bào đuôi gai với tế bào khối u, hoặc ARN của toàn bộ khối u được tiến hành ở bệnh nhân RCC, và sự giảm tổn thương của khối u đã được thông báo trong một số thử nghiệm này (Avigan et al., 2004; Holtl et al., 2002; Marten et

al., 2002; Su et al., 2003; Wittig et al., 2001).

Bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ

Việc điều trị và tiên lượng SCLC phụ thuộc đáng kể vào giai đoạn của bệnh ung thư khi chẩn đoán. Việc phân giai đoạn của SCLC dựa trên các kết quả lâm sàng là phổ biến hơn việc phân giai đoạn gây bệnh. Việc phân giai đoạn trong lâm sàng sử dụng kết quả của việc khám lâm sàng, nhiều xét nghiệm hình ảnh và sinh thiết khác nhau. Phương pháp điều trị SCLC bằng hóa chất chuẩn sử dụng kết hợp etoposide hoặc irinotecan với xisplatin hoặc carboplatin (American Cancer Society, 2015; S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 2011).

Liệu pháp miễn dịch là lĩnh vực được đánh giá rộng nhất của liệu pháp ung thư. Nhiều phương pháp khác nhau được nghiên cứu trong việc điều trị SCLC. Một trong số các phương pháp này hướng đích là ức chế CTLA-4, chất ức chế miễn dịch tự nhiên ở người. Sự ức chế CTLA-4 có xu hướng làm tăng cường hệ miễn dịch để chống lại bệnh ung thư. Gần đây, sự phát triển các chất ức chế để kiểm soát miễn dịch dùng để điều trị SCLC được bắt đầu. Phương pháp khác là dựa trên các vacxin kháng ung thư hiện đang được sử dụng để điều trị SCLC trong các thử nghiệm lâm sàng (American Cancer Society, 2015; National Cancer Institute, 2015).

Bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính

Việc điều trị AML được chia thành hai pha: liệu pháp cảm ứng và sau khi thuyên giảm/"liệu pháp củng cố". Liệu pháp cảm ứng được sử dụng để làm thuyên giảm và gồm cả liệu pháp hóa học kết hợp. Liệu pháp củng cố gồm liệu pháp hóa học bổ sung hoặc ghép tế bào tạo máu (hematopoietic cell transplantation: HCT) (Showel and Levis, 2014).

Các thử nghiệm lâm sàng được khuyến cáo đối với bệnh nhân thuộc về nhóm tiên lượng không tốt và nhóm giữa-2. Các lựa chọn điều trị bao gồm sử dụng các chất làm giảm metyl hóa (hypomethylating agent: HMA) như azaxitidin hoặc dexitabin, CPX-351, là sản phẩm thể mỡ chứa daunorubixin và xytarabin với tỷ lệ mol "tối ưu" là 1:5, và volasertib, chất ức chế polo kinaza. Volasertib được tạo ra ở dạng kết hợp với LDAC (xytarabin liều thấp). Một số chất ức chế FLT3 khác nhau có thể được sử dụng trong trường hợp có thể đột biến FLT3. Các chất này bao gồm

sorafenib, được tạo ra ở dạng kết hợp với 3+7, quizartinib, chất ức chế chọn lọc hơn của FLT3 ITD mà cũng ức chế CKIT, crenolanib, và midostaurin, chất ức chế FLT3 ITD không chọn lọc. Lựa chọn điều trị khác là hướng đích CD33 bằng các thể liên hợp kháng thể-dược chất (kháng-CD33 + calechiamicin, SGN-CD33a, kháng -CD33 + actinium-225), các kháng thể đặc hiệu kép (nhận dạng CD33 + CD3 (AMG 330) hoặc CD33 + CD16) và các thụ thể kháng nguyên thể khảm (CARs) (Estey, 2014).

U lymphô không Hodgkin

NHL có trên 60 kiểu phụ. Ba kiểu phụ phổ biến nhất là u lymphô tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL, kiểu phụ phổ biến nhất), u lymphô thể nang ((follicular lymphoma: FL), kiểu phụ phổ biến thứ hai) và u lymphô dạng tế bào lymphô nhỏ/u lymphô dạng tế bào lymphô mạn tính ((small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic lymphoma: SLL/CLL, kiểu phụ phổ biến thứ ba). DLBCL, FL và SLL/CLL chiếm khoảng 85% tổng số ca mắc bệnh NHL (Li et al., 2015). Việc điều trị NHL phụ thuộc vào loại mô và giai đoạn của bệnh (National Cancer Institute, 2015).

Có thể quan sát được sự thoái triển khối u tự phát ở bệnh nhân mắc u lymphô. Do đó, liệu pháp miễn dịch chủ động là liệu pháp lựa chọn (Palomba, 2012).

Lựa chọn tiêm chủng vacxin quan trọng bao gồm các vacxin Id. Các tế bào lymphô B biểu hiện globulin miễn dịch ở bề mặt có trình tự axit amin cụ thể trong vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của chúng, duy nhất cho mỗi dòng tế bào (idiotyp: Id). Idiotyp này có chức năng làm kháng nguyên liên quan đến khối u.

Phương pháp tạo miễn dịch chủ động bao gồm tiêm protein tái tổ hợp (Id) được liên hợp với liệu pháp bổ trợ (KLH), được tạo ra cùng với GM-CSF làm liệu pháp bổ trợ miễn dịch. Id đặc hiệu khối u được tạo bởi môi trường nuôi cấy tế bào lai hoặc bằng cách sử dụng công nghệ ADN tái tổ hợp (plasmit) bằng môi trường nuôi cấy tế bào vi khuẩn, côn trùng hoặc động vật có vú.

Bệnh ung thư tử cung

Trên 80% ca mắc bệnh ung thư màng trong tử cung xuất hiện dưới dạng ung thư tuyến dạng nội mạc tử cung (typ I), dạng có liên quan đến sự tiếp xúc với estrogen và được biệt hóa ở mức trung bình. Việc điều trị caxinom màng trong tử cung và bệnh ung thư cổ tử cung phụ thuộc vào giai đoạn (World Cancer Report,

2014).

Hiện nay, cũng có một số phương pháp điều trị miễn dịch được thử nghiệm. Trong thử nghiệm lâm sàng pha I/II, bệnh nhân mắc bệnh ung thư tử cung được tiêm phòng vacxin chứa các tế bào đuôi gai (DC) tự thân được gây xung điện bằng ARN thông tin của gen khối u Wilms 1 (WT1). Ngoài một trường hợp có phản ứng dị ứng tại chỗ với liệu pháp bổ trợ, không quan thấy tác dụng phụ có hại và 3 trong số 6 bệnh nhân có đáp ứng miễn dịch (Coosemans et al., 2013).

Bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật

Khó điều trị caxinom đường mật (cholangiocarcinoma: CCC) và bệnh này thường gây tử vong. Chỉ có cách lựa chọn điều trị khỏi hoàn toàn là cắt bỏ hoàn toàn (R0). Hiệu quả của các liệu pháp sinh học trong bệnh ung thư đường dẫn mật không được thể hiện rõ ràng. Hiện nay, các dược chất hướng đích là sự phát triển của mạch máu như sorafenib, bevacizumab, pazopanib và regorafenib được nghiên cứu để điều trị CCC. Ngoài ra, các dược chất hướng đích EGFR như xetuximab và panitumumab được sử dụng trong các thử nghiệm lâm sàng kết hợp với liệu pháp hóa học (American Cancer Society, 2015). Cho đến nay, đối với phần lớn dược chất được thử nghiệm, việc kiểm soát bệnh và tỷ lệ sống thêm toàn bộ không được cải thiện đáng kể nhưng các thử nghiệm lâm sàng khác đang được tiến hành.

Bệnh ung thư túi mật (GBC) là bệnh ác tính của đường dẫn mật có tính xâm lấn và phổ biến nhất trên thế giới. Do hiếm gặp caxinom đường dẫn mật nói chung, chỉ có rất ít nghiên cứu cụ thể về GBC hoặc CCC, trong khi phần lớn các nghiên cứu này bao gồm cả nghiên cứu về bệnh ung thư đường dẫn mật. Đây là nguyên nhân của việc điều trị không được cải thiện trong các thập kỷ qua và phương pháp cắt bỏ hoàn toàn R0 vẫn là lựa chọn điều trị chữa khỏi duy nhất.

Bệnh ung thư bàng quang

Phương pháp điều trị chuẩn đối với bệnh ung thư bàng quang bao gồm phẫu thuật, liệu pháp xạ trị, liệu pháp hóa học và liệu pháp miễn dịch (National Cancer Institute, 2015).

Phương pháp điều trị miễn dịch hữu hiệu được thiết lập để điều trị bệnh ung thư bàng quang có tính xâm lấn nhưng không xâm lấn cơ (non-muscle invasive

bladder cancer: NMIBC). Nhờ đó, dạng được làm yếu đi của vi khuẩn *Mycobacterium bovis* (vacxin BCG (*bacillus Calmette-Guérin*)) được sử dụng làm dung dịch trong bàng quang. Hiệu quả chính của phương pháp điều trị bằng BCG là bảo vệ trong thời gian dài đáng kể (lên đến 10 năm) khỏi sự tái phát bệnh ung thư và mức độ tiến triển bệnh giảm. Nói chung, việc điều trị bằng BCG gây đáp ứng viêm cục bộ để kích thích đáp ứng miễn dịch của tế bào. Đáp ứng miễn dịch với BCG được dựa trên các bước quan trọng sau: gây nhiễm các tế bào ung thư tế bào chuyển tiếp và bàng quang bằng BCG, sau đó sự biểu hiện của các phân tử trình diện kháng nguyên tăng lên, gây đáp ứng miễn dịch qua trung gian giải phóng xytokin, tạo ra hoạt tính kháng u nhờ sự tham gia của các tế bào miễn dịch khác nhau (tiếp đó là các tế bào lymphô T gây độc tế bào, bạch cầu trung tính, tế bào tiêu diệt tự nhiên, và đại thực bào) (Fuge et al., 2015; Gandhi et al., 2013).

Khi tính đến các tác dụng phụ nghiêm trọng và chi phí liên quan đến việc điều trị bệnh ung thư, cần xác định các yếu tố có thể được sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư nói chung và caxinom tế bào gan (hepatocellular carcinoma: HCC), caxinom kết-trực tràng (colorectal carcinoma: CRC), u nguyên bào xốp (glioblastoma: GB), bệnh ung thư dạ dày (gastric cancer: GC), bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (non-small cell lung cancer: NSCLC), bệnh ung thư tụy (pancreatic cancer: PC), caxinom tế bào thận (renal cell carcinoma: RCC), bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính (benign prostate hyperplasia: BPH), bệnh ung thư tuyến tiền liệt (prostate cancer: PCA), bệnh ung thư buồng trứng (ovarian cancer: OC), u melanin, bệnh ung thư vú, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (chronic lymphocytic leukemia: CLL), caxinom tế bào Merkel (Merkel cell carcinoma: MCC), bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (small cell lung cancer: SCLC), u lymphô không Hodgkin (non-Hodgkin lymphoma: NHL), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (acute myeloid leukemia: AML), bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật (gallbladder cancer and cholangiocarcinoma: GBC, CCC), bệnh ung thư bàng quang (urinary bladder cancer: UBC), bệnh ung thư tử cung (uterine cancer: UEC), nói riêng. Cũng cần xác định các yếu tố thể hiện dấu ấn sinh học của bệnh ung thư nói chung và các loại bệnh ung thư nêu trên nói riêng, để chẩn đoán bệnh ung thư, đánh giá tiên lượng, và dự đoán thành công điều trị tốt hơn.

Liệu pháp miễn dịch đối với bệnh ung thư là lựa chọn hướng đích cụ thể của

các tế bào ung thư trong khi làm giảm đến mức tối thiểu các tác dụng phụ. Liệu pháp miễn dịch của bệnh ung thư sử dụng sự tồn tại của các kháng nguyên liên quan đến khối u. Sự phân loại hiện nay của các kháng nguyên liên quan đến khối u (tumor-associated antigen: TAA) bao gồm các nhóm chính sau:

a) Các kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư: các kháng nguyên TAA đầu tiên từng được xác định là có thể được nhận biết bởi tế bào T thuộc về nhóm này, lúc đầu các kháng nguyên này được gọi là kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư (cancer-testis: CT) do sự biểu hiện của các thành viên của nó trong các khối u của người khác nhau về mô học và trong số các mô bình thường, chúng chỉ biểu hiện trong tế bào tinh/nguyên bào tinh của tinh hoàn và đôi khi trong nhau thai. Do các tế bào tinh hoàn không biểu hiện phân tử của HLA nhóm I và II, các kháng nguyên này không thể được nhận biết bởi tế bào T trong các mô bình thường và do đó có thể được cho là đặc hiệu khối u về mặt miễn dịch học. Ví dụ đã biết rõ về kháng nguyên CT là thành viên thuộc họ MAGE hoặc NY-ESO-1.

b) Các kháng nguyên biệt hóa: các kháng nguyên TAA này có mặt trong cả khối u và mô bình thường mà từ đó khối u xuất hiện. Phần lớn các kháng nguyên biệt hóa đã biết này được phát hiện trong u melanin và tế bào melanin bình thường. Nhiều protein trong số các protein liên quan đến dòng tế bào melanin này tham gia vào quá trình sinh tổng hợp melanin và do đó không đặc hiệu khối u nhưng được sử dụng rộng rãi đối với liệu pháp miễn dịch điều trị bệnh ung thư. Ví dụ về chúng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tyrosinaza và Melan-A/MART-1 đối với u melanin hoặc PSA đối với bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

c) Các kháng nguyên TAA được biểu hiện quá mức: các gen mã hoá TAA được biểu hiện rộng rãi đã được phát hiện trong các loại khối u khác nhau về mặt mô học cũng như trong nhiều mô bình thường, thường là có mức độ biểu hiện thấp hơn. Nhiều epitop được xử lý và có thể được biểu hiện bởi mô bình thường có thể ở mức thấp hơn mức ngưỡng đối với sự nhận biết của tế bào T, trong khi sự biểu hiện quá mức của chúng trong tế bào khối u có thể gây ra đáp ứng kháng ung thư bằng cách phá vỡ sự dung nạp đã được thiết lập trước đó. Các ví dụ nổi bật về loại TAA này là Her-2/neu, survivin, telomeraza hoặc WT1.

d) Các kháng nguyên đặc hiệu khối u: Các kháng nguyên TAA đặc biệt này là do sự đột biến các gen bình thường (như β-catenin, CDK4, v.v.). Một số thay đổi

phân tử này có liên quan đến sự biến đổi và/hoặc tiến triển của khối u. Kháng nguyên đặc hiệu khối u có thể thường gây ra đáp ứng miễn dịch mạnh mà không mang nguy cơ phản ứng tự miễn chống lại mô bình thường. Mặt khác, trong hầu hết các trường hợp, các TAA này chỉ liên quan đến khối u chính xác mà trên đó chúng được xác định và thường không có mặt trong nhiều khối u riêng biệt. Độ đặc hiệu khối u (hoặc -mức độ liên quan) của peptit cũng có thể xuất hiện nếu peptit này có nguồn gốc từ exon của khối u (-có liên quan) trong trường hợp các protein có các đồng dạng đặc hiệu khối u (-có liên quan).

e) Các kháng nguyên TAA do các cải biến bất thường sau dịch mã: các TAA này có thể xuất hiện do protein không đặc hiệu và không được biểu hiện quá mức trong khối u nhưng trở thành có liên quan đến khối u do các quá trình sau dịch mã có hoạt tính chủ yếu trong các khối u. Ví dụ về loại kháng nguyên này xuất hiện do kiểu glycosyl hoá biến đổi dẫn tới các epitop mới trong khối u như đối với MUC1 hoặc các sự kiện như ghép nối protein trong quá trình phân huỷ, chúng có thể đặc hiệu khối u hoặc có thể không đặc hiệu khối u.

f) Các protein của virut gây ung thư: các TAA này là các protein của virut có thể đóng vai trò quyết định trong quá trình gây bệnh ung thư và do chúng là protein ngoại lai (không có nguồn gốc từ người), chúng có thể gây ra đáp ứng tế bào T. Ví dụ về các protein này là protein E6 và E7 của virut gây u nhú người typ 16, chúng được biểu hiện trong caxinom cổ tử cung.

Liệu pháp miễn dịch trên cơ sở tế bào T hướng đích là các epitop peptit có nguồn gốc từ các protein liên quan đến khối u hoặc đặc hiệu khối u, được biểu hiện bởi các phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC). Các kháng nguyên được nhận biết bởi tế bào lymphô T đặc hiệu khối u, nghĩa là các epitop của chúng, có thể là các phân tử có nguồn gốc từ tất cả các nhóm protein, như các enzym, thụ thể, yếu tố phiên mã, v.v. được biểu hiện và so sánh với các tế bào không bị thay đổi có cùng nguồn gốc, thường là được điều hòa tăng trong các tế bào của khối u tương ứng.

Có hai nhóm phân tử của MHC là MHC nhóm I và MHC nhóm II. Các phân tử của MHC nhóm I gồm chuỗi nặng alpha và beta-2-microglobulin, các phân tử của MHC nhóm II gồm chuỗi alpha và chuỗi beta. Cấu dạng ba chiều của chúng tạo thành rãnh gắn kết, rãnh này được sử dụng để tương tác không cộng hóa trị với các peptit.

Các phân tử của MHC nhóm I có thể được tìm thấy chủ yếu trên các tế bào có nhân. Chúng là các peptit được tạo ra từ sự phân cắt phân giải protein của phần lớn các protein nội sinh, các sản phẩm ribosom khiếm khuyết (defective ribosomal product: DRIP) và các peptit có phân tử lớn. Tuy nhiên, các peptit có nguồn gốc từ các ngăn thể nhân hoặc nguồn ngoại sinh cũng thường được tìm thấy trên các phân tử của MHC nhóm I. Cách trình diện không cổ điển này của nhóm I còn được gọi là trình diện chéo trong tài liệu chuyên ngành (Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990). Các phân tử của MHC nhóm II có thể được tìm thấy chủ yếu trên các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell: APC) chuyên nghiệp, và chủ yếu là các peptit của các protein ngoại sinh hoặc protein xuyên màng được hấp thụ bởi các tế bào APC, ví dụ, trong quá trình nhập nội bào, và được xử lý sau đó.

Các phức hợp của peptit và MHC nhóm I được nhận biết bởi các tế bào T dương tính với CD8 mang thụ thể thụ thể tế bào T (T-cell receptor: TCR) thích hợp, trong khi các phức hợp của peptit và phân tử MHC nhóm II được nhận biết bởi các tế bào T hỗ trợ dương tính với CD4 mang thụ thể TCR thích hợp. Đã biết rõ rằng thụ thể TCR, peptit và MHC có mặt với lượng theo hệ số tỷ lượng bằng 1:1:1.

Các tế bào T hỗ trợ dương tính với CD4 đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra và duy trì các đáp ứng hữu hiệu nhờ tế bào gây T độc tế bào dương tính với CD8. Việc xác định các epitop của tế bào T dương tính với CD4 có nguồn gốc từ các kháng nguyên liên quan đến khối u (TAA) là điều quan trọng nhất để phát triển các sản phẩm dược để kích thích đáp ứng miễn dịch kháng u (Gnjatic et al., 2003). Ở vị trí khối u, các tế bào T hỗ trợ thúc đẩy xytokin thân thiện với tế bào T gây độc tế bào (cytotoxic T cell: CTL) (Mortara et al., 2006) và thu hút các tế bào hiệu ứng, ví dụ, tế bào CTL, tế bào NK, đại thực bào, tế bào hạt (Hwang et al., 2007).

Khi không có hiện tượng viêm, sự biểu hiện của các phân tử MHC nhóm II chủ yếu bị giới hạn ở các tế bào của hệ miễn dịch, đặc biệt là các tế bào trình diện kháng nguyên (APC) chuyên nghiệp, ví dụ, các bạch cầu đơn nhân to, các tế bào có nguồn gốc từ bạch cầu đơn nhân to, đại thực bào, tế bào đuôi gai. Ở các bệnh nhân mắc bệnh ung thư, các tế bào khối u đã được phát hiện là biểu hiện các phân tử MHC nhóm II (Dengjel et al., 2006).

Các peptit kéo dài theo sáng chế có thể có tác dụng làm các epitop có hoạt tính của MHC nhóm II.

Các tế bào T hỗ trợ, được hoạt hóa bởi epitop của MHC nhóm II, đóng vai trò quan trọng trong việc phối hợp chức năng hiệu ứng của CTL trong sự miễn dịch kháng u. Các epitop của tế bào T hỗ trợ kích thích đáp ứng của tế bào T hỗ trợ về chức năng hiệu ứng thúc đẩy loại TH1 của tế bào T tiêu diệt dương tính với CD8, các chức năng này bao gồm chức năng gây độc tế bào chống lại các tế bào khối u biểu hiện các phức hợp peptit/MHC liên quan đến khối u trên bề mặt tế bào của chúng. Theo cách này, các epitop peptit của tế bào T hỗ trợ liên quan đến khối u, một mình hoặc kết hợp với các peptit liên quan đến khối u khác, có thể dùng làm thành phần dược chất có hoạt tính của chế phẩm vacxin để kích thích các đáp ứng miễn dịch kháng u.

Như được thể hiện trong các mô hình động vật có vú, ví dụ, chuột, ngay cả khi không có mặt các tế bào lymphô T dương tính với CD8, các tế bào T dương tính với CD4 vẫn đủ để ức chế sự biểu hiện của khối u bằng cách ức chế sự tạo mạch nhờ sự tiết ra interferon-gama (interferon-gamma: IFNγ) (Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999). Có bằng chứng về việc tế bào T CD4 làm tế bào hiệu ứng kháng u trực tiếp (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014).

Do sự biểu hiện cấu trúc của các phân tử HLA nhóm II thường bị giới hạn ở các tế bào miễn dịch, trước đây, khả năng phân lập các peptit nhóm II trực tiếp từ khối u nguyên phát được cho là không thể thực hiện. Tuy nhiên, Dengjel và các đồng tác giả đã thành công trong việc nhận biết nhiều epitop của MHC nhóm II trực tiếp từ khối u (WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1).

Do cả hai loại đáp ứng phụ thuộc CD8 và CD4 cùng góp phần và có tác dụng hiệp đồng với hiệu quả kháng u, sự nhận biết và xác định các kháng nguyên liên quan đến khối u được nhận biết bởi các tế bào T CD8+ (phối tử: phân tử MHC nhóm I + epitop peptit) hoặc bởi các tế bào T hỗ trợ T dương tính với CD4 (phối tử: phân tử MHC nhóm II + epitop peptit) là quan trọng trong việc phát triển các vacxin khối u.

Để một peptit của MHC nhóm I gây ra (tạo ra) đáp ứng miễn dịch tế bào, nó cũng phải gắn kết với phân tử MHC. Quá trình này phụ thuộc vào alen của phân tử MHC và hiện tượng đa hình đặc hiệu của trình tự axit amin của peptit. Các peptit gắn kết với MHC nhóm I thường chứa từ 8 đến 12 gốc axit amin trong chiều dài mạch và thường chứa hai gốc bảo toàn ("dạng neo") trong trình tự của chúng để tương tác với

rãnh gắn kết tương ứng của phân tử MHC. Theo cách này, mỗi alen của MHC có một "motif gắn kết" để quyết định việc các peptit có thể gắn kết đặc hiệu với rãnh gắn kết này.

Trong phản ứng miễn dịch phụ thuộc MHC nhóm I, các peptit không chỉ cần phải có khả năng gắn kết với một số phân tử MHC nhóm I nhất định được biểu hiện bởi các tế bào khối u, mà sau đó chúng còn phải được nhận biết bởi các tế bào T mang các thụ thể tế bào T (TCR) đặc hiệu.

Đối với các protein cần được nhận biết bởi các tế bào lymphô T dưới dạng các kháng nguyên đặc hiệu khối u hoặc kháng nguyên liên quan đến khối u, và cần được sử dụng trong liệu pháp, các điều kiện tiên quyết cụ thể phải được đáp ứng. Kháng nguyên này cần được biểu hiện chủ yếu bởi tế bào khối u và không được biểu hiện bởi các mô khỏe mạnh bình thường, hoặc được biểu hiện với lượng tương đối nhỏ. Theo một phương án được ưu tiên, peptit cần được biểu hiện quá mức bởi các tế bào khối u so với các mô khỏe mạnh bình thường. Ngoài ra, tốt hơn nếu kháng nguyên tương ứng không chỉ có mặt ở một loại khối u, mà còn có mặt với nồng độ cao (nghĩa là số lượng bản sao của peptit tương ứng trong mỗi tế bào). Kháng nguyên đặc hiệu khối u và kháng nguyên liên quan đến khối u thường có nguồn gốc từ các protein tham gia trực tiếp vào quá trình biến đổi của tế bào bình thường thành tế bào khối u do chức năng của chúng, ví dụ, trong việc kiểm soát hoặc ức chế chu trình tế bào của quá trình chết tế bào theo chương trình. Ngoài ra, các đích xuôi dòng của protein là nguyên nhân trực tiếp của sự biến đổi có thể được điều hòa tăng và do đó có thể liên quan gián tiếp với khối u. Các kháng nguyên liên quan gián tiếp với khối u này cũng có thể là đích của phương pháp tiêm chủng (Singh-Jasuja et al., 2004). Điều quan trọng là các epitop có mặt trong trình tự axit amin của kháng nguyên để đảm bảo rằng peptit này ("peptit gây miễn dịch"), có nguồn gốc từ kháng nguyên liên quan với khối u, điều này dẫn đến đáp ứng của tế bào T *in vitro* hoặc *in vivo*.

Về cơ bản, peptit bất kỳ có khả năng gắn kết với phân tử MHC có thể có chức năng làm epitop của tế bào T. Điều kiện tiên quyết để gây ra đáp ứng của tế bào T *in vitro* hoặc *in vivo* là sự có mặt của tế bào T có thụ thể TCR tương ứng và không có sự dung nạp miễn dịch đối với epitop cụ thể này.

Do đó, các kháng nguyên TAA là điểm xuất phát của sự phát triển liệu pháp

trên cơ sở tế bào T bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vacxin khối u. Các phương pháp để nhận biết và xác định kháng nguyên TAA thường dựa trên việc sử dụng các tế bào T có thể được phân lập ra khỏi bệnh nhân hoặc đối tượng khỏe mạnh, hoặc các phương pháp này dựa trên sự tạo ra các profin phiên mã khác nhau hoặc các kiểu biểu hiện peptit khác nhau giữa mô khối u và mô bình thường. Tuy nhiên, việc xác định các gen được biểu hiện quá mức trong mô khối u hoặc dòng tế bào khối u ở người, hoặc được biểu hiện chọn lọc ở các mô hoặc dòng tế bào này, không cung cấp thông tin chính xác để sử dụng các kháng nguyên cần được phiên mã từ các gen này trong liệu pháp miễn dịch. Điều này là do chỉ các tiểu quần thể riêng biệt của các epitop của các kháng nguyên này là thích hợp cho ứng dụng này do các tế bào T cùng với thụ thể TCR tương ứng cần có mặt và không được có sự dung nạp miễn dịch đối với epitop cụ thể này hoặc sự dung nạp này ở mức rất nhỏ. Do đó, theo phương án rất được ưu tiên của sáng chế, điều quan trọng là chỉ chọn lọc các peptit được biểu hiện quá mức hoặc được biểu hiện chọn lọc đối với tế bào T chức năng và/hoặc tăng sinh cần được phát hiện. Tế bào T chức năng này được được định nghĩa là tế bào T mà khi kích thích bằng kháng nguyên đặc hiệu, nó có thể được mở rộng về dòng vô tính và có thể thực hiện chức năng hiệu ứng ("tế bào T hiệu ứng").

Trong trường hợp hướng đích peptit-MHC bằng các thụ thể TCR đặc hiệu (ví dụ, các thụ thể TCR hòa tan) và các kháng thể hoặc phân tử gắn kết khác (khung) theo sáng chế, tính sinh miễn dịch của các peptit cơ sở là thứ yếu. Trong các trường hợp này, sự biểu hiện là yếu tố quyết định.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc trình tự biến thể của nó có mức độ tương đồng ít nhất 77%, tốt hơn là ít nhất 88% (tốt hơn là có mức độ giống ít nhất 77% hoặc ít nhất 88%) với các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, trong đó biến thể này gắn kết với MHC và/hoặc gây ra phản ứng chéo của các tế bào T với peptit nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó peptit này không là polypeptit cơ sở có chiều dài đầy đủ.

Trong khi tiêu chuẩn quan trọng nhất để peptit có chức năng làm đích của liệu

pháp ung thư là sự biểu hiện quá mức của nó trên các mô khối u nguyên phát so với các mô bình thường, profin biểu hiện ARN của gen tương ứng cũng có thể giúp chọn các peptit thích hợp. Cụ thể, khó phát hiện được một số peptit bằng phương pháp khổ khối lượng, do các tính chất hóa học của chúng hoặc do số lượng bản sao trên tế bào của chúng thấp, và phương pháp sàng lọc tập trung vào việc phát hiện sự biểu hiện của peptit có thể không xác định được các đích này. Tuy nhiên, các đích này có thể được phát hiện bằng phương pháp khác, trong đó trước tiên là phân tích sự biểu hiện gen ở các mô bình thường và và sau đó đánh giá sự biểu hiện của peptit và sự biểu hiện gen trong các khối u. Phương pháp này được thực hiện trong đơn sáng chế bằng cách sử dụng dữ liệu ARN thông tin từ cơ sở dữ liệu có sẵn công khai (Lonsdale, 2013) kết hợp với dữ liệu biểu hiện gen khác (bao gồm cả các mẫu khối u), cũng như dữ liệu biểu hiện peptit. Nếu ARN thông tin của gen gần như không có trong các mô bình thường, đặc biệt là trong các hệ cơ quan quan trọng cho sự sống, việc hướng đích là các peptit tương ứng bằng các chiến lược thậm chí rất có tiềm năng (như kháng thể được tối ưu hóa có ái lực đặc hiệu kép hoặc các thụ thể tế bào T), có nhiều khả năng về độ an toàn. Các peptit này, ngay cả khi chỉ được xác định trên mô khối u với tỷ lệ % nhỏ, là các đích quan tâm. Phương pháp phân tích khổ khối lượng thông thường không đủ độ nhạy để đánh giá khoảng đích của nồng độ peptit. Đúng hơn là sự biểu hiện ARN thông tin của khối u có thể được sử dụng để đánh giá khoảng biểu hiện đích. Để phát hiện chính peptit này, phương pháp khổ khối lượng hướng đích với độ nhạy cao hơn độ nhạy trong phương pháp sàng lọc thông thường có thể là cần thiết và có thể dẫn đến việc ước tính khoảng biểu hiện đích tốt hơn đối với mức độ biểu hiện của peptit.

Sáng chế còn đề xuất peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc biến thể của nó, có mức độ tương đồng ít nhất 77%, tốt hơn là ít nhất 88% (tốt hơn là có mức độ giống ít nhất 77% hoặc ít nhất 88%) với các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, trong đó peptit này hoặc biến thể của nó có từ 8 đến 100 axit amin, tốt hơn là có từ 8 đến 30 axit amin, và được ưu tiên nhất là có từ 8 đến 20 axit amin trong toàn bộ chiều dài mạch.

Sáng chế còn đề xuất axit nucleic mã hóa các peptit theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện và/hoặc biểu hiện

axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất kháng thể đặc hiệu với peptit theo sáng chế hoặc phức hợp của các peptit theo sáng chế với MHC, và phương pháp tạo ra chúng.

Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ chứa axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện như được mô tả trên đây. Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ theo sáng chế là tế bào trình diện kháng nguyên, và tốt hơn nếu là tế bào đuôi gai.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo ra peptit theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế, và phân lập peptit ra khỏi tế bào chủ này hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

Sáng chế còn đề xuất các tế bào T hoạt hóa, được tạo ra bằng phương pháp theo sáng chế, trong đó tế bào T này nhận biết chọn lọc tế bào biểu hiện polypeptit chứa trình tự axit amin theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất kit bao gồm:

(a) đồ chứa để đựng dược phẩm như đã mô tả trên đây, ở dạng dung dịch hoặc dạng đông khô nhanh;

(b) tùy ý, đồ chứa thứ hai để đựng chất pha loãng hoặc dung dịch hoàn nguyên dùng cho chế phẩm dạng đông khô nhanh; và

(c) tùy ý, các hướng dẫn để (i) sử dụng dung dịch hoặc (ii) hoàn nguyên và/hoặc sử dụng chế phẩm dạng đông khô nhanh.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện sự biểu hiện quá mức của các peptit khác nhau trong các mô ung thư khác nhau so với các mô bình thường. Các phép phân tích được thực hiện với dữ liệu từ hơn 170 mẫu mô bình thường, và 376 mẫu mô ung thư. Các mẫu được thể hiện chỉ là các mẫu trong đó peptit được phát hiện là có biểu hiện. Fig.1A) Gen: CENPE, Peptit: KLQEKIQEL (SEQ ID NO.: 1), các mô từ trái sang phải: 4 dòng tế bào ung thư bạch cầu, 1 dòng tế bào ung thư tụy, 1 dòng tế bào u melanin, 2 mẫu mô bình thường (1 tuyến thượng thận, 1 lách), 31 mẫu mô ung thư nguyên phát (1 bệnh ung thư não, 4 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư gan, 16 bệnh ung thư phổi, 4 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư dạ dày), Fig.1B) Gen: KIF15, Peptit: QLIEKNWLL (SEQ ID NO.: 10), các mô từ trái sang phải: 5 dòng tế bào ung thư bạch cầu, 1 dòng

tế bào ung thư tụy, 1 dòng tế bào bạch cầu tủy bào, 1 mẫu mô bình thường (1 tuyến thượng thận), 29 mẫu mô ung thư (4 bệnh ung thư ruột kết, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư bạch cầu, 1 bệnh ung thư gan, 10 bệnh ung thư phổi, 11 bệnh ung thư buồng trứng), Fig.1C) Gen: HAVCR1, Peptit: LLDPKTIFL (SEQ ID NO.: 11), các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào ung thư thận, 13 mẫu mô ung thư (8 bệnh ung thư thận, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư trực tràng), Fig.1D) Gen: RPGRIP1L, Peptit: RLHDENILL (SEQ ID NO.: 13), các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào ung thư thận, 1 dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt, 1 dòng tế bào u melanin, 50 mẫu mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư ruột kết, 2 bệnh ung thư thực quản, 3 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư gan, 23 bệnh ung thư phổi, 7 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư tụy, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư dạ dày), các hình vẽ từ Fig.1E đến Fig.1J thể hiện sự biểu hiện quá mức của các peptit khác nhau trong các mô ung thư khác nhau so với các mô bình thường. Các phép phân tích được thực hiện với dữ liệu từ hơn 320 mẫu mô bình thường, và 462 mẫu mô ung thư. Các mẫu được thể hiện chỉ là các mẫu trong đó peptit được phát hiện là có biểu hiện. Fig.1E) Gen: DNAH14, Peptit: SVLEKEIYSI (SEQ ID NO.: 2), các mô từ trái sang phải: 4 dòng tế bào (3 tế bào máu, 1 tụy), 2 các mô bình thường (1 hạch bạch huyết, 1 khí quản), 52 mô ung thư (2 ung thư ống mật chủ, 1 ung thư tế bào tủy, 3 bệnh ung thư bạch cầu, 5 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư dạ dày và thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 4 bệnh ung thư ruột kết, 7 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 7 bệnh ung thư buồng trứng, 4 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 4 bệnh ung thư da, 2 bệnh ung thư bàng quang, 4 bệnh ung thư tử cung), Fig.1F) Gen: MAGEA3, MAGEA6, Peptit: KIWEELSVLEV (SEQ ID NO.: 40), các mô từ trái sang phải: 8 mô ung thư (1 bệnh ung thư gan, 3 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư da, 1 bệnh ung thư dạ dày, 1 bệnh ung thư bàng quang), Fig. 1G) Gen: HMX1, Peptit: FLIENLLAA (SEQ ID NO.: 67), các mô từ trái sang phải: 7 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tử cung), Fig.1H) Gen: CCDC138, Peptit: FLLEREQLL (SEQ ID NO.: 84), các mô từ trái sang phải: 3 dòng tế bào (2 tế bào máu, 1 da), 24 mô ung thư (1 ung thư tế bào tủy, 3 bệnh ung thư bạch cầu, 1 bệnh ung thư tủy xương, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư ruột kết, 3 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư phổi, 7 bệnh ung thư

hạch bạch huyết, 3 bệnh ung thư bàng quang, 1 bệnh ung thư tử cung), Fig.1I) Gen: CLSPN, Peptit: SLLNQPKAV (SEQ ID NO.: 235), các mô từ trái sang phải: 13 dòng tế bào (3 tế bào máu, 2 thận, 8 tụy), 30 mô ung thư (1 ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư bạch cầu, 2 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư vú, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư trực tràng, 2 bệnh ung thư gan, 4 bệnh ung thư phổi, 5 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư da, 4 bệnh ung thư bàng quang, 1 bệnh ung thư tử cung), Fig.1J) Gen: SPC25, Peptit: GLAEFQENV (SEQ ID NO.: 243), các mô từ trái sang phải: 3 dòng tế bào (1 tế bào máu, 1 thận, 1 tụy), 67 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 4 bệnh ung thư bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 2 bệnh ung thư não, 3 bệnh ung thư vú, 4 bệnh ung thư thực quản, 2 bệnh ung thư túi mật, 2 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 2 bệnh ung thư gan, 15 bệnh ung thư phổi, 8 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 9 bệnh ung thư buồng trứng, 3 bệnh ung thư da, 4 bệnh ung thư bàng quang, 6 bệnh ung thư tử cung).

Fig.2 thể hiện profin biểu hiện làm ví dụ (sự biểu hiện tương đối so với thận bình thường) của các gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện cao quá mức hoặc chỉ được biểu hiện trong các mô ung thư khác nhau so với nhóm các mô bình thường. Fig.2A) PRIM2 - các mô từ trái sang phải: tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não (toàn phần), vú, ruột kết, thực quản, tim, thận (ba mẫu), bạch cầu, gan, phổi, hạch bạch huyết, buồng trứng, tụy, nhau thai, tuyến tiền liệt, tuyến nước bọt, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày, tinh hoàn, tuyến ức, tuyến giáp, bàng quang, cổ tử cung, tử cung, tĩnh mạch (mỗi mẫu bình thường là hỗn hợp mẫu của vài người cho), 22 mẫu mô ung thư tuyến tiền liệt riêng biệt, Fig.2B) CHEK1 - các mô từ trái sang phải: tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não (toàn phần), vú, ruột kết, thực quản, tim, thận (ba mẫu), bạch cầu, gan, phổi, hạch bạch huyết, buồng trứng, tụy, nhau thai, tuyến tiền liệt, tuyến nước bọt, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày, tinh hoàn, tuyến ức, tuyến giáp, bàng quang, cổ tử cung, tử cung, tĩnh mạch (mỗi mẫu bình thường là hỗn hợp mẫu của vài người cho), 3 mẫu mô ung thư ruột kết riêng biệt, 10 mẫu mô ung thư kết-trực tràng riêng biệt, Fig.2C) TTC30A - các mô từ trái sang phải: tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não (toàn phần), vú, ruột kết, thực quản, tim, thận (ba mẫu), bạch cầu, gan, phổi, hạch bạch huyết, buồng trứng, tụy, nhau thai, tuyến tiền liệt, tuyến nước bọt, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày,

tinh hoàn, tuyến ức, tuyến giáp, bàng quang, cổ tử cung, tử cung, tĩnh mạch (mỗi mẫu bình thường là hỗn hợp mẫu của vài người cho), 30 mẫu mô ung thư não riêng biệt, Fig.2D) TRIP13 - các mô từ trái sang phải: tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não (toàn phần), vú, ruột kết, thực quản, tim, thận (ba mẫu), bạch cầu, gan, phổi, hạch bạch huyết, buồng trứng, tụy, nhau thai, tuyến tiền liệt, tuyến nước bọt, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày, tinh hoàn, tuyến ức, tuyến giáp, bàng quang, cổ tử cung, tử cung, tĩnh mạch (mỗi mẫu bình thường là hỗn hợp mẫu của vài người cho), 1 mẫu mô phổi bình thường riêng biệt, 38 mẫu mô ung thư phổi riêng biệt, Fig.2E) MXRA5 - các mô từ trái sang phải: tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não (toàn phần), vú, ruột kết, thực quản, tim, thận (ba mẫu), bạch cầu, gan, phổi, hạch bạch huyết, buồng trứng, tụy, nhau thai, tuyến tiền liệt, tuyến nước bọt, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày, tinh hoàn, tuyến ức, tuyến giáp, bàng quang, cổ tử cung, tử cung, tĩnh mạch (mỗi mẫu bình thường là hỗn hợp mẫu của vài người cho), 9 mẫu mô ung thư tụy riêng biệt. Các hình vẽ từ Fig.2F đến Fig.2H thể hiện các profin biểu hiện làm ví dụ của gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện cao quá mức hoặc chỉ được biểu hiện ở bệnh ung thư trong nhóm các mô bình thường (cột màu trắng) và các mẫu mô ung thư khác nhau (cột màu đen). Fig.2F) MMP11, MMP13 (Seq ID No 24) - các mô từ trái sang phải: 80 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 2 tế bào máu, 2 não, 1 tim, 2 gan, 3 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 mắt, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 4 tụy, 2 dây thần kinh ngoại vi, 2 tuyến yên, 1 trực tràng, 2 tuyến nước bọt, 2 cơ xương, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến giáp, 7 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 5 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tuyến ức, 1 tử cung), 50 mẫu mô ung thư (10 bệnh ung thư vú, 4 ung thư ống mật chủ, 6 bệnh ung thư túi mật, 11 bệnh ung thư thực quản, 10 bệnh ung thư bàng quang, 10 bệnh ung thư tử cung), Fig.2G) HORMAD1 (Seq ID No 168) - các mô từ trái sang phải: 80 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 2 tế bào máu, 2 não, 1 tim, 2 gan, 3 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 mắt, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 4 tụy, 2 dây thần kinh ngoại vi, 2 tuyến yên, 1 trực tràng, 2 tuyến nước bọt, 2 cơ xương, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến giáp, 7 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 5 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tuyến ức, 1 tử cung), 41 mẫu mô ung thư (10 bệnh ung thư vú, 10 bệnh ung

thư da, 11 bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, 10 bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ), Fig.2H) IGF2BP1, IGF2BP3 (Seq ID No 274) - các mô từ trái sang phải: 80 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 2 tế bào máu, 2 não, 1 tim, 2 gan, 3 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 mắt, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 4 tụy, 2 dây thần kinh ngoại vi, 2 tuyến yên, 1 trực tràng, 2 tuyến nước bọt, 2 cơ xương, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến giáp, 7 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 5 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tuyến ức, 1 tử cung), 53 mẫu mô ung thư (4 ung thư ống mật chủ, 6 bệnh ung thư túi mật, 10 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 12 bệnh ung thư buồng trứng, 11 bệnh ung thư thực quản, 10 bệnh ung thư phổi).

Fig.3 thể hiện số liệu về tính gây miễn dịch làm ví dụ: kết quả đếm tế bào theo dòng sau khi nhuộm multime đặc hiệu peptit.

Các hình vẽ từ Fig.4A đến Fig.4R thể hiện trong phần trên: Cường độ tín hiệu MS trung bình từ các phép đo sao chép kỹ thuật được vẽ đồ thị theo các điểm chấm màu của mẫu bình thường dương tính với một HLA-A*02 (chấm màu xanh lá cây hoặc máu xám) và các mẫu khối u (chấm màu đỏ) mà peptit được phát hiện trên đó. Các mẫu khối u và mẫu bình thường được chia nhóm theo nguồn gốc của cơ quan, và biểu đồ hộp và râu thể hiện giá trị trung bình, phân vị thứ 25 và 75 (hộp), và giá trị nhỏ nhất và lớn nhất (râu) của cường độ tín hiệu được chuẩn hóa so với nhiều mẫu. Các cơ quan bình thường được sắp xếp theo nhóm nguy cơ (tế bào máu, hệ tim mạch, não, gan, phổi: nguy cơ cao, chấm màu xanh lá cây sẫm; các cơ quan sinh sản, vú, tuyến tiền liệt: nguy cơ thấp, chấm màu xám; tất cả các cơ quan còn lại: nguy cơ trung bình; chấm màu xanh lá cây nhạt). Phần dưới: tần suất phát hiện peptit tương đối trong mỗi cơ quan được thể hiện dưới dạng biểu đồ cột sống. Các số bên dưới biểu đồ thể hiện số lượng mẫu mà peptit được phát hiện trên đó so với tổng số mẫu được phân tích của mỗi cơ quan (N = 298 đối với mẫu bình thường, N = 461 đối với mẫu khối u). Nếu peptit được phát hiện trên mẫu nhưng không thể định lượng được do các lý do về kỹ thuật, mẫu này được thể hiện trong biểu đồ tần suất phát hiện nhưng không được thể hiện trong phần trên của hình vẽ. Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: động mạch; tế bào máu; não; tim; gan; phổi; tĩnh mạch, mỡ: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; gallb: túi mật; LN: hạch bạch huyết; panc:

tụy: parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; da; sm.int: ruột non; lách; dạ dày; tuyến giáp; khí quản; niệu quản; bàng quang; vú; buồng trứng; nhau thai; tuyến tiền liệt; tinh hoàn; tuyến ức; tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung.

Các hình vẽ từ Fig.5A đến Fig.5R thể hiện các profin biểu hiện làm ví dụ của gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện quá mức trong các mẫu mô ung thư khác nhau. Các mẫu khối u (chấm màu đỏ) và mẫu bình thường (chấm màu xanh lá cây hoặc màu xám) được chia nhóm theo nguồn gốc của cơ quan, và biểu đồ hộp và râu thể hiện giá trị RPKM trung bình, phân vị thứ 25 và 75 (hộp), và giá trị nhỏ nhất và giá trị lớn nhất (râu). Các cơ quan bình thường được phân theo nhóm nguy cơ. RPKM = số đọc cho một kilo bazơ cho một triệu lần đọc được vẽ bản đồ. Các mẫu bình thường: động mạch; tế bào máu; não; tim; gan; phổi; tĩnh mạch, mỡ: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; esoph: thực quản; eye; gallb: túi mật; thận; LN: hạch bạch huyết; dây thần kinh; panc: tụy: pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; da; sm.int: ruột non; lách; dạ dày; tuyến giáp; khí quản; bàng quang; vú; buồng trứng; nhau thai; tuyến tiền liệt; tinh hoàn; tuyến ức; tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử

cung và màng trong tử cung.

Các hình vẽ từ Fig.6A đến Fig.6M thể hiện kết quả làm ví dụ của mức độ đáp ứng tế bào T CD8+ đặc hiệu peptit *in vitro* của người cho khỏe mạnh dương tính với HLA-A*02. Các tế bào T CD8+ được gắn mồi bằng cách sử dụng các tế bào trình diện kháng nguyên (APC) nhân tạo được phủ kháng thể đơn dòng mAb kháng CD28 và HLA-A*02 trong phức hợp với, ví dụ, peptit có trình tự SeqID No 11 (A, ô bên trái) hoặc peptit có trình tự SeqID No 14 (B, ô bên trái), tương ứng (SeqID No 157 (C), 233 (D), 85 (E), 89 (F), 155 (G), 153 (H), 264 (I), 117 (J), 253 (K), 39 (L), và 203 (M)). Sau ba chu trình kích thích, phát hiện các tế bào có khả năng phản ứng với peptit bằng cách nhuộm bằng multime 2D với multime thích hợp, ví dụ, A*02/SeqID No 11 (A) hoặc A*02/SeqID No 14 (B). Các ô bên phải (ví dụ, A và B) thể hiện kết quả nhuộm tế bào đối chứng được kích thích bằng phức hợp A*02/peptit không liên quan. Các tế bào đơn lẻ còn sống được tạo cổng cho các tế bào lymphô CD8+. Các cổng Boolean giúp loại trừ các sự kiện dương tính giả phát hiện đực bằng multime đặc hiệu với các peptit khác nhau. Tần suất của các tế bào multime+ đặc hiệu trong số các tế bào lymphô CD8+ được thể hiện.

Các hình vẽ từ Fig.7A đến Fig.7C thể hiện sự biểu hiện quá mức của các peptit khác nhau trong các mô ung thư khác nhau so với các mô bình thường. Các phép phân tích được thực hiện với dữ liệu từ hơn 320 mẫu mô bình thường, và 462 mẫu mô ung thư. Các mẫu được thể hiện chỉ là các mẫu trong đó peptit được phát hiện là có biểu hiện. Fig.7A) Gen: CCR8, Peptit: LLIPFTIFM (SEQ ID NO.: 43), các mô từ trái sang phải: 16 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư ruột kết, 7 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 3 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư da); Fig.7B) Gen: CXCR5, Peptit: ILVTSIFFL (SEQ ID NO.: 152), các mô từ trái sang phải: 6 các mô bình thường (1 hạch bạch huyết, 5 lách), 16 mô ung thư (8 bệnh ung thư bạch cầu, 8 bệnh ung thư hạch bạch huyết); Fig.7C) Gen: CYSLTR1, Peptit: VILTSSPFL (SEQ ID NO.: 156), các mô từ trái sang phải: 3 mô bình thường (1 phổi, 1 hạch bạch huyết, 1 lách), 11 mô ung thư (2 bệnh ung thư vú, 5 bệnh ung thư bạch cầu, 3 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 ung thư tế bào tủy).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các bảng sau đây thể hiện các peptit theo sáng chế, các số trình tự nhận biết tương ứng của chúng, và gen nguồn (cơ sở) triển vọng của các peptit này. Tất cả các peptit trong Bảng 1 và Bảng 2 đều gắn kết với HLA-A*02. Tất cả các peptit trong Bảng 2 đã được bộc lộ trước đó trong danh mục lớn theo kết quả của công nghệ cho phép sàng lọc thông lượng cao với tỷ lệ sai số cao hoặc được tính toán bằng cách sử dụng các thuật toán, nhưng không hề liên quan đến bệnh ung thư trước đó.

Bảng 1: các peptit theo sáng chế

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
1	KLQEKIQEL	1062	CENPE
2	SVLEKEIYSI	127602	DNAH14
3	RVIDDSLVVGV	2187	FANCB
4	VLFGELPAL	8701	DNAH11
5	GLVDIMVHL	8701	DNAH11
6	FLNAIETAL	8701	DNAH11
7	ALLQALMEL	51236, 728071	FAM203A, FAM203B
8	ALSSSQAEV	3833	KIFC1
9	SLITGQDLLSV	51804	SIX4
10	QLIEKNWLL	56992	KIF15
11	LLDPKTIFL	26762	HAVCR1
12	RLLDPKTIFL	26762	HAVCR1
13	RLHDENILL	23322	RPGRIP1L
14	YTFSGDVQL	4312	MMP1
15	GLPSATTTV	94025	MUC16
16	SLADLSLLL	134391	GPR151
17	GLLPSAESIKL	132989	C4orf36
18	KTASINQNV	81930	KIF18A
19	KVFELDLVTL	1063	CENPF
20	ALVEKGEFAL	1063	CENPF
21	YLMDDFSSL	1293	COL6A3
22	LMYPYIYHV	54954	FAM120C
23	ALLSPLSLA	4017,9583	LOXL2,ENTPD4

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
24	KVWSDVTPL	4320,4322	MMP11,MMP13
25	LLWGHPRVALA	25878	MXRA5
26	VLDGKVAVV	6660	SOX5
27	GLLGKVTSV	51297	BPIFA1
28	IKVTDPQLLEL	51297	BPIFA1
29	KMISAIPTL	94025	MUC16
30	IITEVITRL	94025	MUC16
31	GLLETTGLLAT	94025	MUC16
32	VVMVLVLML	94025	MUC16
33	TLDRNSLYV	94025	MUC16
34	TLNTLDINL	94025	MUC16
35	VIIKGLEEI	3832	KIF11
36	TVLQELINV	3832	KIF11
37	QIVELIEKI	3832	KIF11
38	VLQQESNFL	63967	CLSPN
39	YLEDGFAYV	5558	PRIM2
40	KIWEELSVLEV	4102,4105	MAGEA3,MAGEA6
41	IVTEIISEI	64151	NCAPG
42	KQMSISTGL	64151	NCAPG
43	LLIPFTIFM	1237	CCR8
44	AVFNLVHVV	56923	NMUR2
45	FLPVSVVYV	56923	NMUR2
46	ISLDEVAVSL	144455	E2F7
47	GLNGFNVLL	144455	E2F7
48	KISDFGLATV	1111	CHEK1
49	KLIGNIHGNEV	8532	CPZ
50	ILLSVLHQL	8532	CPZ
51	LDSEALLTL	84467	FBN3
52	TIGIPFPNV	83990	BRIP1
53	AQHLSTLLL	1469	CST1
54	YLVPGLVAA	64180	DPEP3

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
55	HLFDKIIKI	654463	FER1L6
56	VLQENSSDYQSNL	3188	HNRNPH2
57	TLYPGRFDYV	338322	NLRP10
58	HLLGEGAFAQV	699	BUB1
59	ALADGIKSFLL	5296	PIK3R2
60	YLFSQGLQGL	2491	CENPI
61	ALYPKEITL	203102	ADAM32
62	SLVENIHVL	675	BRCA2
63	KLLPMVIQL	246	ALOX15
64	SLYAGSNNQV	246	ALOX15
65	SLSEKSPEV	158511,728461	CSAG1,CSAG2
66	AMFPDTIPRV	285220	EPHA6
67	FLIENLLAA	3166	HMX1
68	QLMNLIRSV	51124	IER3IP1
69	LKVLKADVVL	259307	IL4I1
70	GLTEKTVLV	24137,285643	KIF4A,KIF4B
71	HMSGKLTNV	55771	PRR11
72	VLSTRVTNV	55771	PRR11
73	SVPKTLGV	11280	SCN11A
74	GLAFLPASV	6570	SLC18A1
75	ALLDGALQL	6570	SLC18A1
76	FTAEFLEKV	79801	SHCBP1
77	ALYGNVQQV	91646	TDRD12
78	LFQSRIAGV	7579	ZSCAN20
79	TVLEEIGNRV	9133	CCNB2
80	VLTGQVHEL	10715	CERS1
81	ILAEEPIYI	55655	NLRP2
82	ILAEEPIYIRV	55655	NLRP2
83	GLLENSPHL	25788	RAD54B
84	FLLEREQLL	165055	CCDC138
85	KLLDKPEQFL	342184	FMN1

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
86	SLFSNIESV	54848	ARHGEF38
87	KLLSLLEEA	54848	ARHGEF38
88	LLLPLELSLA	374946	DRAXIN
89	SLAETIFIV	3359	HTR3A
90	AILNVDEKNQV	3359	HTR3A
91	LLPSIFLMV	3359	HTR3A
92	RLFEEVLGV	9816	URB2
93	RLYGYFHDA	6790	AURKA
94	YLDEVAFML	1238	CCBP2
95	KLIDEDEPLFL	1767	DNAH5
96	ALDTTRHEL	93323	HAUS8
97	KLFEKSTGL	23421	ITGB3BP
98	FVQEKIPEL	84944	MAEL
99	TLFGIQLTEA	84944	MAEL
100	ALQSFEFRV	56130	PCDHB6
101	SLLEVNEASSV	149628	PYHIN1
102	GLYPVTLVGV	83696	TRAPPC9
103	YLADTVQKL	100526761,54937	CCDC169-SOHLH2,SOHLH2
104	DLPTQEPALGTT	354	KLK3
105	AMLASQTEA	4295	MLN
106	VLLGSVVIFA	4477	MSMB
107	RVLPGQAVTGV	55247	NEIL3
108	FIANLPPELKA	6013	RLN1
109	ILGSFELQL	7047	TGM4
110	QIQGQVSEV	7047	TGM4
111	AQLEGKLVSI	3161	HMMR
112	ILAQDVAQL	24137	KIF4A
113	FLFLKEVKV	54596	L1TD1
114	LLFPSDVQTL	23397	NCAPH
115	ILHGEVNKV	54830	NUP62CL

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
116	ALLSSVAEA	9048	ARTN
117	TLLEGISRA	26256	CABYR
118	IAYNPNGNAL	3824	KLRD1
119	SLIEESEEL	284217	LAMA1
120	LQLJPLKGLSL	6241	RRM2
121	ALYVQAPTV	9319	TRIP13
122	SIIDTELKV	9319	TRIP13
123	QTAPEEAFIKL	150737,92104	TTC30B,TTC30A
124	ALLLRLFTI	11169	WDHD1
125	AALEVLAEV	11130	ZWINT
126	QLREAFEQL	11130	ZWINT
127	IMKATGLGIQL	154664	ABCA13
128	SILTNISEV	24	ABCA4
129	KMASKVTQV	132612	ADAD1
130	QLYGSAITL	158067	AK8
131	SLYPHFTLL	440138	ALG11
132	ALLNNVIEV	57101	ANO2
133	FLDGRPLTL	83734	ATG10
134	SLYKSFLQL	527	ATP6V0C
135	HLDTVKIEV	135152	B3GAT2
136	LLWDAPAKC	192134	B3GNT6
137	KLIYKDLVSV	85016	C11orf70
138	GIINKLVTV	440087	C12orf69
139	IILENIQSL	55732	C1orf112
140	FLDSQITTV	255119	C4orf22
141	NIDINNNEL	57082	CASC5
142	LLDAAHASI	284992	CCDC150
143	MLWESIMRV	166979	CDC20B
144	FLISQTPLL	60437	CDH26
145	ALEEKLENV	79172	CENPO
146	VVAAHLAGA	148113	CILP2

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
147	GLLSALENV	1269	CNR2
148	YLILSSHQL	1269	CNR2
149	NMADGQLHQV	728577,79937	CNTNAP3B,CNTNAP3
150	VLLDMVHSL	100507170,255313,653282,728036,728042,728049,728062,728072,728075,728082,728090,728096	CT47A12,CT47A11,CT47A7,CT47A10,CT47A9,CT47A8,CT47A6,CT47A5,CT47A4,CT47A3,CT47A2,CT47A1
151	DISKRIQSL	100128553,220429,341689,4253,64693	CTAGE4,CTAGE10P,CTAGE16P,CTAGE5,CTAGE1
152	ILVTSIFFL	643	CXCR5
153	KLVELEHTL	203413	CXorf61
154	AIIKEIQTV	1588	CYP19A1
155	TLDSYLKAV	163720,199974	CYP4Z2P,CYP4Z1
156	VILTSSPFL	10800	CYSLTR1
157	ILQDGQFLV	138009	DCAF4L2
158	YLDPLWHQL	2072	ERCC4
159	QLGPVPVTI	285966	FAM115C
160	TLQEWLTEV	167555	FAM151B
161	NLLDENVCL	26290	GALNT8
162	GLLGNLLTSL	51608	GET4
163	GLEERLYTA	29933	GPR132
164	MLIIRVPSV	80000	GREB1L
165	SLLDYEVSI	116444	GRIN3B
166	LLGDSSFFL	283254	HARBI1
167	LVVDEGSLVSV	92797	HELB
168	VIFEGEPMYL	84072	HORMAD1
169	ALADLSVAV	3363	HTR7
170	FIAAVVEKV	203100	HTRA4
171	LLLLDVPTA	10437	IFI30

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
172	SLYLQMNSLRTE	28426	IGHV3-43
173	RLIDIYKNV	338567	KCNK18
174	ALYSGDLHAA	157855	KCNU1
175	SLLDLVQSL	57536	KIAA1328
176	VQSGLRILL	57650	KIAA1524
177	ALINVLNAL	146909	KIF18B
178	SLVSWQLLL	3814	KISS1
179	TLGEIIKGV	402569	KPNA7
180	RLYEEEIRI	3887,3889	KRT81,KRT83
181	LLWAPTAQA	389812	LCN15
182	GLQDGFQITV	284194,654346	LGALS9B,LGALS9C
183	ALSYILPYL	147172	LRRC37BP1
184	ALDSTIAHL	149499	LRRC71
185	TLYQGLPAEV	80131	LRRC8E
186	SLLSLESRL	57408	LRTM1
187	SILKEDPFL	346389	MACC1
188	VLGEEQEGV	4108,728269	MAGEA9,MAGEA9B
189	MAVSDLLIL	2862	MLNR
190	SLSTELFKV	4622,4626	MYH4,MYH8
191	AAIEIFEKV	55728	N4BP2
192	TLLPSSGLVTL	344148	NCKAP5
193	ALFHMNILL	126206	NLRP5
194	KLLEEVQLL	126206	NLRP5
195	VIIQNLPAL	387129	NPSR1
196	TLHQWIYYL	120406	NXPE2
197	LGGPTSLLHV	390038	OR51D1
198	ILTNKVVSV	119678	OR52E2
199	SVADLAHVL	27334	P2RY10
200	IMPTFDLTKV	203569,389860	PAGE2,PAGE2B
201	LLFSLLCEA	51050	PI15
202	ALAKDELSL	120379	PIH1D2

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
203	FLFVDPELV	146850	PIK3R6
204	SEWGSPHAAVP	5539	PPY
205	LAFGYDDEL	391004,654348	PRAMEF17,PRAMEF16
206	GLDAFRIFL	431704	RGS21
207	KLFETVEEL	6121	RPE65
208	HLNNDRNPL	6406	SEMG1
209	VLQTEELVAN	6406	SEMG1
210	GLAGDNIYL	6582	SLC22A2
211	LLTTVLINA	6582	SLC22A2
212	MTLSEIHAV	9153	SLC28A2
213	ILAVDGVLSV	169026	SLC30A8
214	ALFETLIQL	139420	SMEK3P
215	QIADIVTSV	139420	SMEK3P
216	ALSTVTPRI	166378	SPATA5
217	LLWPSSVPA	246777,79400	SPESP1,NOX5
218	SLTGANITV	83932	SPRTN
219	GVVPTIQKV	64220	STRA6
220	ALSELERVL	51298	THEG
221	IMLNSVEEI	387357	THEMIS
222	LLTGVFAQL	388564	TMEM238
223	ALHPVQFYL	93587	TRMT10A
224	LLFDWSGTGRADA	79465	ULBP3
225	FLPQPVPLSV	57695	USP37
226	SLAGNLQEL	11023	VAX1
227	SEMEELPSV	26609,425054, 51481	VCX,VCX3B,VCX3A
228	SLLELDGINLRL	221806	VWDE
229	YLYELEHAL	80217	WDR96
230	KLLNMIFSI	2829	XCR1
231	LLDDIFIRL	143570	XRRA1
232	LVVGGIATV	84614	ZBTB37

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
233	SLFESLEYL	132625	ZFP42

Bảng 2: các peptit bổ sung theo sáng chế

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
234	VLLNEILEQV	64151	NCAPG
235	SLLNQPKAV	63967	CLSPN
236	KMSELQTYV	1063	CENPF
237	ALLEQTGDMSL	1063	CENPF
238	HLQEKLQSL	1063	CENPF
239	VIIKGLEEITV	3832	KIF11
240	SVQENIQQK	3832	KIF11
241	KQFEGTVEI	675	BRCA2
242	KLQEEIPVL	1062	CENPE
243	GLAEFQENV	57405	SPC25
244	NVAEIVIHI	83540	NUF2
245	ALLEEEEGV	4103	MAGEA4
246	ALAGIVTNV	11077	HSF2BP
247	NLLIDDKGTIKL	983	CDK1
248	VLMQDSRLYL	983	CDK1
249	YLYQILQGI	983	CDK1
250	LMQDSRLYL	983	CDK1
251	LLWGNLPEI	653820,729533	FAM72B,FAM72A
252	SLMEKNQSL	24137,285643	KIF4A,KIF4B
253	KLLAVIHEL	25788	RAD54B
254	ALGDKFLLRV	4608	MYBPH
255	FLMKNSDLYGA	79801	SHCBP1
256	FLNDIFERI	337873,337874	HIST2H2BC,HIST2H2BD
257	KLIDHQGLYL	7579	ZSCAN20
258	QLVQRVASV	5683	PSMA2
259	GPGIFPPPPPQP	10879	SMR3B

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
260	ALNESLVEC	55165	CEP55
261	GLAALAVHL	2175	FANCA
262	LLLEAVWHL	2175	FANCA
263	SIIEYLPTL	79915	ATAD5
264	TLHDQVHLL	2099	ESR1
265	FLLDKPQDLSI	346389	MACC1
266	FLLDKPQDL	346389	MACC1
267	YLLDMPLWYL	7153	TOP2A
268	SLDKDIVAL	7153	TOP2A
269	GLLDCPIFL	2177	FANCD2
270	TLLTFFHEL	55215	FANCI
271	VLIEYNFSI	55215	FANCI
272	FVMEGEPPKL	348654	GEN1
273	SLNKQIETV	57650	KIAA1524
274	TLYNPERTITV	10642,10643	IGF2BP1,IGF2BP3
275	AVPPPPSSV	10642	IGF2BP1
276	RMPTVLQCV	9622	KLK4
277	KLQEELNKV	3161	HMMR
278	VLEDKVLSV	128239	IQGAP3
279	VLMDEGAVLTL	54596	L1TD1
280	HLWGHALFL	89866	SEC16B
281	LLLESDPKVYSL	6491	STIL
282	SLYALHVKA	79001	VKORC1
283	ALSELLQQV	9816	URB2
284	KLMDPGSLPPL	2118	ETV4
285	MLLDTVQKV	54892	NCAPG2
286	FLTEMVHFI	93517	SDR42E1
287	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3
288	SLYKGLLSV	25788	RAD54B

J = Phosphoserin

Được đặc biệt ưu tiên là các peptit – một mình hoặc kết hợp - theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288. Được ưu tiên hơn là các peptit – một mình hoặc kết hợp - được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 126 (xem Bảng 1), và sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch của caxinom tế bào gan (HCC), caxinom kết-trực tràng (CRC), u nguyên bào xốp (GB), bệnh ung thư dạ dày (GC), bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC), bệnh ung thư tụy (PC), caxinom tế bào thận (RCC), bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính (BPH), bệnh ung thư tuyến tiền liệt (PCA), bệnh ung thư buồng trứng (OC), u melanin, bệnh ung thư vú, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (CLL), caxinom tế bào Merkel (MCC), bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), u lymphô không Hodgkin (NHL), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật (GBC, CCC), bệnh ung thư bàng quang (UBC), bệnh ung thư tử cung (UEC).

Được ưu tiên nhất là các peptit– một mình hoặc kết hợp - được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 274, 14, 21, 23, 25, 157, 168, 11, 253, 85, 89, 40, 264, 155, 233, và 245 (xem Bảng 1, 2, và 10), và sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch của bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến peptit theo sáng chế có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I của người hoặc - ở dạng kéo dài, như biến thể theo chiều dài- MHC nhóm -II.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế trong đó (mỗi) peptit này bao gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin theo các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế, trong đó peptit này được cải biến và/hoặc bao gồm các liên kết không peptit.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế, trong đó peptit này là một phần của protein dung hợp, cụ thể là được dung hợp với các axit amin ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (Ii), hoặc được dung hợp với (hoặc vào trình tự của) kháng thể, ví dụ như kháng thể đặc hiệu với tế bào đuôi gai.

Sáng chế còn đề xuất axit nucleic mã hóa các peptit theo sáng chế. Sáng chế còn đề xuất axit nucleic theo sáng chế là ADN, ADN bổ trợ, APN, ARN hoặc hỗn hợp của chúng.

Sáng chế còn đề xuất vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện và/hoặc biểu hiện axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất peptit theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh và dùng làm thuốc, cụ thể là trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế còn đề xuất kháng thể đặc hiệu với các peptit theo sáng chế hoặc phức hợp của các peptit theo sáng chế này với MHC, và phương pháp tạo ra chúng.

Sáng chế còn đề xuất các thụ thể tế bào T (TCR), cụ thể là thụ thể TCR hòa tan (sTCR) và các thụ thể TCR tách dòng được thiết kế vào tế bào T tự thân hoặc khác alen cùng loài, và các phương pháp tạo ra chúng, cũng như các tế bào NK hoặc tế bào khác mang thụ thể TCR nêu trên hoặc phản ứng chéo với các thụ thể TCR này.

Kháng thể và các thụ thể TCR là các phương án khác của việc sử dụng liệu pháp miễn dịch của peptit theo sáng chế sau đây.

Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ chứa axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện như được mô tả trên đây. Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ theo sáng chế là tế bào trình diện kháng nguyên, và tốt hơn nếu là tế bào đuôi gai.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo ra peptit theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế, và phân lập peptit ra khỏi tế bào chủ này hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp theo sáng chế nêu trên, trong đó kháng nguyên được tải lên các phân tử của MHC nhóm I hoặc II được biểu hiện trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên thích hợp hoặc tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo bằng cách cho kháng nguyên với lượng đủ tiếp xúc với tế bào trình diện kháng nguyên.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp theo sáng chế trong đó tế bào trình diện kháng nguyên chứa vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện hoặc biểu hiện peptit nêu trên có các trình tự từ SEQ ID No. 1 đến SEQ ID No.: 288, tốt hơn là có các trình tự từ SEQ ID No. 1 đến SEQ ID No.: 126, hoặc trình tự axit amin của biến thể.

Sáng chế còn đề xuất các tế bào T hoạt hóa, được tạo ra bằng phương pháp theo sáng chế, trong đó tế bào T này nhận biết chọn lọc tế bào biểu hiện polypeptit chứa trình tự axit amin theo sáng chế.

Sáng chế còn mô tả phương pháp tiêu diệt tế bào đích ở bệnh nhân có tế bào đích biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin bất kỳ theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng các tế bào T như được tạo ra theo sáng chế với lượng hữu hiệu.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng peptit bất kỳ như được mô tả, axit nucleic theo sáng chế, vectơ biểu hiện theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, tế bào lymphô T hoạt hóa, thụ thể tế bào T hoặc kháng thể hoặc các phân tử gắn kết với peptit-MHC và/hoặc peptit khác theo sáng chế làm thuốc hoặc để sản xuất thuốc. Tốt hơn, nếu thuốc này có hoạt tính kháng ung thư.

Tốt hơn, nếu thuốc này thích hợp và được dùng cho liệu pháp tế bào, vacxin hoặc protein hoặc trên cơ sở thụ thể TCR hòa tan hoặc kháng thể.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng theo sáng chế, trong đó các tế bào ung thư nêu trên là tế bào HCC, CRC, GB, GC, ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL.

Sáng chế còn đề xuất các dấu ấn sinh học trên cơ sở peptit theo sáng chế, được gọi ở đây là "đích" có thể được sử dụng trong chẩn đoán bệnh ung thư, tốt hơn nếu là bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL. Dấu ấn này có thể là sự biểu hiện quá mức của chính (các) peptit, hoặc sự biểu hiện quá mức của (các) gen tương ứng. Các dấu ấn này cũng có thể được sử dụng để dự đoán xác xuất thành công của việc điều trị, tốt hơn nếu là liệu pháp miễn dịch, và được ưu tiên nhất là liệu pháp miễn dịch hướng cùng đích được xác định bằng dấu ấn sinh học này. Ví dụ, kháng thể hoặc thụ thể TCR hòa tan có thể được sử dụng để nhuộm các mẫu khối u để phát hiện sự có mặt của peptit quan tâm trong phức hợp với MHC.

Tùy ý, kháng thể có chức năng hiệu ứng khác như chứa miền kích thích miễn dịch hoặc độc tố.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng việc sử dụng các đích mới này trong ngữ

cảnh điều trị bệnh ung thư.

CABYR mã hóa protein khu trú với mảnh chính của lông roi tinh trùng kết hợp với vỏ bọc sợi và có sự gắn kết với canxi khi được phosphoryl hóa trong quá trình hoạt hóa (RefSeq, 2002). Sự làm giảm hoạt tính của các thể đồng dạng CABYR CABYR-a và CABYR-b trong các dòng tế bào ung thư phổi tế bào không nhỏ NCI-H460 và A549 đã được chứng minh là làm ức chế sự tăng sinh và làm giảm mức độ phosphoryl hóa Akt có hoạt tính cơ bản (Qian et al., 2014). Việc làm bất hoạt sự biểu hiện CABYR đã được chứng minh là tác động đến các thành phần phía sau của con đường Akt như phospho-GSK-3beta và các protein p53 và p27 (Qian et al., 2014). Ngoài ra, sự làm giảm hoạt tính CABYR đã được chứng minh là làm tăng đáng kể độ nhạy hóa học tương ứng với các dược chất hóa trị liệu và sự chết tế bào theo chương trình do dược chất gây ra, cả *in vitro* và *in vivo*, và do đó có thể là phương pháp mới để cải thiện mức độ đáp ứng với sự chết tế bào theo chương trình và độ nhạy hóa học ở bệnh ung thư phổi (Qian et al., 2014). CABYR được mô tả làm protein đặc hiệu tinh hoàn lúc ban đầu mà sau đó protein này được chứng minh là có mặt trong các khối u não, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư phổi (Hsu et al., 2005; Luo et al., 2007; Li et al., 2012). CABYR đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong caxinom tế bào gan và có thể đóng vai trò gây ung thư trong sự sinh caxinom gan cũng như sự tiến triển của nó (Li et al., 2012).

COL6A3 mã hóa colagen, typ VI, chuỗi alpha 3, một trong ba chuỗi alpha của colagen typ VI, colagen dạng sợi hạt được tìm thấy ở phần lớn các mô liên kết, và quan trọng trong sự cấu tạo của các thành phần của khuôn nền (RefSeq, 2002). COL6A3 mã hóa chuỗi alpha-3 của colagen typ VI, colagen dạng sợi hạt được tìm thấy ở phần lớn các mô liên kết, đóng vai trò quan trọng trong sự cấu tạo của các thành phần của khuôn nền (RefSeq, 2002). COL6A3 được ghép nối theo cách khác trong bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư bàng quang và bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Thể đồng dạng dài của COL6A3 gần như chỉ được biểu hiện ở các mẫu bệnh ung thư và có thể có khả năng dùng làm gen đánh dấu ung thư mới (Thorsen et al., 2008). COL6A3 được biểu hiện ở mức cao trong mô ung thư tuyến ống tụy và được ghép nối theo cách khác đặc hiệu khối u (Kang et al., 2014). COL6A3 đã được chứng minh là có tương quan với bệnh ung thư buồng trứng mức độ cao và góp phần vào sự kháng xisplatin. Quan sát được COL6A3 thường được biểu hiện quá mức

trong mô ung thư dạ dày (Xie et al., 2014). (Các) đột biến COL6A3 tiên lượng sự sống thêm toàn bộ tốt hơn đáng kể ở bệnh nhân mắc caxinom kết-trực tràng không phụ thuộc vào sự biệt hóa khối u và sự phân giai đoạn TNM (Yu et al., 2015). Sự biểu hiện COL6A3 được thông báo là tăng lên ở bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư dạ dày, caxinom u biểu bì dạng nhầy và bệnh ung thư buồng trứng. Bệnh ung thư liên quan đến các biến thể của sản phẩm phiên mã bao gồm các exon 3, 4 và 6 phát hiện được ở bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh ung thư tụy (Arafat et al., 2011; Smith et al., 2009; Yang et al., 2007; Xie et al., 2014; Leivo et al., 2005; Sherman-Baust et al., 2003; Gardina et al., 2006; Thorsen et al., 2008). Ở bệnh ung thư buồng trứng, mức COL6A3 có tương quan với mức độ khối u cao hơn và ở bệnh ung thư tụy, COL6A3 đã được chứng minh là thể hiện dấu ấn sinh học trong huyết thanh để chẩn đoán thích hợp (Sherman-Baust et al., 2003; Kang et al., 2014).

CXorf61, còn được gọi là CT83, mã hóa kháng nguyên tinh hoàn/bệnh ung thư 83 và nằm trên nhiễm sắc thể Xq23 (RefSeq, 2002). Sự biểu hiện của CXorf61 đã được mô tả trong các loại bệnh ung thư khác nhau, bao gồm bệnh ung thư vú và bệnh ung thư phổi (Yao et al., 2014; Hanagiri et al., 2013; Baba et al., 2013). CXorf61 đã được chứng minh là kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư gây miễn dịch ở bệnh ung thư phổi. Do đó, nó có thể là ứng viên hứa hẹn cho liệu pháp miễn dịch kháng ung thư (Fukuyama et al., 2006).

CYP4Z1 mã hóa thành viên của họ chung sắc tố tế bào P450 của các enzym. Các protein của sắc tố tế bào P450 là monooxygenaza có tác dụng xúc tác nhiều phản ứng liên quan đến sự chuyển hóa dược chất và sự tổng hợp cholesterol, steroit và các lipit khác (RefSeq, 2002). Sự biểu hiện quá mức CYP4Z1 ở bệnh ung thư vú có liên quan đến loại khối u ở mức cao và tiên lượng xấu. Về mặt chức năng, CYP4Z1 kích thích sự tạo mạch và phát triển của khối u trong bệnh ung thư vú một phần qua sự truyền tín hiệu PI3/Akt và ERK1/2 (Yu et al., 2012; Murray et al., 2010). Ngoài ra, CYP4Z1 được mô tả là đóng vai trò trong sự tiến triển của bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Bankovic et al., 2010). Trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh ung thư buồng trứng, CYP4Z1 đã được xác định là gen đánh dấu tiên lượng độc lập (Tradonsky et al., 2012; Downie et al., 2005). CYP4Z2P là gen giả nằm trên nhiễm sắc thể 1p33 (RefSeq, 2002).

DCAF4L2 mã hóa yếu tố liên quan đến DDB1 và CUL4 4- giống như 2. Chức năng cụ thể của protein này vẫn cần được làm sáng tỏ; tuy nhiên gen DCAF4L2 đã được chứng minh là có liên quan đến hình thái học đĩa thị và sự phát triển khe hở môi (Springelkamp et al., 2015; Beaty et al., 2013).

ESR1 mã hóa thụ thể estrogen, yếu tố phiên mã được hoạt hóa bằng phối tử quan trọng đối với sự gắn kết hormon, sự gắn kết ADN và sự hoạt hóa quá trình phiên mã, là thành phần thiết yếu cho sự phát triển giới tính và chức năng sinh sản (RefSeq, 2002). Các đột biến và hiện tượng đa hình nucleotit của ESR1 có liên quan đến nguy cơ của các loại bệnh ung thư khác nhau bao gồm bệnh ung thư gan, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư túi mật và bệnh ung thư vú. Sự điều hòa tăng của mức độ biểu hiện ESR1 có liên quan đến sự tăng sinh tế bào và sự phát triển của khối u nhưng sự sống thêm toàn bộ của bệnh nhân có khối u dương tính với ESR1 sẽ tốt hơn do liệu pháp thành công với chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (Sun et al., 2015; Hayashi et al., 2003; Bogush et al., 2009; Miyoshi et al., 2010; Xu et al., 2011; Yakimchuk et al., 2013; Fuqua et al., 2014). Sự truyền tín hiệu ESR1 cản trở các con đường khác nhau gây ra sự biến nạp, sự phát triển và sự sống của tế bào như EGFR/IGFR, PI3K/Akt/mTOR, p53, HER2, NFkapaB và các con đường TGF-beta (Frasor et al., 2015; Band and Laiho, 2011; Berger et al., 2013; Skandalis et al., 2014; Mehta and Tripathy, 2014; Ciruelos Gil, 2014).

FMN1 mã hóa formin 1, protein có vai trò trong sự tạo ra các vùng bám chặt và sự polyme hóa cáp actin mạch thẳng (RefSeq, 2002). Hiện tượng đa hình nucleotit đơn trong FMN1 có liên quan đến nguy cơ bệnh ung thư tuyến tiền liệt tăng lên (Lisitskaia et al., 2010).

HAVCR1, còn được gọi là thụ thể tế bào 1 của virut viêm gan A hoặc KIM-1, mã hóa protein của thụ thể màng đối với cả virut viêm gan A ở người và TIMD4 và có thể tham gia vào việc kiểm soát bệnh hen và các bệnh dị ứng (RefSeq, 2002). HAVCR1 được mô tả làm ứng viên dấu ấn sinh học mới có liên quan đến caxinom tế bào trong ở buồng trứng và caxinom tế bào thận (Bonventre, 2014; Kobayashi et al., 2015). HAVCR1 đã được chứng minh là hoạt hóa thân chính IL-6/STAT-3/HIF-1A trong các dòng tế bào có nguồn gốc từ caxinom tế bào trong của thận và xác định sự tiến triển của khối u và hiệu quả ở bệnh nhân (Cuadros et al., 2014). Sự biểu hiện có tính chất nền tảng của HAVCR1 ở thận được mô tả là tính trạng về tính mẫn cảm

tiềm tàng của sự phát triển caxinom tế bào tế bào trong của thận (Cuadros et al., 2013). Ngoài ra, sự giải phóng vùng ecto của HAVCR1 tăng lên đã được chứng minh là kích thích kiểu hình xâm lấn *in vitro* và các khối u có tính xâm lấn cao hơn *in vivo* (Cuadros et al., 2013). HAVCR1 đã được mô tả là được điều hòa tăng trong caxinom tế bào thận và caxinom tế bào trong ở buồng trứng và bệnh ung thư kết-trực tràng (Wang et al., 2013b). Sự điều hòa tăng HAVCR1 được mô tả là dấu ấn sinh học chẩn đoán tiềm năng đối với bệnh ung thư kết-trực tràng và dấu ấn tiên tượng về khoảng thời gian sống không bệnh dài hơn sau khi phẫu thuật, chất này cũng có thể tham gia vào dòng thác di căn trong bệnh ung thư kết-trực tràng (Wang et al., 2013b). HAVCR1 đã được chứng minh là có liên quan đến bệnh bạch cầu tế bào lymphô lớn có hạt tế bào T (Wlodarski et al., 2008).

HORMAD1 (còn được gọi là CT46) mã hóa protein chứa vùng HORMA có thể đóng vai trò trong sự giảm phân. Các vùng HORMA tham gia vào sự gắn kết cromatin và điều hòa chu trình tế bào (RefSeq, 2002). HORMAD1 là kháng nguyên tinh hoàn/bệnh ung thư được biểu hiện quá mức trong các loại bệnh ung thư khác nhau bao gồm bệnh ung thư vú, bệnh ung thư dạ dày và bệnh ung thư buồng trứng và nhờ đó là dấu ấn sinh học tiềm tàng và đích điều trị miễn dịch (Yao et al., 2014; Shahzad et al., 2013; Chen et al., 2005; Aung et al., 2006; Adelaide et al., 2007). Sự điều hòa giảm HORMAD1 dẫn đến làm giảm sự xâm lấn, sự di trú và trọng lượng khối u và làm giảm nồng độ protein VEGF (Shahzad et al., 2013).

HSF2BP mã hóa protein gắn kết HSF2 có liên quan đến HSF2 và có thể tham gia vào việc điều biến sự hoạt hóa HSF2 (RefSeq, 2002).

HSF4 mã hóa yếu tố phiên mã sốc nhiệt 4, để hoạt hóa gen đáp ứng sốc nhiệt trong điều kiện stress nhiệt hoặc stress khác (RefSeq, 2002). HSF4 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong u nguyên bào xốp (Mustafa et al., 2010).

HTR3A mã hóa thụ thể 5-hydroxytryptamin (serotonin) thuộc về họ chung thụ thể kênh ion được tạo cổng là phối tử để gây đáp ứng khử phân cực nhanh trong các tế bào thần kinh sau khi hoạt hóa (RefSeq, 2002). HTR3A (còn được gọi là 5-HT3) được được điều hòa giảm trong một số loại bệnh ung thư, ví dụ, sự điều hòa giảm trong u lymphô tế bào vỏ, sự biểu hiện chọn lọc trong các khối u tế bào B đa dạng và sự biểu hiện giảm trong các dòng tế bào ung thư vú (Pai et al., 2009; Rinaldi et al., 2010; Ek et al., 2002).

IGF2BP1, còn được gọi là CRD-BP, mã hóa thành viên của họ protein gắn kết ARN thông tin của yếu tố sinh trưởng giống như insulin 2 có chức năng bằng cách gắn kết với các ARN thông tin của một số gen và điều hòa sự dịch mã của chúng (RefSeq, 2002). Hai thành viên của họ protein gắn kết ARN thông tin của IGF2, bao gồm cả IGF2BP1 được mô tả là các protein bào thai ung thư tin cậy được tổng hợp *de novo* trong nhiều bệnh ung thư khác nhau ở người và có thể là gen gây ung thư sau phiên mã mạnh làm gia tăng sự phát triển của khối u, sự kháng thuốc và sự di căn (Lederer et al., 2014). Sự biểu hiện của IGF2BP1 được thông báo là có tương quan với tiên lượng chung xấu và sự di căn ở nhiều bệnh ung thư khác nhau ở người (Lederer et al., 2014). Do đó, IGF2BP1 được gợi ý là dấu ấn sinh học mạnh và đích ứng viên của liệu pháp ung thư (Lederer et al., 2014). Các thành viên của họ IGF2BP được mô tả là có liên quan ở mức cao với sự di căn bệnh ung thư và sự biểu hiện của các yếu tố gây ung thư như KRAS, MYC và MDR1 (Bell et al., 2013). IGF2BP1 đã được chứng minh là tương tác với C-MYC và được phát hiện là được biểu hiện trong phần lớn khối u ruột kết và khối u vú và các bệnh sacôm cũng như trong các khối u lành tính như u xơ tuyến vú và u màng não (Ioannidis et al., 2003). IGF2BP1 được chứng minh là được điều hòa tăng trong caxinom tế bào gan và caxinom tế bào đáy (Noubissi et al., 2014; Zhang et al., 2015a). Sự điều hòa tăng của IGF2BP1 và các gen khác đã được chứng minh là có liên quan đáng kể với sự tiên lượng xấu sau phẫu thuật ở caxinom tế bào gan (Zhang et al., 2015a). IGF2BP1 đã được chứng minh là đích của chất ức chế khối u miR-9 và miR-372 tương ứng trong caxinom tế bào gan và trong caxinom tế bào thận (Huang et al., 2015; Zhang et al., 2015a). Sự giảm nồng độ IGF2BP1 trong mô đỡ đã được chứng minh là kích thích vi môi trường tạo khối u trong ruột kết, điều này cho thấy rằng IGF2BP1 có vai trò ức chế khối u trong các tế bào nền của ruột kết (Hamilton et al., 2015). IGF2BP1 đã được chứng minh là có liên quan đến các khối u giai đoạn 4, làm giảm sự sống của bệnh nhân và sự khuếch đại gen MYCN trong u nguyên bào thần kinh và do đó có thể là gen gây ung thư tiềm tàng và yếu tố tiên lượng âm tính độc lập trong u nguyên bào thần kinh (Bell et al., 2015). IGF2BP1 được mô tả là đích trực tiếp của sự truyền tín hiệu WNT/ß-catenin để điều hòa sự biểu hiện GLI1 và hoạt hóa sự phát triển caxinom tế bào đáy (Noubissi et al., 2014).

IGF2BP3 mã hóa protein gắn kết 3 của ARN thông tin của yếu tố sinh trưởng

giống như insulin II, protein bào thai ung thư, ức chế sự dịch mã của yếu tố sinh trưởng giống như insulin II (RefSeq, 2002). Một số nghiên cứu đã cho thấy rằng IGF2BP3 có tác dụng trong nhiều khía cạnh quan trọng khác nhau của chức năng tế bào, như sự phân cực, sự di trú, hình thái học, sự chuyển hóa, sự tăng sinh và sự biệt hóa của tế bào. Các nghiên cứu *in vitro* đã cho thấy rằng IGF2BP3 kích thích sự tăng sinh, sự bám dính, và sự xâm lấn của tế bào khối u. Ngoài ra, IGF2BP3 đã được chứng minh là có liên quan đến các bệnh ung thư xâm lấn và tiến triển (Bell et al., 2013; Gong et al., 2014). Sự biểu hiện quá mức IGF2BP3 đã được mô tả trong nhiều loại khối u khác nhau và có tương quan với sự tiên lượng xấu, giai đoạn khối u tiến triển và sự di căn, ví dụ như trong u nguyên bào thần kinh, caxinom kết-trực tràng, caxinom đường mật trong gan, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và caxinom tế bào thận (Bell et al., 2013; Findeis-Hosey and Xu, 2012; Hu et al., 2014; Szarvas et al., 2014; Jeng et al., 2009; Chen et al., 2011; Chen et al., 2013; Hoffmann et al., 2008; Lin et al., 2013; Yuan et al., 2009).

MAGEA3 mã hóa thành viên A3 của họ kháng nguyên liên quan đến u melanin. MAGEA3 đã được biết rộng rãi là kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư (RefSeq, 2002; Pineda et al., 2015; De et al., 1994). MAGEA3 đã được biết từ lâu để sử dụng trong các thử nghiệm tiêm chủng vacxin điều trị của bệnh ung thư u melanin di căn. Hiện nay, việc gây miễn dịch bằng peptit qua đường xuyên da được thực hiện với MAGEA3 và 4 kháng nguyên khác của bệnh nhân mắc u melanin ác tính tiến triển đã được chứng minh là góp phần đáng kể vào việc kéo dài sự sống thêm toàn bộ bằng các đáp ứng hoàn toàn so với các đáp ứng không hoàn toàn (Coulie et al., 2002; Fujiyama et al., 2014). Ở NSCLC, MAGEA3 đã được chứng minh là được biểu hiện thường xuyên. Sự biểu hiện của MAGEA3 có tương quan với số lượng vết hoại tử khối u cao hơn trong các mẫu mô NSCLC và đã được chứng minh là ức chế sự tăng sinh và sự xâm lấn và kích thích sự chết tế bào theo chương trình trong dòng tế bào ung thư phổi. Ở các bệnh nhân mắc bệnh ung thư tuyến, sự biểu hiện của MAGEA3 có liên quan đến sự sống tốt hơn. Hiện nay, vacxin kháng MAGEA3 của tế bào toàn phần đang được đánh giá trong thử nghiệm lâm sàng pha III hứa hẹn để điều trị NSCLC (Perez et al., 2011; Reck, 2012; Hall et al., 2013; Grah et al., 2014; Liu et al., 2015). MAGEA3 cùng với 4 gen khác đã được chứng minh là được biểu hiện thường xuyên trong HCC. Sự biểu hiện của các gen này có

tương quan với số lượng tế bào khối u lưu thông, mức độ khối u cao và giai đoạn tiến triển ở bệnh nhân HCC. Tần suất của sự di căn gan đã được chứng minh là cao hơn đáng kể trong các trường hợp có mẫu khối u biểu hiện MAGE3 so với các mẫu khối u không biểu hiện gen này (Bahnassy et al., 2014; Hasegawa et al., 1998). Các quần thể phụ giống như tế bào gốc của bệnh ung thư được phân lập từ dòng tế bào ung thư bàng quang cũng như từ các dòng tế bào ung thư phổi, ung thư ruột kết, hoặc ung thư vú có sự biểu hiện của MAGEA3, ngoài các kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư. Nói chung, các tế bào gốc của bệnh ung thư đã được biết là kháng với liệu pháp ung thư hiện nay và gây ra sự tái phát và sự tiến triển bệnh ung thư sau khi điều trị. Do đó, MAGEA3 có thể dùng làm đích mới để điều trị miễn dịch, cụ thể là bệnh ung thư bàng quang (Yamada et al., 2013; Yin et al., 2014). Đối với caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, sự biểu hiện của MAGEA3 đã được chứng minh là có liên quan đến thời gian sống không bệnh tốt hơn (Zamuner et al., 2015). Ngoài ra, MAGEA3 có thể được sử dụng làm dấu ấn tiên lượng của bệnh ung thư buồng trứng (Szajnik et al., 2013).

MAGEA4, còn được gọi là MAGE4, mã hóa thành viên của họ gen MAGEA và nằm trên nhiễm sắc thể Xq28 (RefSeq, 2002). MAGEA4 được mô tả là kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư và được phát hiện là được biểu hiện với tỷ lệ nhỏ trong u tinh seminom kinh điển nhưng không biểu hiện trong các khối u của tế bào mầm ở tinh hoàn không phải u tinh seminom, trong caxinom vú, các trường hợp âm tính với virut Epstein-Barr của u lymphô Hodgkin, caxinom thực quản, caxinom phổi, caxinom bàng quang, caxinom vùng đầu và cổ, và bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào vảy ở miệng, và caxinom tế bào gan (Ries et al., 2005; Bode et al., 2014; Li et al., 2005; Ottaviani et al., 2006; Hennard et al., 2006; Chen et al., 2003). MAGEA4 đã được chứng minh là thường được biểu hiện trong u melanin niêm mạc nguyên phát của vùng đầu và cổ và do đó có thể là đích tiềm tàng của liệu pháp miễn dịch trên cơ sở kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư (Prasad et al., 2004). MAGEA4 đã được chứng minh là được biểu hiện ưu tiên trong các tế bào giống như tế bào gốc của bệnh ung thư có nguồn gốc từ các tế bào ung thư tuyến phổi LHK2, tế bào ung thư tuyến ruột kết SW480 và tế bào ung thư tuyến vú MCF7 (Yamada et al., 2013). Sự biểu hiện quá mức của MAGEA4 trong các tế bào keratin ở miệng bình thường được biến nạp tự phát đã được chứng minh là kích thích

sự phát triển bằng cách ngăn ngừa sự làm ngừng chu trình tế bào và bằng cách ức chế sự chết tế bào theo chương trình qua trung gian các đích phiên mã p53 là BAX và CDKN1A (Bhan et al., 2012). MAGEA4 đã được chứng minh là thường được biểu hiện hơn ở các bệnh nhân nhiễm virut viêm gan C có hiện tượng xơ gan và caxinom tế bào gan giai đoạn muộn so với bệnh nhân có caxinom tế bào gan giai đoạn sớm, điều này làm cho việc phát hiện các sản phẩm phiên mã MAGEA4 có khả năng hữu ích để dự đoán tiên lượng (Hussein et al., 2012). MAGEA4 đã được chứng minh là một trong số vài kháng nguyên tinh hoàn/bệnh ung thư được biểu hiện trong bệnh ung thư phổi và có thể có chức năng làm ứng viên tiềm năng cho liệu pháp miễn dịch đa hóa trị ở bệnh nhân ung thư phổi (Kim et al., 2012). MAGEA4 được mô tả là được điều hòa tăng trong caxinom thực quản và caxinom tế bào gan (Zhao et al., 2002; Wu et al., 2011). Chất tương tự peptit nguyên thể có nguồn gốc từ MAGEA4 được gọi là p286-1Y2L9L được mô tả làm epitop ứng viên mới thích hợp để phát triển vacxin chứa peptit phòng bệnh ung thư thực quản (Wu et al., 2011). Một số thành viên của họ gen MAGE, bao gồm cả MAGEA4, đã được chứng minh là thường được đột biến trong u melanin (Caballero et al., 2010).

MAGEA6 mã hóa thành viên A6 của họ kháng nguyên liên quan đến u melanin. MAGEA3 đã được biết rộng rãi kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư (RefSeq, 2002; Pineda et al., 2015; De et al., 1994). MAGEA6 đã được chứng minh là thường được biểu hiện trong u melanin, bệnh u tủy tiến triển, sacôm cơ vân ở trẻ em, sacôm, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư vú, và bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, caxinom tế bào vảy ở thực quản, và caxinom tế bào vảy ở miệng (Ries et al., 2005; Hasegawa et al., 1998; Gibbs et al., 2000; Dalerba et al., 2001; Otte et al., 2001; van der Bruggen et al., 2002; Lin et al., 2004; Tanaka et al., 1997). Sự biểu hiện MAGEA6 có liên quan với thời gian sống không có sự tiến triển bệnh ngắn hơn ở bệnh nhân mắc bệnh đa u tủy. Trái lại, ở caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, sự biểu hiện của MAGEA6 đã được chứng minh là có liên quan đến thời gian sống không bệnh dài hơn (van et al., 2011; Zamuner et al., 2015). MAGEA6 nằm trong nhóm các gen được biểu hiện quá mức trong dòng tế bào ung thư buồng trứng kháng paclitaxel. Ngoài ra, sự chuyển nhiễm của MAGEA6 cũng làm gia tăng sự kháng thuốc cho các tế bào mẫn cảm với paclitaxel (Duan et al., 2003). MAGEA6 có

thể được sử dụng làm dấu ấn tiên lượng của bệnh ung thư buồng trứng (Szajnik et al., 2013). Các quần thể phụ giống như tế bào gốc của bệnh ung thư được phân lập từ các dòng tế bào ung thư phổi, ung thư ruột kết, hoặc ung thư vú có sự biểu hiện của MAGEA6, ngoài các kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư khác (Yamada et al., 2013).

MAGEA9, còn được gọi là MAGE9 hoặc MAGE-A9, mã hóa thành viên của họ gen MAGEA và nằm trên nhiễm sắc thể Xq28 (RefSeq, 2002). Sự biểu hiện ở mức cao của MAGEA9 trong khối u và tế bào nền của bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ đã được chứng minh là có tương quan với tỷ lệ sống thấp (Zhang et al., 2015b). Sự biểu hiện MAGEA9 được mô tả làm yếu tố tiên lượng độc lập của thời gian sống thêm toàn bộ 5 năm ở bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Zhang et al., 2015b). Sự có mặt của MAGEA9 trong các ca bệnh đa u tủy mới chẩn đoán đã được chứng minh là có liên quan đến thời gian sống thêm toàn bộ ngắn hơn (van et al., 2011). MAGEA9 được mô tả làm kháng nguyên caxinom tế bào thận mà trong đó việc tiêm chủng vacxin chứa tế bào đuôi gai ở chuột BALB/c đã được chứng minh là làm thải bỏ mô ghép caxinom tế bào thận RENCA-MAGEA9 liều thấp (Herbert et al., 2010). Các dòng tế bào lymphô T gây độc tế bào đặc hiệu với peptit MAGEA9 đã được chứng minh là có hoạt tính gây độc tế bào cao đối với các tế bào T2 được tải peptit và các dòng tế bào caxinom tế bào thận biểu hiện MAGEA9 trong tự nhiên, làm cho MAGEA9 là đích tiềm tàng thích hợp cho liệu pháp miễn dịch của caxinom tế bào thận (Oehlrich et al., 2005). MAGEA9 đã được chứng minh là một trong số các kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư được biểu hiện phổ biến nhất ở bệnh ung thư tử cung (Risinger et al., 2007). MAGEA9 được mô tả làm thành viên của họ MAGE, và được biểu hiện trong bệnh ung thư tinh hoàn (Zhan et al., 2015). Sự biểu hiện MAGEA9 ở mức cao đã được chứng minh là có liên quan đến sự xâm lấn tĩnh mạch và sự di căn hạch bạch huyết ở bệnh ung thư kết-trực tràng (Zhan et al., 2015). Sự biểu hiện MAGEA9 đã được chứng minh là có liên quan đến tỷ lệ sống thấp hơn ở bệnh ung thư kết-trực tràng và sự biểu hiện MAGEA9 ở mức cao được mô tả làm yếu tố tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư kết-trực tràng (Zhan et al., 2015). Do đó, MAGEA9 được dự kiến là đích mới để điều trị bệnh ung thư kết-trực tràng (Zhan et al., 2015). Sự biểu hiện quá mức của MAGEA9 đã được chứng minh là dấu hiệu tiên lượng xấu trong bệnh ung thư buồng trứng biểu mô,

bệnh ung thư ống tuyến vú xâm lấn, caxinom tế bào vảy thanh quản và caxinom tế bào gan (Gu et al., 2014; Han et al., 2014; Xu et al., 2014; Xu et al., 2015). MAGEA9 được chứng minh là được điều hòa tăng trong caxinom tế bào vảy thanh quản, bệnh ung thư ống tuyến vú xâm lấn, bệnh ung thư buồng trứng biểu mô, bệnh ung thư kết-trực tràng và caxinom tế bào gan (Gu et al., 2014; Han et al., 2014; Xu et al., 2014; Xu et al., 2015; Zhan et al., 2015).

MAGEA9B mã hóa sự sao chép protein MAGEA9 trên nhiễm sắc thể X (RefSeq, 2002). Sự biểu hiện MAGEA9B trong bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ giai đoạn khối u Ib có tương quan với sự sống của bệnh nhân (Urgard et al., 2011).

MMP1 mã hóa thành viên của họ peptidaza M10 của metaloproteinaza trong khuôn nền (matrix metalloproteinase: MMP). Các protein trong họ này tham gia vào sự phá vỡ khuôn nền ngoại bào trong các quá trình sinh lý bình thường như sự phát triển phôi, sự sinh sản, và sự tái mô hình hóa mô, cũng như trong các quy trình bệnh như viêm khớp và sự di căn (RefSeq, 2002). Nhiều tác giả đã chứng minh mối tương quan có nghĩa giữa kiểu biểu hiện MMP và khả năng di căn và xâm lấn của khối u bao gồm: bệnh ung thư trực tràng và dạ dày, caxinom phổi, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến giáp và các khối u não (Velinov et al., 2010). MMP1 được xác định làm dấu ấn sinh học với sự biểu hiện phụ thuộc giai đoạn khối u trong caxinom tế bào vảy thanh quản (Hui et al., 2015). Các bệnh nhân ung thư vú có tế bào khối u lưu thông với sự chuyển tiếp biểu mô-mô giữa (circulating tumor cells with epithelial-mesenchymal transition: CTC_EMT) trong máu ngoại vi có sự biểu hiện của MMP1 tăng lên đáng kể trong các tế bào khối u ($p = 0,02$) và mô đỡ liên quan đến khối u ($p = 0,05$) so với các bệnh nhân không có dấu hiệu CTC_EMT (Cierna et al., 2014). Ở mô hình chuột, sự biểu hiện và sự tiết MMP1 bị ức chế bởi kháng thể đơn dòng kháng FGFR3 đặc hiệu làm ức chế đáng kể sự tiến triển của khối u (Du et al., 2014).

Các protein của họ metaloproteinaza trong khuôn nền (MMP) tham gia vào sự phá vỡ khuôn nền ngoại bào trong các quá trình sinh lý bình thường như sự phát triển phôi, sự sinh sản, và sự tái mô hình hóa mô, cũng như trong các quy trình bệnh như viêm khớp và sự di căn. Tuy nhiên, enzym được mã hóa bằng gen này được hoạt hóa trong tế bào bằng furin trong con đường tiết cơ bản. Cũng trái ngược với các MMP khác, enzym này phân cắt chất ức chế alpha 1-proteinaza nhưng làm thoái biến

ở mức yếu các protein cấu trúc của khuôn nền ngoại bào (RefSeq, 2002). MMP-11, còn được gọi là stromelysin-3, là thành viên của nhóm phụ stromelysin thuộc về họ chung MMP, được phát hiện ở các tế bào ung thư, tế bào nền và vi môi trường liền kề. MMP-11 có hai tác dụng khác biệt đối với khối u. Một mặt, MMP-11 kích thích sự phát triển bệnh ung thư bằng cách ức chế sự chết tế bào theo chương trình cũng như thúc đẩy sự di trú và sự xâm lấn của các tế bào ung thư; mặt khác, MMP-11 có vai trò tiêu cực đối với sự phát triển bệnh ung thư bằng cách ức chế sự di căn trong mô hình động vật. Phát hiện được sự biểu hiện quá mức của MMP-11 trong huyết thanh của bệnh nhân ung thư so với nhóm đối chứng bình thường cũng như trong nhiều mẫu mô khối u, như bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư vú, và bệnh ung thư tụy (Zhang et al., 2016). MMP-11 được chứng minh là được biểu hiện quá mức ở nồng độ ARN thông tin và nồng độ protein trong mô CRC so với niêm mạc bình thường so sánh. Ngoài ra, sự biểu hiện MMP-11 có tương quan với sự di căn hạch bạch huyết CRC; sự di căn xa và giai đoạn TNM (Tian et al., 2015). Sự biểu hiện quá mức MMP-11 có liên quan đến kiểu hình của khối u có tính xâm lấn và kết quả lâm sàng không tốt ở caxinom tế bào chuyển tiếp đường tiết niệu trên (urinary tract urothelial carcinoma: UTUC) và caxinom tế bào chuyển tiếp bàng quang (urinary bladder urothelial carcinoma: UBUC), gợi ý rằng nó có thể dùng làm dấu hiệu tiên lượng và đích điều trị mới (Li et al., 2016).

MXRA5 mã hóa một trong số các protein liên quan đến sự tái mô hình hóa khuôn nền, chứa 7 đoạn lặp lại giàu leuxin và 12 vùng typ C2 giống như globulin miễn dịch liên quan đến perlecan (RefSeq, 2002). Một nghiên cứu của người Trung Quốc đã xác định MXRA5 làm gen thường được đột biến thứ hai trong bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Xiong et al., 2012). Ở bệnh ung thư ruột kết, MXRA5 đã được chứng minh là được biểu hiện quá mức và có thể dùng làm dấu ấn sinh học để chẩn đoán sớm và sự di căn màng nối (Zou et al., 2002; Wang et al., 2013a).

RAD54 mã hóa protein thuộc về họ chung helicaza giống như DEAD. Nó có tính tương đồng với RAD54 và RDH54 của *Saccharomyces cerevisiae*, cả hai thành phần này đều tham gia vào sự tái tổ hợp đồng nhất và sửa chữa ADN. Protein này gắn kết với ADN sợi kép, và có hoạt tính ATPaza với sự có mặt của ADN. Gen này được biểu hiện ở mức cao trong tinh hoàn và lách, điều này gợi ý vai trò tích cực trong sự tái tổ hợp giảm phân và nguyên phân (RefSeq, 2002). Quan sát được các đột

biến đồng hợp tử của RAD54B trong u lymphô nguyên phát và bệnh ung thư ruột kết (Hiramoto et al., 1999). RAD54B làm giảm hiệu quả làm mất ổn định hệ gen của sự gắn kết trực tiếp RAD51 với ADN sợi kép trong các tế bào khối u của người (Mason et al., 2015).

ZFP42 (còn được gọi là REX1) mã hóa protein ngón tay kẽm được sử dụng làm gen đánh dấu tế bào gốc và là thành phần thiết yếu cho tính đa năng và lập trình lại (Son et al., 2013; Mongan et al., 2006). Sự biểu hiện của ZFP42 được điều hòa giảm trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt và caxinom tế bào thận, nhưng trái lại, được điều hòa tăng trong caxinom tế bào vảy (Raman et al., 2006; Lee et al., 2010; Reinisch et al., 2011). ZFP42 ức chế con đường truyền tín hiệu JAK/STAT bằng cách điều hòa sự biểu hiện SOCS3, để điều biến sự biệt hóa tế bào (Xu et al., 2008).

Sự kích thích đáp ứng miễn dịch phụ thuộc vào sự có mặt của các kháng nguyên được nhận biết là kháng nguyên ngoại lại bởi hệ miễn dịch của vật chủ. Việc phát hiện ra sự tồn tại của các kháng nguyên liên quan đến khối u làm gia tăng khả năng sử dụng hệ miễn dịch của vật chủ để can thiệp vào sự phát triển của khối u. Nhiều cơ chế khác nhau khai thác cả nhánh thể dịch và nhánh tế bào của hệ miễn dịch hiện đang được khai thác cho liệu pháp miễn dịch đối với bệnh ung thư.

Các yếu tố đặc hiệu của đáp ứng miễn dịch tế bào có khả năng nhận biết đặc hiệu và phá hủy các tế bào khối u. Sự phân lập tế bào T ra khỏi quần thể tế bào thâm nhiễm khối u hoặc ra khỏi máu ngoại vi gợi ý rằng các tế bào này đóng vai trò quan trọng trong hàng rào miễn dịch tự nhiên đối với bệnh ung thư. Cụ thể, các tế bào T dương tính với CD8, nhận biết các phân tử nhóm I của phức hợp tương thích mô chính (MHC)-mang các peptit thường có từ 8 đến 10 gốc axit amin có nguồn gốc từ protein hoặc sản phẩm khiếm khuyết ribosom (defect ribosomal product: DRIP) nằm ở phần bào tan, đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng này. Các phân tử MHC của người còn được gọi là kháng nguyên bạch cầu ở người (HLA).

Thuật ngữ "đáp ứng của tế bào T" có nghĩa là sự tăng sinh và hoạt hóa đặc hiệu của chức năng hiệu ứng được tạo bởi peptit *in vitro* hoặc *in vivo*. Đối với các tế bào T gây độc tế bào được giới hạn bởi MHC nhóm I, chức năng hiệu ứng có thể là sự phân giải tế bào đích được tạo xung peptit, tế bào đích được tạo xung tiền chất peptit hoặc tế bào đích trình diện peptit trong tự nhiên, sự tiết ra xytokin, tốt hơn nếu là interferon-gama, TNF-alpha, hoặc IL-2 được cảm ứng bởi peptit, sự tiết ra các

phân tử tác động, tốt hơn nếu là granzym hoặc perforin được cảm ứng bởi peptit, hoặc sự mất hạt.

Thuật ngữ "peptit" được sử dụng ở đây để chỉ loại các gốc axit amin, thường được liên kết với nhau bằng các liên kết peptit giữa các nhóm alpha-amino và nhóm cacbonyl của các axit amin liền kề. Tốt hơn, nếu peptit này có 9 axit amin trong chiều dài mạch, nhưng có thể chỉ là peptit mạch ngắn có 8 axit amin trong chiều dài mạch, và có thể có mạch dài đến 10, 11, 12, hoặc 13 axit amin hoặc nhiều hơn trong chiều dài mạch và trong trường hợp các peptit của MHC nhóm II (các biến thể kéo dài của peptit theo sáng chế), chúng có thể có mạch dài tới 14, 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20 axit amin hoặc nhiều hơn trong chiều dài mạch.

Ngoài ra, thuật ngữ "peptit" sẽ bao gồm các muối của loạt gốc axit amin, thường được liên kết với nhau bằng các liên kết peptit giữa nhóm alpha-amino và nhóm cacbonyl của các axit amin liền kề. Tốt hơn, nếu các muối này là muối dược dụng của peptit, ví dụ như các muối clorua hoặc axetat (trifloaxetat). Cần lưu ý rằng các muối của peptit theo sáng chế khác biệt đáng kể với peptit nêu trên về (các) trạng thái của chúng *in vivo*, do các peptit này không là muối *in vivo*.

Thuật ngữ "peptit" còn bao gồm "oligopeptit". Thuật ngữ "oligopeptit" được sử dụng ở đây để chỉ loạt các gốc axit amin, thường được liên kết với nhau bằng các liên kết peptit giữa nhóm alpha-amino và nhóm cacbonyl của axit amin liền kề. Không có giới hạn về chiều dài của oligopeptit theo sáng chế, miễn là một hoặc nhiều epitop đúng được giữ nguyên ở đây. Các oligopeptit thường chứa ít hơn 30 gốc axit amin trong chiều dài mạch, và chứa nhiều hơn 15 axit amin trong chiều dài mạch.

Thuật ngữ "polypeptit" để chỉ loạt các gốc axit amin, thường được liên kết với nhau bằng các liên kết peptit giữa nhóm alpha-amino và nhóm cacbonyl của các axit amin liền kề. Không có giới hạn về chiều dài của polypeptit theo sáng chế miễn là các epitop đúng được giữ nguyên. Trái với các thuật ngữ peptit hoặc oligopeptit, thuật ngữ polypeptit để chỉ các phân tử chứa nhiều hơn khoảng 30 gốc axit amin.

Peptit, oligopeptit, protein hoặc polynucleotit mã hóa phân tử này có tính "gây miễn dịch" (và do đó là "chất sinh miễn dịch" trong phạm vi của sáng chế), nếu là chất có khả năng gây đáp ứng miễn dịch. Trong trường hợp của sáng chế, tính sinh miễn dịch được xác định cụ thể hơn là có khả năng gây ra đáp ứng của tế bào T. Do

đó, thuật ngữ "chất sinh miễn dịch" sẽ là phân tử có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch, và trong trường hợp của sáng chế, phân tử có khả năng gây ra đáp ứng của tế bào T. Theo khía cạnh khác, chất sinh miễn dịch có thể là peptit, phức hợp của peptit với MHC, oligopeptit, và/hoặc protein được sử dụng để tạo ra kháng thể đặc hiệu hoặc các thụ thể TCR kháng lại nó.

Thuật ngữ "epitop" của tế bào T nhóm I cần peptit mạch ngắn được gắn kết với thụ thể MHC nhóm I, tạo ra phức hợp bậc ba (chuỗi alpha của MHC nhóm I, beta-2-microglobulin, và peptit) mà có thể được nhận biết bởi tế bào T mang thụ thể tế bào T tương ứng gắn kết với phức hợp MHC/peptit có ái lực thích hợp. Các peptit gắn kết với các phân tử của MHC nhóm I thường có từ 8 đến 14 axit amin trong chiều dài mạch, và thông thường nhất là có 9 axit amin trong chiều dài mạch.

Ở người, có ba locus di truyền khác nhau mã hóa các phân tử MHC nhóm I (các phân tử MHC của người còn được ký hiệu là các kháng nguyên bạch cầu của người (HLA)): HLA-A, HLA-B, và HLA-C. HLA-A*01, HLA-A*02, và HLA-B*07 là các ví dụ về các alen của MHC nhóm I khác nhau có thể được biểu hiện từ các locus này.

Bảng 1: Tần suất biểu hiện F của HLA-A*02 và HLA-A*24 và các kiểu huyết thanh HLA-DR phổ biến nhất. Tần suất được xác định từ tần suất kiểu đơn Gf trong quần thể dân số Mỹ được làm thích ứng theo tài liệu của Mori và các đồng tác giả (Mori et al., 1997) sử dụng công thức Hardy-Weinberg $F=1-(1-Gf)^2$. Tổ hợp của A*02 hoặc A*24 với một số alen HLA-DR nhất định có thể được làm giàu hoặc với tần suất ít hơn tần suất dự kiến từ các tần số riêng lẻ của chúng do sự mất cân bằng liên kết. Để hiểu chi tiết hơn, xem tài liệu của Chanock và các đồng tác giả (Chanock et al., 2004).

Alen	Quần thể	Kiểu hình tính được từ tần suất alen
A*02	Người da trắng (Bắc Mỹ)	49,1%
A*02	Người Mỹ gốc Phi (Bắc Mỹ)	34,1%
A*02	Người Mỹ gốc Á(Bắc Mỹ)	43,2%
A*02	Người Mỹ La-tinh (Bắc Mỹ)	48,3%
DR1	Người da trắng (Bắc Mỹ)	19,4%
DR2	Người da trắng (Bắc Mỹ)	28,2%

Alen	Quần thể	Kiểu hình tính được từ tần suất alen
DR3	Người da trắng (Bắc Mỹ)	20,6%
DR4	Người da trắng (Bắc Mỹ)	30,7%
DR5	Người da trắng (Bắc Mỹ)	23,3%
DR6	Người da trắng (Bắc Mỹ)	26,7%
DR7	Người da trắng (Bắc Mỹ)	24,8%
DR8	Người da trắng (Bắc Mỹ)	5,7%
DR9	Người da trắng (Bắc Mỹ)	2,1%
DR1	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	13,20%
DR2	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	29,80%
DR3	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	24,80%
DR4	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	11,10%
DR5	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	31,10%
DR6	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	33,70%
DR7	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	19,20%
DR8	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	12,10%
DR9	Người (Bắc) Mỹ gốc Phi	5,80%
DR1	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	6,80%
DR2	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	33,80%
DR3	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	9,20%
DR4	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	28,60%
DR5	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	30,00%
DR6	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	25,10%
DR7	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	13,40%
DR8	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	12,70%
DR9	Người (Bắc) Mỹ gốc Á	18,60%
DR1	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	15,30%
DR2	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	21,20%
DR3	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	15,20%
DR4	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	36,80%
DR5	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	20,00%
DR6	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	31,10%

Alen	Quần thể	Kiểu hình tính được từ tần suất alen
DR7	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	20,20%
DR8	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	18,60%
DR9	Người (Bắc) Mỹ La-tinh	2,10%
A*24	Người Philippin	65%
A*24	Người Nenets ở Nga	61%
A*24:02	Người Nhật Bản	59%
A*24	Người Malaysia	58%
A*24:02	Người Philippin	54%
A*24	Người Ấn Độ	47%
A*24	Người Hàn Quốc	40%
A*24	Người Sri Lanka	37%
A*24	Người Trung Quốc	32%
A*24:02	Người Ấn Độ	29%
A*24	Người Tây Úc	22%
A*24	Người Mỹ	22%
A*24	Người Samara ở Nga	20%
A*24	Người Nam Mỹ	20%
A*24	Người châu Âu	18%

Tốt hơn, nếu khi được đưa vào vacxin theo sáng chế, các peptit theo sáng chế như được mô tả ở đây gắn kết với A*02. Vacxin cũng có thể chứa các peptit của MHC nhóm II gắn kết-pan. Do đó, vacxin theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư ở các bệnh nhân có A*02 dương tính, trong khi không cần lựa chọn đối với alotyp của MHC nhóm II do tính chất liên kết–pan của các peptit này.

Nếu các peptit A*02 theo sáng chế được kết hợp với các peptit gắn kết với alen khác, ví dụ A*24, tỷ lệ % quần thể bệnh nhân bất kỳ có thể được điều trị là cao hơn so với việc chỉ sử dụng alen của MHC nhóm I. Trong khi ở phần lớn các nhóm bệnh nhân, có ít hơn 50% bệnh nhân có thể được điều trị bằng chỉ một alen, vacxin chứa các epitop HLA-A*24 và HLA-A*02 có thể điều trị cho ít nhất 60% bệnh nhân trong quần thể liên quan bất kỳ. Cụ thể, tỷ lệ % bệnh nhân sau đây sẽ dương tính với ít nhất một trong số các alen này ở các vùng khác nhau: người Mỹ 61%, người Tây

Âu 62%, người Trung Quốc 75%, người Hàn Quốc 77%, người Nhật Bản 86% (tính theo trang web www.allelefrequencies.net).

Theo một phương án được ưu tiên, thuật ngữ "trình tự nucleotit" để chỉ dị polyme của deoxyribonucleotit.

Trình tự nucleotit mã hóa peptit, oligopeptit, hoặc polypeptit cụ thể có thể có trong tự nhiên hoặc chúng có thể được tạo cấu trúc bằng phương pháp tổng hợp. Nói chung, các đoạn ADN mã hóa peptit, polypeptit, và protein theo sáng chế này được ghép từ các đoạn ADN bổ trợ và nhóm liên kết oligonucleotit ngắn, hoặc từ chuỗi các oligonucleotit, để tạo ra gen tổng hợp có khả năng được biểu hiện ở đơn vị phiên mã tái tổ hợp chứa các yếu tố điều hòa có nguồn gốc từ operon của vi sinh vật hoặc virut.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "nucleotit mã hóa (hoặc giải mã hóa) peptit" để chỉ trình tự nucleotit mã hóa peptit bao gồm các codon khởi đầu và kết thúc không tự nhiên (nhân tạo) tương hợp được với hệ sinh học, trình tự cần được biểu hiện bởi, ví dụ, tế bào đuôi gai hoặc hệ tế bào khác hữu ích cho việc tạo ra thụ thể TCR.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, sự viện dẫn đến trình tự axit nucleic bao gồm cả axit nucleic sợi đơn và sợi kép. Do đó, trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ theo cách khác, trình tự cụ thể, ví dụ đối với ADN, để chỉ ADN sợi đơn của trình tự này, bộ đôi của trình tự này cùng với trình tự bổ trợ của nó (ADN sợi kép) và trình tự bổ trợ của trình tự này.

Thuật ngữ "vùng mã hóa" để chỉ phần gen mã hóa tự nhiên hoặc bình thường đối với sản phẩm biểu hiện của gen này trong môi trường hệ gen tự nhiên của nó, nghĩa là vùng mã hóa *in vivo* của sản phẩm biểu hiện nguyên thể của gen này.

Vùng mã hóa có thể có nguồn gốc từ gen không đột biến ("gen bình thường"), gen được đột biến hoặc gen được biến đổi, hoặc thậm chí có thể có nguồn gốc từ trình tự ADN, hoặc gen, được tổng hợp hoàn toàn trong phòng thí nghiệm bằng cách sử dụng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp ADN đã biết.

Thuật ngữ "sản phẩm biểu hiện" để chỉ polypeptit hoặc protein là sản phẩm dịch mã tự nhiên của gen và trình tự axit nucleic bất kỳ mã hóa các dạng tương đương do hiện tượng thoái hóa mã di truyền gây ra và do đó mã hóa chính (các) axit

amin.

Thuật ngữ "đoạn kháng thể", khi để chỉ trình tự mã hóa, có nghĩa là phần ADN chứa vùng mã hóa hoàn toàn ít hơn trong đó sản phẩm biểu hiện gần như giữ lại được chức năng hoặc hoạt tính sinh học giống như sản phẩm biểu hiện của vùng mã hóa hoàn toàn.

Thuật ngữ "đoạn ADN" để chỉ polyme ADN, ở dạng đoạn riêng biệt hoặc làm thành phần của cấu trúc ADN lớn hơn, có nguồn gốc từ ADN phân lập được ít nhất một lần ở dạng gần như tinh khiết, nghĩa là không chứa các chất nội sinh và với lượng hoặc nồng độ cho phép xác định, thao tác, và thu hồi đoạn mạch và các trình tự nucleotit thành phần của nó bằng phương pháp hóa sinh chuẩn, ví dụ, bằng cách sử dụng vectơ tách dòng. Các đoạn mạch này được tạo ra ở dạng khung đọc mở không bị đứt quãng bởi các trình tự không dịch mã bên trong, hoặc intron thường có mặt trong các gen có nhân điển hình. Trình tự của ADN không dịch mã có thể có mặt ở phía sau khung đọc mở này, trong đó nó không can thiệp vào việc thao tác hoặc sự biểu hiện của các vùng mã hóa.

Thuật ngữ "đoạn mồi" để chỉ trình tự axit nucleic ngắn có thể được ghép cặp với một sợi ADN và tạo ra đầu 3'-OH tự do mà ở đó ADN polymeraza bắt đầu quá trình tổng hợp chuỗi deoxyribonucleotit.

Thuật ngữ "gen khởi đầu" để chỉ vùng ADN tham gia vào sự gắn kết của ARN polymeraza để khởi đầu sự phiên mã.

Thuật ngữ "được phân lập" để chỉ chất được tách ra khỏi môi trường ban đầu của nó (ví dụ, môi trường tự nhiên, nếu nó có trong tự nhiên). Ví dụ, không phân lập được polynucleotit hoặc polypeptit có trong tự nhiên có mặt ở động vật sống nhưng phân lập được chính polynucleotit hoặc polypeptit này, được tách ra từ một phần hoặc toàn bộ các chất cùng tồn tại trong hệ tự nhiên. Các polynucleotit này có thể là một phần của vectơ và/hoặc các polynucleotit hoặc polypeptit này có thể là một phần của hỗn hợp, và vẫn được phân lập sao cho vectơ hoặc hỗn hợp này không là một phần của môi trường tự nhiên của nó.

Các polynucleotit, và polypeptit tái tổ hợp hoặc polypeptit gây miễn dịch, được bộc lộ theo sáng chế cũng có thể ở dạng "được tinh chế". Thuật ngữ "được tinh chế" không cần phải là tinh khiết tuyệt đối; thay vào đó, thuật ngữ này được dự định là định nghĩa tương đối, và có thể bao gồm cả các chế phẩm được tinh chế ở mức cao

hoặc chế phẩm chỉ được tinh chế một phần, như các thuật ngữ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, các dòng vô tính riêng biệt được phân lập từ thư viện ADN bổ trợ đã được tinh chế theo quy ước đến độ đồng nhất điện di. Việc tinh chế nguyên liệu ban đầu hoặc nguyên liệu tự nhiên đến ít nhất một khoảng giá trị, tốt hơn nếu là hai hoặc ba khoảng, và tốt hơn nữa nếu là bốn hoặc năm khoảng giá trị được dự định rõ ràng. Ngoài ra, tốt hơn nếu polypeptit theo sáng chế có độ tinh khiết 99,999%, hoặc ít nhất 99,99% hoặc 99,9%; và thậm chí tốt hơn là bằng 99% trọng lượng hoặc cao hơn được dự định rõ ràng.

Các axit nucleic và sản phẩm biểu hiện polypeptit được bộc lộ theo sáng chế, cũng như các vectơ biểu hiện chứa các axit nucleic và/hoặc polypeptit này, có thể ở "dạng được làm giàu". Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "được làm giàu" có nghĩa là nồng độ của chất này ít nhất gấp khoảng 2, 5, 10, 100, hoặc 1000 lần nồng độ tự nhiên của nó (ví dụ), có lợi nếu lượng chất này bằng 0,01% trọng lượng, tốt hơn nếu ít nhất bằng khoảng 0,1% trọng lượng. Chế phẩm được làm giàu với lượng khoảng 0,5%, 1%, 5%, 10%, và 20% trọng lượng cũng được dự định. Có lợi nếu các trình tự, cấu trúc, vectơ, dòng vô tính, và các vật liệu khác theo sáng chế có thể ở dạng được làm giàu hoặc được phân lập. Thuật ngữ "đoạn mạch có hoạt tính" để chỉ đoạn mạch, thường là của trình tự peptit, polypeptit hoặc axit nucleic, để tạo ra đáp ứng miễn dịch (nghĩa là có hoạt tính gây miễn dịch) khi được sử dụng, một mình hoặc tùy ý với tá dược thích hợp hoặc trong vectơ, cho động vật, như động vật có vú, ví dụ, thỏ hoặc chuột, và còn bao gồm cả người, đáp ứng miễn dịch này ở dạng kích thích đáp ứng của tế bào T trong động vật được điều trị, như người. Theo cách khác, "đoạn mạch có hoạt tính" cũng có thể được sử dụng để gây ra đáp ứng của tế bào T *in vitro*.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "phần", "đoạn mạch" và "đoạn" khi được sử dụng liên quan đến polypeptit, để chỉ trình tự liên tục của các gốc, như gốc axit amin, trình tự này tạo thành phân nhóm của trình tự lớn hơn. Ví dụ, nếu polypeptit được dùng để điều trị với enzym bất kỳ trong số các enzym endopeptidaza thông thường, như trypsin hoặc chymotrypsin, các oligopeptit tạo thành từ việc điều trị này sẽ là các phần, đoạn mạch hoặc đoạn của polypeptit ban đầu. Khi được sử dụng liên quan đến polynucleotit, các thuật ngữ này để chỉ các sản phẩm được tạo ra khi điều trị bằng các polynucleotit này cùng với endonucleaza bất

kỳ.

Theo sáng chế, thuật ngữ "tỷ lệ % độ đồng nhất" hoặc "tỷ lệ % mức độ giống", khi liên quan đến trình tự, có nghĩa là trình tự được so sánh với trình tự yêu cầu bảo hộ hoặc trình tự được mô tả sau khi dóng thẳng hàng trình tự cần được so sánh ("trình tự được so sánh") với trình tự được mô tả hoặc trình tự yêu cầu bảo hộ ("trình tự tham chiếu"). Sau đó, tỷ lệ % độ đồng nhất được xác định theo công thức sau:

Tỷ lệ % độ đồng nhất = 100 [1 -(C/R)]

trong đó C là số lượng sự khác biệt giữa trình tự tham chiếu và trình tự so sánh theo chiều dài dóng thẳng hàng giữa trình tự tham chiếu và trình tự so sánh, trong đó

(i) mỗi bazơ hoặc axit amin trong trình tự tham chiếu không có bazơ hoặc axit amin được dóng thẳng hàng tương ứng trong trình tự so sánh và

(ii) mỗi khoảng trống trong trình tự tham chiếu và

(iii) mỗi bazơ hoặc axit amin được dóng thẳng hàng trong trình tự tham chiếu là khác với bazơ hoặc axit amin được dóng thẳng hàng trong trình tự so sánh, tạo thành sự khác biệt và

(iiii) việc dóng thẳng hàng cần bắt đầu ở vị trí 1 của các trình tự được dóng thẳng hàng;

và R là số lượng bazơ hoặc axit amin trong trình tự tham chiếu trong chiều dài khi dóng thẳng hàng với trình tự so sánh có khoảng trống bất kỳ được tạo ra trong trình tự tham chiếu cũng được tính như baso hoặc axit amin.

Nếu có sự dóng thẳng hàng giữa trình tự so sánh và trình tự tham chiếu mà tỷ lệ % độ đồng nhất như tính được trên đây là bằng hoặc cao hơn tỷ lệ % độ đồng nhất tối thiểu theo lý thuyết thì trình tự so sánh có tỷ lệ % độ đồng nhất tối thiểu theo lý thuyết với trình tự tham chiếu, mặc dù có thể có sự dóng thẳng hàng trong đó tỷ lệ % độ đồng nhất tính được như trên đây là nhỏ hơn tỷ lệ % độ đồng nhất theo lý thuyết.

Do đó, như đã nêu trên đây, sáng chế đề xuất peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc biến thể của nó có mức độ tương đồng 88% với các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID

NO: 288, hoặc biến thể của nó mà sẽ gây ra phản ứng chéo của tế bào T với peptit này. Các peptit theo sáng chế có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm -I ở người hoặc phiên bản kéo dài của các peptit này với nhóm II.

Theo sáng chế, thuật ngữ "độ tương đồng" để chỉ mức độ đồng nhất (xem tỷ lệ % độ đồng nhất trên đây) giữa các trình tự của hai trình tự axit amin, nghĩa là trình tự peptit hoặc trình tự polypeptit. Thuật ngữ "độ tương đồng" nêu trên được xác định bằng cách so sánh hai trình tự được dóng thẳng hàng trong điều kiện tối ưu so với các trình tự cần được so sánh. Độ tương đồng về trình tự này có thể được tính toán bằng cách tạo ra sự dóng thẳng hàng, ví dụ, bằng cách sử dụng thuật toán ClustalW. Chương trình phần mềm phân tích trình tự có bán trên thị trường, cụ thể hơn là Vector NTI, GENETYX hoặc các công cụ phân tích khác được cung cấp theo cơ sở dữ liệu đã công bố.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể đánh giá xem các tế bào T được tạo bởi biến thể của peptit đặc hiệu sẽ có thể phản ứng chéo với chính peptit này hay không (Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997).

Thuật ngữ "biến thể" của trình tự axit amin nhất định theo sáng chế có nghĩa là các mạch bên của, ví dụ, một hoặc hai gốc axit amin được thay đổi (ví dụ, bằng cách thay thế chúng bằng mạch bên của gốc axit amin có trong tự nhiên khác hoặc một số mạch bên khác) sao cho peptit này sẽ có khả năng gắn kết với phân tử HLA theo cách gần giống như peptit gồm các trình tự axit amin nhất định bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288. Ví dụ, peptit có thể được cải biến sao cho nó ít nhất là duy trì, nếu không cải thiện, khả năng tương tác với và gắn kết với rãnh gắn kết của phân tử MHC thích hợp, như HLA-A*02 hoặc -DR, và theo cách sao cho nó ít nhất là duy trì, nếu không cải thiện, khả năng gắn kết với thụ thể TCR của các tế bào T hoạt hóa.

Sau đó, các tế bào T này có thể phản ứng chéo với tế bào và tiêu diệt tế bào biểu hiện polypeptit chứa trình tự axit amin tự nhiên của peptit cùng nguồn gốc như được xác định theo các khía cạnh của sáng chế. Như có thể thu được từ tài liệu khoa học và các cơ sở dữ liệu (Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997), một số vị trí nhất định của các peptit gắn kết HLA thường là gốc dạng neo tạo ra trình tự của nhân

khớp với motif gắn kết của thụ thể HLA, được xác định bằng đặc tính phân cực, tính chất điện vật lý, kỵ nước và cấu hình không gian của các chuỗi polypeptit tạo thành rãnh gắn kết. Do đó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể cải biến trình tự axit amin nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO 288, bằng cách giữ nguyên các gốc dạng neo đã biết, và sẽ có thể xác định xem các biến thể này có duy trì khả năng gắn kết với các phân tử MHC nhóm I hoặc II hay không. Các biến thể theo sáng chế vẫn duy trì khả năng gắn kết với thụ thể TCR của các tế bào T hoạt hóa, mà sau đó chúng có thể phản ứng chéo với tế bào và tiêu diệt tế bào biểu hiện polypeptit chứa trình tự axit amin tự nhiên của peptit cùng nguồn gốc như được xác định theo các khía cạnh của sáng chế.

Các peptit gốc (không được cải biến) như được bộc lộ ở đây có thể được cải biến bằng cách thay thế một hoặc nhiều gốc ở các vị trí khác nhau, có thể chọn lọc, trong chuỗi peptit, nếu không được chỉ rõ theo cách khác. Tốt hơn, nếu sự thay thế các gốc này nằm ở đầu của chuỗi axit amin. Sự thay thế này có thể có tính chất bảo toàn, ví dụ, khi một axit amin được thay thế bằng axit amin có cấu trúc và đặc tính tương tự, như khi axit amin kỵ nước được thay thế bằng axit amin kỵ nước khác. Thậm chí sự thay thế axit amin có kích thước hoặc tính chất hóa học và kích thước giống nhau hoặc tương tự sẽ được bảo toàn hơn, như khi leuxin được thay thế bằng isoleuxin. Trong các nghiên cứu về sự thay đổi trình tự ở họ các protein đồng dạng có trong tự nhiên, sự thay thế axit amin nhất định thường được dung nạp hơn so với các loại khác, và sự thay thế này thường có tương quan với tính tương tự về kích thước, điện tích, tính phân cực, tính kỵ nước giữa axit amin gốc và sự thay thế của nó và đây là cơ sở cho việc xác định "sự thay thế bảo toàn".

Sự thay thế bảo toàn ở đây được xác định là sự trao đổi trong một trong năm nhóm sau: Nhóm 1-các gốc nhỏ, béo, không phân cực hoặc phân cực không đáng kể (Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); Nhóm 2-các gốc phân cực, có điện tích âm và các amit của chúng (Asp, Asn, Glu, Gln); Nhóm 3-các gốc phân cực, có điện tích dương (His, Arg, Lys); Nhóm 4-các gốc lớn, béo, không phân cực (Met, Leu, Ile, Val, Cys); và Nhóm 5-các gốc lớn, thơm (Phe, Tyr, Trp).

Sự thay thế ít bảo toàn có thể liên quan đến sự thay thế của một axit amin bằng axit amin khác có các tính chất tương tự nhưng có khác biệt nhất định về kích thước, như sự thay thế alanin bằng gốc isoleuxin. Sự thay thế không bảo toàn ở mức

cao có thể liên quan đến sự thay thế axit amin có tính axit bằng axit amin phân cực, hoặc thậm chí bằng axit amin có tính bazơ. Tuy nhiên, sự thay thế "gốc" này không thể bị loại bỏ khi có thể không hiệu quả do các hiệu quả hóa học không hoàn toàn dự đoán được và sự thay thế gốc cũng có thể làm tăng hiệu quả may mắn không dự đoán được từ các nguyên lý hóa học đơn giản.

Tất nhiên là sự thay thế này có thể liên quan đến cấu trúc chứ không phải L-axit amin thông thường. Do đó, D-axit amin có thể được thay thế cho L-axit amin thường được tìm thấy trong các peptit của kháng nguyên theo sáng chế và cũng vẫn được bao gồm trong bản mô tả sáng chế này. Ngoài ra, các axit amin không chuẩn (nghĩa là không phải các axit amin tạo thành protein có trong tự nhiên thông thường) cũng có thể được sử dụng cho mục đích thay thế để tạo ra chất sinh miễn dịch và polypeptit gây miễn dịch theo sáng chế.

Nếu sự thay thế ở nhiều hơn một vị trí được phát hiện là tạo ra peptit có hoạt tính kháng nguyên lớn hơn hoặc gần như tương đương như được xác định dưới đây, tổ hợp của các thay thế này sẽ được thử nghiệm để xác định xem sự thay thế kết hợp có tạo ra tác dụng bổ sung hoặc tác dụng hiệp đồng đối với tính kháng nguyên của peptit hay không. Tối đa có không quá bốn vị trí trong peptit sẽ được thay thế đồng thời.

Peptit chủ yếu bao gồm trình tự axit amin như được xác định trên đây có thể có một hoặc hai axit amin dạng không neo (xem phần dưới đây liên quan đến motif dạng neo) được trao đổi mà không có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm-I hoặc nhóm–II ở người bị thay đổi đáng kể hoặc bị ảnh hưởng tiêu cực, so với peptit không được cải biến. Theo phương án khác, ở peptit chủ yếu bao gồm trình tự axit amin như được xác định ở đây, một hoặc hai axit amin có thể được trao đổi với các đối tác trao đổi bảo toàn của chúng (xem phần dưới đây) mà không có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm-I hoặc nhóm–II ở người bị thay đổi đáng kể, hoặc bị ảnh hưởng tiêu cực, khi so sánh với peptit không được cải biến.

Các gốc axit amin không góp phần đáng kể vào sự tương tác với thụ thể tế bào T có thể được cải biến bằng cách thay thế bằng axit amin khác mà sự kết hợp này không làm ảnh hưởng đáng kể đến khả năng phản ứng của tế bào T và không làm mất sự gắn kết với MHC thích hợp. Do đó, ngoài các điều kiện đã đưa ra, peptit

theo sáng chế có thể là peptit bất kỳ (theo thuật ngữ bao gồm oligopeptit hoặc polypeptit), bao gồm các trình tự axit amin hoặc phần hoặc biến thể của nó như đã nêu.

Bảng 2: các biến thể và motif của peptit theo các trình tự SEQ ID NO.: 4, 13, và 15

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 4	V	L	F	G	E	L	P	A	L
Các biến thể									V
									I
									A
		M							V
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		V							V
		V							I
		V							
		V							A
		T							V
		T							I
		T							
		T							A
		Q							V
		Q							I
		Q							
		Q							A
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 15	G	L	P	S	A	T	T	T	V

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Các biến thể		I							L
		I							I
		I							
		I							A
		M							L
		M							I
		M							
		M							A
		A							L
		A							I
		A							
		A							A
		V							L
		V							I
		V							
		V							A
		T							L
		T							I
		T							
		T							A
		Q							L
		Q							I
		Q							
		Q							A
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 13	R	L	H	D	E	N	I	L	L
Các biến thể									V
									I
									A
		M							V
		M							I
		M							

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		V							V
		V							I
		V							
		V							A
		T							V
		T							I
		T							
		T							A
		Q							V
		Q							I
		Q							
		Q							A

Các peptit dài hơn (được kéo dài) cũng có thể thích hợp. Các epitop của MHC nhóm I, mặc dù thường có từ 8 đến 11 axit amin trong chiều dài mạch, cũng có thể được tạo ra bằng cách xử lý peptit từ các peptit hoặc protein dài hơn bao gồm epitop thực tế. Tốt hơn, nếu các gốc nằm rìa epitop thực tế là các gốc gần như không ảnh hưởng đến sự phân giải protein cần thiết để tiếp xúc với epitop trong khi xử lý.

Các peptit theo sáng chế có thể được kéo dài tối đa 4 axit amin, nghĩa là 1, 2, 3 hoặc 4 axit amin có thể được bổ sung vào một trong hai đầu theo tổ hợp bất kỳ nằm trong khoảng từ 4:0 đến 0:4. Tổ hợp bất kỳ của việc kéo dài theo sáng chế có thể được tìm thấy trong Bảng 3.

Bảng 3: Tổ hợp của việc kéo dài peptit theo sáng chế

Đầu tận cùng C	Đầu tận cùng N
4	0
3	0 hoặc 1
2	0 hoặc 1 hoặc 2
1	0 hoặc 1 hoặc 2 hoặc 3
0	0 hoặc 1 hoặc 2 hoặc 3 hoặc 4
Đầu tận cùng N	Đầu tận cùng C
4	0
3	0 hoặc 1
2	0 hoặc 1 hoặc 2
1	0 hoặc 1 hoặc 2 hoặc 3
0	0 hoặc 1 hoặc 2 hoặc 3 hoặc 4

Các axit amin để kéo dài/mở rộng có thể là peptit có trình tự gốc của protein hoặc (các) axit amin khác bất kỳ. Sự kéo dài có thể được sử dụng để làm gia tăng độ ổn định hoặc độ tan của peptit.

Do đó, các epitop theo sáng chế có thể giống với các epitop có trong tự nhiên liên quan đến khối u hoặc đặc hiệu với khối u hoặc có thể bao gồm các epitop khác biệt không quá bốn gốc so với peptit tham chiếu, miễn là chúng có hoạt tính kháng nguyên gần như giống nhau.

Theo phương án khác, peptit được kéo dài trên một hoặc cả hai phía bởi nhiều hơn 4 axit amin, tốt hơn là có tổng chiều dài lên đến 30 axit amin. Peptit này có thể tạo ra các peptit gắn kết với MHC nhóm II. Sự gắn kết với MHC nhóm II có thể được thử nghiệm bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Theo đó, sáng chế đề xuất các peptit và biến thể của epitop của MHC nhóm I, trong đó peptit hoặc biến thể này có từ 8 đến 100 axit amin, tốt hơn là có từ 8 đến 30 axit amin, và được ưu tiên nhất là có từ 8 đến 14 axit amin, cụ thể là có 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 axit amin trong toàn bộ chiều dài mạch, trong trường hợp các peptit gắn kết với nhóm II được kéo dài, nó cũng có thể có 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 hoặc 22 axit amin trong chiều dài mạch.

Tất nhiên là peptit hoặc biến thể theo sáng chế sẽ có khả năng gắn kết với

phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I hoặc II ở người. Sự gắn kết của peptit hoặc biến thể với phức hợp MHC có thể được thử nghiệm bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Tốt hơn, nếu khi các tế bào T đặc hiệu với peptit theo sáng chế được thử nghiệm đối với peptit được thế, nồng độ peptit mà khi đó các peptit đã thế đạt một nửa mức tăng tối đa trong quá trình phân giải so với nồng độ tức thời là không nhiều hơn khoảng 1mM, tốt hơn là không nhiều hơn khoảng 1μM, tốt hơn nữa là không nhiều hơn khoảng 1nM, và vẫn tốt hơn nữa là không nhiều hơn khoảng 100pM, và tốt nhất là không nhiều hơn khoảng 10pM. Cũng được ưu tiên nếu peptit đã thế được nhận biết bởi các tế bào T từ nhiều hơn một đối tượng, ít nhất là hai, và tốt hơn nữa là ba đối tượng.

Theo một phương án được đặc biệt ưu tiên của sáng chế, peptit bao gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin theo trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288.

Thuật ngữ "chủ yếu bao gồm" sẽ có nghĩa là, ngoài trình tự theo trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO 288 hoặc biến thể của nó, peptit theo sáng chế chứa các đoạn axit amin nằm ở đầu tận cùng N- và/hoặc C bổ sung là các đoạn không nhất thiết tạo thành một phần của peptit có chức năng làm epitop đối với epitop của phân tử MHC.

Tuy nhiên, các đoạn này có thể là quan trọng để đưa hữu hiệu peptit theo sáng chế vào tế bào. Theo một phương án của sáng chế, peptit là một phần của protein dung hợp bao gồm, ví dụ, 80 axit amin ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (p33, trong phần "Ii" sau đây) khi có nguồn gốc từ NCBI, mã số truy cập ngân hàng gen là X00497. Trong các sản phẩm dung hợp khác, peptit theo sáng chế có thể được dung hợp với kháng thể như được mô tả ở đây, hoặc phần chức năng của nó, cụ thể là vào trình tự của kháng thể, để được hướng đích đặc hiệu bằng kháng thể này, hoặc ví dụ, dung hợp với hoặc vào kháng thể đặc hiệu với tế bào đuôi gai như được mô tả ở đây.

Ngoài ra, peptit hoặc biến thể có thể được cải biến thêm để cải thiện độ ổn định và/hoặc sự gắn kết với các phân tử MHC để tạo ra mức độ đáp ứng miễn dịch mạnh hơn. Các phương pháp để tối ưu hóa trình tự peptit này là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, việc đưa liên kết peptit ngược hoặc liên kết không

phải peptit vào.

Trong liên kết peptit ngược, các gốc axit amin không được liên kết bằng các liên kết peptit (-CO-NH-) mà liên kết peptit này bị đảo ngược. Các chất bắt chước peptit ngược-đảo ngược này có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ như các chất được mô tả trong tài liệu của Meziere và các đồng tác giả (1997) (Meziere et al., 1997), tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Phương pháp này liên quan đến việc tạo ra chất giả peptit có sự thay đổi liên quan đến khung chính, và không có sự định hướng của mạch bên. Tài liệu của Meziere và các đồng tác giả (Meziere et al., 1997) cho thấy rằng sự gắn kết với MHC và các đáp ứng của tế bào T hỗ trợ, các chất giả peptit này là hữu ích. Các peptit ngược-đảo ngược, chứa các liên kết NH-CO thay cho liên kết peptit CO-NH, có độ bền với sự phân giải protein tốt hơn.

Các liên kết không phải peptit là, ví dụ, $-CH_2-NH$, $-CH_2S-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH=CH-$, $-COCH_2-$, $-CH(OH)CH_2-$, và $-CH_2SO-$. Patent Mỹ số US 4.897.445 đề xuất phương pháp tổng hợp pha rắn của các liên kết không phải peptit ($-CH_2-NH$) trong chuỗi polypeptit, phương pháp này liên quan đến việc các polypeptit được tổng hợp bằng phương pháp chuẩn và các liên kết không phải peptit này được tổng hợp bằng cách cho aldehyt amin phản ứng với axit amin với sự có mặt của $NaCNBH_3$.

Các peptit chứa trình tự được mô tả trên đây có thể được tổng hợp bằng các nhóm hóa học bổ sung có mặt ở đầu tận cùng amino và/hoặc carboxy của chúng, để làm tăng độ ổn định, độ sinh khả dụng, và/hoặc ái lực của các peptit. Ví dụ, các nhóm kỵ nước như nhóm carbobenzoxyl, dansyl, hoặc t-butyloxycacbonyl có thể được bổ sung vào đầu tận cùng amino của peptit. Tương tự, nhóm axetyl hoặc nhóm 9-florenylmetoxy-cacbonyl có thể được thay thế ở đầu tận cùng amino của peptit. Ngoài ra, nhóm kỵ nước, nhóm t-butyloxycacbonyl, hoặc nhóm amido có thể được bổ sung vào đầu tận cùng carboxy của peptit.

Ngoài ra, các peptit theo sáng chế cũng có thể được tổng hợp để làm thay đổi cấu hình không gian của chúng. Ví dụ, chất đồng phân D của một hoặc nhiều gốc axit amin của peptit có thể được sử dụng, chứ không phải chất đồng phân L. Hơn nữa, ít nhất một trong số các gốc axit amin của peptit theo sáng chế có thể được thay thế bằng một trong số các gốc axit amin không có trong tự nhiên đã biết rõ. Các thay đổi như nêu trên có thể dùng để làm gia tăng độ ổn định, độ sinh khả dụng và/hoặc

tác dụng gắn kết của các peptit theo sáng chế.

Tương tự, peptit hoặc biến thể theo sáng chế có thể được cải biến bằng phương pháp hóa học bằng cách cho các axit amin đặc hiệu phản ứng trước hoặc sau khi tổng hợp peptit. Ví dụ về các cải biến này là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và được tóm tắt, ví dụ trong tài liệu: R. Lundblad, Chemical Reagents for Protein Modification, 3rd ed. CRC Press, 2004 (Lundblad, 2004), tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Sự cải biến hóa học của axit amin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cải biến bằng cách axyl hóa, amit hóa, pyridoxyl hóa lysin, alkyl hóa khử, trinitrobenzyl hóa các nhóm amin bằng axit 2,4,6-trinitrobenzen sulphonic (TNBS), sự cải biến amit của các nhóm cacboxyl và cải biến sulphydryl bằng cách oxy hóa xystein bằng axit thành axit xysteic, sự tạo ra các dẫn xuất có thủy ngân, sự tạo ra disulfua hỗn hợp bằng các hợp chất thiol khác, sự phản ứng với maleimit, carboxymetyl hóa bằng axit iodoaxetic hoặc iodoaxetamit và carbamoyl hóa bằng xyanat với độ pH có tính kiềm, tuy nhiên không chỉ giới hạn ở các cải biến này. Về mặt này, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể tham khảo tài liệu: Chapter 15 of Current Protocols In Protein Science, Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000) (Coligan et al., 1995) về phương pháp có phạm vi rộng hơn liên quan đến sự cải biến hóa học của các protein.

Tóm lại, sự cải biến, ví dụ, của các gốc arginyl trong protein thường dựa trên phản ứng của các hợp chất vixinal dicacbonyl như phenylglyoxal, 2,3-butanedion, và 1,2-xyclohexandion để tạo ra sản phẩm cộng. Ví dụ khác là phản ứng của metylglyoxal với các gốc arginin. Xystein có thể được cải biến mà không cải biến đồng thời các vị trí ái nhân khác như lysin và histidin. Kết quả là lượng lớn các chất phản ứng có thể sử dụng để cải biến xystein. Website của các công ty như Sigma-Aldrich (http://www.sigma-aldrich.com) cung cấp thông tìn về các chất phản ứng đặc hiệu.

Việc khử chọn lọc liên kết disulfua trong protein cũng là việc phổ biến. Các liên kết disulfua có thể được tạo ra và oxy hóa trong quá trình xử lý nhiệt đối với dược phẩm sinh học. Chất phản ứng K của Woodward có thể được sử dụng để cải biến các gốc axit glutamic đặc hiệu. Hợp chất N-(3-(dimetylamino)propyl)-N'-etylcarbodiimit có thể được sử dụng để tạo ra các liên kết ngang nội phân tử giữa gốc lysin và gốc axit glutamic. Ví dụ, dietylpyrocacbonat là chất phản ứng để cải biến

các gốc histidyl trong protein. Histidin cũng có thể được cải biến bằng cách sử dụng 4-hydroxy-2-nonenal. Phản ứng của các gốc lysin và các gốc α-amin khác chẳng hạn là hữu ích trong sự gắn kết của peptit với bề mặt hoặc sự liên kết ngang của các protein/peptit. Lysin là vị trí liên kết của poly(etylen)glycol và vị trí cải biến chính trong quá trình glycosyl hóa của các protein. Các gốc methionin trong protein có thể được cải biến bằng, ví dụ, iodoaxetamit, bromoetylamin, và cloamin T.

Tetranitrometan và N-axetylimidazol có thể được sử dụng để cải biến các gốc tyrosyl. Sự tạo liên kết ngang bằng cách tạo ra dityrosin có thể được thực hiện với các ion hydro peroxit/đồng.

Các nghiên cứu gần đây đối với sự cải biến tryptophan đã sử dụng N-bromosucxinimit, 2-hydroxy-5-nitrobenzyl bromua hoặc 3-bromo-3-metyl-2-(2-nitrophenylmercapto)-3H-indol (BPNS-skatol).

Sự cải biến thành công các protein và peptit điều trị bệnh bằng PEG thường có liên quan đến sự kéo dài thời gian bán hủy tuần hoàn trong khi tạo liên kết ngang của protein bằng glutaraldehyt, polyetylen glycol diacrylat và formaldehyt được sử dụng để tạo ra hydrogel. Sự cải biến hóa học của các dị nguyên đối với liệu pháp miễn dịch thường đạt được bằng cách carbamyl hóa bằng kali xyanat.

Peptit hoặc biến thể, trong đó peptit này được cải biến hoặc bao gồm các liên kết không peptit là phương án được ưu tiên của sáng chế. Nói chung, các peptit và biến thể (ít nhất các chất này chứa liên kết peptit giữa các gốc axit amin) có thể được tổng hợp bằng chế độ Fmoc-polyamit của phương pháp tổng hợp peptit pha rắn như được bộc lộ trong tài liệu của Lukas và các đồng tác giả (Lukas et al., 1981) và các tài liệu viện dẫn được nêu ở đây. Sự bảo vệ tạm thời nhóm N-amin được thực hiện bởi nhóm 9-florenylmetyloxycacbonyl (Fmoc). Sự phân cắt lặp lại của nhóm bảo vệ bazơ không bền ở mức cao này được tiến hành bằng cách sử dụng piperidin 20% trong N, N-dimetylformamit. Các nhóm chức ở mạch bên có thể được bảo vệ như các ete butyl của chúng (trong trường hợp serin threonin và tyrosin), các este butyl (trong trường hợp axit glutamic và axit aspartic), dẫn xuất butyloxycacbonyl (trong trường hợp lysin và histidin), dẫn xuất trityl (trong trường hợp xystein) và dẫn xuất 4-metoxy-2,3,6-trimetylbenzensulphonyl (trong trường hợp arginin). Khi glutamin hoặc asparagin là các gốc ở đầu tận cùng C, cần sử dụng nhóm 4,4'-dimetoxybenzhydryl để bảo vệ các nhóm chức amido ở mạch bên. Nền pha rắn trên

cơ sở polyme polydimetyl-acrylamit được tạo thành từ ba monome dimetylacrylamit (monome khung chính), bisacryloyletylen diamin (nhóm liên kết ngang) và este acryloylsarcosin metyl (chất tạo nhóm chức). Chất liên kết có thể phân giải peptit- với nhựa được sử dụng là dẫn xuất axit không bền với axit 4-hydroxymetyl-phenoxyaxetic. Tất cả các dẫn xuất axit amin được bổ sung thêm vào dưới dạng dẫn xuất anhydrit đối xứng được điều chế từ trước của chúng, ngoại trừ asparagin và glutamin được bổ sung bằng cách sử dụng phương pháp liên kết qua trung gian N, N-dixyclohexyl-carbodiimit/1hydroxybenzotriazol ngược. Tất cả các phản ứng liên kết và khử bảo vệ được theo dõi bằng cách sử dụng ninhydrin, axit trinitrobenzen sulphonic hoặc phương pháp thử nghiệm isotin. Khi quá trình tổng hợp kết thúc, các peptit được phân giải ra khỏi nền nhựa và đồng thời loại bỏ các nhóm bảo vệ mạch bên bằng cách xử lý bằng axit trifloaxetic 95% chứa hỗn hợp chất tẩy tạp 50%. Các chất tẩy tạp thường được sử dụng bao gồm etandithiol, phenol, anisol và nước, sự lựa chọn chính xác tùy thuộc vào axit amin thành phần của peptit được tổng hợp. Cũng có thể sử dụng tổ hợp phương pháp pha rắn và pha dung dịch để tổng hợp peptit (ví dụ, xem tài liệu: Bruckdorfer et al., 2004, và các tài liệu viện dẫn được nêu ở đây).

Axit trifloaxetic được loại bỏ bằng cách làm bay hơi trong chân không, sau đó nghiền thành bột với ete dietyl để tạo ra peptit thô. Các chất tẩy tạp bất kỳ có mặt được loại bỏ bằng phương pháp chiết một lần trong đó sự đông khô nhanh pha nước tạo ra peptit thô không chứa chất tẩy tạp. Các chất phản ứng để tổng hợp peptit thường được mua từ, ví dụ, công ty Calbiochem-Novabiochem (Nottingham, Vương Quốc Anh).

Việc tinh chế có thể được thực hiện bằng kỹ thuật bất kỳ, hoặc tổ hợp các kỹ thuật như tái kết tinh, sắc ký loại trừ theo kích thước, sắc ký trao đổi ion, sắc ký tương tác kỵ nước và (thường là) sắc ký lỏng có hiệu năng cao pha ngược bằng cách sử dụng, ví dụ, kỹ thuật tách gradienaxetonitril/nước.

Việc phân tích peptit có thể được tiến hành bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng, phương pháp điện di, cụ thể là phương pháp điện di mao dẫn, phương pháp chiết pha rắn (CSPE), phương pháp sắc ký lỏng có hiệu năng cao pha ngược, phương pháp phân tích axit amin sau khi thủy phân bằng axit và bằng phương pháp phổi khối lượng bắn phá nguyên tử nhanh (fast atom bombardment: FAB), cũng như phương pháp phân tích phổi khối MALDI và ESI-Q-TOF.

Để nhận biết các peptit theo sáng chế, cơ sở dữ liệu của sự biểu hiện ARN có sẵn công khai (Lonsdale, 2013) từ khoảng 3000 mẫu mô bình thường được sàng lọc đối với gen gần như không biểu hiện trong các hệ cơ quan quan trọng cho sự sống, và biểu hiện ở mức thấp trong các hệ cơ quan quan trọng cho sự sống khác. Trong bước thứ hai, các peptit liên quan đến bệnh ung thư có nguồn gốc từ sản phẩm protein của các gen này được nhận biết bằng phương pháp khổ khối lượng bằng cách sử dụng thiết bị XPRESIDENT™ như được mô tả ở đây.

Cụ thể, để chọn các gen quan tâm bằng cách sử dụng dữ liệu trình tự RNASeq từ cơ sở dữ liệu nêu trên, các hệ cơ quan quan trọng cho sự sống được xem xét là: não, tim, mạch máu, phổi, và gan. Số đọc cho một kilo bazơ cho một triệu lần đọc (reads per kilobase per million reads: RPKM) của các cơ quan quan trọng cho sự sống cần phải nhỏ hơn 2, và phân vị 75% cần phải nhỏ hơn 5 RPKM để chọn gen. Nếu các hệ cơ quan được thu hồi bằng nhiều hơn một nhóm mẫu, ví dụ, các vùng não khác nhau được phân tích riêng biệt, giá trị trung bình lớn nhất và phân vị 75% lớn nhất trong các nhóm mẫu này được sử dụng để tính. Các hệ cơ quan quan trọng cho sự sống khác được xem xét là: da, dây thần kinh, tuyến yên, ruột kết, thận, mô mỡ, tuyến thượng thận, bàng quang, máu toàn phần, thực quản, cơ, tụy, tuyến nước bọt, ruột non, dạ dày, vú, lách, tuyến giáp. Giá trị RPKM trung bình lớn nhất của các cơ quan này cần phải nhỏ hơn 10 để chọn gen. Các cơ quan khác được xem xét là các cơ quan không quan trọng cho sự sống và do đó không sử dụng giá trị ngưỡng cho sự biểu hiện của gen. Các cơ quan này là cổ tử cung và tử cung, ống dẫn trứng, âm đạo, tuyến tiền liệt, tinh hoàn, và buồng trứng. Bằng cách sử dụng phương pháp sàng lọc này, khoảng 14000 gen ứng viên được chọn. Tiếp theo, profin biểu hiện của các peptit có nguồn gốc từ các protein tương ứng được phân tích. Các peptit được cho là peptit quan tâm nếu chúng được biểu hiện trên ít hơn năm mẫu bình thường trong tập hợp gồm nhiều hơn 170 mẫu bình thường (nghĩa là không phải mẫu bệnh ung thư) được phân tích, và nếu mức độ biểu hiện trên mô bình thường cao nhất nhỏ hơn 30% tín hiệu trung bình của khối u (so với tất cả các mẫu khối u).

Để chọn lọc các peptit được trình diện quá mức, profin trình diện tính được cho thấy sự trình diện của mẫu trung bình cũng như sự biến đổi lặp lại. Để profin của các mẫu thực thể khối u quan tâm và đường gốc của các mẫu mô bình thường cạnh nhau. Sau đó, mỗi profin này có thể được hợp nhất thành điểm số của sự biểu hiện

quá mức bằng cách tính giá trị p của mô hình hiệu quả hỗn hợp tuyến tính (Pinheiro et al., 2015) điều chỉnh cho nhiều thử nghiệm bằng tỷ lệ phát hiện sai (Benjamini and Hochberg, 1995)

Để xác định và định lượng tương đối các phối tử của HLA bằng phương pháp phổ khối lượng, các phân tử HLA từ mẫu mô được đông lạnh sốc được tinh chế và các peptit liên quan đến HLA được phân lập. Các peptit phân lập được được tách ra và trình tự được xác định bằng các thử nghiệm sắc ký lỏng-phổ khối lượng (liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS) ion hóa phun điện tử nano (nano-electrospray-ionization: nanoESI) trực tuyến. Các trình tự peptit tạo thành được kiểm tra bằng cách so sánh mẫu phân mảnh của TUMAP tự nhiên ghi được từ các mẫu khối u nguyên phát với các mẫu phân mảnh của các peptit tham chiếu tổng hợp tương ứng của các trình tự giống nhau. Do các peptit được xác định trực tiếp dưới dạng phối tử của các phân tử HLA của khối u nguyên phát, các kết quả này cung cấp bằng chứng trực tiếp về việc xử lý và trình diện tự nhiên của các peptit được xác định trên mô ung thư nguyên phát.

Số lượng mẫu là (tổng số mẫu/số mẫu đạt chất lượng (QC)): đối với PC N=39 (36), đối với RCC N= 22 (18), đối với CRC N=31 (28), đối với caxinom thực quản N= 14 (11), đối với BPH và bệnh ung thư tuyến tiền liệt N= 53 (43), đối với HCC N=15 (15), đối với NSCLC N=96 (87), đối với GC N=35 (33), đối với GB N= 38 (27), đối với bệnh ung thư vú N= 2 (2), đối với u melanin N=5 (2), đối với bệnh ung thư buồng trứng N= 21 (20), đối với CLL N= 5 (4), đối với SCLC N= 18 (17), đối với NHL N= 18 (18), đối với AML N= 23 (18), đối với GBC, CCC N= 18 (17), đối với UBC N= 17 (15), đối với UEC N= 19 (16). Các mẫu được cho là đạt chất lượng (QC) nếu thu được 5 kết quả khổ khối lượng lặp lại hoặc mẫu được sử dụng hết hoàn toàn, và các peptit được dùng để tính hệ số chuẩn hóa (nghĩa là xuất hiện khi sao chép về mặt kỹ thuật của cùng mẫu với mức độ thay đổi nhỏ hơn 50%, hoặc xuất hiện ít nhất là trong 2 mẫu độc lập) bằng ít nhất 30% tổng số peptit được xác định trong mẫu này. Các mẫu được phân loại theo kiểu phụ để tạo ra kiểu phụ hiếm gặp (như A*02:05, A*02:06) được loại trừ khi chọn các peptit theo sáng chế.

Thiết bị phát hiện XPRESIDENT® v2.1 (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2013-0096016, tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó) cho phép xác định và chọn lọc các ứng viên vacxin chứa

peptit được trình diện quá mức liên quan trên cơ sở định lượng tương đối trực tiếp lượng peptit giới hạn bởi HLA trên các mô ung thư so với một vài mô và cơ quan không ung thư khác nhau. Điều này đạt được bằng cách phát triển phương pháp định lượng khác nhau không đánh dấu bằng cách sử dụng dữ liệu LC-MS thu được được xử lý bằng chương trình phân tích dữ liệu độc quyền, kết hợp các thuật toán để xác định trình tự, phân cụm phổ, đếm ion, dóng thẳng hàng thời gian duy trì, giải phóng trạng thái tích điện và chuẩn hóa.

Mức độ trình diện bao gồm cả sai số ước tính đối với mỗi eptit và mẫu được thiết lập. Các peptit chỉ được biểu hiện trên mô khối u và các peptit được trình diện quá mức trong khối u so với các cơ quan và mô không ung thư đã được xác định.

Các phức hợp HLA-peptit lấy từ các mẫu mô bệnh HCC nguyên phát, CRC, GB, GC, ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL được tinh chế và các peptit liên quan đến HLA được phân lập và phân tích bằng phương pháp LC-MS (xem các ví dụ). Tất cả các peptit TUMAP theo sáng chế được xác định bằng phương pháp này trên các mẫu bệnh HCC, CRC, GB, GC, ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và/hoặc CLL, đều khẳng định sự biểu hiện của chúng trên các loại khối u này.

Các peptit TUMAP được xác định trên nhiều mô khối u và mô bình thường được định lượng bằng cách sử dụng phương pháp đếm ion theo các dữ liệu LC-MS không đánh dấu. Phương pháp này giả định rằng các vùng tín hiệu LC-MS của peptit có tương quan với sự có mặt quá nhiều của chúng trong mẫu. Tất cả các tín hiệu định lượng của peptit trong các thử nghiệm LC-MS khác nhau đều được chuẩn hóa trên cơ sở xu hướng trung tâm, được tính trung bình theo mỗi mẫu và được hợp nhất thành biểu đồ cột, được gọi là profin trình diện. Profin trình diện này hợp nhất các phương pháp phân tích khác nhau như tìm kiếm cơ sở dữ liệu protein, phân cụm phổ, giải phóng trạng thái tích điện (khử tích điện) và dóng thẳng hàng thời gian duy trì và chuẩn hóa.

Ngoài ra, thiết bị phát hiện XPRESIDENT® v2.x cho phép định lượng tuyệt đối trực tiếp MHC-, tốt hơn là được giới hạn bởi HLA, mức peptit trên các mô ung thư hoặc mô bị bệnh khác. Tóm lại, tổng số lượng tế bào được tính từ hàm lượng

ADN tổng số của mẫu mô được phân tích. Tổng lượng peptit của peptit TUMAP trong mẫu mô được xác định bằng phương pháp nanoLC-MS/MS theo tỷ lệ của peptit TUMAP tự nhiên và lượng đã biết của dạng được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ của peptit TUMAP, còn được gọi là chất chuẩn nội. Hiệu quả của sự phân lập peptit TUMAP được xác định bằng cách bổ sung phức hợp peptit:MHC của tất cả các peptit TUMAP được chọn vào dịch tan mô ở thời điểm sớm nhất có thể của quá trình phân lập TUMAP và sự phát hiện chúng bằng phương pháp nanoLC-MS/MS sau khi kết thúc quá trình phân lập peptit. Tổng số lượng tế bào và lượng peptit được tính từ ba lần xác định đối với mỗi mẫu mô. Hiệu suất phân lập peptit đặc hiệu được tính từ giá trị trung bình thu được từ 10 thử nghiệm bổ sung, mỗi thử nghiệm được thực hiện ba lần (xem ví dụ 6 và bảng 11).

Phép phân tích kết hợp sự biểu hiện của ARN và dữ liệu khổ khối lượng cho kết quả của 288 peptit theo sáng chế. Trong nhiều trường hợp, peptit chỉ được nhận biết trên số lượng ít khối u. Tuy nhiên, do phương pháp phân tích khổ khối lượng thông thường có độ nhạy giới hạn, dữ liệu ARN cung cấp cơ sở tốt hơn nhiều cho việc ước tính khoảng biểu hiện (xem ví dụ 2).

Sáng chế đề xuất peptit hữu ích trong việc điều trị các bệnh ung thư/khối u, tốt hơn nếu là bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL được biểu hiện quá mức hoặc chỉ biểu hiện các peptit theo sáng chế. Các peptit này được chứng minh bằng phương pháp khổ khối lượng là được biểu hiện trong tự nhiên bởi các phân tử HLA trên các mẫu bệnh HCC nguyên phát của người, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, CLL, và/hoặc trên mẫu bệnh PC.

Nhiều gen/protein nguồn (còn được gọi là "protein có chiều dài đầy đủ" hoặc "protein cơ sở") mà các peptit có nguồn gốc từ đó được chứng minh là biểu hiện ở mức quá cao ở bệnh ung thư so với các mô bình thường – thuật ngữ "các mô bình thường" liên quan đến sáng chế này sẽ có nghĩa là mô khỏe mạnh của loại khối u tương ứng (gan, ruột kết/trực tràng, não, dạ dày, thực quản, phổi, tụy, thận, tuyến tiền liệt, buồng trứng, da, vú và bạch cầu) hoặc các tế bào của mô bình thường khác, chứng minh sự liên quan đến khối u ở mức cao của các gen nguồn (xem ví dụ 2).

Ngoài ra, chính các peptit được biểu hiện ở mức quá cao trên mô khối u – thuật ngữ "mô khối u" liên quan đến sáng chế này có nghĩa là mẫu lấy từ bệnh nhân mắc bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL, mà không biểu hiện trên các mô bình thường (xem ví dụ 1).

Các peptit gắn kết với HLA có thể được nhận biết bởi hệ miễn dịch, cụ thể là các tế bào lymphô T. Các tế bào T có thể phá hủy các tế bào biểu hiện phức hợp HLA/peptit đã được nhận biết, ví dụ, các tế bào HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, PC, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL biểu hiện peptit có nguồn gốc từ đó.

Các peptit theo sáng chế đã được chứng minh là có khả năng kích thích đáp ứng của tế bào T và/hoặc được biểu hiện quá mức và do đó có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể và/hoặc các thụ thể TCR, cụ thể là thụ thể TCR hòa tan theo sáng chế (xem ví dụ 3, ví dụ 4). Hơn nữa, khi các peptit được tạo phức với MHC tương ứng cũng có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể, cụ thể là các đoạn gắn kết của chúng, chất gắn kết giống như kháng thể và/hoặc thụ thể TCR, cụ thể là các thụ thể hòa tan sTCR theo sáng chế. Các phương pháp tương ứng là đã được biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và cũng có thể được tìm thấy trong các tài liệu chuyên ngành tương ứng. Do đó, các peptit theo sáng chế hữu ích để tạo ra đáp ứng miễn dịch ở bệnh nhân mà nhờ đó các tế bào khối u có thể bị phá hủy. Đáp ứng miễn dịch ở bệnh nhân có thể được tạo ra bằng cách sử dụng trực tiếp các peptit đã mô tả hoặc tiền chất thích hợp (ví dụ, peptit được kéo dài, protein, hoặc axit nucleic mã hóa các peptit này) cho bệnh nhân, lý tưởng là kết hợp với chất làm gia tăng tính sinh miễn dịch (nghĩa là tá dược). Đáp ứng miễn dịch có nguồn gốc từ việc tiêm chủng vacxin điều trị bệnh này có thể được dự kiến là có độ đặc hiệu cao với các tế bào khối u do các peptit đích của sáng chế không được biểu hiện trên mô bình thường với số lượng bản sao tương đương, điều này ngăn ngừa nguy cơ của các phản ứng tự miễn không mong muốn đối với tế bào bình thường ở bệnh nhân.

Sáng chế còn đề xuất thụ thể các thụ thể tế bào T (T-cell receptor: TCR) chứa chuỗi alpha và chuỗi beta ("thụ thể TCR alpha/beta"). Sáng chế còn đề xuất các peptit có khả năng gắn kết với các thụ thể TCR và kháng thể khi được biểu hiện bởi

phân tử MHC. Sáng chế còn đề xuất axit nucleic, vectơ và tế bào chủ để biểu hiện thụ thể TCR và peptit theo sáng chế; và phương pháp sử dụng chúng.

Thuật ngữ " thụ thể tế bào T" (viết tắt là TCR) để chỉ phân tử heterodime chứa chuỗi polypeptit alpha (chuỗi alpha) và chuỗi polypeptit beta (chuỗi beta), trong đó thụ thể heterodime này có khả năng gắn kết với kháng nguyên của peptit được trình diện bởi phân tử HLA. Thuật ngữ này còn bao gồm thuật ngữ còn được gọi là thụ thể TCR gama/delta.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra thụ thể TCR như được mô tả ở đây, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ có khả năng biểu hiện thụ thể TCR trong các điều kiện thích hợp để kích thích sự biểu hiện của thụ thể TCR này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp trong đó kháng nguyên được tải lên các phân tử của MHC nhóm I hoặc II được biểu hiện trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên thích hợp hoặc tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo bằng cách cho kháng nguyên với lượng đủ tiếp xúc với tế bào trình diện kháng nguyên hoặc kháng nguyên này được tải lên của MHC nhóm I hoặc II bằng cách tetrame hóa các monome phức hợp kháng nguyên/MHC nhóm I hoặc II này.

Mỗi chuỗi alpha và beta của thụ thể TCR alpha/beta, và chuỗi gama và delta của thụ thể TCR gama/delta, thường được cho là có hai "vùng", cụ thể là vùng biến đổi và vùng ổn định. Vùng biến đổi gồm sự kết chuỗi của vùng biến đổi (V), và vùng nối (J). Vùng biến đổi cũng có thể bao gồm vùng dẫn đầu (L). Các chuỗi beta và delta cũng có thể bao gồm vùng đa dạng (D). Các vùng ổn định alpha và beta cũng có thể bao gồm các vùng xuyên màng (TM) ở đầu tận cùng C để neo các chuỗi alpha và beta với màng tế bào.

Liên quan đến thụ thể TCR gama/delta, thuật ngữ "vùng biến đổi của thụ thể TCR gama", khi được sử dụng ở đây, để chỉ sự kết chuỗi của vùng thụ thể TCR gama V (TRGV) mà không có vùng dẫn đầu (L), và vùng thụ thể TCR gama J (TRGJ), và thuật ngữ vùng ổn định của thụ thể TCR gama để chỉ vùng TRGC ngoại bào, hoặc trình tự TRGC bị cắt cụt ở đầu tận cùng C. Tương tự, thuật ngữ "vùng biến đổi của thụ thể TCR delta" để chỉ sự kết chuỗi của vùng thụ thể TCR delta V (TRDV) mà không có vùng dẫn đầu (L) và vùng thụ thể TCR delta D/J (TRDD/TRDJ), và thuật ngữ "vùng ổn định của thụ thể TCR delta" để chỉ vùng

TRDC ngoại bào, hoặc trình tự TRDC bị cắt cụt ở đầu tận cùng C.

Tốt hơn, nếu các thụ thể TCR theo sáng chế gắn kết với phức hợp phân tử peptit-HLA với ái lực gắn kết (KD) khoảng 100μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 50μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 25μM hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 10μM hoặc nhỏ hơn. Được ưu tiên hơn là các thụ thể TCR ái lực cao có ái lực gắn kết khoảng 1μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 25nM hoặc nhỏ hơn. Ví dụ không làm giới hạn về khoảng ái lực gắn kết được ưu tiên của các thụ thể TCR theo sáng chế bao gồm nằm trong khoảng từ 1nM đến 10nM; từ 10nM đến 20nM; từ 20nM đến 30nM; từ 30nM đến 40nM; từ 40nM đến 50nM; từ 50nM đến 60nM; từ 60nM đến 70nM; từ 70nM đến 80nM; từ 80nM đến 90nM; và từ 90nM đến 100nM.

Khi được sử dụng ở đây liên quan đến các thụ thể TCR theo sáng chế, thuật ngữ "sự gắn kết đặc hiệu" và các biến thể ngữ pháp của chúng được sử dụng để chỉ thụ thể TCR có ái lực gắn kết (KD) đối với phức hợp phân tử peptit-HLA bằng 100μM hoặc nhỏ hơn.

Các thụ thể heterodime TCR alpha/beta theo sáng chế có thể có liên kết disulfua được đưa vào giữa các vùng ổn định. Các thụ thể TCR được ưu tiên thuộc loại này bao gồm các thụ thể có trình tự vùng ổn định TRAC và trình tự vùng ổn định TRBC1 hoặc TRBC2 ngoại trừ việc các gốc Thr 48 của TRAC và Ser 57 của TRBC1 hoặc TRBC2 được thay thế bằng các gốc xystein, các gốc xystein này tạo thành liên kết disulfua giữa trình tự vùng ổn định TRAC và trình tự vùng ổn định TRBC1 hoặc TRBC2 của thụ thể TCR.

Bất kể có hoặc không có liên kết giữa các chuỗi được đưa vào nêu trên, các thụ thể heterodime TCR alpha/beta theo sáng chế có thể có trình tự vùng ổn định TRAC và trình tự vùng ổn định TRBC1 hoặc TRBC2, và trình tự vùng ổn định TRAC và trình tự vùng ổn định TRBC1 hoặc TRBC2 của thụ thể TCR có thể được liên kết bằng liên kết disulfua tự nhiên giữa gốc Cys4 của exon 2 của TRAC và gốc Cys2 của exon 2 của TRBC1 hoặc TRBC2.

Các thụ thể TCR theo sáng chế có thể chứa chất đánh dấu có thể phát hiện được chọn từ nhóm bao gồm đồng vị phóng xạ, nhóm huỳnh quang và biotin. Các thụ thể TCR theo sáng chế có thể được liên hợp với chất có hoạt tính điều trị, như đồng vị phóng xạ, chất hóa trị liệu, hoặc độc tố.

Theo một phương án, thụ thể TCR theo sáng chế có ít nhất một đột biến trong chuỗi alpha và/hoặc có ít nhất một đột biến trong chuỗi beta được cải biến glycosyl hóa so với thụ thể TCR không được đột biến.

Theo một phương án, thụ thể TCR chứa ít nhất một đột biến trong chuỗi alpha của thụ thể TCR và/hoặc chuỗi beta của thụ thể TCR có ái lực gắn kết với, và/hoặc chu kỳ bán hủy của sự gắn kết với, phức hợp phân tử peptit-HLA, ít nhất là gấp đôi so với thụ thể TCR chứa chuỗi alpha của thụ thể TCR không được đột biến và/hoặc chuỗi beta của thụ thể TCR không được đột biến. Việc làm tăng ái lực của các thụ thể TCR đặc hiệu khối u, và sự khai thác nó, dựa vào sự tồn tại của khung ái lực của TCR tối ưu. Sự tồn tại của khung này dựa trên việc quan sát được rằng các thụ thể TCR đặc hiệu với tác nhân gây bệnh giới hạn bởi HLA-A2 có giá trị KD thường thấp hơn khoảng 10 lần so với các thụ thể TCR đặc hiệu với kháng nguyên bản thân liên quan đến khối u được giới hạn bởi HLA-A2. Hiện nay, đã biết rằng mặc dù các kháng nguyên khối u có khả năng gây miễn dịch, do các khối u sinh ra các tế bào của chính đối tượng chỉ đột biến một hoặc nhiều protein bằng cách xử lý dịch mã biến đổi sẽ được hệ miễn dịch coi là kháng nguyên ngoại lai. Các kháng nguyên được điều hòa tăng hoặc được biểu hiện quá mức (còn được gọi là kháng nguyên bản thân) sẽ không nhất thiết gây ra đáp ứng miễn dịch chức năng kháng u: các tế bào T biểu hiện thụ thể TCR có khả năng phản ứng ở mức cao với các kháng nguyên này sẽ không được chọn trong tuyến ức trong quá trình được gọi là dung nạp trung tâm, nghĩa là chỉ còn lại các tế bào T với thụ thể TCR có ái lực thấp đối với kháng nguyên bản thân. Do đó, ái lực của các thụ thể TCR hoặc các biến thể của peptit theo sáng chế có thể được tăng lên bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp nhận biết và phân lập thụ thể TCR theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước ủ các tế bào PBMC, được lấy từ người cho khỏe mạnh âm tính với HLA-A*02, với monome A2/peptit, ủ các tế bào PBMC này với tetrame-phycoerythrin (PE) và phân lập các tế bào T có ái lực cao bằng phương pháp phân tích Calibur- phân loại tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (florescence activated cell sorting: FACS).

Sáng chế còn đề xuất phương pháp nhận biết và phân lập thụ thể TCR theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước thu được chuột chuyển gen có toàn bộ locus gen TCRαβ của người (1,1 và 0,7Mb), có các tế bào T biểu hiện danh mục thụ

thể TCR đa dạng của người để bù lại sự thiếu hụt thụ thể TCR của chuột, gây miễn dịch cho chuột này bằng peptit quan tâm, ủ các tế bào PBMC thu được từ chuột chuyển gen với tetrame-phycoerythrin (PE), và phân lập các tế bào T có ái lực cao bằng phương pháp phân tích Calibur- phân loại tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (FACS).

Theo một khía cạnh, để thu được tế bào T biểu hiện thụ thể TCR theo sáng chế, axit nucleic mã hóa chuỗi alpha-TCR và/hoặc chuỗi beta-TCR theo sáng chế được tách dòng vào các vectơ biểu hiện, như gama retrovirut hoặc lentivirut. Các virut tái tổ hợp được tạo ra và sau đó được thử nghiệm về mặt chức năng, như độ đặc hiệu kháng nguyên và ái lực chức năng. Sau đó, phần phân ước của sản phẩm cuối được sử dụng để tải nạp quần thể tế bào T đích (thường được tinh chế từ các tế bào PBMC của bệnh nhân), quần thể này được mở rộng trước khi tiêm truyền vào bệnh nhân.

Theo khía cạnh khác, để thu được các tế bào T biểu hiện thụ thể TCR theo sáng chế, ARN của thụ thể TCR được phân tích bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, các hệ phiên mã *in vitro*. Sau đó, ARN của thụ thể TCR tổng hợp được *in vitro* này được đưa vào các tế bào T CD8+ sơ cấp được lấy từ người cho khỏe mạnh bằng cách gây xung điện để biểu hiện lại chuỗi alpha-TCR và/hoặc chuỗi beta-TCR đặc hiệu khối u.

Để làm gia tăng mức độ biểu hiện, tốt hơn nếu axit nucleic mã hóa các thụ thể TCR theo sáng chế có thể được liên kết hoạt động với các gen khởi đầu mạnh như đoạn lặp ở đầu tận cùng dài (long terminal repeat: LTR) của retrovirut, virut cự bào (cytomegalovirus: CMV), virut tế bào gốc của chuột (murine stem cell virus: MSCV) U3, phosphoglyxerat kinaza (phosphoglycerate kinase: PGK), β-actin, ubiquitin, và gen khởi đầu phức hợp virut của khỉ 40 (simian virus 40: 40SV40)/CD43, yếu tố kéo dài (elongation factor: EF)-1a và gen khởi đầu tạo ổ bệnh ở lách (spleen focus-forming virus: SFFV). Theo phương án được ưu tiên, gen khởi đầu này khác loại với axit nucleic được biểu hiện.

Ngoài gen khởi đầu mạnh, cat xet biểu hiện thụ thể TCR theo sáng chế có thể chứa các thành phần bổ sung để có thể làm gia tăng mức độ biểu hiện chuyển gen, bao gồm cả đường đa purin trung tâm (central polypurine tract: cPPT), để kích thích sự chuyển đoạn nhân của cấu trúc của lentivirut (Follenzi et al., 2000), và yếu tố điều

hòa sau phiên mã của virut viêm gan ở chuột chũi (woodchuck hepatitis virus posttranscriptional regulatory element: wPRE), yếu tố này làm tăng mức độ biểu hiện chuyển gen bằng cách làm tăng tính ổn định của ARN (Zufferey et al., 1999).

Các chuỗi alpha và beta của thụ thể TCR theo sáng chế có thể được mã hóa bằng axit nucleic nằm trên các vectơ riêng biệt, hoặc có thể được mã hóa bằng polynucleotit nằm trên chính vectơ này.

Cần đạt được sự biểu hiện trên bề mặt của thụ thể TCR ở mức cao để cho cả chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR của thụ thể TCR được phiên mã ở mức cao. Nhằm mục đích này, cả chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR theo sáng chế có thể được tách dòng vào cấu trúc bi-xistronic trong một vectơ, vectơ này đã được chứng minh là có khả năng khắc phục được yêu cầu nêu trên. Việc sử dụng viral điểm vào trong ribosom (intraribosomal entry site: IRES) của virut ở giữa chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR tạo ra sự biểu hiện kết hợp của cả hai chuỗi này, do chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR được tạo ra từ một sản phẩm phiên mã bị phá vỡ thành hai protein trong khi dịch mã, điều này đảm bảo rằng tạo ra tỷ lệ mol tương đương của các chuỗi alpha-TCR và beta-TCR. (Schmitt et al. 2009).

Axit nucleic mã hóa các thụ thể TCR theo sáng chế có thể là codon được tối ưu hóa để làm tăng sự biểu hiện từ tế bào chủ. Sự lặp lại trong mã di truyền cho phép một số axit amin được mã hóa bằng nhiều hơn một codon, nhưng một số codon "ít tối ưu" hơn các codon khác do độ khả dụng tương đối phù hợp của các ARN vận chuyển (tRNA) cũng như các yếu tố khác (Gustafsson et al., 2004). Việc cải biến các trình tự gen của TCR-alpha và TCR-beta sao cho mỗi axit amin được mã hóa bằng codon tối ưu đối với sự biểu hiện gen của động vật có vú, cũng như loại bỏ motif không ổn định của ARN thông tin hoặc các vị trí ghép ẩn, đã được chứng minh là làm tăng đáng kể mức độ biểu hiện gen của TCR-alpha và TCR-beta (Scholten et al., 2006).

Ngoài ra, sự bắt cặp sai giữa chuỗi TCR được đưa vào và chuỗi TCR nội sinh có thể làm cho tính đặc hiệu thu được có nguy cơ đáng kể về tính tự miễn dịch. Ví dụ, sự tạo ra các dime TCR hỗn hợp có thể làm giảm số lượng phân tử CD3 có thể tạo ra phức hợp TCR được bắt cặp thích hợp, và do đó có thể làm giảm đáng kể ái lực chức năng của các tế bào hiểu hiện thụ thể TCR được đưa vào (Kuball et al., 2007).

Để làm giảm mức độ bắt cặp sai, vùng đầu tận cùng C của các chuỗi TCR theo sáng chế được đưa vào có thể được cải biến để kích thích ái lực giữa các chuỗi, trong khi làm giảm khả năng bắt cặp với TCR nội sinh của các chuỗi được đưa vào. Chiến lược này có thể tạo ra sự thay thế các vùng ở đầu tận cùng C của chuỗi TCR-alpha và TCR-beta của người bằng các vùng tương ứng của chuột của chúng (vùng ở đầu tận cùng C của chuột); tạo ra liên kết disulfua thứ hai giữa các chuỗi trong vùng ở đầu tận cùng C bằng cách đưa gốc xystein thứ hai vào cả chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR của thụ thể TCR được đưa vào (sự cải biến xystein); trao đổi các gốc tương tác trong trong các vùng ở đầu tận cùng C của chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR (phương pháp "chỗ phình vào chỗ lõm" "knob-in-hole''); và dung hợp các vùng biến đổi của chuỗi alpha-TCR và chuỗi beta-TCR trực tiếp với CD3ζ (thể dung hợp CD3ζ). (Schmitt et al. 2009).

Theo một phương án, tế bào chủ được thiết kế để biểu hiện thụ thể TCR theo sáng chế. Theo các phương án được ưu tiên, tế bào chủ là tế bào T hoặc tổ tiên của tế bào T của người. Theo một số phương án, tế bào T hoặc tổ tiên của tế bào T thu được từ bệnh nhân ung thư. Theo các phương án khác, tế bào T hoặc tổ tiên của tế bào T thu được từ người cho khỏe mạnh. Tế bào chủ theo sáng chế có thể là tế bào khác loại hoặc tế bào tự thân đối với bệnh nhân cần điều trị. Theo một phương án, vật chủ là tế bào T gama/delta được biến nạp để biểu hiện thụ thể TCR alpha/beta.

"Dược phẩm" là chế phẩm thích hợp để sử dụng cho người trong lĩnh vực y tế. Tốt hơn, nếu dược phẩm này vô khuẩn và được bào chế theo hướng dẫn thực hành sản xuất tốt (Good Manufacturing Pratice: GMP).

Các dược phẩm chứa peptit ở dạng tự do hoặc ở dạng muối dược dụng (cũng xem phần trên đây). Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "muối dược dụng" để chỉ dẫn xuất của peptit được bộc lộ trong đó peptit này được cải biến bằng cách tạo muối axit hoặc muối bazơ của nó. Ví dụ, các muối axit được điều chế từ bazơ tự do (trong đó thường là dạng trung tính của dược chất có nhóm –NH2 trung tính) liên quan đến phản ứng với axit thích hợp. Các axit thích hợp để điều chế các muối axit bao gồm cả các axit hữu cơ, ví dụ, axit axetic, axit propionic, axit glycolic, axit pyruvic, axit oxalic, axit malic, axit malonic, axit sucxinic, axit maleic, axit fumaric, axit tartaric, axit xitric, axit benzoic, axit xinamic, axit mandelic, axit metan sulfonic, axit etan sulfonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, và axit tương tự,

cũng như các axit vô cơ, ví dụ, axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và axit tương tự. Ngược lại, việc điều chế các muối bazơ của gốc axit có thể có mặt trên peptit được điều chế bằng cách sử dụng bazơ dược dụng như natri hydroxit, kali hydroxit, amoni hydroxit, canxi hydroxit, trimetylamin hoặc bazơ tương tự.

Theo phương án được đặc biệt ưu tiên, dược phẩm chứa peptit dưới dạng muối của axit axetic (axetat), triflo axetat hoặc axit clohydric (clorua).

Tốt hơn, nếu thuốc theo sáng chế là các liệu pháp miễn dịch như vacxin. Vacxin này có thể được sử dụng trực tiếp cho bệnh nhân, vào cơ quan bị bệnh hoặc sử dụng qua đường toàn thân như i.d., i.m., s.c., i.p. và i.v., hoặc được sử dụng *ex vivo* cho các tế bào có nguồn gốc từ bệnh nhân hoặc dòng tế bào của người mà sau đó được sử dụng cho bệnh nhân này, hoặc được sử dụng *in vitro* để chọn lọc tiểu quần thể của các tế bào miễn dịch có nguồn gốc từ bệnh nhân mà sau đó được sử dụng lại cho bệnh nhân này. Nếu axit nucleic được sử dụng cho các tế bào *in vitro*, nó có thể hữu ích cho các tế bào cần được chuyển nhiễm để đồng biểu hiện các xytokin kích thích miễn dịch, như intơlơkin-2. Peptit có thể gần như tinh khiết, hoặc được kết hợp với tá dược kích thích miễn dịch (xem phần dưới đây) hoặc được sử dụng kết hợp với các xytokin kích thích miễn dịch, hoặc được sử dụng với hệ giải phóng thích hợp, ví dụ, liposom. Peptit cũng có thể được liên hợp với chất mang thích hợp như hemoxyanin hà (keyhole limpet haemocyanin: KLH) hoặc manan (ví dụ, xem công bố đơn quốc tế số WO 95/18145 và tài liệu: Longenecker et al., 1993). Peptit cũng có thể được hướng đích, có thể là protein dung hợp, hoặc có thể là phân tử lai. Các peptit có trình tự được nêu trong sáng chế được dự kiến là kích thích các tế bào T CD4 hoặc CD8. Tuy nhiên, sự kích thích các tế bào T CD8 có hiệu quả hơn khi có sự trợ giúp của tế bào T hỗ trợ CD4. Do đó, đối với các epitop của MHC nhóm I kích thích tế bào T CD8, đối tác dung hợp hoặc các phần phân tử lai là thích hợp để tạo ra các epitop kích thích tế bào T dương tính với CD4. Các epitop kích thích CD4- và CD8- là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và bao gồm các epitop đã được xác định theo sáng chế.

Theo một khía cạnh, vacxin chứa ít nhất một peptit có trình tự axit amin được nêu trong các trình tự từ SEQ ID No. 1 đến SEQ ID No. 288, và ít nhất một peptit bổ sung, tốt hơn là chứa từ 2 đến 50, tốt hơn nữa là chứa từ 2 đến 25, thậm chí tốt hơn

nữa là chứa từ 2 đến 20 và tốt nhất là chứa 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 hoặc 18 peptit. (Các) peptit này có thể có nguồn gốc từ một hoặc nhiều TAA đặc hiệu và có thể gắn kết với các phân tử của MHC nhóm I.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất axit nucleic (ví dụ, polynucleotit) mã hóa peptit hoặc biến thể của peptit theo sáng chế. Polynucleotit này có thể là, ví dụ, ADN, ADN bổ trợ, APN, ARN hoặc hỗn hợp của chúng, ở dạng sợi đơn và/hoặc sợi kép, hoặc dạng nguyên thể hoặc dạng ổn định của các polynucleotit, ví dụ như các polynucleotit có khung chính phosphorothioat và nó có thể chứa hoặc không chứa intron miễn là nó mã hóa peptit. Tất nhiên là chỉ các peptit chứa các gốc axit amin có trong tự nhiên được liên kết bằng các liên kết peptit có trong tự nhiên là có thể mã hóa bằng polynucleotit. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện polypeptit theo sáng chế.

Nhiều phương pháp khác nhau đã được phát triển để liên kết các polynucleotit, đặc biệt là ADN, với các vectơ, ví dụ, bằng các đầu kết dính bổ trợ. Chẳng hạn, các vùng polyme đồng nhất bổ trợ có thể được bổ sung thêm vào đoạn ADN cần được chèn vào ADN của vectơ. Sau đó, vectơ và đoạn ADN được nối bằng sự liên kết hydro giữa các đuôi polyme đồng nhất bổ trợ để tạo ra các phân tử ADN tái tổ hợp.

Các nhóm liên kết tổng hợp chứa một hoặc nhiều vị trí giới hạn tạo ra phương pháp thay thế để nối đoạn ADN với các vectơ. Các nhóm liên kết tổng hợp chứa nhiều vị trí endonucleaza giới hạn được bán trên thị trường từ nhiều nguồn bao gồm cả từ công ty International Biotechnologies Inc. New Haven, CN, Mỹ.

Phương pháp cải biến mong muốn đối với ADN mã hóa polypeptit theo sáng chế sử dụng phản ứng chuỗi polymeraza như được bộc lộ trong tài liệu của Saiki RK và các đồng tác giả (Saiki et al., 1988). Phương pháp này có thể được sử dụng để đưa ADN vào vectơ thích hợp, ví dụ, bằng kỹ thuật xử lý vị trí giới hạn thích hợp, hoặc phương pháp này có thể được sử dụng để cải biến ADN theo cách hữu ích khác như đã biết trong lĩnh vực này. Nếu các vectơ của virut được sử dụng, vectơ poxvirut hoặc vectơ adenovirut được ưu tiên.

Tiếp đó, ADN (hoặc trong trường hợp vectơ retrovirut, ARN) có thể được biểu hiện ở vật chủ thích hợp để tạo ra polypeptit chứa peptit hoặc biến thể theo sáng chế. Do đó, ADN mã hóa peptit hoặc biến thể theo sáng chế có thể được sử dụng

theo các kỹ thuật đã biết, được cải biến thích hợp theo phần bộc lộ được nêu ở đây, để tạo cấu trúc cho vectơ biểu hiện, mà sau đó vectơ này được dùng để biến nạp tế bào chủ thích hợp để biểu hiện và tạo ra polypeptit theo sáng chế. Các kỹ thuật này bao gồm các kỹ thuật được bộc lộ, ví dụ, trong các patent Mỹ số US 4.440.859, 4.530.901, 4.582.800, 4.677.063, 4.678.751, 4.704.362, 4.710.463, 4.757.006, 4.766.075, và 4.810.648.

ADN (hoặc trong trường hợp vectơ retrovirut, ARN) mã hóa polypeptit tạo thành hợp chất theo sáng chế có thể được nối với nhiều loại trình tự ADN khác để đưa vào vật chủ thích hợp. ADN kèm sẽ phụ thuộc vào tính chất của vật chủ, cách đưa ADN vào vật chủ này, và sự duy trì hoặc hợp nhất episom có được mong muốn hay không.

Nói chung, ADN được chèn vào vectơ biểu hiện, như plasmit, theo sự định hướng thích hợp và khung đọc chính xác để biểu hiện. Nếu cần, ADN có thể được liên kết với các trình tự nucleotit đối chứng điều hòa phiên mã và dịch mã thích hợp được nhận biết bởi vật chủ mong muốn, mặc dù các đối chứng này thường có mặt trong vectơ biểu hiện. Sau đó, vectơ được đưa vào vật chủ bằng các kỹ thuật chuẩn. Nói chung, không phải tất cả các chủ sẽ được biến nạp bởi vectơ. Do đó, sẽ cần chọn lọc các tế bào chủ được biến nạp. Một kỹ thuật chọn lọc bao gồm bước đưa trình tự ADN vào vectơ biểu hiện, với các thành phần đối chứng cần thiết bất kỳ, để mã hóa tính trạng có thể chọn lọc ở tế bào được biến nạp, như sự kháng thuốc kháng sinh.

Theo cách khác, gen dùng cho tính trạng có thể chọn lọc này có thể là gen trên vectơ khác, được dùng để đồng biến nạp tế bào chủ mong muốn.

Sau đó, các tế bào chủ đã được biến nạp bằng ADN tái tổ hợp theo sáng chế được nuôi cấy trong khoảng thời gian đủ và trong các điều kiện thích hợp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết khi xem phần mô tả được bộc lộ ở đây để cho phép sự biểu hiện của polypeptit mà có thể được thu hồi sau đó.

Nhiều hệ biểu hiện là đã biết, bao gồm vi khuẩn (ví dụ, *E. coli* và *Bacillus subtilis*), nấm men (ví dụ, *Saccharomyces cerevisiae*), nấm dạng sợi (ví dụ, *Aspergillus spec.*), tế bào thực vật, tế bào động vật và tế bào côn trùng. Tốt hơn, nếu hệ này có thể là các tế bào của động vật có vú như tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary: CHO), có thể mua được từ Bảo tàng ATCC Cell Biology Collection.

Vectơ plasmit của tế bào động vật có vú điển hình để biểu hiện cấu trúc chứa gen khởi đầu CMV hoặc SV40 có đuôi poly A thích hợp và gen đánh dấu sự kháng thuốc như neomyxin. Một ví dụ là pSVL có thể mua được từ công ty Pharmacia, Piscataway, NJ, Mỹ. Một ví dụ về vectơ biểu hiện của động vật có vú chịu cảm ứng là pMSG, cũng có thể mua được từ Pharmacia. Các vectơ plasmit của nấm men hữu ích là pRS403-406 và pRS413-416 và thường có thể mua được từ công ty Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA 92037, Mỹ. Các plasmit pRS403, pRS404, pRS405 và pRS406 là plasmit hợp nhất của nấm men (Yeast Integrating plasmid: YIp) và kết hợp vào các gen đánh dấu có thể chọn lọc của nấm men HIS3, TRP1, LEU2 và URA3. Các plasmit pRS413-416 là plasmit đoạn trung tâm của nấm men (Yeast Centromere plasmid: Ycp). Các vectơ trên cơ sở gen khởi đầu CMV (ví dụ, sản phẩm của Sigma-Aldrich) tạo ra sự biểu hiện ổn định hoặc chuyển tiếp, sự biểu hiện hoặc sự tiết trong bào chất, sự hướng đích ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C ở các hỗn hợp khác nhau của FLAG, 3xFLAG, c-myc hoặc MAT. Các protein dung hợp này cho phép phát hiện, tinh chế và phân tích protein tái tổ hợp. Các sản phẩm dung hợp hướng đích kép tạo ra tính linh hoạt khi phát hiện.

Vùng điều hòa gen khởi đầu của virut cự bào ở người (human cytomegalovirus: CMV) có hoạt tính mạnh điều chỉnh mức độ biểu hiện của protein cơ định cao tới 1 mg/lít ở các tế bào COS. Đối với các dòng tế bào có hoạt tính kém hơn, mức protein thường là ~0,1 mg/l. Sự có mặt của nguồn gốc sao chép SV40 sẽ làm cho mức độ sao chép ADN cao ở các tế bào COS cho phép sao chép SV40. Ví dụ, các vectơ CMV có thể chứa nguồn gốc để sao chép pMB1 (dẫn xuất của pBR322) ở các tế bào vi khuẩn, gen b-lactamaza để chọn sự kháng ampixilin ở vi khuẩn, polyA của hGH, và nguồn gốc f1. Các vectơ chứa trình tự dẫn đầu pre-pro-trypsin (PPT) có thể định hướng sự tiết ra của protein dung hợp FLAG vào môi trường nuôi cấy để tinh chế bằng cách sử dụng kháng thể ANTI-FLAG, nhựa và bản kính. Các vectơ và hệ biểu hiện khác là đã được biết rõ trong lĩnh vực này để sử dụng với nhiều loại tế bào chủ khác nhau.

Theo phương án khác, hai hoặc nhiều peptit hoặc các biến thể của peptit theo sáng chế được mã hóa và do đó được biểu hiện theo thứ tự lần lượt (tương tự với cấu trúc "chuỗi hạt"). Theo cách này, peptit hoặc các biến thể của peptit có thể được liên kết hoặc được dung hợp với nhau bằng các đoạn axit amin của nhóm liên kết, ví dụ

như LLLLLL, hoặc có thể được liên kết mà không có (các) peptit bổ sung bất kỳ giữa chúng. Các cấu trúc này cũng có thể được sử dụng cho liệu pháp ung thư, và có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch liên quan đến cả MHC I và MHC II.

Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ được biến nạp với cấu trúc của vectơ polynucleotit theo sáng chế. Tế bào chủ này có thể là tế bào không nhân hoặc có nhân điển hình. Các tế bào vi khuẩn có thể là tế bào chủ không nhân trong một số trường hợp và thường là chủng *E. coli*, ví dụ như chủng *E. coli* DH5 có thể mua được từ Bethesda Research Laboratories Inc., Bethesda, MD, Mỹ, và chủng RR1 có thể mua được từ Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Mỹ (American Type Culture Collection: ATCC) của Rockville, MD, Mỹ (số ATCC 31343). Các tế bào chủ có nhân điển hình được ưu tiên bao gồm tế bào nấm men, tế bào côn trùng và tế bào động vật có vú, tốt hơn nếu là các tế bào của động vật có xương sống như các tế bào từ chuột nhắt, chuột, khỉ hoặc người và các dòng tế bào nguyên bào sợi và tế bào ruột kết. Các tế bào chủ của nấm men bao gồm YPH499, YPH500 và YPH501, thường có thể mua được từ công ty Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA 92037, Mỹ. Các tế bào chủ của động vật có vú được ưu tiên bao gồm tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) có thể mua được từ Bảo tàng ATCC dưới dạng CCL61, tế bào phôi chuột NIH Swiss NIH/3T3 có thể mua được từ Bảo tàng ATCC dưới dạng CRL 1658, các tế bào COS-1 có nguồn gốc từ thận khỉ có thể mua được từ Bảo tàng ATCC dưới dạng CRL 1650 và các tế bào 293 là tế bào phôi thận của người. Các tế bào côn trùng được ưu tiên là tế bào Sf9 mà có thể được chuyển nhiễm với vectơ biểu hiện baculovirut. Tổng quan về sự lựa chọn các tế bào chủ thích hợp để biểu hiện có thể được tìm thấy trong các tài liệu, ví dụ, the textbook of Paulina Balbás and Argelia Lorence "Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols," Part One, Second Edition, ISBN 978-1-58829-262-9, và tài liệu khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết.

Sự biến nạp của các tế bào chủ thích hợp với cấu trúc ADN của sáng chế được thực hiện bằng các phương pháp đã được biết rõ, các phương pháp này thường phụ thuộc vào loại vectơ được sử dụng. Liên quan đến sự biến nạp của tế bào chủ không nhân, ví dụ, xem tài liệu của Cohen và các đồng tác giả (Cohen et al., 1972) và (Green and Sambrook, 2012). Sự biến nạp của các tế bào nấm men được mô tả trong tài liệu của Sherman và các đồng tác giả (Sherman et al., 1986). Các phương

pháp trong tài liệu của Beggs (Beggs, 1978) cũng hữu ích. Liên quan đến các tế bào của động vật có xương sống, các chất phản ứng hữu ích trong việc chuyển nhiễm các tế bào này, ví dụ, sản phẩm canxi phosphat và DEAE-dextran hoặc liposom, có thể mua được từ công ty Stratagene Cloning Systems, hoặc Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD 20877, Mỹ. Phương pháp xung điện cũng hữu ích để biến nạp và/hoặc chuyển nhiễm các tế bào và đã được biết rõ trong lĩnh vực này để biến nạp tế bào nấm men, tế bào vi khuẩn, tế bào côn trùng và tế bào của động vật có xương sống.

Tế bào được biến nạp thành công nghĩa là tế bào chứa cấu trúc ADN theo sáng chế, có thể được xác định bằng các kỹ thuật đã biết rõ như PCR. Theo cách khác, sự có mặt của protein trong dịch nổi bề mặt có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể.

Cần hiểu rằng một số tế bào chủ theo sáng chế là hữu ích để tạo ra các peptit theo sáng chế, ví dụ, các tế bào vi khuẩn, nấm men và côn trùng. Tuy nhiên, các tế bào chủ khác có thể hữu ích trong một số phương pháp điều trị. Ví dụ, các tế bào trình diện kháng nguyên, như tế bào đuôi gai, có thể được sử dụng một cách hữu ích để biểu hiện các peptit theo sáng chế sao cho chúng có thể được tải vào phân tử MHC thích hợp. Do đó, sáng chế đề xuất tế bào chủ chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện theo sáng chế.

Theo một phương án được ưu tiên, tế bào chủ là tế bào trình diện kháng nguyên, cụ thể là tế bào đuôi gai hoặc tế bào trình diện kháng nguyên. APC được tải protein dung hợp tái tổ hợp chứa phosphataza axit tuyến tiền liệt (prostatic acid phosphatase: PAP) đã được Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (FDA) phê chuẩn ngày 29 tháng 4 năm 2010, để điều trị HRPC di căn không có triệu chứng hoặc có triệu chứng không đáng kể (Sipuleucel-T) (Rini et al., 2006; Small et al., 2006).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra peptit hoặc biến thể của nó, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ và phân lập peptit ra khỏi tế bào chủ này hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

Theo phương án khác, peptit, axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện theo sáng chế được sử dụng làm thuốc. Ví dụ, peptit hoặc biến thể của nó có thể được bào chế để tiêm qua đường trong tĩnh mạch (intravenous: i.v.), tiêm dưới da (sub-cutaneous:

s.c.), tiêm trong da (intradermal: i.d.), tiêm qua đường trong màng bụng (intraperitoneal: i.p.), tiêm trong cơ (intramuscular: i.m.). Các phương pháp tiêm peptit được ưu tiên bao gồm s.c., i.d., i.p., i.m., và i.v. Các phương pháp tiêm ADN được ưu tiên bao gồm i.d., i.m., s.c., i.p. và i.v. Liều dùng của peptit hoặc ADN nằm trong khoảng từ 50µg đến 1,5mg, tốt hơn là từ 125µg đến 500µg có thể được cho trước và sẽ phụ thuộc vào peptit hoặc ADN tương ứng. Các liều dùng nằm trong khoảng này đã được sử dụng thành công trong các thử nghiệm trước đó (Walter et al., 2012).

Polynucleotit dùng để tiêm chủng có hiệu quả có thể gần như tinh khiết, hoặc được chứa trong vectơ hoặc hệ giải phóng thích hợp. Axit nucleic có thể là ADN, ADN bổ trợ, APN, ARN hoặc hỗn hợp của chúng. Các phương pháp để thiết kế và đưa axit nucleic này vào là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Tổng quan về nội dung này được đưa ra, ví dụ, trong tài liệu của Teufel và các đồng tác giả (Teufel et al., 2005). Các vacxin polynucleotit được bào chế dễ dàng nhưng cơ chế tác dụng của các vectơ này trong việc gây đáp ứng miễn dịch vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn. Các vectơ và hệ giải phóng thích hợp bao gồm ADN và/hoặc ARN của virut, như các hệ trên cơ sở adenovirut, virut vacxinia, retrovirut, virut ecpet, virut liên quan đến adenovirut hoặc thể lai chứa các thành phần của nhiều hơn một virut. Các hệ giải phóng không chứa virut bao gồm lipit cation và polyme cation và đã được biết rõ trong lĩnh vực giải phóng ADN. Sự giải phóng bằng phương pháp vật lý, như bằng "súng bắn gen" cũng có thể được sử dụng. Một hoặc nhiều peptit được mã hóa bằng axit nucleic có thể là protein dung hợp, ví dụ, với epitop kích thích các tế bào T đối với vùng CDR đối lập tương ứng như được lưu ý trên đây.

Thuốc theo sáng chế cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều chất phụ trợ. Các chất phụ trợ là chất làm gia tăng hoặc có khả năng gây đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu (ví dụ, các đáp ứng miễn dịch trung gian bởi các tế bào T dương tính với CD8 và tế bào T hỗ trợ (TH) với kháng nguyên, và do đó sẽ được cho là hữu ích trong thuốc theo sáng chế. Các chất phụ trợ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 1018 ISS, các muối nhôm, AMPLIVAX®, AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, flagelin hoặc các phối tử TLR5 có nguồn gốc từ flagelin, phối tử FLT3, GM-CSF, IC30, IC31, Imiquimod (ALDARA®), resiquimod, ImuFact IMP321, các intơlơkin như IL-2, IL-13, IL-21, interferon-alpha hoặc -beta, hoặc các

dẫn xuất được pegyl hóa của chúng, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, ISCOMs, JuvImmune®, LipoVac, MALP2, MF59, monophosphoryl lipit A, Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, nhũ tương nước trong dầu và nhũ tương dầu trong nước, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, OspA, hệ vectơ PepTel®, các vi hạt trên cơ sở poly(lactit co-glycolit) [PLG] và dextran, talactoferin SRL172, Virosom và các hạt tương tự virut khác, YF-17D, VEGF trap, R848, beta-glucan, Pam3Cys, Aquila's QS21 stimulon, sản phẩm này có nguồn gốc từ saponin, chất chiết từ vi khuẩn *mycobacterium* và chất tương tự thành tế bào của vi khuẩn tổng hợp, và các chất phụ trợ độc quyền khác như Ribi's Detox, Quil, hoặc Superfos. Các chất phụ trợ như tá dược Freund hoặc GM-CSF là được ưu tiên. Một vài chất phụ trợ miễn dịch (ví dụ, MF59) đặc hiệu với tế bào đuôi gai và phương pháp điều chế chúng đã được mô tả trước đây (Allison and Krummel, 1995). Các xytokin cũng có thể được sử dụng. Một vài xytokin đã được liên kết trực tiếp để tác động đến sự di trú của tế bào đuôi gai đến các mô bạch huyết (ví dụ, TNF-), thúc đẩy sự trưởng thành của tế bào đuôi gai thành tế bào trình diện kháng nguyên hữu hiệu đối với các tế bào lymphô T (ví dụ, GM-CSF, IL-1 và IL-4) (patent Mỹ số US 5.849.589, tài liệu này được viện dẫn cụ thể ở đây toàn bộ nội dung của nó) và có tác dụng làm chất phụ trợ miễn dịch (ví dụ, IL-12, IL-15, IL-23, IL-7, IFN-alpha. IFN-beta) (Gabrilovich et al., 1996).

Các oligonucleotit kích thích miễn dịch CpG cũng đã được thông báo là làm gia tăng hiệu của chất phụ trợ trong lĩnh vực vacxin. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết bất kỳ, các oligonucleotit CpG có tác dụng bằng cách hoạt hóa hệ miễn dịch bẩm sinh (không thích ứng) nhờ các thụ thể giống Toll (Toll-like receptor: TLR), chủ yếu là TLR9. Sự hoạt hóa TLR9 được khơi mào bởi CpG làm gia tăng mức độ đáp ứng thể dịch và trong tế bào đặc hiệu kháng nguyên với khoảng rộng các kháng nguyên, bao gồm các kháng nguyên peptit hoặc protein, virut còn sống hoặc đã chết, vacxin chứa tế bào đuôi gai, vacxin chứa tế bào tự thân và các thể liên hợp polysacarit trong cả vacxin phòng bệnh và vacxin điều trị bệnh. Quan trọng hơn là nó làm gia tăng sự trưởng thành và biệt hóa của tế bào đuôi gai, điều này dẫn đến sự hoạt hóa tế bào TH1 gia tăng và sự tạo ra tế bào lymphô T (CTL) gây độc tế bào mạnh, ngay cả khi không có mặt tế bào T hỗ trợ CD4. Khuynh hướng TH1 được tạo bởi sự kích thích TLR9 được duy trì ngay cả khi có mặt các chất phụ trợ của vacxin

như phèn hoặc tá dược Freund không toàn vẹn (incomplete Freund's adjuvant: IFA) thường kích thích khuynh hướng TH2. Các oligonucleotit CpG có hoạt tính của chất phụ trợ lớn hơn rất nhiều khi được bào chế hoặc sử dụng đồng thời với các chất phụ trợ khác hoặc trong các dạng sản phẩm như vi hạt, hạt nano, nhũ tương lipit hoặc dạng tương tự, chúng đặc biệt cần thiết để gây đáp ứng mạnh khi kháng nguyên có hoạt tính tương đối yếu. Chúng còn kích thích đáp ứng miễn dịch và cho phép các liều kháng nguyên được giảm đi khoảng hai lần, với mức độ đáp ứng của kháng thể tương đương với vacxin đủ liều mà không chứa CpG trong một số thử nghiệm (Krieg, 2006). Patent Mỹ số US 6.406.705 B1 mô tả việc sử dụng kết hợp các oligonucleotit CpG, chất phụ trợ không phải axit nucleic và kháng nguyên để gây đáp ứng miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên. Chất đối kháng TLR9 của CpG là chất điều biến miễn dịch vòng thân kép (double Stem Loop Immunomodulator: dSLIM), sản phẩm của Mologen (Berlin, Đức) là thành phần được ưu tiên của dược phẩm theo sáng chế. Các phân tử gắn kết thụ thể TLR khác như TLR 7, TLR 8 và/hoặc TLR 9 gắn kết với ARN cũng có thể được sử dụng.

Ví dụ khác về các chất phụ trợ hữu ích bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CpG được cải biến bằng phương pháp hóa học (ví dụ, CpR, Idera), chất tương tự ARN sợi kép như Poly(I:C) và dẫn xuất của nó (ví dụ AmpliGen®, Hiltonol®, poly-(ICLC), poly(IC-R), poly(I:C12U), ADN hoặc ARN của vi khuẩn không chứa CpG cũng như các phân tử nhỏ và kháng thể có hoạt tính miễn dịch như xyclophosphamit, sunitinib, Bevacizumab®, celebrex, NCX-4016, sildenafil, tadalafil, vardenafil, sorafenib, temozolomide, temsirolimus, XL-999, CP-547632, pazopanib, VEGF Trap, ZD2171, AZD2171, chất kháng CTLA4, các cấu trúc quan trọng hướng đích kháng thể khác của hệ miễn dịch (ví dụ, thụ thể kháng CD40, kháng TGF beta, kháng TNF alpha) và SC58175, chúng có thể có tác dụng khi điều trị và/hoặc làm chất phụ trợ. Lượng và nồng độ của các chất phụ trợ và chất phụ gia hữu ích trong ngữ cảnh của sáng chế có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này xác định dễ dàng mà không cần thử nghiệm quá mức.

Các chất phụ trợ được ưu tiên là chất kháng CD40, imiquimod, resiquimod, GM-CSF, xyclophosphamit, sunitinib, bevacizumab, interferon-alpha, oligonucleotit CpG và dẫn xuất, poly-(I:C) và dẫn xuất, ARN, sildenafil, và các sản phẩm dạng hạt với PLG hoặc các thể virut.

Theo một phương án được ưu tiên của dược phẩm theo sáng chế, chất phụ trợ được chọn từ nhóm bao gồm các yếu tố kích thích tạo cụm, như yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt-đại thực bào (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor: GM-CSF, sargramostim), xyclophosphamit, imiquimod, resiquimod, và interferon-alpha.

Theo một phương án được ưu tiên của dược phẩm theo sáng chế, chất phụ trợ được chọn từ nhóm bao gồm các yếu tố kích thích tạo cụm, như yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF, sargramostim), xyclophosphamit, imiquimod và resiquimod. Theo một phương án được ưu tiên của dược phẩm theo sáng chế, chất phụ trợ là xyclophosphamide, imiquimod hoặc resiquimod. Các chất phụ trợ được đặc biệt ưu tiên là Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, poly-ICLC (Hiltonol®) và mAB kháng CD40, hoặc hỗn hợp của chúng.

Dược phẩm này để sử dụng ngoài đường tiêu hóa như sử dụng dưới da, sử dụng trong da, sử dụng trong cơ hoặc sử dụng qua đường miệng. Nhằm mục đích này, các peptit và tùy ý các phân tử khác được hòa tan hoặc tạo hỗn dịch trong chất mang dược dụng, tốt hơn nếu là chất mang trong nước. Ngoài ra, dược phẩm có thể chứa các tá dược như chất đệm, chất gắn kết, chất gây nổ, chất pha loãng, chất tạo hương vị, chất làm trơn, v.v.. Các peptit cũng có thể được sử dụng cùng với các chất kích thích miễn dịch như xytokin. Danh sách nhiều loại tá dược có thể được sử dụng trong dược phẩm này có thể được tìm thấy trong tài liệu, ví dụ, A. Kibbe, Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000). Dược phẩm này có thể được sử dụng để ngăn ngừa, phòng và/hoặc điều trị các bệnh u tuyến hoặc bệnh ung thư. Các dạng dược phẩm làm ví dụ có thể được tìm thấy, ví dụ, trong patent châu Âu số EP2112253.

Điều quan trọng cần thực hiện là đáp ứng miễn dịch được kích thích bằng vacxin theo sáng chế tấn công bệnh ung thư ở các giai đoạn tế bào khác nhau và các giai đoạn phát triển khác nhau. Ngoài ra, các con đường truyền tín hiệu liên quan đến bệnh ung thư khác nhau bị tấn công. Đây là lợi thế đối với các vacxin chỉ hướng đến một hoặc vài đích, điều này có thể làm cho khối u dễ dàng thích ứng với sự tấn công (thoát khỏi khối u). Hơn nữa, không phải tất cả các khối u riêng biệt đều biểu hiện cùng kiểu kháng nguyên. Do đó, hỗn hợp của vài peptit liên quan đến khối u đảm

bảo rằng mỗi khối u đơn lẻ mang ít nhất một số đích. Dược phẩm được thiết kế theo cách sao cho mỗi khối u được cho là sẽ biểu hiện một vài kháng nguyên và bao gồm một số con đường độc lập cần thiết cho sự phát triển và duy trì khối u. Do đó, vacxin "có sẵn" này có thể được sử dụng dễ dàng cho quần thể lớn bệnh nhân. Điều này có nghĩa là việc lựa chọn từ trước đối với các bệnh nhân cần được điều trị bằng vacxin này có thể được giới hạn với loại HLA, không cần sự đánh giá dấu ấn sinh học bổ sung bất kỳ đối với sự biểu hiện kháng nguyên mà vẫn đảm bảo được rằng một số đích được tấn công đồng thời bởi đáp ứng miễn dịch được tạo ra, điều này là quan trọng đối với hiệu quả (Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012).

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "khung" để chỉ phân tử gắn kết đặc hiệu với yếu tố xác định (ví dụ, kháng nguyên). Theo một phương án, khung có thể định hướng thực thể mà nó được gắn kết với (ví dụ, gốc gắn kết kháng nguyên (thứ hai)) với vị trí đích, ví dụ, với loại tế bào khối u hoặc hoặc mô đỡ khối u đặc hiệu mang yếu tố xác định kháng nguyên (ví dụ, phức hợp của peptit với MHC, theo ứng dụng này). Theo phương án khác, khung có thể hoạt hóa sự truyền hiệu qua kháng nguyên đích của nó, ví dụ, kháng nguyên của phức hợp thụ thể tế bào T. Khung bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể và đoạn kháng thể, vùng gắn kết kháng nguyên của kháng thể, chứa vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể, gắn kết các protein chứa ít nhất một motif lặp lại ankyrin và các phân tử gắn kết kháng nguyên vùng đơn (single domain antigen binding: SDAB), aptame, thụ thể TCR (hòa tan) và các tế bào (được cải biến) như tế bào T khác alen cùng loài hoặc tế bào T tự thân. Để đánh giá xem phân tử có là khung gắn kết với đích hay không, các thử nghiệm gắn kết được thực hiện.

Thuật ngữ gắn kết "đặc hiệu" có nghĩa là khung gắn kết với phức hợp peptit-MHC quan tâm là tốt hơn các phức hợp peptit-MHC có trong tự nhiên khác đến mức sao cho khung được gắn kết với phân tử có hoạt tính có thể tiêu diệt tế bào mang đích cụ thể mà không thể tiêu diệt tế bào khác mà không có đích cụ thể nhưng trình diện (các) phức hợp peptit-MHC khác. Sự gắn kết với các phức hợp peptit-MHC khác là không thích hợp nếu peptit của peptit-MHC có khả năng phản ứng chéo này là loại không có trong tự nhiên, nghĩa là không có nguồn gốc từ HLA-peptit- hệ gen của người. Các thử nghiệm để đánh giá sự tiêu diệt tế bào đích là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Các thử nghiệm này cần được thực hiện bằng cách sử dụng các tế

bào đích (các tế bào sơ cấp hoặc dòng tế bào) với sự trình diện peptit-MHC không thay đổi, hoặc các tế bào tải peptit sao cho mức peptit-MHC có trong tự nhiên đạt được.

Mỗi khung có thể có sự đánh dấu để tạo ra khung gắn kết có thể được phát hiện bằng cách xác định sự có mặt hoặc không có mặt của tín hiệu được tạo ra bởi nguyên tử đánh dấu. Ví dụ, khung này có thể được đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang hoặc phân tử gen đánh dấu tế bào thích hợp khác bất kỳ. Các phân tử gen đánh dấu này là được biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, nguyên tử đánh dấu huỳnh quang, ví dụ, được tạo ra bởi thuốc nhuộm phát huỳnh quang, có thể tạo ra hình ảnh của aptame đã gắn kết nhờ sự phát huỳnh quang hoặc phương pháp hiển vi quét bằng laze hoặc đếm tế bào theo dòng chảy.

Mỗi khung có thể được liên hợp với phân tử có hoạt tính thứ hai, ví dụ như phân tử IL-21, phân tử kháng CD3, phân tử kháng CD28.

Thông tin thêm về các khung polypeptit xem trong, ví dụ, phần mô tả của công bố đơn quốc tế số WO 2014/071978A1, và các tài liệu viện dẫn được nêu ở đây.

Sáng chế còn đề xuất aptame. Aptame (xem công bố đơn quốc tế số WO 2014/191359 và tài liệu được nêu ở đây) là phân tử axit nucleic sợi đơn mạch ngắn, có thể gập cuộn thành cấu trúc ba chiều xác định và nhận biết các cấu trúc đích đặc hiệu. Chúng dường như là thành phần thay thế thích hợp để phát triển liệu pháp hướng đích. Aptame đã được chứng minh là gắn kết chọn lọc với nhiều loại đích phức hợp khác nhau với ái lực và độ đặc hiệu cao.

Aptame nhận biết các phân tử nằm ở bề mặt tế bào đã được xác định trong thập kỷ trước và tạo ra phương tiện để phát triển phương pháp chẩn đoán và điều trị. Do aptame đã được chứng minh là gần như không có tính độc và tính sinh miễn dịch, chúng là các ứng viên triển vọng cho các ứng dụng y sinh. Thực vậy, các aptame, ví dụ, aptame nhận biết kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt, đã được sử dụng thành công cho các liệu pháp hướng đích và đã được chứng minh là có chức năng trong các mô hình mô ghép khác loài *in vivo*. Ngoài ra, aptame nhận biết các dòng tế bào khối u đặc hiệu đã được xác định.

Aptame của ADN có thể được chọn lọc để cho thấy đặc tính nhận biết phổ rộng đối với các tế bào ung thư khác nhau, và cụ thể là các tế bào có nguồn gốc từ

khối u rắn, trong khi các tế bào không tạo khối u và tế bào sơ cấp khỏe mạnh không được nhận biết. Nếu aptame đã xác định không chỉ nhận biết kiểu phụ của khối u đặc hiệu mà còn tương tác với loạt khối u, điều này làm cho aptame thích hợp làm chất còn được gọi là chất chẩn đoán và chất điều trị phổ rộng.

Hơn nữa, việc đánh giá đặc tính gắn kết tế bào bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng cho thấy rằng aptame có ái lực rõ ràng rất tốt trong khoảng nanomol.

Aptame hữu ích cho mục đích chẩn đoán và điều trị. Ngoài ra, có thể chứng minh được rằng một số aptame được hấp thu bởi tế bào khối u và do đó có thể có tác dụng làm thể mang phân tử để cung cấp chất kháng ung thư hướng đích như ARN can thiệp có kích thước nhỏ (small interfering RNA: siRNA) vào các tế bào khối u.

Aptame có thể được lựa chọn đối với các đích phức hợp như các tế bào và mô và phức hợp peptit chứa, tốt hơn là bao gồm, trình tự theo trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO 1 đến SEQ ID NO 288, theo sáng chế với phân tử MHC, bằng cách sử dụng kỹ thuật tiến hóa theo hệ thống của phối tử bằng cách làm giàu lũy tiến (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment: SELEX)-tế bào.

Các peptit theo sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra và phát triển kháng thể đặc hiệu với phức hợp MHC/peptit. Chúng có thể được sử dụng cho liệu pháp, hướng đích độc tố hoặc các chất phóng xạ đến mô bị bệnh. Ứng dụng khác của các kháng thể này có thể là hướng đích các chất đồng vị phóng xạ đến mô bị bệnh cho mục đích chụp hình như phương pháp chụp xạ hình cắt lớp positron (Positron Emission Tomograpgy: PET). Ứng dụng này có giúp phát hiện sự di căn nhỏ hoặc để xác định vị trí chính xác và kích thước của mô bị bệnh.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể tái tổ hợp gắn kết đặc hiệu với phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I hoặc II của người được tạo phức với kháng nguyên được giới hạn bởi HLA, phương pháp này bao gồm các bước: tạo miễn dịch cho động vật có vú không phải người được thiết kế di truyền có các tế bào biểu hiện phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I hoặc II của người nêu trên bằng dạng hòa tan của phân tử MHC nhóm I hoặc II được tạo phức với kháng nguyên được giới hạn bởi HLA nêu trên; phân lập các phân tử ARN thông tin từ các tế bào tạo ra kháng thể của động vật có vú không phải người nêu trên; tạo ra thư viện biểu hiện thể thực khuẩn biểu hiện các phân tử protein

được mã hóa bởi các phân tử ARN thông tin nêu trên; và phân lập ít nhất một thể thực khuẩn ra khỏi thư viện biểu hiện thể thực khuẩn nêu trên, ít nhất một thể thực khuẩn nêu trên biểu hiện kháng thể gắn kết đặc hiệu với phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I hoặc nhóm II của người nêu trên được tạo phức với kháng nguyên giới hạn bởi HLA nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể gắn kết đặc hiệu với phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I hoặc II của người được tạo phức với kháng nguyên giới hạn HLA, trong đó tốt hơn nếu kháng thể này là kháng thể đa dòng, kháng thể đơn dòng, kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc kháng thể thể khảm.

Các phương pháp tương ứng để tạo ra kháng thể này và các phức hợp tương thích mô chính nhóm I chuỗi đơn, cũng như các công cụ khác để tạo ra các kháng thể này được bộc lộ trong các công bố đơn quốc tế số WO 03/068201, WO 2004/084798, WO 01/72768, WO 03/070752, và tài liệu công bố (Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003), nhằm mục đích của sáng chế, toàn bộ các tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng.

Tốt hơn, nếu kháng thể này gắn kết với phức hợp, với ái lực gắn kết nhỏ hơn 20 nanomol, tốt hơn là nhỏ hơn 10 nanomol, được cho là "đặc hiệu" trong ngữ cảnh của sáng chế.

Sáng chế đề xuất peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, hoặc biến thể của nó có độ tương đồng (tốt hơn là mức độ giống) về trình tự ít nhất là 88% với các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc biến thể của nó gây ra phản ứng chéo của các tế bào T với peptit nêu trên, trong đó peptit này không là polypeptit cơ sở có chiều dài đầy đủ.

Sáng chế còn đề xuất peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc biến thể của nó có độ tương đồng (tốt hơn là mức độ giống) về trình tự ít nhất là 88% với các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, trong đó peptit hoặc biến thể này có từ 8 đến 100 axit amin, tốt hơn là từ 8 đến 30 axit amin, và tốt nhất là từ 8 đến 14 axit amin trong toàn bộ chiều dài mạch.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm-I hoặc nhóm –II của người.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế trong đó peptit này bao gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin theo các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế, trong đó peptit này được cải biến (bằng phương pháp hóa học) và/hoặc bao gồm các liên kết không peptit.

Sáng chế còn đề xuất các peptit theo sáng chế, trong đó peptit này là một phần của protein dung hợp, cụ thể là chứa axit amin ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (Ii), hoặc trong đó peptit này được dung hợp với (hoặc vào) kháng thể, ví dụ như kháng thể đặc hiệu với tế bào đuôi gai.

Sáng chế còn đề xuất axit nucleic mã hóa các peptit theo sáng chế, với điều kiện là peptit này không là protein hoàn toàn (đầy đủ) của người.

Sáng chế còn đề xuất axit nucleic theo sáng chế, axit này là ADN, ADN bổ trợ, APN, ARN hoặc hỗn hợp của chúng.

Sáng chế còn đề xuất vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất peptit theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện theo sáng chế để dùng làm thuốc, cụ thể là để điều trị bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL.

Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ chứa axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất tế bào chủ theo sáng chế là tế bào trình diện kháng nguyên, và tốt hơn nếu là tế bào đuôi gai.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo ra peptit theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế, và phân lập peptit ra khỏi tế bào chủ này hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp theo sáng chế, trong đó kháng nguyên được tải lên các phân tử MHC nhóm I hoặc II được biểu hiện trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên thích hợp bằng cách cho kháng nguyên với lượng đủ tiếp xúc với tế bào trình diện kháng nguyên.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp theo sáng chế, trong đó tế bào trình diện kháng nguyên chứa vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện peptit nêu trên, peptit này

chứa các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288 hoặc trình tự axit amin của biến thể của nó.

Sáng chế còn đề xuất tế bào T hoạt hóa, được tạo ra bằng phương pháp theo sáng chế, trong đó các tế bào T này nhận biết chọn lọc tế bào có biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin theo sáng chế.

Sáng chế còn mô tả phương pháp tiêu diệt tế bào đích ở bệnh nhân có tế bào đích biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin bất kỳ theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng lượng hữu hiệu của tế bào T theo sáng chế.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng peptit bất kỳ đã mô tả, axit nucleic theo sáng chế, vectơ biểu hiện theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, hoặc tế bào lymphô T hoạt tính gây độc tế bào theo sáng chế làm thuốc hoặc để sản xuất thuốc. Sáng chế còn mô tả việc sử dụng theo sáng chế, trong đó thuốc này có hoạt tính chống ung thư.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng theo sáng chế, trong đó thuốc này là vacxin. Sáng chế còn mô tả việc sử dụng theo sáng chế, trong đó thuốc này có hoạt tính chống ung thư.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng theo sáng chế, trong đó các tế bào ung thư nêu trên là tế bào HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL.

Sáng chế còn đề xuất các protein đánh dấu và dấu ấn sinh học cụ thể trên cơ sở các peptit theo sáng chế, được gọi ở đây là "đích" có thể được sử dụng trong chẩn đoán và/hoặc tiên lượng bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL. Sáng chế còn mô tả việc sử dụng các đích mới này để điều trị bệnh ung thư.

Thuật ngữ "kháng thể" hoặc "các kháng thể" được sử dụng ở đây theo nghĩa rộng và bao gồm cả kháng thể đa dòng và kháng thể đơn dòng. Ngoài các phân tử globulin miễn dịch nguyên vẹn hoặc "đầy đủ", các đoạn kháng thể (ví dụ, các vùng quyết định tính bổ trợ (CDR), đoạn Fv, đoạn Fab và đoạn Fc) hoặc các polyme của các phân tử globulin miễn dịch này và các dạng được làm cho giống kháng thể của người của phân tử globulin miễn dịch cũng được bao gồm trong thuật ngữ "kháng

thể", miễn là chúng có đặc tính bất kỳ trong số các đặc tính mong muốn (ví dụ, sự gắn kết đặc hiệu của (poly)peptit của gen đánh dấu bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL, cung cấp độc tố đến tế bào HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL biểu hiện gen đánh dấu ung thư ở mức cao, và/hoặc ức chế hoạt tính của polypeptit của gen đánh dấu bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL) theo sáng chế.

Kháng thể theo sáng chế có thể được mua từ các nguồn thương mại bất cứ khi nào. Kháng thể theo sáng chế cũng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các polypeptit của gen đánh dấu bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL có chiều dài đầy đủ hoặc các đoạn của nó có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể theo sáng chế. Polypeptit được sử dụng để tạo ra kháng thể theo sáng chế có thể được tinh chế một phần hoặc hoàn toàn ra khỏi nguồn tự nhiên, hoặc có thể được tạo ra bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp.

Ví dụ, peptit mã hóa ADN bổ trợ theo sáng chế, như peptit theo các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, polypeptit, hoặc biến thể hoặc đoạn của nó, có thể được biểu hiện ở các tế bào không nhân (ví dụ, vi khuẩn) hoặc các tế bào có nhân điển hình (ví dụ, các tế bào nấm men, côn trùng, hoặc động vật có vú), mà sau đó protein tái tổ hợp có thể được tinh chế và sử dụng để tạo ra kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đa dòng để gắn kết đặc hiệu với polypeptit của gen đánh dấu bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL được sử dụng để tạo ra kháng thể theo sáng chế.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng sự tạo ra hai hoặc nhiều tập hợp khác nhau của kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đơn dòng làm tăng tối đa khả năng thu được kháng thể có độ đặc hiệu và ái lực cần thiết cho mục đích dự định của nó (ví dụ, thử nghiệm ELISA, hóa mô miễn dịch, chụp ảnh *in vivo*,

liệu pháp kháng độc tố). Các kháng thể được thử nghiệm về hoạt tính mong muốn của chúng bằng các phương pháp đã biết, theo mục đích mà kháng thể này cần được sử dụng (ví dụ, thử nghiệm ELISA, hóa mô miễn dịch, liệu pháp miễn dịch, v.v.; để biết thêm hướng dẫn về việc tạo ra và thử nghiệm kháng thể, ví dụ, xem tài liệu: Greenfield, 2014 (Greenfield, 2014)). Ví dụ, các kháng thể có thể được thử nghiệm trong thử nghiệm ELISA hoặc, phép thấm tách Western, nhuộm hóa mô miễn dịch bệnh ung thư được cố định trong formalin hoặc phần mô đông lạnh. Sau khi xác định tính chất ban đầu của chúng *in vitro*, kháng thể được dự định cho mục đích điều trị hoặc chẩn đoán *in vivo* được sử dụng theo các phương pháp thử nghiệm trong lâm sàng đã biết.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" để chỉ kháng thể thu được từ quần thể kháng thể gần như đồng nhất, nghĩa là các kháng thể riêng biệt chứa quần thể là giống nhau ngoại trừ sự đột biến có thể có trong tự nhiên nhưng có thể có mặt với lượng rất nhỏ. Các kháng thể đơn dòng ở đây cụ thể bao gồm các kháng thể "thể khảm" trong đó phần chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ là giống với hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong kháng thể có nguồn gốc từ loài cụ thể hoặc thuộc về nhóm hoặc phân nhóm kháng thể cụ thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi này là giống với hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong kháng thể có nguồn gốc từ các loài khác hoặc thuộc về nhóm hoặc phân nhóm kháng thể, cũng như các đoạn của kháng thể này, miễn là chúng có hoạt tính đối kháng mong muốn (patent Mỹ số US 4.816.567, tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó).

Kháng thể đơn dòng theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp lai. Trong phương pháp lai, chuột hoặc động vật chủ thích hợp khác thường được tạo miễn dịch bằng chất gây miễn dịch để tạo ra các tế bào lymphô để tạo ra hoặc có khả năng tạo ra kháng thể mà sẽ gắn kết đặc hiệu với chất gây miễn dịch. Theo cách khác, các tế bào lymphô có thể được tạo miễn dịch *in vitro*.

Các kháng thể đơn dòng cũng có thể được tạo ra bằng phương pháp ADN tái tổ hợp, như các phương pháp được mô tả trong patent Mỹ số US 4.816.567. ADN mã hóa các kháng thể đơn dòng theo sáng chế có thể được phân lập dễ dàng và giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng đoạn dò oligonucleotit có khả năng gắn kết đặc hiệu với các gen mã hóa chuỗi nặng

và chuỗi nhẹ của kháng thể của chuột).

Các phương pháp *in vitro* cũng thích hợp để tạo ra tạo ra kháng thể hóa trị một. Sự phân giải kháng thể để tạo ra các đoạn kháng thể của nó, cụ thể là các đoạn Fab, có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực này. Chẳng hạn, sự phân giải có thể được thực hiện bằng cách sử dụng papain. Các ví dụ về sự phân giải papain được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 94/29348 và patent Mỹ số US 4.342.566. Sự phân giải papain của kháng thể thường tạo ra hai đoạn gắn kết kháng nguyên giống nhau, được gọi là đoạn Fab, mỗi đoạn này có một vị trí gắn kết kháng nguyên, và đoạn Fc còn lại. Việc điều trị bằng pepsin tạo ra đoạn F(ab')2 và đoạn pFc'.

Các đoạn kháng thể, bất kể được gắn kết với các trình tự khác hay không, cũng có thể bao gồm sự xen đoạn, sự khuyết đoạn, sự thay thế đoạn, hoặc các cải biến được chọn khác của vùng cụ thể hoặc các gốc axit amin cụ thể, với điều kiện là hoạt tính của đoạn này không bị thay đổi hoặc ảnh hưởng đáng kể so với kháng thể hoặc đoạn kháng thể không được cải biến. Các cải biến này có thể tạo ra một số đặc tính bổ sung như loại bỏ/bổ sung thêm axit amin có khả năng liên kết disulfua, để làm gia tăng tuổi thọ sinh học của nó, để làm thay đổi đặc tính tiết ra của nó, v.v.. Trong trường hợp bất kỳ, đoạn kháng thể phải có đặc tính về hoạt tính sinh học, như hoạt tính gắn kết, sự điều hòa gắn kết ở vùng gắn kết, v.v.. Các vùng chức năng hoặc có hoạt tính của kháng thể này có thể được xác định bằng cách gây đột biến vùng đặc hiệu của protein, sau đó biểu hiện và thử nghiệm polypeptit được biểu hiện. Các phương pháp này đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ và có thể bao gồm cả sự gây đột biến đặc hiệu vị trí của axit nucleic mã hóa đoạn kháng thể.

Kháng thể theo sáng chế có thể còn bao gồm kháng thể của người hoặc kháng thể được làm cho giống kháng thể của người. Các dạng kháng thể không phải của người (ví dụ, của chuột) được làm cho giống kháng thể của người là các globulin miễn dịch thể khảm, chuỗi globulin miễn dịch hoặc các đoạn của nó (như đoạn Fv, Fab, Fab' hoặc các trình tự nhỏ gắn kết kháng nguyên khác của kháng thể) chứa trình tự tối thiểu có nguồn gốc từ globulin miễn dịch không phải của người. Các kháng thể được làm cho giống kháng thể của người bao gồm globulin miễn dịch của người (kháng thể thể nhận) trong đó các gốc từ vùng quyết định tính bổ trợ (CDR) của

kháng thể thể nhận được thay thế bằng các gốc từ vùng CDR của loài không phải người (kháng thể thể cho) như chuột nhắt, chuột hoặc thỏ có độ đặc hiệu, ái lực và khả năng mong muốn. Trong một số trường hợp, các gốc của khung Fv (Fv framework: FR) của globulin miễn dịch của người được thay thế bằng các gốc không phải của người tương ứng. Kháng thể được làm cho giống kháng thể của người cũng có thể chứa các gốc không được tìm thấy trong trình tự kháng thể thể nhận hoặc trong các trình tự được nhập khẩu CDR hoặc trình tự khung. Nói chung, kháng thể được làm cho giống kháng thể của người sẽ chủ yếu bao gồm toàn bộ ít nhất một, và thường là hai, vùng biến đổi, trong đó toàn bộ hoặc gần như toàn bộ các vùng CDR tương ứng với các vùng của globulin miễn dịch không phải của người và toàn bộ hoặc gần như toàn bộ các vùng FR là các vùng của trình tự liên ứng của globulin miễn dịch của người. Kháng thể được làm cho giống kháng thể của người tối ưu cũng sẽ bao gồm ít nhất một phần của vùng hằng định (Fc) của globulin miễn dịch, thường là các vùng của globulin miễn dịch của người.

Các phương pháp làm cho kháng thể không phải của người giống với kháng thể của người là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Nói chung, kháng thể được làm cho giống kháng thể của người có một hoặc nhiều gốc axit amin được đưa vào nó từ nguồn không phải của người. Các gốc axit amin không phải của người này thường được gọi là gốc "nhập khẩu", các gốc này thường được lấy từ vùng biến đổi "nhập khẩu". Việc làm cho giống với kháng thể của người có thể được thực hiện chủ yếu bằng cách thay thế các vùng CDR hoặc trình tự CDR của động vật gặm nhấm cho các trình tự tương ứng của kháng thể của người. Do đó, các kháng thể "được làm cho giống kháng thể của người" này là kháng thể thể khảm (patent Mỹ số US 4.816.567), trong đó vùng biến đổi nguyên vẹn của người được thay thế ít hơn đáng kể bằng trình tự tương ứng từ các loài không phải người. Trên thực tế, kháng thể được làm cho giống kháng thể của người thường là kháng thể của người trong đó một số gốc CDR và có thể là một số gốc FR được thay thế bằng các gốc từ các vị trí tương tự ở kháng thể của động vật gặm nhấm.

Các động vật chuyển gen (ví dụ, chuột nhắt), khi được tạo miễn dịch, có khả năng tạo ra kho đầy đủ của kháng thể của người khi không có sự tạo ra globulin miễn dịch nội sinh có thể được sử dụng. Ví dụ, sự cạn kiệt của gen xác định tính trạng ở vùng ghép nối của chuỗi nặng của kháng thể ở chuột nhắt đột biến thể khảm và dòng

phôi đã được mô tả là tạo ra sự ức chế hoàn toàn quá trình sản sinh kháng thể nội sinh. Sự chuyển mảng gen globulin miễn dịch ở chuột nhắt đột biến dòng phôi này sẽ dẫn đến sự tạo ra kháng thể của người khi thách thức kháng nguyên. Kháng thể của người cũng có thể được tạo ra trong thư viện biểu hiện trên thể thực khuẩn.

Tốt hơn, nếu kháng thể theo sáng chế được sử dụng cho đối tượng trong chất mang dược dụng. Thông thường, lượng thích hợp của muối dược dụng được sử dụng trong sản phẩm để tạo ra sản phẩm đẳng trương. Ví dụ về các chất mang dược dụng bao gồm nước muối, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Tốt hơn, nếu độ pH của dung dịch nằm trong khoảng từ 5 đến 8, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5. Các chất mang khác bao gồm các thành phần giải phóng duy trì như nền bán thấm của polyme kỵ nước dạng rắn chứa kháng thể, các nền đã được tạo hình từ trước, ví dụ, màng, liposom hoặc vi hạt. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng một số chất mang nhất định có thể được ưu tiên hơn, tùy theo, ví dụ, đường sử dụng và nồng độ kháng thể được sử dụng.

Các kháng thể có thể được sử dụng cho đối tượng, bệnh nhân, hoặc tế bào bằng cách tiêm (ví dụ, tiêm qua đường trong tĩnh mạch, trong màng bụng, dưới da, trong cơ), hoặc bằng các phương pháp khác như tiêm truyền để đảm bảo rằng sự cung cấp của nó vào dòng máu ở dạng hữu hiệu. Kháng thể cũng có thể được sử dụng qua đường trong khối u hoặc quanh khối u, để có hiệu quả điều trị khu trú cũng như hiệu quả điều trị toàn thân. Phương pháp tiêm tại chỗ hoặc qua đường trong tĩnh mạch là được ưu tiên.

Liều dùng hữu hiệu và chế độ sử dụng kháng thể có thể được xác định theo kinh nghiệm, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết cách xác định này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng liều dùng của kháng thể cần được sử dụng sẽ thay đổi tùy theo, ví dụ, đối tượng sẽ nhận kháng thể, đường sử dụng, loại kháng thể cụ thể được sử dụng và các dược chất khác được sử dụng. Liều dùng hàng ngày thông thường của kháng thể được sử dụng một mình có thể nằm trong khoảng từ 1 μg/kg đến tối đa 100 mg/kg thể trọng hoặc cao hơn mỗi ngày, tùy theo các yếu tố nêu trên. Khi sử dụng kháng thể, tốt hơn là để điều trị bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL, hiệu quả của kháng thể điều trị có thể được đánh giá theo nhiều cách khác

nhau mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rõ. Chẳng hạn, kích thước, số lượng và/hoặc sự phân bố bệnh ung thư ở đối tượng được điều trị có thể được theo dõi bằng cách sử dụng kỹ thuật hình ảnh khối u chuẩn. Kháng thể được sử dụng để điều trị bệnh làm ngừng sự phát triển của khối u, làm cho khối u nhỏ lại, và/hoặc ngăn ngừa sự phát triển của khối u mới, so với sự diễn biến của bệnh sẽ xuất hiện khi không sử dụng kháng thể, là kháng thể có hiệu quả để điều trị bệnh ung thư.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra thụ thể tế bào T hòa tan (sTCR) nhận biết phức hợp peptit-MHC đặc hiệu. Các thụ thể tế bào T hòa tan này có thể được tạo ra từ các dòng vô tính của tế bào T đặc hiệu, và ái lực của chúng có thể được tăng lên bằng cách gây đột biến hướng đích là các vùng quyết định tính bổ trợ. Nhằm mục đích chọn lọc thụ thể tế bào T, sự biểu hiện trên thể thực khuẩn có thể được sử dụng (US 2010/0113300, (Liddy et al., 2012)). Nhằm mục đích làm ổn định các thụ thể tế bào T trong khi biểu hiện trên thể thực khuẩn và trong trường hợp sử dụng trên thực tế làm dược chất, chuỗi alpha và beta có thể được liên kết, ví dụ, bằng các liên kết disulfua không tự nhiên, các liên kết cộng hóa trị khác (thụ thể tế bào T chuỗi đơn), hoặc bằng các vùng dime hóa (Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999). Thụ thể tế bào T có thể được liên kết với độc tố, dược chất, xytokin (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2013/0115191), các vùng tập hợp các tế bào hiệu ứng như vùng kháng CD3, v.v., để thực hiện chức năng cụ thể trên các tế bào đích. Ngoài ra, nó có thể được biểu hiện ở các tế bào T dùng để chuyển mượn. Thông tin thêm có thể được tìm thấy trong các công bố đơn quốc tế số WO 2004/033685A1 và WO 2004/074322A1. Tổ hợp của các thụ thể TCR hòa tan được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2012/056407A1. Các phương pháp tạo ra khác được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO 2013/057586A1.

Ngoài ra, các peptit và/hoặc thụ thể TCR hoặc kháng thể hoặc các phân tử gắn kết khác theo sáng chế có thể được sử dụng để kiểm tra sự chẩn đoán bệnh ung thư của chuyên gia bệnh học trên cơ sở mẫu sinh thiết.

Các kháng thể hoặc thụ thể TCR cũng có thể được sử dụng cho các thử nghiệm chẩn đoán *in vivo*. Nói chung, kháng thể được đánh dấu bằng nucleotit phóng xạ (như ^{111}In, ^{99}Tc, ^{14}C, ^{131}I, ^{3}H, ^{32}P hoặc ^{35}S) sao cho khối u có thể được cố định bằng cách sử dụng phương pháp chụp hình miễn dịch nhấp nháy. Theo một

phương án, kháng thể hoặc đoạn kháng thể gắn kết với vùng ngoại bào của hai hoặc nhiều đích của protein được chọn từ nhóm bao gồm các protein nêu trên, và giá trị ái lực (Kd) nhỏ hơn 1 x 10μM.

Kháng thể dùng để chẩn đoán có thể được đánh dấu bằng đoạn dò thích hợp để phát hiện bằng các phương pháp chụp hình ảnh khác nhau. Các phương pháp để phát hiện đoạn dò bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp huỳnh quang, phương pháp chiếu ánh sáng, phương pháp hiển vi electron và confocal; phương pháp chụp cộng hưởng từ và phổ; phương pháp nội soi huỳnh quang, phương pháp chụp ảnh cắt lớp vi tính và phương pháp chụp ảnh cắt lớp bằng bức xạ positron. Các đoạn dò thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, fluorescein, rhodamin, eosin và các nhóm huỳnh quang khác, đồng vị phóng xạ, vàng, gadolini và các hợp chất lanthanit khác, sắt thuận từ, flo-18 và chất đồng vị phóng xạ phát ra positron. Ngoài ra, các đoạn dò có thể là đoạn dò hai chức năng hoặc đa chức năng và có thể phát hiện được bằng nhiều hơn một trong số các phương pháp đã liệt kê. Các kháng thể này có thể được đánh dấu trực tiếp hoặc gián tiếp bằng các đoạn dò nêu trên. Sự liên kết của đoạn dò với kháng thể bao gồm sự liên kết cộng hóa trị với đoạn dò, sự kết hợp đoạn dò vào kháng thể, và sự liên kết cộng hóa trị của hợp chất chelat hóa để gắn kết đoạn dò, ngoài các liên kết khác đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Để sử dụng trong hóa mô miễn dịch, mẫu mô bệnh có thể là mẫu mới hoặc được đông lạnh hoặc có thể được gắn trong parafin và cố định với chất bảo quản như formalin. Phần chứa mẫu được cố định hoặc gắn được cho tiếp xúc với kháng thể sơ cấp và kháng thể thứ cấp đã được đánh dấu, trong đó kháng thể này được sử dụng để phát hiện sự biểu hiện của các protein tại chỗ.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra các tế bào T hoạt hóa *in vitro*, phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào T tiếp xúc *in vitro* với kháng nguyên được tải các phân tử MHC của người được biểu hiện trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên thích hợp trong khoảng thời gian đủ để hoạt hóa tế bào T theo cách đặc hiệu kháng nguyên, trong đó kháng nguyên này là peptit theo sáng chế. Tốt hơn, nếu kháng nguyên được sử dụng với lượng đủ với tế bào trình diện kháng nguyên.

Tốt hơn, nếu tế bào của động vật có vú không có hoặc có nồng độ hoặc chức năng của chất vận chuyển peptit TAP giảm. Các tế bào thích hợp không có chất vận

chuyển peptit TAP bao gồm các tế bào T2, RMA-S và *Drosophila*. TAP là chất vận chuyển có liên quan đến việc xử lý kháng nguyên.

Dòng tế bào T2 thiếu sự tải peptit của người có thể mua được từ Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Mỹ (ATCC), 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, Mỹ theo Catalog số CRL 1992; dòng Schneider 2 của dòng tế bào *Drosophila* có thể mua được từ Bảo tàng ATCC theo Catalog số CRL 19863; dòng tế bào RMA-S của chuột được mô tả trong tài liệu của Karre và các đồng tác giả (Ljunggren and Karre, 1985).

Tốt hơn, nếu trước khi chuyển nhiễm, tế bào chủ không biểu hiện chủ yếu các phân tử MHC nhóm I. Cũng tốt hơn nếu tế bào kích thích biểu hiện phân tử quan trọng để tạo ra tín hiệu đồng kích thích đối với tế bào T như tế bào bất kỳ trong số B7.1, B7.2, ICAM-1 và LFA 3. Trình tự axit nucleic của nhiều phân tử MHC nhóm I và của các phân tử chất đồng kích thích có thể mua được dễ dàng từ Ngân hàng gen và cơ sở dữ liệu EMBL.

Trong trường hợp epitop của MHC nhóm I được sử dụng làm kháng nguyên, các tế bào T là tế bào T dương tính với CD8.

Nếu tế bào trình diện kháng nguyên được chuyển nhiễm để biểu hiện epitop này, tốt hơn nếu tế bào này chứa vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện peptit chứa các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288, hoặc trình tự axit amin biến thể của nó.

Nhiều phương pháp khác có thể được sử dụng để tạo ra tế bào T *in vitro*. Ví dụ, các tế bào lymphô thâm nhiễm khối u tự thân có thể được sử dụng để tạo ra CTL. Plebanski và các đồng tác giả (Plebanski et al., 1995) sử dụng các tế bào lymphô trong máu ngoại vi (peripheral blood lymphocytes: PLBs) tự thân để tạo ra các tế bào T. Ngoài ra, sự tạo ra các tế bào T tự thân bằng cách gây xung cho các tế bào đuôi gai bằng peptit hoặc polypeptit, hoặc có thể bằng cách tiêm virut tái tổ hợp. Các tế bào B cũng có thể được sử dụng để tạo ra tế bào T tự thân. Ngoài ra, các đại thực bào được gây xung bằng peptit hoặc polypeptit, hoặc được gây nhiễm bằng virut tái tổ hợp, có thể được sử dụng để tạo ra tế bào T tự thân. Tài liệu của S. Walter và các đồng tác giả (Walter et al., 2003) mô tả phương pháp tạo mồi của các tế bào T *in vitro* bằng cách sử dụng tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo (artificial antigen presenting cells: aAPCs), phương pháp này cũng là cách thích hợp để tạo ra các tế

bào T đối với peptit được chọn. Theo sáng chế, aAPCs được tạo ra bằng cách ghép cặp phức hợp MHC:peptit đã được tạo ra từ trước với bề mặt của các hạt polystyren (vi hạt) theo hỗn hợp hóa sinh biotin:streptavidin. Hệ này cho phép kiểm soát chính xác mật độ MHC trên aAPCs, điều này cho phép tạo ra theo cách chọn lọc các đáp ứng của tế bào T đặc hiệu với kháng nguyên ở mức cao hoặc thấp với hiệu quả cao từ các mẫu máu. Ngoài phức hợp MHC:peptit, aAPCs cần mang các protein khác có hoạt tính đồng kích thích như các kháng thể kháng CD28 được liên kết với bề mặt của chúng. Ngoài ra, các hệ trên cơ sở aAPC này thường cần bổ sung thêm các yếu tố hòa tan thích hợp, ví dụ, xytokin, như intơlokin-12.

Các tế bào khác alen cùng loài cũng có thể được sử dụng để tạo ra tế bào T và phương pháp được mô tả chi tiết trong công bố đơn quốc tế số WO 97/26328, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Ví dụ, ngoài tế bào *Drosophila* và tế bào T2, các tế bào khác có thể được sử dụng để trình diện kháng nguyên như tế bào CHO, tế bào côn trùng được gây nhiễm bằng baculovirut, tế bào vi khuẩn, tế bào nấm men, tế bào đích được gây nhiễm bằng virut vacxinia. Ngoài ra, các virut ở thực vật có thể được sử dụng (ví dụ, xem tài liệu của Porta và các đồng tác giả (Porta et al. 1994), tài liệu này mô tả việc phát triển virut thể khảm ở cây đậu đũa làm hệ cho năng suất cao để trình diện các peptit ngoại lai.

Các tế bào T hoạt hóa hướng vào peptit theo sáng chế là hữu ích trong liệu pháp. Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các tế bào T hoạt hóa có thể thu được bằng các phương pháp theo sáng chế nêu trên.

Các tế bào T hoạt hóa, được tạo ra bằng phương pháp nêu trên, sẽ nhận biết chọn lọc tế bào biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 288.

Tốt hơn, nếu tế bào T nhận biết tế bào bằng cách tương tác qua thụ thể TCR của nó với phức hợp HLA/peptit (ví dụ, gắn kết). Các tế bào T hữu ích trong phương pháp tiêu diệt tế bào đích ở bệnh nhân có các tế bào đích biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin theo sáng chế trong đó bệnh nhân này được cho sử dụng lượng hữu hiệu của các tế bào T hoạt hóa. Các tế bào T được sử dụng cho bệnh nhân có thể có nguồn gốc từ bệnh nhân này và được hoạt hóa như đã mô tả trên đây (nghĩa là chúng là các tế bào T tự thân). Theo cách khác, các tế bào T không có nguồn gốc từ bệnh nhân mà có nguồn gốc từ đối tượng khác. Tất nhiên là tốt hơn nếu

đối tượng này là đối tượng khỏe mạnh. Thuật ngữ "đối tượng khỏe mạnh" theo sáng chế để chỉ đối tượng thường là có sức khỏe tốt, tốt hơn là có hệ miễn dịch mạnh và tốt hơn nữa nếu đối tượng này không bị bệnh bất kỳ có thể được thử nghiệm và phát hiện dễ dàng.

Các tế bào đích *in vivo* của tế bào T dương tính với CD8 theo sáng chế có thể là các tế bào khối u (các tế bào này đôi khi biểu hiện MHC nhóm II) và/hoặc tế bào nền bao quanh khối u (các tế bào khối u) (các tế bào này đôi khi cũng biểu hiện MHC nhóm II; (Dengjel et al., 2006)).

Các tế bào T theo sáng chế có thể được sử dụng làm hoạt chất trong chế phẩm điều trị bệnh. Theo đó, sáng chế cũng mô tả phương pháp tiêu diệt tế bào đích ở bệnh nhân có các tế bào đích biểu hiện bất thường polypeptit chứa trình tự axit amin theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng lượng hữu hiệu của tế bào T như được xác định trên đây.

Thuật ngữ "được biểu hiện bất thường" theo sáng chế cũng có nghĩa là polypeptit được biểu hiện quá mức so với mức biểu hiện bình thường hoặc gen này là gen câm trong mô được lấy từ khối u nhưng được biểu hiện ở khối u. Thuật ngữ "được biểu hiện quá mức" theo sáng chế có nghĩa là polypeptit có mặt với lượng cao hơn ít nhất 1,2 lần lượng có mặt trong mô bình thường; tốt hơn nếu cao hơn ít nhất 2 lần, và tốt hơn nữa nếu cao hơn ít nhất 5 lần hoặc 10 lần so với mức có mặt trong mô bình thường.

Có thể thu được các tế bào T bằng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, các phương pháp đã mô tả trên đây.

Quy trình của phương pháp còn được gọi là sự chuyển mượn của tế bào T là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Để biết thêm chi tiết có thể xem các tài liệu của Gattioni và các đồng tác giả và của Morgan và các đồng tác giả (Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006).

Khía cạnh khác của sáng chế mô tả việc sử dụng peptit được tạo phức với MHC để tạo ra thụ thể tế bào T có axit nucleic được tách dòng và được đưa vào tế bào chủ, tốt hơn nếu là tế bào T. Sau đó, tế bào T thiết kế được có thể được cấy vào bệnh nhân của liệu pháp ung thư.

Phân tử bất kỳ theo sáng chế, nghĩa là peptit, axit nucleic, kháng thể, vectơ biểu hiện, tế bào, tế bào T hoạt hóa, thụ thể tế bào T hoặc axit nucleic mã hóa nó là

hữu ích để điều trị các rối loạn, khác biệt ở chỗ, các tế bào tránh được sự đáp ứng miễn dịch. Do đó, phân tử bất kỳ theo sáng chế có thể được dùng làm thuốc hoặc để sản xuất thuốc. Phân tử này có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với (các) phân tử khác theo sáng chế hoặc (các) phân tử đã biết.

Sáng chế còn đề xuất thuốc hữu ích trong việc điều trị bệnh ung thư, cụ thể là bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL và các bệnh ác tính khác.

Sáng chế còn đề xuất kit bao gồm:

(a) đồ chứa để đựng dược phẩm như đã mô tả trên đây, ở dạng dung dịch hoặc dạng đông khô nhanh;

(b) tùy ý, đồ chứa thứ hai để đựng chất pha loãng hoặc dung dịch hoàn nguyên dùng cho chế phẩm dạng đông khô nhanh; và

(c) tùy ý, các hướng dẫn để (i) sử dụng dung dịch hoặc (ii) hoàn nguyên và/hoặc sử dụng chế phẩm dạng đông khô nhanh.

Kit còn có thể chứa một hoặc nhiều thành phần trong số (iii) chất đệm, (iv) chất pha loãng, (v) dụng cụ lọc, (vi) kim tiêm, hoặc (v) bơm tiêm. Tốt hơn, nếu đồ chứa là chai, lọ, bơm tiêm hoặc ống thử nghiệm; và có thể là đồ chứa đa dụng. Tốt hơn, nếu dược phẩm ở dạng được đông khô nhanh.

Tốt hơn, nếu kit theo sáng chế chứa sản phẩm dạng đông khô nhanh của sáng chế trong đồ chứa thích hợp và hướng dẫn để hoàn nguyên và/hoặc sử dụng nó. Các đồ chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ (ví dụ, lọ có hai ngăn), bơm tiêm (như bơm tiêm có hai ngăn) và các ống thử nghiệm. Đồ chứa này có thể được tạo ra từ nhiều loại vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo. Tốt hơn, nếu kit và/hoặc đồ chứa có các hướng dẫn đối với hoặc có liên quan đến đồ chứa để thể hiện các hướng dẫn hoàn nguyên và/hoặc sử dụng. Ví dụ, nhãn có thể thể hiện rằng sản phẩm dạng đông khô này cần được hoàn nguyên với nồng độ peptit như đã mô tả trên đây. Nhãn này còn có thể thể hiện rằng sản phẩm này là hữu ích hoặc dự định để sử dụng dưới da.

Đồ chứa để đựng sản phẩm có thể là lọ đa dụng để cho phép lặp lại việc sử dụng (ví dụ, sử dụng từ 2 đến 6 lần) của sản phẩm được hoàn nguyên. Kit còn có thể có đồ chứa thứ hai chứa chất pha loãng thích hợp (ví dụ, dung dịch natri bicacbonat).

Khi trộn chất pha loãng và sản phẩm dạng đông khô nhanh, tốt hơn nếu nồng độ peptit cuối trong sản phẩm được hoàn nguyên ít nhất bằng 0,15 mg/ml/peptit (=75 µg) và tốt hơn là không quá 3mg/ml/peptit (=1500µg). Kit này còn có thể chứa các chất khác mong muốn theo quan điểm về mặt thương mại và người sử dụng, bao gồm các chất đệm, chất pha loãng, chất độn, kim tiêm, bơm tiêm khác, và bao gói có kèm theo hướng dẫn sử dụng.

Kit theo sáng chế có thể có một đồ chứa để đựng dạng sản phẩm của dược phẩm theo sáng chế cùng với hoặc không cùng với các thành phần khác (ví dụ, các hợp chất khác hoặc dược phẩm chứa các hợp chất khác này) hoặc có đồ chứa riêng biệt cho mỗi thành phần.

Tốt hơn, nếu kit theo sáng chế chứa sản phẩm theo sáng chế được bao gói để sử dụng kết hợp với việc sử dụng đồng thời hợp chất thứ hai (như các chất phụ trợ (ví dụ, GM-CSF), chất hóa trị liệu, sản phẩm tự nhiên, hormon hoặc chất đối kháng, chất chống tạo mạch hoặc chất ức chế, chất gây chết tế bào theo chương trình hoặc chất tạo chelat) hoặc dược phẩm chứa chúng. Các thành phần của kit có thể được tạo phức từ trước hoặc mỗi thành phần có thể ở trong đồ chứa riêng biệt trước khi sử dụng cho bệnh nhân. Các thành phần của kit này có thể được tạo ra ở dạng một hoặc nhiều dung dịch lỏng, tốt hơn nếu là dung dịch nước, tốt hơn nữa nếu là dung dịch nước vô khuẩn. Các thành phần của kit cũng có thể được tạo ra dưới dạng chất rắn, chất này có thể được chuyển hóa thành chất lỏng bằng cách cho thêm các dung môi thích hợp, tốt hơn nếu các dung môi này được đựng trong đồ chứa riêng biệt khác.

Đồ chứa của kit điều trị có thể là lọ, ống thử nghiệm, bình, chai, bơm tiêm, hoặc phương tiện khác bất kỳ để đựng chất rắn hoặc chất lỏng. Thông thường, khi có nhiều hơn một thành phần, kit này sẽ chứa lọ thứ hai hoặc đồ chứa khác để cho phép tách liều dùng. Kit cũng có thể chứa đồ chứa khác để đựng chất lỏng dược dụng. Tốt hơn, nếu kit điều trị sẽ chứa dụng cụ (ví dụ, một hoặc nhiều kim tiêm, bơm tiêm, bình nhỏ giọt thuốc mắt, pipet, v.v.), để cho phép sử dụng các chất theo sáng chế là các thành phần của kit theo sáng chế.

Dạng của dược phẩm theo sáng chế là dạng thích hợp để sử dụng các peptit qua đường có thể chấp nhận bất kỳ như đường miệng (trong ruột), đường mũi, đường mắt, dưới da, trong da, trong cơ, trong tĩnh mạch hoặc qua da. Tốt hơn, nếu việc sử dụng là qua đường dưới da (s.c.), và tốt nhất nếu việc sử dụng qua đường i.d.

có thể bằng cách bơm truyền.

Do các peptit theo sáng chế được phân lập từ bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL, tốt hơn nếu thuốc theo sáng chế được sử dụng để điều trị bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm được cá nhân hóa cho từng bệnh nhân bao gồm bước sản xuất dược phẩm chứa ít nhất một peptit được chọn từ kho chứa các peptit TUMAP đã sàng lọc sơ bộ, trong đó ít nhất một peptit được sử dụng trong dược phẩm được chọn về tính thích hợp ở từng đối tượng. Theo một phương án, dược phẩm là vacxin. Phương pháp này cũng có thể được làm thích ứng để tạo ra các dòng vô tính của tế bào T để sử dụng sau đó, như tách TCR, hoặc kháng thể hòa tan và các lựa chọn điều trị khác.

Thuật ngữ "dược phẩm được cá nhân hóa" sẽ có nghĩa là liệu pháp được làm thích ứng đặc hiệu cho một đối tượng bệnh nhân mà sẽ chỉ được sử dụng cho liệu pháp ở mỗi đối tượng này, bao gồm vacxin bệnh ung thư được cá nhân hóa về mặt hoạt tính và các phép trị liệu bằng tế bào mượn sử dụng mô tự thân của bệnh nhân.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kho chứa" sẽ để chỉ nhóm các peptit đã được sàng lọc sơ bộ về tính sinh miễn dịch và/hoặc trình diện quá mức ở một loại mô cụ thể. Thuật ngữ "kho chứa" không dự định ngụ ý rằng các peptit cụ thể được đưa vào vacxin đã được sản xuất từ trước và bảo quản trong phương tiện vật lý, mặc dù khả năng này được dự định. Có dự định rõ ràng rằng các peptit có thể được sản xuất *de novo* đối với mỗi vacxin riêng biệt được tạo ra, hoặc có thể được sản xuất từ trước và bảo quản. Kho chứa (ví dụ, ở dạng cơ sở dữ liệu) gồm các peptit liên quan đến khối u được biểu hiện quá mức ở mô khối u của bệnh nhân mắc bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL với các loại alen HLA-A HLA-B và HLA-C khác nhau. Nó có thể chứa các peptit của MHC nhóm I và MHC nhóm II hoặc peptit của MHC nhóm I kéo dài. Ngoài các peptit liên quan đến khối u được lấy từ một vài mô khối u, kho chứa có thể chứa các peptit của gen đánh dấu HLA-A*02 và HLA-A*24. Các peptit này cho

phép so sánh mức độ miễn dịch tế bào T được gây ra bởi các peptit TUMAP theo cách định lượng và do đó cho phép rút ra kết luận quan trọng về khả năng tạo ra đáp ứng kháng u của vacxin. Điều thứ hai là chức năng của chúng làm peptit đối chứng dương tính quan trọng có nguồn gốc từ "không phải chính" kháng nguyên trong trường hợp các đáp ứng của tế bào T1 là đáp ứng của tế bào do vacxin bất kỳ gây ra với các peptit TUMAP có nguồn gốc từ "chính" các kháng nguyên ở bệnh nhân không được quan sát. Và điều thứ ba là nó có thể cho phép rút ra kết luận liên quan đến tình trạng khả năng miễn dịch của bệnh nhân.

Các peptit TUMAP theo sáng chế và kho chứa được xác định bằng cách sử dụng phương pháp hệ gen tích hợp kết hợp phương pháp phân tích sự biểu hiện của gen, phương pháp phổ khối lượng, và phương pháp miễn dịch tế bào T (XPresident ®). Phương pháp này đảm bảo rằng chỉ các peptit TUMAP có mặt thật sự trên khối u với tỷ lệ cao nhưng không được biểu hiện hoặc chỉ được biểu hiện ở mức tối thiểu trên mô bình thường, được chọn để phân tích thêm. Đối với sự lựa chọn peptit ban đầu, các mẫu bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL được lấy từ bệnh nhân và máu được lấy từ người cho khỏe mạnh được phân tích theo phương pháp từng bước:

1. Phương pháp phân tích sự biểu hiện của axit ribonucleic thông tin (mRNA) có hệ gen rộng được dùng để xác định các gen được biểu hiện ở mức rất thấp trong các mô quan trọng (không phải mô ung thư). Phương pháp này được dùng để đánh giá xem các gen có được biểu hiện quá mức trong mô ác tính (HCC, CRC, GB, GC, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC) so với khoảng của mô và cơ quan bình thường hay không.

2. Các phối tử HLA từ vật liệu ác tính (HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, CLL) được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng.

3. Các phối tử HLA đã xác định được so sánh với số liệu biểu hiện gen. Các peptit được biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện chọn lọc trên mô khối u, tốt hơn là được mã hóa bởi các gen được biểu hiện chọn lọc hoặc biểu hiện quá mức như được phát hiện trong bước 2 được cho là các ứng viên peptit TUMAP thích hợp cho

vacxin chứa đa peptit.

4. Việc tra cứu tài liệu được thực hiện để xác định bằng chứng bổ sung chứng minh mối liên quan của peptit được xác định làm peptit TUMAP.

5. Mối liên quan của sự biểu hiện quá mức với mức ARN thông tin được khẳng định bằng cách phát hiện lại các peptit TUMAP đã chọn từ bước 3 trên mô khối u và không (hoặc hiếm khi) phát hiện thấy trên các mô khỏe mạnh.

6. Để đánh giá xem việc gây ra đáp ứng của tế bào T *in vivo* bằng các peptit đã chọn có khả thi hay không, các thử nghiệm tính sinh miễn dịch *in vitro* được thực hiện bằng cách sử dụng các tế bào T được lấy từ người cho khỏe mạnh cũng như lấy từ các bệnh nhân mắc bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL.

Theo một khía cạnh, các peptit được sàng lọc sơ bộ về tính sinh miễn dịch trước khi được đưa vào kho chứa. Theo một ví dụ và không làm giới hạn, tính sinh miễn dịch của các peptit được đưa vào kho chứa được xác định bằng phương pháp bao gồm bước gắn mồi tế bào T *in vitro* bằng cách kích thích lặp lại các tế bào T CD8+ được lấy từ người cho khỏe mạnh bằng các tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo được tải lên phức hợp peptit/MHC và kháng thể kháng CD28.

Phương pháp này được ưu tiên với một số ít bệnh ung thư và các bệnh nhân có profin biểu hiện ở mức hiếm. Trái với phức hợp đa peptit có thành phần cố định như được phát triển hiện nay, kho chứa cho phép sự phù hợp ở mức cao hơn đáng kể của sự biểu hiện thực tế của các kháng nguyên trong khối u với vacxin. Một hoặc tổ hợp của vài peptit "có sẵn" đã chọn sẽ được sử dụng cho mỗi bệnh nhân theo phương pháp đa đích. Về mặt lý thuyết, phương pháp dựa trên sự chọn lọc, ví dụ, 5 peptit của kháng nguyên khác nhau từ thư viện của 50 peptit sẽ dẫn đến có khoảng 17 triệu thành phần của sản phẩm dược chất (drug product: DP).

Theo một khía cạnh, các peptit được chọn để đưa vào vacxin trên cơ sở tính ổn định của chúng đối với mỗi bệnh nhân trên cơ sở phương pháp theo sáng chế như được mô tả ở đây, hoặc như dưới đây.

Kiểu hình của HLA, số liệu về sản phẩm bắt chước sản phẩm phiên mã và bắt chước peptit được thu thập từ các vật liệu khối u của bệnh nhân, và các mẫu máu để xác định các peptit thích hợp nhất cho mỗi peptit TUMAP với bệnh nhân có "kho

chứa" và bệnh nhân đặc biệt (nghĩa là được đột biến). Các peptit sẽ được chọn là peptit được biểu hiện chọn lọc hoặc được biểu hiện quá mức ở khối u của bệnh nhân và, nếu có thể, có tính sinh miễn dịch mạnh *in vitro* khi được thử nghiệm với các tế bào PBMC riêng biệt của bệnh nhân.

Tốt hơn, nếu các peptit đưa vào vacxin được xác định bằng phương pháp bao gồm các bước: (a) xác định các peptit liên quan đến khối u (TUMAP) được biểu hiện bởi mẫu khối u được lấy từ bệnh nhân riêng biệt; (b) so sánh các peptit xác định được trong bước (a) với kho chứa (cơ sở dữ liệu) của các peptit như được mô tả trên đây; và (c) chọn lọc ít nhất một peptit từ kho chứa (cơ sở dữ liệu) có tương quan với peptit liên quan đến khối u được xác định ở bệnh nhân. Ví dụ, các peptit TUMAP được biểu hiện bởi mẫu khối u được xác định bằng cách: (a1) so sánh dữ liệu biểu hiện từ mẫu khối u với dữ liệu biểu hiện từ mẫu mô bình thường tương ứng với loại mô của mẫu khối u để xác định các protein được biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện bất thường ở mẫu khối u; và (a2) tương quan dữ liệu biểu hiện với trình tự của các phối tử MHC gắn kết với các phân tử MHC nhóm I và/hoặc nhóm II trong mẫu khối u để xác định các phối tử MHC có nguồn gốc từ protein được biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện bất thường bởi khối u này. Tốt hơn, nếu các trình tự của phối tử MHC được xác định bằng cách rửa giải các peptit đã gắn kết ra khỏi phân tử MHC được phân lập ra khỏi mẫu khối u, và giải trình tự của các phối tử được rửa giải. Tốt hơn, nếu mẫu khối u và mô bình thường được lấy từ cùng bệnh nhân.

Ngoài ra hoặc theo cách khác, bước chọn lọc peptit bằng cách sử dụng mô hình lập kho chứa (cơ sở dữ liệu), peptit TUMAP có thể được xác định ở bệnh nhân *de novo*, và sau đó được đưa vào vacxin. Theo một ví dụ, các peptit TUMAP ứng viên có thể được xác định ở bệnh nhân theo các bước (a1) so sánh dữ liệu biểu hiện từ mẫu khối u với dữ liệu biểu hiện từ mẫu mô bình thường tương ứng với loại mô của mẫu khối u để xác định các protein được biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện bất thường trong mẫu khối u; và (a2) tương quan dữ liệu biểu hiện với trình tự của phối tử MHC gắn kết với các phân tử MHC nhóm I và/hoặc nhóm II trong mẫu khối u để xác định các phối tử MHC có nguồn gốc từ các protein được biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện bất thường bởi khối u này. Theo ví dụ khác, các protein có thể được xác định là có các đột biến khác biệt với mẫu khối u so với mô tương ứng bình thường được lấy từ bệnh nhân riêng biệt, và các peptit TUMAP có thể được xác định là đích

đặc hiệu của sự đột biến. Ví dụ, hệ gen của khối u và của mô bình thường tương ứng có thể được giải trình tự bằng cách giải trình tự toàn bộ hệ gen: để phát hiện các đột biến không cùng nghĩa ở các vùng mã hóa protein của gen, ADN và ARN hệ gen được chiết từ các mô khối u và ADN dòng mầm của hệ gen bình thường không được đột biến được chiết ra khỏi các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell: PBMC). Phương pháp NGS đã áp dụng bị giới hạn với việc xác định lại trình tự của các vùng mã hóa protein (xác định lại trình tự exom). Nhằm mục đích này, ADN exon từ các mẫu lấy từ người bị bắt giữ bằng cách sử dụng kit giàu đích được cung cấp bởi nhà cung cấp, sau đó giải trình tự, ví dụ, bằng HiSeq2000 (Illumina). Ngoài ra, ARN thông tin của khối u được giải trình tự để định lượng trực tiếp sự biểu hiện gen và xác nhận các gen đột biến được biểu hiện ở khối u của bệnh nhân. Hàng triệu kết quả trình tự thu được được xử lý bằng các thuật toán phần mềm. Danh sách kết quả có sự đột biến và sự biểu hiện gen. Sự đột biến thực thể đặc hiệu khối u được xác định bằng cách so sánh với các thay đổi về dòng phôi có nguồn gốc từ PBMC và được ưu tiên. Sau đó, các peptit đã xác định *de novo* có thể được thử nghiệm về tính sinh miễn dịch như đã mô tả trên đây đối với kho chứa, và các peptit TUMAP ứng viên có tính sinh miễn dịch thích hợp được chọn để đưa vào vacxin.

Theo một phương án làm ví dụ, các peptit được đưa vào vacxin được xác định bằng các bước sau: (a) xác định các peptit liên quan đến khối u (TUMAP) được biểu hiện bởi mẫu khối u được lấy từ bệnh nhân riêng biệt bằng phương pháp như đã mô tả trên đây; (b) so sánh các peptit đã xác định trong bước a) với kho chứa peptit đã được sàng lọc sơ bộ về tính sinh miễn dịch và sự biểu hiện quá mức ở khối u so với mô bình thường tương ứng; (c) chọn lọc ít nhất một peptit từ kho chứa có tương quan với peptit liên quan đến khối u được xác định ở bệnh nhân; và (d) tùy ý, chọn lọc ít nhất một peptit được xác định *de novo* trong bước (a) để khẳng định tính sinh miễn dịch của nó.

Theo một phương án làm ví dụ, các peptit được đưa vào vacxin được xác định bằng các bước: (a) nhận biết các peptit liên quan đến khối u (TUMAP) được biểu hiện bởi mẫu khối u được lấy từ bệnh nhân riêng biệt; và (b) chọn lọc ít nhất một peptit đã xác định *de novo* trong bước (a) và khẳng định tính sinh miễn dịch của nó.

Khi các peptit dùng cho vacxin trên cơ sở peptit được cá nhân hóa được chọn, vacxin này được tạo ra. Tốt hơn, nếu vacxin này ở dạng lỏng gồm các peptit riêng

biệt được hoà tan trong DMSO 20-40%, tốt hơn nếu là DMSO khoảng 30-35%, như DMSO khoảng 33%.

Mỗi peptit cần được đưa vào sản phẩm được hòa tan trong DMSO. Nồng độ của các dung dịch một peptit cần được chọn phụ thuộc vào số lượng peptit cần được đưa vào sản phẩm. Các dung dịch DMSO-một peptit được trộn lẫn theo các phần bằng nhau để đạt được dung dịch chứa tất cả các peptit cần được đưa vào sản phẩm với nồng độ mỗi peptit ~2,5 mg/ml. Sau đó, dung dịch hỗn hợp được pha loãng với nước dùng để tiêm theo tỷ lệ 1:3 để thu được nồng độ mỗi peptit bằng 0,826 mg/ml trong DMSO 33%. Dung dịch đã pha loãng được lọc qua bộ lọc vô khuẩn cỡ 0,22µm để thu được dung dịch đệm cuối.

Dung dịch đệm cuối được nạp vào các lọ và bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng. Một lọ chứa 700µl dung dịch, chứa 0,578mg mỗi peptit. Trong số này, 500µl (khoảng 400µg mỗi peptit) sẽ được sử dụng để tiêm qua đường trong da.

Ngoài tác dụng hữu ích để điều trị bệnh ung thư, các peptit theo sáng chế cũng hữu ích làm chất chẩn đoán. Do các peptit được tạo ra từ các tế bào ung thư HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, và CLL và do đã xác định được rằng các peptit này không có mặt hoặc có mặt ở mức thấp ở mô bình thường, các peptit này có thể được sử dụng để chẩn đoán sự có mặt của bệnh ung thư.

Sự có mặt của các peptit theo sáng chế khi sinh thiết mô trong các mẫu máu có thể trợ giúp chuyên gia bệnh học trong việc chẩn đoán bệnh ung thư. Sự phát hiện một số peptit bằng phương pháp kháng thể, phương pháp phổ khối lượng hoặc các phương pháp khác đã biết trong lĩnh vực này có thể cung cấp cho chuyên gia bệnh học biết rằng mẫu mô này là ác tính hoặc bị viêm hoặc thường là bị bệnh, hoặc có thể được sử dụng làm dấu ấn sinh học cho bệnh HCC, CRC, GB, GC, bệnh ung thư thực quản, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA, OC, MCC, u melanin, bệnh ung thư vú, SCLC, NHL, AML, GBC, CCC, UBC, UEC, hoặc CLL. Sự có mặt của các nhóm peptit có thể cho phép phân loại hoặc phân nhóm các mô bị bệnh.

Sự phát hiện các peptit trên mẫu mô bệnh có thể cho phép quyết định về lợi ích của các liệu pháp liên quan đến hệ miễn dịch, đặc biệt là khi các tế bào lymphô T là đã biết hoặc được dự đoán là có liên quan đến cơ chế tác dụng. Sự không biểu

hiện MHC là cơ chế đã được mô tả rõ mà nhờ đó các tế bào ác tính đã nhiễm bệnh thoát khỏi sự giám sát miễn dịch. Do đó, sự có mặt của các peptit cho thấy rằng cơ chế này không được khai thác bởi các tế bào phân tích.

Các peptit theo sáng chế có thể được sử dụng để phân tích đáp ứng của tế bào lymphô với các peptit này như đáp ứng của tế bào T hoặc đáp ứng của kháng thể với peptit hoặc peptit được tạo phức với các phân tử MHC. Các đáp ứng của tế bào lymphô này có thể được sử dụng làm dấu hiệu tiên lượng để quyết định các bước trị liệu tiếp theo. Các đáp ứng này cũng có thể được sử dụng làm dấu ấn của đáp ứng thay thế trong phương pháp của liệu pháp miễn dịch nhằm tạo ra đáp ứng của tế bào lymphô bằng các biện pháp khác nhau, ví dụ, tiêm phòng vacxin chứa protein, axit nucleic, chất tự thân, sự chuyển mượn của các tế bào lympho. Trong lĩnh vực liệu pháp gen, các đáp ứng của tế bào lymphô với peptit có thể được xem xét để đánh giá các tác dụng phụ. Việc theo dõi các đáp ứng của tế bào lymphô cũng có thể là công cụ có giá trị để tiếp tục đánh giá các liệu pháp ghép, ví dụ, để phát hiện bệnh mô ghép chống túc chủ và bệnh túc chủ chống lại mô ghép.

Sáng chế sẽ được mô tả trong các ví dụ sau đây, các ví dụ này mô tả các phương án được ưu tiên của sáng chế cùng với các hình vẽ kèm theo nhưng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Theo mục đích của sáng chế, tất cả các tài liệu viện dẫn được nêu ở đây được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Xác định và định lượng các peptit liên quan đến khối u được biểu hiện trên bề mặt tế bào

Các mẫu mô

Các mô khối u của bệnh nhân được lấy từ Asterand (Detroit, Mỹ và Royston, Herts, Vương Quốc Anh); Bệnh viện đại học Val d'Hebron (Barcelona); BioServe (Beltsville, MD, Mỹ); Trung tâm liệu pháp miễn dịch bệnh ung thư (Center for cancer immune therapy: CCIT), Bệnh viện Herlev (Herlev); Geneticist Inc. (Glendale, CA, Mỹ); Bệnh viện đại học Geneva; Bệnh viện đại học Heidelberg; Bệnh viện đại học Munich; Đại học y Kyoto Prefectural (Kyoto Prefectural

University of Medicine: KPUM); Đại học thành phố Osaka (Osaka City University: OCU); ProteoGenex Inc., (Culver City, CA, Mỹ); Bệnh viện đại học Tübingen. Các mô bình thường được lấy từ Bio-Options Inc., CA, Mỹ; BioServe, Beltsville, MD, Mỹ; Capital BioScience Inc., Rockville, MD, Mỹ; Geneticist Inc., Glendale, CA, Mỹ; Bệnh viện đại học Geneva; Bệnh viện đại học Heidelberg; Bệnh viện đại học Munich; ProteoGenex Inc., Culver City, CA, Mỹ; Bệnh viện đại học Tübingen. Sự đồng ý tham gia bằng văn bản của tất cả các bệnh nhân được cung cấp trước khi phẫu thuật hoặc mổ. Các mô được đông lạnh sốc ngay sau khi phẫu thuật và được bảo quản cho đến khi phân lập peptit TUMAP ở nhiệt độ -70°C hoặc thấp hơn.

Phân lập các peptit của HLA ra khỏi mẫu mô

Hỗn hợp peptit của HLA từ các mẫu mô được đông lạnh sốc thu được bằng cách kết tủa miễn dịch từ các mô rắn theo quy trình được cải biến không đáng kể (Falk, K., 1991; Seeger, F.H.T., 1999) bằng cách sử dụng kháng thể BB7.2 đặc hiệu HLA-A*02, kháng thể W6/32 đặc hiệu HLA-A, -B, -C, sepharoza được hoạt hóa bằng CNBr, xử lý bằng axit, và siêu lọc.

Phân tích phổ khối lượng

Hỗn hợp peptit của HLA khi thu được được tách theo độ kỵ nước của chúng bằng phương pháp sắc ký đảo pha (hệ sắc ký nanoAcquity UPLC, Waters) và các peptit rửa giải được phân tích trong phổ khối kế thể lai dung hợp và LTQ-velos (ThermoElectron) được trang bị nguồn ESI. Hỗn hợp peptit được tải trực tiếp lên cột vi mao dẫn silic oxit nóng chảy để phân tích (75µm i.d. x 250mm) được nạp vật liệu đảo pha C18 1,7µm (Waters) với tốc độ dòng bằng 400nl/phút. Sau đó, các peptit được tách bằng cách sử dụng gradien hai thành phần trong 180 phút theo hai bước từ thành phần B có nồng độ từ 10% đến 33% với tốc độ dòng bằng 300nl/phút. Gradien này gồm dung môi A (axit formic 0,1% trong nước) và dung môi B (axit formic 0,1% trong axetonitril). Ống mao dẫn bằng thủy tinh được phủ vàng (PicoTip, New Objective) được sử dụng để đưa nguồn nanoESI vào. Phổ khối kế LTQ-Orbitrap được vận hành theo chế độ phụ thuộc dữ liệu bằng cách sử dụng phương pháp TOP5. Tóm lại, chu trình quét được bắt đầu với việc quét toàn bộ với độ chính xác khối lượng cao trong thiết bị Orbitrap (R = 30000), sau đó, các lần quét bằng bằng phương pháp MS/MS cũng được thực hiện trong thiết bị Orbitrap (R = 7500) trên 5

tiền chất ion dư thừa nhất với sự loại trừ động lực của các ion đã chọn trước đó. Phổ khối nối tiếp được giải thích bằng thuật toán SEQUEST và sự điều chỉnh bằng tay bổ sung. Trình tự peptit xác định được được đảm bảo bằng cách so sánh mẫu phân mảnh peptit tự nhiên được tạo ra với mẫu phân mảnh của peptit tham chiếu tổng hợp có trình tự giống hệt.

Phương pháp định lượng bằng cách sắc ký lỏng-phổ khối (LC-MS) tương đối không đánh dấu được thực hiện bằng cách đếm ion nghĩa là bằng cách chiết và phân tích các đặc điểm của phổ LC-MS (Mueller et al. 2007a). Phương pháp này giả định rằng vùng tín hiệu LC-MS của peptit có tương quan với sự có mặt quá nhiều của nó trong mẫu. Các đặc điểm khi chiết được xử lý thêm bằng cách giải phóng trạng thái tích điện và dóng thẳng hàng thời gian duy trì (Mueller et al. 2007b; Sturm et al. 2008). Cuối cùng, tất cả các đặc điểm của phổ LC-MS được tham chiếu chéo với kết quả xác định trình tự để kết hợp các dữ liệu định lượng của các mẫu và mô khác nhau với profin trình diện của peptit. Các dữ liệu định lượng được chuẩn hóa theo kiểu hai bậc theo xu hướng trung tâm để giải thích sự thay đổi trong các bản sao về mặt kỹ thuật và sinh học. Do đó, mỗi peptit xác định được có thể có liên quan đến dữ liệu định lượng để cho phép định lượng tương đối giữa các mẫu và mô. Ngoài ra, tất cả các dữ liệu định lượng thu được của các ứng viên peptit được kiểm tra bằng tay để đảm bảo tính nhất quán của dữ liệu và để kiểm tra độ chính xác của phương pháp phân tích tự động. Đối với mỗi peptit, profin trình diện tính được cho thấy sự biểu hiện trung bình của mẫu cũng như sự biến đổi lặp lại. Để các profin của mẫu bệnh ung thư cạnh đường gốc của các mẫu mô bình thường. Profin biểu hiện của các peptit biểu hiện quá mức làm ví dụ được thể hiện trên Fig.1. Tổng quan về mức độ biểu hiện của peptit được chọn theo thực thể được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4: tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit được chọn theo thực thể. Peptit được cho là quan tâm về thực thể nếu peptit này được biểu hiện quá mức trên mẫu mô ung thư của thực thể này so với các mô bình thường. MEL = u melanin, BRCA = bệnh ung thư vú, OSCAR = caxinom thực quản. BPH bao gồm cả bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính cũng như bệnh ung thư tụy

SEQ ID NO.	Trình tự	Thực thể của peptit quan tâm cụ thể
1	KLQEKIQEL	GB,GC,NSCLC,HCC,OC,RCC,CRC,PC, OSCAR
2	SVLEKEIYSI	NSCLC,HCC,BPH,OC,CRC,PC
3	RVIDDSLVVGV	NSCLC,HCC,OC,MEL,CRC,PC, OSCAR
4	VLFGELPAL	GB,NSCLC,BRCA,RCC,PC, OC, PC
5	GLVDIMVHL	NSCLC,RCC, OC
7	ALLQALMEL	GC,NSCLC,RCC,CRC,PC
8	ALSSSQAEV	GB,NSCLC,OC,CRC,PC
9	SLITGQDLLSV	NSCLC,BPH,OC,MEL,PC, OSCAR
10	QLIEKNWLL	NSCLC,OC,CRC,PC, HCC, CLL, OSCAR
11	LLDPKTIFL	NSCLC,HCC,RCC,CRC
12	RLLDPKTIFL	NSCLC,RCC
13	RLHDENILL	GB,GC,NSCLC,HCC,BPH,OC,RCC,CRC,PC, OSCAR
14	YTFSGDVQL	GC,NSCLC,CRC,PC, OSCAR
15	GLPSATTTV	GC, NSCLC, OC, PC
16	SLADLSLLL	NSCLC,HCC,PC
17	GLLPSAESIKL	NSCLC,BPH,OC, OSCAR
18	KTASINQNV	NSCLC,CRC,PC, OSCAR, OC
19	KVFELDLVTL	GC,NSCLC,CRC, OSCAR
21	YLMDDFSSL	PC, NSCLC
22	LMYPYIYHV	GB, NSCLC, OC, OSCAR
23	ALLSPLSLA	PC
24	KVWSDVTPL	PC, NSCLC
25	LLWGHPRVALA	CRC, PC, NSCLC
26	VLDGKVAVV	HCC, MEL, OC, GB, GC, NSCLC
27	GLLGKVTSV	NSCLC,BRCA
29	KMISAIPTL	NSCLC,OC
34	TLNTLDINL	OC, PC
35	VIIKGLEEI	GC,NSCLC, OSCAR
36	TVLQELINV	NSCLC,PC, OSCAR
37	QIVELIEKI	GC,NSCLC, OSCAR

SEQ ID NO.	Trình tự	Thực thể của peptit quan tâm cụ thể
39	YLEDGFAYV	GB,NSCLC,HCC,PC
40	KIWEELSVLEV	GC,NSCLC,HCC,MEL
43	LLIPFTIFM	NSCLC,MEL,CRC, OC
44	AVFNLVHVV	GC,NSCLC,PC
46	ISLDEVAVSL	GB,NSCLC,HCC, OC
47	GLNGFNVLL	PC, OSCAR
48	KISDFGLATV	GB,NSCLC,PC, OSCAR
49	KLIGNIHGNEV	GB,NSCLC,OC
50	ILLSVLHQL	NSCLC,CRC
51	LDSEALLTL	GB,NSCLC,HCC
52	TIGIPFPNV	NSCLC,PC, OC
53	AQHLSTLLL	GC,NSCLC
54	YLVPGLVAA	NSCLC,OC
55	HLFDKIIKI	GC,CRC
56	VLQENSSDYQSNL	NSCLC,HCC
57	TLYPGRFDYV	NSCLC,PC
58	HLLGEGAFAQV	NSCLC,PC
59	ALADGIKSFLL	NSCLC,PC
60	YLFSQGLQGL	NSCLC,PC
61	ALYPKEITL	NSCLC,CRC
63	KLLPMVIQL	NSCLC,PC
65	SLSEKSPEV	NSCLC,OC, OSCAR, MEL
66	AMFPDTIPRV	NSCLC,OC
67	FLIENLLAA	GB,NSCLC
68	QLMNLIRSV	HCC,PC
69	LKVLKADVVL	GC,NSCLC
70	GLTEKTVLV	NSCLC,PC
71	HMSGKLTNV	NSCLC,PC
73	SVPKTLGV	GB,RCC
74	GLAFLPASV	GC,CRC
76	FTAEFLEKV	NSCLC,PC, GB, OSCAR

SEQ ID NO.	Trình tự	Thực thể của peptit quan tâm cụ thể
77	ALYGNVQQV	NSCLC,OC
82	ILAEEPIYIRV	NSCLC,PC, OSCAR, OC
83	GLLENSPHL	NSCLC, OC
84	FLLEREQLL	NSCLC,MEL,RCC,CRC,PC
85	KLLDKPEQFL	NSCLC,OC,MEL,CRC
86	SLFSNIESV	NSCLC,BPH,CRC
88	LLLPLELSLA	GB,NSCLC,PC
89	SLAETIFIV	GC,NSCLC,OC
92	RLFEEVLGV	NSCLC,HCC,OC, OC
93	RLYGYFHDA	NSCLC,PC
94	YLDEVAFML	NSCLC,HCC, OC
95	KLIDEDEPLFL	NSCLC,OC
96	ALDTTRHEL	NSCLC,PC
97	KLFEKSTGL	NSCLC,CRC
98	FVQEKIPEL	GC,CRC
100	ALQSFEFRV	OC,RCC
101	SLLEVNEASSV	GC,CLL
102	GLYPVTLVGV	BPH,OC
114	*LLFPSDVQTL*	PC, OSCAR
116	ALLSSVAEA	NSCLC, OSCAR, OC
117	TLLEGISRA	NSCLC, OC
134	SLYKSFLQL	NSCLC, OSCAR, OC
137	KLIYKDLVSV	NSCLC, OC, PC
146	VVAAHLAGA	NSCLC, OSCAR, OC
158	YLDPLWHQL	PC, OC
165	SLLDYEVSI	NSCLC, OSCAR, OC
166	LLGDSSFFL	NSCLC, HCC, OSCAR, OC, PC
170	FIAAVVEKV	NSCLC, OC
175	SLLDLVQSL	PC, OC
176	VQSGLRILL	NSCLC, OSCAR
184	ALDSTIAHL	NSCLC, OC

SEQ ID NO.	Trình tự	Thực thể của peptit quan tâm cụ thể
191	AAIEIFEKV	NSCLC, OSCAR, OC
203	FLFVDPELV	NSCLC, GC, OC
229	YLYELEHAL	NSCLC, OC
233	SLFESLEYL	NSCLC, OSCAR, OC
234	VLLNEILEQV	GC,NSCLC,HCC,OC,MEL,RCC,CRC,PC, OSCAR
235	SLLNQPKAV	GB,NSCLC,HCC,OC,MEL,CRC,PC, OSCAR
236	KMSELQTYV	GB,NSCLC,HCC,OC,MEL,CRC,PC
237	ALLEQTGDMSL	NSCLC,OC,MEL,CRC
239	VIIKGLEEITV	GC,NSCLC,HCC,OC,MEL,CRC,PC
241	KQFEGTVEI	NSCLC,MCC,OC,CRC,PC, OSCAR
242	KLQEEIPVL	GB,NSCLC,CRC
243	GLAEFQENV	GB,NSCLC,HCC,OC,CRC,PC, OSCAR
244	NVAEIVIHI	GC,NSCLC
246	ALAGIVTNV	NSCLC,HCC,OC,MEL,RCC
247	NLLIDDKGTIKL	NSCLC,HCC,MEL,CRC,PC
248	VLMQDSRLYL	NSCLC,CRC,PC
251	LLWGNLPEI	NSCLC,MEL,CRC,PC, OC
252	SLMEKNQSL	NSCLC,OC,CRC, OSCAR, RCC
253	KLLAVIHEL	NSCLC,RCC,CRC,PC, OSCAR, OC
254	ALGDKFLLRV	NSCLC,HCC,MEL, OC
255	FLMKNSDLYGA	NSCLC,HCC,MEL,PC, OSCAR
256	FLNDIFERI	NSCLC,HCC,CLL, OC
257	KLIDHQGLYL	NSCLC,OC,CRC, OSCAR
258	QLVQRVASV	NSCLC,OC
259	GPGIFPPPPPQP	NSCLC,BPH, OSCAR, OC
260	ALNESLVEC	NSCLC,MEL, OSCAR, OC
261	GLAALAVHL	NSCLC,OC,MEL,CRC,PC, OSCAR
262	LLLEAVWHL	NSCLC,CRC
263	SIIEYLPTL	NSCLC,MEL,PC
264	TLHDQVHLL	NSCLC,BPH,OC

SEQ ID NO.	Trình tự	Thực thể của peptit quan tâm cụ thể
265	FLLDKPQDLSI	NSCLC,OC,RCC
266	FLLDKPQDL	RCC, OC
267	YLLDMPLWYL	NSCLC,RCC,CRC, OC, MEL
269	GLLDCPIFL	NSCLC,CRC, OSCAR, OC
270	TLLTFFHEL	GB,PC
271	VLIEYNFSI	NSCLC, OC
272	FVMEGEPPKL	NSCLC,OC
273	SLNKQIETV	NSCLC,OC
274	TLYNPERTITV	NSCLC, PC, HCC
277	KLQEELNKV	HCC, OC
281	LLLESDPKVYSL	PC, OC
284	KLMDPGSLPPL	NSCLC, OC
287	KIQEILTQV	GB,GC,NSCLC,HCC,CLL,OC,MEL,RCC,CRC, PC, OSCAR
288	SLYKGLLSV	GB,NSCLC,HCC,BPH,OC,RCC,CRC,PC, OSCAR

Bảng 4B: tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit được chọn theo thực thể

GB = u nguyên bào xốp, BRCA = bệnh ung thư vú, CRC = bệnh ung thư kết-trực tràng, RCC = caxinom tế bào thận, CLL = bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, HCC = caxinom tế bào gan, NSCLC = bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, SCLC = bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, NHL = u lymphô không Hodgkin, AML = bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, OC = bệnh ung thư buồng trứng, PC = bệnh ung thư tụy, BPH = bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính, OSCAR = bệnh ung thư thực quản, bao gồm cả bệnh ung thư đoạn nối dạ dày-thực quản, GBC_CCC = bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, MEL = u melanin, GC = bệnh ung thư dạ dày, UBC = bệnh ung thư bàng quang, UTC = bệnh ung thư tử cung.

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
1	KLQEKIQEL	MEL, AML, NHL
2	SVLEKEIYSI	GC, CLL, OSCAR, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
3	RVIDDSLVVGV	UBC
4	VLFGELPAL	SCLC, UBC, UTC
5	GLVDIMVHL	SCLC, UBC, BRCA, MEL, PC
6	FLNAIETAL	RCC
7	ALLQALMEL	CLL, OSCAR, OC, SCLC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
8	ALSSSQAEV	BPH, OSCAR, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
9	SLITGQDLLSV	SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC
10	QLIEKNWLL	SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
11	LLDPKTIFL	GBC_CCC
13	RLHDENILL	SCLC, UBC, UTC, BRCA, MEL, AML, NHL
14	YTFSGDVQL	SCLC, UBC, UTC, GBC_CCC, MEL
15	GLPSATTTV	UBC, UTC, MEL
16	SLADLSLLL	GB, GC, BPH, CLL, OSCAR, OC, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, RCC, CRC, AML, NHL
17	GLLPSAESIKL	UBC
18	KTASINQNV	SCLC, UBC, UTC, MEL
19	KVFELDLVTL	AML, NHL
21	YLMDDFSSL	OSCAR, OC, SCLC, UBC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
22	LMYPYIYHV	HCC, CLL, SCLC, UBC, BRCA, GBC_CCC, MEL, CRC, NHL
24	KVWSDVTPL	BRCA
26	VLDGKVAVV	CLL, UTC, NHL
27	GLLGKVTSV	SCLC, UBC
28	IKVTDPQLLEL	NSCLC, MEL
29	KMISAIPTL	UTC

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
30	IITEVITRL	OC, UTC
31	GLLETTGLLAT	OC
33	TLDRNSLYV	OC, UTC
34	TLNTLDINL	UTC
35	VIIKGLEEI	OC
36	TVLQELINV	UBC, UTC, MEL, CRC, AML, NHL
38	VLQQESNFL	AML
39	YLEDGFAYV	CLL, UBC, UTC, MEL, NHL
40	KIWEELSVLEV	SCLC, UBC
41	IVTEIISEI	CLL, SCLC, UTC, GBC_CCC, AML, NHL
43	LLIPFTIFM	SCLC, GBC_CCC, NHL
46	ISLDEVAVSL	BRCA
47	GLNGFNVLL	SCLC, UTC, GBC_CCC, MEL, CRC, AML, NHL
48	KISDFGLATV	OC, MEL
51	LDSEALLTL	BRCA
52	TIGIPFPNV	MEL, NHL
53	AQHLSTLLL	SCLC, GBC_CCC
56	VLQENSSDYQSNL	UTC
57	TLYPGRFDYV	OSCAR, UBC
59	ALADGIKSFLL	BRCA, MEL
64	SLYAGSNNQV	NSCLC
65	SLSEKSPEV	HCC, SCLC, UBC, UTC, BRCA, NHL
67	FLIENLLAA	UTC
68	QLMNLIRSV	UBC, AML
70	GLTEKTVLV	CRC, AML, NHL
75	ALLDGALQL	GC, CRC
76	FTAEFLEKV	UBC, MEL, AML, NHL
77	ALYGNVQQV	BRCA, NHL
78	LFQSRIAGV	BPH
80	VLTGQVHEL	GB
83	GLLENSPHL	BRCA, MEL, AML, NHL

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
84	FLLEREQLL	CLL, UBC, UTC, BRCA, AML, NHL
85	KLLDKPEQFL	NHL
86	SLFSNIESV	SCLC, BRCA, GBC_CCC
87	KLLSLLEEA	NSCLC, BPH
89	SLAETIFIV	SCLC, GBC_CCC, RCC, NHL
90	AILNVDEKNQV	OC
91	LLPSIFLMV	OC
92	RLFEEVLGV	OSCAR, SCLC, UBC, BRCA, AML
94	YLDEVAFML	UBC, BRCA, GBC_CCC
95	KLIDEDEPLFL	SCLC, UTC, GBC_CCC
96	ALDTTRHEL	OSCAR, UBC, UTC
98	FVQEKIPEL	GBC_CCC
99	TLFGIQLTEA	GC, GBC_CCC
101	SLLEVNEASSV	NHL
102	GLYPVTLVGV	SCLC, BRCA, AML
103	YLADTVQKL	NSCLC
104	DLPTQEPALGTT	BPH
106	VLLGSVVIFA	BPH
108	FIANLPPELKA	BPH
109	ILGSFELQL	BPH
110	QIQGQVSEV	BPH
112	ILAQDVAQL	MEL, AML, NHL
113	FLFLKEVKV	CRC
116	ALLSSVAEA	SCLC, BRCA, CRC
117	TLLEGISRA	BRCA
118	IAYNPNGNAL	NSCLC, CLL, AML
119	SLIEESEEL	OC, UTC
121	ALYVQAPTV	NSCLC, UTC, NHL
122	SIIDTELKV	AML
124	ALLLRLFTI	NSCLC
128	SILTNISEV	NSCLC

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
129	KMASKVTQV	HCC
130	QLYGSAITL	HCC
132	ALLNNVIEV	HCC, BRCA
133	FLDGRPLTL	UTC, MEL
135	HLDTVKIEV	GB
136	LLWDAPAKC	CRC
139	IILENIQSL	UBC, BRCA, AML
140	FLDSQITTV	MEL
142	LLDAAHASI	NSCLC
143	MLWESIMRV	NSCLC, UTC
144	FLISQTPLL	NSCLC, SCLC, UBC
145	ALEEKLENV	NSCLC
146	VVAAHLAGA	GC, MEL
147	GLLSALENV	CLL, NHL
148	YLILSSHQL	CLL, NHL
150	VLLDMVHSL	HCC, UTC
151	DISKRIQSL	NSCLC
152	ILVTSIFFL	CLL, NHL
153	KLVELEHTL	GC, NSCLC, OSCAR
154	AIIKEIQTV	GB, NSCLC, HCC, UBC, MEL
155	TLDSYLKAV	OC, BRCA
156	VILTSSPFL	CLL, BRCA, AML, NHL
157	ILQDGQFLV	HCC, UBC
158	YLDPLWHQL	CLL, MEL, NHL
159	QLGPVPVTI	UBC, RCC, NHL
160	TLQEWLTEV	NSCLC, GBC_CCC
161	NLLDENVCL	CRC
162	GLLGNLLTSL	NSCLC
163	GLEERLYTA	NSCLC, CLL, AML, NHL
164	MLIIRVPSV	NSCLC
165	SLLDYEVSI	GBC_CCC

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
166	LLGDSSFFL	CLL, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML
167	LVVDEGSLVSV	OC, SCLC
168	VIFEGEPMYL	NSCLC, BRCA, NHL
169	ALADLSVAV	NSCLC, HCC, OSCAR, OC, UBC, UTC, GBC_CCC, MEL, AML
170	FIAAVVEKV	SCLC, NHL
171	LLLLDVPTA	NSCLC, UTC, BRCA, CRC, NHL
172	SLYLQMNSLRTE	NSCLC
173	RLIDIYKNV	OC
174	ALYSGDLHAA	HCC
175	SLLDLVQSL	BRCA, AML, NHL
177	ALINVLNAL	AML
179	TLGEIIKGV	NSCLC
180	RLYEEEIRI	NSCLC
181	LLWAPTAQA	GB, NSCLC, RCC, CRC
182	GLQDGFQITV	GC
183	ALSYILPYL	NSCLC, SCLC, UTC, BRCA, CRC, AML, NHL
184	ALDSTIAHL	UTC, MEL
185	TLYQGLPAEV	GC, NSCLC, HCC, OSCAR, OC, UBC, UTC, BRCA, RCC, CRC
186	SLLSLESRL	GC
187	SILKEDPFL	NSCLC
188	VLGEEQEGV	NSCLC
189	MAVSDLLIL	GB
190	SLSTELFKV	HCC
192	TLLPSSGLVTL	BRCA
193	ALFHMNILL	NSCLC
194	KLLEEVQLL	NSCLC
195	VIIQNLPAL	CRC
196	TLHQWIYYL	CRC
198	ILTNKVVSV	OC
199	SVADLAHVL	GC

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
200	IMPTFDLTKV	HCC
201	LLFSLLCEA	BPH
203	FLFVDPELV	CRC, AML, NHL
204	SEWGSPHAAVP	PC
205	LAFGYDDEL	HCC
206	GLDAFRIFL	CRC
207	KLFETVEEL	GB
208	HLNNDRNPL	BPH
210	GLAGDNIYL	RCC
211	LLTTVLINA	RCC
212	MTLSEIHAV	CRC
213	ILAVDGVLSV	NSCLC, BRCA, MEL
214	ALFETLIQL	HCC
215	QIADIVTSV	HCC
216	ALSTVTPRI	HCC
217	LLWPSSVPA	GB, MEL, AML
220	ALSELERVL	BPH, UTC
221	IMLNSVEEI	BPH, NHL
222	LLTGVFAQL	CLL, UTC, BRCA, CRC, NHL
223	ALHPVQFYL	OC, CRC
224	LLFDWSGTGRADA	GBC_CCC
225	FLPQPVPLSV	CLL, MEL, NHL
226	SLAGNLQEL	GB
227	SEMEELPSV	HCC
228	SLLELDGINLRL	NSCLC
230	KLLNMIFSI	BPH
231	LLDDIFIRL	MEL
233	SLFESLEYL	UTC, RCC
234	VLLNEILEQV	CLL, SCLC, UBC, UTC, BRCA, AML, NHL
235	SLLNQPKAV	SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, AML, NHL

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
236	KMSELQTYV	GC, BPH, CLL, OSCAR, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, RCC, AML, NHL
237	ALLEQTGDMSL	SCLC, UBC, BRCA, AML, NHL
238	HLQEKLQSL	HCC
239	VIIKGLEEITV	CLL, SCLC, UBC, UTC, AML, NHL
240	SVQENIQQK	RCC, NHL
241	KQFEGTVEI	CLL, NHL
242	KLQEEIPVL	BRCA, MEL, NHL
243	GLAEFQENV	CLL, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
244	NVAEIVIHI	GB
245	ALLEEEEGV	NSCLC, UBC, GBC_CCC
246	ALAGIVTNV	GB, CLL, SCLC, BRCA, GBC_CCC, AML
248	VLMQDSRLYL	CLL, UBC, UTC, AML, NHL
251	LLWGNLPEI	CLL, SCLC, UTC, GBC_CCC, AML, NHL
252	SLMEKNQSL	AML
253	KLLAVIHEL	UBC, BRCA, GBC_CCC, MEL, AML, NHL
254	ALGDKFLLRV	NHL
255	FLMKNSDLYGA	UBC, UTC, GBC_CCC, AML, NHL
256	FLNDIFERI	UTC, MEL, AML, NHL
258	QLVQRVASV	UBC, NHL
260	ALNESLVEC	SCLC, UBC, UTC, CRC, AML, NHL
261	GLAALAVHL	GC, CLL, SCLC, UBC, UTC, BRCA, GBC_CCC, AML, NHL
262	LLLEAVWHL	BRCA, NHL
263	SIIEYLPTL	CLL, OSCAR, OC, SCLC, UBC, GBC_CCC, AML, NHL
264	TLHDQVHLL	UTC, BRCA, GBC_CCC, MEL
265	FLLDKPQDLSI	GBC_CCC
267	YLLDMPLWYL	AML, NHL
269	GLLDCPIFL	CLL, UTC, AML, NHL
270	TLLTFFHEL	UTC, GBC_CCC, AML, NHL

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể bổ sung của peptit quan tâm cụ thể
271	VLIEYNFSI	CLL, SCLC, MEL, AML, NHL
272	FVMEGEPPKL	CLL, UTC
273	SLNKQIETV	AML
275	AVPPPPSSV	NSCLC, HCC
276	RMPTVLQCV	BPH
277	KLQEELNKV	NSCLC, OSCAR, UBC, BRCA, NHL
279	VLMDEGAVLTL	CLL, CRC, NHL
280	HLWGHALFL	HCC
281	LLLESDPKVYSL	OSCAR, SCLC
282	SLYALHVKA	OC, SCLC
283	ALSELLQQV	NSCLC, HCC, OC, SCLC, UTC, MEL, CRC, AML, NHL
285	MLLDTVQKV	NSCLC
286	FLTEMVHFI	NSCLC, CLL, SCLC, UBC, NHL

Ví dụ 2

Lập thông số biểu hiện của các gen mã hóa peptit theo sáng chế

Sự biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện đặc hiệu của peptit trên các tế bào khối u được so sánh với các tế bào bình thường là đủ đối với tính hữu ích của nó trong liệu pháp miễn dịch, và một số peptit có độ đặc hiệu khối u mặc dù protein nguồn của chúng cũng xuất hiện trong các mô bình thường. Tuy nhiên, việc lập thông số biểu hiện của ARN thông tin làm tăng thêm độ an toàn khi chọn các đích peptit dùng cho liệu pháp miễn dịch. Đặc biệt là đối với các lựa chọn điều trị bệnh với nguy cơ độ an toàn cao, như các thụ thể TCR trưởng thành ái lực, peptit đích lý tưởng sẽ có nguồn gốc từ protein đặc biệt với khối u và không được tìm thấy trên các mô bình thường. Đối với sáng chế này, sự biểu hiện ở mô bình thường của tất cả các gen nguồn đã được chứng minh ít nhất là dựa vào cơ sở dữ liệu nêu trên của dữ liệu biểu hiện ARN của khoảng 3000 mẫu mô bình thường. Ngoài ra, các phân tích ARN của mô bình thường và mô khối u được bổ sung trong trường hợp một số bệnh ung thư thực thể (HCC, CRC, GB, GC, NSCLC, PC, RCC, BPH/PCA) để ước tính khoảng biểu hiện đích trong quần thể bệnh nhân mắc bệnh ung thư tương ứng.

Nguồn ARN và điều chế

Các mẫu mô được tách ra khi phẫu thuật được cung cấp theo phương pháp như đã nêu trên đây (xem ví dụ 1) sau khi nhận được sự đồng ý tham gia bằng văn bản của mỗi bệnh nhân. Các mẫu mô khối u được đông lạnh đột ngột ngay sau khi phẫu thuật và được làm đồng nhất sau đó bằng cối và chày trong nitơ lỏng. ARN tổng số được điều chế từ các mẫu này bằng cách sử dụng chất phản ứng TRI Reagent (Ambion, Darmstadt, Đức), sau đó làm sạch bằng RNeasy (QIAGEN, Hilden, Đức); cả hai phương pháp đều được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

ARN tổng số từ các mô của người khỏe mạnh được mua trên thị trường (Ambion, Huntingdon, Vương Quốc Anh; Clontech, Heidelberg, Đức; Stratagene, Amsterdam, Hà Lan; BioChain, Hayward, CA, Mỹ). ARN từ một số đối tượng (từ 2 đến 123 đối tượng) được trộn lẫn sao cho ARN từ mỗi đối tượng được định lượng bằng nhau. Lượng và chất lượng của tất cả các mẫu ARN được đánh giá trên thiết bị phân tích sinh học Agilent 2100 (Agilent, Waldbronn, Đức) bằng cách sử dụng kit ARN 6000 Pico LabChip (Agilent).

ARN tổng số từ các mô của người khỏe mạnh dùng cho thử nghiệm RNASeq thu được từ: Asterand (Detroit, MI, Mỹ & Royston, Herts, Vương Quốc Anh), BioCat GmbH (Heidelberg, Đức), BioServe (Beltsville, MD, Mỹ), Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, Mỹ), Geneticist Inc. (Glendale, CA, Mỹ), Istituto Nazionale Tumori "Pascale" (Naples, Ý), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, Mỹ), Bệnh viện đại học Heidelberg (Heidelberg, Đức)

ARN tổng số từ mô khối u mô dùng cho thử nghiệm RNASeq thu được từ: Asterand (Detroit, MI, Mỹ & Royston, Herts, Vương Quốc Anh), Bio-Options Inc. (Brea, CA, Mỹ), BioServe (Beltsville, MD, Mỹ), Geneticist Inc. (Glendale, CA, Mỹ), ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, Mỹ), Tissue Solutions Ltd (Glasgow, Vương Quốc Anh), Bệnh viện đại học Bonn (Bonn, Đức), Bệnh viện đại học Heidelberg (Heidelberg, Đức), Bệnh viện đại học Tübingen (Tübingen, Đức)

Thử nghiệm vi mảng

Khoảng biểu hiện được ước tính bằng phương pháp phân tích profin biểu hiện ARN (Affymetrix microarrays) của 30 mẫu GB, 16 mẫu CRC, 56 mẫu RCC, 12 mẫu HCC, 38 mẫu NSCLC, 11 mẫu PC, 34 mẫu GC, và 20 mẫu ung thư tuyến tiền liệt.

Việc phân tích sự biểu hiện gen của tất cả các mẫu ARN ở khối u và mô bình thường được thực hiện bằng các vi mảng oligonucleotit Affymetrix Human Genome (HG) U133A hoặc HG-U133 Plus 2.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, Mỹ). Tất cả các bước được tiến hành theo sách hướng dẫn của Affymetrix. Tóm lại, ADN bổ trợ sợi kép được tổng hợp từ 5–8µg ARN tổng số, bằng cách sử dụng SuperScript RTII (Invitrogen) và đoạn mồi oligo-dT-T7 (MWG Biotech, Ebersberg, Đức) như được mô tả trong sách hướng dẫn. Quá trình phiên mã *in vitro* được thực hiện với kit đánh dấu BioArray High Yield RNA Transcript Labelling Kit (ENZO Diagnostics, Inc., Farmingdale, NY, Mỹ) đối với mảng U133A hoặc với kit đánh dấu GeneChip IVT Labelling Kit (Affymetrix) đối với mảng U133 Plus 2.0, sau đó, phân mảnh ARN bổ trợ, lai, và nhuộm bằng streptavidin-phycoerythrin và kháng thể biotinyl hóa kháng streptavidin (Molecular Probes, Leiden, Hà Lan). Các hình ảnh được quét bằng máy quét Agilent 2500A GeneArray (U133A) hoặc máy quét Affymetrix Gene-Chip 3000 (U133 Plus 2.0), và các dữ liệu được phân tích bằng chương trình phần mềm GCOS (Affymetrix), bằng cách thiết lập mặc định cho tất cả các thông số. Để chuẩn hóa, 100 gen giữ nhà được cung cấp bởi Affymetrix được sử dụng. Các giá trị biểu hiện tương đối được tính từ tỷ lệ log tín hiệu được cung cấp bằng chương trình phần mềm và mẫu thận bình thường được thiết lập tùy ý đến 1,0. Các profin biểu hiện làm ví dụ của các gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện ở mức quá cao hoặc chỉ được biểu hiện ở bệnh HCC, CRC, GB, GC, NSCLC, PC, RCC, hoặc BPH/PCA được thể hiện trên Fig.2. Tổng quan về khoảng biểu hiện của các gen được chọn được thể hiện trong Bảng.

Bảng 5A: khoảng biểu hiện đích của các gen nguồn của peptit được chọn. Sự biểu hiện quá được xác định khi sự biểu hiện trên khối u cao hơn 1,5 lần so với mô bình thường liên quan có sự biểu hiện của gen cao nhất. Sự biểu hiện quá mức <19% = I, 20-49% = II, 50-69% = III, >70% = IV. Nếu peptit có thể có nguồn gốc từ vài gen nguồn, gen có khoảng biểu hiện nhỏ nhất là gen quyết định.

SEQ ID NO.	Trình tự	GB (%)	CRC (%)	RCC (%)	HCC (%)	NSCLC (%)	PC (%)	BPH/ PCA (%)	GC (%)	Gen ID	Ký hiệu gen chính thức
116	ALLSSVAEA	I	II	I	I	II	I	I	I	9048	ARTN
263	SIIEYLPTL	I	II	I	I	I	I	I	I	79915	ATAD5
93	RLYGYFHDA	II	III	I	II	II	II	I	III	6790	AURKA
27	GLLGKVTSV	I	I	I	I	II	I	I	I	51297	BPIFA1
28	IKVTDPQLLEL	I	I	I	I	II	I	I	I	51297	BPIFA1
62	SLVENIHVL	II	III	II	I	III	III	I	III	675	BRCA2
241	KQFEGTVEI	II	III	II	I	III	III	I	III	675	BRCA2
52	TIGIPFPNV	III	I	I	II	II	I	I	II	83990	BRIP1
58	HLLGEGAFAQV	III	III	I	I	III	II	I	III	699	BUB1
117	TLLEGISRA	I	I	I	I	II	II	I	I	26256	CABYR
94	YLDEVAFML	I	I	I	I	I	II	I	I	1238	CCBP2
103	YLADTVQKL	II	I	I	I	I	I	I	I	100526761, 54937	CCDC169-SOHLH2,SOHLH2
79	TVLEEIGNRV	II	IV	I	I	II	I	I	II	9133	CCNB2
247	NLLIDDKGTIKL	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	983	CDK1
248	VLMQDSRLYL	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	983	CDK1
249	YLYQILQGI	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	983	CDK1
250	LMQDSRLYL	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	983	CDK1

1	KLQEKIQEL	III	II	I	I	II	I	I	II	1062	CENPE
242	KLQEEIPVL	III	II	I	I	II	I	I	II	1062	CENPE
19	KVFELDLVTL	IV	III	I	I	I	I	I	I	1063	CENPF
20	ALVEKGEFAL	IV	III	I	I	I	I	I	I	1063	CENPF
236	KMSELQTYV	IV	III	I	I	I	I	I	I	1063	CENPF
237	ALLEQTGDMSL	IV	III	I	I	I	I	I	I	1063	CENPF
238	HLQEKLQSL	IV	III	I	I	I	I	I	I	1063	CENPF
60	YLFSQGLQGL	III	IV	I	III	III	II	I	III	2491	CENPI
260	ALNESLVEC	I	III	I	I	II	I	I	II	55165	CEP55
48	KISDFGLATV	IV	IV	II	II	IV	II	I	IV	1111	CHEK1
49	KLIGNIHGNEV	I	I	I	I	I	II	I	I	8532	CPZ
50	ILLSVLHQL	I	I	I	I	I	II	I	I	8532	CPZ
284	KLMDPGSLPPL	I	IV	I	I	II	I	I	II	2118	ETV4
261	GLAALAVHL	I	III	I	II	II	I	I	I	2175	FANCA
262	LLLEAVWHL	I	III	I	II	II	I	I	I	2175	FANCA
270	TLLTFFHEL	II	III	I	I	II	I	I	II	55215	FANCI
271	VLIEYNFSI	II	III	I	I	II	I	I	II	55215	FANCI
11	LLDPKTIFL	I	I	II	I	I	I	I	I	26762	HAVCR1
12	RLLDPKTIFL	I	I	II	I	I	I	I	I	26762	HAVCR1

111	AQLEGKL VSI	I	III	I	I	II	I	I	III	3161	HMMR
277	KLQEELN KV	I	III	I	I	II	I	I	III	3161	HMMR
67	FLIENLLA A	I	I	I	II	I	I	I	I	3166	HMX1
56	VLQENSS DYQSNL	II	III	I	I	I	I	I	I	3188	HNRNPH2
89	SLAETIFIV	I	I	I	I	II	I	I	I	3359	HTR3A
90	AILNVDE KNQV	I	I	I	I	II	I	I	I	3359	HTR3A
91	LLPSIFLM V	I	I	I	I	II	I	I	I	3359	HTR3A
287	KIQEILTQ V	IV	II	II	III	IV	IV	I	II	10643	IGF2BP3
97	KLFEKSTG L	IV	IV	II	II	I	II	III	II	23421	ITGB3BP
35	VIIKGLEEI	I	II	I	I	I	I	I	I	3832	KIF11
36	TVLQELIN V	I	II	I	I	I	I	I	I	3832	KIF11
37	QIVELIEKI	I	II	I	I	I	I	I	I	3832	KIF11
239	VIIKGLEEI TV	I	II	I	I	I	I	I	I	3832	KIF11
240	SVQENIQQ K	I	II	I	I	I	I	I	I	3832	KIF11
10	QLIEKNW LL	IV	IV	I	II	III	II	I	IV	56992	KIF15
112	ILAQDVA QL	III	IV	I	I	II	II	I	III	24137	KIF4A
70	GLTEKTV LV	III	IV	I	I	II	II	I	III	24,137,285, 643	KIF4A, KIF4B
252	SLMEKNQ SL	III	IV	I	I	II	II	I	III	24,137,285, 643	KIF4A, KIF4B
104	DLPTQEPA LGTT	I	I	I	I	I	I	IV	I	354	KLK3
118	IAYNPNG NAL	I	I	I	I	I	II	I	I	3824	KLRD1

113	FLFLKEVK V	I	II	I	I	I	I	I	I	54596	L1TD1
279	VLMDEGA VLTL	I	II	I	I	I	I	I	I	54596	L1TD1
119	SLIEESEEL	I	II	I	I	I	I	I	I	284217	LAMA1
105	AMLASQT EA	II	I	I	II	I	IV	I	I	4295	MLN
106	VLLGSVVI FA	I	I	I	I	I	I	IV	II	4477	MSMB
29	KMISAIPT L	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
30	IITEVITRL	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
31	GLLETTGL LAT	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
32	VVMVLVL ML	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
33	TLDRNSL YV	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
34	TLNTLDIN L	I	I	I	I	III	II	II	I	94025	MUC16
41	IVTEIISEI	III	IV	I	I	III	I	I	III	64151	NCAPG
42	KQMSISTG L	III	IV	I	I	III	I	I	III	64151	NCAPG
234	VLLNEILE QV	III	IV	I	I	III	I	I	III	64151	NCAPG
285	MLLDTVQ KV	I	II	I	I	I	I	I	I	54892	NCAPG2
114	LLFPSDVQ TL	II	III	I	I	III	I	I	III	23397	NCAPH
107	RVLPGQA VTGV	I	III	I	I	I	I	I	I	55247	NEIL3
81	ILAEEPIYI	I	I	I	I	II	II	II	II	55655	NLRP2
82	ILAEEPIYI RV	I	I	I	I	II	II	II	II	55655	NLRP2
115	ILHGEVN KV	I	II	I	I	I	I	I	I	54830	NUP62CL

39	YLEDGFAYV	II	IV	I	I	III	II	IV	IV	5558	PRIM2
83	GLLENSPHL	III	II	II	II	I	III	I	II	25788	RAD54B
253	KLLAVIHEL	III	II	II	II	I	III	I	II	25788	RAD54B
288	SLYKGLLSV	III	II	II	II	I	III	I	II	25788	RAD54B
108	FIANLPPELKA	I	II	I	I	I	I	IV	I	6013	RLN1
13	RLHDENILL	III	II	II	I	I	I	I	I	23322	RPGRIP1L
120	LQLJPLKGLSL	II	IV	I	II	III	II	I	III	6241	RRM2
76	FTAEFLEKV	III	I	I	I	I	II	I	I	79801	SHCBP1
255	FLMKNSDLYGA	III	I	I	I	I	II	I	I	79801	SHCBP1
74	GLAFLPASV	I	II	I	I	I	I	I	I	6570	SLC18A1
75	ALLDGALQL	I	II	I	I	I	I	I	I	6570	SLC18A1
243	GLAEFQENV	II	I	I	I	II	II	I	II	57405	SPC25
281	LLLESDPKVYSL	I	III	I	I	I	I	I	I	6491	STIL
109	ILGSFELQL	I	I	I	I	I	I	IV	I	7047	TGM4
110	QIQGQVSEV	I	I	I	I	I	I	IV	I	7047	TGM4
267	YLLDMPLWYL	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	7153	TOP2A
268	SLDKDIVAL	IV	IV	II	II	IV	III	I	IV	7153	TOP2A
121	ALYVQAPTV	IV	IV	II	II	IV	IV	I	IV	9319	TRIP13
122	SIIDTELKV	IV	IV	II	II	IV	IV	I	IV	9319	TRIP13

123	QTAPEEAFIKL	IV	II	III	III	III	II	IV	III	15,073,792,104	TTC30B, TTC30A
124	ALLLRLFTI	III	IV	II	II	IV	IV	I	IV	11169	WDHD1
125	AALEVLAEV	I	III	I	I	I	I	I	I	11130	ZWINT
126	QLREAFEQL	I	III	I	I	I	I	I	I	11130	ZWINT

Thử nghiệm RNAseq

Phép phân tích sự biểu hiện gen của – các mẫu ARN của mô khối u và mô bình thường được thực hiện bằng cách giải trình tự thế hệ mới (RNAseq) bởi trung tâm CeGaT (Tübingen, Đức). Tóm lại, thư viện giải trình tự được tạo ra bằng cách sử dụng kit chất phản ứng Illumina HiSeq v4 theo hướng dẫn của nhà cung cấp (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), bao gồm phân mảnh ARN, chuyển đổi ADN bổ trợ và bổ sung phân tử gá lắp giải trình tự. Các thư viện có nguồn gốc từ nhiều mẫu được trộn lẫn về mặt đẳng mol và được giải trình tự trên thiết bị giải trình tự Illumina HiSeq 2500 theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tạo ra các số đọc ở một đầu ứng với 50 cặp bazơ (base pair: bp). Các số đọc đã xử lý được vẽ bản đồ với hệ gen của người (GRCh38) bằng cách sử dụng chương trình phần mềm STAR. Dữ liệu biểu hiện được cung cấp ở cấp độ phiên mã dưới dạng RPKM (số đọc cho một kilo bazơ cho một triệu lần đọc đã vẽ bản đồ), được tạo ra bằng chương trình phần mềm Cufflinks) và ở cấp độ exon (tổng số lần đọc, được tạo ra bằng chương trình phần mềm Bedtools), dựa trên sự chú giải của cơ sở dữ liệu trình tự ensembl (Ensembl77). Các số đọc exon được chuẩn hóa về chiều dài exon và kích thước khi thẳng hàng để thu được giá trị RPKM.

Profin biểu hiện làm ví dụ của gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện cao quá mức hoặc chỉ được biểu hiện trong bệnh NHL, BRCA, GBC, CCC, MEL, OC, OSCAR, SCLC, UBC, UEC được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig.2F đến Fig.2H. Điểm số biểu hiện cho các gen làm ví dụ khác được thể hiện trong Bảng 5B.

Bảng 5B: khoảng biểu hiện đích của gen nguồn của peptit được chọn.

Sự biểu hiện quá mức được xác định khi sự biểu hiện trên khối u cao hơn 1,5 lần so với mô bình thường liên quan thể hiện sự biểu hiện cao nhất của gen. Sự biểu

hiện quá mức <19% = I, 20-49% = II, 50-69% = III, >70% = IV. Nếu peptit có thể có nguồn gốc từ vài nguồn gen, gen có khoảng biểu hiện nhỏ nhất là gen quyết định. Đường gốc bao gồm các mô bình thường liên quan sau: mô mỡ, tuyến thượng thận, động mạch, tủy xương, não, sụn, ruột kết, thực quản, túi mật, tim, thận, gan, phổi, hạch bạch huyết, tụy, tuyến yên, trực tràng, cơ xương, da, ruột non, lách, dạ dày, tuyến ức, tuyến giáp, khí quản, bàng quang và tĩnh mạch. Trong trường hợp số liệu biểu hiện của một vài mẫu của cùng loại mô được sử dụng, giá trị trung bình số học của tất cả các mẫu được sử dụng để tính toán. AML = bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, NHL = u lymphô không Hodgkin, BRCA = bệnh ung thư vú, CLL = bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, GBC_CCC = bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, MEL = u melanin, OC = bệnh ung thư buồng trứng, OSCAR = bệnh ung thư thực quản, bao gồm cả bệnh ung thư đoạn nối dạ dày-thực quản, SCLC = bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, UBC = bệnh ung thư bàng quang, UTC = bệnh ung thư tử cung.

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (%)	NHL(%)	BRCA (%)	CLL (%)	GBC_CCC (%)	MEL(%)	OC (%)	OSCAR (%)	SCLC (%)	UBC (%)	UTC (%)
1	KLQEKIQEL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
2	SVLEKEIYSI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
3	RVIDDSLVVGV	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	I
4	VLFGELPAL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
5	GLVDIMVHL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
7	ALLQALMEL	I	II	II	I	II	III	II	II	I	II	I
8	ALSSSQAEV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
9	SLITGQDLLSV	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
10	QLIEKNWLL	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	I
11	LLDPKTIFL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
13	RLHDENILL	I	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (%)	NHL(%)	BRCA (%)	CLL (%)	GBC_CCC (%)	MEL(%)	OC (%)	OSCAR (%)	SCLC (%)	UBC (%)	UTC (%)
14	YTFSGDVQL	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	III	I
17	GLLPSAESIKL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
18	KTASINQNV	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
21	YLMDDFSSL	I	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I
22	LMYPYIYHV	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
24	KVWSDVTPL	I	I	IV	I	IV	II	II	IV	II	IV	IV
39	YLEDGFAYV	I	II	II	I	II	II	III	I	III	I	I
40	KIWEELSVLEV	I	I	II	I	III	IV	I	III	IV	III	II
41	IVTEIISEI	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
43	LLIPFTIFM	I	II	II	I	II	II	I	IV	I	II	I
46	ISLDEVAVSL	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I	I
47	GLNGFNVLL	I	II	I	I	I	I	I	I	III	I	II
49	KLIGNIHGNEV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
50	ILLSVLHQL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
67	FLIENLLAA	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
76	FTAEFLEKV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
83	GLLENSPHL	I	II	II	I	I	II	II	I	III	I	III
84	FLLEREQLL	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	II
85	KLLDKPEQFL	I	I	I	I	I	IV	I	I	I	I	I
86	SLFSNIESV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
88	LLLPLELSLA	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I	I
89	SLAETIFIV	I	III	I	I	I	I	II	I	II	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (%)	NHL(%)	BRCA (%)	CLL (%)	GBC_CCC (%)	MEL(%)	OC (%)	OSCAR (%)	SCLC (%)	UBC (%)	UTC (%)
92	RLFEEVLGV	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
95	KLIDEDEPLFL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
96	ALDTTRHEL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
102	GLYPVTLVGV	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
116	ALLSSVAEA	I	I	II	I	I	I	I	IV	I	II	I
117	TLLEGISRA	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
147	GLLSALENV	I	III	I	IV	I	I	I	I	I	I	I
148	YLILSSHQL	I	III	I	IV	I	I	I	I	I	I	I
152	ILVTSIFFL	I	II	I	II	I	I	I	I	I	I	I
153	KLVELEHTL	I	I	II	I	II	II	I	II	I	II	I
155	TLDSYLKAV	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I
156	VILTSSPFL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
157	ILQDGQFLV	I	I	I	II	I	III	I	I	II	I	I
158	YLDPLWHQL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
166	LLGDSSFFL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
169	ALADLSVAV	I	I	I	I	I	I	I	II	I	III	I
170	FIAAVVEKV	I	I	I	I	I	II	II	I	I	I	I
181	LLWAPTAQA	I	I	I	I	II	I	I	I	II	I	I
185	TLYQGLPAEV	I	I	II	I	I	I	III	IV	I	II	IV
203	FLFVDPELV	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
220	ALSELERVL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
222	LLTGVFAQL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	II	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (%)	NHL(%)	BRCA (%)	CLL (%)	GBC_CCC (%)	MEL(%)	OC (%)	OSCAR (%)	SCLC (%)	UBC (%)	UTC (%)
233	SLFESLEYL	I	I	II	I	II	II	II	II	I	I	I
234	VLLNEILEQV	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I	I
235	SLLNQPKAV	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I
236	KMSELQTYV	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	I
237	ALLEQTGDMSL	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	I
241	KQFEGTVEI	I	II	II	I	I	I	I	I	II	I	I
242	KLQEEIPVL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
243	GLAEFQENV	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I	I
245	ALLEEEEGV	I	I	I	I	I	II	I	II	II	II	I
246	ALAGIVTNV	I	I	II	I	II	I	III	I	I	II	I
248	VLMQDSRLYL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
251	LLWGNLPEI	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
252	SLMEKNQSL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
253	KLLAVIHEL	I	II	II	I	I	II	II	I	III	I	III
255	FLMKNSDLYGA	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
257	KLIDHQGLYL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I
260	ALNESLVEC	I	III	I	I	II	I	II	IV	II	II	II
261	GLAALAVHL	I	II	I	I	I	I	I	I	III	I	I
263	SIIEYLPTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
264	TLHDQVHLL	I	I	IV	I	I	I	IV	I	I	I	IV
265	FLLDKPQDLSI	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I
267	YLLDMPLWYL	I	II	I	I	I	I	I	I	III	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (%)	NHL(%)	BRCA (%)	CLL (%)	GBC_CCC (%)	MEL(%)	OC (%)	OSCAR (%)	SCLC (%)	UBC (%)	UTC (%)
269	GLLDCPIFL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
270	TLLTFFHEL	I	I	I	I	I	II	I	II	II	I	I
271	VLIEYNFSI	I	I	I	I	I	II	I	III	II	I	I
274	TLYNPERTITV	II	IV	II	III	IV	IV	IV	IV	IV	II	II
277	KLQEELNKV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
279	VLMDEGAVLTL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
283	ALSELLQQV	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
286	FLTEMVHFI	I	I	I	I	I	I	I	I	II	II	I

Ví dụ 3

Tính sinh miễn dịch *in vitro* của peptit trình diện MHC nhóm I

Để thu được thông tin liên quan đến tính sinh miễn dịch của peptit TUMAP theo sáng chế, các tác giả sáng chế đã tiến hành đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm tạo mồi tế bào T *in vitro* trên cơ sở sự kích thích lặp lại của các tế bào T CD8+ bằng các tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo (artificial antigen presenting cell: aAPC) được tải phức hợp peptit/MHC và kháng thể kháng CD28. Theo cách này, tác giả sáng chế có thể cho thấy tính sinh miễn dịch đối với 47 peptit TUMAP được giới hạn bởi HLA-A*0201 theo sáng chế, để chứng minh rằng các peptit này là epitop của tế bào T kháng tiền tế bào T CD8+ tồn tại ở người (Bảng 6A và 6B).

Tạo mồi các tế bào T CD8+ *in vitro*

Để thực hiện việc kích thích *in vitro* bằng các tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo được tải phức hợp peptit-MHC (peptide-MHC complex : pMHC) và kháng thể kháng CD28, trước tiên, các tác giả sáng chế phân lập các tế bào T CD8+ ra khỏi các sản phẩm gạn tách bạch cầu HLA-A*02 mới bằng cách chọn lọc dương tính bằng cách sử dụng các vi hạt CD8 (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Đức) của

người cho khỏe mạnh thu được từ University clinics Mannheim, Đức, sau khi đồng ý tham gia. Các tế bào PBMC và tế bào lymphô CD8+ phân lập được được ủ trong môi trường tế bào T (T-cell medium: TCM) cho đến khi sử dụng gồm RPMI-Glutamax (Invitrogen, Karlsruhe, Đức) được bổ sung thêm huyết thanh AB của người 10% được bất hoạt bằng nhiệt (PAN-Biotech, Aidenbach, Đức), Penixilin 100U/ml/Streptomyxin 100µg/ml (Cambrex, Cologne, Đức), natri pyruvat 1mM (CC Pro, Oberdorla, Đức), Gentamycin 20µg/ml (Cambrex). IL-7 2,5 ng/ml (PromoCell, Heidelberg, Đức) và IL-2 10 U/ml (Novartis Pharma, Nürnberg, Đức) cũng được bổ sung thêm vào môi trường TCM ở bước này. Sự tạo ra các hạt được phủ pMHC/kháng thể kháng CD28, sự kích thích tế bào T và việc đọc kết quả được thực hiện trong hệ *in vitro* được xác định ở mức cao bằng cách sử dụng 4 phân tử pMHC khác nhau cho mỗi điều kiện kích thích và 8 phân tử pMHC khác nhau cho mỗi điều kiện đọc kết quả.

IgG2a của chuột tinh khiết được đồng kích thích kháng CD28 Ab 9.3 của người (Jung et al., 1987) được biotinyl hóa bằng phương pháp hóa học bằng cách sử dụng Sulfo-N-hydroxysucxinimidobiotin theo khuyến cáo của nhà sản xuất (Perbio, Bonn, Đức). Các hạt được sử dụng là hạt polystyren được phủ streptavidin có đường kính 5,6µm (Bangs Laboratories, Illinois, Mỹ).

pMHC được sử dụng để kích thích đối chứng dương tính và âm tính là A*0201/MLA-001 (peptit ELAGIGILTV (SEQ ID NO. 289) từ Melan-A/MART-1 được cải biến) và A*0201/DDX5-001 (YLLPAIVHI từ DDX5, SEQ ID NO. 290), tương ứng.

800.000 hạt/200µl được phủ trong đĩa có 96 lỗ với sự có mặt của 4 x 12,5ng biotin-pMHC khác nhau, được rửa và 600 ng biotin kháng CD28 được cho thêm sau đó với thể tích 200µl. Sự kích thích được khơi mào trong đĩa có 96 lỗ bằng cách ủ đồng thời $1x10^6$ tế bào T CD8+ với $2x10^5$ hạt được phủ đã rửa sạch trong 200µl TCM được bổ sung 5 ng/ml IL-12 (PromoCell) trong 3 ngày ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, một nửa môi trường được thay bằng môi trường TCM mới được bổ sung 80U/ml IL-2 và tiếp tục ủ trong 4 ngày ở nhiệt độ 37°C. Chu trình kích thích này được thực hiện tổng cộng ba lần. Đối với kết quả đọc multime pMHC bằng cách sử dụng 8 phân tử pMHC khác nhau cho mỗi điều kiện, phương pháp mã hóa kết hợp hai chiều được sử dụng như được mô tả (Andersen et al., 2012) với sự cải biến nhỏ bằng cách

liên kết với 5 chất gây huỳnh quang khác nhau. Cuối cùng, các bước phân tích multime được thực hiện bằng cách nhuộm tế bào bằng thuốc nhuộm hồng ngoại gần về tỷ lệ sống/chết (Invitrogen, Karlsruhe, Đức), dòng kháng thể CD8-FITC SK1 (BD, Heidelberg, Đức) và multime pMHC huỳnh quang. Để phân tích, thiết bị đếm tế bào BD LSRII SORP được trang bị máy phát lượng tử ánh sáng và bộ lọc thích hợp được sử dụng. Các tế bào đặc hiệu peptit được tính theo tỷ lệ % của các tế bào CD8+ tổng số. Việc đánh giá phép phân tích multime được thực hiện bằng cách sử dụng chương trình phần mềm FlowJo (Tree Star, Oregon, Mỹ). Sự tạo mồi *in vitro* của các tế bào lymphô multime+ CD8+ đặc hiệu được phát hiện bằng cách so sánh với sự kích thích đối chứng âm tính. Tính sinh miễn dịch đối với một kháng nguyên cho trước được phát hiện nếu ít nhất một lỗ được kích thích *in vitro* của một người cho khỏe mạnh có thể được đánh giá được phát hiện là chứa dòng tế bào T CD8+ đặc hiệu sau khi kích thích *in vitro* (nghĩa là lỗ này chứa ít nhất 1% tế bào T multime+ đặc hiệu trong số các tế T CD8+ và tỷ lệ % tế bào multime+ đặc hiệu bằng ít nhất 10 lần giá trị trung bình của kết quả kích thích đối chứng âm tính).

Tính sinh miễn dịch *in vitro* của peptit

Đối với peptit HLA nhóm I được thử nghiệm, tính sinh miễn dịch *in vitro* có thể được chứng minh bằng cách tạo ra các dòng tế bào T đặc hiệu peptit. Kết quả đếm tế bào theo dòng làm ví dụ sau khi nhuộm multime đặc hiệu peptit TUMAP đối với 15 peptit theo sáng chế được thể hiện trên Fig.3 và Fig.6 cùng với các đối chứng âm tính tương ứng. Kết quả của hai peptit theo sáng chế được tóm tắt trong Bảng 6A và 6B.

Bảng 6A: tính sinh miễn dịch *in vitro* của các peptit HLA nhóm I theo sáng chế

Kết quả làm ví dụ của thử nghiệm tính sinh miễn dịch *in vitro* được tiến hành bởi tác giả sáng chế đối với các peptit theo sáng chế. <20% = +; 21% - 49% = ++; 50% - 69%= +++; >= 70% = ++++

Seq ID	Trình tự	Các lỗ	Người cho
288	SLYKGLLSV	++	++++

287	KIQEILTQV	+	+++

Bảng 6B: tính sinh miễn dịch *in vitro* của các peptit HLA nhóm I theo sáng chế

Kết quả làm ví dụ của thử nghiệm tính sinh miễn dịch *in vitro* được tiến hành bởi tác giả sáng chế đối với các peptit được giới hạn bởi HLA-A*02 theo sáng chế. Kết quả của các thử nghiệm tính sinh miễn dịch *in vitro* được thể hiện. Tỷ lệ % các lỗ và người cho dương tính (trong số các mẫu có thể đánh giá) được tóm tắt như được thể hiện <20% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 69%= +++; >= 70%= ++++

SEQ ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
4	VLFGELPAL	+
7	ALLQALMEL	++
9	SLITGQDLLSV	+
11	LLDPKTIFL	++
14	YTFSGDVQL	+
17	GLLPSAESIKL	+
18	KTASINQNV	+++
27	GLLGKVTSV	+
29	KMISAIPTL	+
34	TLNTLDINL	++++
35	VIIKGLEEI	+
39	YLEDGFAYV	++++
48	KISDFGLATV	++
50	ILLSVLHQL	+
66	AMFPDTIPRV	+
77	ALYGNVQQV	+
82	ILAEEPIYIRV	+++
89	SLAETIFIV	+
92	RLFEEVLGV	++
97	KLFEKSTGL	+
101	SLLEVNEASSV	+
102	GLYPVTLVGV	+

SEQ ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
117	TLLEGISRA	++
121	ALYVQAPTV	+
157	ILQDGQFLV	+
166	LLGDSSFFL	++
183	ALSYILPYL	+++
203	FLFVDPELV	+++
233	SLFESLEYL	+
234	VLLNEILEQV	++
236	KMSELQTYV	+
242	KLQEEIPVL	+
246	ALAGIVTNV	+
248	VLMQDSRLYL	++
251	LLWGNLPEI	++
253	KLLAVIHEL	++
254	ALGDKFLLRV	+
255	FLMKNSDLYGA	+
257	KLIDHQGLYL	+
260	ALNESLVEC	+
261	GLAALAVHL	++
263	SIIEYLPTL	+
264	TLHDQVHLL	+
267	YLLDMPLWYL	+
275	AVPPPPSSV	++

Ví dụ 4

Tổng hợp peptit

Tất cả các peptit được tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp tổng hợp peptit pha rắn chuẩn và đã biết rõ bằng cách sử dụng chiến lược Fmoc.

Tính đồng nhất và độ tinh khiết của mỗi peptit riêng biệt được xác định bằng phương pháp phổ khối và phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đảo pha (RP-HPLC) phân tích. Các peptit thu được dưới dạng sản phẩm đông khô nhanh màu

trắng ngà (muối triflo axetat) với độ tinh khiết >50%.

Tốt hơn, nếu tất cả các peptit TUMAP được sử dụng dưới dạng muối triflo-axetat hoặc muối axetat, các dạng muối dược dụng khác cũng có thể được sử dụng.

Ví dụ 5

Thử nghiệm gắn kết MHC

Các peptit ứng viên dùng cho liệu pháp trên cơ sở tế bào T theo sáng chế được thử nghiệm thêm về khả năng gắn kết với MHC (ái lực) của chúng. Các phức hợp peptit-MHC riêng biệt được tạo ra bằng cách trao đổi UV-phối tử, trong đó peptit nhạy UV được phân giải khi chiếu UV, và được trao đổi với peptit quan tâm khi phân tích. Khi các ứng viên peptit có thể gắn kết hữu hiệu và làm ổn định các phân tử MHC nhận peptit để ngăn ngừa sự phân ly của các phức hợp MHC. Để xác định hiệu suất của phản ứng trao đổi, thử nghiệm ELISA được thực hiện dựa trên sự phát hiện chuỗi nhẹ (β2m) của phức hợp MHC được làm ổn định. Nói chung, thử nghiệm này được thực hiện như được mô tả trong tài liệu của Rodenko và các đồng tác giả (Rodenko et al., 2006).

Đĩa MAXISorp có 96 lỗ (NUNC) được phủ qua đêm bằng streptavidin 2ug/ml trong PBS ở nhiệt độ trong phòng, được rửa 4 lần và phong bế trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C trong dung dịch đệm phong bế chứa BSA 2%. Các monome HLA-A*0201/MLA-001 cuộn gập lại được dùng làm chất chuẩn, phủ với lượng nằm trong khoảng từ 15 đến 500 ng/ml. Các monome peptit-MHC của phản ứng trao đổi UV-được pha loãng 100 lần trong dung dịch đệm phong bế. Các mẫu được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C, rửa 4 lần, ủ với HRP 2ug/ml liên hợp kháng β2m trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C, rửa lại và phát hiện bằng dung dịch TMB, làm ngừng phản ứng bằng NH_2SO_4. Mức độ hấp thụ được xác định ở bước sóng 450nm. Các peptit ứng viên có hiệu suất trao đổi cao (tốt hơn là cao hơn 50%, tốt nhất là cao hơn 75%) thường được ưu tiên để tạo ra và sản xuất kháng thể hoặc mảnh kháng thể của nó, và/hoặc thụ thể tế bào T hoặc các đoạn của nó, do chúng có đủ ái lực với các phân tử MHC và ngăn ngừa sự phân ly của phức hợp MHC này.

Bảng 7: điểm số gắn kết với MHC nhóm I

Sự gắn kết của các peptit được giới hạn bởi HLA-nhóm I với HLA-A*02:01

được đánh giá bằng hiệu suất trao đổi peptit: ≥10% = +; ≥20% = ++; ≥50 = +++; ≥ 75% = ++++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
1	KLQEKIQEL	++++
3	RVIDDSLVVGV	+++
4	VLFGELPAL	+++
5	GLVDIMVHL	+++
6	FLNAIETAL	++++
7	ALLQALMEL	+++
9	SLITGQDLLSV	+++
10	QLIEKNWLL	+++
11	LLDPKTIFL	+++
12	RLLDPKTIFL	+++
13	RLHDENILL	+++
14	YTFSGDVQL	+++
16	SLADLSLLL	+++
17	GLLPSAESIKL	++++
18	KTASINQNV	++
19	KVFELDLVTL	++
20	ALVEKGEFAL	++
21	YLMDDFSSL	+++
22	LMYPYIYHV	+++
23	ALLSPLSLA	+++
24	KVWSDVTPL	+++
25	LLWGHPRVALA	+++
26	VLDGKVAVV	+++
27	GLLGKVTSV	+++
28	IKVTDPQLLEL	++
29	KMISAIPTL	++
30	IITEVITRL	+++
31	GLLETTGLLAT	+++
33	TLDRNSLYV	++
34	TLNTLDINL	+++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
35	VIIKGLEEI	++
36	TVLQELINV	+++
37	QIVELIEKI	++
38	VLQQESNFL	++
39	YLEDGFAYV	+++
40	KIWEELSVLEV	+++
41	IVTEIISEI	+++
42	KQMSISTGL	++
44	AVFNLVHVV	+++
45	FLPVSVVYV	+++
47	GLNGFNVLL	+++
48	KISDFGLATV	+++
49	KLIGNIHGNEV	++
50	ILLSVLHQL	+++
51	LDSEALLTL	++
52	TIGIPFPNV	++
53	AQHLSTLLL	+
54	YLVPGLVAA	+++
55	HLFDKIIKI	+++
57	TLYPGRFDYV	++
58	HLLGEGAFAQV	+++
59	ALADGIKSFLL	+++
60	YLFSQGLQGL	+++
61	ALYPKEITL	+++
62	SLVENIHVL	+++
63	KLLPMVIQL	+++
64	SLYAGSNNQV	++
65	SLSEKSPEV	++
66	AMFPDTIPRV	++
67	FLIENLLAA	+++
68	QLMNLIRSV	+++
69	LKVLKADVVL	++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
70	GLTEKTVLV	++
71	HMSGKLTNV	++
72	VLSTRVTNV	++
74	GLAFLPASV	++
75	ALLDGALQL	+++
76	FTAEFLEKV	+++
77	ALYGNVQQV	+++
79	TVLEEIGNRV	++
80	VLTGQVHEL	+++
81	ILAEEPIYI	++
82	ILAEEPIYIRV	+++
83	GLLENSPHL	++
84	FLLEREQLL	++++
85	KLLDKPEQFL	++
86	SLFSNIESV	+++
87	KLLSLLEEA	+++
88	LLLPLELSLA	+++
89	SLAETIFIV	+++
90	AILNVDEKNQV	++
91	LLPSIFLMV	++
92	RLFEEVLGV	++++
93	RLYGYFHDA	++
94	YLDEVAFML	+++
95	KLIDEDEPLFL	+++
96	ALDTTRHEL	++
97	KLFEKSTGL	+++
98	FVQEKIPEL	+++
99	TLFGIQLTEA	+++
100	ALQSFEFRV	+++
101	SLLEVNEASSV	+++
102	GLYPVTLVGV	+++
103	YLADTVQKL	++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
105	AMLASQTEA	++
106	VLLGSVVIFA	++
107	RVLPGQAVTGV	++
108	FIANLPPELKA	+++
109	ILGSFELQL	+++
110	QIQGQVSEV	++
111	AQLEGKLVSI	+++
112	ILAQDVAQL	+++
113	FLFLKEVKV	++
114	LLFPSDVQTL	++
115	ILHGEVNKV	++
116	ALLSSVAEA	++
117	TLLEGISRA	++
119	SLIEESEEL	++
121	ALYVQAPTV	++
122	SIIDTELKV	+++
123	QTAPEEAFIKL	+
124	ALLLRLFTI	++
125	AALEVLAEV	+++
126	QLREAFEQL	+++
128	SILTNISEV	++
129	KMASKVTQV	++
130	QLYGSAITL	+++
131	SLYPHFTLL	+++
132	ALLNNVIEV	+++
133	FLDGRPLTL	++
134	SLYKSFLQL	++
136	LLWDAPAKC	+++
137	KLIYKDLVSV	++
138	GIINKLVTV	++
139	IILENIQSL	+++
140	FLDSQITTV	+++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
141	NIDINNNEL	++
142	LLDAAHASI	++
143	MLWESIMRV	+++
144	FLISQTPLL	+++
145	ALEEKLENV	+++
146	VVAAHLAGA	++
147	GLLSALENV	+++
148	YLILSSHQL	+++
149	NMADGQLHQV	++
150	VLLDMVHSL	+++
151	DISKRIQSL	++
153	KLVELEHTL	+++
154	AIIKEIQTV	++
155	TLDSYLKAV	++
157	ILQDGQFLV	++
158	YLDPLWHQL	+++
159	QLGPVPVTI	+++
160	TLQEWLTEV	+++
161	NLLDENVCL	++++
162	GLLGNLLTSL	+++
163	GLEERLYTA	++
164	MLIIRVPSV	+++
165	SLLDYEVSI	+++
166	LLGDSSFFL	+++
167	LVVDEGSLVSV	+++
168	VIFEGEPMYL	+++
169	ALADLSVAV	+++
170	FIAAVVEKV	++
171	LLLLDVPTA	++
173	RLIDIYKNV	+++
174	ALYSGDLHAA	++
175	SLLDLVQSL	+++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
176	VQSGLRILL	++
177	ALINVLNAL	+++
178	SLVSWQLLL	++++
179	TLGEIIKGV	+++
180	RLYEEEIRI	+++
181	LLWAPTAQA	+++
182	GLQDGFQITV	+++
183	ALSYILPYL	+++
184	ALDSTIAHL	++
185	TLYQGLPAEV	++
187	SILKEDPFL	++
188	VLGEEQEGV	++
190	SLSTELFKV	+++
191	AAIEIFEKV	+++
192	TLLPSSGLVTL	++
193	ALFHMNILL	+++
194	KLLEEVQLL	++
195	VIIQNLPAL	+++
198	ILTNKVVSV	++
199	SVADLAHVL	++
200	IMPTFDLTKV	+++
203	FLFVDPELV	++
204	SEWGSPHAAVP	+++
206	GLDAFRIFL	++++
207	KLFETVEEL	+++
208	HLNNDRNPL	++
210	GLAGDNIYL	+++
211	LLTTVLINA	+++
212	MTLSEIHAV	++
213	ILAVDGVLSV	+++
214	ALFETLIQL	+++
215	QIADIVTSV	++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
216	ALSTVTPRI	++
217	LLWPSSVPA	+++
218	SLTGANITV	+++
219	GVVPTIQKV	++
220	ALSELERVL	+++
221	IMLNSVEEI	++
222	LLTGVFAQL	++
223	ALHPVQFYL	+++
224	LLFDWSGTGRADA	+++
225	FLPQPVPLSV	+++
226	SLAGNLQEL	+++
227	SEMEELPSV	+
228	SLLELDGINLRL	+++
229	YLYELEHAL	++
230	KLLNMIFSI	+++
231	LLDDIFIRL	+++
233	SLFESLEYL	+++
234	VLLNEILEQV	++++
235	SLLNQPKAV	++
236	KMSELQTYV	+++
237	ALLEQTGDMSL	+++
238	HLQEKLQSL	++
239	VIIKGLEEITV	+++
241	KQFEGTVEI	+++
242	KLQEEIPVL	+++
243	GLAEFQENV	++
244	NVAEIVIHI	+++
245	ALLEEEEGV	++
246	ALAGIVTNV	+++
247	NLLIDDKGTIKL	++
248	VLMQDSRLYL	+++
249	YLYQILQGI	+++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
250	LMQDSRLYL	+++
251	LLWGNLPEI	+++
252	SLMEKNQSL	++
253	KLLAVIHEL	+++
254	ALGDKFLLRV	++
255	FLMKNSDLYGA	+++
256	FLNDIFERI	+++
257	KLIDHQGLYL	+++
258	QLVQRVASV	++
259	GPGIFPPPPPQP	+
260	ALNESLVEC	+++
261	GLAALAVHL	+++
262	LLLEAVWHL	+++
263	SIIEYLPTL	+++
264	TLHDQVHLL	++
265	FLLDKPQDLSI	+++
266	FLLDKPQDL	++
267	YLLDMPLWYL	+++
268	SLDKDIVAL	++
269	GLLDCPIFL	++++
270	TLLTFFHEL	+++
271	VLIEYNFSI	+++
272	FVMEGEPPKL	++
273	SLNKQIETV	++
274	TLYNPERTITV	+++
275	AVPPPPSSV	++
276	RMPTVLQCV	+++
277	KLQEELNKV	+++
278	VLEDKVLSV	+++
279	VLMDEGAVLTL	++
280	HLWGHALFL	+++
281	LLLESDPKVYSL	++

SEQ ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
282	SLYALHVKA	++
283	ALSELLQQV	+++
284	KLMDPGSLPPL	++
285	MLLDTVQKV	+++
286	FLTEMVHFI	+++

Ví dụ 6

Bảng 8: các peptit được ưu tiên theo sáng chế

SEQ ID No	Sequence	Ký hiệu peptit
11	LLDPKTIFL	HAVCR1-001
14	YTFSGDVQL	MMP1-003
21	YLMDDFSSL	COL6A3-015
24	KVWSDVTPL	MMP-002
25	LLWGHPRVALA	MXRA5-003
40	KIWEELSVLEV	MAGEA3-003
85	KLLDKPEQFL	FMN1-001
89	SLAETIFIV	HTR3A-001
117	TLLEGISRA	CABY-001
153	KLVELEHTL	CT83-001
155	TLDSYLKAV	CYP4Z-001
157	ILQDGQFLV	DCAF4L2-001
168	VIFEGEPMYL	HORMAD1-001
233	SLFESLEYL	ZFP42-001
245	ALLEEEEGV	MAGEA4-003
253	KLLAVIHEL	RAD54B-002
264	TLHDQVHLL	ESR1-001
274	TLYNPERTITV	IGF-004

Định lượng tuyệt đối các peptit liên quan đến khối u được biểu hiện trên bề mặt tế bào

Việc điều chế các chất gắn kết, như kháng thể và/hoặc thụ thể TCR, là quy

trình tốn kém nên quy trình này có thể chỉ được tiến hành đối với một số đích được chọn. Trong trường hợp các peptit liên quan đến khối u và đặc hiệu khối u, tiêu chí lựa chọn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tính đặc hữu về mức độ trình diện và mật độ peptit được biểu hiện trên bề mặt tế bào. Ngoài việc phân lập và định lượng tương đối các peptit như được mô tả trong ở đây, các tác giả sáng chế đã phân tích số bản sao peptit tuyệt đối cho một tế bào như được mô tả. Việc định lượng số bản sao peptit TUMAP cho một tế bào trong các mẫu khối u rắn cần phải định lượng tuyệt đối peptit TUMAP phân lập được, hiệu quả phân lập peptit TUMAP, số lượng tế bào trong mẫu được phân tích.

Định lượng peptit bằng phương pháp nanoLC-MS/MS

Để định lượng chính xác peptit bằng phương pháp phổ khối lượng, lập đường cong hiệu chỉnh của mỗi peptit bằng cách sử dụng phương pháp chất chuẩn nội. Chất chuẩn nội là biến thể được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ kép của mỗi peptit, nghĩa là các axit amin được đánh dấu bằng hai đồng vị phóng xạ được đưa vào quá trình tổng hợp peptit TUMAP. Chất này chỉ khác với peptit liên quan đến khối u về khối lượng của nó mà không có sự khác biệt về các tính chất hóa lý khác (Anderson et al., 2012). Chất chuẩn nội này được bổ sung vào mỗi mẫu MS và tất cả các tín hiệu MS được chuẩn hóa với tín hiệu MS của chất chuẩn nội để bù lại sự biến thiên do kỹ thuật có thể có giữa các lần thử nghiệm MS.

Các đường cong hiệu chỉnh được lập theo ít nhất ba ma trận khác nhau, nghĩa là dịch rửa giải peptit HLA của các mẫu tự nhiên giống với các mẫu MS thông thường, và mỗi chế phẩm được xác định theo hai lần phân tích MS lặp lại. Để đánh giá, các tín hiệu MS được chuẩn hóa với tín hiệu của chất chuẩn nội và đường cong hiệu chỉnh được tính bằng phương pháp hồi quy logic.

Để định lượng các peptit liên quan đến khối u từ mẫu mô, các mẫu tương ứng được bổ sung chất chuẩn nội, các tín hiệu MS được chuẩn hóa với chất chuẩn nội và được định lượng bằng cách sử dụng đường cong hiệu chỉnh peptit.

Hiệu quả phân lập peptit/MHC

Giống như đối với phương pháp tinh chế protein bất kỳ, việc phân lập protein từ các mẫu mô đi kèm với lượng tổn hao nhất định của protein cần quan tâm. Để xác

định hiệu quả phân lập TUMAP, phức hợp peptitMHC được tạo ra đối với tất cả các peptit TUMAP được chọn để định lượng tuyệt đối. Để có thể phân biệt phức hợp bổ sung với các phức hợp peptit/MHC tự nhiên, các dạng được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ đơn của peptit TUMAP được sử dụng, tức là axit amin được đánh dấu bằng một đồng vị phóng xạ được đưa vào sử dụng trong quá trình tổng hợp peptit TUMAP. Các phức hợp này được bổ sung vào các dịch phân giải mô mới điều chế, tức là ở thời điểm sớm nhất có thể của quá trình phân lập TUMAP, và sau đó được bắt giữ giống như phức hợp peptit/MHC tự nhiên trong quá trình tinh chế ái lực sau đó. Do đó, việc xác định lượng thu hồi của TUMAP được đánh dấu đơn cho phép kết luận hiệu quả phân lập của từng TUMAP tự nhiên.

Hiệu quả phân lập được phân tích với số lượng ít mẫu và là tương đương trong các mẫu mô này. Trái lại, hiệu quả phân lập là khác nhau giữa các peptit riêng biệt. Điều này gợi ý rằng hiệu quả phân lập, mặc dù chỉ được xác định ở một số lượng giới hạn các mẫu mô, có thể được ngoại suy cho chế phẩm mô khác bất kỳ. Tuy nhiên, cần phân tích mỗi peptit TUMAP riêng biệt do hiệu quả phân lập có thể không được ngoại suy từ peptit này sang các peptit khác.

Xác định số lượng tế bào trong mô rắn được đông lạnh

Để xác định số lượng tế bào trong mẫu mô được định lượng peptit tuyệt đối, tác giả sáng chế đã áp dụng phương pháp phân tích hàm lượng ADN. Phương pháp này có thể áp dụng cho một phạm vi rộng các mẫu có nguồn gốc khác nhau và điều quan trọng nhất là các mẫu đông lạnh (Alcoser et al., 2011; Forsey and Chaudhuri, 2009; Silva et al., 2013). Trong quá trình phân lập peptit, mẫu mô được xử lý thành dịch phân giải đồng nhất mà phần phân ước dịch tan được lấy ra từ đó. Phần phân ước này được chia thành ba phần mà ADN được phân lập từ đó (QiaAmp DNA Mini Kit, Qiagen, Hilden, Đức). Nồng độ ADN tổng số từ mỗi lần phân lập ADN được định lượng bằng cách sử dụng thử nghiệm định lượng ADN trên cơ sở huỳnh quang (Kit thử nghiệm ADN sợi kép Qubit HS, Life Technologies, Darmstadt, Đức) với ít nhất hai lần.

Để tính số lượng tế bào, lập đường cong ADN chuẩn từ các phần phân ước của tế bào máu khỏe mạnh đơn lẻ, với khoảng số lượng tế bào xác định, được tạo ra. Đường cong chuẩn được sử dụng để tính tổng số lượng tế bào từ nồng độ ADN tổng

số từ mỗi lần phân lập ADN. Tổng số lượng tế bào trung bình của mẫu mô dùng để phân lập peptit được ngoại suy khi tính đến thể tích đã biết của các phần phân ước của dịch tan và tổng thể tích dịch tan.

Số bản sao peptit cho một tế bào

Với số liệu của các thử nghiệm nêu trên, các tác giả sáng chế tính được số lượng bản sao TUMAP cho một tế bào bằng cách chia tổng lượng peptit cho tổng số lượng tế bào của mỗi mẫu, sau đó chia cho hiệu suất phân lập. Số bản sao cho một tế bào của các peptit được chọn được thể hiện trong Bảng 9.

Bảng 9: số bản sao tuyệt đối. Bảng này liệt kê kết quả định lượng peptit tuyệt đối trong các mẫu khối u. Số bản sao trung bình cho một tế bào được thể hiện đối với mỗi peptit: <100 = +; >=100 = ++; >=1000 +++; >=10000 = ++++. Số lượng mẫu trong đó các số liệu MS có thể đánh giá với chất lượng cao được thể hiện.

SEQ ID No.	Ký hiệu peptit	Số bản sao cho một tế bào (giá trị trung bình)	Số lượng mẫu
11	HAVCR1-001	+	22
14	MMP1-003	++	10
21	COL6A3-015	+	35
24	MMP-002	+	33
85	FMN1-001	+	18
89	HTR3A-001	+++	17
117	CABY-001	+	17
155	CYP4Z-001	++	18
157	DCAF4L2-001	++	16
245	MAGEA4-003	+	33
253	RAD54B-002	+++	6
264	ESR1-001	+	16
274	IGF-004	+	6

Tài liệu viện dẫn

Adelaide, J. et al., Cancer Res **67** (2007): 11565-11575

Alcoser, S. Y. et al., BMC.Biotechnol. **11** (2011): 124

Allison, J. P. et al., Science **270** (1995): 932-933

American Cancer Society, (2015), www.cancer.org

Ampie, L. et al., Front Oncol. **5** (2015): 12

Andersen, R. S. et al., Nat.Protoc. **7** (2012): 891-902

Anderson, N. L. et al., J Proteome.Res **11** (2012): 1868-1878

Appay, V. et al., Eur.J Immunol. **36** (2006): 1805-1814

Arafat, H. et al., Surgery **150** (2011): 306-315

Aung, P. P. et al., Oncogene **25** (2006): 2546-2557

Avigan, D. et al., Clin Cancer Res. **10** (2004): 4699-4708

Baba, T. et al., Eur.J Cardiothorac.Surg. **43** (2013): 759-764

Bahnassy, A. A. et al., World J Gastroenterol. **20** (2014): 18240-18248

Banchereau, J. et al., Cell **106** (2001): 271-274

Band, A. M. et al., J Mammary.Gland.Biol Neoplasia. **16** (2011): 109-115

Bankovic, J. et al., Lung Cancer **67** (2010): 151-159

Beatty, G. et al., J Immunol **166** (2001): 2276-2282

Beaty, T. H. et al., Hum.Genet. **132** (2013): 771-781

Beggs, J. D., Nature **275** (1978): 104-109

Bell, J. L. et al., J Clin Oncol **33** (2015): 1285-1293

Bell, J. L. et al., Cell Mol Life Sci. **70** (2013): 2657-2675

Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B (Methodological), **57** (1995): 289-300

Berger, C. et al., Curr.Mol.Med. **13** (2013): 1229-1240

Berman, R. S. et al., National Cancer Institute: PDQ(R) Colon Cancer Treatment (2015a)

Berman, R. S. et al., National Cancer Institute: PDQ(R) Rectal Cancer Treatment (2015b)

Bhan, S. et al., Oncol Rep. **28** (2012): 1498-1502

Bode, P. K. et al., Mod.Pathol. **27** (2014): 899-905

Bogush, T. A. et al., Antibiot.Khimioter. **54** (2009): 41-49

Bonventre, J. V., Trans.Am.Clin Climatol.Assoc. **125** (2014): 293-299

Boulter, J. M. et al., Protein Eng **16** (2003): 707-711

Braumuller, H. et al., Nature (2013)

Bray, F. et al., Int J Cancer **132** (2013): 1133-1145

Brossart, P. et al., Blood **90** (1997): 1594-1599

Bruckdorfer, T. et al., Curr.Pharm.Biotechnol. **5** (2004): 29-43

Butterfield, L. H. et al., Clin Cancer Res **12** (2006): 2817-2825

Butterfield, L. H. et al., Clin Cancer Res **9** (2003): 5902-5908

Caballero, O. L. et al., PLoS.One. **5** (2010)

Carballido, E. et al., Cancer Control **19** (2012): 54-67

Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 345-357

Chang, Y. S. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. **59** (2007): 561-574

Chanock, S. J. et al., Hum.Immunol. **65** (2004): 1211-1223

Chapiro, J. et al., Radiol.Med. **119** (2014): 476-482

Chen, H. S. et al., Zhonghua Gan Zang.Bing.Za Zhi. **11** (2003): 145-148

Chen, S. T. et al., Cancer Sci. **102** (2011b): 2191-2198

Chen, Y. L. et al., Int J Surg. **11** (2013c): 85-91

Chen, Y. T. et al., Cancer Immun. **5** (2005): 9

Cierna, Z. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 472

Ciruelos Gil, E. M., Cancer Treat.Rev **40** (2014): 862-871

Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. **16** (2003a): 324-332

Cohen, C. J. et al., J Immunol **170** (2003b): 4349-4361

Cohen, S. N. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **69** (1972): 2110-2114

Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science (1995)

Colombetti, S. et al., J Immunol. **176** (2006): 2730-2738

Coosemans, A. et al., Anticancer Res **33** (2013): 5495-5500

Coulie, P. G. et al., Immunol.Rev **188** (2002): 33-42

Counter, C. M. et al., Blood **85** (1995): 2315-2320

Cuadros, T. et al., Cancer Res **74** (2014): 1416-1428

Cuadros, T. et al., Eur.J Cancer **49** (2013): 2034-2047

Dalerba, P. et al., Int.J Cancer **93** (2001): 85-90

De, Plaen E. et al., Immunogenetics **40** (1994): 360-369

Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res **12** (2006): 4163-4170

Denkberg, G. et al., J Immunol **171** (2003): 2197-2207

Downie, D. et al., Clin Cancer Res. **11** (2005): 7369-7375

Du, X. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 6324-6335

Duan, Z. et al., Clin Cancer Res **9** (2003): 2778-2785

Ek, S. et al., Cancer Res **62** (2002): 4398-4405

Emens, L. A., Expert.Rev.Anticancer Ther. **12** (2012): 1597-1611

Enguita-German, M. et al., World J Hepatol. **6** (2014): 716-737

Estey, E. H., Am.J Hematol. **89** (2014): 1063-1081

Falk, K. et al., Nature **351** (1991): 290-296

Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.11 [Internet], (2013), http://globocan.iarc.fr

Findeis-Hosey, J. J. et al., Biotech.Histochem. **87** (2012): 24-29

Fong, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **98** (2001): 8809-8814

Forsey, R. W. et al., Biotechnol.Lett. **31** (2009): 819-823

Frasor, J. et al., Mol.Cell Endocrinol. **418 Pt 3** (2015): 235-239

Fuge, O. et al., Res Rep.Urol. **7** (2015): 65-79

Fujiyama, T. et al., J Dermatol.Sci. **75** (2014): 43-48

Fukuyama, T. et al., Cancer Res. **66** (2006): 4922-4928

Fuqua, S. A. et al., Breast Cancer Res Treat. **144** (2014): 11-19

Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. **2** (1996): 1096-1103

Gandhi, A. V. et al., Ann Surg.Oncol **20 Suppl 3** (2013): S636-S643

Gardina, P. J. et al., BMC.Genomics **7** (2006): 325

Gattinoni, L. et al., Nat Rev.Immunol **6** (2006): 383-393

Giannopoulos, K. et al., Leukemia **24** (2010): 798-805

Giannopoulos, K. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 95-103

Gibbs, P. et al., Melanoma Res **10** (2000): 259-264

Gnjatic, S. et al., Proc Natl.Acad.Sci.U.S.A **100** (2003): 8862-8867

Godkin, A. et al., Int.Immunol **9** (1997): 905-911

Gong, Y. et al., Adv.Anat.Pathol. **21** (2014): 191-200

Grah, J. J. et al., Tumori **100** (2014): 60-68

Granziero, L. et al., Blood **97** (2001): 2777-2783

Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual **4th** (2012)

Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual **2nd** (2014)

Gu, X. et al., Sci.Rep. **4** (2014): 6625

Gunawardana, C. et al., Br.J Haematol. **142** (2008): 606-609

Hall, R. D. et al., Cancer Control **20** (2013): 22-31

Hamilton, K. E. et al., Mol.Cancer Res **13** (2015): 1478-1486

Han, L. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 6734-6742

Hanagiri, T. et al., Anticancer Res. **33** (2013): 2123-2128

Harig, S. et al., Blood **98** (2001): 2999-3005

Hasegawa, H. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **122** (1998): 551-554

Hayashi, S. I. et al., Endocr.Relat Cancer **10** (2003): 193-202

Hennard, C. et al., J Pathol. **209** (2006): 430-435

Herbert, N. et al., J Immunol. **185** (2010): 902-916

Hinrichs, C. S. et al., Nat.Biotechnol. **31** (2013): 999-1008

Hiramoto, T. et al., Oncogene **18** (1999): 3422-3426

Hoffmann, N. E. et al., Cancer **112** (2008): 1471-1479

Holtl, L. et al., Clin.Cancer Res. **8** (2002): 3369-3376

Hsu, H. C. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **329** (2005): 1108-1117

Hu, S. et al., J Cancer Res Clin Oncol **140** (2014): 883-893

Huang, X. et al., Cell Prolif. **48** (2015b): 593-599

Hui, L. et al., Oncol Rep. **34** (2015): 2627-2635

Hussein, Y. M. et al., Med.Oncol **29** (2012): 3055-3062

Hwang, M. L. et al., J Immunol. **179** (2007): 5829-5838

Ioannidis, P. et al., Anticancer Res **23** (2003): 2179-2183

Jeng, Y. M. et al., Br.J Surg. **96** (2009): 66-73

Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A **84** (1987): 4611-4615

Kalos, M. et al., Sci.Transl.Med. **3** (2011): 95ra73

Kang, C. Y. et al., J Gastrointest.Surg. **18** (2014): 7-15

Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients **rd** (2000)

Kim, Y. D. et al., Int.J Mol.Med. **29** (2012): 656-662

Kobayashi, H. et al., Oncol Lett. **10** (2015): 612-618

Koido, S. et al., World J Gastroenterol. **19** (2013): 8531-8542

Krackhardt, A. M. et al., Blood **100** (2002): 2123-2131

Krieg, A. M., Nat Rev.Drug Discov. **5** (2006): 471-484

Lederer, M. et al., Semin.Cancer Biol **29** (2014): 3-12

Lee, M. Y. et al., J Cell Physiol **224** (2010): 17-27

Lee, W. C. et al., J Immunother. **28** (2005): 496-504

Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, **030/099**, (2014)

Leivo, I. et al., Cancer Genet.Cytogenet. **156** (2005): 104-113

Leonetti, M. D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **109** (2012): 19274-19279

Li, H. et al., Bull.Cancer **99** (2012): E26-E33

Li, M. et al., Clin Cancer Res **11** (2005): 1809-1814

Li, W. M. et al., J Surg.Oncol (2016)

Li, Y. et al., Cancer Epidemiol. **39** (2015): 8-13

Liddy, N. et al., Nat Med. **18** (2012): 980-987

Lin, J. et al., Clin Cancer Res **10** (2004): 5708-5716

Lin, L. et al., Oncol Lett. **6** (2013): 740-744

Lisitskaia, K. V. et al., Mol.Gen.Mikrobiol.Virusol. (2010): 34-37

Liu, X. et al., Int.Immunopharmacol. **25** (2015): 416-424

Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. **162** (1985): 1745-1759

Llovet, J. M. et al., N.Engl.J Med. **359** (2008): 378-390

Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. **690** (1993): 276-291

Lonsdale, J., Nat.Genet. **45** (2013): 580-585

Lukas, T. J. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **78** (1981): 2791-2795

Lundblad, R. L., Chemical Reagents for Protein Modification **3rd** (2004)

Luo, C. et al., Clin Cancer Res **13** (2007): 1288-1297

Mantia-Smaldone, G. M. et al., Hum.Vaccin.Immunother. **8** (2012): 1179-1191

Marten, A. et al., Cancer Immunol.Immunother. **51** (2002): 637-644

Mason, J. M. et al., Nucleic Acids Res. **43** (2015): 3180-3196

Massari, F. et al., Cancer Treat.Rev. **41** (2015): 114-121

Matsueda, S. et al., World J Gastroenterol. **20** (2014): 1657-1666

Maus, M. V. et al., Blood **123** (2014): 2625-2635

Mayr, C. et al., Exp.Hematol. **34** (2006): 44-53

Mayr, C. et al., Blood **105** (2005): 1566-1573

Mehta, A. et al., Breast **23** (2014): 2-9

Meziere, C. et al., J Immunol **159** (1997): 3230-3237

Miyagi, Y. et al., Clin Cancer Res **7** (2001): 3950-3962

Miyoshi, Y. et al., Med.Mol.Morphol. **43** (2010): 193-196

Molina, J. R. et al., Mayo Clin Proc. **83** (2008): 584-594

Mongan, N. P. et al., Mol.Carcinog **45** (2006): 887-900

Morgan, R. A. et al., Science **314** (2006): 126-129

Mori, M. et al., Transplantation **64** (1997): 1017-1027

Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 3435-3443

Moulton, H. M. et al., Clin Cancer Res **8** (2002): 2044-2051

Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res **7** (2008): 51-61

Mueller, L. N. et al., Proteomics. **7** (2007): 3470-3480

Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **96** (1999): 8633-8638

Murray, G. I. et al., Histopathology **57** (2010): 202-211

National Cancer Institute, (5-6-2015), www.cancer.gov

Noubissi, F. K. et al., J Invest Dermatol. **134** (2014): 1718-1724

Oehlrich, N. et al., Int.J Cancer **117** (2005): 256-264

Okuno, K. et al., Exp.Ther Med. **2** (2011): 73-79

Ottaviani, S. et al., Cancer Immunol.Immunother. **55** (2006): 867-872

Otte, M. et al., Cancer Res **61** (2001): 6682-6687

Ozeki, N. et al., Int.J Mol.Sci. **17** (2016)

Pai, V. P. et al., Breast Cancer Res **11** (2009): R81

Palmer, D. H. et al., Hepatology **49** (2009): 124-132

Palomba, M. L., Curr.Oncol Rep. **14** (2012): 433-440

Perez, C. A. et al., Expert.Rev Anticancer Ther. **11** (2011): 1599-1605

Phan, G. Q. et al., Cancer Control **20** (2013): 289-297

Pineda, C. T. et al., Cell **160** (2015): 715-728

Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (http://CRAN.R-project.org/packe=nlme) (2015)

Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol **25** (1995): 1783-1787

Porta, C. et al., Virology **202** (1994): 949-955

Porter, D. L. et al., N.Engl.J Med. **365** (2011): 725-733

Prasad, M. L. et al., Head Neck **26** (2004): 1053-1057

Qian, Z. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 335-347

Quinn, D. I. et al., Urol.Oncol. (2015)

Raman, J. D. et al., Carcinogenesis **27** (2006): 499-507

Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics **50** (1999): 213-219

Reck, M., Ann.Oncol **23 Suppl 8** (2012): viii28-viii34

RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/

Reinisch, C. M. et al., Int.J Exp.Pathol. **92** (2011): 326-332

Reinisch, W. et al., J Immunother. **25** (2002): 489-499

Reinmuth, N. et al., Dtsch.Med.Wochenschr. **140** (2015): 329-333

Ries, J. et al., Int.J Oncol **26** (2005): 817-824

Rinaldi, A. et al., Pathobiology **77** (2010): 129-135

Rini, B. I. et al., Curr.Opin.Oncol. **20** (2008): 300-306

Rini, B. I. et al., Cancer **107** (2006): 67-74

Risinger, J. I. et al., Clin Cancer Res **13** (2007): 1713-1719

Rock, K. L. et al., Science **249** (1990): 918-921

Rodenko, B. et al., Nat Protoc. **1** (2006): 1120-1132

S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, **032-010OL**, (2013)

S3-Leitlinie Lungenkarzinom, **020/007**, (2011)

S3-Leitlinie maligne Ovarialtumore, **032-035OL**, (2013)

S3-Leitlinie Mammakarzinom, **032-045OL**, (2012)

S3-Leitlinie Melanom, **032-024OL**, (2013)

S3-Leitlinie Prostatakarzinom, **043/022OL**, (2014)

Saiki, R. K. et al., Science **239** (1988): 487-491

Salman, B. et al., Oncoimmunology. **2** (2013): e26662

Sangro, B. et al., J Clin Oncol **22** (2004): 1389-1397

Schmidt, S. M. et al., Cancer Res **64** (2004): 1164-1170

Seeger, F. H. et al., Immunogenetics **49** (1999): 571-576

Shahzad, M. M. et al., Cancer Lett. **330** (2013): 123-129

Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics (1986)

Sherman-Baust, C. A. et al., Cancer Cell **3** (2003): 377-386

Shi, M. et al., World J Gastroenterol. **10** (2004): 1146-1151

Showel, M. M. et al., F1000Prime.Rep. **6** (2014): 96

Siegel, S. et al., Blood **102** (2003): 4416-4423

Silva, L. P. et al., Anal.Chem. **85** (2013): 9536-9542

Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. **53** (2004): 187-195

Skandalis, S. S. et al., Matrix Biol **35** (2014): 182-193

Small, E. J. et al., J Clin Oncol. **24** (2006): 3089-3094

Smith, M. J. et al., Br.J Cancer **100** (2009): 1452-1464

Son, M. Y. et al., Stem Cells **31** (2013): 2374-2387

Springelkamp, H. et al., Genet.Epidemiol. **39** (2015): 207-216

Stahl, M. et al., Ann.Oncol. **24 Suppl 6** (2013): vi51-vi56

Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. **9** (2008): 163

Su, Z. et al., Cancer Res. **63** (2003): 2127-2133

Sun, H. et al., J BUON. **20** (2015): 296-308

Szajnik, M. et al., Gynecol.Obstet.(Sunnyvale.) **Suppl 4** (2013): 3

Szarvas, T. et al., Int J Cancer **135** (2014): 1596-1604

Takayama, T. et al., Cancer **68** (1991): 2391-2396

Takayama, T. et al., Lancet **356** (2000): 802-807

Tanaka, F. et al., Int.J Oncol **10** (1997): 1113-1117

Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. **62** (2005): 1755-1762

Thakkar, J. P. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **23** (2014): 1985-1996

Thorsen, K. et al., Mol Cell Proteomics. **7** (2008): 1214-1224

Tian, X. et al., J Transl.Med. **13** (2015): 337

Toomey, P. G. et al., Cancer Control **20** (2013): 32-42

Tradonsky, A. et al., Am.J Clin Pathol. **137** (2012): 918-930

Tran, E. et al., Science **344** (2014): 641-645

Urgard, E. et al., Cancer Inform. **10** (2011): 175-183

van der Bruggen, P. et al., Immunol.Rev **188** (2002): 51-64

van, Duin M. et al., Haematologica **96** (2011): 1662-1669

Velinov, N. et al., Khirurgiia (Sofiia) (2010): 44-49

Walter, S. et al., J Immunol **171** (2003): 4974-4978

Walter, S. et al., Nat Med. **18** (2012): 1254-1261

Wang, G. H. et al., Oncol Lett. **5** (2013): 544-548

Wang, Y. et al., Anticancer Res **33** (2013): 207-214

Wilhelm, S. M. et al., Cancer Res **64** (2004): 7099-7109

Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423

Wittig, B. et al., Hum.Gene Ther. **12** (2001): 267-278

Wlodarski, M. W. et al., J Leukoc.Biol **83** (2008): 589-601

World Cancer Report, (2014)

Wu, Z. Y. et al., Scand.J Immunol. **74** (2011): 561-567

Xie, X. et al., Oncol Lett. **7** (2014): 1537-1543

Xiong, D. et al., Carcinogenesis **33** (2012): 1797-1805

Xu, J. et al., J Mol.Biol **377** (2008): 28-46

Xu, L. et al., Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi. **14** (2011): 727-732

Xu, X. et al., Exp.Mol.Pathol. **97** (2014): 579-584

Xu, Y. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 12104

Yakimchuk, K. et al., Mol.Cell Endocrinol. **375** (2013): 121-129

Yamada, R. et al., Tissue Antigens **81** (2013): 428-434

Yang, S. et al., Biochim.Biophys.Acta **1772** (2007): 1033-1040

Yao, J. et al., Cancer Immunol.Res. **2** (2014): 371-379

Yin, B. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014a): 2934-2941

Yu, J. et al., Gut **64** (2015): 636-645

Yu, W. et al., Toxicol.Appl.Pharmacol. **264** (2012): 73-83

Yuan, R. H. et al., Ann Surg.Oncol **16** (2009): 1711-1719

Zamuner, F. T. et al., Mol.Cancer Ther. **14** (2015): 828-834

Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577

Zhan, W. et al., Clin Res Hepatol.Gastroenterol. (2015)

Zhang, H. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1863-1871

Zhang, J. et al., Oncotarget. **6** (2015): 42040-42052

Zhang, S. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **8** (2015): 541-550

Zhang, X. et al., Int.J Oncol (2016)

Zhao, H. et al., Zhonghua Gan Zang.Bing.Za Zhi. **10** (2002): 100-102

Zou, T. T. et al., Oncogene **21** (2002): 4855-4862

Follenzi A,et al. Nat Genet. 2000 Jun;25(2):217-22.

Zufferey R, et al. J Virol. 1999 Apr;73(4):2886-92.

Scholten KB, et al. Clin Immunol. 2006 May;119(2):135-45.

Gustafsson C, et al. Trends Biotechnol. 2004 Jul;22(7):346-53. Review.

Kuball, J., et al. *(2007). Blood 109, 2331–2338.*

Schmitt, T. M., et al. *(2009). Hum. Gene Ther. 20, 1240–1248*

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Peptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 157, hoặc chứa trình tự axit amin có mức độ tương đồng ít nhất 88% với SEQ ID No. 157, và trong đó peptit này gắn kết với (các) phân tử của phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex: MHC) và/hoặc gây ra phản ứng chéo của các tế bào T; hoặc muối dược dụng của peptit nêu trên, trong đó peptit này có từ 8 đến 30 axit amin trong chiều dài mạch.

2. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này có khả năng gắn kết với phân tử của MHC nhóm -I hoặc nhóm –II, và trong đó khi được gắn kết với MHC, peptit này có khả năng được nhận biết bởi các tế bào T CD4 và/hoặc CD8.

3. Peptit theo điểm 1 hoặc 2, trong đó peptit này:

(i) có từ 8 đến 16 axit amin; hoặc

(ii) bao gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 157.

4. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó peptit này được cải biến và/hoặc bao gồm các liên kết không peptit.

5. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó peptit này là một phần của protein dung hợp, cụ thể là chứa các axit amin ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (Ii).

6. Vectơ biểu hiện biểu hiện axit nucleic mã hóa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5.

7. Tế bào chủ tái tổ hợp, tốt hơn nếu là tế bào trình diện kháng nguyên tái tổ hợp hoặc tế bào đuôi gai tái tổ hợp, chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 hoặc vectơ biểu hiện theo điểm 6.

8. Phương pháp tạo ra peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào tái tổ hợp theo điểm 7 chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, hoặc chứa vectơ biểu hiện theo điểm 6, và phân lập peptit ra khỏi tế bào này hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

9. Phương pháp tạo ra các tế bào lymphô T hoạt hóa *in vitro*, phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào T tiếp xúc *in vitro* với kháng nguyên được tải các phân tử MHC nhóm I hoặc nhóm II của người được biểu hiện trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên thích hợp hoặc cấu trúc nhân tạo bắt chước tế bào trình diện kháng nguyên trong khoảng thời gian đủ để hoạt hóa các tế bào T này theo cách đặc hiệu kháng nguyên, trong đó kháng nguyên này là peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5.

10. Tế bào lymphô T hoạt hóa được tạo ra bằng phương pháp theo điểm 9, trong đó tế bào này nhận biết chọn lọc tế bào chứa hoặc biểu hiện polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 157, hoặc chứa trình tự axit amin có mức độ tương đồng ít nhất 88% với SEQ ID No. 157.

11. Kháng thể, tốt hơn nếu là kháng thể hòa tan hoặc kháng thể liên kết màng, trong đó kháng thể này nhận biết đặc hiệu peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, tốt hơn nếu là peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 khi được gắn kết với phân tử của MHC.

12. Kit bao gồm:
    (a) đồ chứa để đựng dược phẩm chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, vectơ biểu hiện theo điểm 6, tế bào tái tổ hợp theo điểm 7, tế bào lymphô T hoạt hóa theo điểm 10 hoặc kháng thể theo điểm 11, ở dạng dung dịch hoặc dạng đông khô nhanh;
    (b) tùy ý, đồ chứa thứ hai để đựng chất pha loãng hoặc dung dịch hoàn nguyên dùng cho chế phẩm dạng đông khô nhanh;
    (c) tùy ý, ít nhất một peptit nữa được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ

ID No. 1 đến SEQ ID No. 288,

(d) tùy ý, hướng dẫn để (i) sử dụng dung dịch hoặc (ii) hoàn nguyên và/hoặc sử dụng chế phẩm dạng đông khô nhanh, và tùy ý

chứa một hoặc nhiều thành phần trong số (iii) chất đệm, (iv) chất pha loãng, (v) dụng cụ lọc, (vi) kim tiêm, hoặc (vii) bơm tiêm.

13. Thụ thể tế bào T, tốt hơn nếu là thụ thể tế bào T tái tổ hợp, thụ thể tế bào T hòa tan hoặc thụ thể tế bào T liên kết màng, có khả năng phản ứng với phối tử HLA, trong đó phối tử này có mức độ giống ít nhất 75% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 157.

14. Thụ thể tế bào T hòa tan theo điểm 13, trong đó thụ thể này mang chức năng hiệu ứng khác như miền kích thích miễn dịch hoặc độc tố.

15. Vectơ biểu hiện biểu hiện axit nucleic mã hóa thụ thể tế bào T theo điểm 13 hoặc 14.

16. Tế bào chủ tái tổ hợp, tốt hơn nếu là tế bào T tái tổ hợp hoặc tế bào NK tái tổ hợp, chứa axit nucleic mã hóa kháng thể theo điểm 11 hoặc vectơ biểu hiện theo điểm 15.

17. Phương pháp tạo ra thụ thể tế bào T theo điểm 13 hoặc 14, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào tái tổ hợp theo điểm 16, và phân lập thụ thể tế bào T ra khỏi tế bào chủ nêu trên và/hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

18. Dược phẩm chứa ít nhất một hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, vectơ biểu hiện theo điểm 6, tế bào tái tổ hợp theo điểm 7, tế bào lymphô T hoạt hóa theo điểm 10 hoặc kháng thể theo điểm 11 hoặc thụ thể tế bào T theo điểm 13 hoặc 14, và chất mang dược dụng và/hoặc tá dược và/hoặc chất ổn định dược dụng.

19. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 được phân lập.

20. Kháng thể theo điểm 11 được phân lập.

21. Thụ thể tế bào T theo điểm 13 hoặc 14 được phân lập.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Immatics biotechnologies GmbH

<120> Peptit để sử dụng trong liệu pháp miễn dịch và phương pháp tạo ra peptit này

<130> I32799WO

<150> GB1505305.1
<151> 2015-03-27

<150> US62/139,189
<151> 2015-03-27

<160> 290

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 1

Lys Leu Gln Glu Lys Ile Gln Glu Leu
1 5

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 2

Ser Val Leu Glu Lys Glu Ile Tyr Ser Ile
1 5 10

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 3

Arg Val Ile Asp Asp Ser Leu Val Val Gly Val
1 5 10

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 4

Val Leu Phe Gly Glu Leu Pro Ala Leu
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 5

Gly Leu Val Asp Ile Met Val His Leu
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 6

Phe Leu Asn Ala Ile Glu Thr Ala Leu
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 7

Ala Leu Leu Gln Ala Leu Met Glu Leu
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 8

Ala Leu Ser Ser Ser Gln Ala Glu Val
1 5

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 9

Ser Leu Ile Thr Gly Gln Asp Leu Leu Ser Val
1 5 10

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 10

Gln Leu Ile Glu Lys Asn Trp Leu Leu
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 11

Leu Leu Asp Pro Lys Thr Ile Phe Leu
1 5

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 12

Arg Leu Leu Asp Pro Lys Thr Ile Phe Leu
1 5 10

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 13

Arg Leu His Asp Glu Asn Ile Leu Leu
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 14

Tyr Thr Phe Ser Gly Asp Val Gln Leu
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 15

Gly Leu Pro Ser Ala Thr Thr Thr Val
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 16

Ser Leu Ala Asp Leu Ser Leu Leu Leu
1 5

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 17

Gly Leu Leu Pro Ser Ala Glu Ser Ile Lys Leu
1 5 10

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 18

Lys Thr Ala Ser Ile Asn Gln Asn Val
1 5

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 19

Lys Val Phe Glu Leu Asp Leu Val Thr Leu
1 5 10

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 20

Ala Leu Val Glu Lys Gly Glu Phe Ala Leu
1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 21

Tyr Leu Met Asp Asp Phe Ser Ser Leu
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 22

Leu Met Tyr Pro Tyr Ile Tyr His Val
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 23

Ala Leu Leu Ser Pro Leu Ser Leu Ala
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 24

Lys Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu
1 5

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 25

Leu Leu Trp Gly His Pro Arg Val Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 26

Val Leu Asp Gly Lys Val Ala Val Val
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 27

Gly Leu Leu Gly Lys Val Thr Ser Val
1 5

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 28

Ile Lys Val Thr Asp Pro Gln Leu Leu Glu Leu
1 5 10

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 29

Lys Met Ile Ser Ala Ile Pro Thr Leu
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 30

Ile Ile Thr Glu Val Ile Thr Arg Leu
1 5

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 31

Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr
1 5 10

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 32

Val Val Met Val Leu Val Leu Met Leu
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 33

Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 34

Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 35

Val Ile Ile Lys Gly Leu Glu Glu Ile
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 36

Thr Val Leu Gln Glu Leu Ile Asn Val
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 37

Gln Ile Val Glu Leu Ile Glu Lys Ile
1 5

<210> 38

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 38

Val Leu Gln Gln Glu Ser Asn Phe Leu
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 39

Tyr Leu Glu Asp Gly Phe Ala Tyr Val
1 5

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 40

Lys Ile Trp Glu Glu Leu Ser Val Leu Glu Val
1 5 10

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 41

Ile Val Thr Glu Ile Ile Ser Glu Ile
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 42

Lys Gln Met Ser Ile Ser Thr Gly Leu
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 43

Leu Leu Ile Pro Phe Thr Ile Phe Met
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 44

Ala Val Phe Asn Leu Val His Val Val
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 45

Phe Leu Pro Val Ser Val Val Tyr Val
1 5

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 46

Ile Ser Leu Asp Glu Val Ala Val Ser Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 47

Gly Leu Asn Gly Phe Asn Val Leu Leu
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 48

Lys Ile Ser Asp Phe Gly Leu Ala Thr Val
1 5 10

<210> 49
<211> 11

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 49

Lys Leu Ile Gly Asn Ile His Gly Asn Glu Val
1 5 10

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 50

Ile Leu Leu Ser Val Leu His Gln Leu
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 51

Leu Asp Ser Glu Ala Leu Leu Thr Leu
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 52

Thr Ile Gly Ile Pro Phe Pro Asn Val
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 53

Ala Gln His Leu Ser Thr Leu Leu Leu
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 54

Tyr Leu Val Pro Gly Leu Val Ala Ala

1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 55

His Leu Phe Asp Lys Ile Ile Lys Ile
1 5

<210> 56
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 56

Val Leu Gln Glu Asn Ser Ser Asp Tyr Gln Ser Asn Leu
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 57

Thr Leu Tyr Pro Gly Arg Phe Asp Tyr Val
1 5 10

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 58

His Leu Leu Gly Glu Gly Ala Phe Ala Gln Val
1 5 10

<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 59

Ala Leu Ala Asp Gly Ile Lys Ser Phe Leu Leu
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 60

Tyr Leu Phe Ser Gln Gly Leu Gln Gly Leu
1 5 10

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 61

Ala Leu Tyr Pro Lys Glu Ile Thr Leu
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 62

Ser Leu Val Glu Asn Ile His Val Leu
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 63

Lys Leu Leu Pro Met Val Ile Gln Leu
1 5

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 64

Ser Leu Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Gln Val
1 5 10

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 65

Ser Leu Ser Glu Lys Ser Pro Glu Val
1 5

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 66

Ala Met Phe Pro Asp Thr Ile Pro Arg Val
1 5 10

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 67

Phe Leu Ile Glu Asn Leu Leu Ala Ala
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 68

Gln Leu Met Asn Leu Ile Arg Ser Val
1 5

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 69

Leu Lys Val Leu Lys Ala Asp Val Val Leu
1 5 10

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 70

Gly Leu Thr Glu Lys Thr Val Leu Val
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 71

His Met Ser Gly Lys Leu Thr Asn Val
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 72

Val Leu Ser Thr Arg Val Thr Asn Val
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 73

Ser Val Pro Lys Thr Leu Gly Val
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 74

Gly Leu Ala Phe Leu Pro Ala Ser Val
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 75

Ala Leu Leu Asp Gly Ala Leu Gln Leu
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 76

Phe Thr Ala Glu Phe Leu Glu Lys Val
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 77

Ala Leu Tyr Gly Asn Val Gln Gln Val
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 78

Leu Phe Gln Ser Arg Ile Ala Gly Val
1 5

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 79

Thr Val Leu Glu Glu Ile Gly Asn Arg Val
1 5 10

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 80

Val Leu Thr Gly Gln Val His Glu Leu
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 81

Ile Leu Ala Glu Glu Pro Ile Tyr Ile
1 5

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 82

Ile Leu Ala Glu Glu Pro Ile Tyr Ile Arg Val
1 5 10

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 83

Gly Leu Leu Glu Asn Ser Pro His Leu
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 84

Phe Leu Leu Glu Arg Glu Gln Leu Leu
1 5

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 85

Lys Leu Leu Asp Lys Pro Glu Gln Phe Leu
1 5 10

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 86

Ser Leu Phe Ser Asn Ile Glu Ser Val
1 5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 87

Lys Leu Leu Ser Leu Leu Glu Glu Ala
1 5

<210> 88
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 88

Leu Leu Leu Pro Leu Glu Leu Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 89

Ser Leu Ala Glu Thr Ile Phe Ile Val
1 5

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 90

Ala Ile Leu Asn Val Asp Glu Lys Asn Gln Val
1 5 10

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 91

Leu Leu Pro Ser Ile Phe Leu Met Val
1 5

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 92

Arg Leu Phe Glu Glu Val Leu Gly Val
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 93

Arg Leu Tyr Gly Tyr Phe His Asp Ala
1 5

<210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 94

Tyr Leu Asp Glu Val Ala Phe Met Leu
1 5

<210> 95
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 95

Lys Leu Ile Asp Glu Asp Glu Pro Leu Phe Leu
1 5 10

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 96

Ala Leu Asp Thr Thr Arg His Glu Leu
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 97

Lys Leu Phe Glu Lys Ser Thr Gly Leu
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 98

Phe Val Gln Glu Lys Ile Pro Glu Leu
1 5

<210> 99

<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 99

Thr Leu Phe Gly Ile Gln Leu Thr Glu Ala
1 5 10

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 100

Ala Leu Gln Ser Phe Glu Phe Arg Val
1 5

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 101

Ser Leu Leu Glu Val Asn Glu Ala Ser Ser Val
1 5 10

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 102

Gly Leu Tyr Pro Val Thr Leu Val Gly Val
1 5 10

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 103

Tyr Leu Ala Asp Thr Val Gln Lys Leu
1 5

<210> 104
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 104

Asp Leu Pro Thr Gln Glu Pro Ala Leu Gly Thr Thr
1 5 10

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 105

Ala Met Leu Ala Ser Gln Thr Glu Ala
1 5

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 106

Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ile Phe Ala
1 5 10

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 107

Arg Val Leu Pro Gly Gln Ala Val Thr Gly Val
1 5 10

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 108

Phe Ile Ala Asn Leu Pro Pro Glu Leu Lys Ala
1 5 10

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 109

Ile Leu Gly Ser Phe Glu Leu Gln Leu
1 5

<210> 110
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 110

Gln Ile Gln Gly Gln Val Ser Glu Val
1 5

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 111

Ala Gln Leu Glu Gly Lys Leu Val Ser Ile
1 5 10

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 112

Ile Leu Ala Gln Asp Val Ala Gln Leu
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 113

Phe Leu Phe Leu Lys Glu Val Lys Val
1 5

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 114

Leu Leu Phe Pro Ser Asp Val Gln Thr Leu
1 5 10

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 115

Ile Leu His Gly Glu Val Asn Lys Val

1 5

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 116

Ala Leu Leu Ser Ser Val Ala Glu Ala
1 5

<210> 117
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 117

Thr Leu Leu Glu Gly Ile Ser Arg Ala
1 5

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 118

Ile Ala Tyr Asn Pro Asn Gly Asn Ala Leu
1 5 10

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 119

Ser Leu Ile Glu Glu Ser Glu Glu Leu
1 5

<210> 120
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 120

Leu Gln Leu Ser Pro Leu Lys Gly Leu Ser Leu
1 5 10

<210> 121
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 121

Ala Leu Tyr Val Gln Ala Pro Thr Val
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 122

Ser Ile Ile Asp Thr Glu Leu Lys Val
1 5

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 123

Gln Thr Ala Pro Glu Glu Ala Phe Ile Lys Leu
1 5 10

<210> 124
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 124

Ala Leu Leu Leu Arg Leu Phe Thr Ile
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 125

Ala Ala Leu Glu Val Leu Ala Glu Val
1 5

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 126

Gln Leu Arg Glu Ala Phe Glu Gln Leu
1 5

<210> 127
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 127

Ile Met Lys Ala Thr Gly Leu Gly Ile Gln Leu
1 5 10

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 128

Ser Ile Leu Thr Asn Ile Ser Glu Val
1 5

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 129

Lys Met Ala Ser Lys Val Thr Gln Val
1 5

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 130

Gln Leu Tyr Gly Ser Ala Ile Thr Leu
1 5

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 131

Ser Leu Tyr Pro His Phe Thr Leu Leu
1 5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 132

Ala Leu Leu Asn Asn Val Ile Glu Val
1 5

<210> 133
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 133

Phe Leu Asp Gly Arg Pro Leu Thr Leu
1 5

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 134

Ser Leu Tyr Lys Ser Phe Leu Gln Leu
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 135

His Leu Asp Thr Val Lys Ile Glu Val
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 136

Leu Leu Trp Asp Ala Pro Ala Lys Cys
1 5

<210> 137
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 137

Lys Leu Ile Tyr Lys Asp Leu Val Ser Val
1 5 10

<210> 138
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 138

Gly Ile Ile Asn Lys Leu Val Thr Val
1 5

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 139

Ile Ile Leu Glu Asn Ile Gln Ser Leu
1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 140

Phe Leu Asp Ser Gln Ile Thr Thr Val
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 141

Asn Ile Asp Ile Asn Asn Asn Glu Leu
1 5

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 142

Leu Leu Asp Ala Ala His Ala Ser Ile
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 143

Met Leu Trp Glu Ser Ile Met Arg Val
1 5

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 144

Phe Leu Ile Ser Gln Thr Pro Leu Leu
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 145

Ala Leu Glu Glu Lys Leu Glu Asn Val
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 146

Val Val Ala Ala His Leu Ala Gly Ala
1 5

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 147

Gly Leu Leu Ser Ala Leu Glu Asn Val
1 5

<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 148

Tyr Leu Ile Leu Ser Ser His Gln Leu
1 5

<210> 149
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 149

Asn Met Ala Asp Gly Gln Leu His Gln Val
1 5 10

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 150

Val Leu Leu Asp Met Val His Ser Leu
1 5

<210> 151
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 151

Asp Ile Ser Lys Arg Ile Gln Ser Leu
1 5

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 152

Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 153

Lys Leu Val Glu Leu Glu His Thr Leu
1 5

<210> 154
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 154

Ala Ile Ile Lys Glu Ile Gln Thr Val
1 5

<210> 155
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 155

Thr Leu Asp Ser Tyr Leu Lys Ala Val
1 5

<210> 156
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 156

Val Ile Leu Thr Ser Ser Pro Phe Leu
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 157

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val
1 5

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 158

Tyr Leu Asp Pro Leu Trp His Gln Leu
1 5

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 159

Gln Leu Gly Pro Val Pro Val Thr Ile
1 5

<210> 160

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 160

Thr Leu Gln Glu Trp Leu Thr Glu Val
1 5

<210> 161
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 161

Asn Leu Leu Asp Glu Asn Val Cys Leu
1 5

<210> 162
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 162

Gly Leu Leu Gly Asn Leu Leu Thr Ser Leu
1 5 10

<210> 163
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 163

Gly Leu Glu Glu Arg Leu Tyr Thr Ala
1 5

<210> 164
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 164

Met Leu Ile Ile Arg Val Pro Ser Val
1 5

<210> 165
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 165

Ser Leu Leu Asp Tyr Glu Val Ser Ile
1 5

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 166

Leu Leu Gly Asp Ser Ser Phe Phe Leu
1 5

<210> 167
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 167

Leu Val Val Asp Glu Gly Ser Leu Val Ser Val
1 5 10

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 168

Val Ile Phe Glu Gly Glu Pro Met Tyr Leu
1 5 10

<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 169

Ala Leu Ala Asp Leu Ser Val Ala Val
1 5

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 170

Phe Ile Ala Ala Val Val Glu Lys Val
1 5

<210> 171
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 171

Leu Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala
1 5

<210> 172
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 172

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu
1 5 10

<210> 173
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 173

Arg Leu Ile Asp Ile Tyr Lys Asn Val
1 5

<210> 174
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 174

Ala Leu Tyr Ser Gly Asp Leu His Ala Ala
1 5 10

<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 175

Ser Leu Leu Asp Leu Val Gln Ser Leu
1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 176

Val Gln Ser Gly Leu Arg Ile Leu Leu

1 5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 177

Ala Leu Ile Asn Val Leu Asn Ala Leu
1 5

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 178

Ser Leu Val Ser Trp Gln Leu Leu Leu
1 5

<210> 179
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 179

Thr Leu Gly Glu Ile Ile Lys Gly Val
1 5

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 180

Arg Leu Tyr Glu Glu Glu Ile Arg Ile
1 5

<210> 181
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 181

Leu Leu Trp Ala Pro Thr Ala Gln Ala
1 5

<210> 182
<211> 10
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 182

Gly Leu Gln Asp Gly Phe Gln Ile Thr Val
1 5 10

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 183

Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Pro Tyr Leu
1 5

<210> 184
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 184

Ala Leu Asp Ser Thr Ile Ala His Leu
1 5

<210> 185
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 185

Thr Leu Tyr Gln Gly Leu Pro Ala Glu Val
1 5 10

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 186

Ser Leu Leu Ser Leu Glu Ser Arg Leu
1 5

<210> 187
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 187

Ser Ile Leu Lys Glu Asp Pro Phe Leu
1 5

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 188

Val Leu Gly Glu Glu Gln Glu Gly Val
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 189

Met Ala Val Ser Asp Leu Leu Ile Leu
1 5

<210> 190
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 190

Ser Leu Ser Thr Glu Leu Phe Lys Val
1 5

<210> 191
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 191

Ala Ala Ile Glu Ile Phe Glu Lys Val
1 5

<210> 192
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 192

Thr Leu Leu Pro Ser Ser Gly Leu Val Thr Leu
1 5 10

<210> 193
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 193

Ala Leu Phe His Met Asn Ile Leu Leu
1 5

<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 194

Lys Leu Leu Glu Glu Val Gln Leu Leu
1 5

<210> 195
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 195

Val Ile Ile Gln Asn Leu Pro Ala Leu
1 5

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 196

Thr Leu His Gln Trp Ile Tyr Tyr Leu
1 5

<210> 197
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 197

Leu Gly Gly Pro Thr Ser Leu Leu His Val
1 5 10

<210> 198
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 198

Ile Leu Thr Asn Lys Val Val Ser Val
1 5

<210> 199
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 199

Ser Val Ala Asp Leu Ala His Val Leu
1 5

<210> 200
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 200

Ile Met Pro Thr Phe Asp Leu Thr Lys Val
1 5 10

<210> 201
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 201

Leu Leu Phe Ser Leu Leu Cys Glu Ala
1 5

<210> 202
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 202

Ala Leu Ala Lys Asp Glu Leu Ser Leu
1 5

<210> 203
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 203

Phe Leu Phe Val Asp Pro Glu Leu Val
1 5

<210> 204
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 204

Ser Glu Trp Gly Ser Pro His Ala Ala Val Pro
1 5 10

<210> 205
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 205

Leu Ala Phe Gly Tyr Asp Asp Glu Leu
1 5

<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 206

Gly Leu Asp Ala Phe Arg Ile Phe Leu
1 5

<210> 207
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 207

Lys Leu Phe Glu Thr Val Glu Glu Leu
1 5

<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 208

His Leu Asn Asn Asp Arg Asn Pro Leu
1 5

<210> 209
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 209

Val Leu Gln Thr Glu Glu Leu Val Ala Asn
1 5 10

<210> 210
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 210

Gly Leu Ala Gly Asp Asn Ile Tyr Leu
1 5

<210> 211
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 211

Leu Leu Thr Thr Val Leu Ile Asn Ala
1 5

<210> 212
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 212

Met Thr Leu Ser Glu Ile His Ala Val
1 5

<210> 213
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 213

Ile Leu Ala Val Asp Gly Val Leu Ser Val
1 5 10

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 214

Ala Leu Phe Glu Thr Leu Ile Gln Leu
1 5

<210> 215
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 215

Gln Ile Ala Asp Ile Val Thr Ser Val
1 5

<210> 216
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 216

Ala Leu Ser Thr Val Thr Pro Arg Ile
1 5

<210> 217
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 217

Leu Leu Trp Pro Ser Ser Val Pro Ala
1 5

<210> 218
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 218

Ser Leu Thr Gly Ala Asn Ile Thr Val
1 5

<210> 219
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 219

Gly Val Val Pro Thr Ile Gln Lys Val
1 5

<210> 220
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 220

Ala Leu Ser Glu Leu Glu Arg Val Leu
1 5

<210> 221

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 221

Ile Met Leu Asn Ser Val Glu Glu Ile
1 5

<210> 222
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 222

Leu Leu Thr Gly Val Phe Ala Gln Leu
1 5

<210> 223
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 223

Ala Leu His Pro Val Gln Phe Tyr Leu
1 5

<210> 224
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 224

Leu Leu Phe Asp Trp Ser Gly Thr Gly Arg Ala Asp Ala
1 5 10

<210> 225
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 225

Phe Leu Pro Gln Pro Val Pro Leu Ser Val
1 5 10

<210> 226
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 226

Ser Leu Ala Gly Asn Leu Gln Glu Leu
1 5

<210> 227
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 227

Ser Glu Met Glu Glu Leu Pro Ser Val
1 5

<210> 228
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 228

Ser Leu Leu Glu Leu Asp Gly Ile Asn Leu Arg Leu
1 5 10

<210> 229
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 229

Tyr Leu Tyr Glu Leu Glu His Ala Leu
1 5

<210> 230
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 230

Lys Leu Leu Asn Met Ile Phe Ser Ile
1 5

<210> 231
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 231

Leu Leu Asp Asp Ile Phe Ile Arg Leu
1 5

<210> 232
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 232

Leu Val Val Gly Gly Ile Ala Thr Val
1 5

<210> 233
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 233

Ser Leu Phe Glu Ser Leu Glu Tyr Leu
1 5

<210> 234
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 234

Val Leu Leu Asn Glu Ile Leu Glu Gln Val
1 5 10

<210> 235
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 235

Ser Leu Leu Asn Gln Pro Lys Ala Val
1 5

<210> 236
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 236

Lys Met Ser Glu Leu Gln Thr Tyr Val
1 5

<210> 237
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 237

Ala Leu Leu Glu Gln Thr Gly Asp Met Ser Leu

1 5 10

<210> 238
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 238

His Leu Gln Glu Lys Leu Gln Ser Leu
1 5

<210> 239
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 239

Val Ile Ile Lys Gly Leu Glu Glu Ile Thr Val
1 5 10

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 240

Ser Val Gln Glu Asn Ile Gln Gln Lys
1 5

<210> 241
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 241

Lys Gln Phe Glu Gly Thr Val Glu Ile
1 5

<210> 242
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 242

Lys Leu Gln Glu Glu Ile Pro Val Leu
1 5

<210> 243
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 243

Gly Leu Ala Glu Phe Gln Glu Asn Val
1 5

<210> 244
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 244

Asn Val Ala Glu Ile Val Ile His Ile
1 5

<210> 245
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 245

Ala Leu Leu Glu Glu Glu Glu Gly Val
1 5

<210> 246
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 246

Ala Leu Ala Gly Ile Val Thr Asn Val
1 5

<210> 247
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 247

Asn Leu Leu Ile Asp Asp Lys Gly Thr Ile Lys Leu
1 5 10

<210> 248
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 248

Val Leu Met Gln Asp Ser Arg Leu Tyr Leu
1 5 10

<210> 249
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 249

Tyr Leu Tyr Gln Ile Leu Gln Gly Ile
1 5

<210> 250
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 250

Leu Met Gln Asp Ser Arg Leu Tyr Leu
1 5

<210> 251
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 251

Leu Leu Trp Gly Asn Leu Pro Glu Ile
1 5

<210> 252
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 252

Ser Leu Met Glu Lys Asn Gln Ser Leu
1 5

<210> 253
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 253

Lys Leu Leu Ala Val Ile His Glu Leu
1 5

<210> 254
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 254

Ala Leu Gly Asp Lys Phe Leu Leu Arg Val
1 5 10

<210> 255
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 255

Phe Leu Met Lys Asn Ser Asp Leu Tyr Gly Ala
1 5 10

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 256

Phe Leu Asn Asp Ile Phe Glu Arg Ile
1 5

<210> 257
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 257

Lys Leu Ile Asp His Gln Gly Leu Tyr Leu
1 5 10

<210> 258
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 258

Gln Leu Val Gln Arg Val Ala Ser Val
1 5

<210> 259
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 259

Gly Pro Gly Ile Phe Pro Pro Pro Pro Pro Gln Pro
1 5 10

<210> 260
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 260

Ala Leu Asn Glu Ser Leu Val Glu Cys
1 5

<210> 261
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 261

Gly Leu Ala Ala Leu Ala Val His Leu
1 5

<210> 262
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 262

Leu Leu Leu Glu Ala Val Trp His Leu
1 5

<210> 263
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 263

Ser Ile Ile Glu Tyr Leu Pro Thr Leu
1 5

<210> 264
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 264

Thr Leu His Asp Gln Val His Leu Leu
1 5

<210> 265
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 265

Phe Leu Leu Asp Lys Pro Gln Asp Leu Ser Ile
1 5 10

<210> 266
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 266

Phe Leu Leu Asp Lys Pro Gln Asp Leu
1 5

<210> 267
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 267

Tyr Leu Leu Asp Met Pro Leu Trp Tyr Leu
1 5 10

<210> 268
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 268

Ser Leu Asp Lys Asp Ile Val Ala Leu
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 269

Gly Leu Leu Asp Cys Pro Ile Phe Leu
1 5

<210> 270
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 270

Thr Leu Leu Thr Phe Phe His Glu Leu
1 5

<210> 271
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 271

Val Leu Ile Glu Tyr Asn Phe Ser Ile
1 5

<210> 272
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 272

Phe Val Met Glu Gly Glu Pro Pro Lys Leu
1 5 10

<210> 273
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 273

Ser Leu Asn Lys Gln Ile Glu Thr Val
1 5

<210> 274
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 274

Thr Leu Tyr Asn Pro Glu Arg Thr Ile Thr Val
1 5 10

<210> 275
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 275

Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Ser Val
1 5

<210> 276
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 276

Arg Met Pro Thr Val Leu Gln Cys Val
1 5

<210> 277
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 277

Lys Leu Gln Glu Glu Leu Asn Lys Val
1 5

<210> 278
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 278

Val Leu Glu Asp Lys Val Leu Ser Val
1 5

<210> 279
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 279

Val Leu Met Asp Glu Gly Ala Val Leu Thr Leu
1 5 10

<210> 280
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 280

His Leu Trp Gly His Ala Leu Phe Leu
1 5

<210> 281
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 281

Leu Leu Leu Glu Ser Asp Pro Lys Val Tyr Ser Leu
1 5 10

<210> 282

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 282

Ser Leu Tyr Ala Leu His Val Lys Ala
1 5

<210> 283
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 283

Ala Leu Ser Glu Leu Leu Gln Gln Val
1 5

<210> 284
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 284

Lys Leu Met Asp Pro Gly Ser Leu Pro Pro Leu
1 5 10

<210> 285
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 285

Met Leu Leu Asp Thr Val Gln Lys Val
1 5

<210> 286
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 286

Phe Leu Thr Glu Met Val His Phe Ile
1 5

<210> 287
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 287

Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val
1 5

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 288

Ser Leu Tyr Lys Gly Leu Leu Ser Val
1 5

<210> 289
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 289

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val
1 5 10

<210> 290
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 290

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

- 1 -

Fig.1A - Peptit: KLQEKIQEL (A*02:01)

Peptit được phát hiện trên
4 dòng tế bào ung thư bạch cầu, 1 dòng tế bào ung thư tụy, 1 dòng tế bào u melanin, 2 mẫu mô bình thường (1 tuyến thượng thận, 1 lách), 31 mẫu mô ung thư nguyên phát (1 bệnh ung thư não, 4 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư gan, 16 bệnh ung thư phổi, 4 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

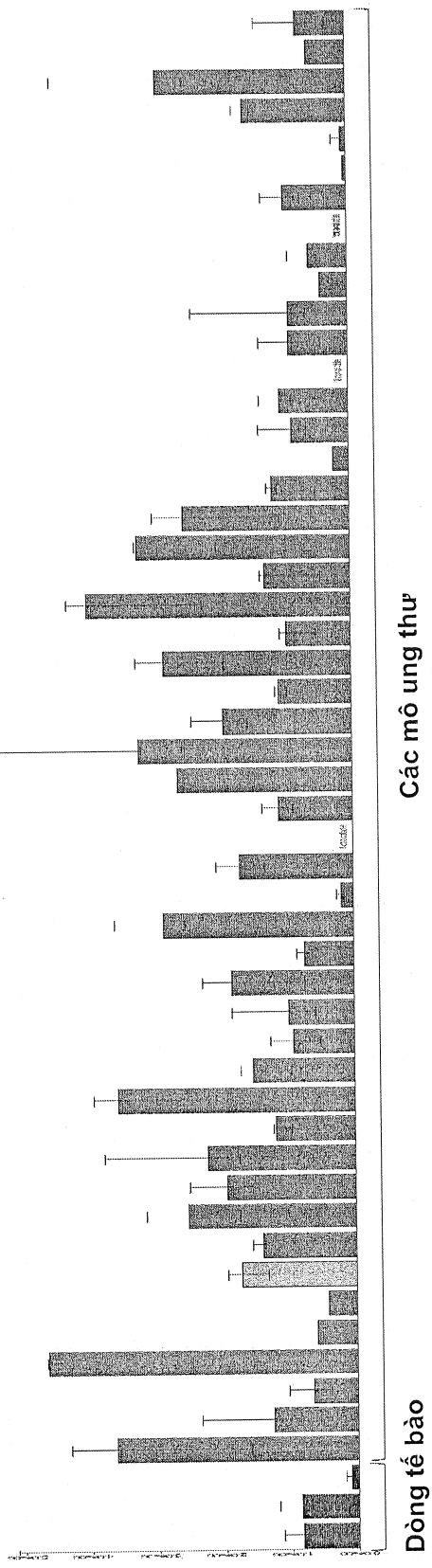
Fig.1B - Peptit: QLIEKNWLL (A*02:01)

Peptit được phát hiện trên
5 dòng tế bào ung thư bạch cầu, 1 dòng tế bào ung thư tụy, 1 dòng tế bào bạch cầu tủy bào, 1 mẫu mô bình thường
(1 tuyến thượng thận), 29 mẫu mô ung thư (4 bệnh ung thư ruột kết, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư bạch cầu,
1 bệnh ung thư gan, 10 bệnh ung thư phổi, 11 bệnh ung thư buồng trứng) (từ trái sang phải)

Fig.1C - Peptit: LLDPKTIFL (A*02:01)

Peptit được phát hiện trên
1 dòng tế bào ung thư thận, 0 mẫu mô bình thường, 13 mẫu mô ung thư (8 bệnh ung thư thận, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư trực tràng) (từ trái sang phải)

Fig.1D - Peptit: RLHDENILL (A*02:01)



Peptit được phát hiện trên
1 dòng tế bào ung thư thận, 1 dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt, 1 dòng tế bào u melanin, 0 mẫu mô bình thường, 50 mẫu mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư ruột kết, 2 bệnh ung thư thực quản, 3 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư gan, 23 bệnh ung thư phổi, 7 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư tụy, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1E

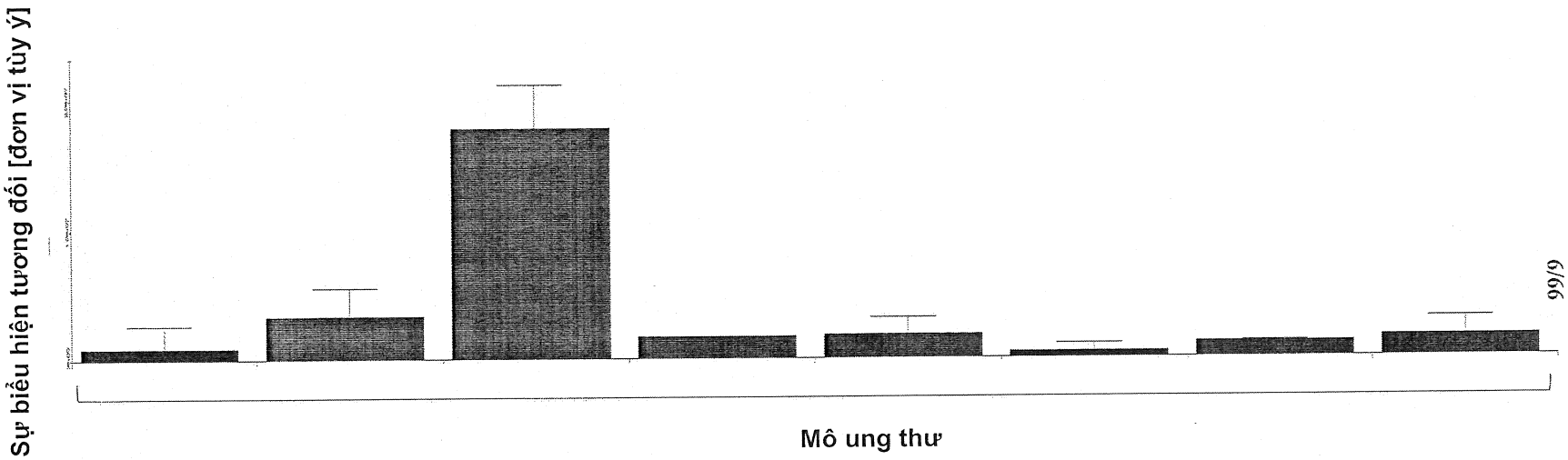
Peptit: SVLEKEIYSI (A*02:01)

SEQ ID: 2

Peptit được phát hiện trên
4 dòng tế bào (3 tế bào máu, 1 tụy), 2 các mô bình thường (1 hạch bạch huyết, 1 khí quản), 52 mô ung thư (2 ung thư ống mật chủ, 1 ung thư tế bào tủy, 3 bệnh ung thư bạch cầu, 5 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư dạ dày và thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 4 bệnh ung thư ruột kết, 7 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 7 bệnh ung thư buồng trứng, 4 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 4 bệnh ung thư da, 2 bệnh ung thư bàng quang, 4 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1F

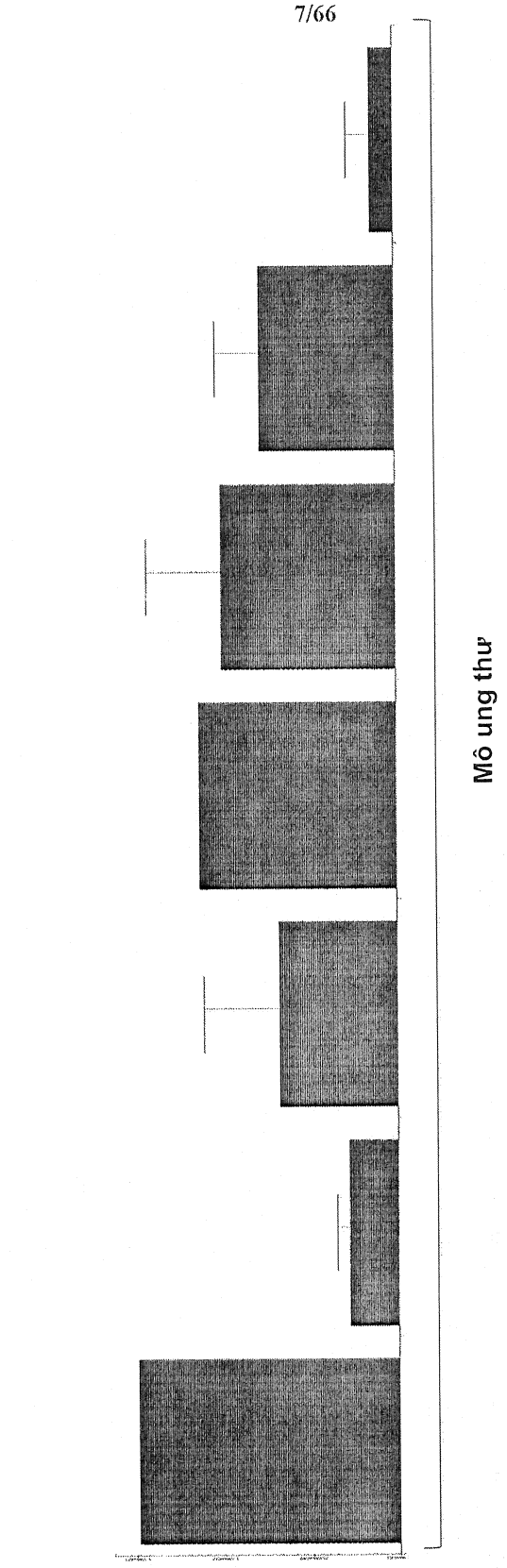
Peptit: KIWEELSVLEV (A*02:01)
SEQ ID: 40



Peptit được phát hiện trên
8 mô ung thư (1 bệnh ung thư gan, 3 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư da, 1 bệnh ung thư dạ dày, 1 bệnh ung thư bàng quang) (từ trái sang phải)

Fig.1G

Peptit: FLIENLLAA (A*02:01)
SEQ ID: 67

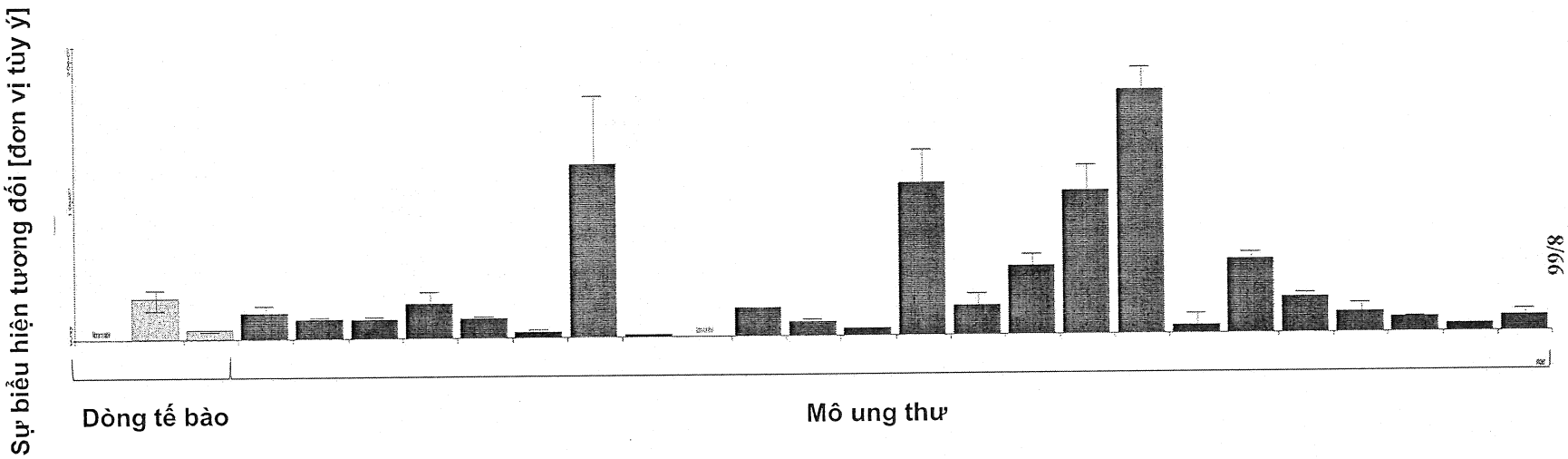


Peptit được phát hiện trên
7 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1H

Peptit: FLLEREQLL (A*02:01)

SEQ ID: 84

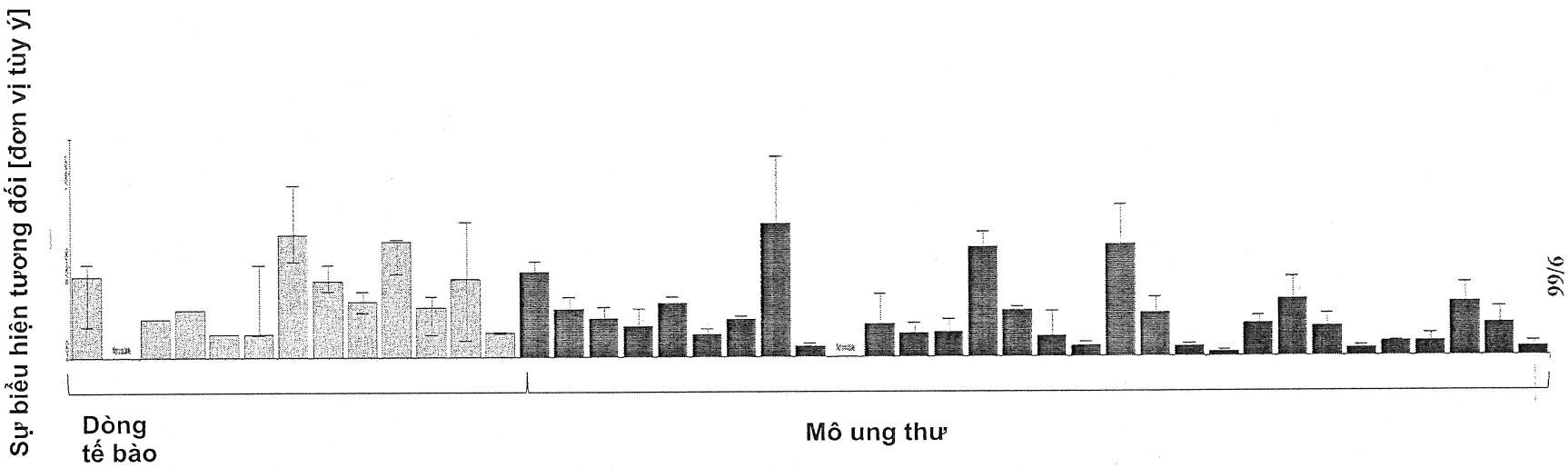


Peptit được phát hiện trên
3 dòng tế bào (2 tế bào máu, 1 da), 24 mô ung thư (1 ung thư tế bào tủy, 3 bệnh ung thư bạch cầu, 1 bệnh ung thư tủy xương, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thận, 2 bệnh ung thư ruột kết, 3 bệnh ung thư trực tràng, 1 bệnh ung thư phổi 7 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 3 bệnh ung thư bàng quang, 1 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1l

Peptit: SLLNQPKAV (A*02:01)

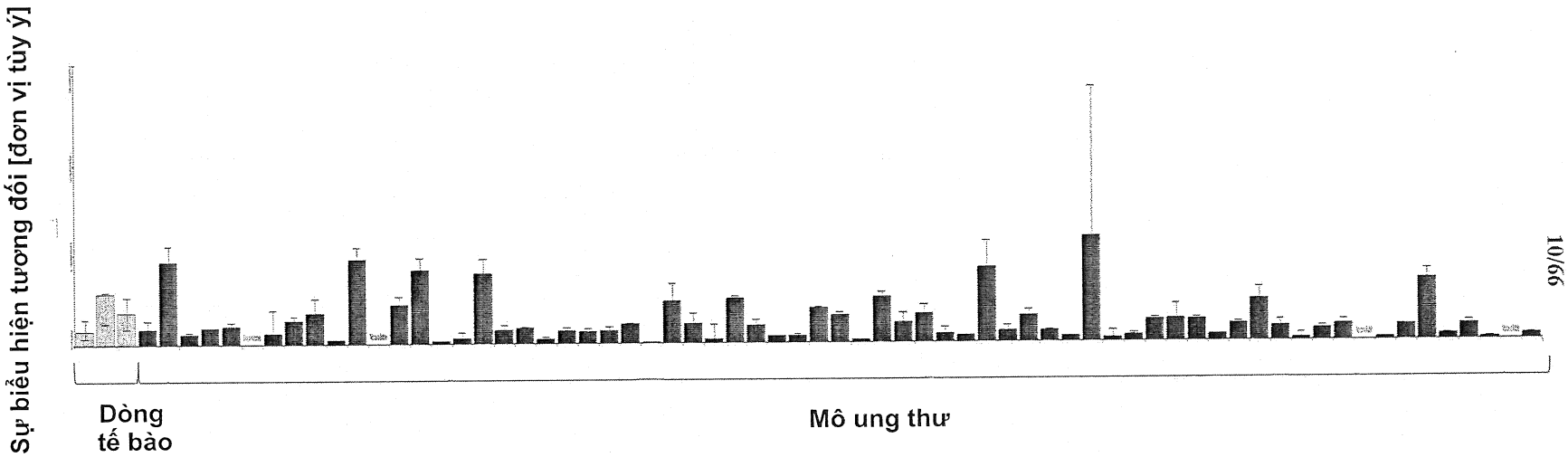
SEQ ID: 235



Peptit được phát hiện trên
13 dòng tế bào (3 tế bào máu, 2 thận, 8 tụy), 30 mô ung thư (1 ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư bạch cầu, 2 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư vú, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư trực tràng, 2 bệnh ung thư gan, 4 bệnh ung thư phổi, 5 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư da, 4 bệnh ung thư bàng quang, 1 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1J

Peptit: GLAEFQENV (A*02:01)
SEQ ID: 243



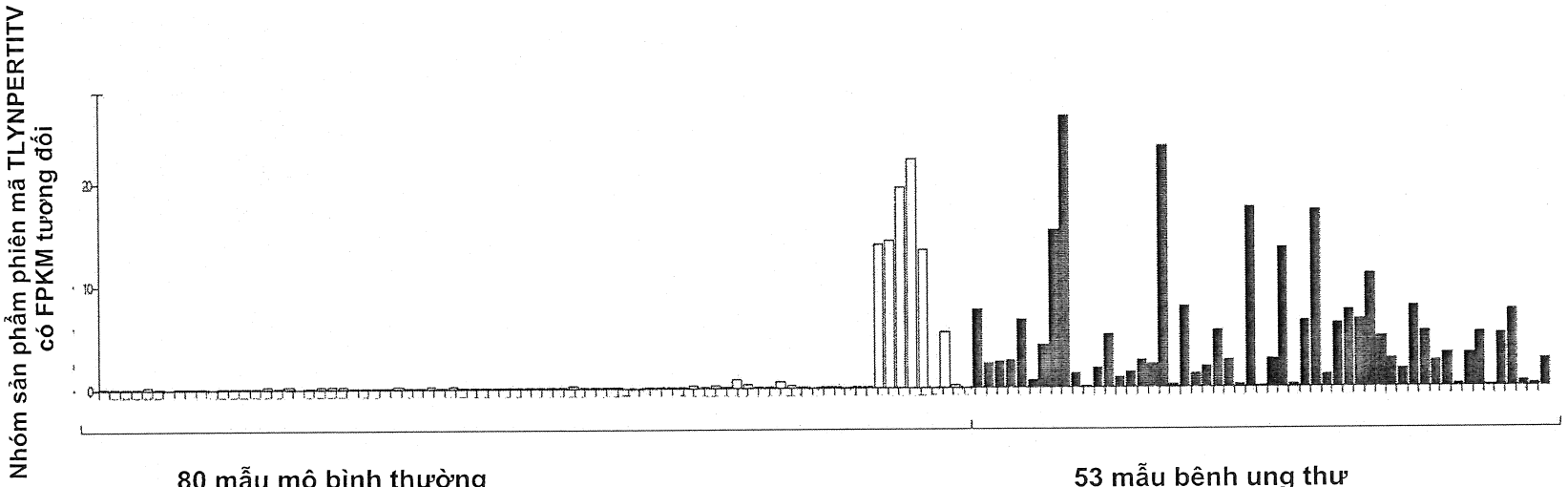
Peptit được phát hiện trên
3 dòng tế bào (1 tế bào máu, 1 thận, 1 tụy), 67 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 4 bệnh ung thư bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 2 bệnh ung thư não, 3 bệnh ung thư vú, 4 bệnh ung thư thực quản, 2 bệnh ung thư túi mật, 2 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 2 bệnh ung thư gan, 15 bệnh ung thư phổi, 8 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 9 bệnh ung thư buồng trứng, 3 bệnh ung thư da, 4 bệnh ung thư bàng quang, 6 bệnh ung thư tử cung)
(từ trái sang phải)

Fig.2H

(Các) gen: IGF2BP1, IGF2BP3

Peptit: TLYNPERTITV

SEQ ID: 274



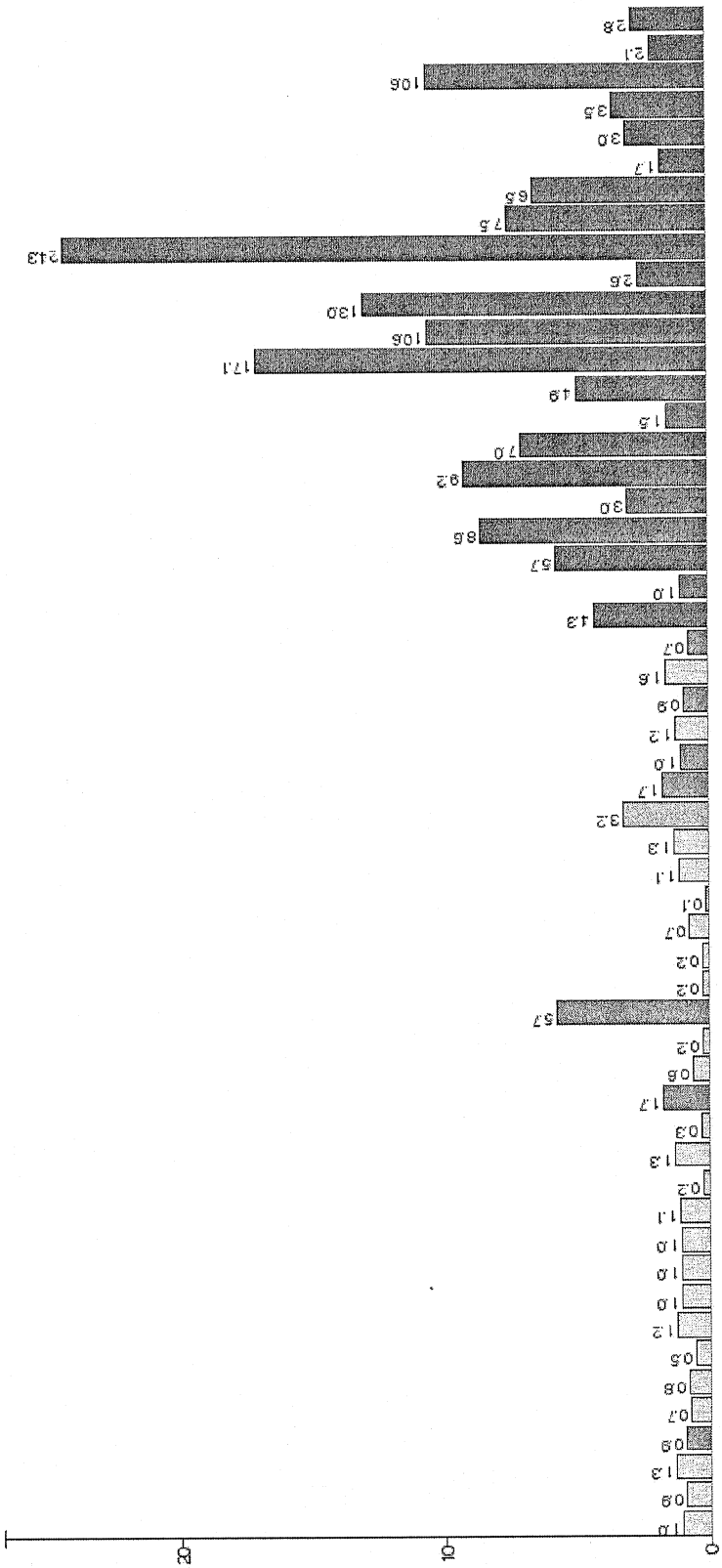


Fig.2A Gen: PRIM2

Fig.2B Gen: CHEK1

Fig.2C Gen: TTC30A

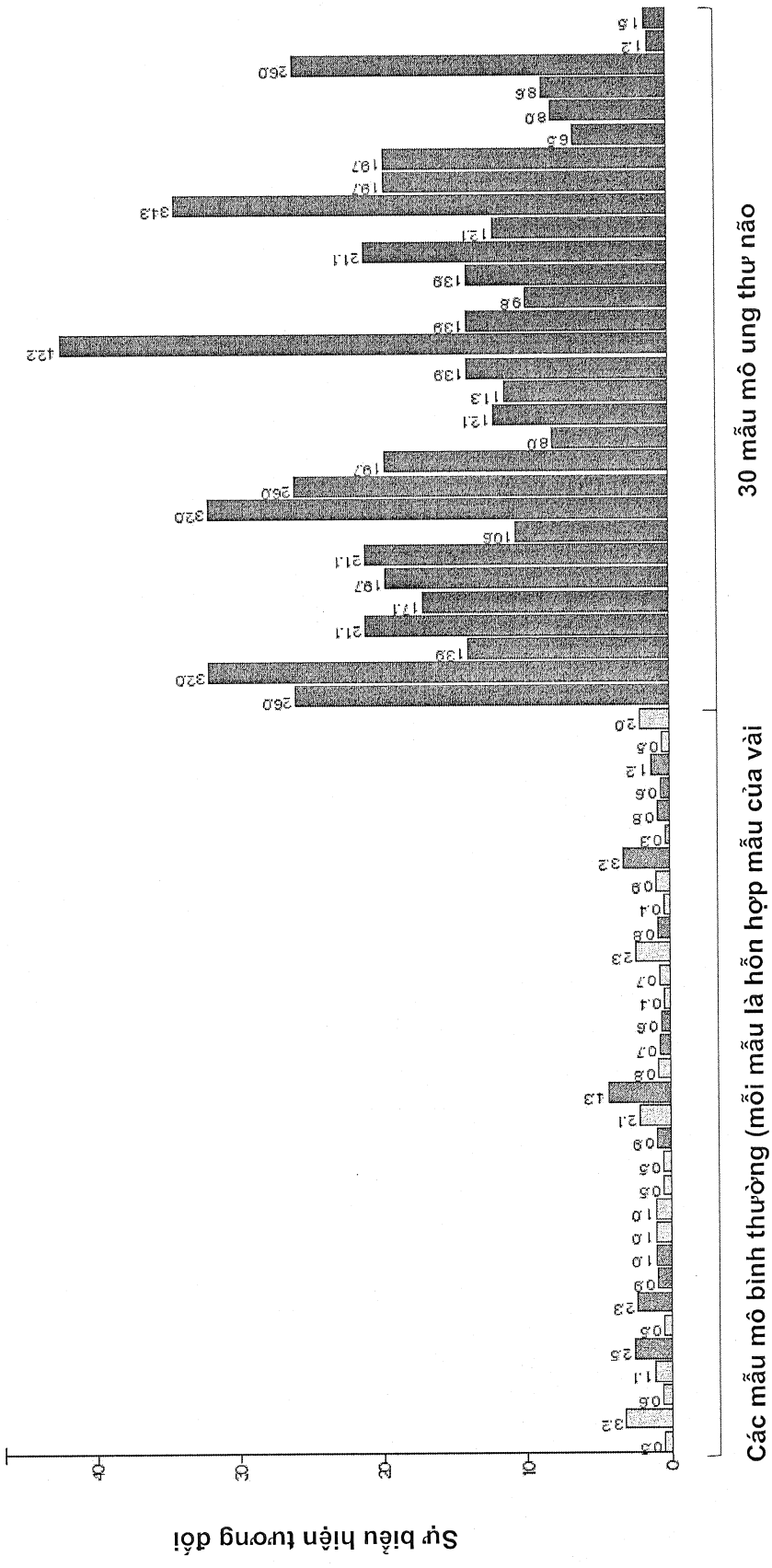
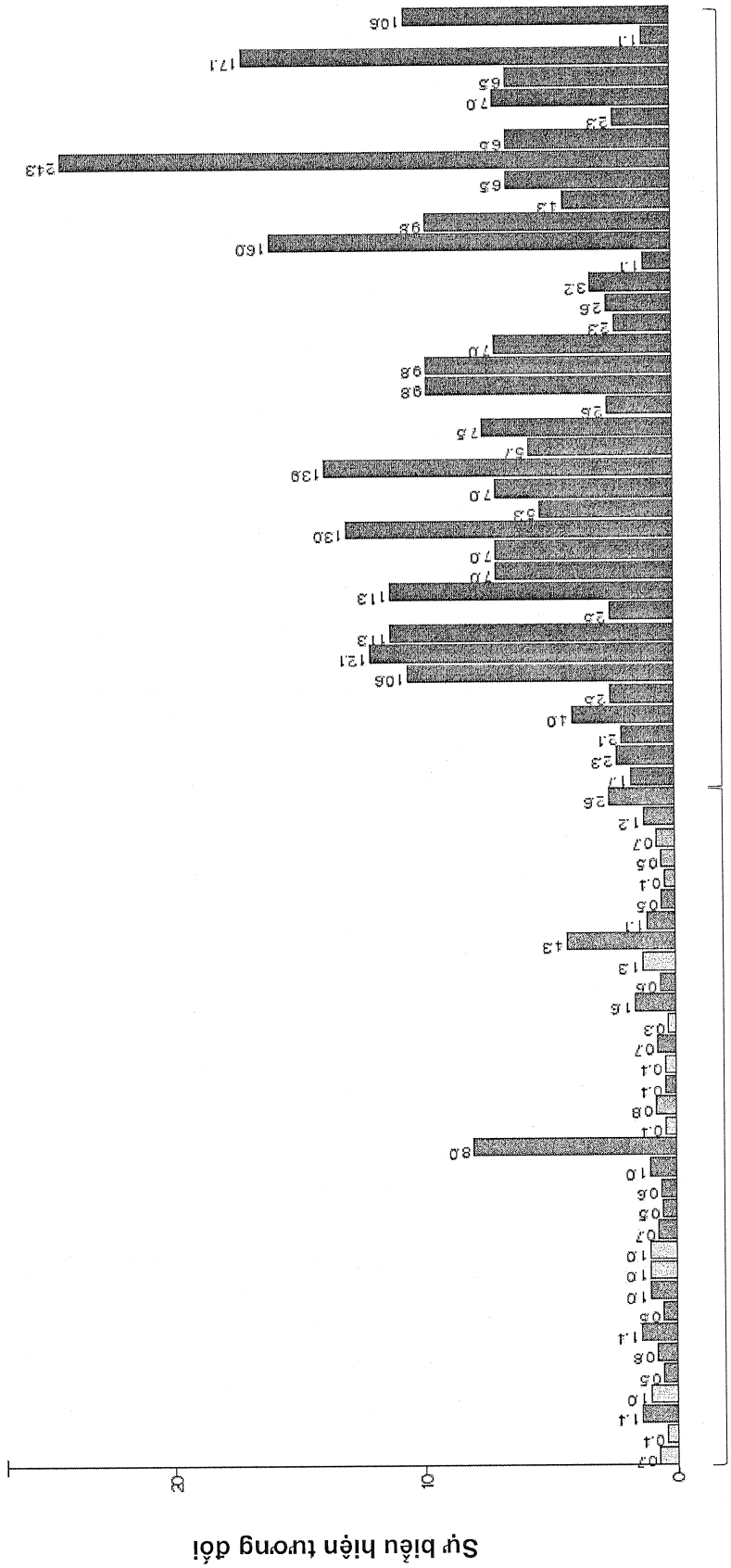


Fig.2D Gen: TRIP13



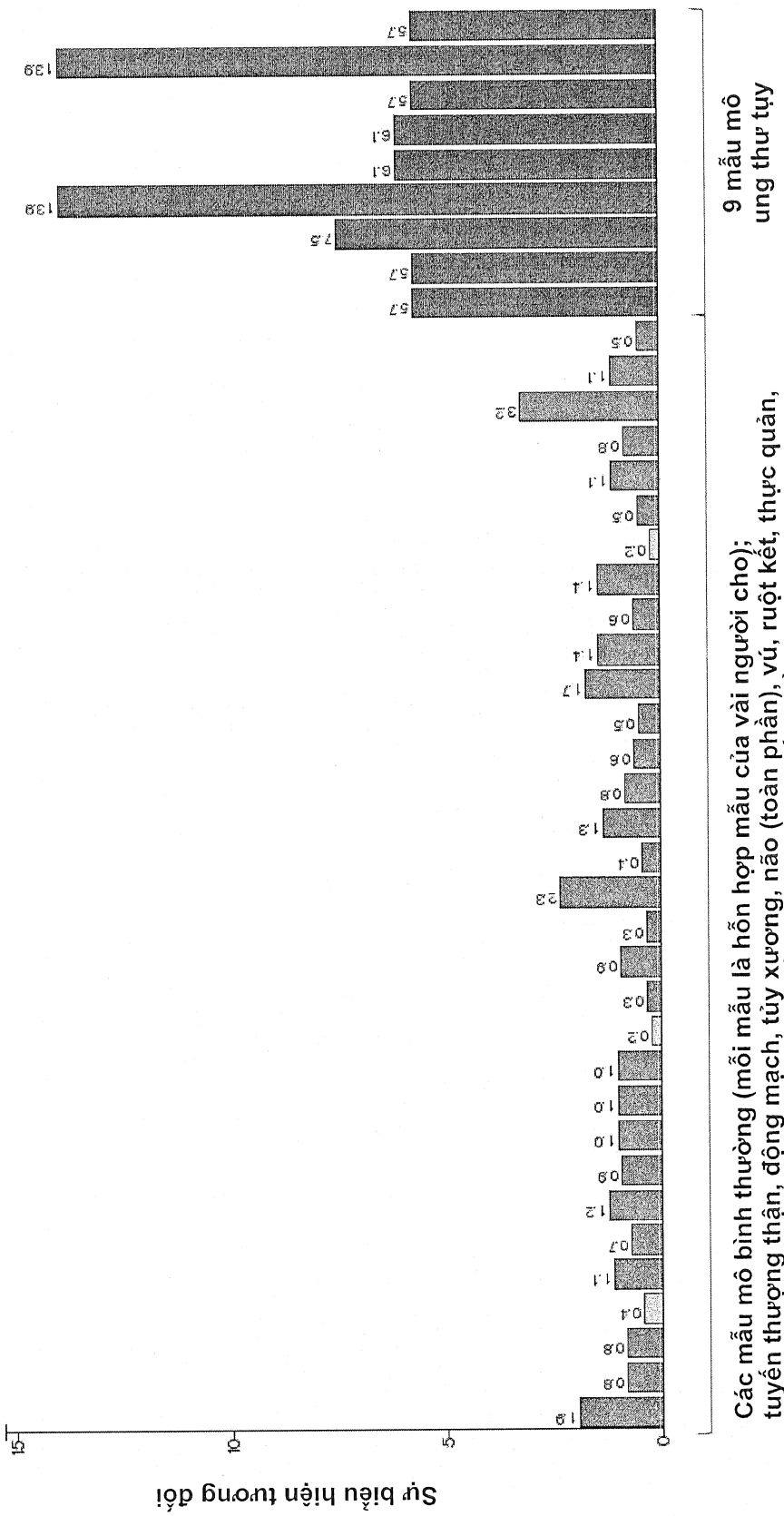


Fig.2E Gen: MXRA5

Fig.2F

(Các) gen: MMP11, MMP13

Peptit: KVWSDVTPL

SEQ ID: 24

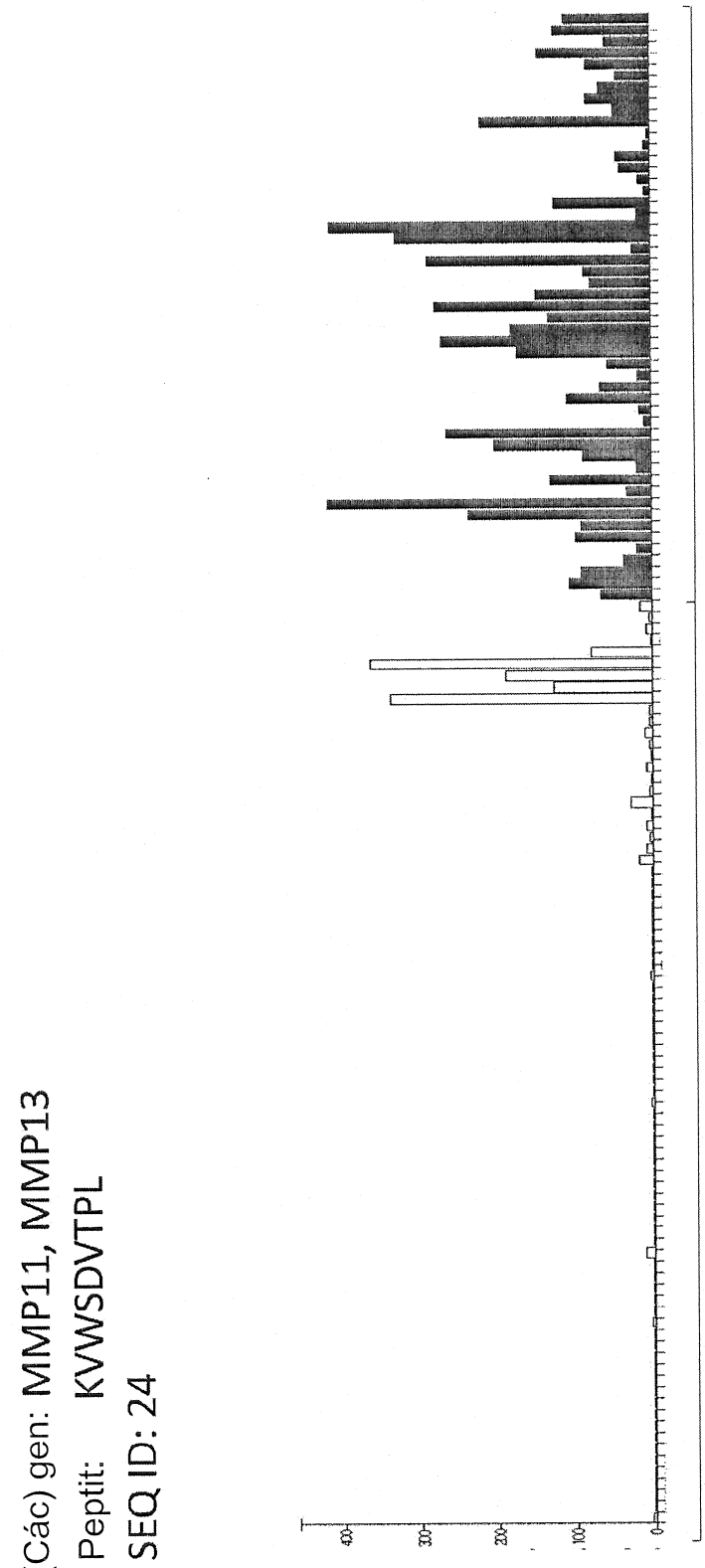


Fig.2G

Gen: HORMAD1

Peptit: VIFEGEPMYL

SEQ ID: 168

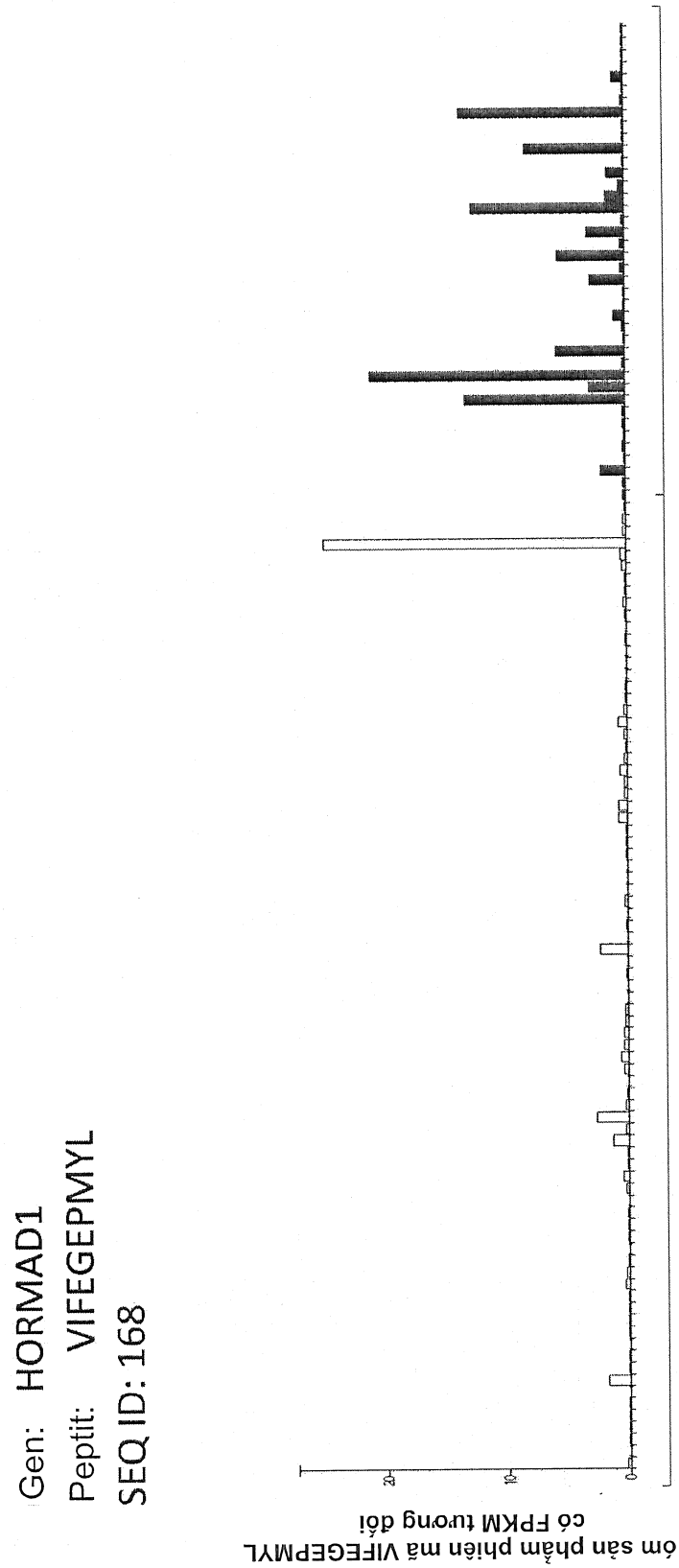


Fig.2H

(Các) gen: IGF2BP1, IGF2BP3

Peptit: TLYNPERTITV

SEQ ID: 274

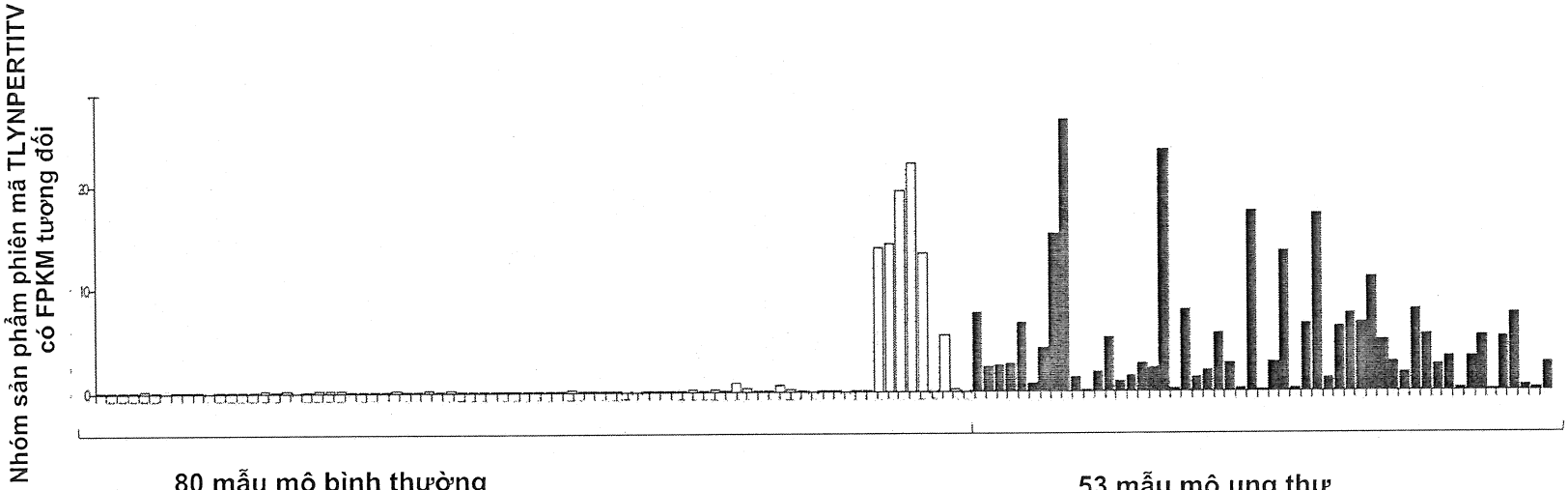


Fig.3

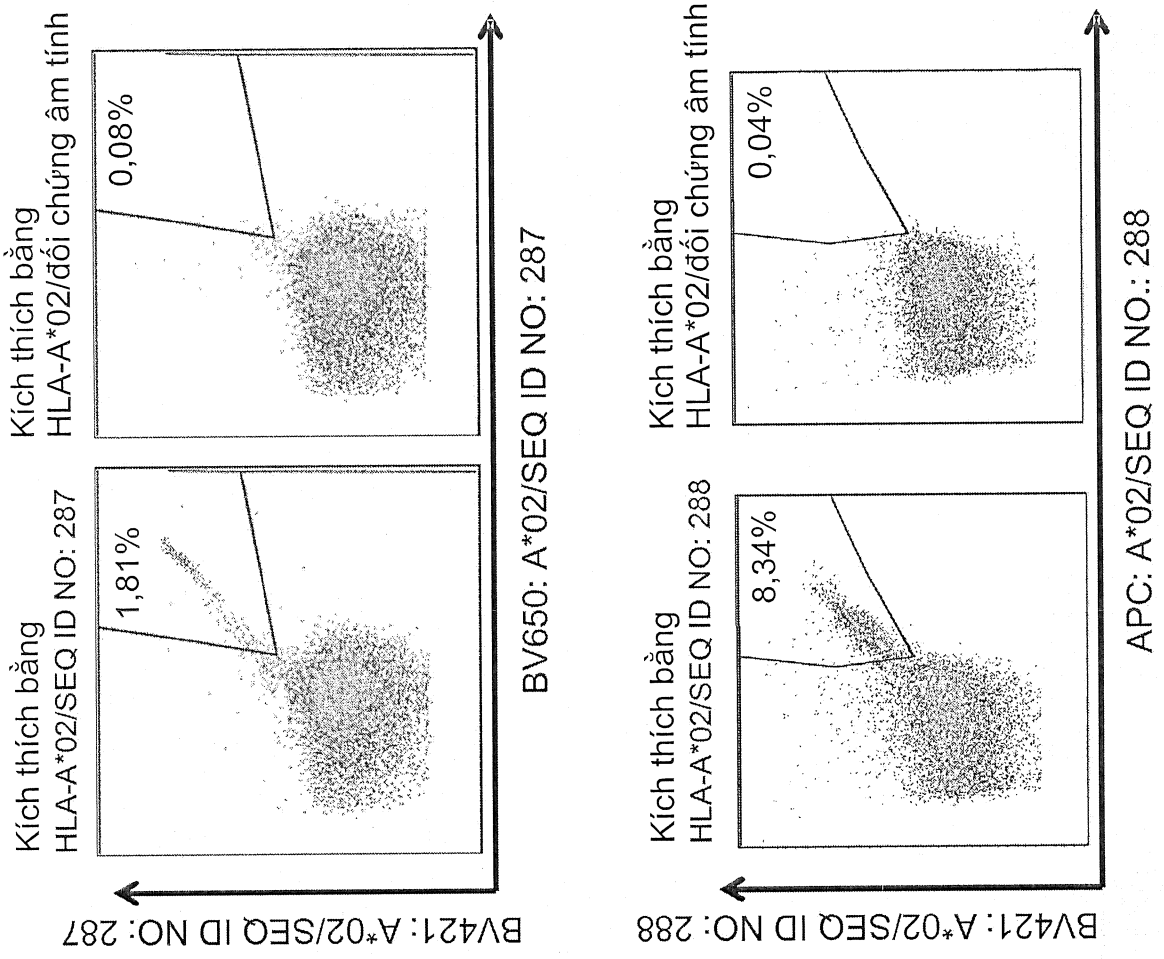
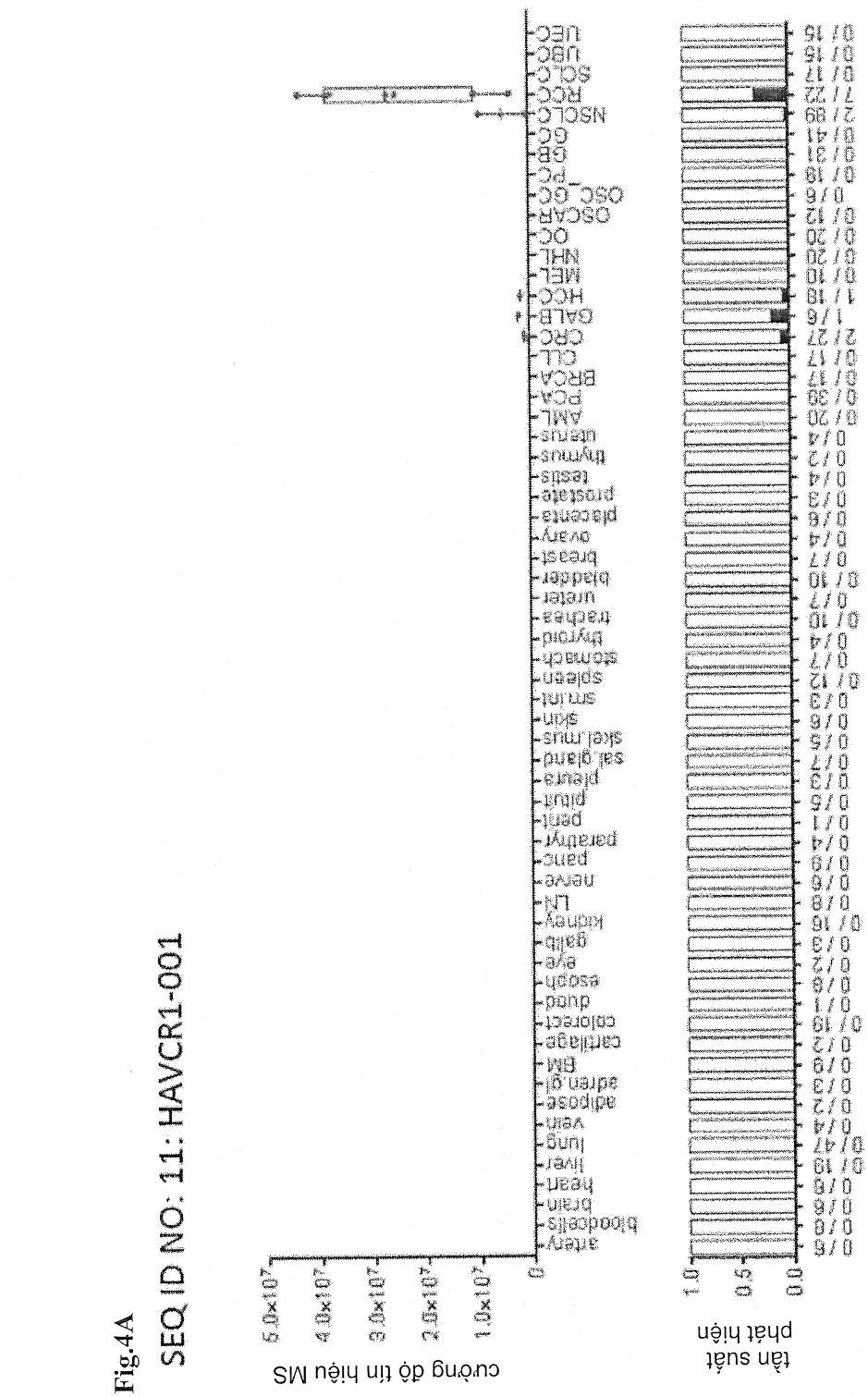

A
Kích thích bằng
HLA-A*02/SEQ ID NO: 287
1,81%
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
0,08%
BV421: A*02/SEQ ID NO: 287
BV650: A*02/SEQ ID NO: 287
B
Kích thích bằng
HLA-A*02/SEQ ID NO: 288
8,34%
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
0,04%
BV421: A*02/SEQ ID NO: 288
APC: A*02/SEQ ID NO.: 288

Fig.4A

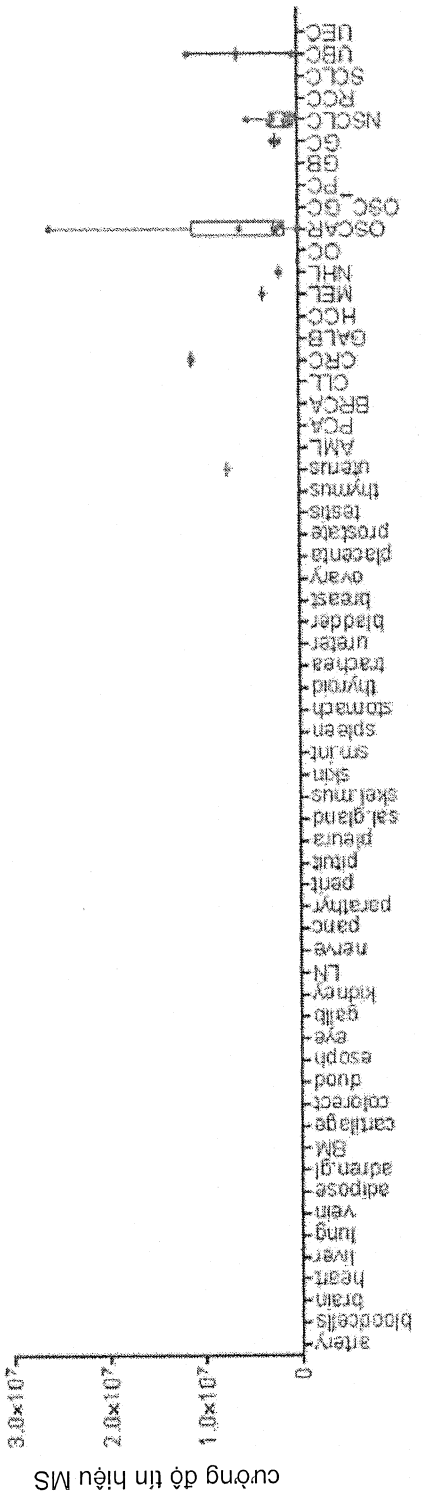
SEQ ID NO: 11: HAVCR1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4B

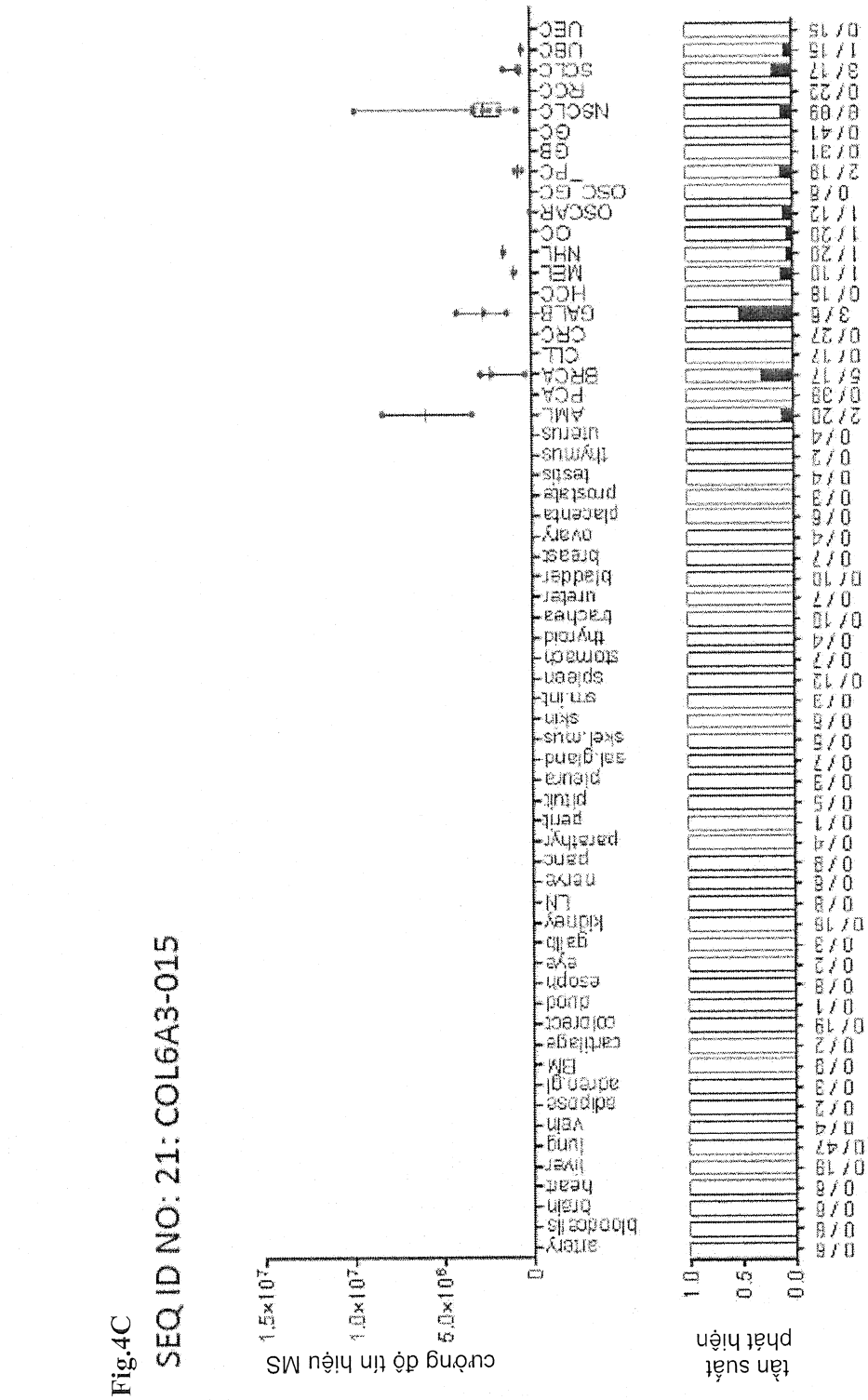
SEQ ID NO: 14; MMP1-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4C

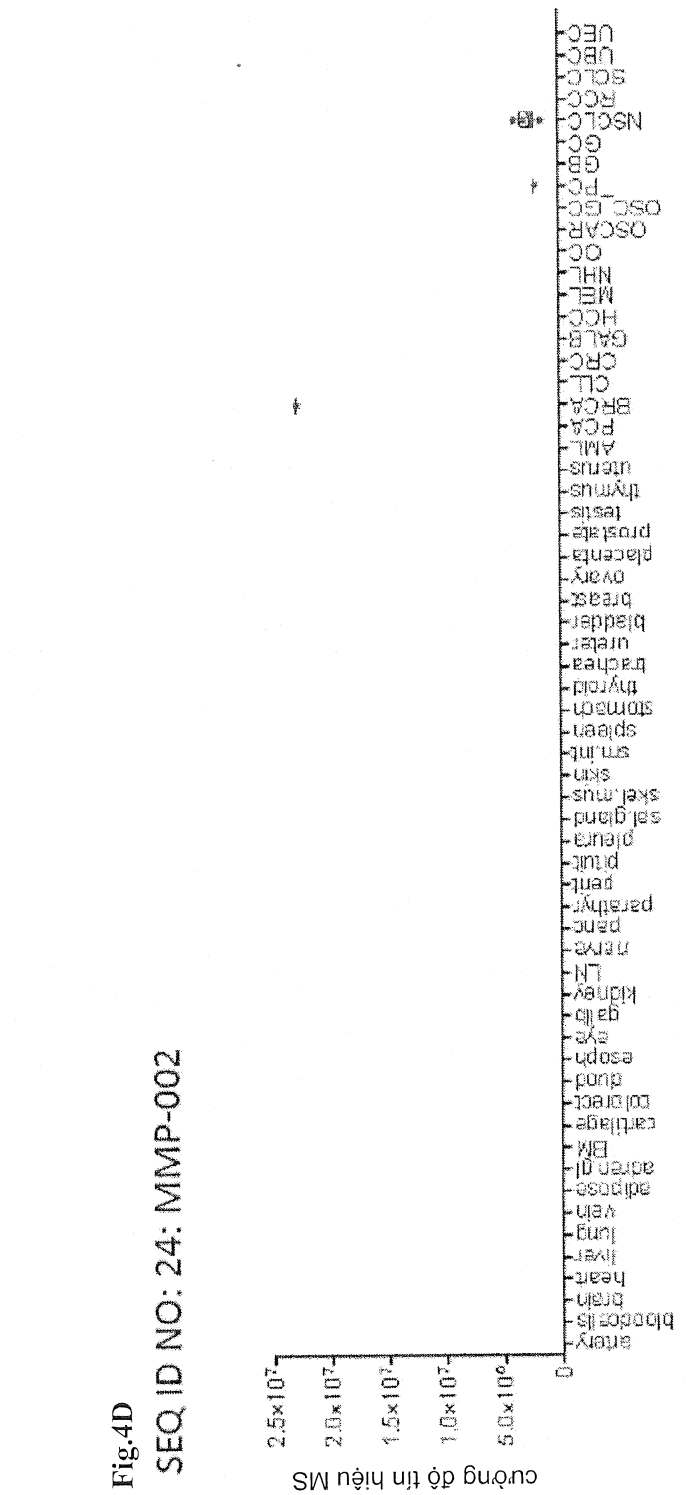
SEQ ID NO: 21: COL6A3-015



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4D

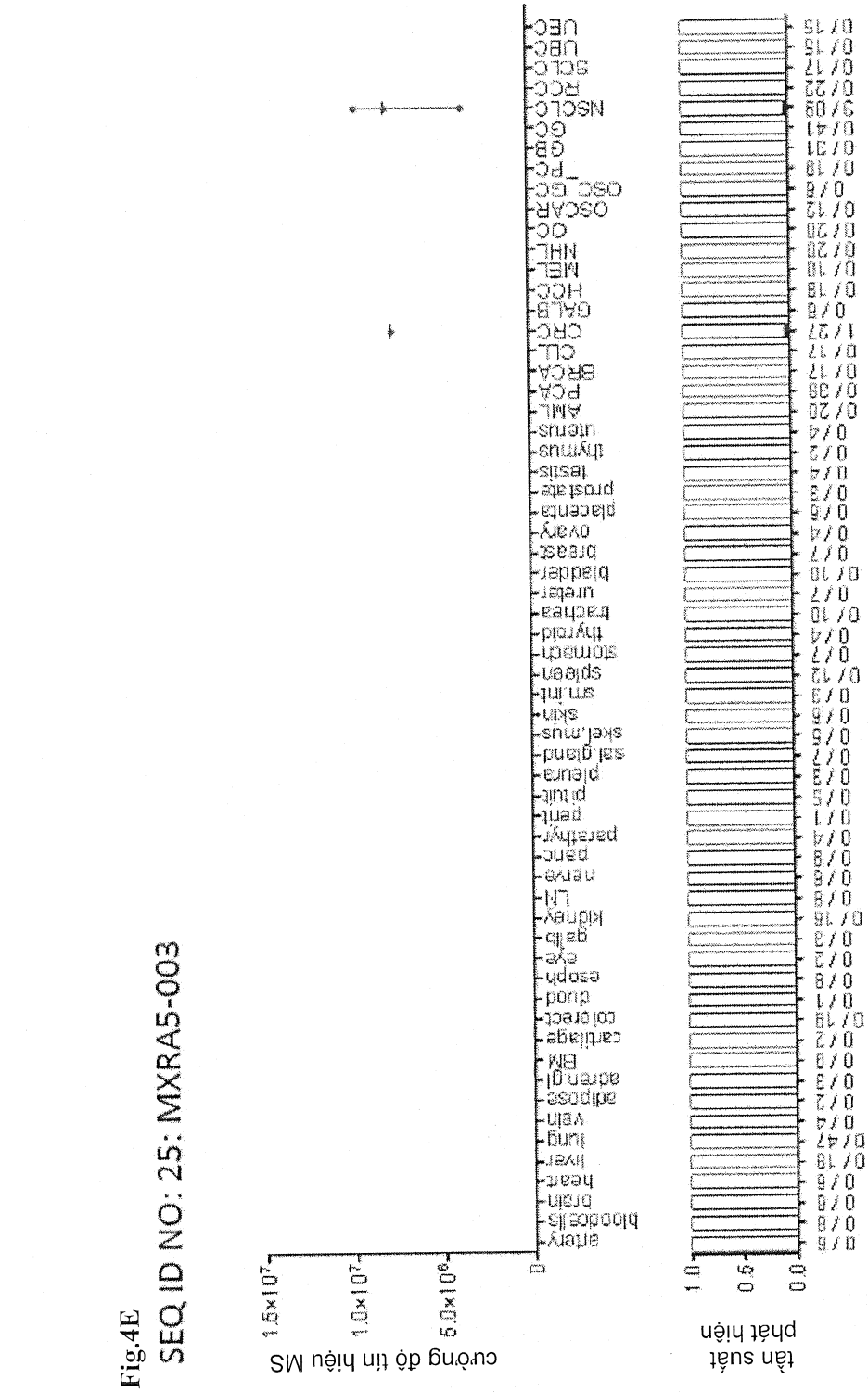
SEQ ID NO: 24: MMP-002



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4E

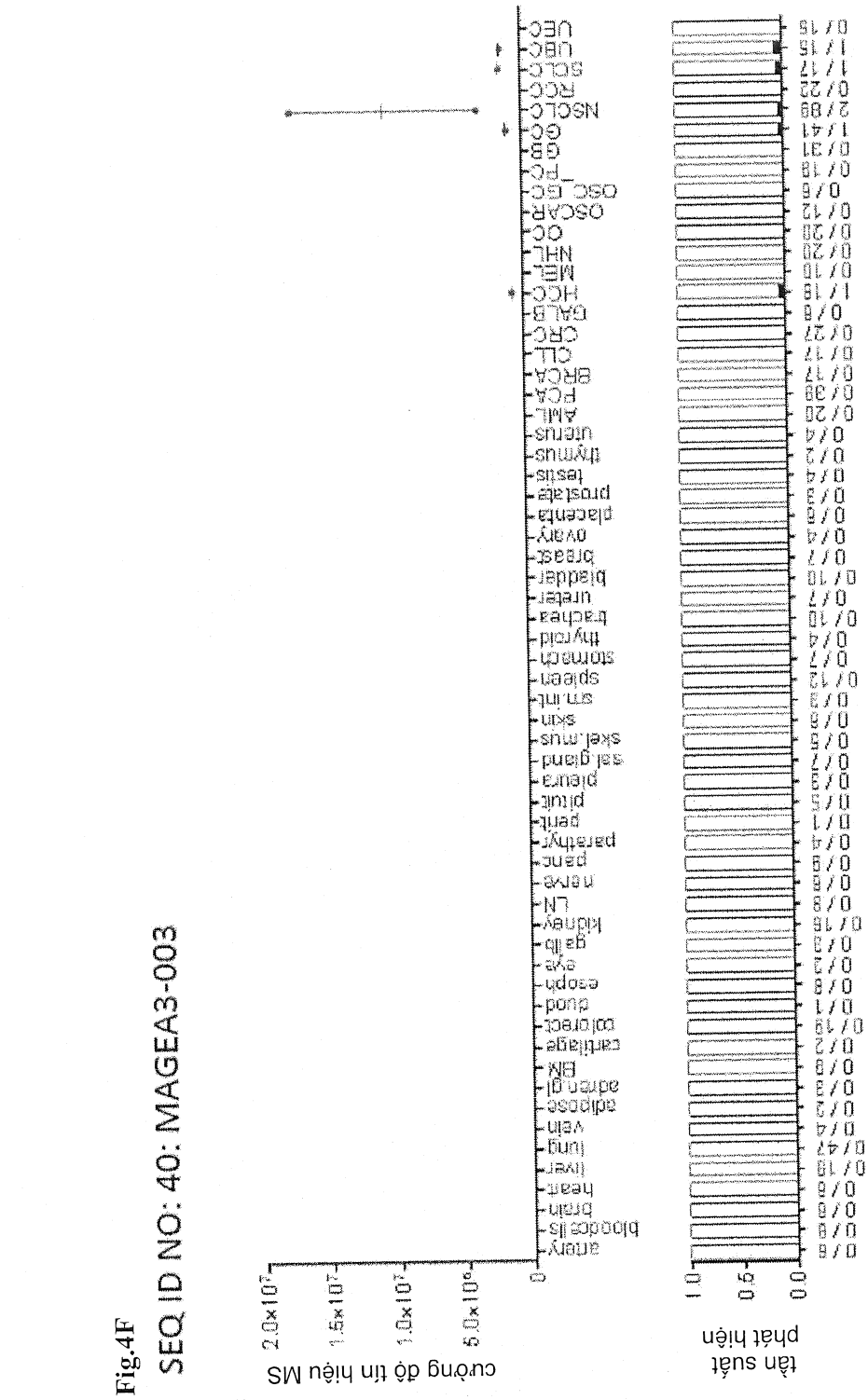
SEQ ID NO: 25: MXRA5-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4F

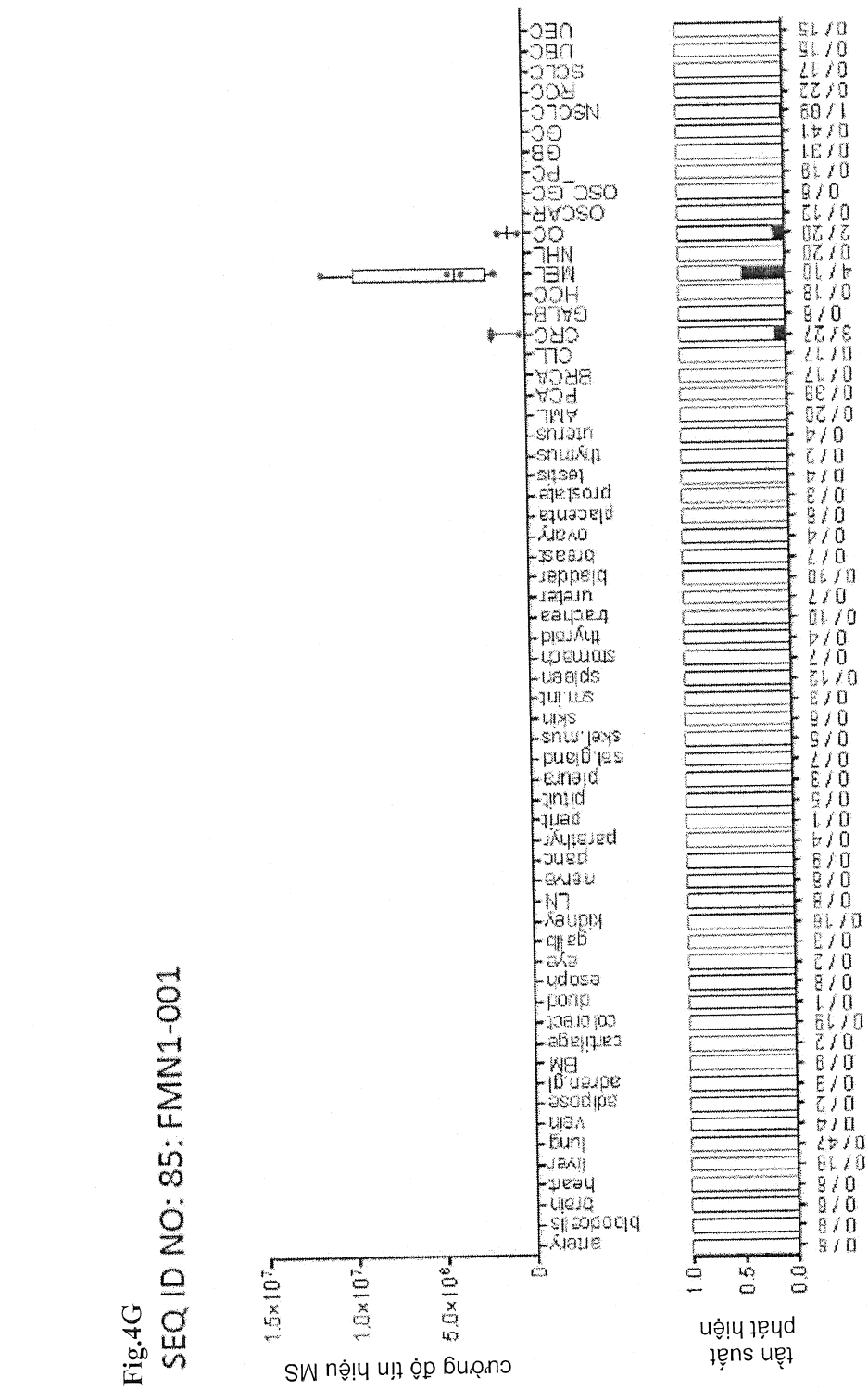
SEQ ID NO: 40: MAGEA3-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4G

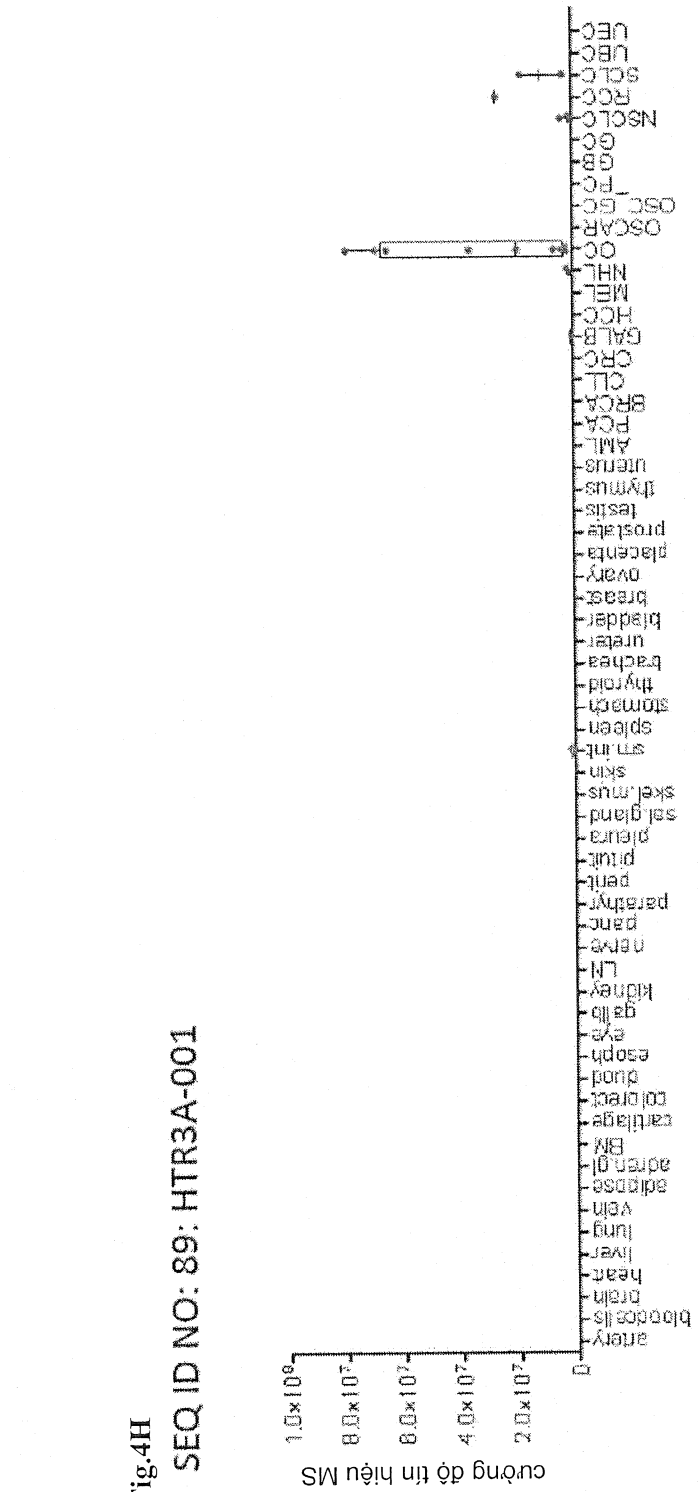
SEQ ID NO: 85: FMN1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư cung và màng trong tử cung

Fig.4H

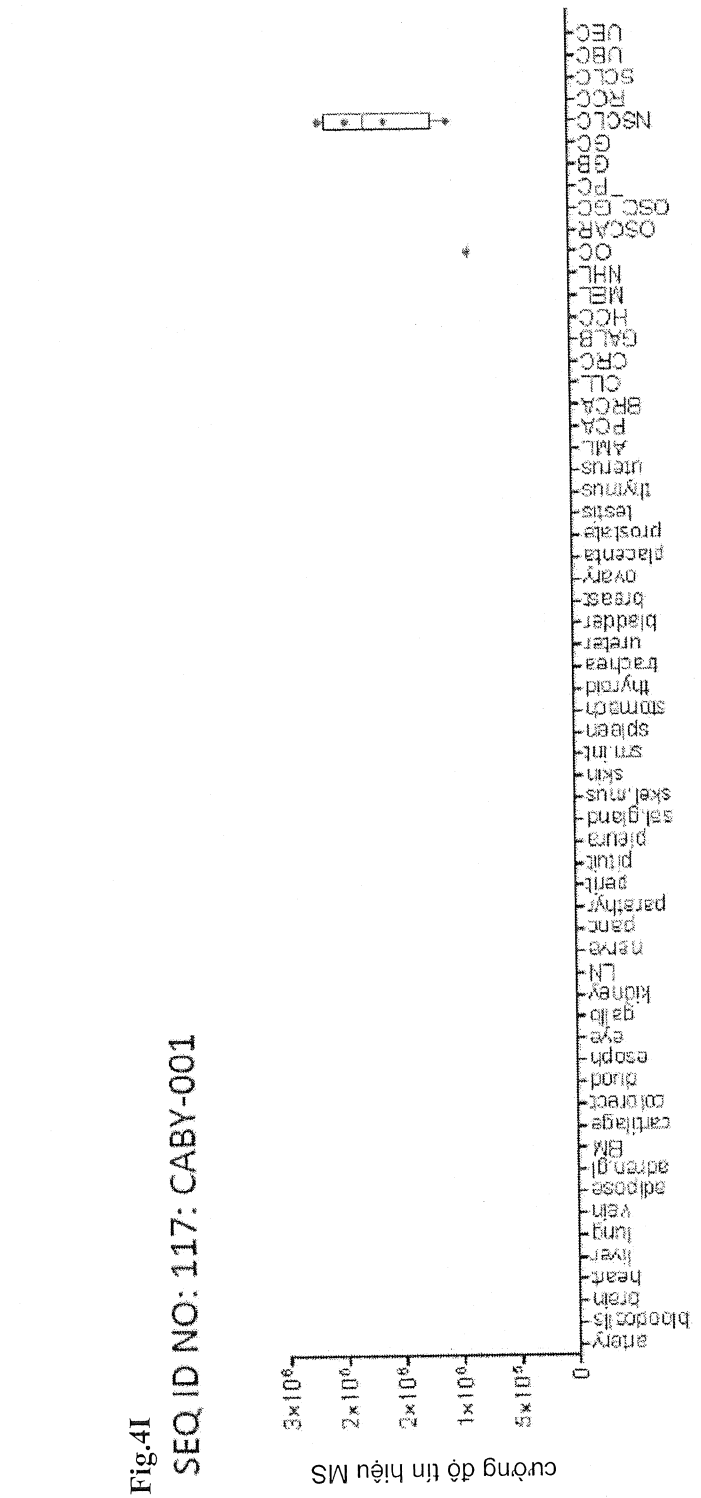
SEQ ID NO: 89: HTR3A-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4I

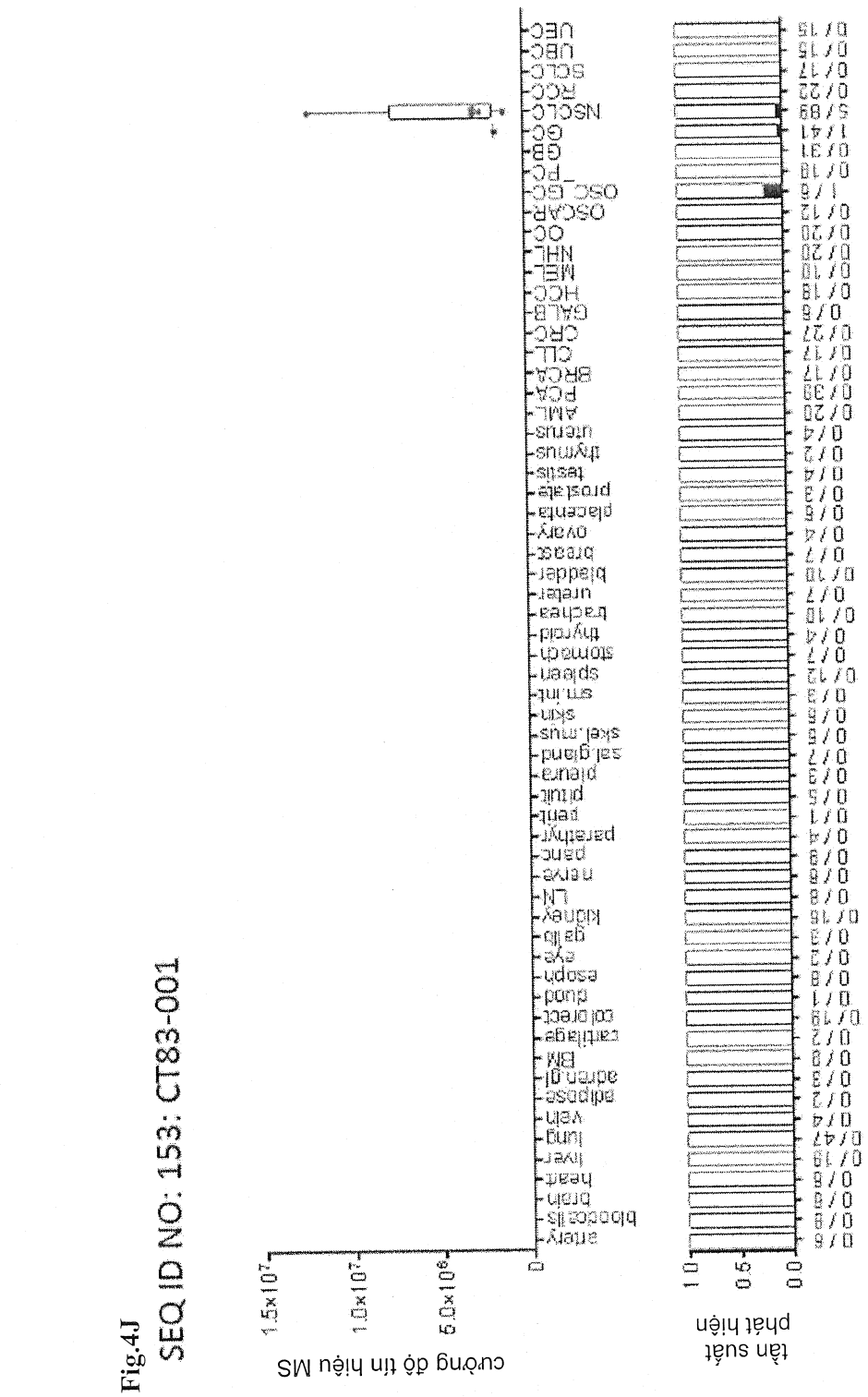
SEQ ID NO: 117: CABY-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4J

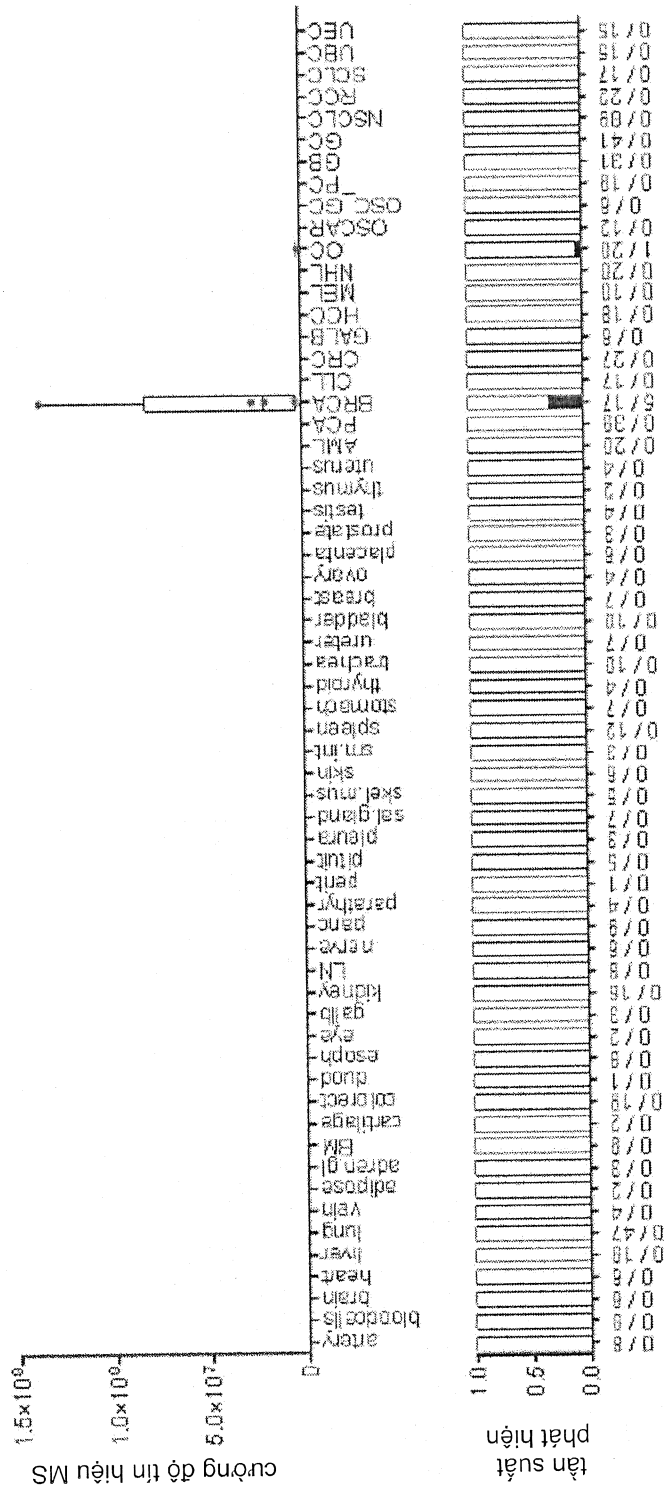
SEQ ID NO: 153: CT83-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4K

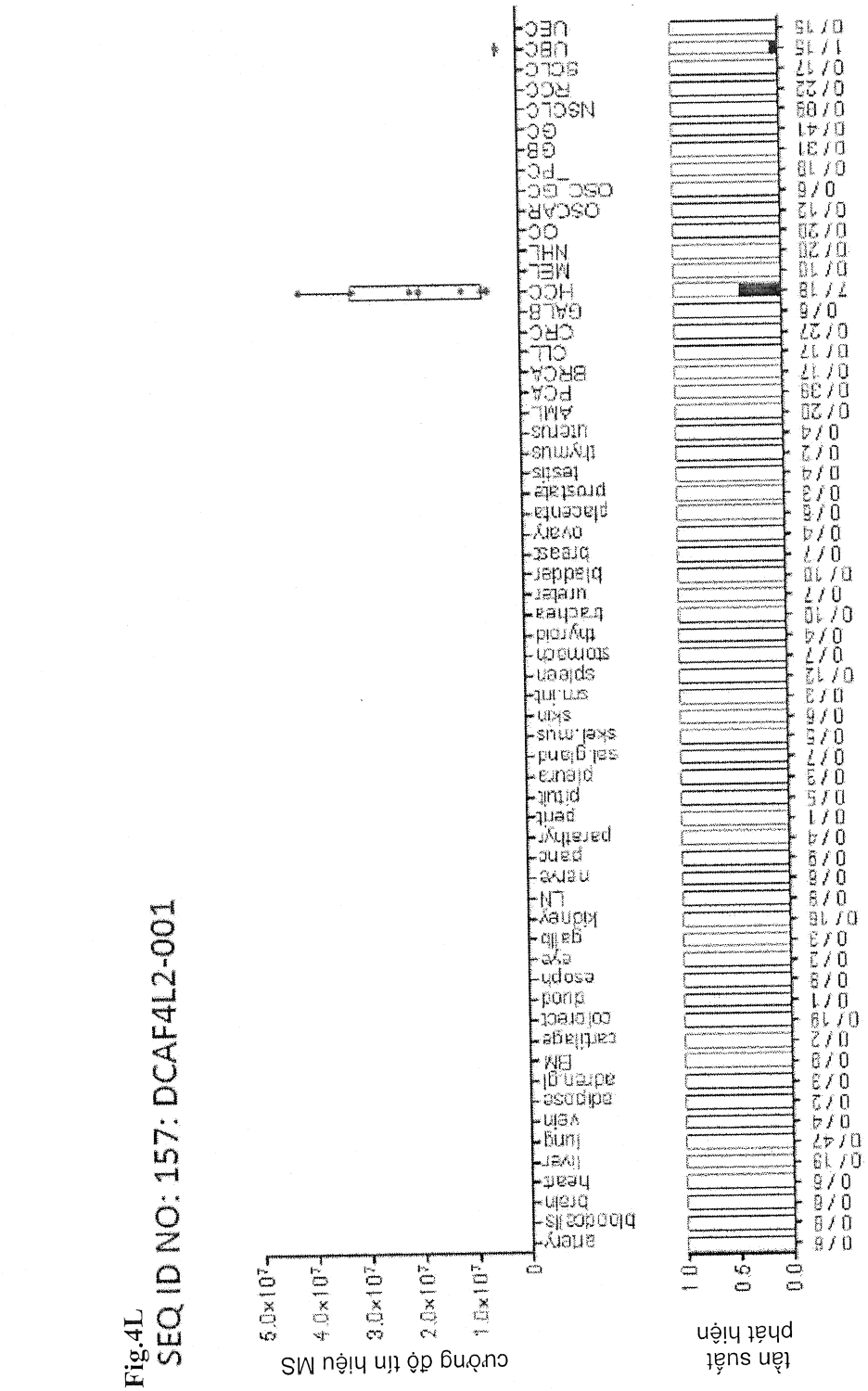
SEQ ID NO: 155: CYP4Z-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư từ cung và màng trong tử cung

Fig.4L

SEQ ID NO: 157: DCAF4L2-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4M

SEQ ID NO: 168: HORMAD1-001

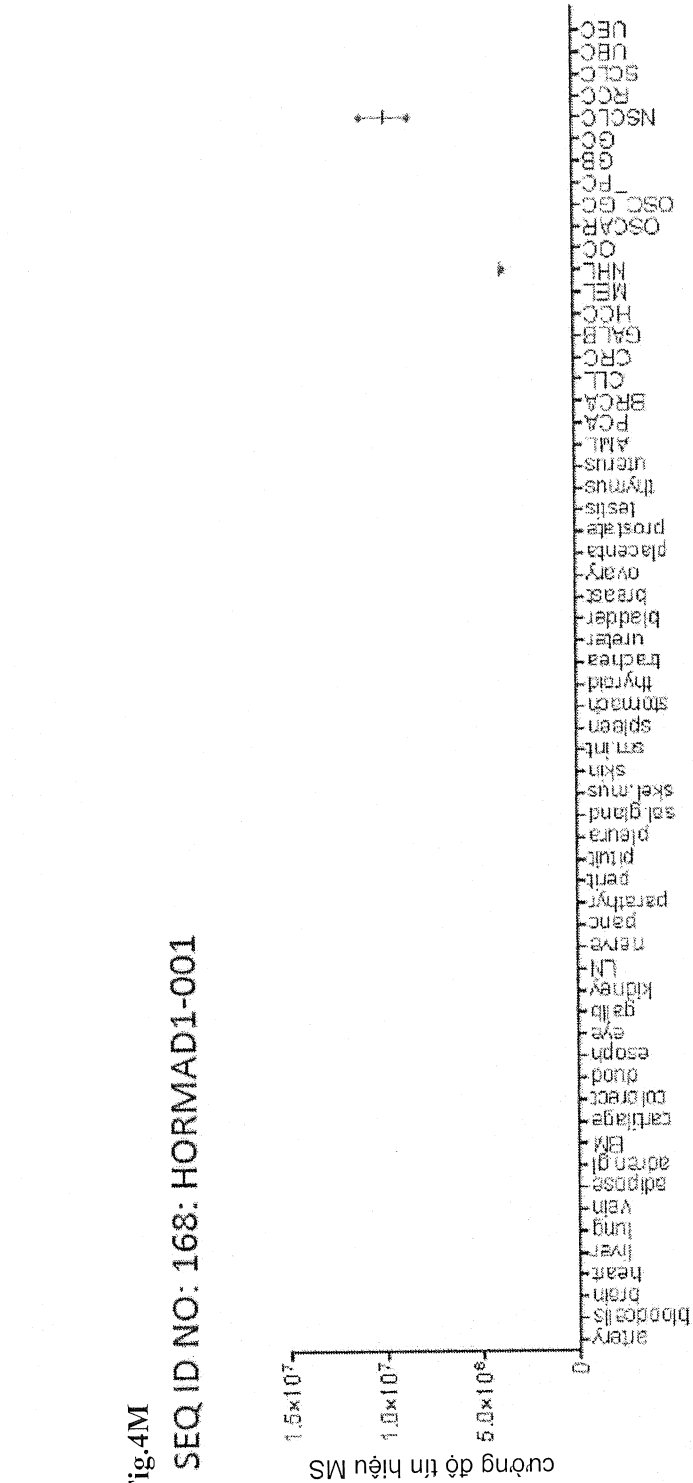
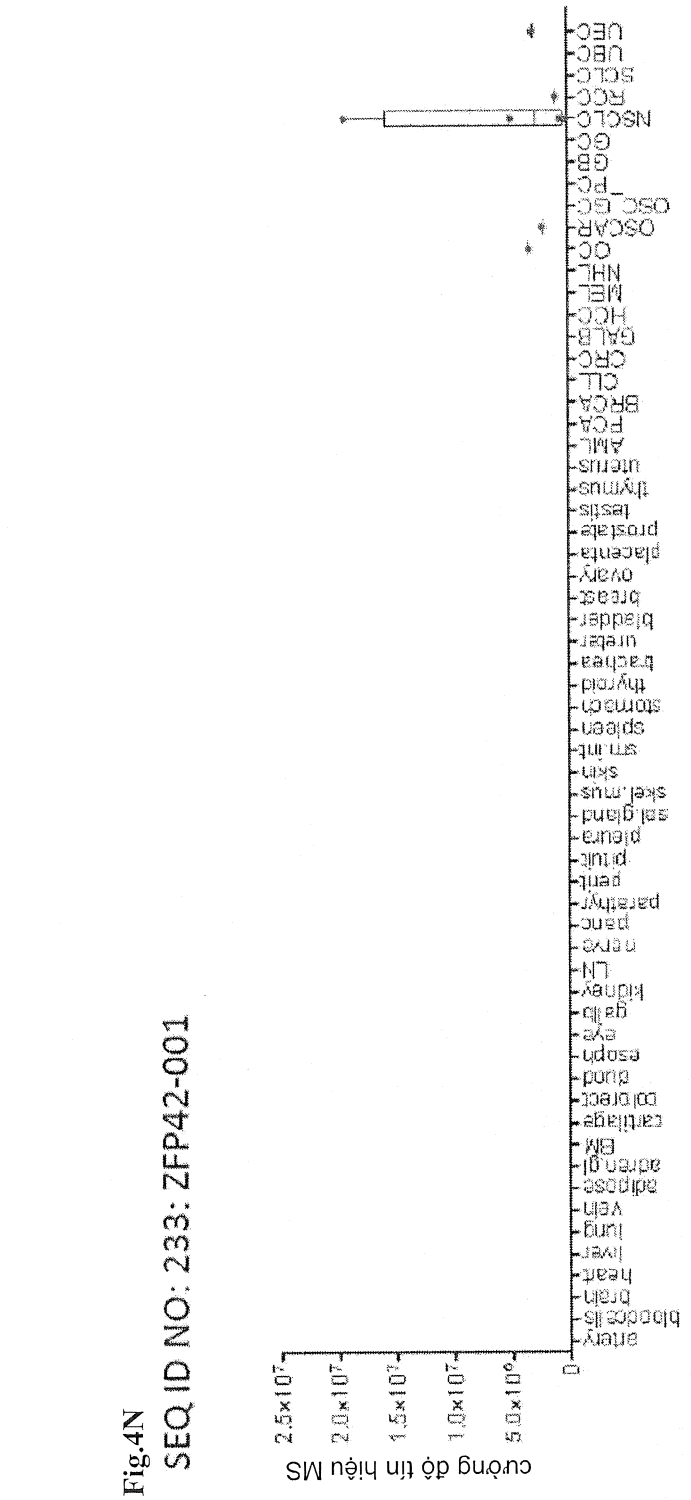

cường độ tín hiệu MS
1.5×10^7
1.0×10^7
5.0×10^6
0
artery
bloodcells
brain
heart
liver
lung
vein
adipose
adren.gl
BM
cartilage
colorect
duod
esoph
eye
gallb
kidney
LN
nerve
panc
parathyr
perit
pituit
pleura
sal.gland
skel.mus
skin
sm.int
spleen
stomach
thyroid
trachea
ureter
bladder
breast
ovary
placenta
prostate
testis
thymus
uterus
AML
PCA
BRCA
CLL
CRC
GALB
HCC
MEL
NHL
OC
OSCAR
OSC_GC
GB
GC
NSCLC
RCC
SCLC
UBC
UEC
tần suất phát hiện
1.0
0.5
0.0
0/6
0/6
0/6
0/47
0/6
0/6
0/6
0/6
0/4
0/6
0/6
0/6
0/6

Fig.4N

SEQ ID NO: 233: ZFP42-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4O

SEQ ID NO: 245: MAGEA4-003

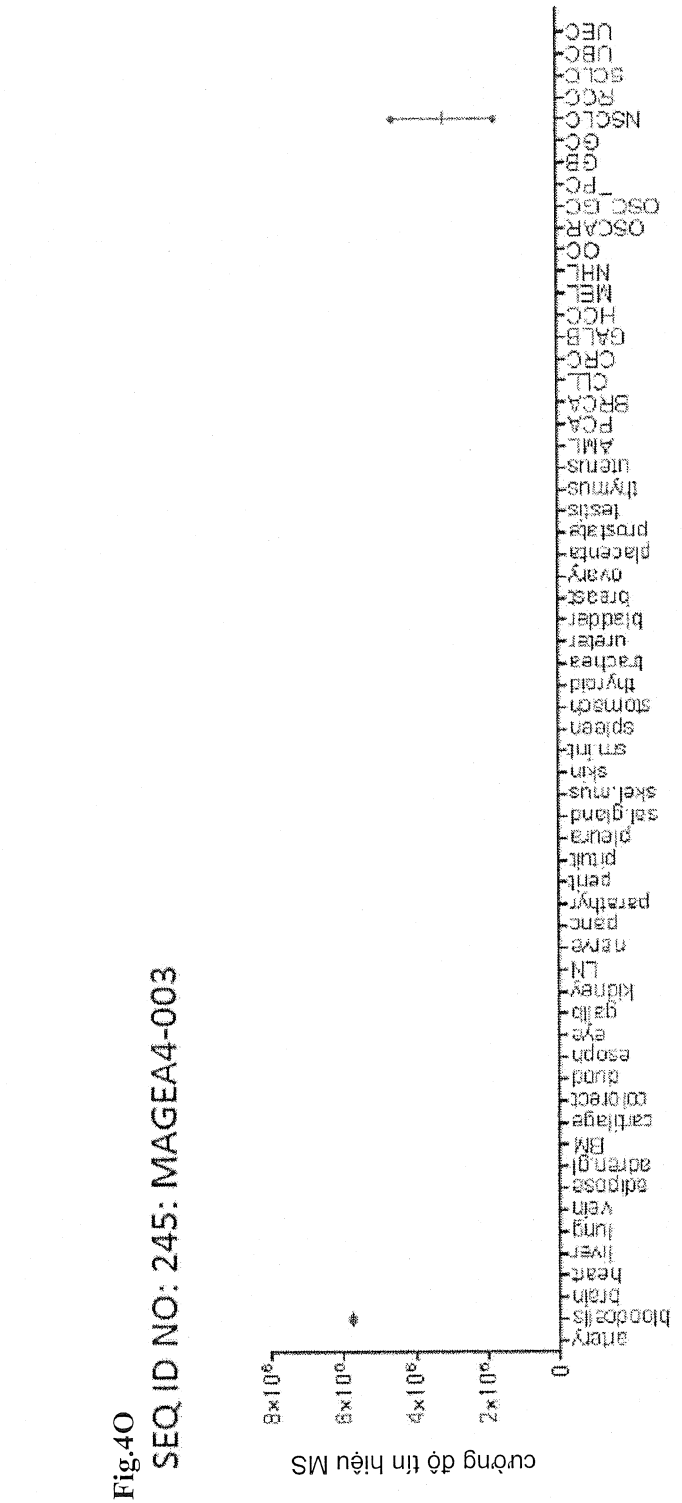
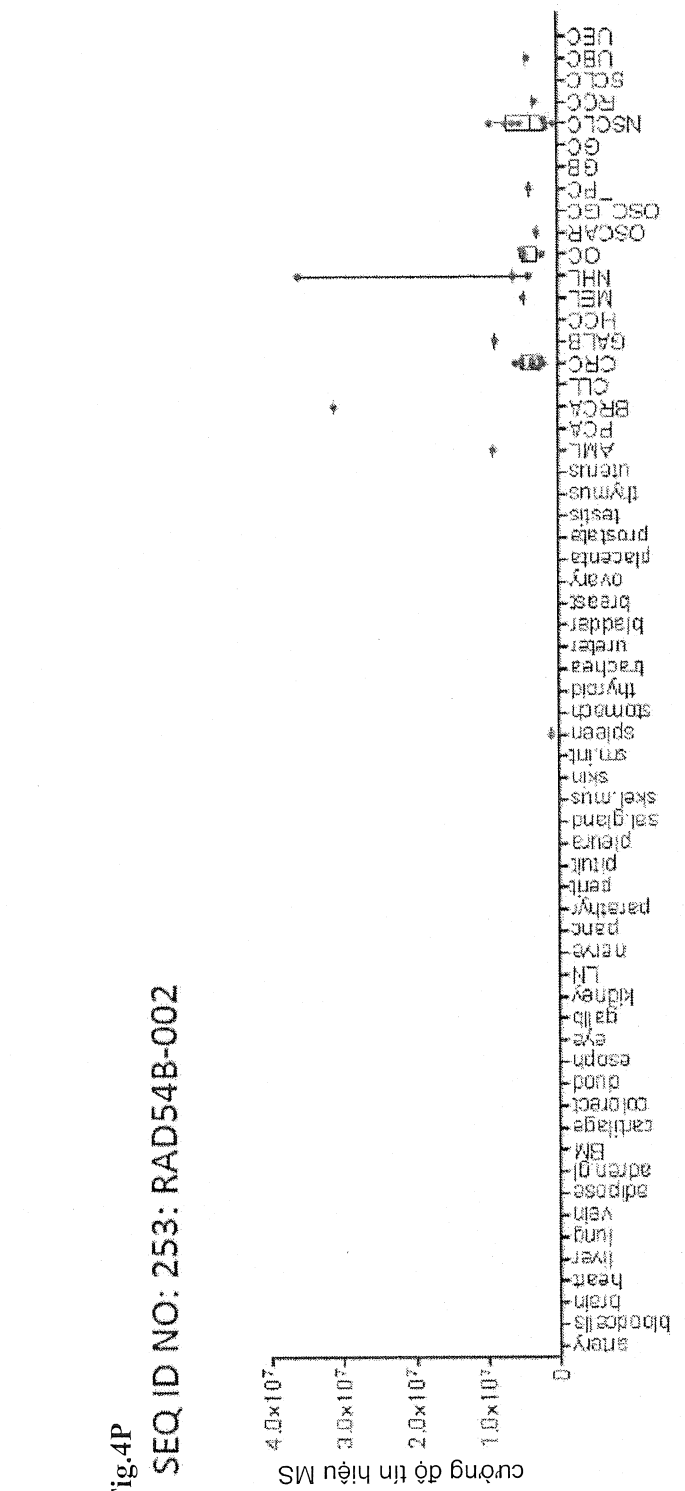

cường độ tín hiệu MS
8×10⁶
6×10⁶
4×10⁶
2×10⁶
0
artery
bloodcells
brain
heart
liver
lung
vein
adipose
adren.gl.
BM
cartilage
colorect
duod
esoph
eye
gallb
kidney
LN
nerve
panc
parathyr
pent
prost
pleura
sal.gland
skel.mus
skin
sm.int
spleen
stomach
thyroid
trachea
ureter
bladder
breast
ovary
placenta
prostate
testis
thymus
uterus
AML
BRCA
CLL
CRC
GALB
HCC
MEL
NHL
OC
OSCAR
OSC_GC
GC
NSCLC
RCC
SCLC
UBC
UEC
tần suất phát hiện
1.0
0.5
0.0
0/8
1/10
0/8
0/8
0/139
0/47
0/8
0/23
0/24
0/8
0/23
0/8
0/13
0/8
0/18
0/72
0/18
0/14
0/8
0/8
0/8

Fig.4P

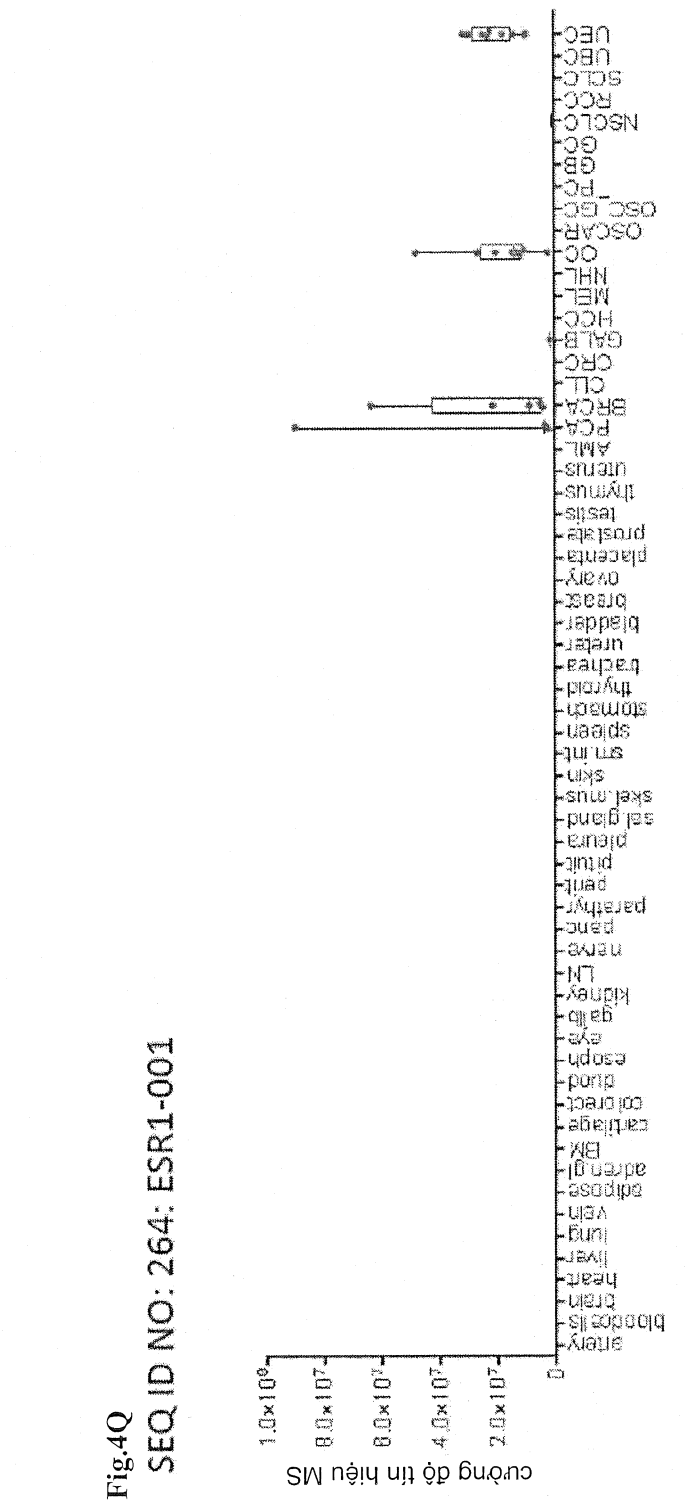
SEQ ID NO: 253: RAD54B-002



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tuy: parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4Q

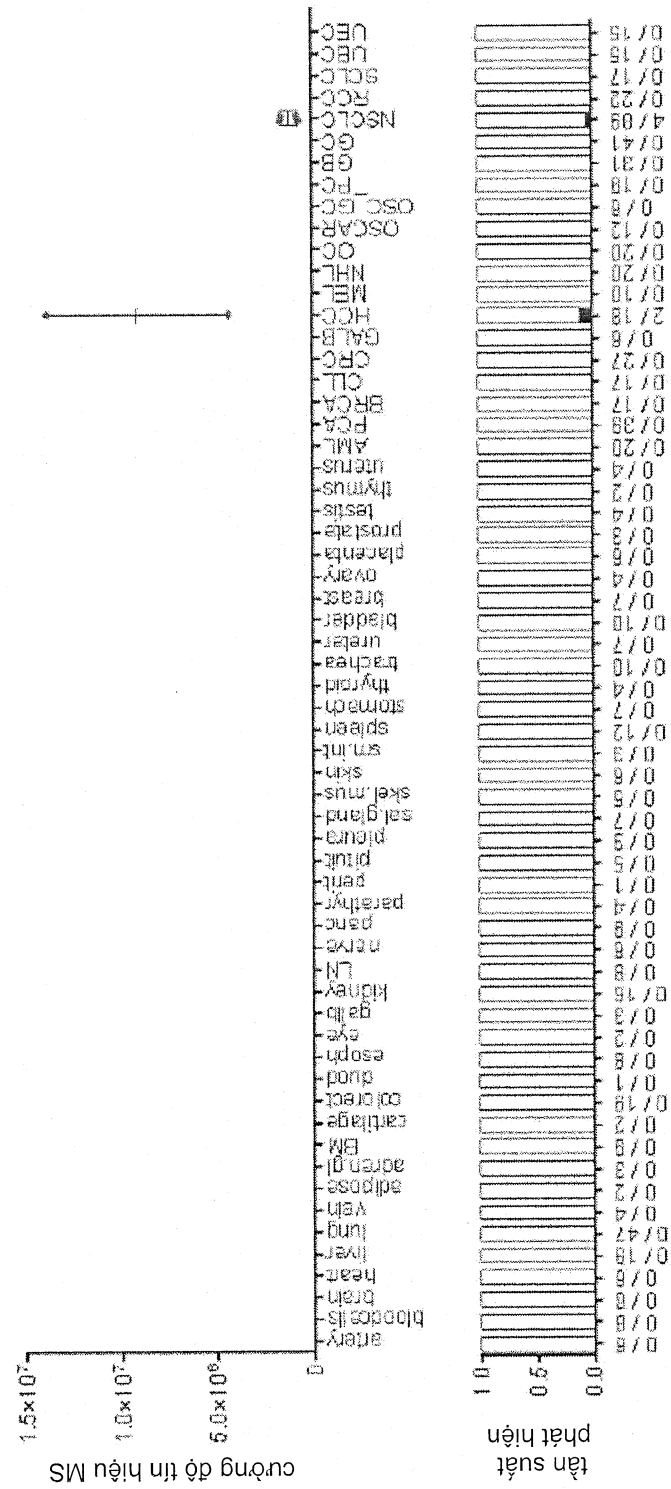
SEQ ID NO: 264: ESR1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy: parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.4R

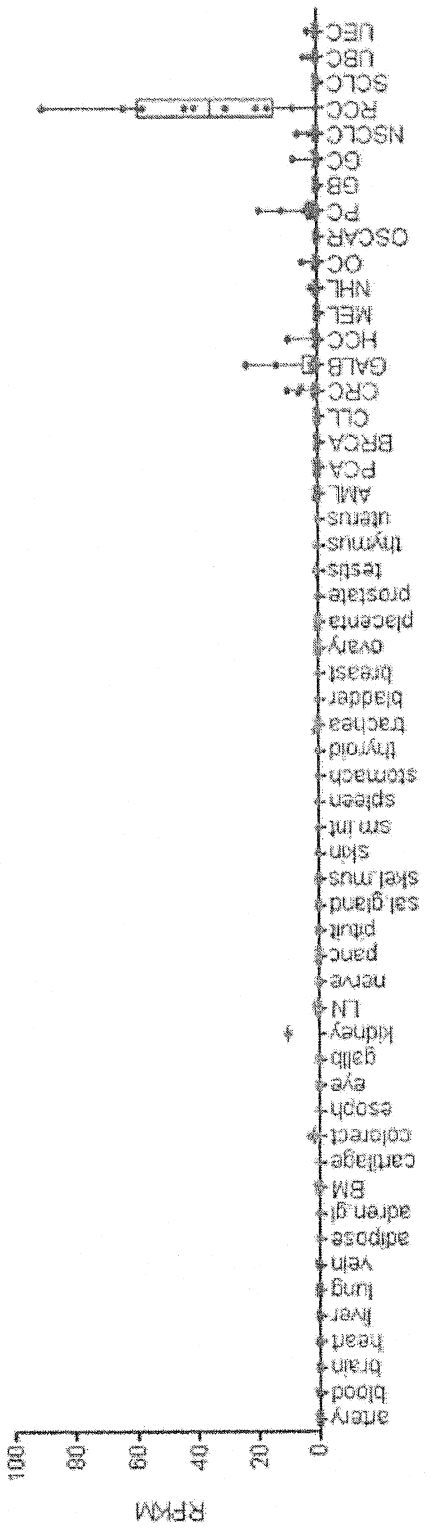
SEQ ID NO: 274: IGF-004



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; parathyr: tuyến cận giáp; perit: màng bụng; pituit: tuyến yên; pleura: màng phổi; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; ureter: niệu quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; OSC_GC: bệnh ung thư thực quản/dạ dày; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư từ cung và màng trong tử cung

Fig.5A

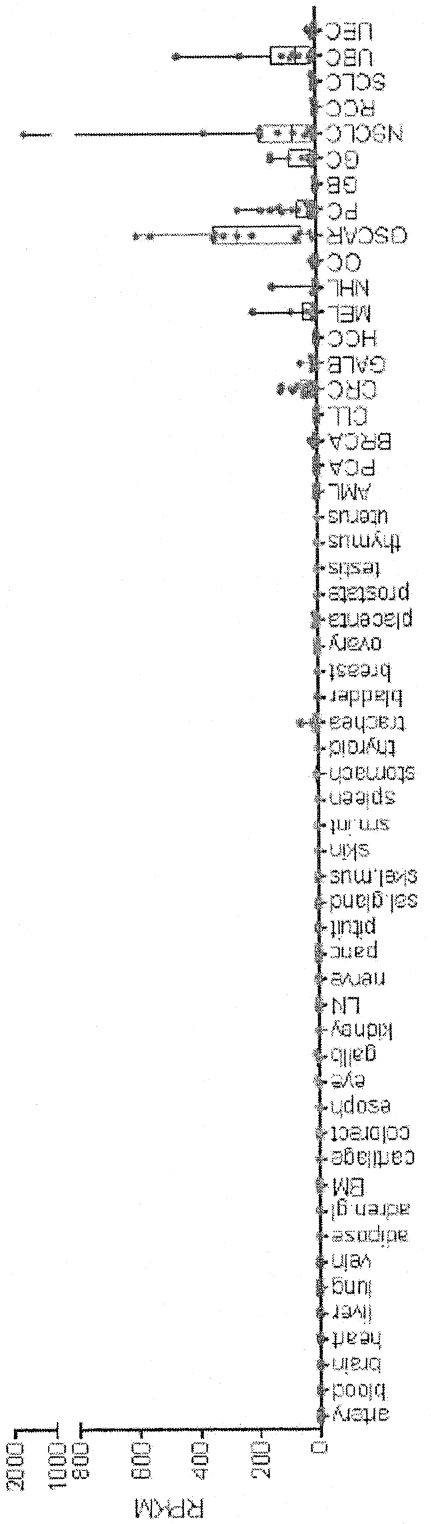
SEQ ID NO: 11: HAVCR1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5B

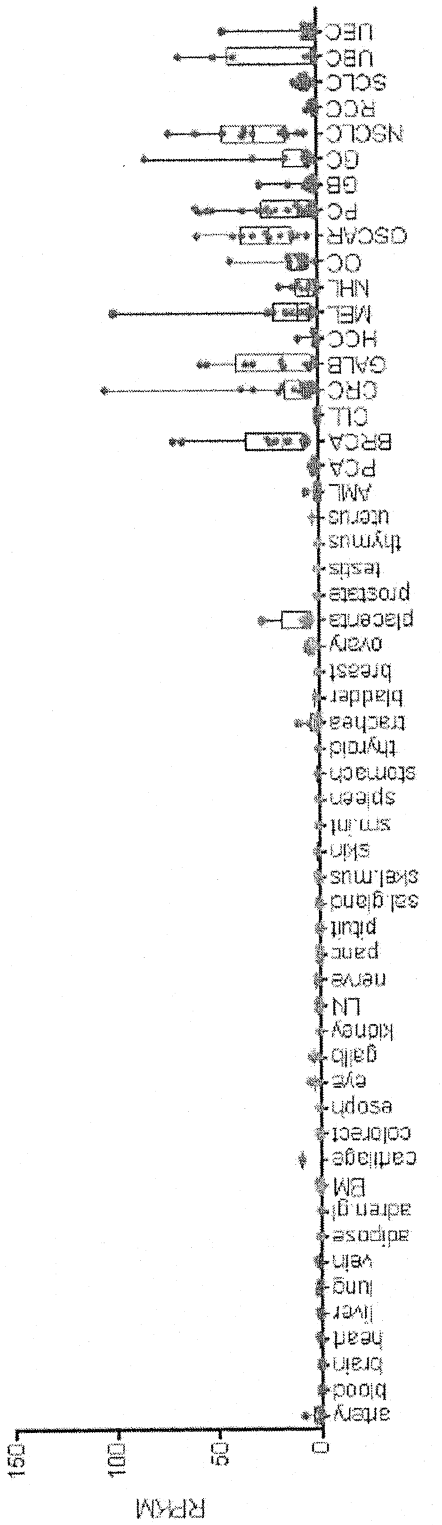
SEQ ID NO: 14: MMP1-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5C

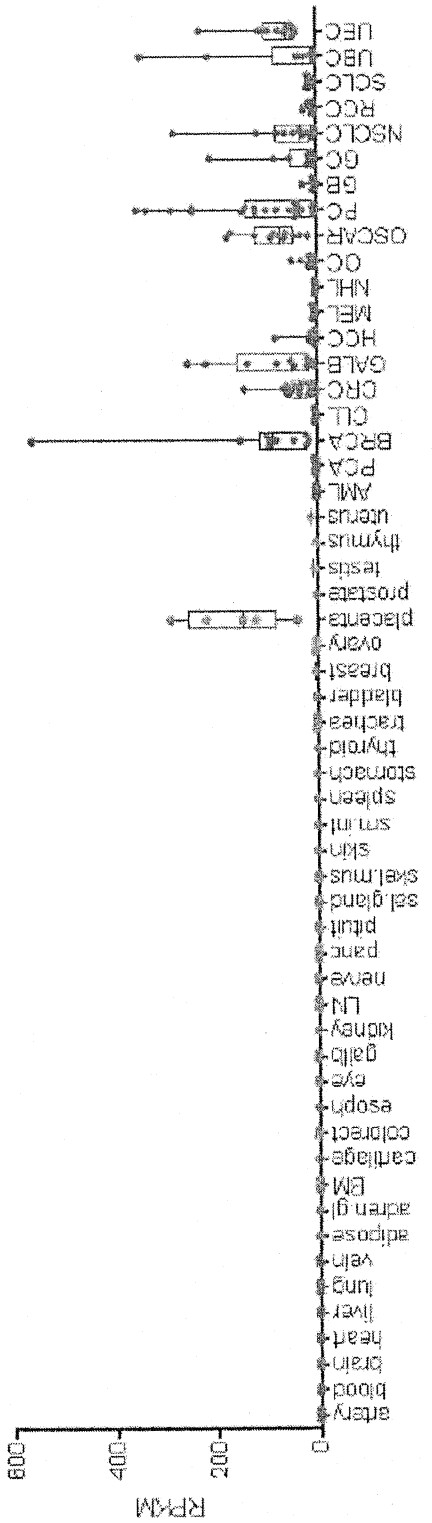
SEQ ID NO: 21: COL6A3-015



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5D

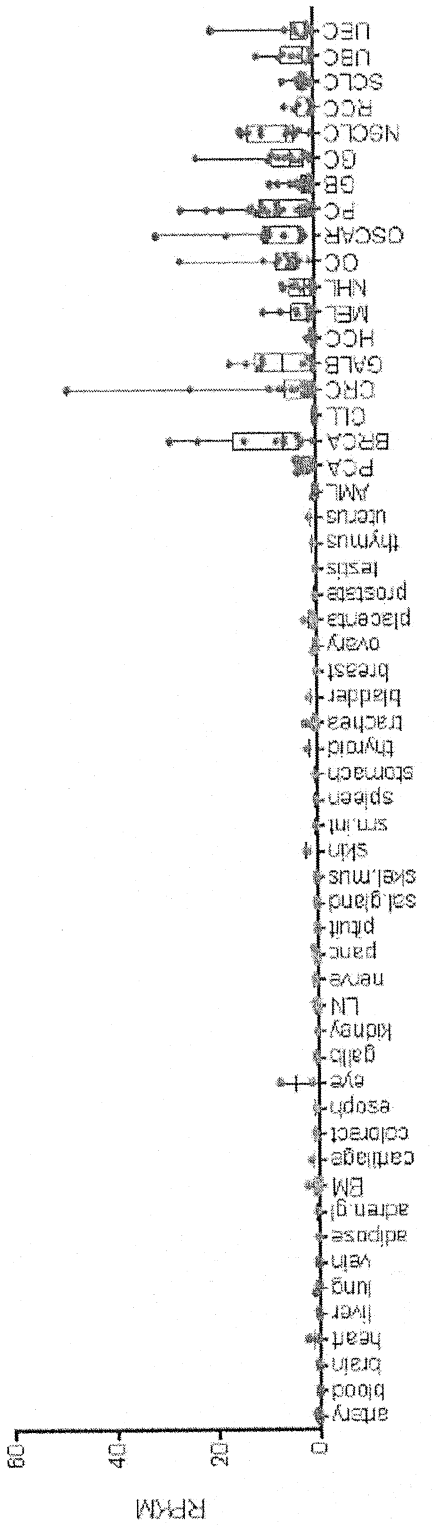
SEQ ID NO: 24: MMP-002



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5E

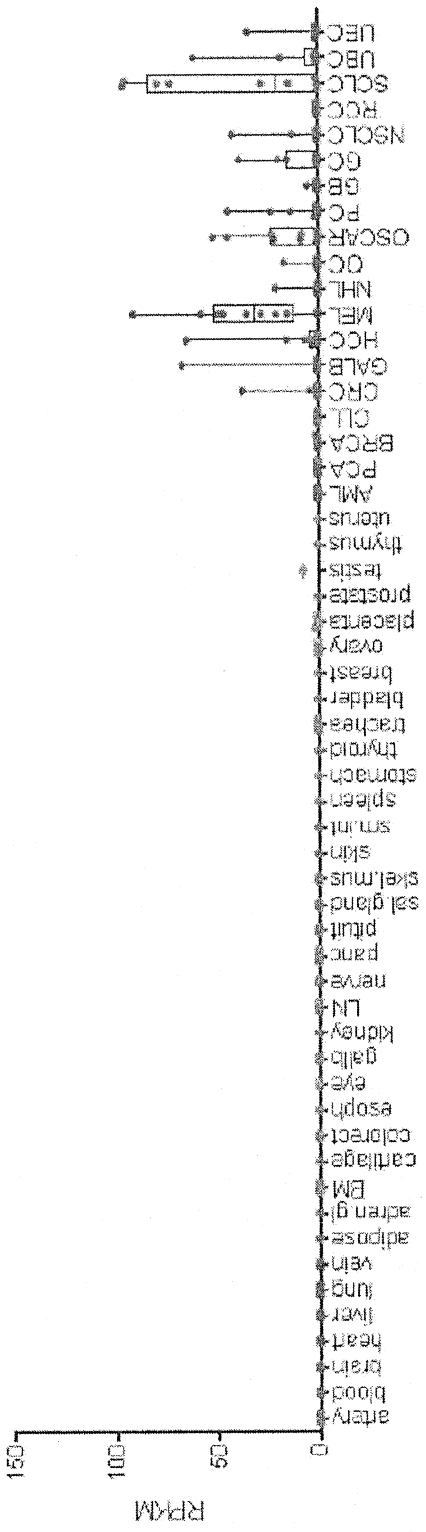
SEQ ID NO: 25: MXRA5-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5F

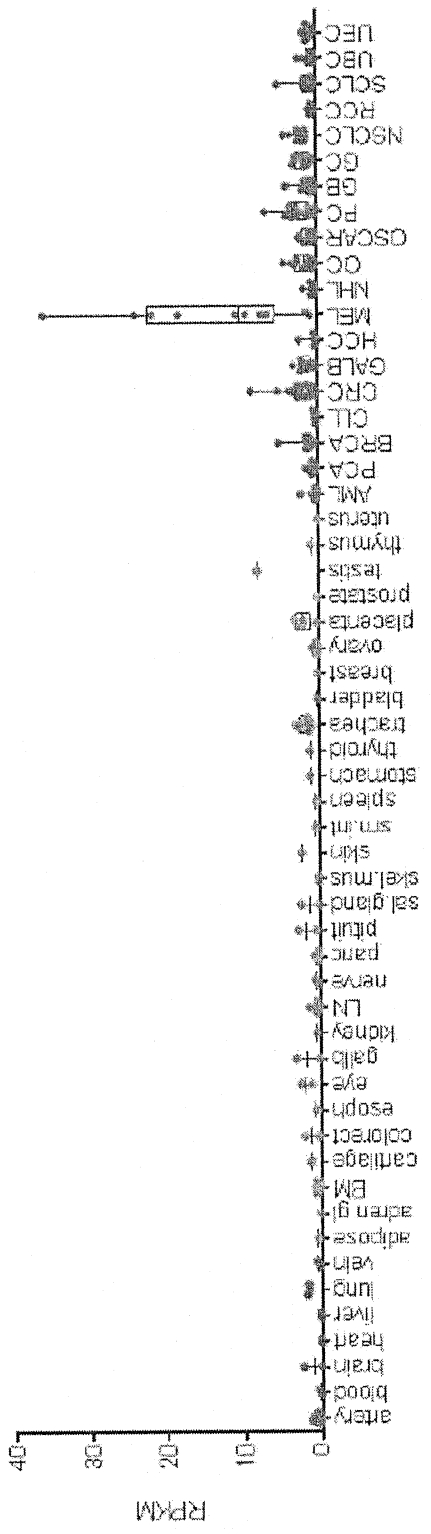
SEQ ID NO: 40: MAGEA3-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5G

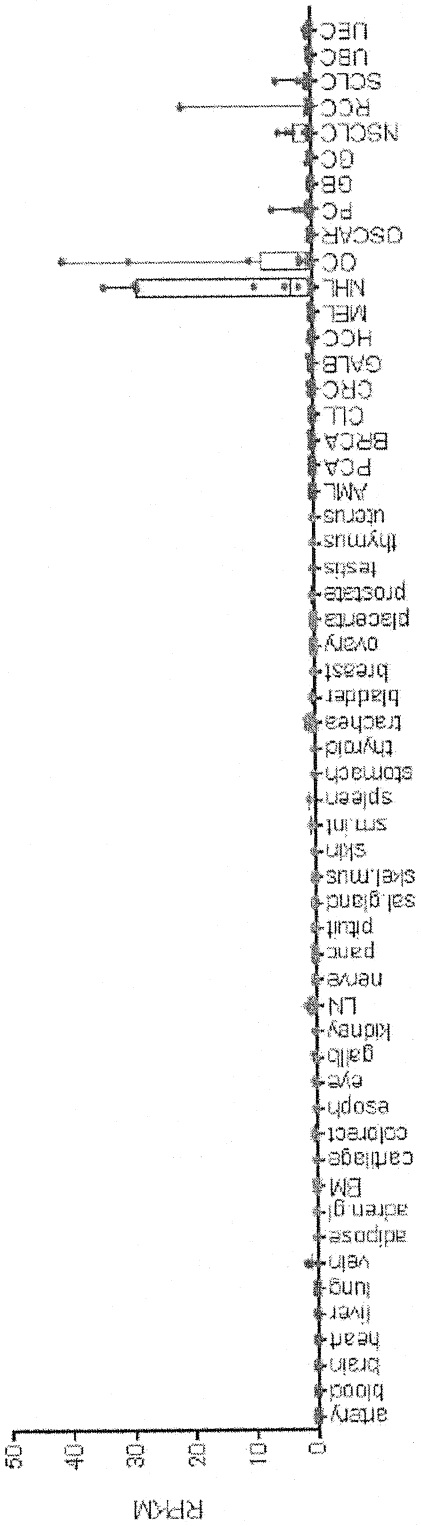
SEQ ID NO: 85: FMN1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

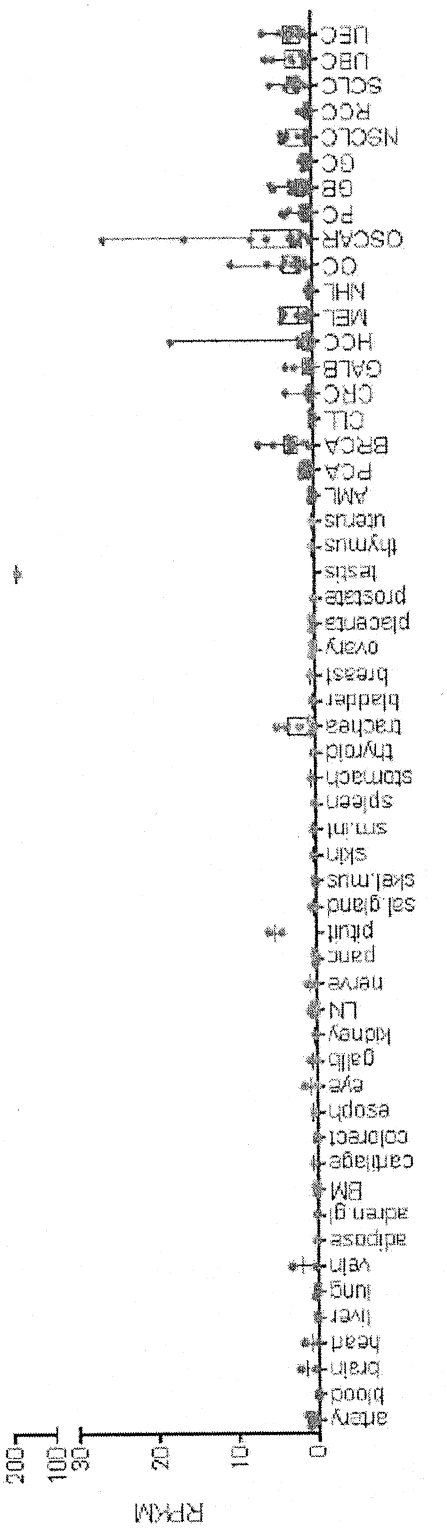
Fig.5H

SEQ ID NO: 89: HTR3A-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

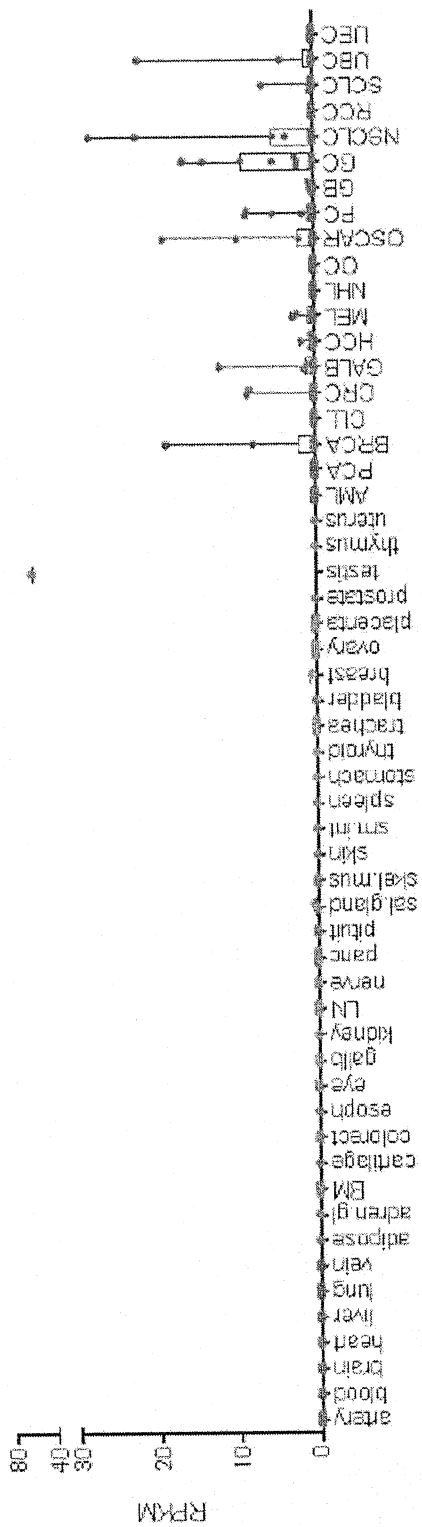
Fig.5I
SEQ ID NO: 117: CABY-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

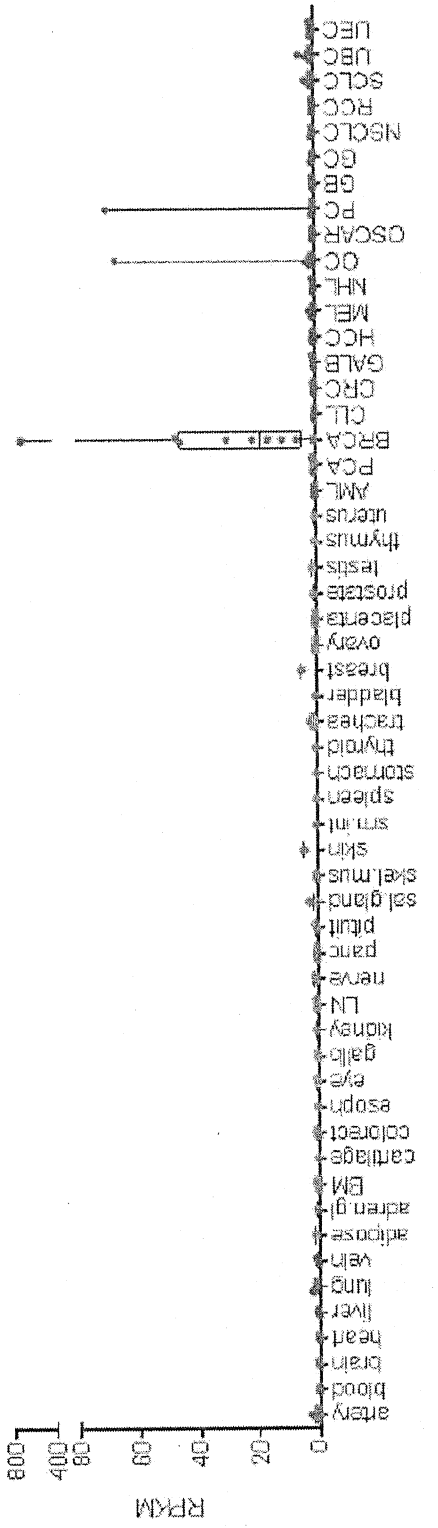
Fig.5J

SEQ ID NO: 153: CT83-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

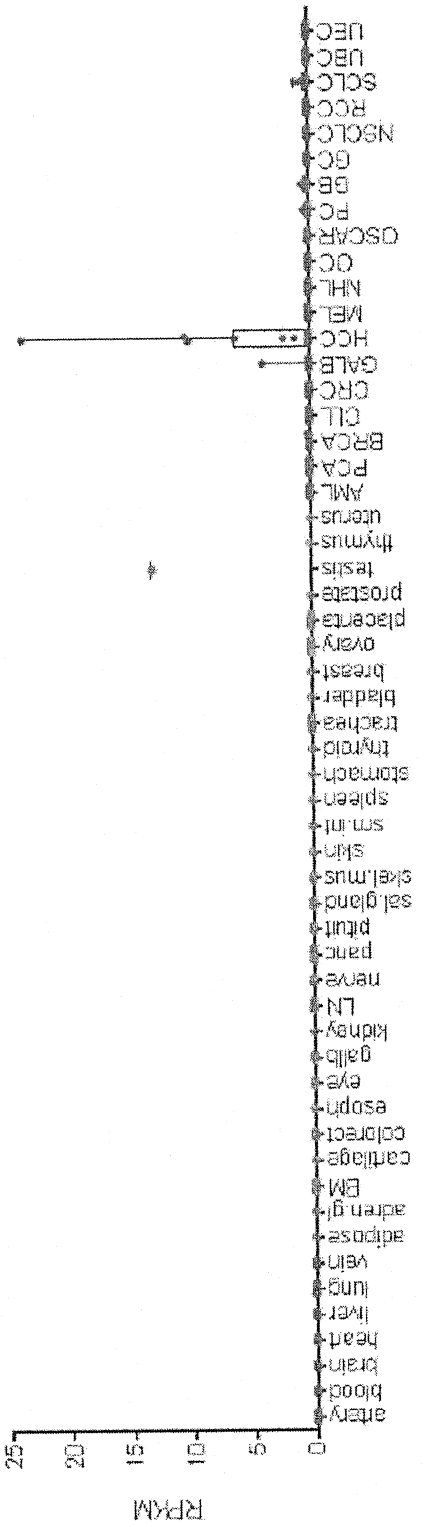
Fig.5K



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5L

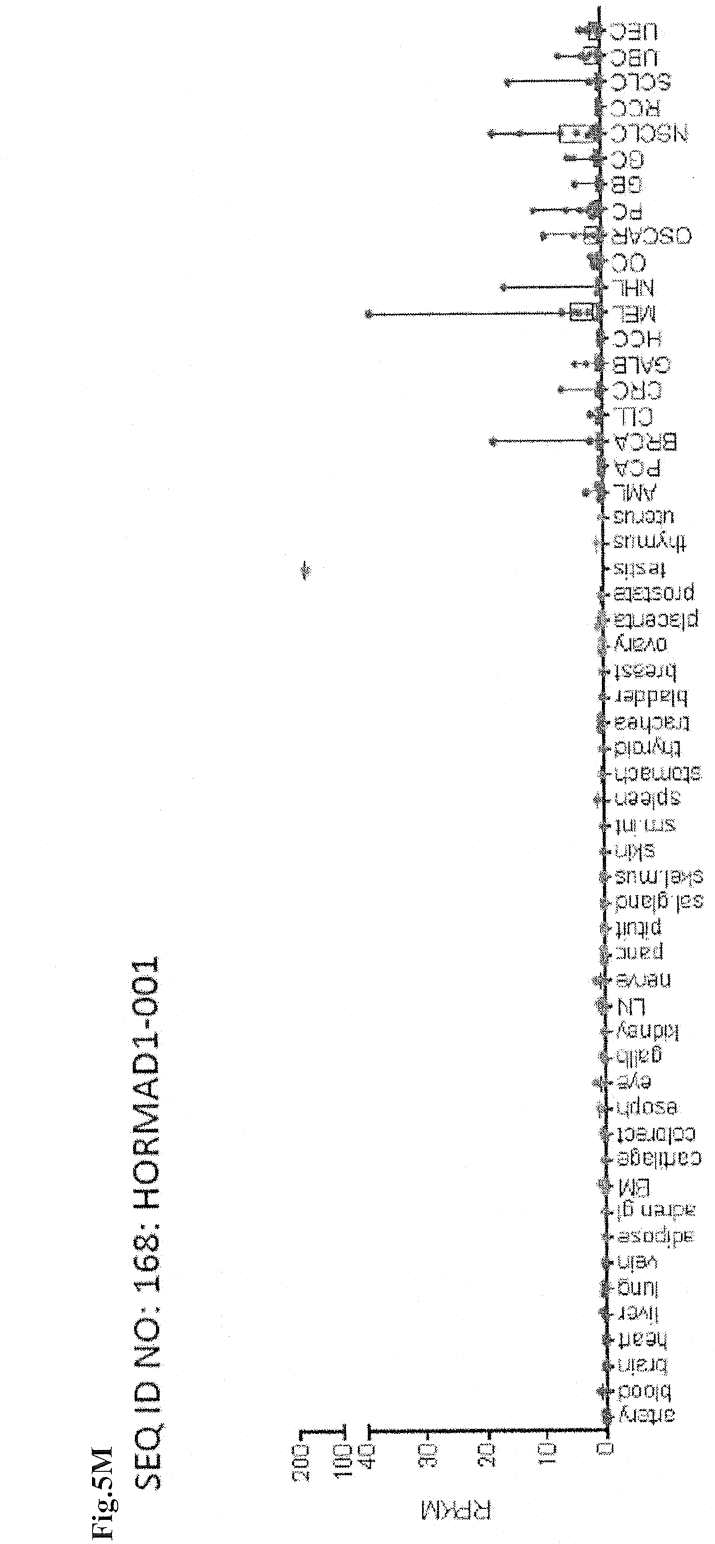
SEQ ID NO: 157: DCAF4L2-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tuy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5M

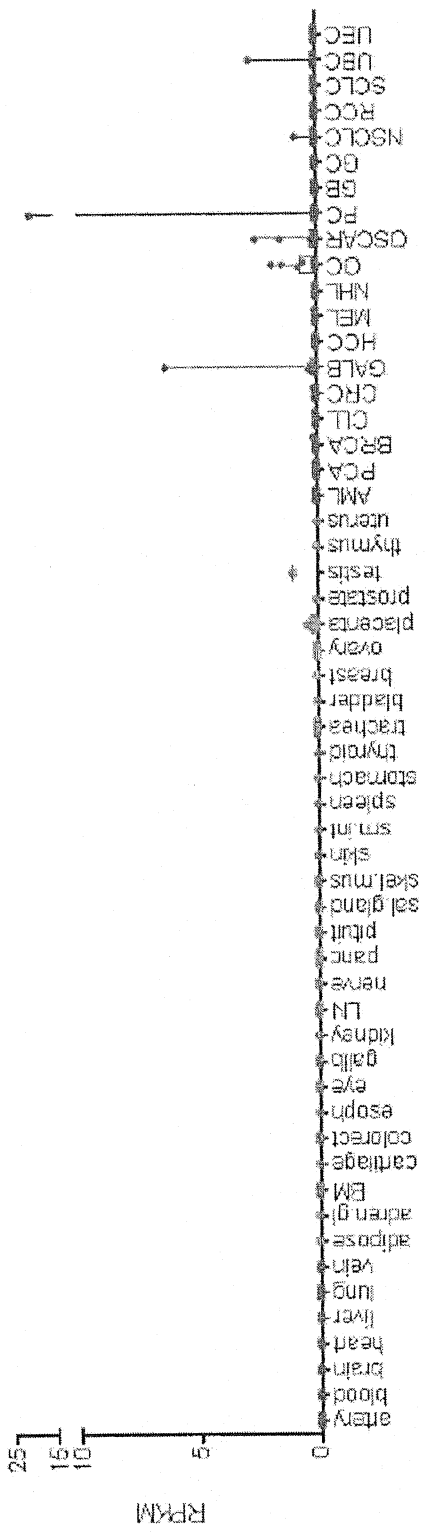
SEQ ID NO: 168: HORMAD1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5N

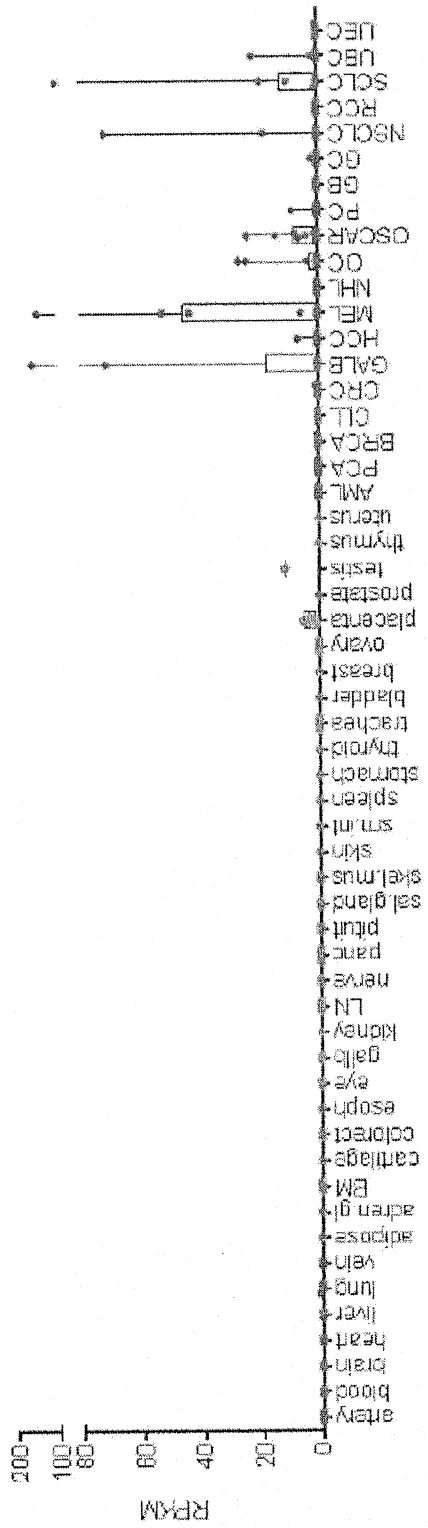
SEQ ID NO: 233; ZFP42-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5O

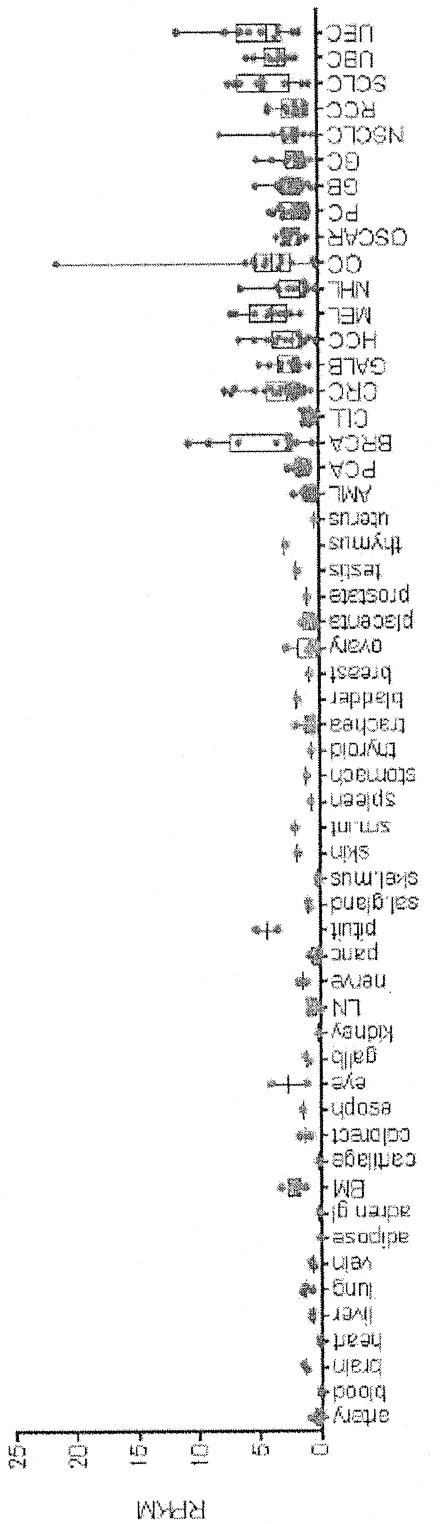
SEQ ID NO: 245: MAGEA4-003



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5P

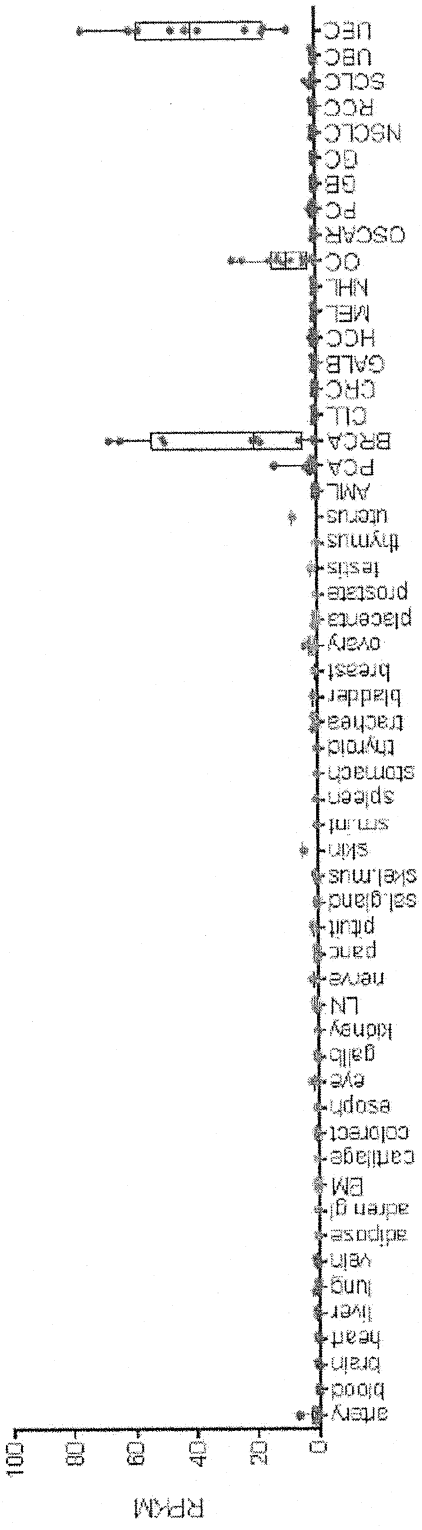
SEQ ID NO: 253: RAD54B-002



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ụng thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5Q

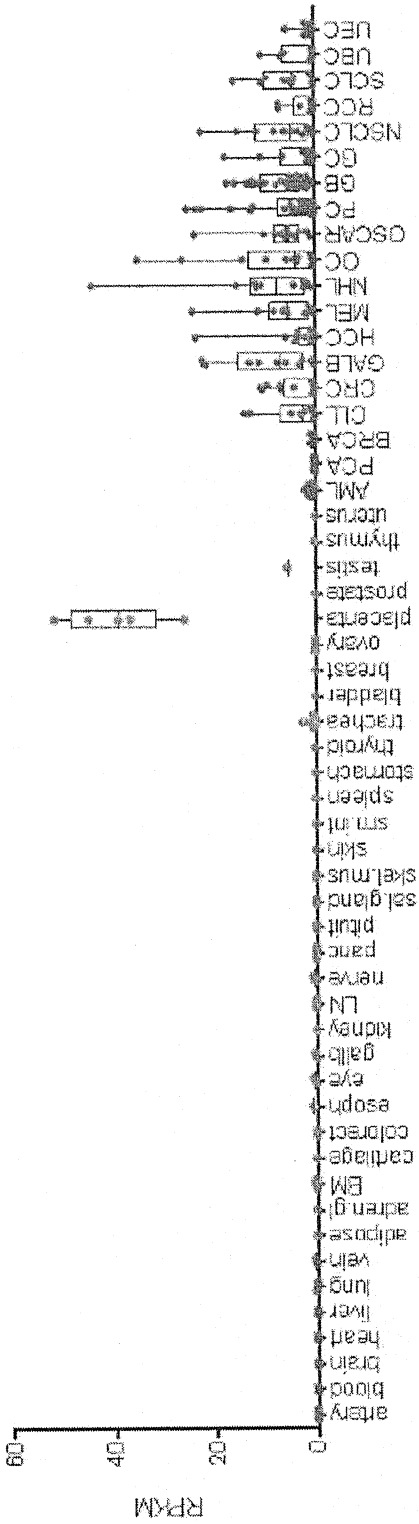
SEQ ID NO: 264: ESR1-001



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.5R

SEQ ID NO: 274: IGF-004



Các mô (từ trái sang phải): các mẫu bình thường: artery: động mạch; blood cells: tế bào máu; brain: não; heart: tim; liver: gan; lung: phổi; vein: tĩnh mạch, adipose: mô mỡ; adren.gl.: tuyến thượng thận; BM: tủy xương; cartilage: sụn; colorect: ruột kết và trực tràng; duod: tá tràng; esoph: thực quản; eye: mắt; gallb: túi mật; kidney: thận; LN: hạch bạch huyết; nerve: dây thần kinh; panc: tụy; pituit: tuyến yên; sal.gland: tuyến nước bọt; skel.mus: cơ xương; skin:da; sm.int: ruột non; spleen: lách; stomach: dạ dày; thyroid: tuyến giáp; trachea: khí quản; bladder: bàng quang; breast: vú; ovary: buồng trứng; placenta: nhau thai; prostate: tuyến tiền liệt; testis: tinh hoàn; thymus: tuyến ức; uterus: tử cung. Các mẫu khối u: AML: bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính; PCA: bệnh ung thư tuyến tiền liệt; BRCA: bệnh ung thư vú; CLL: bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính; CRC: bệnh ung thư kết-trực tràng; GALB: bệnh ung thư túi mật; HCC: caxinom tế bào gan; MEL: u melanin; NHL: u lymphô không Hodgkin; OC: bệnh ung thư buồng trứng; OSCAR: bệnh ung thư thực quản; PC: bệnh ung thư tụy; GB: u nguyên bào xốp; GC: bệnh ung thư dạ dày; NSCLC: bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; RCC: caxinom tế bào thận; SCLC: bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ; UBC: caxinom bàng quang; UEC: bệnh ung thư tử cung và màng trong tử cung

Fig.6

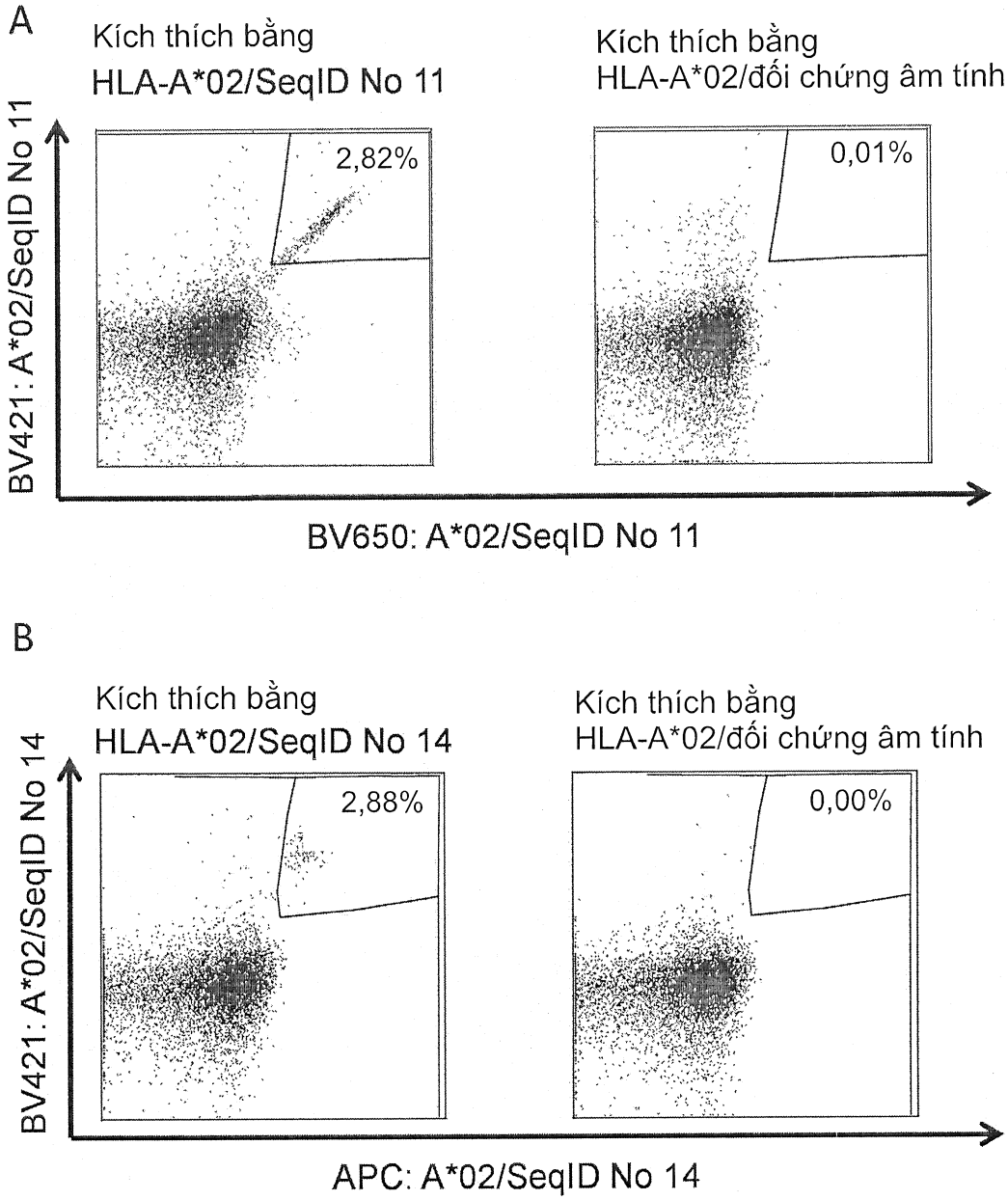

A
Kích thích bằng
HLA-A*02/SeqID No 11
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
2,82%
0,01%
BV421: A*02/SeqID No 11
BV650: A*02/SeqID No 11
B
Kích thích bằng
HLA-A*02/SeqID No 14
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
2,88%
0,00%
BV421: A*02/SeqID No 14
APC: A*02/SeqID No 14

Fig.6 (tiếp theo)

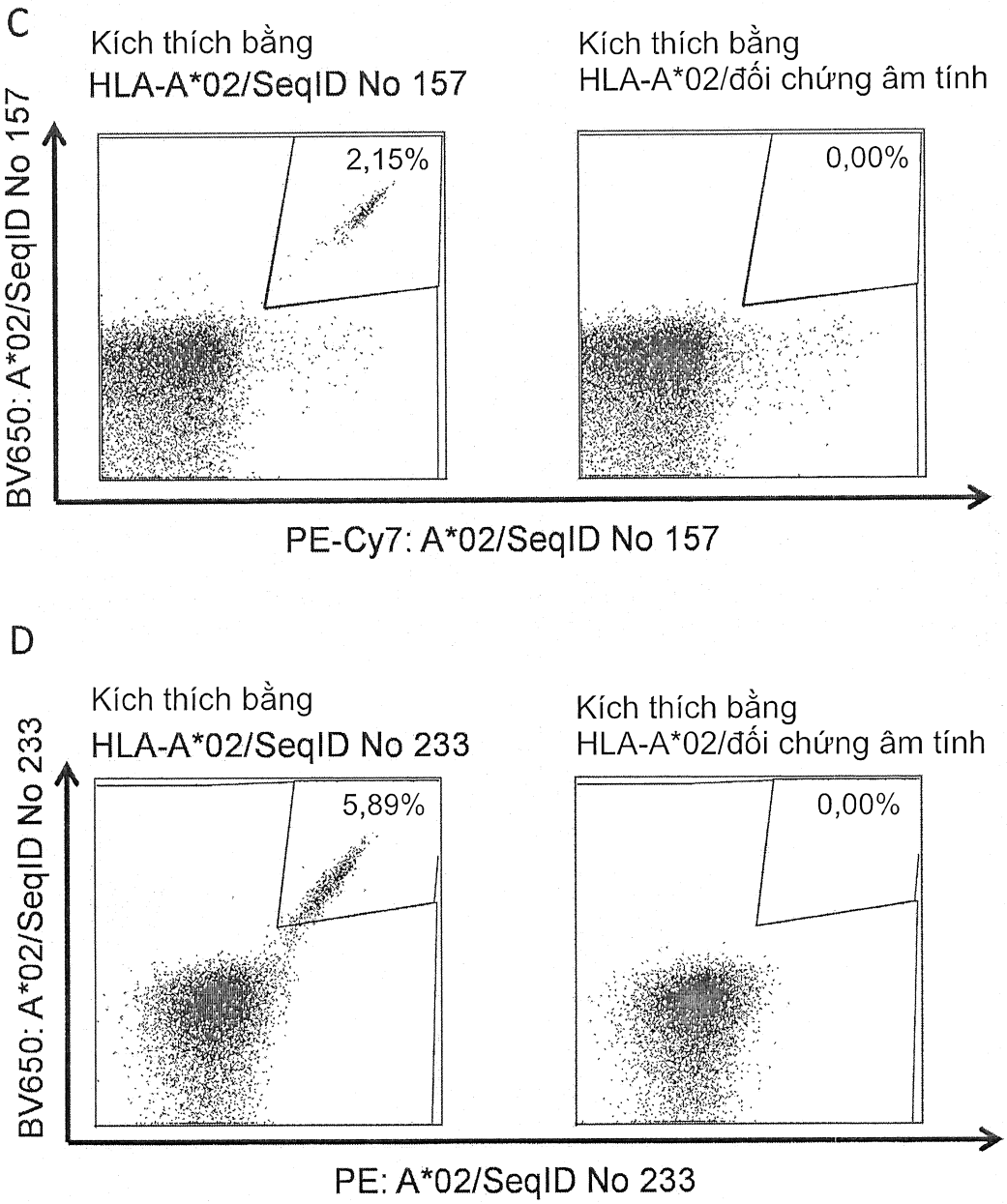
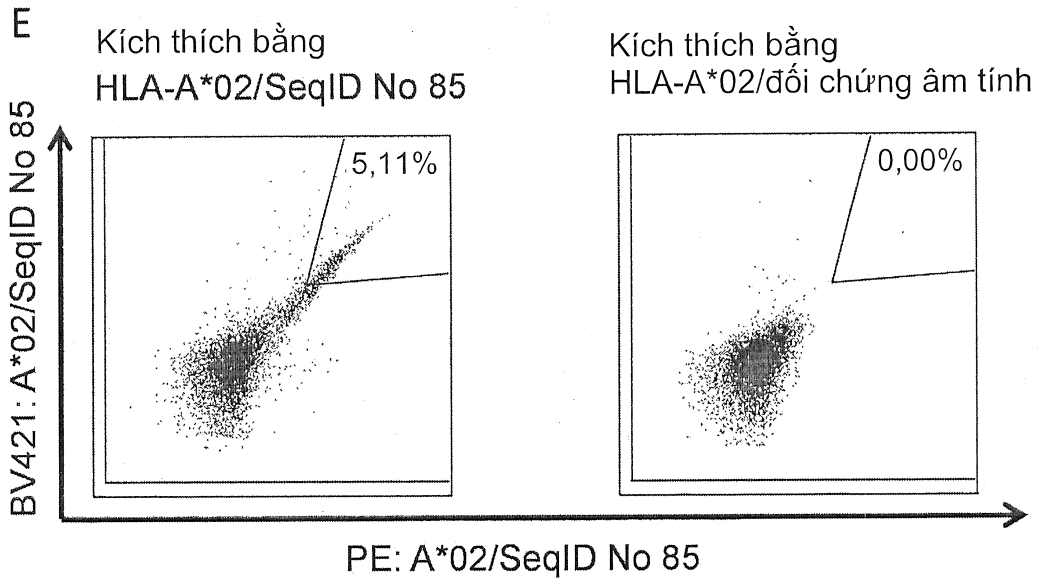


Fig.6 (tiếp theo)



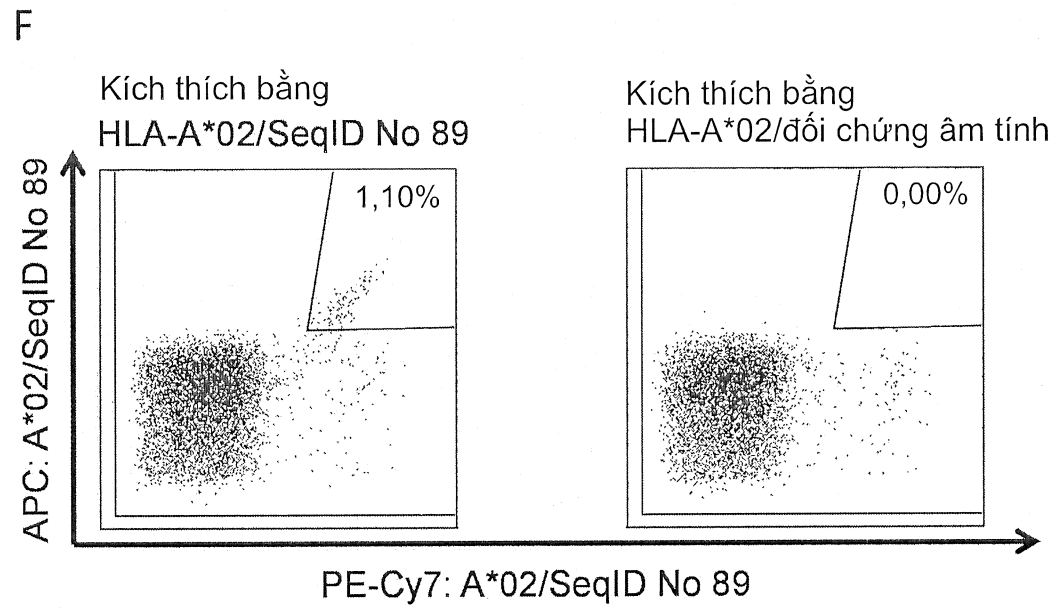


Fig.6 (tiếp theo)

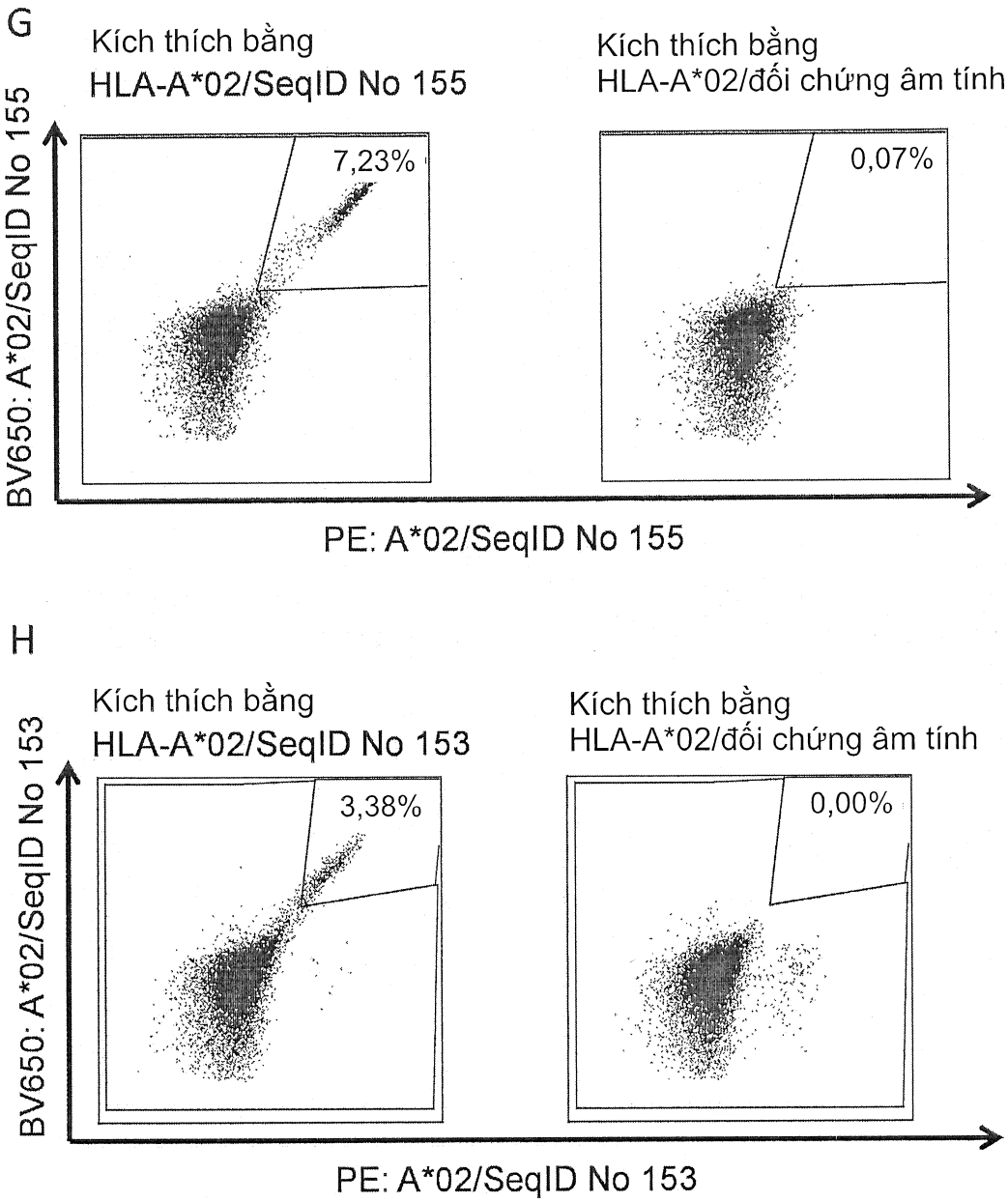
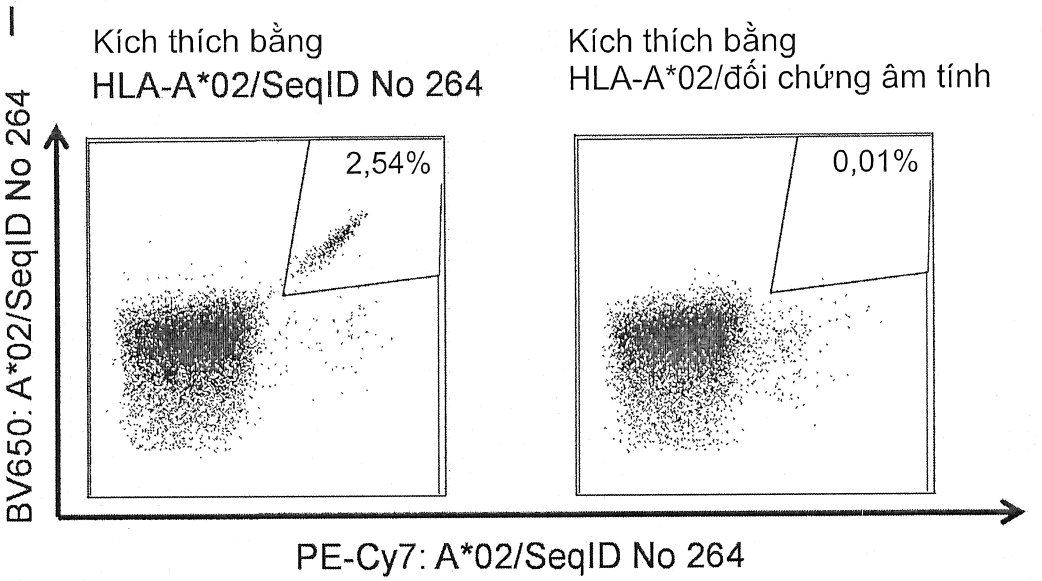


Fig.6 (tiếp theo)



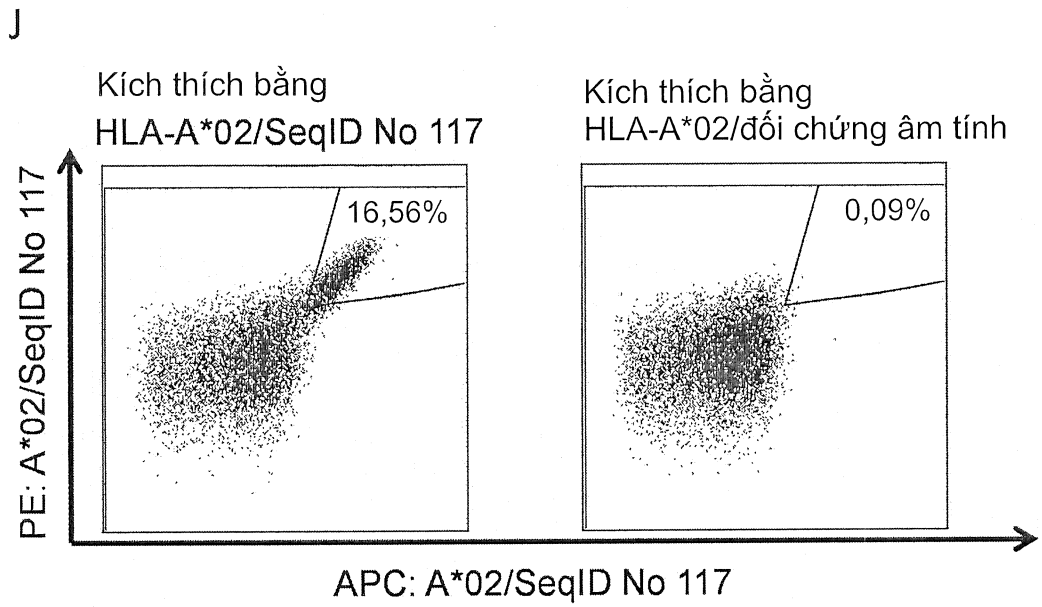


Fig.6 (tiếp theo)

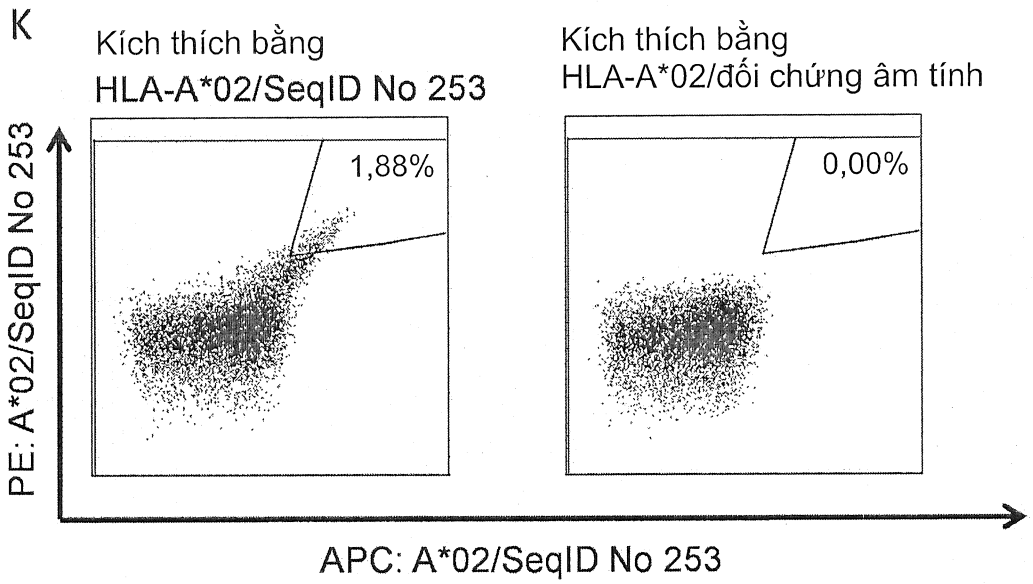


Fig.6 (tiếp theo)

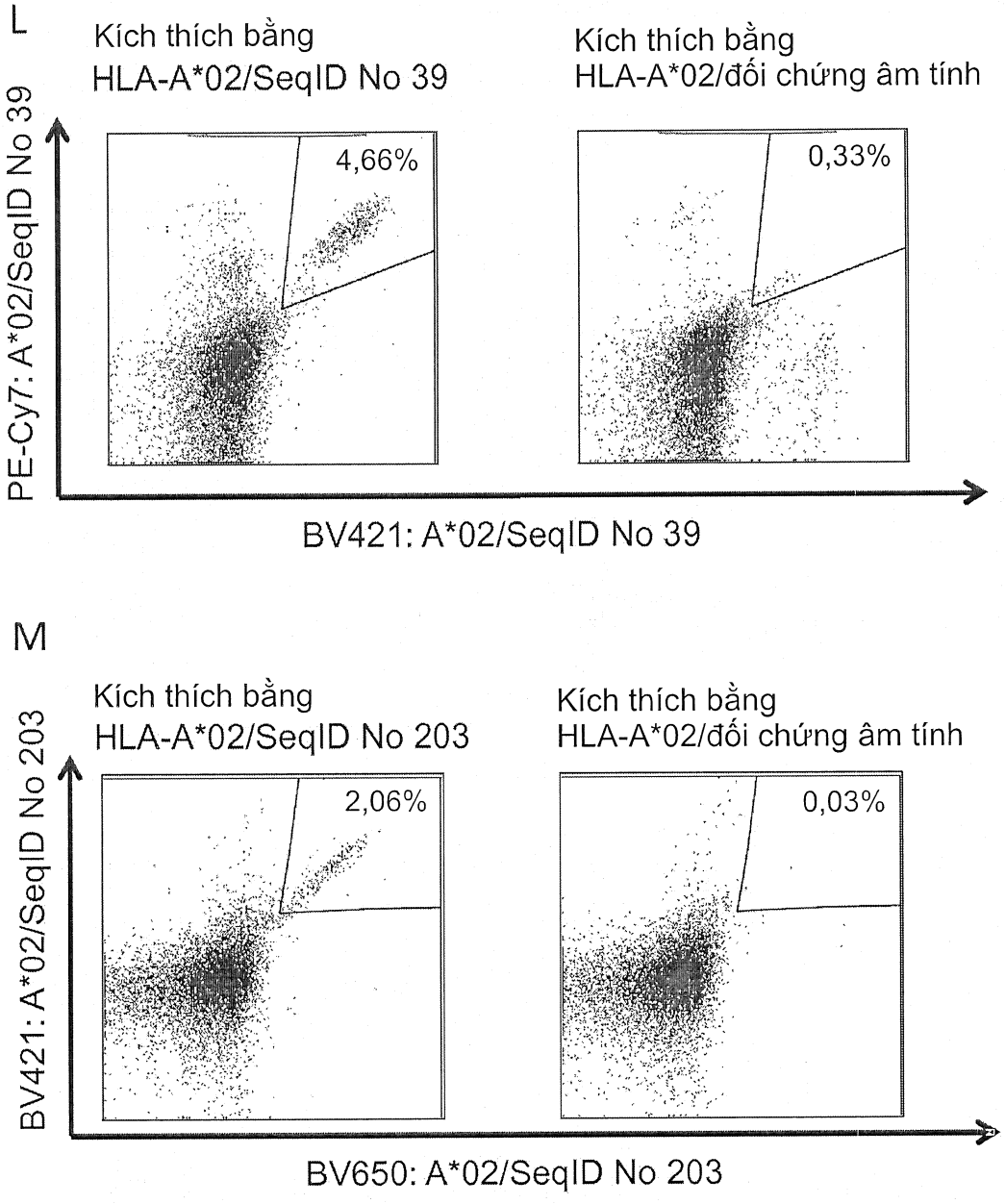


Fig.7A

Peptit: LLIPFTIFM (A*02)

SEQ ID NO: 43

Peptit được phát hiện trên
16 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư ruột kết, 7 bệnh ung thư phổi,
2 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 3 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư da) (từ trái sang phải)

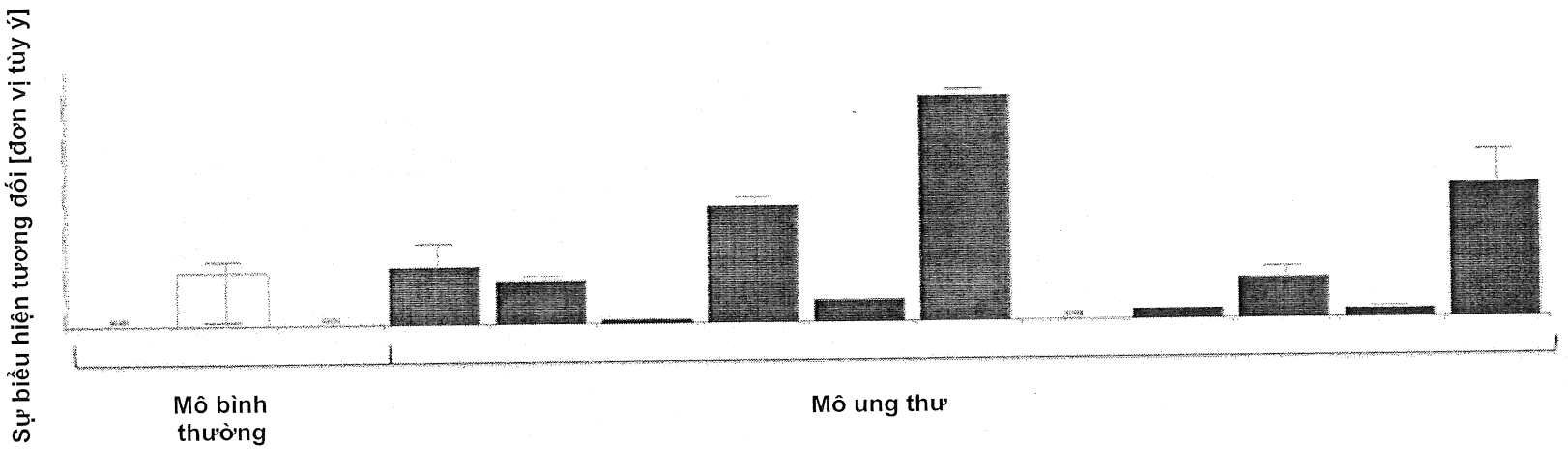
Fig.7B

Peptit: ILVTSIFFL (A*02)
SEQ ID NO: 152

Peptit được phát hiện trên
6 mô bình thường (1 hạch bạch huyết, 5 lách), 16 mô ung thư (8 bệnh ung thư bạch cầu, 8 bệnh ung thư hạch bạch huyết) (từ trái sang phải)

Fig.7C

Peptit: VILTSSPFL (A*02)
SEQ ID NO: 156



Peptit được phát hiện trên
3 mô bình thường (1 phổi, 1 hạch bạch huyết, 1 lách), 11 mô ung thư (2 bệnh ung thư vú, 5 bệnh ung thư bạch cầu, 3 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 ung thư tế bào tủy) (từ trái sang phải)