(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) **1-0039197**

(51)[8] **A61K 39/00**; C07K 14/47; A61P 35/00 (13) **B**

(21) 1-2018-01318 (22) 26/08/2016
(86) PCT/EP2016/070146 26/08/2016 (87) WO/2017/036936 09/03/2017
(30) 62/211,276 28/08/2015 US; 1515321.6 28/08/2015 GB
(45) 25/03/2024 432 (43) 25/06/2018 363A
(73) IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH (DE)
Paul-Ehrlich-Strasse 15, 72076 Tuebingen, Germany
(72) MAHR, Andrea (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, PHƯƠNG PHÁP TẠO RA VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PEPTIT NÀY

(57) 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 điều trị 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 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.

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 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 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).

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.

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. Phần lớn các nghiên cứu tiêm chủng vacxin đã hoàn thành đều hướng đích HER2 và các kháng nguyên hydrat cacbon như MUC-1 và cho kết quả khá thất vọng. 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. Do các bệnh nhân không được hưởng lợi từ việc bắt đầu điều trị sớm, phương pháp tiếp cận ban đầu là "chờ đợi và theo dõi" (Richards et al., 1999). 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.

Các kháng thể đơn dòng được sử dụng rộng rãi trong các bệnh ác tính huyết học. Điều này là do kiến thức về các kháng nguyên thích hợp dựa trên sự biểu thị đặc trưng thích hợp của các phân tử bề mặt tế bào miễn dịch và khả năng tiếp cận của các tế bào khối u trong máu hoặc tủy xương. Các kháng thể đơn dòng phổ biến được sử dụng trong liệu pháp CLL hướng đích CD20 hoặc CD52. Rituximab, kháng thể đơn dòng đầu tiên kháng CD20 đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ

(Food and Drug Administration: FDA) cấp phép trước tiên để điều trị u lympho không Hodgkin (NHL), hiện đang được sử dụng rộng rãi hiện trong liệu pháp điều trị bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (CLL). Việc điều trị kết hợp với rituximab/fludarabine/cyclophosphamide tạo ra tỷ lệ đáp ứng hoàn toàn (CR) cao hơn và thời gian sống thêm toàn bộ (overall survival: OS) được cải thiện so với khi kết hợp điều trị bằng fludarabine/cyclophosphamide và đã trở thành lựa chọn điều trị được ưu tiên (Hallek et al., 2008). Ofatumomab hướng đích CD20 và được sử dụng để điều trị cho các bệnh nhân mắc bệnh CLL dai dẳng (Wierda et al., 2011). Obinutuzumab là kháng thể đơn dòng khác kháng CD20 được sử dụng trong phương pháp điều trị hàng đầu kết hợp với chlorambucil (Goede et al., 2014).

Alemtuzumab là kháng thể kháng CD52 được dùng để điều trị cho các bệnh nhân mắc bệnh kháng liệu pháp hóa trị hoặc các bệnh nhân có các yếu tố tiên lượng xấu như sự đột biến del 17p hoặc p53 (Parikh et al., 2011).

Các kháng thể đơn dòng mới hướng đích CD37 (otlertuzumab, BI 836826, IMGN529 và (177)Lu-tetulomab) hoặc CD40 (dacetuzumab và lucatumumab) và được xét nghiệm trong các bệnh cảnh cận lâm sàng (Robak and Robak, 2014).

Một số thử nghiệm đã hoàn thành và đang được tiến hành trên cơ sở các tế bào T có tính đặc hiệu với CD19 được cải biến bằng thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) được thiết kế tự nhân (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. Porter và các đồng tác giả và Kalos và các đồng tác giả đã phát hiện được 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 (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 chứa 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).

Các phương pháp trong liệu pháp gen sử dụng các tế bào khối u tự thân được cải biến di truyền. Các tế bào B-CLL này được chuyển nhiễm bằng các gen (đồng) kích thích miễn dịch như IL-2, IL-12, TNF-alpha, GM-CSF, CD80, CD40L, LFA-3 và ICAM-1 để cải thiện mức độ trình diện kháng nguyên và sự hoạt hóa tế bào T

(Carballido et al., 2012). Trong khi dễ dàng quan sát được các đáp ứng của tế bào T đặc hiệu và sự giảm số lượng tế bào khối u, đáp ứng miễn dịch chỉ là tạm thời.

Một số nghiên cứu khác đã sử dụng các tế bào đuôi gai (DC) tự thân làm tế bào trình diện kháng nguyên để tạo ra đáp ứng kháng khối u. Các tế bào DC được tải *ex vivo* cùng với peptit liên quan đến khối u, dịch tan tế bào khối u toàn phần và ARN hoặc ADN có nguồn gốc từ khối u. Phương pháp khác sử dụng các tế bào khối u toàn phần để dung hợp với tế bào DC và tạo ra thể lai tế bào DC-B-CLL-tế bào. Các tế bào DC đã chuyển nhiễm khơi mào cả đáp ứng của cả tế bào T CD4+ và CD8+ (Muller et al., 2004). Các thể lai dung hợp và tế bào DC được tải dịch tan tế bào khối u hoặc các thể chết theo chương trình làm tăng mức độ đáp ứng của tế bào T CD8+ đặc hiệu khối u. Các bệnh nhân có sự đáp ứng lâm sàng có nồng độ IL-12 trong huyết thanh tăng lên và số lượng Treg giảm (Palma et al., 2008).

Các phương pháp khác nhau sử dụng các tế bào khối u được biến đổi để khơi mào hoặc làm tăng đáp ứng miễn dịch đặc hiệu CLL. Một ví dụ về phương pháp này là tạo ra các tế bào Trioma: các tế bào B-CLL được dung hợp với các tế bào lai biểu hiện thụ thể kháng Fc có tính đặc hiệu kháng APC. Các tế bào Trioma gây ra đáp ứng của tế bào T đặc hiệu CLL *in vitro* (Kronenberger et al., 2008).

Chiến lược khác sử dụng các tế bào CLL tự thân được chiếu bức xạ cùng với chủng *Bacillus Calmette-Guérin* dưới dạng chất bổ trợ dùng làm vacxin. Một số bệnh nhân có nồng độ bạch cầu giảm hoặc tình trạng bệnh ổn định (Hus et al., 2008).

Ngoài các tế bào CLL phân lập được, máu toàn phần từ các bệnh nhân mắc bệnh CLL được sử dụng làm vacxin sau khi tạo ra trong thiết bị xử lý máu. Vacxin này tạo ra các đáp ứng của tế bào T đặc hiệu CLL và dẫn đến đáp ứng lâm sàng từng phần hoặc tình trạng bệnh ổn định ở một vài bệnh nhân (Spaner et al., 2005).

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 trị và liệu pháp hướng đích đối với CRC (Berman et al., 2015a; Berman et al., 2015b).

Ngoài các dược chất hóa trị liệu, một số kháng thể đơn dòng hướng đích là thụ thể yếu tố phát triển biểu mô ((epidermal growth factor receptor: EGFR), cetuximab, panitumumab) hoặc yếu tố phát triển nội mô mạch-A ((vascular endothelial growth factor -A: VEGF-A, bevacizumab) được sử dụng cho các bệnh nhân mắc bệnh ở giai đoạn cao. Đối với phương pháp điều trị hàng thứ hai và hàng sau đó, chất ức chế VEGF là aflibercept, chất ức chế tyrosin kinaza là regorafenib và chất ức chế thymidylat-synthetaza là TAS-102 và chất ức chế dUTPaza là TAS-114 có thể được sử dụng (Stintzing, 2014; Wilson et al., 2014).

Các thử nghiệm lâm sàng gần đây nhất phân tích liệu pháp miễn dịch chủ động làm lựa chọn điều trị đối với bệnh CRC. Các chiến lược bao gồm tiêm chủng vacxin chứa peptit có nguồn gốc từ kháng nguyên liên quan đến khối u (TAA), vacxin chứa tế bào khối u toàn phần, 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).

Vacxin chứa tế bào khối u toàn phần gồm các tế bào khối u tự thân được cải biến để tiết ra yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF), được cải biến bằng cách chiếu bức xạ hoặc các tế bào đã được chiếu bức xạ, nhiễm virut. Phần lớn bệnh nhân không thu được lợi ích lâm sàng trong một số thử nghiệm pha II/ III (Koido et al., 2013).

Virut gây bệnh đậu bò (vaccinia) hoặc poxvirut ở chim bị bất hoạt khả năng sao chép mã hóa CEA cũng như B7.1, ICAM-1 và LFA-3 được sử dụng làm vật truyền trong các vacxin chứa vectơ của virut trong các thử nghiệm lâm sàng pha I. Nghiên cứu khác sử dụng virut Canarypox không sao chép mã hóa CEA và B7.1. Ngoài việc gây ra mức độ đáp ứng của tế bào T đặc hiệu CEA ở 40% bệnh nhân có đáp ứng lâm sàng khách quan (Horig et al., 2000; Kaufman et al., 2008).

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. Chỉ điều trị bằng cách phẫu thuật là không đủ, ngoại trừ ở phân nhóm nhỏ các bệnh nhân mắc bệnh caxinom tế bào vảy.

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. Phẫu thuật phương pháp điều trị chủ yếu và là phương pháp điều trị duy nhất chữa khỏi bệnh ung thư dạ dày. 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. Theo hướng dẫn của Hiệp hội thần kinh học Đức, liệu pháp chuẩn ở các bệnh nhân trẻ bao gồm cắt bỏ hoặc sinh thiết khối u, sử dụng liệu pháp xạ trị và liệu pháp hóa trị khu trú với temozolomide hoặc CCNU/lomustine hoặc kết hợp procarbazine với CCNU và vincristine (PCV). Ở Mỹ Mỹ, Canada và Thụy Sĩ, việc điều trị bằng bevacizumab (kháng thể kháng VEGF) cũng được phê chuẩn để điều trị sự tái phát (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 2014).

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.

Các kháng thể kháng lại các thụ thể tế bào T ức chế hoặc các phối tử của chúng đã được chứng minh là làm gia tăng hữu hiệu mức độ đáp ứng miễn dịch kháng khối u qua trung gian tế bào T ở các loại bệnh ung thư khác nhau, bao gồm u melanin và bệnh ung thư bàng quang. Do đó, hiệu quả của các kháng thể hoạt hóa tế bào T như ipilimumab và nivolumab được đánh giá trong các thử nghiệm GB trong lâm sàng nhưng các số liệu sơ bộ cho thấy các phản ứng phụ liên quan đến sự tự miễn dịch.

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. Nếu phẫu thuật không là lựa chọn điều trị, có thể sử dụng các phương pháp điều trị khác.

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., 2004; Takayama et al., 1991; Takayama et al., 2000b).

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 cùng với các mô khỏe mạnh xung quanh. Nếu cắt bỏ không hoàn toàn hoặc không thể hoàn toàn, các bệnh nhân được điều trị bằng liệu pháp xạ trị ban đầu, liệu pháp này có thể được kết hợp với việc sử dụng interferon-alpha ở các giai đoạn tiến triển (giai đoạn IIB/C và IIIA-C).

Việc làm tăng đáp ứng miễn dịch kháng u dường như là chiến lược hứa hẹn để điều trị u melanin tiến triển. Ở Mỹ, chất ức chế sự kiểm soát miễn dịch là ipilimumab cũng như các chất ức chế BRAF kinaza là vemurafenib và dabrafenib và chất ức chế MEK là trametinib đã được phê chuẩn để điều trị u melanin tiến triển. Cả hai phương pháp đều làm tăng tính miễn dịch kháng u của bệnh nhân - ipilimumab theo cách trực tiếp bằng cách làm giảm mức độ ức chế tế bào T và các chất ức chế kinaza theo cách gián tiếp bằng cách làm tăng mức độ biểu hiện của các kháng nguyên biệt hóa tế bào melanin. Hiện nay, các chất ức chế sự kiểm soát khác (nivolumab và lambrolizumab) được đánh giá trong các nghiên cứu lâm sàng với kết quả đáng khích lệ đầu tiên. Ngoài ra, các liệu pháp kết hợp khác nhau hướng đích là đáp ứng miễn dịch kháng u được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng bao gồm ipilimumab cùng với nivolumab, ipilimumab cùng với vacxin peptit có nguồn gốc từ gp100, ipilimumab cùng với dacarbazine, ipilimumab cùng với IL-2 và iplimumab cùng vớis GM-CSF (Srivastava and McDermott, 2014).

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.

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. Sau khi phẫu thuật cắt bỏ, tiến hành liệu pháp hóa trị toàn thân với chất tương tự platin, ngoại trừ bệnh ung thư buồng trứng giai đoạn rất thấp (giai đoạn IA, cấp độ 1) mà trong đó liệu pháp hóa trị sau phẫu thuật không được chỉ định.

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.

Liệu pháp xytokin với intơlơkin-2, interferon-alpha, interferon-gama hoặc yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt-đại thực bào nhằm làm tăng đáp ứng miễn dịch kháng u của chính bệnh nhân và các phương pháp điều trị này đã được chứng minh là cho kết quả hứa hẹn trong các nghiên cứu nhỏ.

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.

Các kháng thể đơn dòng nhận biết đặc hiệu các protein liên quan đến khối u

được cho là làm tăng khả năng tiêu diệt các tế bào khối u qua trung gian tế bào miễn dịch. Kháng thể kháng CA-125 hoặc egovomab và abagovomab cũng như kháng thể kháng EpCAM là catumaxomab đạt được kết quả hứa hẹn trong các nghiên cứu pha II và III. Trái lại, kháng thể kháng MUC1 là HMFG1 không cho kết quả làm tăng tỷ lệ sống rõ ràng trong nghiên cứu pha III.

Phương pháp khác sử dụng các kháng thể đơn dòng để hướng đích và ức chế yếu tố sinh trưởng và thụ thể liên quan đến sự sống trên các tế bào khối u. Trong khi việc sử dụng trastuzumab (kháng thể kháng HER2/neu) và MOv18 và MORAb-003 (kháng thể kháng thụ thể folat alpha) chỉ mang lại lợi ích lâm sàng giới hạn cho các bệnh nhân ung thư buồng trứng, việc bổ sung bevacizumab (kháng thể kháng VEGF) vào liệu pháp hóa trị chuẩn ở bệnh ung thư buồng trứng tiến triển dường như có lợi.

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 ung thư buồng trứng (Mantia-Smaldone et al., 2012).

Bệnh ung thư tụy

Các lựa chọn điều trị cho bệnh nhân 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. Ngoài ra, bệnh ung thư tụy khá kháng thuốc với các chất hóa trị liệu, điều này có thể là do mô đỡ khối u tạo mô xơ làm dày và làm giảm lưu lượng mạch máu

Theo hướng dẫn của Hiệp hội ung thư Đức, Trung tâm hỗ trợ về bệnh ung thư ở Đức và Hiệp hội các nhà khoa học y khoa ở Đức, phương pháp cắt bỏ khối u là lựa chọn điều trị chữa khỏi duy nhất có thể thực hiện

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. 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). 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 bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC) phụ thuộc đáng kể vào giai đoạn của bệnh ung thư khi chẩn đoán. 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

Một lựa chọn điều trị cho bệnh AML 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 (CAR) (Estey, 2014).

U lymphô không Hodgkin

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 bị động bao gồm tiêm các kháng thể đơn dòng kháng Id của chuột tái tổ hợp một mình hoặc kết hợp với IFNalpha, IL2 hoặc chlorambucil.

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.

Ba thử nghiệm lâm sàng pha III đã được tiến hành (Biovest, Genitope, Favrille). Trong hai thử nghiệm, các bệnh nhân được cho sử dụng rituximab. GM-CSF được sử dụng trong cả ba thử nghiệm. Biovest sử dụng protein tạo ra tế bào lai, Genitope và Favrille sử dụng protein tái tổ hợp. Trong cả ba thử nghiệm, Id được liên hợp với KLH. Chỉ Biovestcí kết quả đáng kể.

Các vacxin không phải Id bao gồm các kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư MAGE, NY-ESO1 và PASD-1, kháng nguyên CD20 của tế bào B hoặc các vacxin chứa tế bào. Các vacxin chứa tế bào này gồm các tế bào DC được gây xung bằng tế bào khối u chết theo chương trình, dịch tan tế bào khối u, sản phẩm dung hợp tế bào DC-tế bào khối u hoặc tế bào DC được gây xung bằng ARN có nguồn gốc từ khối u.

Phương pháp tiêm chủng vacxin tại chỗ bao gồm việc tiêm chủng vacxin chứa CpG qua đường trong khối u kết hợp với liệu pháp hóa trị hoặc các tế bào khối u được xạ trị phát triển với sự có mặt của GM-CSF và thu hồi/mở rộng/tái tiêm truyền tế bào T.

Phương pháp tiêm chủng vacxin chứa các kháng thể làm thay đổi sự kiểm soát miễn dịch gồm kháng thể kháng CD40, kháng thể kháng OX40, kháng thể kháng 41BB, kháng thể kháng CD27, kháng thể kháng GITR (các kháng thể chủ vận làm gia tăng trực tiếp đáp ứng kháng u) hoặc kháng thể kháng PD1, kháng thể kháng CTLA-4 (các kháng thể ức chế sự kiểm soát mà sẽ cản trở đáp ứng miễn dịch). Các ví dụ bao

gồm ipilimumab (kháng thể kháng CTLA-4) và CT-011 (kháng thể kháng PD1) (Palomba, 2012).

Bệnh ung thư tử cung

Việc điều trị bệnh caxinom màng trong tử cung phụ thuộc vào giai đoạn bệnh. Phần lớn bệnh caxinom màng trong tử cung bao gồm caxinom tuyến màng trong tử cung được biệt hóa ở mức cao đến vừa phải, thường được giới hạn ở thân tử cung khi chẩn đoán và có thể được điều trị bằng cách cắt bỏ tử cung (World Cancer Report, 2014).

Các liệu pháp đối với bệnh ung thư cổ tử cung cung phụ thuộc vào giai đoạn bệnh. Ở giai đoạn sớm, phẫu thuật cắt bỏ là liệu pháp chuẩn, liệu pháp này có thể được kết hợp với liệu pháp xạ trị-(hóa trị). Liệu pháp xạ trị-(hóa trị) làm liệu pháp chính được chọn ở giai đoạn muộn (giai đoạn III và cao hơn), trong các trường hợp có sự thâm nhiễm hạch bạch huyết hoặc các trường hợp trong đó khối u không thể cắt bỏ.

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).

Như đã nêu trên đây, bệnh nhóm virut HPV gây ra các tổn thương mà cuối cùng có thể dẫn đến bệnh ung thư cổ tử cung. Do đó, các protein gây ung thư E6 và E7 của virut HPV được biểu hiện chủ yếu trong các tổn thương ở mức cao và bệnh ung thư và là các protein cần thiết cho sự khởi phát và duy trì kiểu hình ác tính được cho là các đích hứa hẹn của phương pháp điều trị miễn dịch (Hung et al., 2008; Vici et al., 2014). Một nghiên cứu thực hiện liệu pháp tế bào T thích ứng (Adoptive T-cell therapy: ACT) ở các bệnh nhân mắc bệnh ung thư cổ tử cung di căn. Các bệnh nhân được tiêm truyền tế bào T thâm nhiễm khối u (tumor-infiltrating T cells: TILs) có khả năng phản ứng với E6 và E7 tạo ra sự thoái triển bệnh hoàn toàn ở 2 bệnh nhân và sự đáp ứng một phần ở 1 trong số 9 bệnh nhân (Stevanovic et al., 2015). Ngoài ra, kháng thể trong tế bào hướng đích E7 đã được thông báo là ức chế sự phát triển khối u ở

chuột. Ngoài ra, các vacxin trên cơ sở peptit, ADN và tế bào DC hướng đích là E6 và E7 của HPV trong các thử nghiệm lâm sàng (Vici et al., 2014).

Bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật

Caxinom đường mật được xác định chủ yếu ở các giai đoạn tiến triển do bệnh này khó chẩn đoán. Khó điều trị caxinom đường mật và bệnh này thường gây tử vong.

Ung thư túi mật là bệnh ác tính của đường dẫn mật có tính xâm lấn và phổ biến nhất trên thế giới.

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 trị và liệu pháp miễn dịch.

Ở giai đoạn 0 và I, bệnh ung thư bàng quang thường được điều trị bằng cách cắt bỏ qua niệu đạo, sau đó có thể tiến hành liệu pháp hóa trị trong bàng quang và tùy ý kết hợp với phương pháp điều trị miễn dịch trong bàng quang bằng BCG (*bacillus Calmette-Guérin*).

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).

Phương pháp điều trị bằng BCG thường được dung nạp tốt ở các bệnh nhân nhưng có thể có hại, đặc biệt là ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch. Quan sát thấy

sự kháng BCG ở khoảng 30-40% bệnh nhân (Fuge et al., 2015; Steinberg et al., 2016a). Việc điều trị cho các bệnh nhân bị thất bại với liệu pháp BCG là thách thức. Các bệnh nhân bị thất bại với việc điều trị bằng BCG có nguy cơ cao về sự phát triển bệnh xâm lấn cơ. Phẫu thuật cắt bỏ toàn bộ bàng quang là lựa chọn điều trị được ưu tiên cho các bệnh nhân không đáp ứng (Steinberg et al., 2016b; von Rundstedt and Lerner, 2015). FDA đã phê chuẩn liệu pháp hàng thứ hai cho bệnh nhân ung thư bàng quang không xâm lấn cơ và không đáp ứng với BCG mong muốn bảo tồn bàng quang là điều trị bằng chất hóa trị liệu valrubicin. Một số liệu pháp hàng thứ hai khác có thể được sử dụng hoặc cũng đang được đánh giá, dựa trên các phương pháp điều trị miễn dịch như điều trị bằng chất ức chế sự kiểm soát BCG hoặc BCG-interferon kết hợp, tiêm chủng vacxin tiền-BCG qua chân bì, điều trị bằng phức hợp axit nucleic- màng tế bào *Mycobacterium phlei* (MCNA), liệu pháp hóa trị đơn lẻ hoặc kết hợp các chất khác nhau như mitomycin C, gemcitabine, docetaxel, nab-paclitaxel, epirubicin, mitomycin/gemcitabine, gemcitabine/docetaxel, và các liệu pháp hóa trị có thiết bị hỗ trợ như liệu pháp nhiệt hóa, liệu pháp hóa phóng xạ, liệu pháp điện động hoặc liệu pháp quang động (Fuge et al., 2015; Steinberg et al., 2016b; von Rundstedt and Lerner, 2015). Vẫn cần đánh giá thêm về các liệu pháp có thể áp dụng trong các thử nghiệm lâm sàng.

Các lựa chọn điều trị thay thế cho bệnh ung thư bàng quang tiến triển được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng đang diễn ra. Các thử nghiệm lâm sàng này hiện tập trung vào việc phát triển các liệu pháp hướng đích phân tử và liệu pháp miễn dịch. Các liệu pháp hướng đích đánh giá hiệu quả của các chất ức chế con đường liên quan đến sự gây ung thư (nghĩa là mTOR, nội mô mạch, nguyên bào sợi, hoặc thụ thể biểu mô yếu tố sinh trưởng, chất ức chế chống tạo mạch hoặc chất ức chế chu trình tế bào) trong việc điều trị bệnh ung thư bàng quang. Sự phát triển các liệu pháp hướng đích phân tử vẫn là thách thức do tính đa dạng di truyền ở mức cao của bệnh ung thư bàng quang. Trọng tâm chính của liệu pháp miễn dịch hiện nay là phát triển các chất ức chế sự kiểm soát như kháng thể đơn dòng kháng PD1 và sự vận chuyển tế bào T thích ứng (Knollman et al., 2015b; Grivas et al., 2015; Jones et al., 2016; Rouanne et al., 2016).

Caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ

Caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) là các khối u không đồng nhất có sự khác biệt về dịch tễ học, nguyên nhân bệnh và việc điều trị (Economopoulou et al., 2016).

HNSCC được cho là bệnh ức chế miễn dịch, được đặc trưng bởi sự rối loạn điều hòa của các tế bào có thẩm quyền miễn dịch và sự tiết ra xytokin bị suy giảm (Economopoulou et al., 2016). Các chiến lược điều trị miễn dịch giữa khối u âm tính với HPV và khối u dương tính với HPV là khác nhau.

Trong các khối u dương tính với HPV, các protein E6 và E7 gây ung thư của virut biểu hiện đích tốt, do chúng được biểu hiện liên tục bởi các tế bào khối u và là các thành phần thiết yếu để duy trì trạng thái biến nạp của các tế bào ung thư dương tính với HPV. Một vài liệu pháp tiêm chủng vacxin hiện đang được đánh giá đối với bệnh HNSCC dương tính với HPV, bao gồm các vacxin chứa ADN, vacxin chứa peptit và vacxin chứa tế bào đuôi gai (DC). Ngoài ra, thử nghiệm lâm sàng pha II đang diễn ra đánh giá hiệu quả của việc làm cạn kiệt tế bào lymphô, sau đó tự tiêm truyền tế bào TIL ở các bệnh nhân có khối u dương tính với HPV (Economopoulou et al., 2016).

Trong các khối u âm tính với HPV, một số chiến lược điều trị miễn dịch hiện đang được sử dụng và đánh giá. Kháng thể đơn dòng IgG1 thể khảm kháng EGFR lf cetuximab đã được FDA cấp phép sử dụng kết hợp với liệu pháp hóa trị làm phương pháp điều trị chuẩn hàng đầu đối với bệnh HNSCC tái phát/di căn. Các kháng thể đơn dòng khác kháng EGFR, bao gồm panitumumab, nimotuzumab và zalutumumab, được đánh giá đối với bệnh HNSCC. Một số chất ức chế sự kiểm soát miễn dịch được đánh giá trong các thử nghiệm lâm sàng để sử dụng chúng đối với bệnh HNSCC. Các chất này bao gồm các kháng thể sau: Ipilimumab (kháng CTLA-4), tremelimumab (kháng CTLA-4), pembrolizumab (kháng PD-1), nivolumab (kháng PD-1), durvalumab (kháng PD-1), kháng KIR, urelumab (kháng CD137), và kháng LAG-3.

Hai nghiên cứu lâm sàng với các bệnh nhân HNSCC đánh giá việc sử dụng các tế bào DC được tải peptit p53 hoặc tế bào khối u chết theo chương trình. Các đáp ứng miễn dịch như mong muốn và các tác dụng phụ chấp nhận được.

Một số nghiên cứu đã được tiến hành bằng cách sử dụng liệu pháp tế bào T

thích ứng (ACT). Các tế bào T được tạo ra kháng lại các tế bào khối u tự thân được chiếu xạ hoặc EBV. Thu được kết quả hứa hẹn trong việc phòng trừ bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ (Economopoulou et al., 2016).

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 (bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính: 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: GBC, cholangiocarcinoma: CCC), bệnh ung thư bàng quang (urinary bladder cancer: UBC), bệnh ung thư tử cung (uterine cancer: UEC), caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), 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 điều trị bệnh ung thư là lựa chọn hướng đích đặc hiệu của các tế bào ung thư trong khi làm giảm đến mức tối thiểu các tác dụng phụ. Liệu pháp miễn dịch điều trị 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 (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 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 phát hiện được 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 của tế bào T. Ví dụ về 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 các 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 ở 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 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 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 kích thích 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, đã phát hiện được các tế bào khối u biểu hiện các phân tử MHC nhóm II (Dengjel et al., 2006).

Các peptit kéo dài (dài hơn) 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 kích thích 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, 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, việc 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 từ 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 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 sinh 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 kháng thể hoặc các 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 cập đến peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 388 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: 388, 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 cơ sở dữ liệu mARN (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 cập đến peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 388 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: 388, 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 14 axit amin trong toàn bộ chiều dài mạch.

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

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

Sáng chế còn đề cập đến kháng thể đặc hiệu với các 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 cập đến tế bào chủ chứa axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện như được mô tả trên đây. Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 sản 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 sản 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 mô bình thường (cột màu trắng) và các mô ung thư khác nhau (cột màu đen). Fig.1A) Ký hiệu gen: IGFBPL1, Peptit: LLPLLPPLSPSLG (SEQ ID NO: 33) - Các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào (1 tụy), 1 mô bình thường (1 tuyến giáp), 22 mô ung thư (5 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư gan, 10 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tụy, 1 bệnh ung thư dạ dày; Fig.1B) Ký hiệu gen: HIVEP1, Peptit: NYIPVKNGKQF (SEQ ID NO: 103) - Các mô từ trái sang phải: 11 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 8 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt); Fig.1C) Ký hiệu gen: GET4, Peptit: EYLDRIGQLFF (SEQ ID NO: 131) - Các mô từ trái sang phải: 2 mô bình thường (1 thận, 1 phổi), 41 mô ung thư (2 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư thận, 3 bệnh ung thư gan, 29 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 4 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1D) Ký hiệu gen: N4BP2, Peptit: FYINGQYQF (SEQ ID NO: 176) - Các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào (1 tuyến tiền liệt), 3 mô bình thường (1 thận, 1 tuyến yên, 1 da), 67 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư gan, 42 bệnh ung thư phổi, 12 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 7 bệnh ung thư dạ dày). Các hình vẽ từ Fig.1E) đến Fig.1Z) thể hiện sự biểu hiện quá mức của các peptit khác nhau trong các mô ung thư khác nhau so với mô bình thường. Các phép phân tích được thực

hiện với dữ liệu từ hơn 440 mẫu mô bình thường, và 526 mẫu ung thư. Các mẫu được thể hiện chỉ là các mẫu trong đó peptit được phát hiện là có biểu hiện. Fig.1E) Ký hiệu gen: AKR1C1, AKR1C3, Peptit: HLYNNEEQV (SEQ ID NO: 16) - Các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào (tụy), 15 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư thực quản, 6 bệnh ung thư gan, 5 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư bàng quang); Fig.1F) Ký hiệu gen: RPS26P39, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P20,RPS26P15, RPS26P50, RPS26P2, RPS26P25, RPS26P58, Peptit: YVLPKLYVKL (SEQ ID NO: 35) - Các mô từ trái sang phải: 1 mô bình thường (1 mẫu bạch cầu), 8 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 3 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư hạch bạch huyết); Fig.1G) Ký hiệu gen: CLDN4, CLDN3, CLDN14, CLDN6, CLDN9, Peptit: SLLALPQDLQA (SEQ ID NO: 40) - Các mô từ trái sang phải: 21 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư vú, 3 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 6 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư bàng quang, 3 bệnh ung thư tử cung); Fig.1H) Ký hiệu gen: KLHDC7B, Peptit: VLSPFILTL (SEQ ID NO: 42) - Các mô từ trái sang phải: 18 mô ung thư (1 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thận, 6 bệnh ung thư phổi, 3 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư bàng quang, 1 bệnh ung thư tử cung); Fig.1I) Ký hiệu gen: ATR, Peptit: SLLSHVIVA (SEQ ID NO: 53) - Các mô từ trái sang phải: 3 dòng tế bào (1 tế bào máu, 2 tụy), 21 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 1 bệnh ung thư ống mật chủ, 2 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư vú, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư thận, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 4 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 bệnh ung thư buồng trứng, 3 bệnh ung thư da, 1 bệnh ung thư bàng quang); Fig.1J) Ký hiệu gen: PGAP1, Peptit: FITDFYTTV (SEQ ID NO: 66) - Các mô từ trái sang phải: 1 dòng tế bào (da), 1 mô bình thường (1 ruột kết), 13 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 6 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư da, 2 bệnh ung thư bàng quang); Fig.1K) Ký hiệu gen: ZNF679, SAPCD2, Peptit: RLLPKVQEV (SEQ ID NO: 325) - Các mô từ trái sang phải: 4 dòng tế bào (2 tế bào máu, 1 thận, 1 đại tràng), 22 mô ung thư (1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư

vú, 1 bệnh ung thư thực quản, 4 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 10 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư dạ dày, 1 bệnh ung thư bàng quang); Fig.1L) Ký hiệu gen: ZDHHC24, Peptit: VLGPGPPPL (SEQ ID NO: 339) - Các mô từ trái sang phải: 2 dòng tế bào (1 thận, 1 tụy), 19 mô ung thư (4 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư tủy xương, 2 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 bệnh ung thư da, 1 bệnh ung thư tử cung); Fig.1M) Ký hiệu gen: ORC1, Peptit: VYVQILQKL (SEQ ID NO: 111) - Các mô từ trái sang phải: 1 mô bình thường (1 gan), 32 mô ung thư (2 bệnh ung thư gan, 24 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1N) Ký hiệu gen: RIF1, Peptit: IYSFHTLSF (SEQ ID NO: 113) - Các mô từ trái sang phải: 28 mô ung thư (1 tuyến tiền liệt, 1 bệnh ung thư não, 25 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1O) Ký hiệu gen: ANKRD5, Peptit: RYLNKSFVL (SEQ ID NO: 115) - Các mô từ trái sang phải: 1 mô bình thường (1 dạ dày), 25 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư gan, 17 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1P) Ký hiệu gen: IGFLR1, Peptit: RYGLPAAWSTF (SEQ ID NO: 121) - Các mô từ trái sang phải: 20 mô ung thư (2 bệnh ung thư gan, 17 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1Q) Ký hiệu gen: CCR8, Peptit: VYALKVRTI (SEQ ID NO: 145) - Các mô từ trái sang phải: 25 mô ung thư (25 bệnh ung thư phổi); Fig.1R) Ký hiệu gen: CLEC5A, Peptit: SYGTVSQIF (SEQ ID NO: 148) - Các mô từ trái sang phải: 5 mô bình thường (1 gan, 3 phổi, 1 tuyến yên), 100 mô ung thư (10 bệnh ung thư não, 4 bệnh ung thư gan, 74 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 11 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1S) Ký hiệu gen: FOXJ1, Peptit: IYKWITDNF (SEQ ID NO: 155) - Các mô từ trái sang phải: 4 mô bình thường (4 thận), 53 mô ung thư (10 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 26 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 15 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1T) Ký hiệu gen: IFNG, Peptit: KYTSYILAF (SEQ ID NO: 162) - Các mô từ trái sang phải: 3 dòng tế bào (3 tuyến tiền liệt), 4 mô bình thường (1 gan, 1 phổi, 1 tụy, 1 dạ dày), 95 mô ung thư (1 bệnh ung thư thận, 5 bệnh ung thư gan, 71 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 16 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1U) Ký hiệu gen: KLHL11, Peptit: EYFTPLLSGQF (SEQ ID NO: 165) - Các mô từ trái sang phải: 10 mô ung thư (10 bệnh ung thư phổi); Fig.1V) Ký hiệu gen: TMEM189, Peptit:

LYSPVPFTL (SEQ ID NO: 175) - Các mô từ trái sang phải: 42 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 30 bệnh ung thư phổi, 7 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1W) Ký hiệu gen: BUB1, Peptit: EYNSDLHQFF (SEQ ID NO: 345) - Các mô từ trái sang phải: 13 mô ung thư (3 bệnh ung thư não, 10 bệnh ung thư phổi); Fig.1X) Ký hiệu gen: CASC5, Peptit: IYVIPQPHF (SEQ ID NO: 346) - Các mô từ trái sang phải: 21 mô ung thư (3 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư thận, 1 bệnh ung thư gan, 14 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư dạ dày); Fig.1Y) Ký hiệu gen: KIF18A, Peptit: VYNEQIRDLL (SEQ ID NO: 354) - Các mô từ trái sang phải: 13 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 11 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư dạ dày); và Fig.1Z) Ký hiệu gen: PSMA8, PSMA7, Peptit: VFSPDGHLF (SEQ ID NO: 360) - Các mô từ trái sang phải: 33 mô ung thư (4 bệnh ung thư gan, 27 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 1 bệnh ung thư dạ dày).

Fig.2 thể hiện profin biểu hiện làm ví dụ của các gen nguồn theo sáng chế được biểu hiện cao quá mức hoặc chỉ được biểu hiện trong các bệnh ung thư khác nhau trong nhóm mô bình thường (cột màu trắng) và các mẫu ung thư khác nhau (cột màu đen). Fig.2A) Ký hiệu gen: MXRA5 - Các mô từ trái sang phải: 61 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 1 não, 1 tim, 2 gan, 2 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 1 tụy, 1 tuyến yên, 1 trực tràng, 1 cơ vân, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến ức, 1 tuyến giáp, 5 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 3 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tử cung) và 70 mẫu ung thư (10 bệnh ung thư vú, 11 bệnh ung thư phổi, 12 bệnh ung thư buồng trứng, 11 bệnh ung thư thực quản, 26 bệnh ung thư tụy); Fig.2B) Ký hiệu gen: KIF26B - Các mô từ trái sang phải: 61 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 1 não, 1 tim, 2 gan, 2 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 1 tụy, 1 tuyến yên, 1 trực tràng, 1 cơ vân, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến ức, 1 tuyến giáp, 5 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 3 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tử cung) và 58 mẫu ung thư (10 bệnh ung thư vú, 11 bệnh ung thư phổi, 11 bệnh ung thư thực quản, 26 bệnh ung thư tụy); Fig.2C) Ký hiệu gen: IL4I1 - Các mô từ trái sang phải: 61 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 1 não, 1 tim, 2 gan, 2 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1

ruột kết, 1 thực quản, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 1 tụy, 1 tuyến yên, 1 trực tràng, 1 cơ vân, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến ức, 1 tuyến giáp, 5 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 3 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tử cung) và 34 mẫu ung thư (11 bệnh ung thư phổi, 12 bệnh ung thư buồng trứng, 11 bệnh ung thư thực quản); Fig.2D) Ký hiệu gen: TP63 - Các mô từ trái sang phải: 61 mẫu mô bình thường (6 động mạch, 1 não, 1 tim, 2 gan, 2 phổi, 2 tĩnh mạch, 1 mô mỡ, 1 tuyến thượng thận, 5 tủy xương, 1 sụn, 1 ruột kết, 1 thực quản, 2 túi mật, 1 thận, 6 hạch bạch huyết, 1 tụy, 1 tuyến yên, 1 trực tràng, 1 cơ vân, 1 da, 1 ruột non, 1 lách, 1 dạ dày, 1 tuyến ức, 1 tuyến giáp, 5 khí quản, 1 bàng quang, 1 vú, 5 buồng trứng, 3 nhau thai, 1 tuyến tiền liệt, 1 tinh hoàn, 1 tử cung) và 11 mẫu bệnh ung thư thực quản.

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

Fig.4 thể hiện kết quả làm ví dụ của các đáp ứng của 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 tạo mồi bằng cách sử dụng các tế bào APC nhân tạo được phủ kháng thể đơn dòng mAb kháng CD28 và HLA-A*02 trong phức hợp với peptit có trình tự SEQ ID NO: 2 (hình A, ô bên trái), peptit có trình tự SEQ ID NO: 9 (hình B, ô bên trái) và peptit có trình tự SEQ ID NO: 331 (hình C, ô bên trái), tương ứng. Sau ba chu trình kích thích, phát hiện các tế bào có khả năng phản ứng với peptit bằng cách nhuộm multime 2D bằng A*02/ SEQ ID NO: 2 (hình A), A*02/ SEQ ID NO: 9 (hình B) hoặc A*02/ SEQ ID NO: 331 (hình C). Các ô bên phải (A, B và C) thể hiện kết quả nhuộm đối chứng của các tế bào 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 được phát hiện với multime đặc hiệu đối với các peptit khác nhau. Tần suất của các tế bào multime+ đặc hiệu trong số các tế bào lymphô CD8+ được thể hiện.

Fig.5 thể hiện kết quả làm ví dụ của các đáp ứng của tế bào T CD8+ đặc hiệu peptit in vitro của người cho khỏe mạnh dương tính với HLA-A*24+. Các tế bào T CD8+ được tạo mồi bằng cách sử dụng các tế bào APC nhân tạo được phủ kháng thể đơn dòng mAb kháng CD28 và HLA-A*24 trong phức hợp với peptit có trình tự SEQ ID NO: 99 (hình A, ô bên trái), peptit có trình tự SEQ ID NO: 119 (hình B, ô bên trái),

peptit có trình tự SEQ ID NO: 142 (hình C, ô bên trái) và peptit có trình tự SEQ ID NO: 174 (hình D, ô bên trái), tương ứng. Sau ba chu trình kích thích, phát hiện các tế bào có khả năng phản ứng với peptit bằng cách nhuộm multime 2D bằng A*24/ SEQ ID NO: 99 (hình A), A*24/ SEQ ID NO: 119 (hình B), A*24/ SEQ ID NO: 142 (hình C) hoặc A*24/ SEQ ID NO: 174 (hình D). Các ô bên phải (A, B, C và D) thể hiện kết quả nhuộm đối chứng của các tế bào được kích thích bằng phức hợp A*24/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 được phát hiện với multime đặc hiệu đối với các peptit khác nhau. Tần suất của các tế bào multime+ đặc hiệu trong số các tế bào lymphô CD8+ được thể hiện.

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 1A và Bảng 2A đều gắn kết với HLA-A*02. Các peptit trong Bảng 1C và Bảng 2B gắn kết với HLA-A*24. Các peptit trong Bảng 1B gắn kết với alen của HLA nhóm II. Các peptit trong Bảng 3 là các peptit bổ sung gắn kết với HLA-A*24 và có thể hữu ích khi kết hợp với các peptit khác của sáng chế.

Bảng 1A: Các peptit theo sáng chế, gắn kết với HLA-A*02

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
1	PLWGKVFYL	10926	DBF4
2	ALYGKLLKL	157680	VPS13B
3	TLLGKQVTL	157680	VPS13B
4	ELAEIVFKV	203427,349075, 51373	SLC25A43, ZNF713, MRPS17
5	SLFGQEVYC	10840	ALDH1L1
6	FLDPAQRDL	57677	ZFP14
7	AAAAKVPEV	23382	AHCYL2
8	KLGPFLLNA	100508781,65319, 9747	FAM115B, FAM115A
9	FLGDYVENL	54832	VPS13C

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
10	KTLDVFNIIL	54832	VPS13C
11	GVLKVFLENV	121504,554313, 8294,8359,8360, 836, 8362,8363,8364, 8365,8366,8367, 836,8370	HIST4H4, HIST2H4B, HIST1H4I, HIST1H4A, HIST1H4D, HIST1H4F, HIST1H4K, HIST1H4J, HIST1H4C, HIST1H4H, HIST1H4B, HIST1H4E, HIST1H4L, HIST2H4A
12	GLIYEETRGV		
13	VLRDNIQGI		
14	LLDHLSFINKI	64863	METTL4
15	ALGDYVHAC	4588	MUC6
16	HLYNNEEQV	101060798,1645 ,8644	AKR1C1, AKR1C3
17	ILHEHHIFL	4233	MET
18	YVLNEEDLQKV	4233	MET
19	TLLPTVLTL	127707	KLHDC7A
20	ALDGHLYAI	127707	KLHDC7A
21	SLYHRVLLY	57221	KIAA1244
22	MLSDLTLQL	57221	KIAA1244
23	AQTVVVIKA	101059911,4586 ,727897	MUC5AC, MUC5B
24	FLWNGEDSAL	4586,727897	MUC5AC, MUC5B
25	IQADDFRTL	101059911,4586 ,727897	MUC5AC, MUC5B
26	KVDGVVIQL	101059911,4586 ,727897	MUC5AC, MUC5B
27	KVFGDLDQV	169611	OLFML2A
28	TLYSMDLMKV	169611	OLFML2A
29	TLCNKTFTA	26137	ZBTB20
30	TVIDECTRI	26137	ZBTB20
31	ALSDETKNNWEV	5591	PRKDC
32	ILADEAFFSV	5591	PRKDC
33	LLLPLLPPLSPSLG	347252	IGFBPL1
34	LLPKKTESHHKT	8330,8331	HIST1H2AK, HIST1H2AJ

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
35	YVLPKLYVKL	100128168,100996747,441502,6231,643003,644166,644928,644934,646753,728937,729188	RPS26P39, RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P20,RPS26P15, RPS26P50, RPS26P2, RPS26P25, RPS26P58
36	KLYGIEIEV	56107	PCDHGA9
37	ALINDILGELVKL	85463	ZC3H12C
38	KMQEDLVTL	781	CACNA2D1
39	ALMAVVSGL	55103	RALGPS2
40	SLLALPQDLQA	1364,1365,23562,9074,9080	CLDN4, CLDN3, CLDN14, CLDN6, CLDN9
41	FVLPLVVTL	2848	GPR25
42	VLSPFILTL	113730	KLHDC7B
43	LLWAGPVTA	28603	TRBV6-4
44	GLLWQIIKV	5357	PLS1
45	VLGPTPELV	100124692	
46	SLAKHGIVAL	10693	CCT6B
47	GLYQAQVNL	89886	SLAMF9
48	TLDHKPVTV	203447	NRK
49	LLDESKLTL	64097	EPB41L4A
50	EYALLYHTL	26	ABP1
51	LLLDGDFTL	347051	SLC10A5
52	ELLSSIFFL	160418	TMTC3
53	SLLSHVIVA	545	ATR
54	FINPKGNWLL	3673	ITGA2
55	IASAIVNEL	57448	BIRC6
56	KILDLTRVL	79783	C7orf10
57	VLISSTVRL	166379	BBS12
58	ALDDSLTSL	2302	FOXJ1
59	ALTKILAEL	339766	MROH2A

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
60	FLIDTSASM	203522,26512	DDX26B, INTS6
61	HLPDFVKQL	9857	CEP350
62	SLFNQEVQI	100528032,229144,8302	KLRK1, KLRC4
63	TLSSERDFAL	100293534,720,721	C4A,C4B
64	GLSSSSYEL	89866	SEC16B
65	KLDGICWQV	733	C8G
66	FITDFYTTV	80055	PGAP1
67	GVIETVTSL	79895	ATP8B4
68	ALYGFFFKI	118663	BTBD16
69	GIYDGILHSI	158809,392433	MAGEB6, MAGEB6P1
70	GLFSQHFNL	1789	DNMT3B
71	GLITVDIAL	84162	KIAA1109
72	GMIGFQVLL	6006,6007	RHCE,RHD
73	GVPDTIATL	23120	ATP10B
74	ILDETLENV	167227	DCP2
75	ILDNVKNLL	4602	MYB
76	ILLDESNFNHFL	222584	FAM83B
77	IVLSTIASV	10559,154313	SLC35A1, C6orf165
78	LLWGHPRVA	25878	MXRA5
79	SLVPLQILL	101060288,101060295,101060308,343068,343070,400735,440560,440561,441873,645359,653619,729368	PRAMEF5, PRAMEF9, PRAMEF4,PRAMEF11,PRAMEF6, PRAMEF15, PRAMEF23
80	TLDEYLTYL	101060308,343068,343070,653619	PRAMEF5, PRAMEF9, PRAMEF15
81	VLFLGKLLV	204962	SLC44A5
82	VLLRVLIL	102	ADAM10

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
83	ELLEYLPQL	5288	PIK3C2G
84	FLEEEITRV	6570	SLC18A1
85	STLDGSLHAV	2081	ERN1
86	LLVTSLVVV	118471,118472	PRAP1, ZNF511
87	YLTEVFLHVV	55024	BANK1
88	ILLNTEDLASL	388015	RTL1
89	YLVAHNLLL	9365	KL
90	GAVAEEVLSSI	340273	ABCB5
91	SSLEPQIQPV	23029	RBM34
92	LLRGPPVARA	3486	IGFBP3
93	SLLTQPIFL	151295	SLC23A3

Bảng 1B: Các peptit theo sáng chế, gắn kết với HLA nhóm II

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
94	LKMENKEVLPQLVDAVTS	4547	MTTP
95	GLYLPLFKPSVSTSKAIGGGP	10165	SLC25A13

Bảng 1C: Các peptit theo sáng chế, gắn kết với HLA-A*24

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
96	YYTQYSQTI	25878	MXRA5
97	TYTFLKETF	203238	CCDC171
98	VFPRLHNVLF	9816	URB2
99	QYILAVPVL	91147	TMEM67
100	VYIESRIGTSTSF	10112	KIF20A
101	IYIPVLPPHL	163486	DENND1B
102	VYPFENFEF	127700	OSCP1
103	NYIPVKNGKQF	3096	HIVEP1
104	SYLTWHQQI	125919	ZNF543
105	IYNETITDLL	1062	CENPE

106	IYNETVRDLL	3833	KIFC1
107	KYFPYLVVI	80131	LRRC8E
108	PYLVVIHTL	80131	LRRC8E
109	LFITGGQFF	114134	SLC2A13
110	SYPKIIEEF	2177	FANCD2
111	VYVQILQKL	4998	ORC1
112	IYNFVESKL	4998	ORC1
113	IYSFHTLSF	55183	RIF1
114	QYLDGTWSL	55083	KIF26B
115	RYLNKSFVL	63926	ANKRD5
116	AYVIAVHLF	10178	TENM1
117	IYLSDLTYI	55103	RALGPS2
118	KYLNSVQYI	55103	RALGPS2
119	VYRVYVTTF	57089	ENTPD7
120	GYIEHFSLW	5069	PAPPA
121	RYGLPAAWSTF	79713	IGFLR1
122	EYQARIPEF	55758	RCOR3
123	VYTPVLEHL	5591	PRKDC
124	TYKDYVDLF	5591	PRKDC
125	VFSRDFGLLVF	5591	PRKDC
126	PYDPALGSPSRLF	389058	SP5
127	QYFTGNPLF	3237	HOXD11
128	VYPFDWQYI	7941	PLA2G7
129	KYIDYLMTW	55233,92597	MOB1A, MOB1B
130	VYAHIYHQHF	55233,92597	MOB1A, MOB1B
131	EYLDRIGQLFF	51608	GET4
132	RYPALFPVL	11237	RNF24
133	KYLEDMKTYF	5273	SERPINB10
134	AYIPTPIYF	81796	SLCO5A1
135	VYEAMVPLF	85465	EPT1
136	IYPEWPVVFF	51146	A4GNT

137	EYLHNCSYF	25909,285116	AHCTF1, AHCTF1P1
138	VYNAVSTSF	79915	ATAD5
139	IFGIFPNQF	79895	ATP8B4
140	RYLINSYDF	84002	B3GNT5
141	SYNGHLTIWF	56245	C21orf62
142	VYVDDIYVI	57082	CASC5
143	KYIFQLNEI	347475	CCDC160
144	VFASLPGFLF	1233	CCR4
145	VYALKVRTI	1237	CCR8
146	NYYERIHAL	8832	CD84
147	LYLAFPLAF	253782	CERS6
148	SYGTVSQIF	23601	CLEC5A
149	SYGTVSQI	23601	CLEC5A
150	IYITRQFVQF	81501	DCSTAMP
151	AYISGLDVF	8632	DNAH17
152	KFFDDLGDELLF	8632	DNAH17
153	VYVPFGGKSMITF	146754	DNAH2
154	VYGVPTPHF	151651	EFHB
155	IYKWITDNF	2302	FOXJ1
156	YYMELTKLLL	51659	GINS2
157	DYIPASGFALF	84059	GPR98
158	IYEETRGVLKVF	121504, 554313, 8294, 8359, 8360, 8361, 8362, 8363, 8364, 8365, 8366, 8367, 8368, 8370	HIST4H4, HIST2H4B, HIST1H4I, HIST1H4A, HIST1H4D, HIST1H4F, HIST1H4K, HIST1H4J, HIST1H4C, HIST1H4H, HIST1H4B, HIST1H4E, HIST1H4L, HIST2H4A
159	IYEETRGVL		

160	RYGDGGSSF	3188	HNRNPH2
161	KYPDIVQQF	29851	ICOS
162	KYTSYILAF	3458	IFNG
163	RYLTISNLQF	28785	IGLV4-60
164	HYVPATKVF	259307	IL4I1
165	EYFTPLLSGQF	55175	KLHL11
166	FYTLPFHLI	55175	KLHL11
167	RYGFYYVEF	197021	LCTL
168	RYLEAALRL	10609	LEPREL4
169	NYITGKGDVF	84125	LRRIQ1
170	QYPFHVPLL	4049	LTA
171	NYEDHFPLL	4109	MAGEA10
172	VFIFKGNEF	4319	MMP10
173	QYLEKYYNL	4319	MMP10
174	VYEKNGYIYF	4322	MMP13
175	LYSPVPFTL	387521	TMEM189
176	FYINGQYQF	55728	N4BP2
177	VYFKAGLDVF	254827	NAALADL2
178	NYSSAVQKF	4983	OPHN1
179	TYIPVGLGRLL	58495	OVOL2
180	KYLQVVGMF	5021	OXTR
181	VYPPYLNYL	5241	PGR
182	AYAQLGYLLF	9033	PKD2L1
183	PYLQDVPRI	92340	C17orf72
184	IYSVGAFENF	389677	RBM12B
185	QYLVHVNDL	23322	RPGRIP1L
186	VFTTSSNIF	10371	SEMA3A
187	AYAANVHYL	151473	SLC16A14
188	GYKTFFNEF	64078	SLC28A3
189	AYFKQSSVF	54790	TET2
190	LYSELTETL	54790	TET2
191	TYPDGTYTGRIF	201633	TIGIT

192	RYSTFSEIF	8277	TKTL1
193	LYLENNAQTQF	8626	TP63
194	VYQSLSNSL	286827	TRIM59
195	AYIKGGWIL	125488	TTC39C
196	GYIRGSWQF	79465	ULBP3
197	IFTDIFHYL	54464	XRN1
198	DYVGFTLKI	19	ABCA1
199	SYLNHLNNL	154664	ABCA13
200	VFIHHLPQF	116285	ACSM1
201	GYNPNRVFF	158067	AK8
202	RYVEGIVSL	246	ALOX15
203	VYNVEVKNAEF	84250	ANKRD32
204	EYLSTCSKL	196528	ARID2
205	VYPVVLNQI	79798	ARMC5
206	NYLDVATFL	10973	ASCC3
207	LYSDAFKFIVF	344905	ATP13A5
208	TYLEKIDGF	100526740,26024,9551	ATP5J2-PTCD1, PTCD1, ATP5J2
209	AFIETPIPLF	631	BFSP1
210	IYAGVGEFSF	701	BUB1B
211	VFKSEGAYF	375444	C5orf34
212	SYAPPSEDLF	100533105,23678	SGK3
213	SYAPPSEDLFL	100533105,23678	SGK3
214	KYLMELTLI	9133	CCNB2
215	SYVASFFLL	9398	CD101
216	FYVNVKEQF	79682	MLF1IP
217	IYISNSIYF	54967	CXorf48
218	LYSELNKWSF	1591	CYP24A1
219	SYLKAVFNL	163720,199974	CYP4Z2P, CYP4Z1
220	SYSEIKDFL	64421	DCLRE1C
221	KYIGNLDLL	8701	DNAH11
222	HYSTLVHMF	8701	DNAH11

223	TFITQSPLL	1767	DNAH5
224	PYFFANQEF	79843	FAM124B
225	TYTNTLERL	55719	FAM178A
226	MYLKLVQLF	2175	FANCA
227	IYRFITERF	2301	FOXE3
228	IYQYVADNF	2299	FOXI1
229	IYQFVADSF	344167	FOXI3
230	TYGMVMVTF	84059	GPR98
231	AFADVSVKF	84059	GPR98
232	YYLSDSPLL	51512	GTSE1
233	QYLTAAALHNL	3552	IL1A
234	SYLPAIWLL	3641	INSL4
235	VYKDSIYYI	84541	KBTBD8
236	VYLPKIPSW	157855	KCNU1
237	KYVGQLAVL	9928	KIF14
238	SYLEKVRQL	100653049,3881,3883,3884,3885,3886	KRT31, KRT33A, KRT33B, KRT34, KRT35
239	VYAIFRILL	987	LRBA
240	YYFFVQEKI	84944	MAEL
241	SYVKVLHHL	101060230,4111	MAGEA12
242	VYGEPRELL	392555,51438	MAGEC2
243	SYLELANTL	4163	MCC
244	VHFEDTGKTLLF	4322	MMP13
245	LYPQLFVVL	377711,727957	MROH1
246	KYLSVQLTL	339766	MROH2A
247	SFTKTSPNF	200958	MUC20
248	AFPTFSVQL	4588	MUC6
249	RYHPTTCTI	4608	MYBPH
250	KYPDIASPTF	89795	NAV3
251	VYTKALSSL	64151	NCAPG
252	AFGQETNVPLNNF	4695	NDUFA2

253	IYGFFNENF	10886	NPFFR2
254	KYLESSATF	91181	NUP210L
255	VYQKIILKF	139135	PASD1
256	VFGKSAYLF	118987	PDZD8
257	IFIDNSTQPLHF	5288	PIK3C2G
258	AYAQLGYLL	9033	PKD2L1
259	YFIKSPPSQLF	79949	PLEKHS1
260	VYMNVMTRL	5523	PPP2R3A
261	GYIKLINFI	10196	PRMT3
262	VYSSQFETI	23362	PSD3
263	RYILENHDF	442247	RFPL4B
264	LYTETRLQF	26150	RIBC2
265	SYLNEAFSF	286205	SCAI
266	KYTDWTEFL	57713	SFMBT2
267	SFLNIEKTEILF	347051	SLC10A5
268	IFITKALQI	159371	SLC35G1
269	QYPYLQAFF	146857	SLFN13
270	YYSQESKVLYL	55181	SMG8
271	RFLMKSYSF	8435	SOAT2
272	RYVFPLPYL	8403	SOX14
273	IYGEKLQFIF	57405	SPC25
274	KQLDIANYELF	51430	SUCO
275	KYGTLDVTF	255928	SYT14
276	QYLDVLHAL	51256	TBC1D7
277	FYTFPFQQL	6996	TDG
278	KYVNLVMYF	116238	TLCD1
279	VWLPASVLF	85019	TMEM241
280	TYNPNLQDKL	5651	TMPRSS15
281	NYSPGLVSLIL	28677	TRAV9-2
282	NYLVDPVTI	129868,653192	TRIM43, TRIM43B
283	EYQEIFQQL	129868,653192	TRIM43, TRIM43B

284	DYLKDPVTI	391712,653794	TRIM61, TRIM60P14
285	VYVGDALLHAI	7223	TRPC4
286	SYGTILSHI	54986	ULK4
287	IYNPNLLTASKF	81839	VANGL1
288	VYPDTVALTF	284403	WDR62
289	FFHEGQYVF	389668	XKR9
290	KYGDFKLLEF	143570	XRRA1
291	YYLGSGRETF	152002	XXYLT1
292	FYPQIINTF	79776	ZFHX4
293	VYPHFSTTNLI	79776	ZFHX4
294	RFPVQGTVTF	79818	ZNF552
295	SYLVIHERI	84775	ZNF607
296	SYQVIFQHF	344905	ATP13A5
297	TYIDTRTVF	827	CAPN6
298	AYKSEVVYF	441402,728577,79937	CNTNAP3B, CNTNAP3
299	KYQYVLNEF	400823	FAM177B
300	TYPSQLPSL	26290	GALNT8
301	KFDDVTMLF	2977	GUCY1A2
302	LYLPVHYGF	253012	HEPACAM2
303	LYSVIKEDF	285600	KIAA0825
304	EYNEVANLF	57097	PARP11
305	NYENKQYLF	144406	WDR66
306	VYPAEQPQI	2334	AFF2
307	GYAFTLPLF	440138	ALG11
308	TFDGHGVFF	29785	CYP2S1
309	KYYRQTLLF	27042	DIEXF
310	IYAPTLLVF	23341	DNAJC16
311	EYLQNLNHI	79659	DYNC2H1
312	SYTSVLSRL	57724	EPG5
313	KYTHFIQSF	26301	GBGT1
314	RYFKGDYSI	3709	ITPR2

315	FYIPHVPVSF	89866	SEC16B
316	VYFEGSDFKF	55164	SHQ1
317	VFDTSIAQLF	6477	SIAH1
318	TYSNSAFQYF	28672	TRAV12-3
319	KYSDVKNLI	57623	ZFAT
320	KFILALKVLF	6790	AURKA

Bảng 2A: Các peptit bổ sung theo sáng chế, gắn kết với HLA-A*02

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
321	SLWFKPEEL	4831,654364	NME2, NME1-NME2
322	ALVSGGVAQA	64326	RFWD2
323	ILSVVNSQL	80183	KIAA0226L
324	AIFDFCPSV	23268	DNMBP
325	RLLPKVQEV	168417,89958	ZNF679, SAPCD2
326	SLLPLVWKI	1130	LYST
327	SIGDIFLKY	1894	ECT2
328	SVDSAPAAV	10635	RAD51AP1
329	FAWEPSFRDQV	1244	ABCC2
330	FLWPKEVEL	146206	RLTPR
331	AIWKELISL	55183	RIF1
332	AVTKYTSAK	54145,85236,8970	H2BFS, HIST1H2BK, HIST1H2BJ
333	GTFLEGVAK	126328	NDUFA11
334	GRADALRVL	79713	IGFLR1
335	VLLAAGPSAA	23225	NUP210
336	GLMDGSPHFL	157680	VPS13B
337	KVLGKIEKV	987	LRBA
338	LLYDGKLSSA	987	LRBA
339	VLGPGPPPL	254359	ZDHHC24
340	SVAKTILKR	55233,92597	MOB1A, MOB1B

Bảng 2B: Các peptit bổ sung theo sáng chế, gắn kết với HLA-A*24

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
341	SYLTQHQRI	162655,344065,9422	ZNF519, ZNF264
342	NYAFLHRTL	200316,9582	APOBEC3F, APOBEC3B
343	NYLGGTSTI	367	AR
344	EYNSDLHQF	699	BUB1
345	EYNSDLHQFF	699	BUB1
346	IYVIPQPHF	57082	CASC5
347	VYAEVNSL	1459	CSNK2A2
348	IYLEHTESI	2177	FANCD2
349	QYSIISNVF	28982	FLVCR1
350	KYGNFIDKL	85865	GTPBP10
351	IFHEVPLKF	728432,79664	NARG2
352	QYGGDLTNTF	3673	ITGA2
353	TYGKIDLGF	57650	KIAA1524
354	VYNEQIRDLL	81930	KIF18A
355	IYVTGGHLF	113730	KLHDC7B
356	NYMPGQLTI	346389	MACC1
357	QFITSTNTF	94025	MUC16
358	YYSEVPVKL	25878	MXRA5
359	NYGVLHVTF	204801	NLRP11
360	VFSPDGHLF	143471,5688	PSMA8, PSMA7
361	TYADIGGLDNQI	5700	PSMC1
362	VYNYAEQTL	100526737,10432,5936	RBM14-RBM4, RBM14, RBM4
363	SYAELGTTI	23657	SLC7A11
364	KYLNENQLSQL	6491	STIL
365	VFIDHPVHL	26011	TENM4
366	QYLELAHSL	4796	TONSL
367	LYQDHMQYI	7474	WNT5A
368	KYQNVKHNL	79830	ZMYM1

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
369	VYTHEVVTL	983	CDK1
370	RFIGIPNQF	79659	DYNC2H1
371	AYSHLRYVF	2195	FAT1
372	VYVIEPHSMEF	23225	NUP210
373	GYISNGELF	116143,5534,5535	WDR92, PPP3R1, PPP3R2
374	VFLPRVTEL	5591	PRKDC
375	KYTDYILKI	374462	PTPRQ
376	VYTPVASRQSL	56852	RAD18
377	QYTPHSHQF	57521	RPTOR
378	VYIAELEKI	27127	SMC1B
379	VFIAQGYTL	160418	TMTC3
380	VYTGIDHHW	25879	DCAF13
381	KYPASSSVF	3217	HOXB7
382	AYLPPLQQVF	26523	EIF2C1
383	RYKPGEPITF	163486	DENND1B
384	RYFDVGLHNF	55733	HHAT
385	QYIEELQKF	55103	RALGPS2
386	TFSDVEAHF	55609	ZNF280C
387	KYTEKLEEI	95681	CEP41
388	IYGEKTYAF	5273	SERPINB10

Bảng 3: Các peptit hữu ích cho liệu pháp điều trị bệnh ung thư theo sáng chế, ví dụ, liệu pháp điều trị bệnh ung thư được cá nhân hóa

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
389	EYLPEFLHTF	154664	ABCA13
390	RYLWATVTI	259266	ASPM
391	LYQILQGIVF	983	CDK1
392	RYLDSLKAIVF	55839	CENPN
393	KYIEAIQWI	81501	DCSTAMP

SEQ ID No.	Trình tự	(các) GenID	(các) ký hiệu gen chính thức
394	FYQPKIQQF	55215	FANCI
395	LYINKANIW	55632	G2E3
396	YYHFIFTTL	2899	GRIK3
397	IYNGKLFDL	11004	KIF2C
398	IYNGKLFDLL	11004	KIF2C
399	SYIDVLPEF	4233	MET
400	KYLEKYYNL	4312	MMP1
401	VFMKDGFFYF	4312	MMP1
402	VWSDVTPLTF	4320	MMP11
403	TYKYVDINTF	4321	MMP12
404	RYLEKFYGL	4321	MMP12
405	NYPKSIHSF	4321	MMP12
406	TYSEKTTLF	94025	MUC16
407	VYGIRLEHF	83540	NUF2
408	QYASRFVQL	10733	PLK4
409	YFISHVLAF	6241	RRM2
410	RFLSGIINF	83540	NUF2
411	VYIGHTSTI	23499,93035	MACF1, PKHD1L1
412	SYNPLWLRI	259266	ASPM
413	NYLLYVSNF	4486	MST1R
414	MYPYIYHVL	54954	FAM120C
415	SYQKVIELF	55872	PBK
416	AYSDGHFLF	26011	TENM4
417	VYKVVGNLL	128239	IQGAP3

Nói chung, sáng chế còn đề cập đến các peptit theo sáng chế để sử dụng trong việc điều trị các bệnh tăng sinh, ví dụ như u nguyên bào xốp (GB), bệnh ung thư vú (BRCA), bệnh ung thư kết-trực tràng (CRC), caxinom tế bào thận (RCC), bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (CLL), caxinom tế bào gan (hepatocellular carcinoma: HCC), bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (NSCLC,

SCLC), u lymphô không Hodgkin (NHL), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), bệnh ung thư buồng trứng (OC), bệnh ung thư tụy (PC), bệnh ung thư tuyến tiền liệt (PCA), bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản (OSCAR), bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật (GBC, CCC), u melanin (MEL), bệnh ung thư dạ dày (GC), bệnh ung thư tinh hoàn (testis cancer: TC), bệnh ung thư bàng quang (UBC), caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), và bệnh ung thư tử cung (UEC).

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: 388. 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: 295 (xem Bảng 1A, B, C), và sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch điều trị u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung.

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 SEQ ID NO: 70, 80, 323, và 325. Được ưu tiên hơn là các peptit– một mình hoặc kết hợp - được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 70, 80, 323, và 325, và sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch điều trị u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung.

Cũng được ưu tiên là các peptit – một mình hoặc kết hợp - theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 391, và 403. Được ưu tiên hơn là các peptit– một mình hoặc kết hợp - được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 391, và 403, và sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch điều trị u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung.

Như được thể hiện trong Ví dụ 1, nhiều peptit trong số các peptit theo sáng chế được tìm thấy trên nhiều loại khối u khác nhau và do đó, cũng có thể được sử dụng trong liệu pháp miễn dịch của nhiều loại chỉ định khác nhau. Sự biểu hiện quá mức của các polypeptit cơ sở trong nhiều loại bệnh ung thư, như được thể hiện trong Ví dụ 2, gợi ý về tính hữu ích của các peptit này trong nhiều chỉ định ung thư khác nhau.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng các peptit theo sáng chế để - tốt hơn là được kết hợp - điều trị bệnh tăng sinh được chọn từ nhóm bao gồm u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung.

Sáng chế còn 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 ở người hoặc - ở dạng kéo dài, như biến thể theo chiều dài- MHC nhóm -II.

Sáng chế còn đề cập đến các peptit theo sáng chế trong đó (mỗi) peptit này

gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin theo các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 388.

Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến 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.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến peptit không có trong tự nhiên, trong đó peptit này bao gồm hoặc chủ yếu bao gồm trình tự axit amin theo trình tự từ SEQ ID No: 1 đến SEQ ID No: 48 và được sản xuất bằng phương pháp tổng hợp (ví dụ, được tổng hợp) dưới dạng muối dược dụng. Các phương pháp sản xuất peptit tổng hợp là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Các muối của peptit theo sáng chế khác biệt về cơ bản với peptit ở (các) trạng thái *in vivo* của chúng, như peptit được tạo ra *in vivo* không là muối. Dạng muối không có trong tự nhiên của peptit điều chỉnh độ tan của peptit này, cụ thể là trong trường hợp các dược phẩm chứa peptit, ví dụ, vacxin peptit như được bộc lộ ở đây. Độ tan đủ và ít nhất là đáng kể của (các) peptit là cần thiết để cung cấp peptit hữu hiệu cho đối tượng cần điều trị. Tốt hơn, nếu các muối này là muối dược dụng của peptit. Các muối theo sáng chế này bao gồm các muối kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ như các muối của dãy Hofmeister bao gồm các anion PO_4^{3-}, SO_4^{2-}, CH_3COO^-, Cl^-, Br^-, NO_3^-, ClO_4^-, I^-, SCN^- và các cation NH_4^+, Rb^+, K^+, Na^+, Cs^+, Li^+, Zn^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+} và Ba^{2+}. Các muối cụ thể được chọn từ $(NH_4)_3PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)H_2PO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4CH_3COO, NH_4Cl, NH_4Br, NH_4NO_3, NH_4ClO_4, NH_4I, NH_4SCN, Rb_3PO_4, Rb_2HPO_4, RbH_2PO_4, Rb_2SO_4, Rb_4CH_3COO, Rb_4Cl, Rb_4Br, Rb_4NO_3, Rb_4ClO_4, Rb_4I, Rb_4SCN, K_3PO_4, K_2HPO_4, KH_2PO_4, K_2SO_4, KCH_3COO, KCl, KBr, KNO_3, $KClO_4$, KI, KSCN, Na_3PO_4, Na_2HPO_4, NaH_2PO_4, Na_2SO_4, $NaCH_3COO$, NaCl, NaBr, $NaNO_3$, $NaClO_4$, NaI, NaSCN, $ZnCI_2$ Cs_3PO_4, Cs_2HPO_4, CsH_2PO_4, Cs_2SO_4, $CsCH_3COO$, CsCl, CsBr, $CsNO_3$, $CsClO_4$, CsI, CsSCN, Li_3PO_4, Li_2HPO_4, LiH_2PO_4, Li_2SO_4, $LiCH_3COO$, LiCl, LiBr, $LiNO_3$, $LiClO_4$, LiI, LiSCN, Cu_2SO_4, $Mg_3(PO_4)_2$, Mg_2HPO_4, $Mg(H_2PO_4)_2$, Mg_2SO_4, $Mg(CH_3COO)_2$,

$MgCl_2$, $MgBr_2$, $Mg(NO_3)_2$, $Mg(ClO_4)_2$, MgI_2, $Mg(SCN)_2$, $MnCl_2$, $Ca_3(PO_4)$,, Ca_2HPO_4, $Ca(H_2PO_4)_2$, $CaSO_4$, $Ca(CH_3COO)_2$, $CaCl_2$, $CaBr_2$, $Ca(NO_3)_2$, $Ca(ClO_4)_2$, CaI_2, $Ca(SCN)_2$, $Ba_3(PO_4)_2$, Ba_2HPO_4, $Ba(H_2PO_4)_2$, $BaSO_4$, $Ba(CH_3COO)_2$, $BaCl_2$, $BaBr_2$, $Ba(NO_3)_2$, $Ba(ClO_4)_2$, BaI_2, và $Ba(SCN)_2$. Được đặc biệt ưu tiên là các muối NH axetat, $MgCl_2$, KH_2PO_4, Na_2SO_4, KCl, NaCl, và $CaCl_2$, ví dụ như muối clorua hoặc axetat (trifloaxetat).

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 gradien axetonitril/nước.

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

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

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

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

Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến tế bào chủ chứa axit nucleic theo sáng chế hoặc vectơ biểu hiện như được mô tả trên đây. Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 chứa trình tự từ SEQ ID No. 1 đến SEQ ID No.: 388, tốt hơn là chứa trình tự từ SEQ ID No. 1 đến SEQ ID No. 295, hoặc trình tự axit amin của biến thể.

Sáng chế còn đề cập đến 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 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 u nguyên bào xốp, ung thư vú, ung thư kết-trực tràng, caxinom tế

bào thận, bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, ung thư phổi tế bào không nhỏ và ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bạch cầu tủy bào cấp tính, ung thư buồng trứng, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư thực quản bao gồm cả ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, ung thư dạ dày, ung thư tinh hoàn, ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc ung thư tử cung.

Sáng chế còn đề cập đến 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung. 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 vùng 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.

Cả ứng dụng trong điều trị và chẩn đoán đối với các bệnh ung thư khác đều được bộc lộ trong phần mô tả chi tiết thêm sau đây của các sản phẩm biểu hiện cơ sở (polypeptit) của peptit theo sáng chế.

A4GNT thường được biểu hiện trong các tế bào ung thư tụy nhưng không được biểu hiện trong các tế bào máu ngoại vi và phương pháp phân tích định lượng mARN

của A4GNT được biểu hiện trong phân đoạn tế bào đơn nhân của máu ngoại vi sẽ góp phần vào việc phát hiện bệnh ung thư tụy (Ishizone et al., 2006). mARN của A4GNT có thể phát hiện ở 80% bệnh nhân ở giai đoạn sớm của bệnh ung thư dạ dày khi tế bào ung thư được giới hạn ở niêm mạc dạ dày, và mức độ biểu hiện của mARN của A4GNT tăng lên có liên quan với sự tiến triển khối u (Shimizu et al., 2003).

Sự biểu hiện của ABCC2 được điều hòa tăng trong caxinom ống dẫn trứng nguyên phát có liên quan với sự tiên lượng xấu (Halon et al., 2013).

Ở bệnh ung thư ở người, ADAM10 được điều hòa tăng, với nồng độ thường có tương quan với các thông số của sự tiến triển khối u và hiệu quả điều trị kém. Trong các mô hình cận lâm sàng, chất ức chế chọn lọc đối với ADAM10 đã được chứng minh là có tác dụng hiệp đồng với các liệu pháp hiện nay trong việc làm giảm sự phát triển của khối u (Duffy et al., 2009).

AHCYL2 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong caxinom ruột kết và trong nhóm phụ của caxinom phổi (Lleonart et al., 2006). sự biểu hiện mARN của AHCYL2 được mô tả là có khả năng liên quan đến sự kiểm soát chức năng của p53 cũng như con đường ras-MAPK, sự metyl hóa và các chương trình tế bào phiên mã, và do đó AHCYL2 có thể là gen ức chế sự điều hòa liên quan đến các khối u ruột kết và phổi ở người (Lleonart et al., 2006).

AKR1C1 đóng vai trò trong sự kháng cisplatin ở các tế bào ung thư cổ tử cung, buồng trứng và phổi bao gồm sự khử phân cực màng ty thể, sự sản sinh và hoạt hóa ROS của con đường JNK (Chen et al., 2015). Đã phát hiện được nồng độ AKR1C1 trong khối u đáp ứng với liệu pháp hóa trị tân bổ trợ là cao hơn đáng kể so với các khối u không đáp ứng (Hlavac et al., 2014).

Sự biểu hiện của AKR1C3 đã được chứng minh là có tương quan tích cực với điểm số Gleason tăng lên ở bệnh ung thư tuyến tiền liệt, điều này cho thấy rằng AKR1C3 có thể dùng làm dấu ấn sinh học hứa hẹn đối với sự tiến triển của bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Tian et al., 2014). AKR1C3 đã được chứng minh là có tác dụng xúc tác sự khử 4-androsten-3,17-dion thành testosteron và estron thành 17β-estradiol, điều này kích thích sự tăng sinh của bệnh ung thư vú và bệnh ung thư tuyến tiệt liệt phụ thuộc hormon tương ứng (Byrns et al., 2011). AKR1C3 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và caxinom tế

bào vảy ở da (Byrns et al., 2011; Mantel et al., 2014). AKR1C3 đã được chứng minh là dấu ấn trong dấu hiệu gen để có thể phân biệt bệnh nhân đáp ứng với bệnh nhân không đáp ứng khi điều trị bằng liệu pháp hóa trị-xạ trị cho các bệnh nhân mắc bệnh ung thư trực tràng tiến triển cục bộ (Agostini et al., 2015). AKR1C3 đã được chứng minh là có liên quan đến sự kháng doxorubicin ở bệnh ung thư vú ở người bằng cách hoạt hóa con đường PTEN/Akt kháng lại sự chết tế bào theo chương trình qua sự mất gen ức chế khối u PTEN (Zhong et al., 2015). AKR1C3 đã được chứng minh là có liên quan đến nguy cơ bệnh ung thư phổi cao hơn trong số những người từ một quận của Trung Quốc đã tiếp xúc với sự phát thải khí than (Li et al., 2015a). AKR1C3 được mô tả là dấu ấn điều trị tiềm năng của ung thư rau, chất này cũng liên quan đến sự phát triển sự kháng methotrexate ở bệnh này (Zhao et al., 2014a).

Sự biểu hiện của ALDH1L1 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trongn HCC và u thần kinh đệm. Sự điều hòa giảm ALDH1L1 trong các bệnh ung thư này có liên quan đến sự tiên lượng xấu hơn và kiểu hình xâm lấn hơn (Chen et al., 2012; Rodriguez et al., 2008).

ALOX15 có mặt ở mức cao trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt (PCa), bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư vú, u melanin, và caxinom tuyến ruột kết khi so sánh với mô bình thường (Kelavkar et al., 2002). Hoạt tính enzym của ALOX15 góp phần vào sự khơi mào và tiến triển PCa (Kelavkar et al., 2007).

AR có liên quan đến sự phát triển các bệnh ung thư khác nhau như bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến tiền liệt kháng phẫu thuật cắt bỏ, bệnh ung thư vú, u nguyên bào xốp đa dạng, bệnh ung thư ruột kết và dạ dày (Wang et al., 2009b; Yu et al., 2015b; Mehta et al., 2015; Wang et al., 2015a; Sukocheva et al., 2015). Ngoài việc kích thích sự tăng sinh bệnh ung thư tuyến tiền liệt, sự truyền tín hiệu androgen qua AR dẫn đến sự chết theo chương trình bằng cách gây ra sự biểu hiện của p21 (WAF1/CIP1), chất ức chế kinaza phụ thuộc xyclin (Yeh et al., 2000).

Các đột biến trong ARMC5 gây ra sự tạo u sản sinh ra cortisol có các nốt sần lớn, sự tăng sản có nốt sần lớn ở hai bên, sự tăng sản thượng thận có nốt sần lớn nguyên phát, và u màng não (Espiard and Bertherat, 2015; Kirschner and Stratakis, 2016; Elbelt et al., 2015).

Các nghiên cứu hệ gen dược học cho thấy reveal mối tương quan giữa ATAD5

và các chất kháng ung thư (Abaan et al., 2013). ATAD5 được điều hòa tăng đáng kể trong các khối u vỏ dây thần kinh ngoại biên ác tính (Pasmant et al., 2011). Protein X của virut viêm gan B (HBV) làm tăng đáng kể sự biểu hiện của ATAD5 trong caxinom tế bào gan liên quan đến virut HBV (Ghosh et al., 2016). Sự mất ATAD5 gây chết phôi ở chuột, nó đóng vai trò làm gen ức chế khối u ở cả chuột và người, và nó tương tác với các thành phần của con đường gây thiếu máu Fanconi ở người. Hơn nữa, nó có thể gây ra một số kiểu hình liên quan đến bệnh u xơ thần kinh, bệnh di truyền có nguy cơ cao về sự phát triển của khối u (Gazy et al., 2015; Jenne et al., 2001). Các biến thể của locus gen ATAD5 có liên quan đến nguy cơ bệnh ung thư buồng trứng biểu mô (Kuchenbaecker et al., 2015). ATAD5 có ảnh hưởng đến ít nhất một kiểu hình động vật có vú của bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Li et al., 2014).

Sự biểu hiện của ATP10B được điều hòa giảm trong các tế bào u thần kinh đệm xâm lấn ở mức cao và liên quan đến đặc tính xâm lấn (Tatenhorst et al., 2004).

ATP8B4 có thể là dấu hiệu tiên lượng và đích điều trị ở các bệnh nhân mắc bệnh đa u tủy và các bệnh thực thể khác (US Patent No. 20070237770 A1) (Ni et al., 2012).

ATR mã hóa ATR serin/threonin kinaza, enzym thuộc về họ PI3/PI4-kinaza. Quan sát được số lượng bản sao thu được, sự khuếch đại, hoặc sự chuyển dịch của gen ATR trong dòng tế bào caxinom tế bào vảy ở miệng (Parikh et al., 2014). Đã chứng minh được rằng việc cắt ngắn các đột biến ATR trong bệnh ung thư màng trong tử cung có liên quan với thời gian sống không bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ giảm (Zighelboim et al., 2009).

B3GNT5 được biểu hiện quá mức trong bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, và caxinom phôi chuột và sự biểu hiện của nó có tương quan ngược với sự metyl hóa gen khởi đầu trong u nguyên bào xốp (Ogasawara et al., 2011; Etcheverry et al., 2010; Wang et al., 2012). Sự điều hòa giảm B3GNT5 thông qua miRNA-203 có thể góp phần vào sự ác tính của caxinom tế bào vảy hạ hầu (Wang et al., 2015g). B3GNT5 có liên quan với sự sống của bệnh nhân ung thư vú (Potapenko et al., 2015).

Sự biểu hiện của Bub1 tăng lên trong các nhóm phụ của u lymphô, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư dạ dày và bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Sự biểu hiện quá mức

Bub1có tương quan với sự chẩn đoán xấu trong lâm sàng (Ricke and van Deursen, 2011). Có thể tìm thấy các đột biến Bub1 trong caxinom kết-trực tràng có tính không ổn định nhiễm sắc thể (Williams et al., 2007).

C4A đã được mô tả làm dấu ấn sinh học của hội chứng buồng trứng đa nang và bệnh ung thư màng trong tử cung và các dữ liệu thử nghiệm gợi ý rằng C4 có thể gián tiếp liên quan đến sự phát triển bệnh ung thư (Galazis et al., 2013; Rutkowski et al., 2010).

Trong dòng tế bào bệnh bạch cầu đơn nhân tủy cấp tính JIH3, sự thiếu đoạn nhiễm sắc thể bao gồm C7orf10 (Pan et al., 2012).

C8 được biểu hiện chủ yếu bởi dòng tế bào u gan ở người HepG2 và sự biểu biện được gia tăng mạnh sau khi kích thích bằng các xytokin IL-6, IFN-gama và IL-1 beta (Scheurer et al., 1997).

Các đoạn mồi đặc hiệu kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư có thể phát hiện CASC5 trong u nguyên bào xốp đa dạng, một tổng số các khối u ác tính và có tính xâm lấn nhất với sự tiên lượng rất xấu. CASC5 có các motif gắn kết đặc hiệu ở đầu tận cùng N (đối với Bub1 và BubR1) và ở đầu tận cùng C (đối với Zwint-1 và hMis14/hNsl1). Sự phá vỡ liên kết này có thể dẫn đến sự tạo u (Kiyomitsu et al., 2011; Jiang et al., 2014c). CASC5 tương tác với gen ức chế khối u pRb (Bogdanov and Takimoto, 2008). CASC5 được biểu hiện ở mức cao trong quá trình tăng sinh các tế bào sinh dưỡng, khối u và tinh hoàn của người khỏe mạnh (Bogdanov and Takimoto, 2008; Sasao et al., 2004). CASC5 có liên quan đến việc ức chế sự phát triển của tế bào và kích thích sự trưởng thành và do đó, sự phá vỡ nó có thể là yếu tố chính của sự gây bệnh bạch cầu (Hayette et al., 2000; Bogdanov and Takimoto, 2008; Chinwalla et al., 2003; Kuefer et al., 2003; Yang et al., 2014a).

CCR4 đã được mô tả làm dấu ấn tiên lượng trong nhiều khối u khác nhau như caxinom tế bào thận, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư ruột kết và u lymphô Hodgkin (Ishida et al., 2006; Olkhanud et al., 2009; Yang et al., 2011; Tsujikawa et al., 2013; Al-haidari et al., 2013; Liu et al., 2014a). Các nghiên cứu đã cho thấy rằng các bệnh nhân ung thư dạ dày có khối u dương tính với CCR4 có sự tiên lượng xấu hơn đáng kể so với các bệnh nhân có khối u dương tính với CCR4 (Lee et al., 2009a).

Sự biểu hiện CCR8 tăng lên trong các nhóm phụ của tế bào tủy xương của bạch cầu đơn nhân to và bạch cầu hạt trong máu ngoại vi của các bệnh nhân mắc caxinom tế bào chuyển tiếp và caxinom thận. Cũng phát hiện được sự biểu hiện CCR8 được điều hòa tăng trong mô bàng quang của người và mô ung thư thận và chủ yếu giới hạn ở các đại thực bào liên quan đến khối u. Trục CCL1/CCR8 là một thành phần của tình trạng viêm liên quan đến bệnh ung thư và có thể góp phần vào sự chống miễn dịch (Eruslanov et al., 2013).

Hiện tượng đa hình nucleotit đơn trong CD101 đã được chứng minh là có liên quan đến nguy cơ bệnh ung thư tụy, nhưng các kết quả không được sao chép ở lặp lại ở nhóm nghiên cứu theo thời gian và bệnh chứng của bệnh ung thư tuyến tiền liệt, do đó, cần có nghiên cứu trong tương lại về vai trò có thể có của CD101 trong bệnh ung thư tụy (Reid-Lombardo et al., 2011). CD101 được xác định là một gen trong số 6 dấu hiệu gen để phân biệt bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính pha mạn tính với giai đoạn chuyển cấp bằng cách sử dụng phương pháp trung bình hóa mô hình Bayesian (Oehler et al., 2009).

CD84 được mô tả là kháng nguyên CD xuất hiện nhiều quá mức trong bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính tiến triển khi so với bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính tiến triển chậm và ổn định (Huang et al., 2014). Sự biểu hiện CD84 đã được chứng minh là tăng lên đáng kể so với các giai đoạn đầu của bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (Binsky-Ehrenreich et al., 2014).

Sự biểu hiện CENPE có tương quan đáng kể với giai đoạn u thần kinh đệm và có thể bổ trợ cho các thông số khác để chẩn đoán thời gian sống thêm của các bệnh nhân mắc bệnh u thần kinh đệm (Bie et al., 2011). CENPE được điều hòa tăng trong các khối u biểu mô buồng trứng kháng hóa chất so với các khối u nhạy hóa chất (Ju et al., 2009). CENPE được điều hòa tăng trong các khối u tuyến yên tiết prolactin có tính xâm nhập và tính xâm lấn-xâm nhập (Wierinckx et al., 2007).

CLDN14 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư dạ dày (Gao et al., 2013). Sự biểu hiện CLDN14 đã được chứng minh là có liên quan đến sự di căn bạch huyết trong bệnh ung thư dạ dày (Gao et al., 2013). CLDN14 được mô tả là đóng vai trò sự điều hòa tính toàn vẹn của mạch máu khối u và sự tạo mạch ở chuột (Baker et al., 2013).

CLDN3 được biểu hiện biệt hóa ở mức cao trong nhiều khối u của người và có thể tạo ra công cụ phân tử hữu hiệu để nhận biết đặc hiệu và hướng đích các tế bào ung thư của người có tính xâm lấn về mặt sinh học do CLDN3 là thụ thể có ái lực cao của độc tố đường ruột của vi khuẩn *Clostridium perfringens* (Black et al., 2015). CLDN3 thường xuyên được biểu hiện quá mức trong một số bệnh ung thư, bao gồm bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, và bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Morin, 2005). CLDN3 được xác định làm dấu ấn sinh học của bệnh ung thư tuyến tiền liệt do nó được biểu hiện ở mức cao trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Amaro et al., 2014). Sự biểu hiện CLDN3 giảm có liên quan với sự tiên lượng xấu và EMT trong caxinom tế bào vảy ở phổi đã phẫu thuật cắt bỏ hoàn toàn (Che et al., 2015). CLDN3 ức chế tính xâm lấn của bệnh ung thư bằng cách truyền tín hiệu Wnt-EMT và dấu ấn sinh học tiên lượng tiềm tàng của caxinom tế bào gan (Jiang et al., 2014b).

CLDN4 được biểu hiện biệt hóa ở mức cao trong nhiều khối u của người và có thể tạo ra công cụ phân tử hữu hiệu để nhận biết đặc hiệu và hướng đích các tế bào ung thư của người có tính xâm lấn về mặt sinh học do CLDN4 là thụ thể có ái lực cao của độc tố đường ruột của vi khuẩn *Clostridium perfringens* (Black et al., 2015). CLDN4 thường xuyên được biểu hiện quá mức trong một số bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, và bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Morin, 2005). Kháng thể kháng vùng ngoài tế bào của CLDN4 tạo ra hiệu quả tiền hóa trị liệu ở bệnh ung thư bàng quang (Kuwada et al., 2015). Sự biểu hiện ở mức cao của CLDN4 có liên quan đến caxinom dạ dày loại đường ruột được biệt hóa nhiều hơn và không biểu hiện ở loại khuếch tán được biệt hóa kém. Sự biểu hiện CLDN4 ở mức thấp có liên quan đến sự tạo mạch bạch huyết (Shareef et al., 2015).

Sự biểu hiện CLDN6 đã được chứng minh là có liên quan đến sự di căn hạch bạch huyết và giai đoạn TNM ở bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Wang et al., 2015f). Hơn nữa, sự biểu hiện CLDN6 ở mức thấp đã được chứng minh là có liên quan đến tỷ lệ sống giảm đáng kể ở các bệnh nhân mắc bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Wang et al., 2015f). Do đó, sự biểu hiện CLDN6 ở mức thấp là dấu ấn sinh học tiên lượng độc lập thể hiện sự tiên lượng xấu ở các bệnh nhân mắc bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Wang et al., 2015f). CLDN6 đã được chứng minh là được

điều hòa giảm trong caxinom cổ tử cung và bệnh ung thư dạ dày (Zhang et al., 2015; Lin et al., 2013). CLDN6 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư vú liên quan đến BRCA1 và caxinom thể thanh dịch nhú buồng trứng (Wang et al., 2013b; Heerma van Voss et al., 2014). CLDN6 được mô tả là gen ức chế khối u của bệnh ung thư vú (Zhang et al., 2015). Lợi ích của sự biểu hiện CLDN6 trong các dòng tế bào caxinom cổ tử cung HeLa và C33A đã được chứng minh là ức chế sự tăng sinh tế bào, sự tạo khuẩn lạc *in vitro*, và sự phát triển của khối u *in vivo*, điều này gợi ý rằng CLDN6 có thể có chức năng làm gen ức chế khối u trong các tế bào caxinom cổ tử cung (Zhang et al., 2015). CLDN6 có thể đóng vai trò tích cực trong sự xâm lấn và sự di căn của bệnh ung thư buồng trứng (Wang et al., 2013b). CLDN6 đã được chứng minh là được biểu hiện ổn định trong các khối u tế bào mầm và do đó là dấu ấn chẩn đoán mới của các khối u tế bào mầm nguyên thủy (Ushiku et al., 2012). Sự biểu hiện CLDN6 đã được chứng minh là dương tính trong phần lớn các khối u của nhóm các khối u được đánh giá của các khối u khác thường/dạng que không điển hình của hệ thần kinh trung ương, với tính dương tính của CLDN6 mạnh là yếu tố tiên lượng độc lập tiềm tàng của kết quả điều trị bệnh (Dufour et al., 2012).

CLDN9 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong dòng tế bào caxinom phổi thể Lewis di căn p-3LL và trong các khối u có nguồn gốc từ các tế bào này và trong u tế bào hạt tuyến mang tai ở tuyến yên (Sharma et al., 2016; Hong et al., 2014). Sự làm giảm mức độ biểu hiện CLDN9 trong các tế bào caxinom phổi thể Lewis di căn p-3LL đã được chứng minh là làm giảm đáng kể tính di động, tính xâm lấn *in vitro* và sự di căn *in vivo*, trong khi sự biểu hiện quá mức tạm thời trong các tế bào này đã được chứng minh là làm tăng tính di động của chúng (Sharma et al., 2016). Do đó, CLDN9 có thể đóng vai trò thiết yếu trong việc kích thích sự di căn bệnh ung thư phổi (Sharma et al., 2016). CLDN9 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong các mô caxinom cổ tử cung (Zhu et al., 2015a). Quan sát được sự biểu hiện CLDN9 có tương quan với sự di căn bạch huyết của caxinom cổ tử cung (Zhu et al., 2015a). CLDN9 được mô tả là gen được điều hòa tăng và được thay đổi đáng kể nhất trong u tế bào hạt tuyến mang tai ở tuyến yên với mức độ biểu hiện cao hơn khi xâm lấn so với u tế bào hạt tuyến mang tai không xâm lấn (Hong et al., 2014). Do đó, CLDN9 có thể là dấu ấn sinh học quan trọng của u tế bào hạt tuyến mang tai ở tuyến yên xâm lấn

(Hong et al., 2014). Sự biểu hiện quá mức của CLDN9 trong dòng tế bào caxinom tuyến dạ dày AGS đã được chứng minh là làm gia tăng khả năng xâm lấn, sự di trú tế bào và tốc độ tăng sinh và do đó yếu tố này là đủ để làm gia tăng đặc tính tạo u của dòng tế bào caxinom tuyến dạ dày (Zavala-Zendejas et al., 2011). Sự biểu hiện CLDN9 ở mức cao đã được chứng minh là có liên quan đến tỷ lệ tử vong cao hơn ở caxinom tuyến dạ dày loại lan tỏa so với loại đường ruột và sự phát hiện của nó được mô tả là dấu hiệu tiên lượng hữu ích trong caxinom tuyến dạ dày "loại đường ruột" và "loại lan tỏa" (Rendon-Huerta et al., 2010).

Sự biểu hiện mARN của CLEC5A đã được chứng minh là thấp hơn đáng kể trong các mẫu lấy từ bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính nguyên phát so với trong đại thực bào và các tế bào hạt được lấy từ người cho khỏe mạnh (Batliner et al., 2011). CLEC5A được mô tả là đích phiên mã mới của của gen ức chế khối u PU.1 trong các bạch cầu đơn nhân to/đại thực bào và bạch cầu hạt (Batliner et al., 2011).

DCP2 được xác định làm đích miR-224 được biểu hiện khác biệt cao hơn 2 lần trong các tế bào ung thư ruột kết của người kháng methotrexate (Mencia et al., 2011).

Sự biểu hiện DCSTAMP tăng lên trong bệnh ung thư tuyến giáp dạng nhú (Lee et al., 2009b; Kim et al., 2010b). Sự điều hòa giảm DCSTAMP dẫn đến sự tạo khuẩn lạc của các tế bào MCF-7 giảm có thể do sự tăng sinh giảm và diễn biến của chu trình tế bào cũng như sự chết theo chương trình tăng lên (Zeng et al., 2015). DCSTAMP được biểu hiện quá mức trong các đại thực bào ngoại vi, và các tế bào đuôi gai và tương bào u tủy có độ mẫn cảm cao với DCSTAMP và có thể chuyển biệt hóa thành tế bào hủy xương. Các tương bào ác tính biểu hiện kiểu hình của tế bào gốc và khả năng di căn cao biểu hiện các dấu ấn của tế bào hủy xương, điều này hoạt hóa con đường phiên mã beta3 dẫn đến sự phosphoryl hóa ERK1/2 và sự khơi mào hoạt tính hấp thụ xương (Silvestris et al., 2011). Esculetin và parthenolide ức chế c-Fos và yếu tố nhân của con đường truyền tín hiệu C1 của tế bào T được hoạt hóa dẫn đến sự biểu hiện DCSTAMP được ức chế, gen đánh dấu của sự biệt hóa tế bào hủy xương (Ihn et al., 2015; Baek et al., 2015; Cicek et al., 2011; Courtial et al., 2012; Kim et al., 2014a).

Hiện tượng SNP trong DENND1B liên quan đáng kể đến nguy cơ bệnh ung thư tụy (Cotterchio et al., 2015).

DNAH17, còn được gọi là DNEL2, được mô tả là thể đồng dạng với kháng

nguyên khối u được nhận biết ở các bệnh nhân u melanin (Ehlken et al., 2004). DNAH17 được mô tả là một trong số vài gen ứng viên được vẽ bản đồ với khoảng nhiễm sắc thể nhỏ có liên quan đến sự tạo u vú và buồng trứng đơn phát, và bệnh ung thư thực quản trong các rối loạn trội thể nhiễm sắc điển hình, chứng teo cơ đau dây thần kinh do di truyền và chứng dày sừng (Kalikin et al., 1999).

DNAH2 là một trong số các gen được đột biến ở ≥10% bệnh nhân mắc bạch cầu đơn nhân tủy mạn tính (Mason et al., 2015). Các gen mã hóa protein liên quan đến vi tiểu quản, như DNAH2, cho thấy tỷ lệ có sự bất thường về di truyền bằng 10% hoặc cao hơn trong caxinom tế bào thận-tế bào sáng dương tính kiểu hình metyl hóa đảo CpG (Arai et al., 2015).

Sự biểu hiện lại của các gen ức chế khối u không metyl hóa bằng cách ức chế DNMT3B xuất hiện làm chiến lược hữu hiệu kháng bệnh ung thư (Singh et al., 2013).

Sự biểu hiện mARN của FAM83B trong caxinom tế bào vảy là cao hơn đáng kể so với trong caxinom phổi bình thường hoặc caxinom tuyến và do đó FAM83B là dấu ấn sinh học mới để chẩn đoán và tiên lượng (Okabe et al., 2015). FAM83B được xác định làm gen gây ung thư liên quan đến sự hoạt hóa quá trình truyền tín hiệu CRAF/MAPK và gây ra sự biến nạp tế bào biểu mô. Sự biểu hiện tăng lên có liên quan với giai đoạn khối u tăng lên và thời gian sống thêm toàn bộ giảm đi (Cipriano et al., 2014). Sự biểu hiện FAM83B tăng lên cũng hoạt hóa con đường truyền tín hiệu PI3K/AKT và làm giảm độ nhạy với các chất ức chế PI3K, AKT, và mTOR (Cipriano et al., 2013).

Sự điều hòa giảm hoặc rối loạn chức năng của FANCD2 do đột biến di truyền đã được thông báo trong các loại bệnh ung thư khác nhau bao gồm bệnh ung thư vú, bệnh bạch cầu dạng bạch huyết cấp tính và seminom tinh hoàn và có liên quan với sự phát triển bệnh ung thư. Theo cách khác, sự biểu hiện lại và sự điều hòa tăng của FANCD2 đã được chứng minh là cũng có liên quan đến sự tiến triển khối u và sự di căn trong u thần kinh đệm và bệnh ung thư kết-trực tràng (Patil et al., 2014; Shen et al., 2015a; Shen et al., 2015b; Ozawa et al., 2010; Rudland et al., 2010; Zhang et al., 2010a; Smetsers et al., 2012). Con đường PI3K/mTOR/Akt kích thích FANCD2 cảm ứng sự kiểm soát ATM/Chk2 theo đáp ứng tổn thương ADN và FANCD2 monoubiquitinil hóa hoạt hóa sự phiên mã của gen ức chế khối u TAp63 (Shen et al.,

2013; Park et al., 2013).

Sự biểu hiện FOXJ1 được điều hòa tăng, liên quan đến giai đoạn, loại mô học và kích thước của khối u và có tương quan với sự tiên lượng ở các bệnh nhân mắc caxinom tế bào thận - tế bào sáng (Zhu et al., 2015b). Sự biểu hiện FOXJ1 giảm có tương quan đáng kể với giai đoạn lâm sàng, sự di căn hạch bạch huyết, và sự di căn xa, và sự biểu hiện FOXJ1 thấp dự đoán độc lập về thời gian sống ngắn hơn ở caxinom dạ dày (Wang et al., 2015c). Sự biểu hiện quá mức của FOXJ1 có thể kích thích sự tăng sinh của tế bào khối u và sự chuyển tiếp chu trình tế bào trong caxinom tế bào gan và có liên quan với phân độ mô học và sự tiên lượng xấu (Chen et al., 2013).

Mức độ phiên mã GINS2 cao dự đoán sự tiên lượng xấu và có tương quan với phân độ mô học cao và sự kháng liệu pháp nội tiết thông qua các tế bào gốc của bệnh ung thư ở động vật có vú ở các bệnh nhân ung thư vú (Zheng et al., 2014). GINS2 đã được thông báo là có mặt với nồng độ cao trong caxinom tuyến phổi và liên quan đến giai đoạn TNM (Liu et al., 2013b). GINS2 biểu hiện bất thường và quá mức trong nhiều khối u rắn ác tính, như bệnh ung thư vú, u melanin và caxinom gan. Ngoài ra, sự biểu hiện quá mức của GINS2 có thể kích thích sự tăng sinh của dòng tế bào bệnh bạch cầu (Zhang et al., 2013a).

Sự biểu hiện GPR98 tăng lên trong các khối u thần kinh-nội tiết nguyên phát so với mô bình thường (Sherman et al., 2013). GPR98 là gen trong số các gen liên quan đến sự sống của u nguyên bào xốp đa dạng (Sadeque et al., 2012). GPR98 biểu hiện sản phẩm phiên mã được điều hòa bởi glucocorticoit, các thuốc được sử dụng để điều trị bệnh bạch cầu dạng nguyên bào lymphô cấp tính do chúng gây ra sự chết theo chương trình (Rainer et al., 2012).

GTPBP10 có tương quan ở mức cao với sự thay đổi số lượng bản sao, sự biểu hiện gen, và kết quả điều trị cho bệnh nhân mắc u nguyên bào xốp (Kong et al., 2016).

Sự biểu hiện GTSE1 ức chế sự truyền tín hiệu chết tế bào theo chương trình và gây ra sự kháng xisplatin trong các tế bào ung thư dạ dày (Subhash et al., 2015). GTSE1 được biểu hiện quá mức trong sacom cơ trơn tử cung (uterine leiomyosarcoma: ULMS) và tham gia vào sự điều hòa chu trình tế bào.

H2BFS được biểu hiện ổn định dưới dạng cụm gen đáng kể liên quan đến các

phân nhóm bệnh bạch cầu dạng nguyên bào lymphô cấp tính với nguy cơ thấp (Qiu et al., 2003).

HIST1H2BJ đã được chứng minh là được điều hòa giảm in não tumors và được mô tả là có khả năng useful for developing molecular markers of diagnostic hoặc tiên lượng value (Luna et al., 2015).

Sự axetyl hóa HISTH4A có thể là đích tiềm năng để làm bất hoạt bệnh ung thư thận ở phôi (khối uWilms) (Yan-Fang et al., 2015).

HIST1H4C có thể có tác dụng làm yếu tố phân biệt nguy cơ của sự phát triển bệnh bạch cầu tủy bào liên quan đến việc điều trị (Bogni et al., 2006).

Quan sát được HIST1H4F được metyl hóa ở mức cao trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt, điều này cũng có thể có tương quan với sự lão hóa của bệnh nhân (Kitchen et al., 2016).

Quan sát được tỷ lệ metyl hóa ở mức cao của HIST1H4K trong bệnh ung thư bàng quang không xâm lấn cơ mức độ cao cũng như trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt và do đó là dấu ấn sinh học tiềm năng (Payne et al., 2009; Kachakova et al., 2013).

Đã chứng minh được rằng HIST1H4L được điều hòa tăng đáng kể trong caxinom tuyến tiền liệt ERG+ (Camoes et al., 2012). HIST1H4L mã hóa cụm histon 1 phụ thuộc sự sao chép, H4l là thành viên của họ histon H4 (RefSeq, 2002).

HIST2H4B được xác định làm protein mới trong các con đường gây bệnh trong tế bào quan trọng ở các tế bào nhiễm kiểu phụ của reovirut trong các thử nghiệm lâm sàng hiện nay dưới dạng chất hủy khối u kháng bệnh ung thư (Berard et al., 2015).

HIST4H4 là một trong có các gen có sự điều hòa giảm liên tục trong các tế bào ung thư dạ dày sau khi điều trị bằng các thể liên hợp miễn dịch gồm alpha-emitter và kháng thể đơn dòng d9MAb hướng đích đặc hiệu các tế bào biểu hiện thể đột biến d9-E-cadherin (Seidl et al., 2010). Sự metyl hóa tăng của các thành viên khác của họ histon H4 liên quan đến đáng kể đến thời gian sống không có sự tái phát bệnh ngắn hơn trong bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ giai đoạn I (Sandoval et al., 2013).

HIVEP1 được xác định làm gen tế bào bị phá vỡ bởi sự đính gắn virut gây u lymphô T ở người typ 1 trong các dòng tế bào u lympho (Cao et al., 2015). HIVEP1 có liên quan đến sự khuyết đoạn 11q không có lợi và cũng có liên quan với các giai đoạn Binet B và C không có lợi ở bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính (Aalto et al.,

2001).

HNRNPH2 được điều hòa tăng trong các loại bệnh ung thư khác nhau bao gồm bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan và bệnh ung thư dạ dày (Honore et al., 2004; Zeng et al., 2007). HNRNPH2 có liên quan đến sự ghép sản phẩm phiên mã bị khuyết đoạn beta của hTERT, sản phẩm này được biểu hiện ở mức cao trong các tế bào ung thư và cạnh tranh và do đó ức chế hoạt tính telomeraza nội sinh (Listerman et al., 2013).

HOXD11 bị rối loạn điều hòa trong caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ với mức độ rất cao trong các dòng tế bào và mẫu khối u lấy từ bệnh nhân. Sự làm giảm mức độ biểu hiện HOXD11 làm giảm mức độ xâm lấn (Sharpe et al., 2014). HOXD11 được điều hòa tăng đáng kể trong caxinom tế bào vảy ở miệng (Rodini et al., 2012). HOXD11 được metyl hóa bất thường trong bệnh ung thư vú ở người (Miyamoto et al., 2005). Gen HOXD11 được dung hợp với gen NUP98 trong bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính với t(2;11) (q31;p15) (Taketani et al., 2002).

ICOS có tác dụng làm phối tử của sự chết theo chương trình 1 (programmed death-1: PD-1) đối với các tế bào T, gây ra sự trốn miễn dịch của các tế bào ung thư và còn có tác dụng làm thủ thể trung gian cho tác dụng kháng lại sự chết theo chương trình đối với tế bào ung thư (Yang et al., 2015c). Mô hình khối u ở chuột tạo ra sự hỗ trợ đáng kể cho việc hướng đích của nhiều điểm kiểm soát miễn dịch liên quan đến ICOS trong quá trình phát triển của khối u (Leung and Suh, 2014). Sự thâm nhiễm tế bào ICOS+ có tương quan với sự tiên lượng xấu ở bệnh nhân, xác định ICOS làm đích mới của liệu pháp miễn dịch điều trị bệnh ung thư (Faget et al., 2013). ICOS có thể làm tăng hiệu quả gây độc tế bào của các tế bào giết do xytokin gây ra đối với caxinom đường mật cả *in vitro* và *in vivo* (He et al., 2011).

Sự biểu hiện trong khối u của IFNG đã được chứng minh là có liên quan đến sự biểu hiện của các phân tử MHC nhóm II và kiểu hình có tính xâm lấn hơn ở u melanin ở người (Brocker et al., 1988). Sự truyền tín hiệu IFNG kiểu tự tiết đã được chứng minh là làm tăng khả năng di căn trong thử nghiệm của các tế bào caxinom tuyến ở động vật có vú được chuyển nhiễm gen IFNG, và góp phần vào mức độ kháng gia tăng với cac tế bào NK (Lollini et al., 1993).

Bệnh ung thư vú bộ ba âm tính có mức độ biểu hiện của IGFBP3 trong khối u cao liên quan đến các dấu ấn của sự tiên lượng xấu (Marzec et al., 2015). Thụ thể gây

chết tế bào bởi gắn kết đặc hiệu với IGFBP3 được xác định và có thể được sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư vú (Mohanraj and Oh, 2011). IGFBP3 có đặc tính kích thích sự phát triển và sự tiền sống sót *in vitro* (Johnson and Firth, 2014). IGFBP3 là dấu ấn độc lập của sự tái phát bệnh caxinom tế bào chuyển tiếp (Phe et al., 2009).

IGFBPL1 là chất điều hòa của yếu tố yếu tố sinh trưởng-insulin và được điều hòa giảm trong dòng tế bào bệnh ung thư vú bằng cách metyl hóa tăng bất thường. Sự metyl hóa trong IGFBPL1 có liên quan rõ ràng đến thời gian sống thêm toàn bộ và thời gian sống thêm không bệnh ngắn (Smith et al., 2007).

IGFLR1 được đột biến trong bệnh ung thư kết-trực tràng (Donnard et al., 2014). IGFLR1 có tính tương tự về cấu trúc với họ thụ thể yếu tố hoạt tử khối u (Lobito et al., 2011).

Sự biểu hiện protein IL4I1 là rất thường xuyên trong các khối u. IL4I1 được phát hiện trong các đại thực bào liên quan đến khối u của các thực thể khối u khác nhau, trong các tế bào ung thư từ u lymphô và trong các trường hợp hiếm gặp của các bệnh ung thư dạng rắn chủ yếu là u trung biểu mô (Carbonnelle-Puscian et al., 2009). Sự điều hòa tăng IL4I1 trong các tế bào Th17 của người làm hạn chế sự mở rộng qua trung gian thụ thể tế bào T (T-cell receptor: TCR) của chúng bằng cách phong bế con đường phân tử liên quan đến sự hoạt hóa gen khởi đầu IL-2 và bằng cách duy trì Tob1 ở mức cao, điều này làm giảm khả năng xâm nhập vào chu trình tế bào (Santarlasci et al., 2014).

IQGAP3 được biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư phổi và có liên quan với sự phát triển, sự di trú và xâm lấn của tế bào khối u. Hơn nữa, nó được điều hòa tăng bởi sự khuếch đại nhiễm sắc thể ở caxinom tế bào gan và sự biểu hiện của IQGAP3 tăng lên ở bệnh nhân mắc bệnh ung thư kết-trực tràng có thể đột biến p53 với tỷ lệ sống thấp (Katkoori et al., 2012; Yang et al., 2014b; Skawran et al., 2008). IQGAP3 điều biến thác truyền tín hiệu EGFR/Ras/ERK và tương tác với Rac/Cdc42 (Yang et al., 2014b; Kunimoto et al., 2009).

Nồng độ ITGA2 được phát hiện là tăng lên trong các dòng tế bào u melanin di căn và xâm lấn ở mức cao so với các tế bào melanin được nuôi cấy bình thường và dòng tế bào u melanin không di căn (van Muijen et al., 1995). Phân tử bám dính ITGA2 được điều hòa tăng bởi IFN-gama, TNF-alpha, và IL-1-beta trong các tế bào u

melanin (Garbe and Krasagakis, 1993). Sự chuyển nhiễm của ITGA2 thành tế bào sacom cơ vân của người không làm biểu hiện ITGA2, có khả năng gây ra tần suất di căn ở nhiều cơ quan khác nhau (Matsuura et al., 1995).

KCNU1 khu trú trên nhiễm sắc thể 8p trong vùng thường có liên quan đến sự sắp xếp lại nhiễm sắc thể phức hợp trong bệnh ung thư vú (Gelsi-Boyer et al., 2005). KCNU1 là một trong số 25 protein màng ngoài tế bào hàng đầu được biểu hiện quá mức trong u nguyên bào gan của mẫu ung thư ở trẻ em (Orentas et al., 2012).

KIAA0226L được cho là gen ức chế khối u và được metyl hóa tăng trong bệnh ung thư cổ tử cung. Sự tái hoạt hóa KIAA0226L làm cho sự phát triển của tế bào, khả năng sống, và sự tạo khuẩn lạc giảm (Huisman et al., 2015; Eijsink et al., 2012; Huisman et al., 2013). Kiểu metyl hóa của KIAA0226L có thể được sử dụng để phân biệt giữa các tiền tổn thương và bệnh ung thư cổ tử cung bình thường (Milutin et al., 2015). Kiểu metyl hóa của KIAA0226L không thể dùng làm dấu ấn sinh học đặc hiệu của bệnh ung thư cổ tử cung (Sohrabi et al., 2014). Sự tái hoạt hóa KIAA0226L metyl hóa giảm một phần vùng gen khởi đầu của nó và cùng làm giảm sự metyl hóa histon tương ứng (Huisman et al., 2013).

Sự biểu hiện quá mức KIAA1244 là một trong số các cơ chế quan trọng gây ra sự hoạt hóa con đường truyền tín hiệu estrogen/ERalpha trong sự phát triển của các tế bào ung thư vú liên quan đến hormon (Kim et al., 2009). Việc ức chế sự tương tác giữa KIAA1244 và PHB2 có thể là chiến lược điều trị mới để điều trị bệnh ung thư vú dạng khoang (Yoshimaru et al., 2013).

KIAA1524 mã hóa chất ức chế bệnh ung thư của protein phosphataza 2A (CIP2A). Vai trò then chốt của CIP2A đã được chứng minh, ngoài các bệnh khác, đối với bệnh NSCLC, HCC, HNSCC, bàng quang, tụy, cổ tử cung, vú, tuyến tiền liệt, buồng trứng và bệnh ung thư kết-trực tràng (Ventela et al., 2015; Ma et al., 2014; Guo et al., 2015b; Rincon et al., 2015; Guo et al., 2015c; Wu et al., 2015; Peng et al., 2015; Lei et al., 2014; Liu et al., 2014c; Farrell et al., 2014; Fang et al., 2012; He et al., 2012; Bockelman et al., 2012).

KIF18A đã được chứng minh là biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư tế bào gan, chất này có tương quan với thời gian sống thêm không bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ ngắn hơn đáng kể. Do đó, KIF18A có thể là dấu ấn sinh học cho việc

chẩn đoán bệnh ung thư tế bào gan và dấu hiệu chẩn đoán độc lập của thời gian sống thêm không bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ sau khi cắt bỏ bằng phẫu thuật (Liao et al., 2014). Sự biểu hiện KIF18A được điều hòa tăng trong các kiểu phụ đặc hiệu của sacom hoạt dịch (Przybyl et al., 2014). Estrogen gây cảm ứng mạnh đối với sự biểu hiện KIF18A ở bệnh ung thư vú, điều này có liên quan với sự tăng sinh gia tăng và sự chết theo chương trình giảm (Zou et al., 2014).

Sự biểu hiện quá mức của KIF20A được phát hiện trong caxinom tuyến ống tụy, u melanin, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và caxinom tế bào ống dẫn mật (Imai et al., 2011; Yamashita et al., 2012; Stangel et al., 2015). Gần đây, đã có thông báo rằng các bệnh nhân mắc bệnh caxinom tuyến ống tụy được tiêm vacxin peptit có nguồn gốc từ KIF20A có tiên lượng tốt hơn so với nhóm đối chứng (Asahara et al., 2013). Ngoài ra, sự bất hoạt KIF20A làm ức chế sự tăng sinh, tính di động, và sự xâm lấn của dòng tế bào ung thư tụy (Stangel et al., 2015).

Sự biểu hiện KIF26B ở mức cao trong bệnh ung thư vú có liên quan với sự tiên lượng xấu (Wang et al., 2013c). Sự điều hòa tăng KIF26B có tương quan đáng kể với kích thước khối u bằng cách phân tích các mô khối u CRC và niêm mạc bình thường liền kề được ghép cặp. KIF26B đóng vai trò quan trọng sự gây ung thư kết - trực tràng và có tác dụng làm dấu hiệu tiên lượng mới và đích điều trị tiềm năng của CRC (Wang et al., 2015d).

KIF2C đã được chứng minh là tham gia vào sự di trú có định hướng và sự xâm lấn của các tế bào khối u (Ritter et al., 2015). Sự biểu hiện quá mức của KIF2C đã được chứng minh là có liên quan đến sự xâm lấn bạch huyết và sự di căn hạch bạch huyết ở các bệnh nhân ung thư dạ dày và ung thư kết-trực tràng (Ritter et al., 2015). KIF2C đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư lưỡi ở miệng (Wang et al., 2014a). Sự biểu hiện ở mức cao của KIF2C đã được chứng minh là có liên quan đến sự di căn hạch bạch huyết và giai đoạn khối u trong caxinom tế bào vảy của lưỡi ở miệng (Wang et al., 2014a). Sự bất hoạt KIF2C đã được chứng minh là làm ức chế sự tăng sinh và sự di trú của dòng tế bào caxinom tế bào vảy ở miệng của người Tca8113 (Wang et al., 2014a). Sự đột biến KIF2C được mô tả là có liên quan đến bệnh ung thư kết-trực tràng (Kumar et al., 2013).

KIFC1 đã được chứng minh là cần thiết cho cấu trúc thể thoi thích hợp, sự tập

trung cực ổn định và sự sống của các tế bào ung thư không phụ thuộc vào số lượng thể trung tâm được tạo ra (thể trung tâm bình thường hoặc thể trung tâm thừa số). Sự biểu hiện KIFC1 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư vú, cụ thể là trong bệnh ung thư vú âm tính với thụ thể estrogen, bệnh ung thư vú âm tính với thụ thể progesteron và bệnh ung thư vú bộ ba âm tính, và 8 dòng tế bào ung thư vú ở người. Trong các tế bào ung thư vú dương tính với thụ thể estrogen, KIFC1 một trong số 19 kinesin khác có sự biểu hiện được cảm ứng mạnh bởi estrogen. Trong bệnh ung thư vú, sự biểu hiện quá mức của KIFC1 và sự tích tụ ở nhân của nó đã được chứng minh là có tương quan với phân độ mô học và dự đoán thời gian sống thêm không có sự tiến triển bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ là ngắn. Trong dòng tế bào ung thư vú, sự biểu hiện quá mức của KIFC1 đã được chứng minh là làm trung gian cho sự kháng docetaxel. Sự bất hoạt KIFC1 có ảnh hưởng tiêu cực đến khả sống của tế bào ung thư vú (Zou et al., 2014; Pannu et al., 2015; De et al., 2009; Li et al., 2015b). KIFC1 đã được chứng minh là được biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư buồng trứng và có liên quan đến sự xâm lấn của khối u, phân độ và giai đoạn của khối u tiến triển. KIFC1 được xác định làm một trong ba gen, có mức độ biểu hiện trong khối u NSCLC nguyên phát cho thấy nguy cơ cao hơn đối với sự phát triển của hiện tượng di căn não (Grinberg-Rashi et al., 2009).

KL được mô tả làm gen ức chế khối u để ức chế sự chuyển tiếp từ biểu mô đến mô giữa ở bệnh ung thư cổ tử cung và thành phần này có tác dụng làm gen ức chế khối u trong một số loại bệnh ung thư ở người bằng cách ức chế sự truyền tín hiệu insulin/IGF1, p53/p21, và Wnt (Xie et al., 2013; Qureshi et al., 2015). KL được mô tả là gen được biểu hiện bất thường trong một số bệnh ung thư, bao gồm bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi và caxinom tế bào gan (Zhou and Wang, 2015). KL được mô tả là được điều hòa giảm trong bệnh ung thư tụy, caxinom tế bào gan, và các khối u khác (Zhou and Wang, 2015). KL được mô tả là dấu ấn sinh học mới cho bệnh ung thư có sự điều hòa giảm được mô tả là gây kích thích sự tăng sinh và làm giảm sự chết theo chương trình của các tế bào ung thư. Trong trường hợp này, sự truyền tín hiệu Wnt/ß-catenin là một trong số vài con đường truyền tín hiệu liên quan (Zhou and Wang, 2015). Hiện tượng đa hình của gen KL đã được chứng minh là có liên quan đến nguy cơ gia tăng của bệnh ung thư kết-trực tràng (Liu et al., 2015).

KLHDC7B có liên quan với caxinom tế bào vảy cổ tử cung và là dấu ấn sinh học tiềm tàng của caxinom tế bào vảy cổ tử cung (Guo et al., 2015a).

Các gen KLHL gây ra một vài bệnh Mendelian và có liên quan đến bệnh ung thư (Dhanoa et al., 2013).

Quan sát được sự biểu hiện tại ổ của KRT31 trong bệnh caxinom móng xâm lấn có nguồn gốc từ các tế bào keratin ở nền móng (Wang et al., 2015e). U biểu mô canxi hóa Malherbe là các khối u cạnh tranh sự biệt hóa của các tế bào nền ở nang tóc, cho thấy sự biệt hóa ở vỏ, cùng với sự biểu hiện quá mức sau đó của các keratin KRT35 và KRT31 (Battistella et al., 2014).

KRT35 là một trong số các keratin được biểu hiện mạnh nhất và thường xuyên nhất trong u biểu mô canxi hóa Malherbe. U biểu mô canxi hóa Malherbe là các khối u cạnh tranhsự biệt hóa của các tế bào nền ở nang tóc, cho thấy sự biệt hóa ở vỏ, cùng với sự biểu hiện quá mức sau đó của keratin KRT35 và KRT31 (Battistella et al., 2014).

Việc làm giảm nồng độ LCTL cho phép hTERT để làm bất tử tế bào với các tế bào biểu mô ruột kết (Kim et al., 2011).

Các nhà nghiên cứu đã quan sát được rằng sự ức chế mức độ biểu hiện LRBA bằng cách can thiệp ARN, hoặc bằng thể đột biến âm trội, dẫn đến ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư. Các phát hiện này gợi ý rằng sự biểu hiện LRBA được điều hòa giảm góp phần vào đặc tính phát triển được thay đổi của tế bào ung thư (Wang et al., 2004).

LRRC8E được biểu hiện quá mức trong các mô sacom xương và u nguyên bào thần kinh so với các mẫu bình thường (Orentas et al., 2012).

Hiện tượng đa hình LTA góp phần vào nguy cơ bệnh ung thư gia tăng (Huang et al., 2013a). Các yếu tố tái hấp thụ vào xương như LTA được tạo ra bởi một số bệnh ung thư thể rắn và bệnh ung thư huyết học và cũng có liên quan đến chứng tăng canxi-huyết tạo khối u (Goni and Tolis, 1993). Có mối liên quan giữa trục truyền tín hiệu LTA đến LTbetaR và bệnh ung thư (Drutskaya et al., 2010). Lymphotoxin có nguồn gốc từ tế bào B kích thích bệnh ung thư tuyến tiền liệt kháng phẫu thuật cắt bỏ (Ammirante et al., 2010).

MACC1 được biểu hiện quá mức nhiều thực thể bệnh ung thư bao gồm bệnh

ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư phổi và bệnh ung thư vú và có liên quan đến sự tiến triển của bệnh ung thư, sự di căn và tỷ lệ sống thấp của các bệnh nhân (Huang et al., 2013b; Ma et al., 2013a; Stein, 2013; Wang et al., 2015b; Wang et al., 2015h; Ilm et al., 2015). MACC1 kích thích sự gây ung thư bằng cách hướng đích các con đường truyền tín hiệu beta-catenin và PI3K/AKT, điều này dẫn đến sự gia tăng c-Met và beta-catenin và các gen hướng đích xuôi dòng của chúng bao gồm c-Myc, cyclin D1, caspase9, BAD và MMP9 (Zhen et al., 2014; Yao et al., 2015).

MAGEA10 mã hóa thành viên A10 của họ MAGE, có liên quan đến một số rối loạn di truyền, như chứng loạn sừng bẩm sinh (RefSeq, 2002). Nhờ vacxin kháng lại MAGEA10 và hai kháng nguyên tinh hoàn liên quan đến bệnh ung thư khác, tất cả các thành phần này đã được biết là đích của các đáp ứng của tế bào lymphô T- gây độc tế bào, bao gồm hơn hai phần ba các bệnh ung thư vú (Taylor et al., 2007). MAGEA10 được biểu hiện trong 36,7% mô khối u được lấy từ các bệnh nhân mắc caxinom tế bào gan; tuy nhiên, thành phần không được biểu hiện trong các mô cận-ung thư (Chen et al., 2003). MAGEA10 được biểu hiện trong 14% của 79 mô ung thư phổi (Kim et al., 2012).

MAGEB6 được xác định làm gen MAGE mới không được biểu hiện trong các mô bình thường, ngoại trừ tinh hoàn, và được biểu hiện trong các khối u có nguồn gốc mô học khác nhau (Lucas et al., 2000). MAGEB6 được phát hiện là được biểu hiện thường xuyên trong caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ và tính dương tính với mARN thể hiện mối liên quan đáng kể với các dấu hiệu lâm sàng được nhận biết đối với hiệu quả điều trị kém (Zamuner et al., 2015).

MCC tương tác với beta-catenin và sự biểu hiện lại của MCC trong các tế bào ung thư kết-trực tràng ức chế đặc hiệu sự truyền tín hiệu Wnt (Fukuyama et al., 2008). Gen MCC có liên quan chặt chẽ với gen polyp tuyến trên nhiễm sắc thể 5, trong vùng thường xuyên mất tính dị hợp (loss of heterozygosity: LOH) trong bệnh ung thư kết-trực tràng (Kohonen-Corish et al., 2007). LOH của gen MCC có thể được tìm thấy trong cả giai đoạn sớm và giai đoạn tiến triển của bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư thực quản và bệnh ung thư vú (Wang et al., 1999a; Medeiros et al., 1994).

MET đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong sacôm mỡ được biệt hóa ngược và có liên quan với các khối u tế bào melanin, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, bệnh ung thư thận thể nhú di truyền và caxinom tuyến dạ dày (Petrini, 2015; Finocchiaro et al., 2015; Steinway et al., 2015; Bill et al., 2015; Yeh et al., 2015).

Sự biểu hiện của MMP10 trong caxinom tế bào vảy ở miệng là ở mức cao và trong caxinom có mụn cóc là ở mức trung bình (Kadeh et al., 2015). MMP10 góp phần vào sự sinh caxinom gan trong mối liên quan mới với trục yếu tố có nguồn gốc từ nền 1/C-X-C thụ thể chemokin 4 (Garcia-Irigoyen et al., 2015). Sự nhiễm vi khuẩn *Helicobacter pylori* kích thích sự xâm lấn và sự di căn của bệnh ung thư dạ dày bằng cách làm tăng mức độ biểu hiện của MMP10 (Jiang et al., 2014a). MMP10 kích thích sự tiến triển khối u bằng cách điều hòa con đường tạo mạch và con đường chết theo chương trình trong các khối u cổ tử cung (Zhang et al., 2014).

Phát hiện được nồng độ MMP-13 trước khi phẫu thuật tăng lên có liên quan với sự tiến triển khối u và tỷ lệ sống thấp ở các bệnh nhân mắc bệnh caxinom tế bào vảy thực quản (Jiao et al., 2014). PAI-1, gen hướng đích của miR-143, điều hòa sự xâm lấn và sự di căn phổi bằng cách làm tăng mức độ biểu hiện và sự tiết ra MMP-13 trong các tế bào sacom xương ở người, điều này gợi ý rằng các phân tử này có thể là các gen đích điều trị tiềm năng để ngăn ngừa sự di căn phổi ở các bệnh nhân sacom xương (Hirahata et al., 2016). MMP13 đã được điều hòa tăng trong bệnh Lichen phẳng ở miệng (Oral lichen planus: OLP) bệnh này được phân loại theo điều kiện tiền ác tính của caxinom tế bào vảy ở miệng (OSCC) (Agha-Hosseini and Mirzaii-Dizgah, 2015). MMP-13 đóng vai trò sinh lý có khả năng đặc biệt trong sự tái sinh của các tế bào giống như nguyên bào xương (Ozeki et al., 2016).

MUC5AC được điều hòa giảm trong nhiều loại bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư phổi và bệnh ung thư tụy. Sự cạn kiệt hoặc sự biểu hiện ở mức thấp trong các khối u kết-trực tràng và dạ dày có liên quan với đặc tính xâm lấn hơn và sự tiên lượng xấu hơn. Sự biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư phổi dẫn đến khả năng tái phát và di căn tăng lên (Yonezawa et al., 1999; Kocer et al., 2002; Kim et al., 2014b; Yu et al., 1996).

MUC5B được biểu hiện quá mức trong các thực thể bệnh ung thư khác nhau

bao gồm bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư phổi và bệnh ung thư vú và có liên quan với sự tiến triển khối u (Sonora et al., 2006; Valque et al., 2012; Walsh et al., 2013; Nagashio et al., 2015). MUC5B có thể được ức chế do ảnh hưởng của sự metyl hóa và có thể được điều hòa tăng bởi ATF-1, c-Myc, NFkapaB, Sp1, CREB, TTF-11 và GCR (Perrais et al., 2001; Van, I et al., 2000).

Các biến thể di truyền của MUC6 đã được thông báo là làm giảm nguy cơ phát triển bệnh ung thư dạ dày (Resende et al., 2011). Trong các khối u tuyến nước bọt, kiểu biểu hiện của MUC6 dường như có tương quan rất chặt chẽ với loại khối u theo mô bệnh học, điều này thể hiện khả năng sử dụng chúng để cải thiện sự chính xác trong chẩn đoán (Mahomed, 2011). Các nghiên cứu đã xác định sự biểu hiện khác biệt của MUC6 trong các mô ung thư vú khi so sánh với các mô vú không ung thư (Mukhopadhyay et al., 2011).

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 cho việc chẩn đoán sớm và sự di căn màng nối (Zou et al., 2002; Wang et al., 2013a).

MYB có thể được chuyển hóa thành protein biến nạp gây ung thư thông qua vài sự đột biến (Zhou and Ness, 2011). MYB được gọi là gen gây ung thư và có liên quan với sự chết theo chương trình, sự kiểm soát chu trình tế bào, sự phát triển của tế bào/sự tạo mạch và sự bám dính tế bào bằng cách điều hòa sự biểu hiện của các gen hướng đích quan trọng như xyclooxygenaza-2, Bcl-2, BclX(L) và c-Myc (Ramsay et al., 2003; Stenman et al., 2010). Protein dung hợp gây ung thư MYB-NFIB và sự biểu hiện quá mức của MYB được tìm thấy trong caxinom dạng tuyến kén của tuyến nước bọt và vú, u thần kinh đệm lan tỏa ở trẻ em, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính và bệnh ung thư tụy (Wallrapp et al., 1999; Pattabiraman and Gonda, 2013; Nobusawa et al., 2014; Chae et al., 2015; Marchio et al., 2010). Do tác dụng hiệp đồng giữa MYB và beta-Catenin trong khi truyền tín hiệu Wnt, MYB có liên quan với sự tạo khối u ruột kết (Burgess et al., 2011). Do MYB là đích trực tiếp của sự truyền tín hiệu estrogen, liệu pháp kháng MYB được xem xét đối với các khối u vú dương tính với ER (Gonda et al., 2008).

N4BP2 có vai trò tiềm năng trong sự phát triển caxinom mũi-họng. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong hai khối kiểu đơn khác nhau và có tương quan với nguy cơ caxinom mũi-họng đơn phát. Hơn nữa, N4BP2 được biểu hiện quá mức trong các mô khối u này so với các mô bình thường được ghép cặp (Zheng et al., 2007).

Trong nhiều giai đoạn, trường hợp duy nhất của nghiên cứu liên quan đến hệ gen rộng của 12518 ca mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt, NAALADL2 được xác định làm locus liên quan đến điểm số Gleason, phương pháp bệnh lý của tính xâm lấn bệnh (Berndt et al., 2015). NAALADL2 được biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh ung thư ruột kết và kích thích kiểu hình tiền di trú và tiền di căn liên quan đến tỷ lệ sống thấp (Whitaker et al., 2014).

NCAPG được điều hòa giảm ở các bệnh nhân mắc bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, và các tế bào bệnh bạch cầu từ máu hoặc tế bào u tủy (Cohen et al., 2014). NCAPG có thể là gen kháng nhiều dược chất trong bệnh ung thư kết-trực tràng (Li et al., 2012a). NCAPG được điều hòa tăng ở mức cao trong kiểu phụ ky nhuộm màu của caxinom tế bào của người mà không ở caxinom tế bào thận bình thường của người (Kim et al., 2010a). Sự điều hòa tăng của NCAPG có liên quan đến sự tiến triển u melanin (Ryu et al., 2007). NCAPG có liên quan với u melanin màng mạch nho (Van Ginkel et al., 1998). NCAPG có sự biểu hiện thay đổi ở các tế bào khối u khác nhau (Jager et al., 2000).

NRK mã hóa kinaza liên quan đến Nik, protein kinaza cần thiết cho sự hoạt hóa JNK, chất này có thể liên quan đến sự gây ra quá trình polyme hóa actin trong sự phát triển phôi muộn (RefSeq, 2002). NRK hoạt hóa con đường truyền tín hiệu c-Jun kinaza ở đầu tận cùng N và có thể liên quan đến sự điều hòa cấu trúc bộ khung tế bào actin trong các tế bào cơ xương thông qua sự phosphoryl hóa cofilin (Nakano et al., 2003).

NUP210 đã được chứng minh là gen ứng viên có hiện tượng đa hình liên quan đến nguy cơ bệnh ung thư kết-trực tràng (Landi et al., 2012). NUP210 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư cổ tử cung và được gợi ý là đóng vai trò trong pha sớm của sự tạo u (Rajkumar et al., 2011).

ORC1 đã được chứng minh là biểu hiện quá mức các dòng tế bào có nguồn gốc từ khối u và được dự đoán là dấu ấn sinh học trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt cũng

như bệnh bạch cầu (Struyf et al., 2003; Zimmerman et al., 2013; Young et al., 2014). Nhờ sự tương tác của nó với histon axetyltranferaza như HBO1, ORC1 có chức năng gây ung thư trong bệnh ung thư vú (Wang et al., 2010).

Thể mang không phải thể mang của các đột biến dị hợp tử trong hai SNP trong OSCP1 có thể là dấu ấn sinh học của tính mẫn cảm với caxinom gan không nhiễm virut (Toda et al., 2014).

OVOL2 gây ra sự chuyển tiếp mô giữa-biểu mô làm giảm mức độ di căn (Roca et al., 2013). OVOL2 ức chế c-Myc và Notch1 (Wells et al., 2009). OVOL2 được metyl hóa tăng trong bệnh ung thư kết-trực tràng dẫn đến sự mất khả năng ức chế sự truyền tín hiệu Wnt của nó (Ye et al., 2016). Sự biểu hiện quá mức của OVOL2 làm giảm mức độ di trú và xâm lấn tế bào, làm giảm các dấu hiệu của sự chuyển tiếp biểu mô-mô giữa, và ức chế sự di căn (Ye et al., 2016). OVOL2 được điều hòa giảm trong bệnh ung thư kết-trực tràng và có tương quan ngược với giai đoạn khối u (Ye et al., 2016). OVOL2 được điều hòa bởi con đường truyền tín hiệu Wnt (Ye et al., 2016).

OXTR được biểu hiện quá mức đáng kể trong các khối u ruột non và khối u thần kinh-nội tiết tụy nguyên phát, caxinom tế bào nhỏ của phổi, caxinom buồng trứng cũng như trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt, làm trung gian cho sự di trú tế bào và sự di căn (Morita et al., 2004; Zhong et al., 2010; Carr et al., 2012; Carr et al., 2013; Pequeux et al., 2002). Tuy nhiên, OXTR1 cũng có tác dụng ức chế đối với sự tăng sinh của các tế bào ung thư có nguồn gốc biểu mô, thần kinh hoặc xương, được cho là phụ thuộc vào sự khu trú của thụ thể trên màng (Cassoni et al., 2004).

PAPPA là gen liên quan đến sự di căn xuất hiện trong nhiều loại bệnh ung thư như NSCLC và caxinom tế bào gan, mà trong đó nó có liên quan tích cực với yếu tố sinh trưởng (VEGF và IGF-I) và yếu tố phiên mã (NF-kapaB p50, NF-kapaB p65, HIF-1alpha) (Salim et al., 2013; Iunusova et al., 2013; Engelmann et al., 2015). PAPPA điều hòa quá trình gián phân bằng cách điều biến con đường truyền tín hiệu IGF-1 trong các tế bào ung thư vú và ung thư buồng trứng, trong đó nó được phát hiện chủ yếu ở vị trí ban đầu (Boldt and Conover, 2011; Loddo et al., 2014; Becker et al., 2015; Iunusova et al., 2014).

PGAP1 được điều hòa giảm trong dòng tế bào caxinom tuyến AsPC-1 (Yang et al., 2016).

PGR có liên quan ở mức cao với sự khơi mào và tiến triển của bệnh ung thư vú, trong đó nó hoạt hóa con đường MAPK và PI3K/AKT cũng như sự biểu hiện của các thụ thể yếu tố sinh trưởng (growth factor receptor: GFR) (Jaiswal et al., 2014; Piasecka et al., 2015). PGR (ngoài thụ thể HER và estrogen) có tác dụng làm yếu tố phân loại giúp phân biệt giữa ba kiểu phụ khác nhau của bệnh ung thư vú (Safarpour and Tavassoli, 2015).

PLA2G7 có ảnh hưởng lớn đối với sự chuyển hóa lipit trong các tế bào ung thư vú, ung thư buồng trứng, u melanin và ung thư tuyến tiền liệt, trong đó sự ức chế enzym làm cho khả năng gây bệnh ung thư giảm đi (Vainio et al., 2011a; Massoner et al., 2013; Kohnz et al., 2015). PLA2G7 có liên quan ở mức cao đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt và do đó là dấu ấn sinh học tiềm năng cho loại bệnh ung thư này (Vainio et al., 2011b).

PPP3R1 được điều hòa tăng trong các tế bào caxinom tế bào gan làm ảnh hưởng đến 10 con đường truyền tín hiệu khác nhau (Zekri et al., 2008).

PRKDC là gen thường xuyên được đột biến trong bệnh ung thư buồng trứng liên quan đến bệnh lạc màng trong tử cung và bệnh ung thư vú (Er et al., 2016; Wheler et al., 2015). PRKDC được điều hòa tăng trong các mô ung thư so với mô bình thường ở bệnh caxinom kết-trực tràng. Các bệnh nhân có sự biểu hiện PRKDC ở mức cao có thời gian sống thêm toàn bộ ngắn hơn (Sun et al., 2016).

Phát hiện được sự biểu hiện PSMA7T được điều hòa tăng trong bệnh ung thư phổi di căn, bệnh ung thư tuyến tiền liệt kháng phẫu thuật (CRPC) cũng như trong bệnh ung thư kết-trực tràng nguyên phát, trong đó nó làm tăng nguy cơ di căn gan (Hu et al., 2008; Hu et al., 2009; Romanuik et al., 2010; Cai et al., 2010). Cũng đã chứng minh được rằng lượng PSMA7T có tương quan với sự chuyển hoạt hóa của thụ thể androgen (androgen receptor: AR) trong sự phát triển của khối u tuyến tiền liệt qua trung gian androgen/AR (Ogiso et al., 2002).

Đã chứng minh được rằng PSMC1 có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của tế bào và do đó là đích kháng ung thư tiềm năng trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, bệnh đa u tủy và u nguyên bào xốp (Dahlman et al., 2012; Kim et al., 2008).

RAD18 có liên quan đến sự tạo u do chức năng đã biết rõ của nó trong nhánh phụ gây tổn thương ADN, sự sửa chữa sau sao chép và sự tái tổ hợp tương đồng (Ting

et al., 2010). Hiện tượng đa hình Arg302Gln của RAD18 có liên quan với nguy cơ bệnh ung thư kết-trực tràng và bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Kanzaki et al., 2008; Kanzaki et al., 2007). RAD18 làm trung gian cho sự kháng với liệu pháp chiếu xạ ion hóa trong các tế bào u thần kinh đệm của người và sự làm giảm nồng độ RAD18 phá vỡ sự sửa chữa qua trung gian tái tổ hợp tương đồng, dẫn đến sự tích tụ gia tăng mảnh vỡ của sợi kép (Xie et al., 2014). Bằng cách sử dụng vi mảng mô u melanin, đã chứng minh được rằng sự biểu hiện RAD18 trong nhân được điều hòa tăng trong u melanin nguyên phát và di căn so với chứng nơvi loạn sản (Wong et al., 2012).

RAD51AP1 đã được chứng minh là có liên quan đến bệnh ung thư tuyến giáp dạng nhú khi tiếp xúc với sự chiếu xạ (Handkiewicz-Junak et al., 2016). Sự khuếch đại RAD51AP1 đã được chứng minh là có tương quan với tính bất tử của tế bào và thời gian sống ngắn hơn trong bệnh ung thư buồng trứng (Sankaranarayanan et al., 2015). RAD51AP1 được mô tả là thường được biểu hiện quá mức trong các mô và tế bào khối u và sự phá vỡ chức năng của RAD51AP1 được gợi ý là phương pháp hứa hẹn trong liệu pháo khối u hướng đích (Parplys et al., 2014). Sự phiên mã RAD51AP1 đã được chứng minh là được kích thích trực tiếp bởi gen ức chế khối u MEN1 (Fang et al., 2013). RAD51AP1 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong caxinom đường mật trong gan, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ dương tính với virut gây bệnh u nhú ở người và trong các khối u vú thiếu hụt BRCA1 so với các khối u vú đơn phát (Martinez et al., 2007; Martin et al., 2007; Obama et al., 2008). Sự ức chế RAD51AP1 đã được chứng minh là làm ức chế sự phát triển trong các tế bào caxinom đường mật trong gan, điều này gợi ý sự liên quan của nó trong sự phát triển và/hoặc sự tiến triển của caxinom đường mật trong gan (Obama et al., 2008).

Sự làm giảm nồng độ RBM14 đã được chứng minh là ức chế sự tái phát triển của u nguyên bào xốp đa dạng sau khi chiếu xạ *in vivo* (Yuan et al., 2014). RBM14 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong caxinom tế bào thận (Kang et al., 2008). RBM14 được mô tả là gen ức chế khối u tiềm năng trong caxinom thận, nó ức chế sự chuyển tiếp pha G(1)-S trong các tế bào thận của người và ức chế sự phát triển không phụ thuộc sự cố định và sự hình thành khối u có mô ghép khác loài bằng cách điều hòa giảm tiền gen gây ung thư c-myc (Kang et al., 2008). RBM14 đã được chứng

minh là tham gia vào sự hoạt hóa làm tăng khả năng di trú của các tế bào ung thư của người PEA3 và MCF7 (Verreman et al., 2011). Gen RBM14 đã được chứng minh là được khuếch đại trong nhóm phụ của các tế bào sơ cấp của người bao gồm caxinom phổi tế bào không nhỏ, caxinom tế bào vảy ở da và u lymphô (Sui et al., 2007).

RBM4 liên quan đến cơ chế ghep điều hòa của ARN tiền thông tin ức chế sự tăng sinh và sự di trú của nhiều loại tế bào ung thư (Lin et al., 2014; Wang et al., 2014c). Phát hiện được sự rối loạn điều hòa của hoạt tính BBM4 trong bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư buồng trứng và bệnh ung thư trực tràng (Liang et al., 2015; Markus et al., 2016).

Nồng độ RCOR3 trong huyết thanh của các bệnh nhân ung thư gan là thấp hơn đáng kể so với nồng dộ này ở các bệnh nhân nhiễm virut viêm gan B mạn tính mức độ trung bình và nhiễm virut viêm gan B mạn tính mức độ nhẹ (Xue et al., 2011).

Sự điều hòa giảm RFWD2 có tương quan với tiên lượng xấu ở bệnh ung thư dạ dày (Sawada et al., 2013). RFWD2 tương tác trực tiếp với p27 và sự điều hòa giảm mức độ tương tác này có liên quan đến sự tạo u (Choi et al., 2015b; Choi et al., 2015a; Marine, 2012). Sự điều hòa tăng RFWD2 có tương quan với tiên lượng xấu ở bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư dạ dày, và bệnh ung thư vú bộ ba âm tính (Ouyang et al., 2015; Li et al., 2016; Li et al., 2012c).

RIF1 được biểu hiện ở mức cao trong các khối u vú của người, mã hóa yếu tố kháng lại sự chết theo chương trình cần thiết cho sự sửa chữa ADN và là đích tiềm năng cho việc điều trị bệnh ung thư (Wang et al., 2009a). Vai trò của RIF1 trong việc duy trì tính toàn vẹn của hệ gen đã được mở rộng để bao gồm cả việc điều hòa cấu trúc cromatin, thời điểm sao chép và sự kiểm soát trong pha S (Kumar and Cheok, 2014).

Ở các bệnh nhân được chẩn đoán là mắc bệnh u xơ toàn thân bẩm sinh đa tâm nội tạng, các biến thể đồng hợp tử mới trong gen RLTPR được xác định (Linhares et al., 2014).

RNF24 đã được chứng minh là được điều hòa tăng trong caxinom tuyến thực quản và đóng vai trò then chốt trong sự tiến triển bệnh thực quản Barrett thành caxinom tuyến thực thực quản (Wang et al., 2014b). RNF24 đã được chứng minh là được biểu hiện khác biệt, tùy theo các yếu tố nguy cơ nhất định trong caxinom tế bào

vảy ở miệng (Cheong et al., 2009).

RPGRIP1L ức chế sự phát triển không phụ thuộc sự cố định một phần thông qua protein kiểm soát sự gián phân Mad2 và là gen ức chế khối u ứng viên trong caxinom tế bào gan của người (Lin et al., 2009).

Sự biểu hiện quá mức Rtl1 trong gan của chuột trưởng thành gây ra sự tạo khối u ngoại hiện ở mức cao và sự biểu hiện quá mức RTL1 được phát hiện trong 30% mẫu caxinom tế bào gan của người được phân tích (Riordan et al., 2013). Hoạt tính phiên mã của gen được in RTL1 được đánh giá trong nhóm 32 khối u Wilms và sự biểu hiện quá mức dạng khối được phát hiện so với mô thận bình thường (Hubertus et al., 2011).

SAPCD2 (còn được gọi là p42.3 hoặc C9orf140) mã hóa protein được phát hiện ban đầu là được biểu hiện trong bệnh ung thư dạ dày, mà không ở trong niêm mạc dạ dày bình thường (Xu et al., 2007). SAPCD2 được biểu hiện quá mức trong các thực thể bệnh ung thư khác nhau bao gồm bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tế bào gan và bệnh ung thư não và nồng độ SAPCD2 cao có liên quan với sự tiến triển khối u (Sun et al., 2013; Weng et al., 2014; Wan et al., 2014). Con đường tối ưu của gen SAPCD2 trong mạng lưới điều hòa protein trong bệnh ung thư dạ dày là protein Ras, protein Raf-1, MEK, MAPK kinaza, MAPK, tubulin, protein thể thoi, protein tâm động và khối u (Zhang et al., 2012a; Weng et al., 2014).

Sự biểu hiện SEMA3A ở mức thấp đã được chứng minh là có tương quan với thời gian sống thêm toàn bộ ngắn hơn và có ý nghĩa tiên lượng độc lập ở các bệnh nhân mắc bệnh caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (Wang et al., 2016). Sự biểu hiện quá mức của SEMA3A đã được chứng minh là ức chế sự di trú, sự xâm lấn và sự chuyển tiếp biểu mô-mô giữa một phần là do sự ức chế NF-kB và SNAI2 trong dòng tế bào caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (Wang et al., 2016). Do đó, SEMA3A dùng làm gen ức chế khối u trong caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ và có thể là đích mới cho việc điều trị bệnh này (Wang et al., 2016). Sự biểu hiện SEMA3A đã được chứng minh là có liên quan ngược đáng kể đến sự di căn trong caxinom tế bào gan (Yan-Chun et al., 2015). SEMA3A được mô tả là được điều hòa giảm trong nhiều loại bệnh ung thư, bao gồm bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư vú, u thần kinh đệm, caxinom buồng trứng biểu mô và bệnh ung thư dạ dày (Jiang et al., 2015a; Tang et al.,

2014). Sự biểu hiện SEMA3A ở mức thấp đã được chứng minh là có tương quan với sự biệt hóa kém, sự xâm lấn mạch, mức độ xâm lấn sâu, sự di căn hạch bạch huyết, sự di căn xa, giai đoạn TNM tiến triển và sự tiên lượng xấu trong bệnh ung thư dạ dày (Tang et al., 2014). SEMA3A được mô tả là gen ức chế khối u ứng viên và dấu ấn sinh học tiên lượng tiềm năng trong sự gây ung thư dạ dày (Tang et al., 2014).

Đã chứng minh được rằng sự biến đổi sai nghĩa trong gen SERPINB10 có dấu hiệu tạo u dẫn đến nguy cơ gia tăng của bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Shioji et al., 2005). Ngoài ra, sự biểu hiện SERPINB10 được điều hòa tăng đáng kể trong các khối u di căn của động vật có vú (Klopfleisch et al., 2010).

Mức độ biểu hiện của SLC16A14 có liên quan đáng kể đến thời gian sống thêm không có sự tiến triển của bệnh và là dấu ấn giả định mới đối với sự tiến triển của bệnh ung thư buồng trứng biểu mô (Elsnerova et al., 2016).

SLC18A1 có sự biểu hiện ở mức thấp hơn trong các loại khối u nguyên bào thần kinh không có lợi khi so với các khối u này có lợi (Wilzen et al., 2009).

SLC25A43 được xác định làm chất điều hòa sự tiến triển của chu trình tế bào và sự tăng sinh thông qua sự kiểm soát ty thể giả định trong dòng tế bào ung thư vú (Gabrielson et al., 2016). SLC25A43 ảnh hưởng đến hiệu quả của dược chất và điều hòa chu trình tế bào sau khi tiếp xúc với dược chất trong dòng tế bào ung thư vú (Gabrielson và Tina, 2013).

SLC28A3 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong caxinom tuyến ống tụy (Mohelnikova-Duchonova et al., 2013). SLC28A3 có liên quan đến hiệu quả lâm sàng trong bệnh ung thư vú di căn được điều trị bằng liệu pháp hóa trị paclitaxel và gemcitabine, thời gian sống thêm toàn bộ trong bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ được điều trị bằng gemcitabine và thời gian sống thêm toàn bộ trong caxinom tuyến tụy được điều trị bằng liệu pháp hóa-xạ trị trên cơ sở gemcitabine (Li et al., 2012b; Lee et al., 2014b; Marechal et al., 2009). SLC28A3 có liên quan đến sự kháng thuốc fludarabine trong bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính và sự kháng thuốc trong bệnh bạch cầu tế bào T (Karim et al., 2011; Fernandez-Calotti et al., 2012).

SLC2A13 được tăng lên ổn định trong các tế bào tạo hình cầu trong môi trường nuôi cấy sơ cấp của các mẫu caxinom tế bào vảy ở miệng và kính hiển vi đồng tiêu cho thấy rằng các tế bào biểu hiện SLC2A13 được gắn trong vùng giới hạn của mô

khối u dưới dạng cụm gen, điều này gợi ý rằng SLC2A13 có thể là dấu ấn tiềm năng của các tế bào gốc của bệnh ung thư (Lee et al., 2011). SLC2A13 được xác định làm gen liên quan đến sự kích thích và tiến triển của bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Bankovic et al., 2010).

Sự ức chế SLC35A1 đã được chứng minh là làm giảm mức độ sialyl hóa của tế bào ung thư và làm giảm khả năng di căn của tế bào ung thư (Maggioni et al., 2014).

SLC7A11 đã được chứng minh là được điều hòa giảm trong các biến thể kháng thuốc của các dòng tế bào ung thư buồng trứng W1 và do đó có thể đóng vai trò trong sự kháng thuốc của tế bào ung thư (Januchowski et al., 2013). SLC7A11 được mô tả là điều biến vi môi trường khối u, dẫn đến có lợi cho sự phát triển của bệnh ung thư (Savaskan and Eyupoglu, 2010). SLC7A11 được mô tả là có liên quan đến quá trình thoái hóa thần kinh trong u thần kinh đệm (Savaskan et al., 2015). SLC7A11 đã được chứng minh là bị ức chế bởi p53 trong trường hợp gây chết tế bào phụ thuộc sắt, và trục p53-SLC7A11 được mô tả là được bảo toàn trong thể đột biến p53(3KR), và góp phần vào khả năng ức chế của nó đối với sự tạo khối u khi không có mặt cơ chế ức chế khối u cổ điển (Jiang et al., 2015b). SLC7A11 được mô tả là cấu trúc dưới phân tử chức năng của hệ Xc- có chức năng tăng lên trong các tế bào ung thư vú xâm lấn (Linher-Melville et al., 2015). Mức độ nhuộm màng cao đối với SLC7A11 trong bệnh ung thư bàng quang kháng cisplatin đã được chứng minh là có liên quan đến hiệu quả lâm sàng kém hơn và sự ức chế SLC7A11 được mô tả là phương pháp điều trị hứa hẹn để điều trị bệnh này (Drayton et al., 2014). SLC7A11 đã được chứng minh là được biểu hiện khác thường trong dòng tế bào bệnh bạch cầu tiền tủy bào ở người HL-60 đã được cho tiếp xúc với benzen và các chất chuyển hóa của nó và làm nổi bật mối liên quan tiềm năng của SLC7A11 với sự gây bệnh bạch cầu (Sarma et al., 2011). Sự phá vỡ SLC7A11 được mô tả là gây ức chế sự phát triển của nhiều bệnh caxinom, bao gồm u lymphô, u thần kinh đệm, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh ung thư vú (Chen et al., 2009). Sự ức chế SLC7A11 đã được chứng minh là ức chế sự xâm lấn của tế bào trong dòng tế bào ung thư thực quản KYSE150 *in vitro* và sự di căn trong thử nghiệm của nó ở chuột không lông và do đó thiết lập vai trò của SLC7A11 trong sự di căn của khối u (Chen et al., 2009).

SLCO5A1 nằm ở màng sinh chất và có thể góp phần vào sự kháng hóa chất của

caxinom phổi tế bào nhỏ bằng cách tác động đến sự vận chuyển dược chất trong tế bào (Olszewski-Hamilton et al., 2011). SLCO5A1 là polypeptit vận chuyển anion hữu cơ nổi bật nhất trong bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ di căn và nồng độ mARN của SLCO5A1 được tăng lên ở mức cao trong các khối u gan và bệnh ung thư vú (Kindla et al., 2011; Wlcek et al., 2011; Brenner et al., 2015). Sự dung hợp gen trong caxinom tế bào vảy ở miệng-hầu có liên quan với sự điều hòa giảm SLCO5A1 (Guo et al., 2016).

SP5 được điều hòa giảm sau khi làm cạn kiệt beta-catenin trong các dòng tế bào ung thư kết-trực tràng và là đích xuôi dòng trực tiếp mới trong con đường truyền tín hiệu Wnt (Takahashi et al., 2005). Sự biểu hiện quá mức của SP5 chứng minh sự hoạt hóa con đường beta-catenin trong bệnh ung thư tụy hiếm gặp ở người (Cavard et al., 2009). Trong các tế bào caxinom kết-trực tràng của người biểu hiện sự truyền tín hiệu Wnt được điều hòa giảm, monensin làm giảm nồng độ β-catenin trong tế bào dẫn đến làm giảm mức độ biểu hiện của các gen đích truyền tín hiệu Wnt như SP5 và tốc độ tăng sinh tế bào giảm (Tumova et al., 2014).

STIL là gen trong số các gen có sự thay đổi về số lượng bản sao và sự mất bản sao trung tính của tính dị hợp trong 15 mẫu u tuyến thượng thận tiết ra cortisol (Ronchi et al., 2012). Các đoạn khuyết nhiễm sắc thể dung hợp gen này và locus liền kề xuất hiện trong bệnh bạch cầu tế bào T, và được cho là tăng lên thông qua các sự kiện tái tổ hợp V-(D)-J illegitimate (Karrman et al., 2009; Alonso et al., 2012).

Phát hiện được sự biểu hiện TBC1D7 tăng lên trong phần lớn bệnh ung thư phổi và sự hóa mô miễn dịch gợi ý mối liên quan của sự biểu hiện TBC1D7 với sự tiên lượng xấu của các bệnh nhân NSCLC (Sato et al., 2010). Sự biểu hiện quá mức của TBC7 làm tăng mức độ ubiquitin hóa của TSC1 và làm tăng mức độ phosphoryl hóa của protein S6 bởi S6 kinaza, chất này nằm ở con đường truyền tín hiệu mTOR (Nakashima et al., 2007).

TDG tác động đến con đường truyền tín hiệu Wnt theo cách điều hòa tăng bằng cách tương tác với yếu tố phiên mã TCF4 và được cho là dấu ấn sinh học tiềm năng của bệnh ung thư kết-trực tràng (Xu et al., 2014). Mặt khác, sự biểu hiện TDG giảm dẫn đến sự suy giảm con đường sửa chữa cắt bỏ bazơ (base excision repair: BER) với các dấu hiệu của gen gây ung thư mạnh (van de Klundert et al., 2012). Quan sát được

sự điều hòa giảm protein trong bệnh ung thư vú giai đoạn sớm và caxinom tế bào vảy thực quản (ESCC) cũng như trong bệnh ung thư dạ dày (Li et al., 2013; Du et al., 2015; Yang et al., 2015a).

Gen trong số bốn gen thường xuyên được đột biến nhất là TENM4 có các đột biến làm thay đổi protein trong u lymphô CNS nguyên phát (Vater et al., 2015). Dòng tế bào MDA-MB-175 chứa sự chuyển dịch nhiễm sắc thể dẫn đến sự dung hợp của TENM4 và các thụ thể của họ ErbB. Các gen thể khảm cũng được tìm thấy trong u nguyên bào thần kinh (Wang et al., 1999b; Boeva et al., 2013).

TET2 là chất điều hòa quan trọng của sự ổn định nội mô mới của tế bào gốc tạo máu có sự suy giảm chức năng dẫn đến bệnh ác tính huyết học (Nakajima and Kunimoto, 2014). Các đột biến TET2 có ảnh hưởng xấu đến sự tiên lượng và có thể giúp các chiến lược điều trị được làm thích ứng hợp lý với nguy cơ cho các bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (Liu et al., 2014b). Sự khu trú nhân của TET2 bị mất với tỷ lệ đáng kể trong các mô ung thư kết-trực tràng, liên quan đến sự di căn (Huang et al., 2016).

TKTL1 có liên quan với sự phát triển và tiến triển của nhiều loại khối u như caxinom tế bào vảy thực quản, caxinom tế bào vảy ở miệng, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư kết-trực tràng và bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Kayser et al., 2011; Bentz et al., 2013; Grimm et al., 2014).

TMEM67 có chức năng trong sự di trú hạt trung tâm đến màng sinh trưởng và sự hình thành lông mi ban đầu. Các khuyết tật trong gen này là nguyên nhân của hội chứng Meckel typ 3 (Meckel syndrome type 3: MKS3) và hội chứng Joubert typ 6 (Joubert syndrome type 6: JBTS6) (RefSeq, 2002). TMEM67 có liên quan đến sự hình thành lông mi và lông mi bị khiếm khuyết có thể gây ra khuyết tật ở mắt, khối u ở lưỡi, và bệnh u nguyên tủy bào (Yang et al., 2015b; Parisi, 2009).

TONSL liên quan đến sự gây ung thư phổi và thực quản bằng cách làm ổn định protein của gen gây ung thư MMS22L (Nguyen et al., 2012). Các tương tác khác được thể hiện giữa TONSL và BRCA1, có tác dụng làm gen ức chế khối u vú và buồng trứng (Hill et al., 2014).

Sự chuyển dịch TP63 được mô tả là sự kiện trong nhóm phụ của các u lymphô tế bào lớn thể thoái biến dương tính với u lymphô kinaza thể thoái biến có liên quan

đến quá trình xâm lấn của bệnh này (Hapgood and Savage, 2015). TP63 được mô tả là đóng vai trò phức hợp trong bệnh ung thư do sự liên quan của nó trong sự biệt hóa biểu mô, sự ngừng chu trình tế bào và sự chết theo chương trình (Lin et al., 2015). Thể đồng dạng TP63 của TAp63 được mô tả là được biểu hiện quá mức trong các bệnh ác tính huyết học trong khi sự đột biến sai nghĩa của TP63 đã được thông báo trong bệnh ung thư có vảy và sự chuyển dịch TP63 trong các u lymphô và một số caxinom tuyến phổi (Orzol et al., 2015). Sự ghép bất thường dẫn đến sự biểu hiện quá mức của thể đồng dạng DeltaNp63 của TP63 được mô tả là thường được tìm thấy trong các bệnh ung thư ở người như caxinom tế bào vảy ở da, mà ở đó nó có khả năng tạo ra sự khơi mào và sự tiến triển của khối (Missero and Antonini, 2014; Inoue và Fry, 2014).

TRIM59 kích thích sự tăng sinh và sự di trú của các tế bào ung thư phổi tế bào không nhỏ bằng cách điều hòa tăng đối với các protein liên quan đến chu trình tế bào (Zhan et al., 2015). Uubiquitin ligaza cơ định TRIM59 được điều hòa tăng trong các khối u dạ dày so với mô không phải từ khối u và nồng độ TRIM59 có tương quan với sự tiến triển khối u và thời gian sống của bệnh nhân. TRIM59 tương tác với P53, kích thích sự ubiquitin hóa và thoái biến của nó, và TRIM59 có thể kích thích sự gây ung thư dạ dày bằng cơ chế này (Zhou et al., 2014).

TRPC4 được phát hiện là được điều hòa tăng trong bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư vùng đầu và cổ, bệnh ung thư thận và bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Zhang et al., 2010b; Zeng et al., 2013a; Jiang et al., 2013; Park et al., 2016).

ULBP3 là thể đồng dạng hòa tan và gắn kết màng được biểu hiện trong nhiều tế bào khối u. Bệnh bạch cầu dạng nguyên bào lymphô cấp tính ở trẻ em biểu hiện nồng độ ULBP3 cao hơn đáng kể so với mức biểu hiện ở người trưởng thành (Torelli et al., 2014). Phát hiện được mức độ biểu hiện của ULBP3 cao hơn đáng kể trong dòng tế bào bệnh bạch cầu K562 so với các dòng tế bào bệnh bạch cầu khác. Hơn nữa, nó có thể được tìm thấy trong cả dòng tế bào bệnh bạch cầu và các tế bào bệnh bạch cầu ác tính nguyên phát (Ma et al., 2013b). Locus ULBP3 được metyl hóa trong dòng tế bào ung thư kết-trực tràng (Bormann et al., 2011). Đã phát hiện được nồng độ mARN và mức độ biểu hiện của ULBP3 tăng lên trong dòng tế bào ung thư phổi của người SW-900 (Park et al., 2011). ULBP3 có mức độ biểu hiện bề mặt cao hơn trong các tế bào

bệnh bạch cầu (Ogbomo et al., 2008). Nồng độ ULBP3 trong các dòng tế bào khối u khác nhau có tương quan với tính gây độc tế bào của tế bào NK, tuy nhiên, ULBP3 dường như không thích hợp dùng làm dấu ấn sinh học (Wang et al., 2008; Linkov et al., 2009). ULBP3 không được biểu hiện trong dòng tế bào caxinmom mũi-họng của người CNE2 (Mei et al., 2007). ULBP3 được biểu hiện trong bệnh ung thư buồng trứng và có tương quan ngược với sự sống của bệnh nhân (Carlsten et al., 2007; McGilvray et al., 2010). Các tế bào B biểu hiện ULBP3 trong u lymphô không Hodgkin hoặc nó có thể được tìm thấy trong máu ngoại vi, tủy xương, hoặc hạch bạch huyết (Catellani et al., 2007). ULBP3 được biểu hiện trong bệnh ung thư vú, dòng tế bào u nguyên bào xốp U251, các khối u não của người, và trong caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (Eisele et al., 2006; Butler et al., 2009; Bryant et al., 2011; de Kruijf et al., 2012). Các tế bào khối u biểu hiện ULBP3 hòa tan và ở bề mặt để điều hòa hoạt tính của tế bào NK (Mou et al., 2014). ULBP3 được biểu hiện quá mức trong một số khối u biểu mô. Hơn nữa, nồng độ ULBP3 trong huyết thanh của bệnh nhân ung thư tăng lên so với người cho khỏe mạnh (Mou et al., 2014).

Các alen VPS13B được đột biến trong bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (Iwakawa et al., 2015). Quan sát được các đột biến của VPS13B trong bệnh ung thư dạ dày và bệnh ung thư kết-trực tràng (An et al., 2012).

Phát hiện được các đột biến xô dịch khung của VPS13C trong bệnh ung thư dạ dày và bệnh ung thư kết-trực tràng có tính bất ổn định vi vệ tinh (An et al., 2012).

Sự biểu hiện WDR62 được tăng lên đáng kể trong các mô và dòng tế bào ung thư dạ dày và có liên quan đến sự biệt hóa kém và sự tiên lượng xấu. Ngoài ra, sự biểu hiện WDR62 tăng lên trong các tế bào kháng đa thuốc (Zeng et al., 2013b). Sự biểu hiện quá mức WDR62 có liên quan đến sự khuếch đai thể trung tâm và có thể là dấu ấn sinh học biệt hóa mới hữu ích và đích của liệu pháp tiềm năng đối với bệnh ung thư buồng trứng (Zhang et al., 2013b).

WDR92 gắn kết exosome ức chế sự xâm lấn của tế bào ung thư vú bằng cách làm thoái biến amphiregulin mARN (Saeki et al., 2013). WDR92 kích thích sự chết theo chương trình do yếu tố hoại tử khối u -alpha và cycloheximide gây ra (Ni et al., 2009).

WNT5A thuộc về họ gen WNT gồm các gen liên quan về mặt cấu trúc, mã hóa

các protein truyền tín hiệu được tiết ra. Các protein này có liên quan đến các gen gây ung thư và một số quá trình phát triển, bao gồm điều hòa sự chết của tế bào và tạo mô hình trong khi tạo phôi. Gen WNT5A mã hóa thành viên của họ WNT truyền tín hiệu qua cả con đường WNT kinh điển và không kinh điển. Protein này là phối tử của 7 thụ thể xuyên màng-5 dạng xoăn và thụ thể mồ côi tyrosin kinaza 2. Protein này đóng vai trò thiết yếu trong việc điều hòa các con đường phát triển trong khi tạo phôi. Protein này cũng có thể đóng vai trò trong sự tạo khối u (RefSeq, 2002). WNT5A được biểu hiện quá mức ở CRC và có tỷ lệ thích hợp bằng 76% giữa khối u nguyên phát và vị trí di căn (Lee et al., 2014a). WNT5A được điều hòa tăng và là chất điều hòa chủ chốt của sự chuyển tiếp biểu mô-với-mô giữa và sự di căn các tế bào caxinom dạ dày, caxinom mũi họng và bệnh ung thư tụy ở người (Kanzawa et al., 2013; Zhu et al., 2014; Bo et al., 2013).

XRN1 có thể liên quan đến một số con đường mARN điều hòa trong các tế bào hình sao và u tế bào hình sao (Moser et al., 2007). Việc làm giảm nồng độ XRN1 ức chế sự biểu hiện thụ thể androgen trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt và đóng vai trò quan trọng trong trục miR-204/XRN1 ở caxinom tuyến tiền liệt (Ding et al., 2015).

Các nghiên cứu liên quan đến hệ gen rộng xác định hiện tượng đa hình của gen trong XXYLT1. Đã có đề xuất rằng các hiện tượng đa hình này có locus mẫn cảm đối với sự phát triển bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (Zhang et al., 2012b).

ZBTB20 kích thích sự tăng sinh tế bào trong bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ bằng cách ức chế FoxO1 (Zhao et al., 2014b). Sự biểu hiện ZBTB20 tăng lên trong caxinom tế bào gan và liên quan đến sự tiên lượng xấu (Wang et al., 2011c). Hiện tượng đa hình trong gen ZBTB20 có liên quan với bệnh ung thư dạ dày (Song et al., 2013).

ZFHX4 được cho là điều hòa sự biệt hóa tế bào và sự ức chế nó có liên quan đến thời gian sống thêm không có u thần kinh đệm (Chudnovsky et al., 2014). Các khối u thể nhú của vùng pineal có mức độ biểu hiện của ZFHX4 cao (Fevre-Montange et al., 2006). ZFHX4 được phát hiện là locus mẫn cảm với caxinom tế bào đáy (Stacey et al., 2015).

ZMYM1 là chất tương tác chính của ZNF131 có tác dụng trong sự truyền tín hiệu estrogen và sự tăng sinh bệnh ung thư vú (Oh and Chung, 2012; Kim et al.,

2016).

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).

Khi được sử dụng ở đây và ngoại trừ khi được lưu ý theo cách khác, tất cả các thuật ngữ được định nghĩa như được đưa ra dưới đây.

Thuật ngữ "đáp ứng của tế bào T" sẽ 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, 13 hoặc 14 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 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 "sinh 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 4: 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%
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%

Alen	Quần thể	Kiểu hình tính được từ tần suất alen
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%
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%

Alen	Quần thể	Kiểu hình tính được từ tần suất alen
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 các alen A*02, A*24 hoặc nhóm II, khi được chỉ rõ. 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 sinh 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 sinh 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 cập đến 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: 388, 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: 388. 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: 388, 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 4 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 5: các biến thể và motif được ưu tiên của peptit HLA-A*02 theo các trình tự SEQ ID NO.: 2, 4, và 6.

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 4	E	L	A	E	I	V	F	K	V
Các biến thể									I
									L
									A

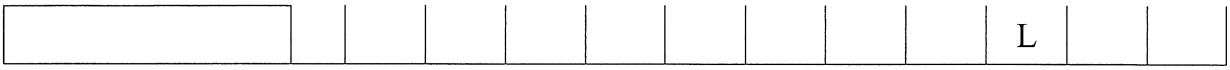
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		M							I
		M							L
		M							
		M							A
		A							I
		A							L
		A							
		A							A
		V							I
		V							L
		V							
		V							A
		T							I
		T							L
		T							
		T							A
		Q							I
		Q							L
		Q							
		Q							A
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 2	A	L	Y	G	K	L	L	K	L
Các biến thể									V
									I
									A
		M							V
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		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. 6	F	L	D	P	A	Q	R	D	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

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

Bảng 6: Các biến thể và motif được ưu tiên của các peptit gắn kết với HLA-A*24 theo các trình tự SEQ ID NO: 98, 114, và 158.

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID NO. 158	I	Y	E	E	T	R	G	V	L	K	V	F
Biến thể												I
												L
		F										
		F										I
		F										L
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID NO. 114	Q	Y	L	D	G	T	W	S	L			
Biến thể									I			
									F			
		F										
		F							I			
		F							F			
Vị trí	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID NO. 98	V	F	P	R	L	H	N	V	L	F		
Biến thể		Y								I		
		Y								L		
		Y										
										I		



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 7.

Bảng 7: 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 bốn 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 cập đến 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: 388.

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 388 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 (Lonsdale, 2013) từ khoảng 3000 mẫu mô bình thường (khỏe mạnh) 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 khác. Sau đó, 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.

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) (xem Ví dụ 1).

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 các peptit liên quan đến khối u (TUMAP) tự nhiên ghi được từ các mẫu bệnh ung thư (N = 377 mẫu dương tính với A*02 từ 370 người cho, N = 204 mẫu dương tính với A*24) 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 thu được từ 574 bệnh nhân ung thư.

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 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 trình diện 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 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 ung thư nguyên phát đều khẳng định sự trình diện của chúng trên u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận,

bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, hoặc bệnh ung thư tử cung nguyên phát.

Các peptit TUMAP như được xác định trên nhiều mô bệnh ung thư 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 suất 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 14).

Phép phân tích kết hợp sự biểu hiện của ARN và dữ liệu khổ khối lượng cho kết quả của 417 peptit theo sáng chế.

Sáng chế đề cập đến peptit hữu ích trong việc điều trị các bệnh ung thư/khối u, tốt hơn nếu là bệnh u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, và bệnh ung thư tử cung 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 ung thư nguyên phát ở người.

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 các tế bào hoặc mô khỏe mạnh có nguồn gốc từ cùng cơ quan như khối u, 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 sẽ có nghĩa là mẫu lấy từ bệnh nhân mắc bệnh ung thư, mà không biểu hiện trên các mô bình thường (ví dụ, 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và

caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư tử cung 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). 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 cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 peptit - phân tử 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 peptit - phân tử 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 peptit - phân tử 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 phần mô tả này với peptit theo sáng chế có thể được tăng lên bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến 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 tế bào gốc 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 (lách 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 postsự phiên mãal 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 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. 388, 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 cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 Sự biểu hiện, 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 cập đến 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 Ruột kếty 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 kháng nguyên 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 cập đến 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: 388, 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 cập đến peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 388, 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: 388 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 cập đến peptit chứa trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 388 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: 388, 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 cập đến 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 cập đến 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: 388.

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

Sáng chế còn đề cập đến vectơ biểu hiện có khả năng biểu hiện hoặc biểu hiện axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến 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 các bệnh ung thư như u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày (GC), bệnh ung thư tinh hoàn (TC), bệnh ung thư bàng quang (UBC), caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung (UEC).

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

Sáng chế còn đề cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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 cập đến 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: 388 hoặc trình tự axit amin của biến thể của nó.

Sáng chế còn đề cập đến 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 khối u dạng rắn hoặc khối u huyết học như u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung.

Sáng chế còn đề cập đến 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung. 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung, cung cấp độc tố đến tế bào ung thư biểu hiện gen đánh dấu ung thư ở mức cao, và/hoặc ức chế hoạt tính của polypeptit của gen đánh dấu ung thư) 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế

bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung 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: 388, 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 các bệnh ung thư nêu trên 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung, 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 cập đến 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: 388, 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 (ngoại biên máu 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 kháng nguyên 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 intơlơkin-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 cập đến 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: 388.

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 trong các mô 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 cập đến 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 sản 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 sản 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, hoặc bệnh ung thư tử cung, tốt hơn nếu thuốc theo sáng chế được sử dụng để điều trị bệnh u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung.

Sáng chế còn đề cập đến 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung 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 ung thư, 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 dùng cho 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư

phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), và bệnh ung thư tử cung được lấy từ các bệnh nhân và máu được lấy từ người cho khỏe mạnh được phân tích theo phương pháp từng bước:

1. Các phối tử HLA từ vật liệu ác tính được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng

2. 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 quá mức ở mô ác tính so với khoảng của mô và cơ quan bình thường.

3. Các phối tử HLA đã xác định được so sánh với số liệu biểu hiện gen. Các peptit được trình diện quá mức hoặc được trình diện 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 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 ung thư.

Theo một khía cạnh, các peptit được sàng lọc sơ bộ về tính sinh miễn dịch trước khi được đưa vào kho chứa. Bằng cách 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 (ngoại biên máu 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 mẫu bệnh u nguyên bào

xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung và do đã xác định được rằng các peptit này không có mặt hoặc có mặt ở mức thấp trong các 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 u nguyên bào xốp, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng, caxinom tế bào thận, bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u lymphô không Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, u melanin, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư bàng quang, caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (HNSCC), hoặc bệnh ung thư tử cung. 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 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 khi có 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.

Các peptit được chọn nếu đáp ứng hai điều kiện sau: (1) Nếu các sản phẩm phiên mã và/hoặc (các) exon cơ sở của nó được biểu hiện ở mức rất thấp, nghĩa là số đọc trung bình cho một kilo bazơ cho một triệu lần đọc (reads per Kilobase per million read: RPKM) cần phải nhỏ hơn 2, và điểm tứ phân vị 75% cần phải nhỏ hơn 5

đối với các cơ quan sau: não, mạch máu, tim, gan, phổi, máu. Ngoài ra, số đọc RPKM trung bình cần phải nhỏ hơn 10 đối với các cơ quan sau: bàng quang, tuyến nước bọt, dạ dày, tuyến thượng thận, ruột kết, ruột non, lách, tủy xương, tụy, cơ, mô mỡ, da, thực quản, thận, tuyến giáp, tuyến yên, dây thần kinh. (2) Peptit liên quan đến khối u, nghĩa là được phát hiện cụ thể hoặc được phát hiện trên các khối u hoặc được biểu hiện quá mức so với đương gốc của mô bình thường (xem Ví dụ 1).

Số lượng mẫu để chọn peptit TUMAP HLA-A*02 là: đối với bệnh ung thư tụy N=16, đối với bệnh ung thư thận N= 20, đối với bệnh ung thư kết-trực tràng N=28, đối với caxinom thực quản bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản N= 15, đối với các khối u tuyến tiền liệt N=35, đối với caxinom tế bào gan N=16, đối với bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ N=88, đối với bệnh ung thư dạ dày N=29, đối với bệnh ung thư vú N=9, đối với u melanin N=3, đối với bệnh ung thư buồng trứng N=20, đối với bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính N=13 (của 12 người cho), đối với bệnh ung thư bàng quang N=5, đối với bệnh ung thư tinh hoàn N=1, đối với bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ N=18 (của 13 người cho), đối với bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật N=3, đối với bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính N=5 (của 4 người cho), đối với u nguyên bào xốp N=40, và đối với bệnh ung thư tử cung N=5.

Số lượng mẫu để chọn peptit TUMAP HLA-A*24 là: đối với bệnh ung thư dạ dày N=44, đối với các khối u tuyến tiền liệt N=37, đối với bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ N=88, đối với caxinom tế bào gan N=15, đối với bệnh ung thư thận N=2, đối với bệnh ung thư kết-trực tràng N=1, và đối với u nguyên bào xốp N=17.

Phân lập các peptit của HLA ra khỏi mẫu mô

Hỗn hợp peptit của HLA từ các mẫu mô đông lạnh sốc thu được bằng cách kết tủa miễn dịch ra khỏi các mô rắn theo quy trình đã công bố (Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999) có sự cải biến không đáng kể bằng cách sử dụng kháng thể BB7.2 đặc hiệu HLA-A*02, kháng thể W6/32 đặc hiệu HLA-A, -B, -C, kháng thể L243 đặc hiệu HLA nhóm II, 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 các mẫu bệnh ung thư khác nhau cạnh đường gốc của các mẫu mô bình thường. Profin trình diện của các peptit biểu hiện quá mức làm ví dụ được thể hiện trên Fig.1.

Bảng 8 (A và B) và bảng 9 (A và B) thể hiện mức độ biểu hiện đối với các thực thể bệnh ung thư khác nhau của peptit được chọn, và do đó mối liên quan cụ thể của các peptit như được đề cập để chẩn đoán và/hoặc điều trị bệnh ung thư như được thể hiện (ví dụ, peptit có trình tự SEQ ID No. 1 đối với bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư thực quản, bao gồm cả bệnh ung thư đường nối tiếp dạ dày-thực quản, caxinom tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, và bệnh ung thư tụy, peptit có trình tự SEQ ID No. 2 đối với bệnh ung thư thận, bệnh ung thư thực quản, bao gồm cả bệnh ung thư dạ dày-thực quản, u nguyên bào xốp, v.v.).

Bảng 8A: Tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit liên quan đến khối u theo sáng chế gắn kết với HLA-A*02 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 (8 mẫu), AML = bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, OC = bệnh ung thư buồng trứng, PC = Bệnh ung thư tụy, clPC (pancreatic tế bào ung thư line) = dòng tế bào bệnh ung thư tụy, PCA = 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 đường nối tiếp dạ dày-thực quản, GBC_CCC = bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, MEL = u melanin, GC = bệnh ung thư dạ dày, TC = bệnh ung thư tinh hoàn, UBC = bệnh ung thư bàng quang, UEC = bệnh ung thư tử cung.

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
1	HLYNNEEQV	UBC, OSCAR, HCC, NSCLC, clPC
2	ALYGKLLKL	RCC, OSCAR, GB, BRCA, CLL, UBC, HCC, SCLC, NSCLC, CRC, OC, GC, NHL
4	ELAEIVFKV	CRC, CLL, NSCLC, GB

5	SLFGQEVYC	HCC, GB, CRC
6	FLDPAQRDL	UBC, NSCLC, GB, AML, clPC
7	AAAAKVPEV	NSCLC, GB, CRC
8	KLGPFLLNA	GC, GB, clPC, NSCLC
9	FLGDYVENL	CLL, CRC, UBC
10	KTLDVFNIIL	CLL, GC, GBC_CCC, OSCAR
11	GVLKVFLENV	HCC, NSCLC, GC, OC, OSCAR
12	GLIYEETRGV	GC, OSCAR, NSCLC, NHL
13	VLRDNIQGI	NSCLC, GBC_CCC, OC, GC, BRCA, OSCAR, CRC, GB, UEC, CLL, RCC, UBC, HCC, MEL, SCLC, NHL
15	ALGDYVHAC	HCC, GC
16	PLWGKVFYL	GBC_CCC, NSCLC, GB, clPC, CRC
17	ILHEHHIFL	RCC, NSCLC
19	TLLPTVLTL	RCC, UBC, SCLC
20	ALDGHLYAI	RCC, UBC, GC
21	SLYHRVLLY	RCC, OSCAR, NSCLC
22	MLSDLTLQL	CRC, PCA, RCC, NSCLC, BRCA, GC, SCLC, PC, OSCAR
23	AQTVVVIKA	GC
24	FLWNGEDSAL	PC, CRC
25	IQADDFRTL	GC
26	KVDGVVIQL	OSCAR, GC
27	KVFGDLDQV	OSCAR, GC
29	TLCNKTFTA	PCA, GB
30	TVIDECTRI	GC
31	ALSDETKNNWEV	AML, CLL
32	ILADEAFFSV	CLL, PC, GB, UBC, PCA, CRC, SCLC, HCC, RCC, OC, NSCLC, MEL, OSCAR, clPC, GC, BRCA, NHL
34	LLPKKTESHHKT	CRC, HCC, NSCLC, GB
35	YVLPKLYVKL	CLL, CRC, NSCLC, GBC_CCC, UBC, OSCAR
36	KLYGIEIEV	NSCLC, GB, RCC
37	ALINDILGELVKL	clPC, CRC, RCC, HCC

38	KMQEDLVTL	NSCLC, RCC, OC, GC, GBC_CCC, OSCAR, clPC, GB, BRCA, PCA, PC, UEC, HCC, CRC, SCLC, NHL
39	ALMAVVSGL	OSCAR, GBC_CCC, CLL, BRCA, HCC, UBC, NSCLC, OC, GC, MEL
40	SLLALPQDLQA	PCA, NSCLC, CRC, UBC, OC
41	FVLPLVVTL	OC, OSCAR, CLL, PCA, SCLC, NSCLC, NHL
42	VLSPFILTL	NSCLC, RCC, BRCA, UBC, OC, NHL
43	LLWAGPVTA	CLL, HCC, CRC, NSCLC, RCC, UBC, NHL, TC
44	GLLWQIIKV	CRC, NSCLC, GC
45	VLGPTPELV	CRC, SCLC, GC, clPC, PC
46	SLAKHGIVAL	PC, NSCLC, CRC, RCC, OC, clPC, PCA, NHL
47	GLYQAQVNL	NSCLC, SCLC
48	TLDHKPVTV	OC, PCA, NSCLC
49	LLDESKLTL	UBC, OC, PCA, NSCLC, RCC
50	EYALLYHTL	CRC, GC
51	LLLDGDFTL	SCLC, HCC
52	ELLSSIFFL	UBC, NSCLC, CRC, RCC
53	SLLSHVIVA	clPC, RCC, GBC_CCC, UBC, NSCLC
54	FINPKGNWLL	UBC, NSCLC, clPC
55	IASAIVNEL	BRCA, GC
56	KILDLTRVL	CRC, NSCLC
57	VLISSTVRL	clPC, RCC, CLL, NHL
58	ALDDSLTSL	clPC, PC, GB
59	ALTKILAEL	UBC, NSCLC
60	FLIDTSASM	UBC, SCLC, RCC
61	HLPDFVKQL	BRCA, CLL, GBC_CCC
62	SLFNQEVQI	CLL, NHL
63	TLSSERDFAL	NSCLC, GC
66	FITDFYTTV	GB
67	GVIETVTSL	NSCLC, GC, CRC
68	ALYGFFFKI	UBC
69	GIYDGILHSI	UEC, GB

70	GLFSQHFNL	HCC, NSCLC
71	GLITVDIAL	SCLC, PCA
72	GMIGFQVLL	UBC, OC, CLL, GB, GBC_CCC
74	ILDETLENV	UBC, SCLC, NHL
76	ILLDESNFNHFL	NSCLC
77	IVLSTIASV	clPC, CRC, PCA
81	VLFLGKLLV	CRC, UBC
82	VLLRVLIL	NSCLC, TC
83	ELLEYLPQL	PC, GBC_CCC
84	FLEEEITRV	CRC, GC
85	STLDGSLHAV	OSCAR, PCA, GC
87	YLTEVFLHVV	CLL, NHL
89	YLVAHNLLL	RCC
90	GAVAEEVLSSI	GB
92	LLRGPPVARA	clPC, PC, RCC, UBC, OSCAR
93	SLLTQPIFL	RCC, HCC
321	SLWFKPEEL	GC, BRCA, CLL, PC, GB, UBC, PCA, CRC, SCLC, HCC, MEL, OC, NSCLC, GBC_CCC, OSCAR, clPC, NHL
322	ALVSGGVAQA	GBC_CCC, OSCAR, BRCA, CLL, UBC, HCC, PC, SCLC, NSCLC, CRC, OC, NHL
323	ILSVVNSQL	CRC, GC, BRCA, OC, CLL, NSCLC, NHL
324	AIFDFCPSV	NSCLC, CRC, GC, MEL, GB, OSCAR, CLL
325	RLLPKVQEV	OSCAR, NSCLC, CRC, SCLC, OC
326	SLLPLVWKI	NSCLC, CRC, GB, RCC, MEL, CLL, TC
327	SIGDIFLKY	GC, GB, CRC, RCC, NSCLC
328	SVDSAPAAV	SCLC, OC, PC, OSCAR, RCC, NSCLC, UBC
329	FAWEPSFRDQV	SCLC, HCC
330	FLWPKEVEL	NSCLC, BRCA, SCLC, OC, CLL, NHL
331	AIWKELISL	GB, CRC
332	AVTKYTSAK	CLL, NSCLC, MEL, NHL
333	GTFLEGVAK	RCC, CLL, HCC
334	GRADALRVL	BRCA, SCLC, CLL

335	VLLAAGPSAA	UBC, CLL, NSCLC, GC, clPC
336	GLMDGSPHFL	PC, NSCLC
337	KVLGKIEKV	RCC, CRC
339	VLGPGPPPL	NSCLC, clPC, CLL, NHL
340	SVAKTILKR	NSCLC, OSCAR

Bảng 8B thể hiện mức độ biểu hiện đối với các thực thể bệnh ung thư khácủa các peptit được chọn, và do đó mối liên quan cụ thể của các peptit như được đề cập để chẩn đoán và/hoặc điều trị bệnh ung thư như được thể hiện.

Bảng 8B: Tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit HLA-A*02 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 mậta, MEL = u melanin, GC = bệnh ung thư dạ dày, UBC = bệnh ung thư bàng quang, UTC = bệnh ung thư tử cung, HNSCC = caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ.

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
1	HLYNNEEQV	GBC_CCC
2	ALYGKLLKL	clPC, UTC, PCA, MEL, AML
3	TLLGKQVTL	CLL, NSCLC, NHL, AML
5	SLFGQEVYC	GBC_CCC, PCA
6	FLDPAQRDL	MEL
7	AAAAKVPEV	MEL, HNSCC, NHL
8	KLGPFLLNA	UTC, HCC
9	FLGDYVENL	UTC, AML, OC, clPC
12	GLIYEETRGV	AML, UTC, HNSCC
13	VLRDNIQGI	AML, HNSCC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
17	ILHEHHIFL	UTC
18	YVLNEEDLQKV	UTC, NSCLC
19	TLLPTVLTL	GBC_CCC, BRCA, UTC
22	MLSDLTLQL	MEL
24	FLWNGEDSAL	NSCLC, GC, UTC
28	TLYSMDLMKV	HNSCC, RCC
32	ILADEAFFSV	HNSCC, UTC, AML, GBC_CCC
33	LLLPLLPPLSPSLG	MEL, NSCLC, GBC_CCC, GC, clPC, SCLC, GB, PC, MCC, CRC, HCC
34	LLPKKTESHHKT	UTC
35	YVLPKLYVKL	HNSCC, NHL, AML
36	KLYGIEIEV	UTC
37	ALINDILGELVKL	MEL, UTC
38	KMQEDLVTL	MEL, AML
39	ALMAVVSGL	HNSCC, NHL, UTC, AML
40	SLLALPQDLQA	GBC_CCC, BRCA, UTC
41	FVLPLVVTL	AML, CRC, BRCA, HNSCC, UTC
42	VLSPFILTL	AML, CLL, UTC
43	LLWAGPVTA	HNSCC
45	VLGPTPELV	OSCAR, GBC_CCC, BRCA
46	SLAKHGIVAL	UBC, HNSCC, GB, CLL, MEL, UTC, HCC
47	GLYQAQVNL	OSCAR
50	EYALLYHTL	GBC_CCC
51	LLLDGDFTL	OSCAR
53	SLLSHVIVA	HCC, AML, OC, OSCAR, HNSCC, MEL, CLL, NHL, BRCA
54	FINPKGNWLL	UTC, HNSCC
55	IASAIVNEL	HCC, GBC_CCC
56	KILDLTRVL	GBC_CCC
57	VLISSTVRL	MEL
59	ALTKILAEL	HCC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
60	FLIDTSASM	AML, CLL, BRCA, HNSCC, UTC, NHL
61	HLPDFVKQL	MEL, AML
64	GLSSSSYEL	GBC_CCC, HCC
65	KLDGICWQV	GBC_CCC, HCC
66	FITDFYTTV	MEL, UBC, HCC, HNSCC, CRC
67	GVIETVTSL	AML
70	GLFSQHFNL	BRCA, UTC, HNSCC, UBC, AML, OSCAR, clPC
71	GLITVDIAL	AML, MEL, UTC
72	GMIGFQVLL	HNSCC, AML
73	GVPDTIATL	GC
74	ILDETLENV	AML, BRCA
75	ILDNVKNLL	AML
77	IVLSTIASV	AML
78	LLWGHPRVA	NSCLC
79	SLVPLQILL	HCC
80	TLDEYLTYL	HCC
81	VLFLGKLLV	HNSCC
86	LLVTSLVVV	HCC, GBC_CCC
88	ILLNTEDLASL	RCC
91	SSLEPQIQPV	MEL, CLL
93	SLLTQPIFL	GBC_CCC
321	SLWFKPEEL	UTC, HNSCC, AML
322	ALVSGGVAQA	AML, GC, clPC, UTC, MEL
323	ILSVVNSQL	MEL, GBC_CCC, AML, OSCAR
324	AIFDFCPSV	BRCA, NHL, UTC, AML, HNSCC
325	RLLPKVQEV	AML, BRCA, UBC, GC
326	SLLPLVWKI	AML
327	SIGDIFLKY	MEL, AML
328	SVDSAPAAV	NHL, BRCA, AML, UTC, CLL, HNSCC, MEL
329	FAWEPSFRDQV	GBC_CCC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
330	FLWPKEVEL	AML
331	AIWKELISL	MEL, CLL, NSCLC
333	GTFLEGVAK	MEL, NSCLC
334	GRADALRVL	MEL, GBC_CCC, AML
335	VLLAAGPSAA	AML, CRC, UTC, NHL
336	GLMDGSPHFL	MEL
338	LLYDGKLSSA	CRC, UBC, OC
339	VLGPGPPPL	MEL, GB, UTC, AML, HCC
340	SVAKTILKR	NHL

Bảng 9A: Tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit liên quan đến khối u theo sáng chế gắn kết với HLA-A*24 được chọn theo thực thể. GB = u nguyên bào xốp, HCC = caxinom tế bào gan, NSCLC = bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, PCA = bệnh ung thư tuyến tiền liệt, GC = bệnh ung thư dạ dày, CRC = bệnh ung thư kết-trực tràng, RCC = caxinom tế bào thận.

SEQ ID NO.	Trình tự	Các thực thể
96	LYSPVPFTL	HCC, NSCLC, GC, GB
97	TYTFLKETF	PCA, HCC, NSCLC, GB
98	VFPRLHNVLF	HCC, NSCLC, GC
99	QYILAVPVL	NSCLC, GC, GB, PCA
100	VYIESRIGTSTSF	GB, HCC, NSCLC, GC
101	IYIPVLPPHL	HCC, NSCLC
102	VYPFENFEF	GC, NSCLC
103	NYIPVKNGKQF	PCA, HCC, NSCLC, GB
104	SYLTWHQQI	PCA, HCC, NSCLC
105	IYNETITDLL	GC, GB, HCC, NSCLC
106	IYNETVRDLL	GC, GB, NSCLC
107	KYFPYLVVI	HCC, NSCLC, GC
109	LFITGGQFF	HCC, NSCLC, GC
110	SYPKIIEEF	GB, HCC, NSCLC, GC

111	VYVQILQKL	GC, HCC, NSCLC
112	IYNFVESKL	NSCLC, GC
113	IYSFHTLSF	NSCLC, GC, GB
114	QYLDGTWSL	NSCLC, GC, GB
115	RYLNKSFVL	NSCLC, GC, GB, PCA, HCC
116	AYVIAVHLF	GB, PCA, HCC, NSCLC
117	IYLSDLTYI	HCC, NSCLC, GC, PCA
118	KYLNSVQYI	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
119	VYRVYVTTF	NSCLC, GC
120	GYIEHFSLW	HCC, NSCLC, GC
121	RYGLPAAWSTF	HCC, NSCLC, GC
122	EYQARIPEF	NSCLC, GC, GB, PCA, HCC
123	VYTPVLEHL	NSCLC, GC, GB, HCC
124	TYKDYVDLF	GC, RCC, GB, PCA, HCC, NSCLC
125	VFSRDFGLLVF	GC, HCC, NSCLC
126	PYDPALGSPSRLF	NSCLC, GC, PCA, HCC
127	QYFTGNPLF	NSCLC, GC, GB, RCC, PCA
128	VYPFDWQYI	GB, PCA, HCC, NSCLC, GC
129	KYIDYLMTW	NSCLC, GC, GB, PCA, HCC
130	VYAHIYHQHF	NSCLC, GC, PCA, HCC
131	EYLDRIGQLFF	NSCLC, GC, RCC, GB, PCA, HCC
132	RYPALFPVL	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
133	KYLEDMKTYF	HCC, NSCLC, GC, GB
134	AYIPTPIYF	PCA, NSCLC, GB
135	VYEAMVPLF	GC, NSCLC
136	IYPEWPVVFF	GC
137	EYLHNCSYF	GC, PCA, HCC, NSCLC
138	VYNAVSTSF	NSCLC, GC
139	IFGIFPNQF	PCA, NSCLC
142	VYVDDIYVI	NSCLC, GC
143	KYIFQLNEI	GB, NSCLC

144	VFASLPGFLF	NSCLC, GC
145	VYALKVRTI	NSCLC
147	LYLAFPLAF	NSCLC, GC, PCA, HCC
148	SYGTVSQIF	PCA, HCC, NSCLC, GC, GB
149	SYGTVSQI	HCC, NSCLC, GB
150	IYITRQFVQF	PCA, HCC, NSCLC, GB
151	AYISGLDVF	HCC, NSCLC, PCA
153	VYVPFGGKSMITF	NSCLC
154	VYGVPTPHF	GB, NSCLC
155	IYKWITDNF	HCC, NSCLC, GC, GB
156	YYMELTKLLL	NSCLC, GC, HCC
157	DYIPASGFALF	NSCLC, GB
158	IYEETRGVLKVF	HCC, NSCLC, GC
159	IYEETRGVL	HCC, NSCLC
160	RYGDGGSSF	PCA, NSCLC, GC
161	KYPDIVQQF	PCA, HCC, NSCLC, GC
162	KYTSYILAF	NSCLC, GC, PCA, HCC
163	RYLTISNLQF	NSCLC
165	EYFTPLLSGQF	NSCLC
166	FYTLPFHLI	HCC, NSCLC
168	RYLEAALRL	NSCLC, GC, GB, PCA, HCC
169	NYITGKGDVF	NSCLC, PCA
170	QYPFHVPLL	GC, PCA, HCC, NSCLC
174	VYEKNGYIYF	NSCLC, GB
175	YYTQYSQTI	GB, NSCLC
176	FYINGQYQF	GB, PCA, HCC, NSCLC, GC
177	VYFKAGLDVF	PCA, NSCLC
178	NYSSAVQKF	PCA, HCC, NSCLC, GB
179	TYIPVGLGRLL	NSCLC, GC
180	KYLQVVGMF	NSCLC, GB
182	AYAQLGYLLF	NSCLC
183	PYLQDVPRI	NSCLC, GB

186	VFTTSSNIF	NSCLC, GB
187	AYAANVHYL	NSCLC
188	GYKTFFNEF	NSCLC
192	RYSTFSEIF	HCC, NSCLC, GC
194	VYQSLSNSL	NSCLC
195	AYIKGGWIL	RCC, HCC, NSCLC, GC
196	GYIRGSWQF	NSCLC, GC
197	IFTDIFHYL	HCC, NSCLC, GC, GB
199	SYLNHLNNL	NSCLC
201	GYNPNRVFF	GB, NSCLC
202	RYVEGIVSL	NSCLC
204	EYLSTCSKL	NSCLC, HCC
206	NYLDVATFL	NSCLC, GC, GB, PCA, HCC
207	LYSDAFKFIVF	NSCLC
209	AFIETPIPLF	NSCLC
210	IYAGVGEFSF	NSCLC, GC
215	SYVASFFLL	GC, NSCLC
217	IYISNSIYF	NSCLC, GC
221	KYIGNLDLL	NSCLC, GB
223	TFITQSPLL	NSCLC
225	TYTNTLERL	NSCLC
226	MYLKLVQLF	HCC, GC
228	IYQYVADNF	NSCLC
229	IYQFVADSF	NSCLC
232	YYLSDSPLL	NSCLC, GC
234	SYLPAIWLL	GC
235	VYKDSIYYI	GB, PCA, HCC, NSCLC, GC
236	VYLPKIPSW	HCC, NSCLC
238	SYLEKVRQL	NSCLC
240	YYFFVQEKI	HCC, NSCLC
243	SYLELANTL	PCA, NSCLC
248	AFPTFSVQL	NSCLC

249	RYHPTTCTI	NSCLC
250	KYPDIASPTF	HCC
251	VYTKALSSL	NSCLC, HCC
252	AFGQETNVPLNNF	HCC
253	IYGFFNENF	HCC
254	KYLESSATF	NSCLC
255	VYQKIILKF	HCC
257	IFIDNSTQPLHF	HCC
259	YFIKSPPSQLF	NSCLC, GC
260	VYMNVMTRL	NSCLC
261	GYIKLINFI	GC
262	VYSSQFETI	GB
264	LYTETRLQF	NSCLC
265	SYLNEAFSF	PCA
266	KYTDWTEFL	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
268	IFITKALQI	GC
269	QYPYLQAFF	NSCLC
271	RFLMKSYSF	HCC
274	KQLDIANYELF	NSCLC, GB, HCC
275	KYGTLDVTF	NSCLC
276	QYLDVLHAL	GC, RCC
277	FYTFPFQQL	GC, RCC, PCA, HCC, NSCLC
280	TYNPNLQDKL	HCC
281	NYSPGLVSLIL	NSCLC
284	DYLKDPVTI	NSCLC
285	VYVGDALLHAI	PCA
286	SYGTILSHI	NSCLC
288	VYPDTVALTF	NSCLC, GC
289	FFHEGQYVF	GC
290	KYGDFKLLEF	PCA, GB
295	SYLVIHERI	NSCLC, GC
296	SYQVIFQHF	NSCLC, GC

297	TYIDTRTVF	PCA, HCC, NSCLC, GC
298	AYKSEVVYF	NSCLC, GB
299	KYQYVLNEF	NSCLC, GC, GB
300	TYPSQLPSL	CRC, GC
301	KFDDVTMLF	NSCLC, GC, HCC
303	LYSVIKEDF	GB, PCA, HCC, NSCLC, GC
304	EYNEVANLF	HCC, NSCLC, GC, RCC, GB, PCA
305	NYENKQYLF	NSCLC, GB, HCC
306	VYPAEQPQI	NSCLC
307	GYAFTLPLF	NSCLC, GC
308	TFDGHGVFF	NSCLC, GC
309	KYYRQTLLF	PCA, HCC, NSCLC, GC, GB
310	IYAPTLLVF	GC, GB, RCC, HCC, NSCLC
311	EYLQNLNHI	PCA
312	SYTSVLSRL	PCA, HCC, NSCLC
313	KYTHFIQSF	NSCLC, GC, RCC, GB, PCA, HCC
314	RYFKGDYSI	GB, HCC
315	FYIPHVPVSF	HCC, NSCLC
316	VYFEGSDFKF	GB, PCA, HCC, NSCLC
317	VFDTSIAQLF	GB, RCC, HCC, NSCLC, GC
318	TYSNSAFQYF	GC, RCC, PCA, HCC, NSCLC
319	KYSDVKNLI	PCA, HCC, NSCLC, GB
320	KFILALKVLF	HCC, NSCLC
341	SYLTQHQRI	PCA, NSCLC
343	NYLGGTSTI	PCA, HCC, GB
344	EYNSDLHQF	GB, RCC, HCC, NSCLC, GC
345	EYNSDLHQFF	GB, NSCLC
346	IYVIPQPHF	NSCLC, GC, GB, HCC
347	VYAEVNSL	GB, NSCLC, GC
348	IYLEHTESI	GC, HCC, NSCLC
349	QYSIISNVF	GC, HCC, NSCLC

350	KYGNFIDKL	NSCLC, GC, HCC
351	IFHEVPLKF	HCC, NSCLC
352	QYGGDLTNTF	NSCLC, GB
353	TYGKIDLGF	HCC, NSCLC, GC, GB
354	VYNEQIRDLL	NSCLC, GC, GB
355	IYVTGGHLF	HCC, NSCLC, GC, RCC, GB, PCA
356	NYMPGQLTI	RCC, NSCLC, GC
357	QFITSTNTF	NSCLC
358	YYSEVPVKL	NSCLC, GB
359	NYGVLHVTF	RCC, HCC, NSCLC
360	VFSPDGHLF	GB, PCA, HCC, NSCLC
361	TYADIGGLDNQI	PCA, NSCLC, GC, GB, RCC
362	VYNYAEQTL	GC, GB, NSCLC
363	SYAELGTTI	GB, NSCLC, GC
365	VFIDHPVHL	NSCLC, GB
366	QYLELAHSL	HCC, NSCLC, GC
367	LYQDHMQYI	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
368	KYQNVKHNL	NSCLC, HCC
369	VYTHEVVTL	NSCLC
370	RFIGIPNQF	PCA
371	AYSHLRYVF	GB, PCA, HCC, NSCLC
373	GYISNGELF	PCA, HCC
375	KYTDYILKI	NSCLC
376	VYTPVASRQSL	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
377	QYTPHSHQF	HCC, NSCLC
378	VYIAELEKI	HCC, NSCLC
380	VYTGIDHHW	NSCLC, GC, RCC, GB, PCA, HCC
382	AYLPPLQQVF	PCA, HCC, NSCLC, GC, RCC, GB
383	RYKPGEPITF	GB, PCA, HCC, NSCLC
384	RYFDVGLHNF	GC, GB, PCA, HCC, NSCLC

385	QYIEELQKF	NSCLC, HCC
386	TFSDVEAHF	HCC, NSCLC, GC, GB
387	KYTEKLEEI	HCC, NSCLC, GB, PCA
388	IYGEKTYAF	HCC, NSCLC, GC, RCC, GB, PCA
389	EYLPEFLHTF	NSCLC
390	RYLWATVTI	GC, HCC, NSCLC
391	LYQILQGIVF	NSCLC, GC, GB, RCC, HCC
392	RYLDSLKAIVF	NSCLC, GC, RCC, HCC
393	KYIEAIQWI	HCC, NSCLC
394	FYQPKIQQF	GB, PCA, HCC, NSCLC, GC
395	LYINKANIW	NSCLC, GC, HCC
396	YYHFIFTTL	GB
397	IYNGKLFDL	GB, NSCLC, GC
398	IYNGKLFDLL	CRC, GC, RCC, GB, PCA, HCC, NSCLC
399	SYIDVLPEF	HCC, NSCLC, GC, RCC, GB, PCA
400	KYLEKYYNL	NSCLC
401	VFMKDGFFYF	NSCLC, GC, PCA
402	VWSDVTPLTF	NSCLC, CRC, GC, RCC, GB, PCA, HCC
403	TYKYVDINTF	NSCLC, GC
404	RYLEKFYGL	NSCLC, GC, HCC
405	NYPKSIHSF	NSCLC
406	TYSEKTTLF	NSCLC, GC
407	VYGIRLEHF	HCC, NSCLC, GC, GB
408	QYASRFVQL	GC, GB, HCC, NSCLC
409	YFISHVLAF	GC, NSCLC
410	RFLSGIINF	NSCLC, GC, GB, HCC
411	VYIGHTSTI	NSCLC
412	SYNPLWLRI	GB, RCC, HCC, NSCLC, GC
413	NYLLYVSNF	HCC, NSCLC, GC

414	MYPYIYHVL	HCC, NSCLC, GC, GB, PCA
415	SYQKVIELF	PCA, HCC, NSCLC, CRC, GC, RCC, GB
416	AYSDGHFLF	NSCLC, GC, RCC, GB, PCA, HCC
417	VYKVVGNLL	GB, RCC, HCC, NSCLC, GC

Bảng 9B thể hiện mức độ biểu hiện đối với các thực thể bệnh ung thư khác của các peptit được chọn, và do đó mối liên quan cụ thể của các peptit như được đề cập để chẩn đoán và/hoặc điều trị bệnh ung thư như được thể hiện.

Bảng 9B: Tổng quan về mức độ biểu hiện của các peptit HLA-A*24 được chọn theo thực thể bệnh ung thư. GB = u nguyên bào xốp, CRC = bệnh ung thư kết-trực tràng, RCC = caxinom tế bào thận, HCC = caxinom tế bào gan, NSCLC = bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, PCA = bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính, GC = bệnh ung thư dạ dày .

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
50	EYALLYHTL	PCA, HCC, NSCLC, CRC, GC, RCC
104	SYLTWHQQI	GB
108	PYLVVIHTL	NSCLC
110	SYPKIIEEF	PCA
132	RYPALFPVL	RCC
135	VYEAMVPLF	HCC
140	RYLINSYDF	NSCLC
141	SYNGHLTIWF	GB
146	NYYERIHAL	NSCLC
148	SYGTVSQIF	CRC
152	KFFDDLGDELLF	NSCLC
155	IYKWITDNF	PCA
164	HYVPATKVF	NSCLC
167	RYGFYYVEF	GB
171	NYEDHFPLL	NSCLC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
172	VFIFKGNEF	NSCLC
173	QYLEKYYNL	NSCLC
181	VYPPYLNYL	PCA
184	IYSVGAFENF	NSCLC
185	QYLVHVNDL	GB
189	AYFKQSSVF	NSCLC
190	LYSELTETL	NSCLC
191	TYPDGTYTGRIF	NSCLC
193	LYLENNAQTQF	NSCLC
198	DYVGFTLKI	NSCLC
200	VFIHHLPQF	HCC
203	VYNVEVKNAEF	NSCLC
204	EYLSTCSKL	PCA
205	VYPVVLNQI	NSCLC
208	TYLEKIDGF	NSCLC
211	VFKSEGAYF	NSCLC
212	SYAPPSEDLF	NSCLC
213	SYAPPSEDLFL	NSCLC
214	KYLMELTLI	NSCLC
216	FYVNVKEQF	NSCLC
218	LYSELNKWSF	NSCLC
219	SYLKAVFNL	NSCLC
220	SYSEIKDFL	NSCLC
222	HYSTLVHMF	NSCLC
224	PYFFANQEF	HCC
227	IYRFITERF	NSCLC
230	TYGMVMVTF	NSCLC
231	AFADVSVKF	NSCLC
233	QYLTAAALHNL	NSCLC
237	KYVGQLAVL	HCC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
239	VYAIFRILL	GC
241	SYVKVLHHL	HCC
242	VYGEPRELL	HCC
244	VHFEDTGKTLLF	NSCLC
245	LYPQLFVVL	GC
246	KYLSVQLTL	NSCLC
247	SFTKTSPNF	HCC
256	VFGKSAYLF	NSCLC
258	AYAQLGYLL	NSCLC
263	RYILENHDF	HCC
267	SFLNIEKTEILF	HCC
270	YYSQESKVLYL	HCC
272	RYVFPLPYL	NSCLC
273	IYGEKLQFIF	NSCLC
278	KYVNLVMYF	NSCLC
279	VWLPASVLF	NSCLC
282	NYLVDPVTI	NSCLC
283	EYQEIFQQL	NSCLC
287	IYNPNLLTASKF	NSCLC
291	YYLGSGRETF	NSCLC, GB, PCA, HCC
292	FYPQIINTF	NSCLC
293	VYPHFSTTNLI	HCC
294	RFPVQGTVTF	PCA
302	LYLPVHYGF	NSCLC
342	NYAFLHRTL	NSCLC
344	EYNSDLHQF	PCA
348	IYLEHTESI	GB
350	KYGNFIDKL	PCA
364	KYLNENQLSQL	NSCLC
372	VYVIEPHSMEF	NSCLC

SEQ ID No.	Trình tự	Mức độ biểu hiện của peptit đối với các thực thể bệnh ung thư
374	VFLPRVTEL	NSCLC
379	VFIAQGYTL	NSCLC
381	KYPASSSVF	RCC, NSCLC

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, và tỷ lệ mức độ biểu hiện gen của mô khối u với mô bình thường ở mức cao thể hiện giai đoạn cửa sổ điều trị. Ngoài ra, sự biểu hiện quá mức của các nguồn gen trong các thực thể khối u mà không được phân tích về sự biểu diện peptit cho thấy rằng một peptit nhất định có thể là peptit quan trọng trong thực thể tương ứng.

Đối với các peptit gắn kết với HLA nhóm I của sáng chế này, sự biểu hiện của mô bình thường của tất cả các gen đã được chứng minh là tối thiểu dựa trên cơ sở dữ liệu của dữ liệu RNASeq của khoảng 3000 mẫu mô bình thường (Lonsdale, 2013). Ngoài ra, các dữ liệu biểu hiện gen từ khối u so với mô bình thường được phân tích để đánh giá khoảng biểu hiện đích trong các thực thể khối u khác nhau.

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 dùng cho thử nghiệm RNASeq thu được từ: Asterand (Detroit, MI, Mỹ và Royston, Herts, Vương Quốc Anh); Bio-Options Inc. (Brea, CA, Mỹ); ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, Mỹ); Geneticist Inc. (Glendale, CA, Mỹ); Istituto Nazionale Tumori "Pascale" (Naples, Ý); Bệnh viện đại học Heidelberg (Heidelberg, Đức); BioCat GmbH (Heidelberg, Đức), BioServe (Beltsville, MD, Mỹ), Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, Mỹ).

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).

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).

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 các bệnh ung thư khác nhau được thể hiện trên Fig.2. Các điểm số biểu hiện của các đích làm ví dụ khác được thể hiện trong Bảng 10 (A và B), dựa trên các phân tích RNASeq tại chỗ. Các số liệu biểu hiện của các thực thể khác và các peptit làm ví dụ khác được tóm tắt trong Bảng 11, dựa trên các dố liệu được tạo ra bằng Mạng nghiên cứu TCGA: http://cancergenome.nih.gov/.

Bảng 10A: khoảng biểu hiện đích trong các thực thể khối u khác nhau, đối với sự biểu hiện của các 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 vân, 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.

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
2	ALYGKLLKL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
3	TLLGKQVTL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
5	SLFGQEVYC	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
9	FLGDYVENL	I	I	IV	I	III	I	I	I	I	I	I	II
10	KTLDVFNIIL	I	I	IV	I	III	I	I	I	I	I	I	II
11	GVLKVFLENV	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
12	GLIYEETRG V	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
13	VLRDNIQGI	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
14	LLDHLSFIN KI	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	III
16	HLYNNEEQ V	I	I	I	I	I	IV	I	I	II	I	II	I
17	ILHEHHIFL	I	I	I	II	I	II	II	II	I	II	IV	I
18	YVLNEEDLQ KV	I	I	I	II	I	II	II	II	I	II	IV	I
19	TLLPTVLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	IV	I
20	ALDGHLYAI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	IV	I
27	KVFGDLDQ V	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
28	TLYSMDLM KV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
31	ALSDETKNN WEV	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
32	ILADEAFFSV	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
33	LLLPLLPPLS PSLG	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
36	KLYGIEIEV	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
39	ALMAVVSG L	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
42	VLSPFILTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
44	GLLWQIIKV	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I
45	VLGPTPELV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I
46	SLAKHGIVA L	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
47	GLYQAQVN	I	I	I	II	II	II	III	I	IV	II	I	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
	L												
49	LLDESKLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I
50	EYALLYHTL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II	I
51	LLLDGDFTL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
52	ELLSSIFFL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	II	II
53	SLLSHVIVA	I	II	I	II	I	I	II	II	II	I	I	II
54	FINPKGNWLL	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I	I
55	IASAIVNEL	I	II	II	I	II	I	II	II	I	I	I	II
59	ALTKILAEL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
63	TLSSERDFAL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	II	I
64	GLSSSSYEL	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
65	KLDGICWQV	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
67	GVIETVTSL	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
69	GIYDGILHSI	I	I	I	II	II	II	II	II	II	I	I	II
70	GLFSQHFNL	III	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
73	GVPDTIATL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
75	ILDNVKNLL	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
78	LLWGHPRVA	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
79	SLVPLQILL	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
80	TLDEYLTYL	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I
81	VLFLGKLLV	I	I	II	II	III	II	I	II	II	II	II	IV
84	FLEEEITRV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
86	LLVTSLVVV	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
88	ILLNTEDLAS	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
	L												
91	SSLEPQIQPV	I	II	II	I	II	I	I	II	III	I	II	I
322	ALVSGGVAQA	I	III	I	I	I	I	I	III	III	II	I	I
323	ILSVVNSQL	I	I	IV	II	I	I	I	I	I	I	I	I
324	AIFDFCPSV	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
325	RLLPKVQEV	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
327	SIGDIFLKY	I	II	I	III	II	I	IV	III	III	II	I	IV
328	SVDSAPAAV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
329	FAWEPSFRDQV	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
331	AIWKELISL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	III
332	AVTKYTSAK	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
334	GRADALRVL	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
335	VLLAAGPSAA	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	II
336	GLMDGSPHFL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
337	KVLGKIEKV	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
338	LLYDGKLSSA	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
96	YYTQYSQTI	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
98	VFPRLHNVLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
100	VYIESRIGTSTSF	I	II	I	I	I	I	I	II	II	I	I	II
101	IYIPVLPPHL	I	IV	I	I	I	I	IV	III	III	I	I	I
103	NYIPVKNGKQF	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
106	IYNETVRDLL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
107	KYFPYLVVI	I	II	I	I	I	I	I	II	III	I	II	I
108	PYLVVIHTL	I	II	I	I	I	I	I	II	III	I	II	I
110	SYPKIIEEF	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I
113	IYSFHTLSF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	III
114	QYLDGTWSL	I	IV	I	II	II	I	IV	II	IV	III	I	II
115	RYLNKSFVL	I	II	I	II	I	I	I	III	I	I	I	II
117	IYLSDLTYI	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
118	KYLNSVQYI	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
119	VYRVYVTTF	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
121	RYGLPAAWSTF	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
123	VYTPVLEHL	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
124	TYKDYVDLF	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
125	VFSRDFGLLVF	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
126	PYDPALGSPSRLF	I	I	I	II	I	III	I	II	I	I	I	I
127	QYFTGNPLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
132	RYPALFPVL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
135	VYEAMVPLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
138	VYNAVSTSF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
139	IFGIFPNQF	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
140	RYLINSYDF	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	II
141	SYNGHLTIWF	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I
146	NYYERIHAL	III	I	IV	I	II	I	II	II	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
147	LYLAFPLAF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
151	AYISGLDVF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	II
152	KFFDDLGDELLF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	II
156	YYMELTKLLL	I	I	I	I	I	I	I	I	III	I	I	IV
157	DYIPASGFALF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
158	IYEETRGVLKVF	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
159	IYEETRGVL	I	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
162	KYTSYILAF	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I
164	HYVPATKVF	I	II	I	I	I	I	IV	IV	III	I	II	II
167	RYGFYYVEF	I	I	I	I	IV	I	III	II	II	I	I	I
171	NYEDHFPLL	I	I	I	I	I	I	I	II	II	I	I	II
172	VFIFKGNEF	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
173	QYLEKYYNL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
174	VYEKNGYIYF	I	II	I	I	I	I	II	I	III	I	I	I
175	LYSPVPFTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
176	FYINGQYQF	III	I	III	I	II	I	II	I	II	I	I	II
177	VYFKAGLDVF	I	II	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I
178	NYSSAVQKF	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I	I
179	TYIPVGLGRLL	I	I	I	I	I	I	I	III	II	I	I	II
181	VYPPYLNYL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
182	AYAQLGYL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
	LF												
184	IYSVGAFEN F	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
185	QYLVHVND L	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II	II
189	AYFKQSSVF	II	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
190	LYSELTETL	IV	III	IV	I	II	I	IV	I	I	II	I	IV
191	TYPDGTYTG RIF	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
193	LYLENNAQT QF	I	I	I	I	I	I	II	I	IV	I	I	I
195	AYIKGGWIL	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
198	DYVGFTLKI	I	I	I	I	III	I	II	I	I	I	I	I
203	VYNVEVKN AEF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
204	EYLSTCSKL	II	II	I	I	I	I	I	II	I	I	I	III
205	VYPVVLNQI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
206	NYLDVATFL	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	II
208	TYLEKIDGF	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
210	IYAGVGEFS F	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
211	VFKSEGAYF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
212	SYAPPSEDL F	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
213	SYAPPSEDL FL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
214	KYLMELTLI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
216	FYVNVKEQF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
218	LYSELNKWS F	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
219	SYLKAVFNL	I	III	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
220	SYSEIKDFL	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
221	KYIGNLDLL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
222	HYSTLVHMF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I
224	PYFFANQEF	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
226	MYLKLVQLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
227	IYRFITERF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
230	TYGMVMVTF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
231	AFADVSVKF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
233	QYLTAAALHNL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
235	VYKDSIYYI	II	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
236	VYLPKIPSW	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
237	KYVGQLAVL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
239	VYAIFRILL	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
240	YYFFVQEKI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
241	SYVKVLHHL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
242	VYGEPRELL	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
243	SYLELANTL	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
244	VHFEDTGKTLLF	I	II	I	I	I	I	II	I	III	I	I	I
245	LYPQLFVVL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
246	KYLSVQLTL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
247	SFTKTSPNF	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
251	VYTKALSSL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
256	VFGKSAYLF	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
258	AYAQLGYL L	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
263	RYILENHDF	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I
267	SFLNIEKTEI LF	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
270	YYSQESKVL YL	I	II	II	I	II	I	I	III	II	I	I	II
272	RYVFPLPYL	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	I	I
273	IYGEKLQFIF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
274	KQLDIANYE LF	I	III	I	I	II	I	I	II	I	I	I	II
276	QYLDVLHA L	I	II	I	I	I	I	I	II	II	I	II	II
277	FYTFPFQQL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
278	KYVNLVMY F	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
279	VWLPASVLF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
282	NYLVDPVTI	I	II	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I
283	EYQEIFQQL	I	II	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I
287	IYNPNLLTA SKF	I	III	I	I	I	I	I	III	III	I	I	I
291	YYLGSGRET F	I	I	I	I	II	I	II	II	III	I	I	II
292	FYPQIINTF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
293	VYPHFSTTN LI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
294	RFPVQGTVT F	I	IV	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
295	SYLVIHERI	I	I	II	I	II	I	I	III	I	I	I	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
300	TYPSQLPSL	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
302	LYLPVHYGF	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	II
304	EYNEVANLF	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
307	GYAFTLPLF	I	II	I	II	II	I	I	II	I	I	II	II
308	TFDGHGVFF	I	I	I	II	I	I	I	I	II	I	I	I
309	KYYRQTLLF	I	I	I	I	I	I	I	III	IV	I	II	II
310	IYAPTLLVF	I	II	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
314	RYFKGDYSI	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I
315	FYIPHVPVSF	I	I	I	I	I	III	I	I	I	I	I	I
320	KFILALKVL F	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
342	NYAFLHRTL	II	I	I	I	I	I	I	II	III	I	I	I
343	NYLGGTSTI	I	II	I	I	I	II	I	I	I	I	I	II
344	EYNSDLHQF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
345	EYNSDLHQF F	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
348	IYLEHTESI	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I
350	KYGNFIDKL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	I
351	IFHEVPLKF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
352	QYGGDLTN TF	I	I	I	I	I	I	II	I	I	II	I	I
353	TYGKIDLGF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
354	VYNEQIRDL L	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
355	IYVTGGHLF	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
356	NYMPGQLTI	I	I	I	II	I	I	II	II	I	II	II	I
358	YYSEVPVKL	I	IV	I	II	I	I	III	III	IV	III	I	I
359	NYGVLHVTF	II	I	II	II	II	III	I	I	I	I	II	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
360	VFSPDGHLF	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
361	TYADIGGLDNQI	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
363	SYAELGTTI	I	I	I	I	II	I	I	I	II	I	I	I
364	KYLNENQLSQL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	III
365	VFIDHPVHL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II
366	QYLELAHSL	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I	II
367	LYQDHMQYI	I	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	I
368	KYQNVKHNL	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
371	AYSHLRYVF	I	I	I	IV	III	I	IV	II	IV	III	III	II
372	VYVIEPHSMEF	I	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	II
374	VFLPRVTEL	I	III	I	II	III	I	III	III	II	I	I	IV
376	VYTPVASRQSL	I	I	I	I	II	I	I	I	I	I	I	II
377	QYTPHSHQF	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	III
378	VYIAELEKI	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
379	VFIAQGYTL	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	II	II
380	VYTGIDHHW	I	II	I	II	I	I	II	III	IV	I	I	III
381	KYPASSSVF	I	I	I	I	I	I	I	II	I	I	III	I
382	AYLPPLQQVF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II
383	RYKPGEPITF	II	IV	I	II	I	I	IV	II	II	I	I	II
385	QYIEELQKF	I	I	IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I
386	TFSDVEAHF	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	II

SEQ ID NO.	Trình tự	AML (N=7)	BRCA (N=10)	CLL (N=10)	CRC (N=20)	GB (N=24)	HCC (N=15)	pNSCLC (N=11)	OC (N=12)	OSCAR (N=11)	PC (N=26)	RCC (N=10)	SCLC (N=10)
387	KYTEKLEEI	I	I	I	I	IV	I	I	II	I	I	I	III

Bảng 10B: Khoảng biểu hiện đích của các 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 vân, 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. NHL = u lymphô không Hodgkin, PCA = bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính, GC = bệnh ung thư dạ dày, GBC_CCC = bệnh ung thư túi mật và caxinom đường mật, MEL = u melanin, UBC = bệnh ung thư bàng quang, UTC = bệnh ung thư tử cung, HNSCC = caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ.

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
2	ALYGKLLKL	I	I	I	I	I	I	I	I
3	TLLGKQVTL	I	I	I	I	I	I	I	I
4	ELAEIVFKV	I	I	I	I	I	I	I	II
9	FLGDYVENL	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
12	GLIYEETRGV	II	II	I	I	II	I	I	I
13	VLRDNIQGI	II	II	I	I	II	I	I	I
19	TLLPTVLTL	I	I	I	I	I	III	I	I
32	ILADEAFFSV	II	I	I	I	II	I	I	I
34	LLPKKTESHHKT	II	I	I	I	I	I	I	I
35	YVLPKLYVKL	I	I	I	I	I	I	I	I
37	ALINDILGELVKL	I	I	I	I	I	I	I	I
39	ALMAVVSGL	II	I	I	I	I	I	I	I
41	FVLPLVVTL	I	I	I	I	I	I	I	I
42	VLSPFILTL	I	I	I	II	I	II	I	II
45	VLGPTPELV	I	I	II	II	I	I	I	I
46	SLAKHGIVAL	I	I	I	I	I	I	II	I
47	GLYQAQVNL	I	I	I	II	IV	II	I	III
51	LLLDGDFTL	I	I	I	I	I	I	I	I
53	SLLSHVIVA	III	I	I	II	I	I	II	I
55	IASAIVNEL	II	I	I	II	I	I	I	I
60	FLIDTSASM	I	I	I	I	I	I	I	I
61	HLPDFVKQL	I	I	I	I	I	I	I	I
70	GLFSQHFNL	I	I	I	II	I	II	III	II
96	YYTQYSQTI	I	I	I	II	I	I	I	II
98	VFPRLHNVLF	I	I	I	I	I	I	I	I
99	QYILAVPVL	I	I	I	I	I	I	I	I
100	VYIESRIGTSTSF	I	I	I	I	II	I	I	I
101	IYIPVLPPHL	III	III	I	III	I	II	III	III
103	NYIPVKNGKQF	I	I	I	I	I	I	I	I
104	SYLTWHQQI	I	I	I	I	I	I	I	I
105	IYNETITDLL	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
110	SYPKIIEEF	II	I	I	I	I	I	I	I
113	IYSFHTLSF	I	I	I	I	I	I	I	II
114	QYLDGTWSL	II	I	II	IV	IV	III	IV	III
116	AYVIAVHLF	I	I	I	I	I	I	I	I
117	IYLSDLTYI	II	I	I	I	I	I	I	I
118	KYLNSVQYI	II	I	I	I	I	I	I	I
119	VYRVYVTTF	I	I	I	I	I	I	II	I
121	RYGLPAAWSTF	I	I	I	I	I	I	I	I
123	VYTPVLEHL	II	I	I	I	II	I	I	I
124	TYKDYVDLF	II	I	I	I	II	I	I	I
126	PYDPALGSPSRLF	I	II	II	II	I	I	III	I
127	QYFTGNPLF	I	I	I	I	I	I	I	I
128	VYPFDWQYI	I	I	I	I	I	I	I	I
132	RYPALFPVL	I	I	I	I	I	I	I	I
135	VYEAMVPLF	I	I	I	I	I	I	I	I
144	VFASLPGFLF	III	I	I	I	I	I	I	I
145	VYALKVRTI	II	I	I	II	II	II	I	II
147	LYLAFPLAF	I	I	I	I	I	I	I	I
150	IYITRQFVQF	I	I	I	I	II	I	I	I
151	AYISGLDVF	I	I	I	I	I	I	I	III
155	IYKWITDNF	I	I	I	I	I	I	II	I
156	YYMELTKLLL	II	I	I	II	I	I	I	I
158	IYEETRGVLKVF	II	II	I	I	II	I	I	I
161	KYPDIVQQF	II	I	I	I	I	I	I	I
162	KYTSYILAF	II	I	I	II	I	I	I	I
163	RYLTISNLQF	I	I	I	I	I	I	I	I
165	EYFTPLLSGQF	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
166	FYTLPFHLI	I	I	I	I	I	I	I	I
168	RYLEAALRL	I	I	I	I	II	I	I	I
170	QYPFHVPLL	III	I	I	I	I	I	I	I
171	NYEDHFPLL	I	I	II	I	IV	II	I	II
172	VFIFKGNEF	I	I	I	I	I	I	I	I
175	LYSPVPFTL	I	I	I	II	I	I	I	II
176	FYINGQYQF	I	II	I	I	I	I	I	II
177	VYFKAGLDVF	I	III	I	II	I	II	II	I
178	NYSSAVQKF	I	III	I	I	II	I	I	I
179	TYIPVGLGRLL	I	I	I	I	I	I	III	II
180	KYLQVVGMF	I	I	I	I	I	I	I	I
191	TYPDGTYTGRIF	II	I	I	I	I	I	I	I
195	AYIKGGWIL	I	I	I	I	I	I	I	I
197	IFTDIFHYL	I	I	I	I	I	I	I	I
204	EYLSTCSKL	II	II	I	I	I	I	IV	II
206	NYLDVATFL	I	I	I	I	I	I	II	I
235	VYKDSIYYI	IV	I	I	I	I	I	I	I
277	FYTFPFQQL	I	I	I	I	I	I	I	II
291	YYLGSGRETF	I	I	I	II	II	II	III	III
296	SYQVIFQHF	I	I	I	I	I	I	I	II
297	TYIDTRTVF	I	I	I	I	I	I	III	I
304	EYNEVANLF	I	III	I	I	I	I	I	I
307	GYAFTLPLF	I	II	I	I	I	I	II	I
309	KYYRQTLLF	I	I	I	I	I	I	II	I
312	SYTSVLSRL	II	I	I	I	II	I	I	I
316	VYFEGSDFKF	II	I	I	I	I	I	I	I
317	VFDTSIAQLF	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
318	TYSNSAFQYF	I	I	I	I	I	I	I	I
319	KYSDVKNLI	I	I	I	I	I	I	I	I
326	SLLPLVWKI	I	I	I	I	I	I	I	I
327	SIGDIFLKY	I	I	II	III	I	I	III	II
328	SVDSAPAAV	II	I	I	I	I	I	I	I
330	FLWPKEVEL	II	I	I	I	I	I	I	I
331	AIWKELISL	I	I	I	I	I	I	I	II
332	AVTKYTSAK	I	I	I	I	I	I	I	I
333	GTFLEGVAK	I	I	I	I	I	I	I	I
334	GRADALRVL	I	I	I	I	I	I	I	I
335	VLLAAGPSAA	III	I	I	I	I	I	I	I
342	NYAFLHRTL	I	I	I	I	I	II	I	I
343	NYLGGTSTI	I	IV	I	I	I	I	II	I
344	EYNSDLHQF	II	I	I	I	I	I	I	I
345	EYNSDLHQFF	II	I	I	I	I	I	I	I
347	VYAEVNSL	I	I	I	I	I	I	I	I
348	IYLEHTESI	I	I	I	I	I	I	I	I
350	KYGNFIDKL	I	I	I	I	I	I	I	I
352	QYGGDLTNTF	I	I	I	II	I	II	I	I
353	TYGKIDLGF	II	I	I	I	I	I	I	I
354	VYNEQIRDLL	I	I	I	I	I	I	I	I
355	IYVTGGHLF	I	I	I	II	I	II	I	II
356	NYMPGQLTI	I	I	II	II	I	I	I	I
359	NYGVLHVTF	IV	I	I	I	II	I	I	I
360	VFSPDGHLF	II	I	I	I	I	I	I	I
361	TYADIGGLDNQI	I	I	I	I	I	I	I	I
362	VYNYAEQTL	I	I	I	I	I	I	I	I

SEQ ID NO.	Trình tự	NHL (N=10)	PCA (n=10)	GC (N=11)	GBC_CCC (N=10)	MEL (N=10)	UBC (N=10)	UTC (N=10)	HNSCC (N=10)
363	SYAELGTTI	I	I	I	I	I	I	I	I
365	VFIDHPVHL	I	I	I	I	I	I	I	I
366	QYLELAHSL	I	I	I	I	I	I	I	I
367	LYQDHMQYI	I	I	I	I	I	I	I	I
371	AYSHLRYVF	I	I	III	II	I	IV	I	II
376	VYTPVASRQSL	II	I	I	II	I	II	I	I
380	VYTGIDHHW	II	I	I	II	I	I	I	II
383	RYKPGEPITF	II	III	I	III	I	II	III	II
386	TFSDVEAHF	II	I	I	I	I	I	I	I
387	KYTEKLEEI	I	I	I	I	I	I	I	I

Bảng 11: Khoảng biểu hiện đích trong các thực thể khối u khác nhau, đối với sự biểu hiện của các gen nguồn của peptit được chọn. Gen được cho là được biểu hiện quá mức nếu mức độ biểu hiện của nó trong mẫu khối u cao hơn gấp hơn 2 lần so với phân vị 75% cao nhất của mức độ biểu hiện được xác định từ các mẫu của cơ quan bình thường sau (liền kề với khối u): trực tràng (n=10), thực quản (n=11), bàng quang (n=19), thận (n=129), dạ dày (n=35), ruột kết (n=41), đầu và cổ (n=43), gan (n=50), phổi (n=51), tuyến giáp (n=59), phổi (n=59).

Các mức độ biểu hiện quá mức được thể hiện dưới dạng "A" (>=50% khối u cao hơn giá trị ngưỡng), "B" (>= 20% nhưng <50% khối u cao hơn giá trị ngưỡng,), và "C" (>=5% nhưng <20% khối u cao hơn giá trị ngưỡng).

ACC (adrenocortical carcinoma) = caxinom vỏ tuyến thượng thận (N=79), BLCA (bladder tế bào chuyển tiếp carcinoma) = caxinom tế bào chuyển tiếp bàng quang (N=408), LGG (lower grade glioma) = u thần kinh đệm mức độ thấp (N=534), CESC (cervical tế bào vảy carcinoma) = caxinom tế bào vảy cổ tử cung và caxinom tuyến trong cổ tử cung (N=307), STAD (stomach adenocarcinoma) = caxinom tuyến dạ dày (N=415), CHOL (cholangiocarcinoma) = caxinom đường mật (N=36), MESO (mesothelioma) = u trung biểu mô (N=87), KICH (kidney chromophobe) = chứng kỵ nhuộm màu của thận (N=66), PRAD (prostate adenocarcinoma) = caxinom tuyến tiền liệt (N=498), DLBC (lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma) = u lymphô tế bào B lớn lan tỏa tân tạo dạng bạch huyết (N=48), PCPG (pheochromocytoma and paraganglioma) = u tế bào ưa crôm và u cận hạch (N=184), KIRP (kidney renal papillary cell carcinoma) = caxinom tế bào tuyến ống thận (N=291), SKCM (skin cutaneous melanoma) = u melanin da (N=473), SARC (sarcoma) = sacôm (N=263), THCA (thyroid carcinoma) = caxinom tuyến giáp (N=513), THYM (thymoma) = u tuyến ức (N=120), UCS (uterine carcinosarcoma) = caxinom sacôm tử cung (N=57), UCEC= Caxinom màng trong tử cung ở thân tử cung (N=546), UVM (uveal u melanin) = u melanin màng mạch nho (N=80), TGCT (testicular germ cell tumor) = khối u tế bào mầm tinh hoàn (N=156), HNSC (Head and neck tế bào vảy carcinoma) = caxinom tế bào vảy vùng đầu và cổ (N=521)

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
16		C	C	C		C		C													
2																					
3																					
4		B	C		B	B							C		C	A			C	C	
5																					
6																					
8	C								C			C									
9																					
10																					
11	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
12	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
13	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
1		C	B		B	C							C	C	B	A		B	C	B	
17							B	A		C				C	C		A				B
18							B	A		C				C	C		A				B
21											C	B									
22											C	B									

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
24			C												C				C		
27													C								
28													C								
29															C						
30															C						
31		C	C			B							C	C	B	B				B	C
32		C	C			B							C	C	B	B				B	C
34		C	C		B										C	B		B	B	C	
35																			B		
36				C				C	B	C	C		C								
37																					
38											C										
39				C	B										C						
40		C	C	A		C				C	C				C	A	A	C	B	A	
42		A	A		B	B	B	C		C			C	C	C		C	A	C		
45															B						
47		C	C	C	C	B				C			C	B	C	C				C	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
48	C															C				C	
49																					
51				C								C			C						
52						C															
53																					
54		C	C	C		C									C		C	C			
55																C					
56													C								
58			C																B	C	
60	C	C			B					C	C			C				C			
61																					
62					B								C	C		C		C			
63																					
64				C																	
65																					
66						C			B		A		C	C	C	C		C			
67							B					C	B								

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
68		C																			
69																C					
70		B	B	C		B		B					C	C	C	A		B	A	A	
72	C	C							B		C	B	C	C		B		C	C	C	
74					A											A		A			
75																		B			
76						C															
78	C		C			C				B			B		B		C	C		C	
79																C					
80																					
81	C	C	C	C		C		C	C			C			C			C			
84											A										
86																					
87					C							C									
88				C							A									B	
90	C							C					B	A		C					A
91			C	C												C				C	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
92		B	C			C		C					C	C					C		
321	B	B	C	C	B	B		C	A	B	B	C	B	B		C		B	B	B	B
323					B																
325		C	B		C	B			A			C			B	C			B	C	
326														A			C	C			C
327		B	A	C		A				C			B	C	A	A			B	B	
328		C	B		C	C							C		B	A		C	C	B	
329																					
330		C	C	C	A				C	C	A			C	C	A		A	C	C	
331																B					
332	C	B	A	B	B	B	C			B		A	B	B	B	A	C	B	A	B	B
334					A								C	C		C		C			
335		B	A	C	A	C				C		C	C	B	B	C		A	B	C	
336																					
340					B		B								C						
175		C	C			B							C		C						
97																C		B			

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
98					C	C								B	C	B					
100	C	B	A		C	B				B			B	B	B	A		B	B	A	
101																					
103																					
104																					
105		B	A		B	B							B	C	A	B		B	C	B	
106		B	A		A	B							B	B	C	A		A	B	A	
107			C			B															
108			C			B															
110		B	A		A	C				C			C	B	C	A		B	B	B	
111		C	A		B	B							C	C	C	A		B	C		
112		C	A		B	B							C	C	C	A		B	C		
113																B					
114		C		B	C	C			C	C			B	B	B	C		C	C	C	C
115															C						
116								B	B		A	B	C			B	A	B	C	C	
117				C	B										C						

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
118				C	B										C						
119		C																			
121					A								C	C		C		C			
122																					
123		C	C			B							C	C	B	B				B	C
124		C	C			B							C	C	B	B				B	C
125		C	C			B							C	C	B	B				B	C
126			C							C	C	B	C		B	B			B		
127																				C	
128					C							B				C					
129					B		B								C						
130					B		B								C						
131	B																				
132													C		C						
133						C															
134					B				C			B	C	C		B		A	C	B	B
135						C	C								C	C					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
136															C						
137																					
138		B	A	C	B	B			C				C	C	A	A		B	C	B	
139							B					C	B								
140																					
141																					
142		C	B		B	B			C				B	C	A	A		C	C		
144					C										C						
145					C	C									C	C		B			
146					B										C						
147															C						
148										C											
149										C											
150														C			A				
151			C			A			B												
152			C			A			B												
153																					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
155			C																B	C	
156	C	C	A		A	B							C	C	C	B		B	C	C	
157	B								B		C							C			
158	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
159	C	B	B	B	A	C	C		C	C	B	A	C	B	B	B	C	A	A	B	C
161					C													B			
162		C	B		A	C				C			C	B	C	B		C	C		
164		B	B	C	A	B		B		B			B	B	B	A	C	C	A	B	
165															C						
166															C						
167									C				C	B							
168		C								C			B		C	C			C	A	
169																					
170			C	C	A	C				C			C	C	C	B		B			
171		B	C			C								B	C	C			C	C	
172		C	B			A						C							C	C	
173		C	B			A						C							C	C	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
174		B	B		C	A				C			B	B	C	C	C	C		C	
96	C		C			C				B			B		B		C	C		C	
176																					
177												B									
178									A			C		C							
180		C		A				C	B	A	C		C		C	C		C	C	C	
181	C						B						C						A	C	
182								C													
183																	C		C		
184																					
185	C							C		C			C						C		
186													C	C						C	
187	C		C			C			A			C	C		C	C		C	C	C	
188		C	B	B		B				B					B	B					
189																					
190																					
191					A								C	C		C					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
192									B				C	B	C	A			C	B	C
193			C			B															
194		B	A	C	A	B			C	B			B		B	A		A	B	B	
195																					
196																					
197															C						
198									C												
199		C	B			B											C	C			
200												A									
202			C																		
203	C	C	A		C	C			C	C	C		B	C		A		C	C	B	
204																					
205									C											C	
206						C									C						
207			C			C	C		C												
208						C			C					B	C	A					C
209														B		C					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
210		B	A		B	B			C	C			B	B	B	A		B	B	B	
211	B	B	A		B	C			C	C			A	B	B	A		B	B	A	
212														C			C				
213														C			C				
214		B	A		B	B				C			B	C	B	A		A	C	B	
216	C	B	A		B	B			C				B	B	C	B		B	C	B	
217														C							
218		C						C													
219		C	C																C	C	
220															C			B			
221	B												C						C		
222	B												C						C		
223												C									
224																B					
225	C								C				C			C				C	
226	C	B	A	C	A	B							B	B	A	A		C	B	B	
227			C													C				C	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
228							A														
229						C										A					
230	B								B		C							C			
231	B								B		C							C			
232	C	B	A	C	A	B			C	C			B	A	B	A		A	B	A	
233		B	C			B															
234		C	C												C	C			C		
235					A											C					
236																					
237	C	A	A	C	A	A			C	B			B	A	A	A		A	B	A	
238		C	C			B				C			C					B			
240								C	C					C		B					
241	C	B	C			C							C	A	B	C			C	C	
242	C	C				C					C		C	B	C	B				C	
243						C								C							
244		B	B		C	A				C			B	B	C	C	C	C		C	
247		C	C	C			A														

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
249						C														B	
250	C								A	C	C		B	B		C		C		B	
251	C	B	A	C	A	B			C	C			A	B	B	A		A	B	A	
253		C								B	B		C			C	C	C		C	
255														C		B					
256				C											B				C		
258								C													
259			C	C								C			B				B		
262	C								B				C				B				
263																B					
264		C	A			C							C		C				B	C	
265																		C			
266					C				B												
267				C								C			C						
268																					
269		C	A	A		C		B		C			B		B		C	B	C	C	
270														C		C					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
271															C	A					
272												B			C			C	C		
273	C	C	B		A	C			C				C	C	B	A		A	C	B	
274				C						C			C								
276														A		C				C	A
277		C			C										C				C		
278		B										C			C				C		
279						C															
282																C		C	C		
283																C		C	C		
284																C					
285													C								
286														B		C			C		B
287																					
288	C	C	B		B	C			C				B	C	B	A		A	C	B	
289															C					C	
291			C			C							C			C			C	B	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
292									C		C		C							B	
293									C		C		C							B	
294		C										C				C					
295																B				C	
296			C			C	C		C												
297				C				C		C			B			C			C	C	
298													C								
300									A		A		B			A				B	
301									C				C								
302							B														
304																					
305		C	B		C	A										B			C		
306	C		C	C	B				B				C			C	C	B	C	C	
307				C									C	C	C				C	C	
309				B										C	C	C					
312														C							
313	C																				C

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
314							B														
315				C																	
316																C					
317																B					C
319					B																
320	C	B	B		B	B							B	B	B	A		C	C	A	
341									B				C							C	
342		C	C		C	C													C		
343								C				B									
344		B	B		A	B				C			B	B	A	A		B	B	A	
345		B	B		A	B				C			B	B	A	A		B	B	A	
346		C	B		B	B			C				B	C	A	A		C	C		
347																					C
348		B	A		A	C				C			C	B	C	A		B	B	B	
349															C	B					
350															C	C					
351																					

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
352		C	C	C		C									C		C	C			
353	C	B	A	C	A	A			C	B			B	B	A	A		B	B	A	
354	C	B	A	C	B	B				B			B	B	A	A		B	B	A	
355		A	A		B	B	B	C		C			C	C	C		C	A	C		
356							C	B							C						
357		C	B	C	C	C				B					C				A	C	
358	C		C			C				B			B		B		C	C		C	
359	C				B									C						C	
360		C	C		B	C							C	C						B	
361		C	C		C					C			C			B		C	B	C	
363		C	C	C		C			B						C						
364		B	A	C	C	B							B	C	A	A		C	B	C	
365									C												
366	C	B	A	C	B	B							C	B	A	A		C	B	A	C
367																					
368																C					
369	C	B	A		B	B							B	C	B	C		B	B	B	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
371						C		B					C		C						
372		B	A	C	A	C				C		C	C	B	B	C		A	B	C	
373									C												
374		C	C			B							C	C	B	B				B	C
375										B			C								
376		C	C		C	C				C			C	B	C	B					
377	C												C								
378		C	A			C								C	C	C			C	C	
379						C															
380		C	C			C							C	C	C	B			C	B	C
382																C					
383																					
385				C	B										C						
386			C		C	C							C		B	B			C	C	
387									B		B		C	C		C					
388						C															
389		C	B			B											C	C			

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
390	C	B	A	C	B	B				A			B	B	A	A		B	C	B	
391	C	B	A		B	B							B	C	B	C		B	B	B	
392	B	B	A	C	B	B				C		A	B	B	B	A		B	C	B	
393														C			A				
394		B	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	B	
395													C		C	B					
396									A		B		C	C							C
397		A	A	C	A	A			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
398		A	A	C	A	A			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
399							B	A		C				C	C		A				B
400		B	B		B	A				C			C	C	A				C	C	
401		B	B		B	A				C			C	C	A				C	C	
402	C	A	A	A	C	A	C	A		A	C	C	A	B	A	B	B	B	A	A	
403		C	B		B	B									B	B					
404		C	B		B	B									B	B					
405		C	B		B	B									B	B					
406		C	B	C	C	C				B					C				A	C	

SEQ CD NO.	ACC (N=79)	BLCA(N=408)	CESC(N=307)	CHOL(N=36)	DLBC(N=48)	HNSC(N=521)	KICH(N=66)	KIRP(N=291)	LGG(N=534)	MESO(N=87)	PCPG(N=184)	PRAD(N=498)	SARC(N=263)	SKCM(N=473)	STAD(N=415)	TGCT(N=156)	THCA(N=513)	THYM(N=120)	UCEC(N=546)	UCS(N=57)	UVM (N=80)
407	C	A	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
408		B	A		B	B							B	C	B	A		B	B	B	
409		B	A		B	B							C	C	B	B		B	C		
410	C	A	A	C	A	B			C	C			B	B	B	A		A	B	A	
412	C	B	A	C	B	B				A			B	B	A	A		B	C	B	
413															C						
414									A				C			C					
415	C	C	B		C	C			C				C	B	B	C		C	C	C	
416									C												
417	C	B	A	B		B				C			B	B	A	A			B	B	

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 kháng nguyên 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 các peptit TUMAP được giới hạn bởi HLA-A*02:01 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 9).

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. 418) từ Melan-A/MART-1 được cải biến) và A*0201/DDX5-001 (YLLPAIVHI từ DDX5, SEQ ID NO. 419), 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 các peptit bệnh ung thư khác nhau

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 2 peptit theo sáng chế được thể hiện trên Fig.3 cùng với các đối chứng âm tính tương ứng. Kết quả của 5 peptit theo sáng chế được tóm tắt trong Bảng 12A. Kết quả đếm tế bào theo dòng làm ví dụ sau khi nhuộm multime đặc hiệu peptit TUMAP đối với 7 peptit theo sáng chế được thể hiện trên Fig.4 và Fig.5 cùng với cùng với các đối chứng âm tính tương ứng. Kết quả của 74 peptit theo sáng chế được tóm tắt trong Bảng 12B.

Bảng 9A: 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. Giá trị <20 % = +; 20% - 49% = ++; 50% - 69%= +++; >= 70% = ++++

Seq ID	Trình tự	Các lỗ
393	KYIEAIQWI	++
399	SYIDVLPEF	++
400	KYLEKYYNL	++
407	VYGIRLEHF	+++
414	MYPYIYHVL	++

Bảng 12B: 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% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 69%= +++; >= 70% = ++++

Seq ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
2	ALYGKLLKL	++++
7	AAAAKVPEV	+

Seq ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
8	KLGPFLLNA	+++
9	FLGDYVENL	+
17	ILHEHHIFL	+
43	LLWAGPVTA	++++
322	ALVSGGVAQA	+
331	AIWKELISL	++
96	YYTQYSQTI	+
98	VFPRLHNVLF	+
99	QYILAVPVL	+++
102	VYPFENFEF	+++
103	NYIPVKNGKQF	+
104	SYLTWHQQI	+
105	IYNETITDLL	+
106	IYNETVRDLL	+
107	KYFPYLVVI	++
109	LFITGGQFF	++
110	SYPKIIEEF	++
111	VYVQILQKL	+
112	IYNFVESKL	+++
114	QYLDGTWSL	+++
115	RYLNKSFVL	+
119	VYRVYVTTF	+++
120	GYIEHFSLW	++
122	EYQARIPEF	++
132	RYPALFPVL	+
137	EYLHNCSYF	+
139	IFGIFPNQF	++
140	RYLINSYDF	+++
142	VYVDDIYVI	++++
144	VFASLPGFLF	++
155	IYKWITDNF	++

Seq ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
156	YYMELTKLLL	+
157	DYIPASGFALF	+
158	IYEETRGVLKVF	+
160	RYGDGGSSF	+
161	KYPDIVQQF	+
162	KYTSYILAF	+
163	RYLTISNLQF	+
164	HYVPATKVF	+
166	FYTLPFHLI	++++
167	RYGFYYVEF	++++
168	RYLEAALRL	+++
170	QYPFHVPLL	+++
171	NYEDHFPLL	++
172	VFIFKGNEF	+
174	VYEKNGYIYF	++++
175	LYSPVPFTL	+
177	VYFKAGLDVF	+
179	TYIPVGLGRLL	+++
180	KYLQVVGMF	+
181	VYPPYLNYL	++++
182	AYAQLGYLLF	+++
186	VFTTSSNIF	+
190	LYSELTETL	++++
277	FYTFPFQQL	+++
344	EYNSDLHQF	+
345	EYNSDLHQFF	++
349	QYSIISNVF	++
350	KYGNFIDKL	+++
351	IFHEVPLKF	++
353	TYGKIDLGF	+
354	VYNEQIRDLL	+

Seq ID	Trình tự	Các lỗ dương tính [%]
356	NYMPGQLTI	+
358	YYSEVPVKL	++++
359	NYGVLHVTF	+
360	VFSPDGHLF	++
363	SYAELGTTI	+
365	VFIDHPVHL	+
366	QYLELAHSL	++
367	LYQDHMQYI	++
371	AYSHLRYVF	++
380	VYTGIDHHW	+

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 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*02:01/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 13: 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 được phân loại theo hiệu suất trao đổi peptit: <20% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 75%= +++; >= 75% = ++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
1	PLWGKVFYL	++
2	ALYGKLLKL	+++
3	TLLGKQVTL	+++
4	ELAEIVFKV	+++
5	SLFGQEVYC	+++
6	FLDPAQRDL	+++
7	AAAAKVPEV	+++
8	KLGPFLLNA	+++
9	FLGDYVENL	++
10	KTLDVFNIIL	++
11	GVLKVFLENV	++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
12	GLIYEETRGV	++
13	VLRDNIQGI	+++
14	LLDHLSFINKI	++
16	HLYNNEEQV	++
17	ILHEHHIFL	+++
18	YVLNEEDLQKV	+++
19	TLLPTVLTL	+++
20	ALDGHLYAI	+++
21	SLYHRVLLY	++++
22	MLSDLTLQL	++++
23	AQTVVVIKA	+
24	FLWNGEDSAL	+++
25	IQADDFRTL	++
26	KVDGVVIQL	+++
27	KVFGDLDQV	+++
28	TLYSMDLMKV	+++
29	TLCNKTFTA	+++
31	ALSDETKNNWEV	++++
32	ILADEAFFSV	+++
33	LLLPLLPPLSPSLG	+++
35	YVLPKLYVKL	++
36	KLYGIEIEV	++++
37	ALINDILGELVKL	+++
38	KMQEDLVTL	+++
39	ALMAVVSGL	+++
40	SLLALPQDLQA	+++
41	FVLPLVVTL	+++
42	VLSPFILTL	+++
43	LLWAGPVTA	+++
44	GLLWQIIKV	++
45	VLGPTPELV	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
46	SLAKHGIVAL	+++
47	GLYQAQVNL	+++
48	TLDHKPVTV	++
49	LLDESKLTL	+++
50	EYALLYHTL	++
51	LLLDGDFTL	+++
52	ELLSSIFFL	+++
53	SLLSHVIVA	+++
54	FINPKGNWLL	+++
55	IASAIVNEL	++
56	KILDLTRVL	++
57	VLISSTVRL	++
58	ALDDSLTSL	++
59	ALTKILAEL	+++
60	FLIDTSASM	++
61	HLPDFVKQL	++
62	SLFNQEVQI	+++
63	TLSSERDFAL	+
64	GLSSSSYEL	++
65	KLDGICWQV	+++
66	FITDFYTTV	+++
67	GVIETVTSL	++
69	GIYDGILHSI	+++
70	GLFSQHFNL	+++
71	GLITVDIAL	+++
72	GMIGFQVLL	+++
74	ILDETLENV	++
75	ILDNVKNLL	+++
76	ILLDESNFNHFL	+++
77	IVLSTIASV	+++
78	LLWGHPRVA	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
79	SLVPLQILL	++++
80	TLDEYLTYL	+++
81	VLFLGKLLV	++
82	VLLRVLIL	++
83	ELLEYLPQL	+++
84	FLEEEITRV	+++
85	STLDGSLHAV	+++
87	YLTEVFLHVV	+++
88	ILLNTEDLASL	+++
89	YLVAHNLLL	+++
90	GAVAEEVLSSI	+
91	SSLEPQIQPV	+
92	LLRGPPVARA	++
93	SLLTQPIFL	+++
321	SLWFKPEEL	+++
322	ALVSGGVAQA	+++
323	ILSVVNSQL	+++
324	AIFDFCPSV	++++
325	RLLPKVQEV	++
326	SLLPLVWKI	+++
327	SIGDIFLKY	+++
328	SVDSAPAAV	++
329	FAWEPSFRDQV	++
330	FLWPKEVEL	+++
331	AIWKELISL	+++
333	GTFLEGVAK	+++
334	GRADALRVL	+++
335	VLLAAGPSAA	++
336	GLMDGSPHFL	++
337	KVLGKIEKV	+++
338	LLYDGKLSSA	++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
339	VLGPGPPPL	++
340	SVAKTILKR	++

Bảng 14: điểm số gắn kết với MHC nhóm I. Sự gắn kết của các peptit được giới hạn bởi HLA-nhóm I với HLA-A*24 được đánh giá bằng hiệu suất trao đổi peptit: <20% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 75%= +++; >= 75% = ++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
96	YYTQYSQTI	++++
97	TYTFLKETF	++++
98	VFPRLHNVLF	+++
99	QYILAVPVL	++++
100	VYIESRIGTSTSF	+++
102	VYPFENFEF	+++
103	NYIPVKNGKQF	+++
104	SYLTWHQQI	++++
105	IYNETITDLL	+++
106	IYNETVRDLL	+++
107	KYFPYLVVI	+++
108	PYLVVIHTL	+++
109	LFITGGQFF	++++
110	SYPKIIEEF	+++
111	VYVQILQKL	+++
112	IYNFVESKL	+++
113	IYSFHTLSF	+++
114	QYLDGTWSL	++++
115	RYLNKSFVL	+++
116	AYVIAVHLF	++++
117	IYLSDLTYI	+++
118	KYLNSVQYI	+++
119	VYRVYVTTF	+++
120	GYIEHFSLW	++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
121	RYGLPAAWSTF	+++
122	EYQARIPEF	+++
123	VYTPVLEHL	++
124	TYKDYVDLF	+
125	VFSRDFGLLVF	+++
127	QYFTGNPLF	+++
128	VYPFDWQYI	++++
129	KYIDYLMTW	++++
131	EYLDRIGQLFF	+++
132	RYPALFPVL	++++
133	KYLEDMKTYF	+++
134	AYIPTPIYF	+++
135	VYEAMVPLF	++++
136	IYPEWPVVFF	+++
137	EYLHNCSYF	++++
138	VYNAVSTSF	++
139	IFGIFPNQF	+++
140	RYLINSYDF	++++
141	SYNGHLTIWF	+++
142	VYVDDIYVI	+++
143	KYIFQLNEI	+++
144	VFASLPGFLF	++++
145	VYALKVRTI	+++
146	NYYERIHAL	+++
147	LYLAFPLAF	+++
148	SYGTVSQIF	++++
149	SYGTVSQI	++++
152	KFFDDLGDELLF	++
153	VYVPFGGKSMITF	++++
154	VYGVPTPHF	++++
155	IYKWITDNF	++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
156	YYMELTKLLL	++++
157	DYIPASGFALF	+++
158	IYEETRGVLKVF	+++
159	IYEETRGVL	+++
160	RYGDGGSSF	+++
161	KYPDIVQQF	+++
162	KYTSYILAF	++
163	RYLTISNLQF	++++
164	HYVPATKVF	+++
165	EYFTPLLSGQF	+++
166	FYTLPFHLI	++++
167	RYGFYYVEF	+++
168	RYLEAALRL	+++
169	NYITGKGDVF	+++
170	QYPFHVPLL	++++
171	NYEDHFPLL	+++
172	VFIFKGNEF	++++
173	QYLEKYYNL	++++
174	VYEKNGYIYF	+++
175	LYSPVPFTL	+++
176	FYINGQYQF	+++
177	VYFKAGLDVF	+++
178	NYSSAVQKF	+++
179	TYIPVGLGRLL	+++
180	KYLQVVGMF	+++
181	VYPPYLNYL	+++
182	AYAQLGYLLF	++++
183	PYLQDVPRI	+++
184	IYSVGAFENF	++++
185	QYLVHVNDL	++++
186	VFTTSSNIF	++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
187	AYAANVHYL	++++
188	GYKTFFNEF	+++
190	LYSELTETL	+++
191	TYPDGTYTGRIF	+++
192	RYSTFSEIF	+++
193	LYLENNAQTQF	+++
194	VYQSLSNSL	+++
195	AYIKGGWIL	+++
196	GYIRGSWQF	++++
197	IFTDIFHYL	++++
198	DYVGFTLKI	++
199	SYLNHLNNL	+++
200	VFIHHLPQF	+++
201	GYNPNRVFF	+++
202	RYVEGIVSL	+++
204	EYLSTCSKL	+++
205	VYPVVLNQI	+++
206	NYLDVATFL	++++
207	LYSDAFKFIVF	+++
208	TYLEKIDGF	++++
209	AFIETPIPLF	++++
210	IYAGVGEFSF	++++
211	VFKSEGAYF	++++
212	SYAPPSEDLF	++
213	SYAPPSEDLFL	++
214	KYLMELTLI	+++
215	SYVASFFLL	++
216	FYVNVKEQF	+++
217	IYISNSIYF	++++
218	LYSELNKWSF	+++
219	SYLKAVFNL	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
220	SYSEIKDFL	++++
221	KYIGNLDLL	++++
223	TFITQSPLL	++++
224	PYFFANQEF	+++
225	TYTNTLERL	+++
226	MYLKLVQLF	++
227	IYRFITERF	+++
228	IYQYVADNF	+++
229	IYQFVADSF	+++
230	TYGMVMVTF	+++
231	AFADVSVKF	++++
232	YYLSDSPLL	+++
233	QYLTAAALHNL	+++
234	SYLPAIWLL	+++
235	VYKDSIYYI	+++
236	VYLPKIPSW	+++
237	KYVGQLAVL	+++
239	VYAIFRILL	+++
240	YYFFVQEKI	+++
241	SYVKVLHHL	+++
242	VYGEPRELL	+++
243	SYLELANTL	+++
244	VHFEDTGKTLLF	+++
245	LYPQLFVVL	+++
246	KYLSVQLTL	++
247	SFTKTSPNF	+++
248	AFPTFSVQL	++++
249	RYHPTTCTI	++++
250	KYPDIASPTF	++
251	VYTKALSSL	+++
252	AFGQETNVPLNNF	++++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
253	IYGFFNENF	+++
254	KYLESSATF	+++
255	VYQKIILKF	+++
256	VFGKSAYLF	+++
257	IFIDNSTQPLHF	+++
258	AYAQLGYLL	+++
259	YFIKSPPSQLF	++
260	VYMNVMTRL	++++
261	GYIKLINFI	++++
262	VYSSQFETI	++++
263	RYILENHDF	+++
264	LYTETRLQF	++++
265	SYLNEAFSF	++++
266	KYTDWTEFL	+++
267	SFLNIEKTEILF	++
268	IFITKALQI	++
269	QYPYLQAFF	+++
270	YYSQESKVLYL	+++
271	RFLMKSYSF	++++
272	RYVFPLPYL	++++
273	IYGEKLQFIF	+++
274	KQLDIANYELF	++++
275	KYGTLDVTF	++++
276	QYLDVLHAL	++++
277	FYTFPFQQL	+++
279	VWLPASVLF	+++
280	TYNPNLQDKL	++++
281	NYSPGLVSLIL	+++
282	NYLVDPVTI	+++
283	EYQEIFQQL	+++
284	DYLKDPVTI	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
285	VYVGDALLHAI	+++
286	SYGTILSHI	++++
287	IYNPNLLTASKF	+++
288	VYPDTVALTF	++
289	FFHEGQYVF	++++
290	KYGDFKLLEF	++++
291	YYLGSGRETF	+++
292	FYPQIINTF	++++
293	VYPHFSTTNLI	++++
294	RFPVQGTVTF	+++
295	SYLVIHERI	+++
296	SYQVIFQHF	++++
297	TYIDTRTVF	++++
298	AYKSEVVYF	++++
299	KYQYVLNEF	+++
300	TYPSQLPSL	+++
301	KFDDVTMLF	++++
302	LYLPVHYGF	+++
303	LYSVIKEDF	+++
304	EYNEVANLF	+++
305	NYENKQYLF	++++
306	VYPAEQPQI	+++
307	GYAFTLPLF	+++
308	TFDGHGVFF	+++
309	KYYRQTLLF	++
310	IYAPTLLVF	+++
311	EYLQNLNHI	++++
312	SYTSVLSRL	+++
313	KYTHFIQSF	++++
314	RYFKGDYSI	+++
315	FYIPHVPVSF	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
316	VYFEGSDFKF	+++
317	VFDTSIAQLF	+++
318	TYSNSAFQYF	+++
319	KYSDVKNLI	++++
341	SYLTQHQRI	+++
342	NYAFLHRTL	+++
343	NYLGGTSTI	+++
344	EYNSDLHQF	+++
345	EYNSDLHQFF	+++
347	VYAEVNSL	+++
348	IYLEHTESI	+++
349	QYSIISNVF	+++
350	KYGNFIDKL	+++
351	IFHEVPLKF	+++
352	QYGGDLTNTF	+++
353	TYGKIDLGF	+++
354	VYNEQIRDLL	+++
355	IYVTGGHLF	+++
356	NYMPGQLTI	++++
357	QFITSTNTF	++++
358	YYSEVPVKL	+++
359	NYGVLHVTF	++++
360	VFSPDGHLF	+++
361	TYADIGGLDNQI	+++
362	VYNYAEQTL	++
363	SYAELGTTI	++
364	KYLNENQLSQL	+++
365	VFIDHPVHL	++++
366	QYLELAHSL	+++
367	LYQDHMQYI	++
368	KYQNVKHNL	+++

Seq ID	Trình tự	Sự trao đổi peptit
369	VYTHEVVTL	+++
370	RFIGIPNQF	+++
371	AYSHLRYVF	++
372	VYVIEPHSMEF	+++
373	GYISNGELF	+++
374	VFLPRVTEL	++
375	KYTDYILKI	+++
376	VYTPVASRQSL	+++
377	QYTPHSHQF	+++
378	VYIAELEKI	+++
379	VFIAQGYTL	++++
380	VYTGIDHHW	++++
381	KYPASSSVF	+++
382	AYLPPLQQVF	+++
383	RYKPGEPITF	+++
384	RYFDVGLHNF	+++
385	QYIEELQKF	+++
386	TFSDVEAHF	+++
387	KYTEKLEEI	+++
388	IYGEKTYAF	+++

Ví dụ 6

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 ví dụ 1, 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 15.

Bảng 15: 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	Số lượng mẫu
70	DNMT3B-001	++	16
323	KIAA0226L-002	++	19
325	ZNF-003	++	14

Tài liệu tham khảo

Reference List

Aalto, Y. et al., Leukemia **15** (2001): 1721-1728

Abaan, O. D. et al., Cancer Res **73** (2013): 4372-4382

Accardi, L. et al., Int.J Cancer **134** (2014): 2742-2747

Adams, D. J. et al., Mol.Cell Biol **25** (2005): 779-788

Agha-Hosseini, F. et al., Med.J Islam Repub.Iran **29** (2015): 218

Agostini, M. et al., Oncotarget. **6** (2015): 32561-32574

Akiyama, Y. et al., Oncol.Rep. **31** (2014): 1683-1690

Al-haidari, A. A. et al., Int.J Colorectal Dis. **28** (2013): 1479-1487

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

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

Alonso, C. N. et al., Leuk.Res. **36** (2012): 704-708

Amaro, A. et al., Cancer Metastasis Rev **33** (2014): 657-671

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

Ammirante, M. et al., Nature **464** (2010): 302-305

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

An, C. H. et al., Hum.Pathol. **43** (2012): 40-47

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

Arai, E. et al., Int.J Cancer **137** (2015): 2589-2606

Armitage, J. O., Blood **110** (2007): 29-36

Armstrong, C. M. et al., Am.J Clin Exp.Urol. **3** (2015): 64-76

Asahara, S. et al., J Transl.Med. **11** (2013): 291

Atcheson, E. et al., Biosci.Rep. **31** (2011): 371-379

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

Azevedo, R. et al., J Control Release **214** (2015): 40-61

Baek, J. M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **461** (2015): 334-341

Baker, M. et al., PLoS.One. **8** (2013): e62516

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

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

Barlin, J. N. et al., Neoplasia. **17** (2015): 183-189

Batliner, J. et al., Mol.Immunol. **48** (2011): 714-719

Battistella, M. et al., J Cutan.Pathol. **41** (2014): 427-436

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

Becker, M. A. et al., Mol.Cancer Ther. **14** (2015): 973-981

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

Benada, J. et al., Biomolecules. **5** (2015): 1912-1937

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

Bentz, S. et al., Digestion **88** (2013): 182-192

Berard, A. R. et al., Proteomics. **15** (2015): 2113-2135

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)

Berndt, S. I. et al., Nat Commun. **6** (2015): 6889

Bie, L. et al., PLoS.One. **6** (2011): e25631

Bill, K. L. et al., Lab Invest (2015)

Binsky-Ehrenreich, I. et al., Oncogene **33** (2014): 1006-1016

Black, J. D. et al., Toxins.(Basel) **7** (2015): 1116-1125

Bo, H. et al., BMC.Cancer **13** (2013): 496

Bockelman, C. et al., Cancer Biol Ther. **13** (2012): 289-295

Boeva, V. et al., PLoS.One. **8** (2013): e72182

Bogdanov, K. V. et al., Tsitologiia **50** (2008): 590-596

Bogni, A. et al., Leukemia **20** (2006): 239-246

Boldt, H. B. et al., Endocrinology **152** (2011): 1470-1478

Bormann, F. et al., Mol.Genet.Genomics **286** (2011): 279-291

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

Brenner, S. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 517-524

Bridgewater, J. et al., J Hepatol. **60** (2014): 1268-1289

Brocker, E. B. et al., Int.J Cancer **41** (1988): 562-567

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

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

Bryant, N. L. et al., J Neurooncol. **101** (2011): 179-188

Burgess, A. W. et al., Exp.Cell Res **317** (2011): 2748-2758

Butler, J. E. et al., J Immunol. **182** (2009): 6600-6609

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

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

Byrd, J. C. et al., N.Engl.J Med. **369** (2013): 32-42

Byrns, M. C. et al., J Steroid Biochem.Mol.Biol **125** (2011): 95-104

Cai, C. J. et al., Sichuan.Da.Xue.Xue.Bao.Yi.Xue.Ban. **41** (2010): 941-945

Camoes, M. J. et al., PLoS.One. **7** (2012): e49819

Cao, S. et al., J Virol. **89** (2015): 713-729

Cao, W. et al., J Biol Chem **282** (2007): 18922-18928

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

Carbonnelle-Puscian, A. et al., Leukemia **23** (2009): 952-960

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

Carlsten, M. et al., Cancer Res **67** (2007): 1317-1325

Carr, J. C. et al., Surgery **152** (2012): 998-1007

Carr, J. C. et al., Ann.Surg.Oncol **20 Suppl 3** (2013): S739-S746

Cassoni, P. et al., J Neuroendocrinol. **16** (2004): 362-364

Catellani, S. et al., Blood **109** (2007): 2078-2085

Cavard, C. et al., J Pathol. **218** (2009): 201-209

Chae, Y. K. et al., Oncotarget. **6** (2015): 37117-37134

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

Che, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 6559-6568

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

Chen, H. W. et al., Mol.Carcinog **52** (2013): 647-659

Chen, J. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. **75** (2015): 1217-1227

Chen, R. S. et al., Oncogene **28** (2009): 599-609

Chen, W. L. et al., BMC.Cancer **12** (2012): 273

Chen, Y. et al., Am.J Physiol Lung Cell Mol.Physiol **306** (2014): L797-L807

Cheong, S. C. et al., Oral Oncol **45** (2009): 712-719

Chinwalla, V. et al., Oncogene **22** (2003): 1400-1410

Chisholm, K. M. et al., PLoS.One. **7** (2012): e30748

Choi, H. H. et al., Oncotarget. **6** (2015a): 19721-19734

Choi, H. H. et al., Oncotarget. **6** (2015b): 11779-11793

Chudnovsky, Y. et al., Cell Rep. **6** (2014): 313-324

Cicek, M. et al., PLoS.One. **6** (2011): e17522

Cipriano, R. et al., Oncotarget. **4** (2013): 729-738

Cipriano, R. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 1156-1165

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

Cohen, Y. et al., Hematology. **19** (2014): 286-292

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

Cotterchio, M. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0125273

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

Courtial, N. et al., FASEB J **26** (2012): 523-532

Crawford, H. C. et al., Curr.Pharm.Des **15** (2009): 2288-2299

Cribier, B. et al., Br.J Dermatol. **144** (2001): 977-982

Cui, D. et al., Oncogene **33** (2014): 2225-2235

Dahlman, K. B. et al., PLoS.One. **7** (2012): e34414

Dai, X. et al., J Virol. **88** (2014): 12694-12702

de Kruijf, E. M. et al., BMC.Cancer **12** (2012): 24

De, S. et al., Cancer Res **69** (2009): 8035-8042

Dedes, K. J. et al., Sci.Transl.Med. **2** (2010): 53ra75

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

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

Dhanoa, B. S. et al., Hum.Genomics **7** (2013): 13

Ding, M. et al., Oncotarget. **6** (2015): 7686-7700

Donnard, E. et al., Oncotarget. **5** (2014): 9199-9213

Drayton, R. M. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 1990-2000

Drutskaya, M. S. et al., IUBMB.Life **62** (2010): 283-289

Du, C. et al., Gastric.Cancer **18** (2015): 516-525

Du, H. et al., Protein Pept.Lett. **16** (2009): 486-489

Duffy, M. J. et al., Clin Cancer Res **15** (2009): 1140-1144

Dufour, C. et al., Cancer **118** (2012): 3812-3821

Economopoulou, P. et al., Ann.Transl.Med. **4** (2016): 173

Ehlken, H. et al., Int.J Cancer **108** (2004): 307-313

Eichhorst, B. F. et al., Blood **107** (2006): 885-891

Eijsink, J. J. et al., Int.J Cancer **130** (2012): 1861-1869

Eisele, G. et al., Brain **129** (2006): 2416-2425

Elbelt, U. et al., J Clin Endocrinol.Metab **100** (2015): E119-E128

Elsnerova, K. et al., Oncol Rep. (2016)

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

Engelmann, J. C. et al., PLoS.Comput.Biol **11** (2015): e1004293

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

Er, T. K. et al., J Mol.Med.(Berl) (2016)

Eruslanov, E. et al., Clin.Cancer Res. **19** (2013): 1670-1680

Espiard, S. et al., Endocrinol.Metab Clin North Am. **44** (2015): 311-334

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

Etcheverry, A. et al., BMC.Genomics **11** (2010): 701

Faget, J. et al., Oncoimmunology **2** (2013): e23185

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

Fang, M. et al., Mol.Cell Biol **33** (2013): 2635-2647

Fang, Y. et al., Tumour.Biol **33** (2012): 2299-2306

Farrell, A. S. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 924-939

Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide:

IARC CancerBase No.11 [Internet], (2013), http://globocan.iarc.fr

Fernandez-Calotti, P. X. et al., Haematologica **97** (2012): 943-951

Fevre-Montange, M. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. **65** (2006): 675-684

Finocchiaro, G. et al., Ann.Transl.Med. **3** (2015): 83

Fiorito, V. et al., Biochim.Biophys.Acta **1839** (2014): 259-264

Fokas, E. et al., Cell Death.Dis. **3** (2012): e441

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

Ford-Hutchinson, A. W., Eicosanoids **4** (1991): 65-74

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

Fremont, S. et al., EMBO Rep. **14** (2013): 364-372

Fritz, P. et al., Pathol.Res Pract. **208** (2012): 203-209

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

Fujita, H. et al., J Histochem.Cytochem. **63** (2015): 217-227

Fukuyama, R. et al., Oncogene **27** (2008): 6044-6055

Furman, R. R. et al., N.Engl.J Med. **370** (2014): 997-1007

Furukawa, T. et al., Sci.Rep. **1** (2011): 161

Gabrielson, M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **469** (2016): 1090-1096

Gabrielson, M. et al., Oncol Rep. **29** (2013): 1268-1274

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

Galazis, N. et al., Gynecol.Endocrinol. **29** (2013): 638-644

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

Gao, M. et al., Diagn.Pathol. **8** (2013): 205

Garbe, C. et al., J Invest Dermatol. **100** (1993): 239S-244S

Garcia-Irigoyen, O. et al., Hepatology **62** (2015): 166-178

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

Gazy, I. et al., Mutat.Res Rev Mutat.Res **763** (2015): 267-279

Gelsi-Boyer, V. et al., Mol.Cancer Res **3** (2005): 655-667

Ghosh, A. et al., Int.J Biol Sci. **12** (2016): 30-41

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

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

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

Goede, V. et al., N.Engl.J Med. **370** (2014): 1101-1110

Gonda, T. J. et al., Expert.Opin.Biol Ther. **8** (2008): 713-717

Goni, M. H. et al., Anticancer Res **13** (1993): 1155-1160

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

Green, J. et al., Cochrane.Database.Syst.Rev (2005): CD002225

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

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

Grimm, M. et al., J Transl.Med. **12** (2014): 208

Grinberg-Rashi, H. et al., Clin Cancer Res **15** (2009): 1755-1761

Grivas, P. D. et al., Semin.Cancer Biol **35** (2015): 125-132

Gruel, N. et al., Breast Cancer Res **16** (2014): R46

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

Guo, P. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015a): 73-79

Guo, T. et al., Int.J Cancer (2016)

Guo, Z. et al., Tumour.Biol **36** (2015b): 3583-3589

Guo, Z. et al., Tumour.Biol **36** (2015c): 4777-4783

Guyonnet, Duperat, V et al., Biochem.J **305 (Pt 1)** (1995): 211-219

Hallek, Michael et al., ASH Annual Meeting Abstracts **112** (2008): 325

Halon, A. et al., Arch.Gynecol.Obstet. **287** (2013): 563-570

Handkiewicz-Junak, D. et al., Eur.J Nucl.Med.Mol.Imaging (2016)

Hapgood, G. et al., Blood **126** (2015): 17-25

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

Hayette, S. et al., Oncogene **19** (2000): 4446-4450

He, H. et al., Diagn.Mol.Pathol. **21** (2012): 143-149

He, M. et al., J Dig.Dis. **12** (2011): 393-400

Heerma van Voss, M. R. et al., Histopathology **65** (2014): 814-827

Heishima, K. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0137361

Hill, S. J. et al., Genes Dev. **28** (2014): 1957-1975

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

Hirahata, M. et al., Cancer Med. (2016)

Hirano, Y. et al., Genes Cells **11** (2006): 1295-1304

Hlavac, V. et al., Medicine (Baltimore) **93** (2014): e255

Holla, S. et al., Mol.Cancer **13** (2014): 210

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

Hong, L. et al., Hum.Pathol. **45** (2014): 2423-2429

Honore, B. et al., Exp.Cell Res **294** (2004): 199-209

Horig, H. et al., Cancer Immunol Immunother. **49** (2000): 504-514

Hu, X. T. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. **30** (2008): 515-518

Hu, X. T. et al., Oncol Rep. **22** (2009): 1247-1252

Huang, P. Y. et al., Leuk.Lymphoma **55** (2014): 2085-2092

Huang, Y. et al., Clin Epigenetics. **8** (2016): 9

Huang, Y. et al., PLoS.One. **8** (2013a): e82519

Huang, Y. et al., Cell Biosci. **3** (2013b): 16

Huang, Y. X. et al., Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao. **29** (2009): 1329-1332

Hubertus, J. et al., Oncol Rep. **25** (2011): 817-823

Huisman, C. et al., Mol.Ther. (2015)

Huisman, C. et al., Mol.Oncol **7** (2013): 669-679

Hung, C. F. et al., Immunol.Rev **222** (2008): 43-69

Hus, I. et al., Oncol Rep. **20** (2008): 443-451

Hussein, S. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 15752

Huu, N. T. et al., FEBS J **282** (2015): 4727-4746

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

Ihn, H. J. et al., Exp.Biol Med.(Maywood.) **240** (2015): 1690-1697

Ilm, K. et al., Mol.Cancer **14** (2015): 38

Imai, K. et al., Br.J Cancer **104** (2011): 300-307

Inoue, K. et al., Subcell.Biochem. **85** (2014): 17-40

Ishida, T. et al., Leukemia **20** (2006): 2162-2168

Ishizone, S. et al., Cancer Sci. **97** (2006): 119-126

Iunusova, N. V. et al., Izv.Akad.Nauk Ser.Biol (2014): 448-455

Iunusova, N. V. et al., Izv.Akad.Nauk Ser.Biol (2013): 284-291

Iwakawa, R. et al., Carcinogenesis **36** (2015): 616-621

Jager, D. et al., Cancer Res **60** (2000): 3584-3591

Jaiswal, A. S. et al., Bioorg.Med.Chem Lett. **24** (2014): 4850-4853

Januchowski, R. et al., Biomed.Pharmacother. **67** (2013): 240-245

Januchowski, R. et al., Biomed.Pharmacother. **68** (2014): 447-453

Jelinek, J. et al., PLoS.One. **6** (2011): e22110

Jenne, D. E. et al., Am.J Hum.Genet. **69** (2001): 516-527

Jiang, H. et al., Int.J Mol.Med. **35** (2015a): 1374-1380

Jiang, H. et al., Exp.Ther.Med. **8** (2014a): 769-774

Jiang, H. N. et al., PLoS.One. **8** (2013): e67637

Jiang, L. et al., Cell Cycle **14** (2015b): 2881-2885

Jiang, L. et al., Oncotarget. **5** (2014b): 7663-7676

Jiang, Y. et al., Mol.Cell **53** (2014c): 75-87

Jiao, X. L. et al., Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci. **18** (2014): 509-515

Johnson, M. A. et al., Growth Horm.IGF.Res **24** (2014): 164-173

Jones, R. T. et al., Urol.Clin North Am. **43** (2016): 77-86

Ju, W. et al., Oncol.Res. **18** (2009): 47-56

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

Junttila, M. R. et al., Cell Cycle **7** (2008): 592-596

Kachakova, D. et al., J BUON. **18** (2013): 660-668

Kadeh, H. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **16** (2015): 6609-6613

Kalikin, L. M. et al., Genomics **57** (1999): 36-42

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

Kang, Y. K. et al., Cancer Res **68** (2008): 7887-7896

Kanthan, R. et al., J Oncol **2015** (2015): 967472

Kanzaki, H. et al., Oncol Rep. **18** (2007): 1171-1175

Kanzaki, H. et al., J Cancer Res Clin Oncol **134** (2008): 211-217

Kanzawa, M. et al., Pathobiology **80** (2013): 235-244

Karim, H. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **411** (2011): 156-161

Karrman, K. et al., Br.J Haematol. **144** (2009): 546-551

Kasiappan, R. et al., Mol.Cancer **9** (2010): 311

Katkoori, V. R. et al., PLoS.One. **7** (2012): e30020

Kato, S. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 33-40

Kaufman, H. L. et al., Clin Cancer Res **14** (2008): 4843-4849

Kayser, G. et al., Pathology **43** (2011): 719-724

Kelavkar, U. et al., Curr.Urol.Rep. **3** (2002): 207-214

Kelavkar, U. P. et al., Prostaglandins Other Lipid Mediat. **82** (2007): 185-197

Khanna, A. et al., Int.J Cancer **138** (2016): 525-532

Khanna, A. et al., Cancer Res **73** (2013): 6548-6553

Khatamianfar, V. et al., BMJ Open. **2** (2012)

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

Kim, D. S. et al., J Proteome.Res **9** (2010a): 3710-3719

Kim, H. S. et al., Korean J Intern.Med. **25** (2010b): 399-407

Kim, J. et al., J Biol Chem **286** (2011): 43294-43300

Kim, J. H. et al., J Prev.Med.Public Health **49** (2016): 61-68

Kim, J. W. et al., Cancer Sci. **100** (2009): 1468-1478

Kim, J. Y. et al., BMB.Rep. **47** (2014a): 451-456

Kim, K. et al., Mol.Cancer Res **6** (2008): 426-434

Kim, S. M. et al., Int.J Cancer **134** (2014b): 114-124

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

Kindla, J. et al., Cancer Biol Ther. **11** (2011): 584-591

Kirschner, L. S. et al., Horm.Cancer **7** (2016): 9-16

Kitchen, M. O. et al., Epigenetics. **11** (2016): 237-246

Kiyomitsu, T. et al., Mol.Cell Biol **31** (2011): 998-1011

Kleylein-Sohn, J. et al., J Cell Sci. **125** (2012): 5391-5402

Klopfleisch, R. et al., J Proteome.Res **9** (2010): 6380-6391

Knollman, H. et al., Ther.Adv.Urol. **7** (2015a): 312-330

Knollman, H. et al., Ther.Adv.Urol. **7** (2015b): 312-330

Kocer, B. et al., Pathol.Int. **52** (2002): 470-477

Kohnz, R. A. et al., ACS Chem Biol **10** (2015): 1624-1630

Kohonen-Corish, M. R. et al., Oncogene **26** (2007): 4435-4441

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

Kong, D. S. et al., Oncotarget. (2016)

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

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

Kronenberger, K. et al., J Immunother. **31** (2008): 723-730

Krupenko, S. A. et al., Cell Growth Differ. **13** (2002): 227-236

Kubota, T. et al., Cell Cycle **12** (2013): 2570-2579

Kuchenbaecker, K. B. et al., Nat Genet. **47** (2015): 164-171

Kuefer, M. U. et al., Oncogene **22** (2003): 1418-1424

Kumar, A. et al., Cell Biochem.Biophys. **67** (2013): 837-851

Kumar, R. et al., DNA Repair (Amst) **15** (2014): 54-59

Kunimoto, K. et al., J Cell Physiol **220** (2009): 621-631

Kuwada, M. et al., Cancer Lett. **369** (2015): 212-221

Landi, D. et al., Cancer **118** (2012): 4670-4680

Lanier, M. H. et al., Mol.Biol Cell **26** (2015): 4577-4588

Lee, D. G. et al., Curr.Cancer Drug Targets. **11** (2011): 966-975

Lee, J. H. et al., Ann.Surg. **249** (2009a): 933-941

Lee, K. Y. et al., Yonsei Med.J **50** (2009b): 60-67

Lee, M. A. et al., BMC.Cancer **14** (2014a): 125

Lee, S. Y. et al., Eur.J Cancer **50** (2014b): 698-705

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

Lei, N. et al., Oncol Rep. **32** (2014): 1689-1694

Leitlinie Endometriumkarzinom, **032/034**, (2008)

Leitlinie Magenkarzinom, **032-009OL**, (2012)

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

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

Leung, J. et al., Immune.Netw. **14** (2014): 265-276

Li, J. et al., Mol.Biol Rep. **41** (2014): 8071-8079

Li, J. et al., Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi. **18** (2015a): 16-22

Li, J. et al., Tumour.Biol (2016)

Li, J. F. et al., Zhonghua Wei Chang Wai Ke.Za Zhi. **15** (2012a): 388-391

Li, L. et al., Pharmacogenet.Genomics **22** (2012b): 105-116

Li, W. Q. et al., Carcinogenesis **34** (2013): 1536-1542

Li, Y. et al., Cancer Biol Ther. **16** (2015b): 1316-1322

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

Li, Y. F. et al., Int.J Biol Sci. **8** (2012c): 1168-1177

Liang, Y. C. et al., Oncotarget. **6** (2015): 38046-38060

Liao, W. et al., Oncotarget. **5** (2014): 10271-10279

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

Lin, C. et al., Oncotarget. **6** (2015): 8434-8453

Lin, J. C. et al., RNA. **20** (2014): 1621-1631

Lin, Y. W. et al., Eur.J Cancer **45** (2009): 2041-2049

Lin, Z. et al., Diagn.Pathol. **8** (2013): 133

Lindqvist, B. M. et al., Epigenetics. **7** (2012): 300-306

Linhares, N. D. et al., Eur.J Med.Genet. **57** (2014): 643-648

Linher-Melville, K. et al., Mol.Cell Biochem. **405** (2015): 205-221

Linkov, F. et al., Eur.Cytokine Netw. **20** (2009): 21-26

Listerman, I. et al., Cancer Res **73** (2013): 2817-2828

Liu, C. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **8** (2015): 7446-7449

Liu, L. et al., Biochem.J **451** (2013a): 55-60

Liu, M. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **14** (2013b): 6281-6286

Liu, Q. et al., Med.Oncol **31** (2014a): 882

Liu, T. et al., DNA Repair (Amst) **11** (2012): 131-138

Liu, W. J. et al., Leuk.Lymphoma **55** (2014b): 2691-2698

Liu, X. et al., Mol.Biol Rep. **41** (2014c): 7471-7478

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

Lleonart, M. E. et al., Oncol Rep. **16** (2006): 603-608

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

Lobito, A. A. et al., J Biol Chem **286** (2011): 18969-18981

Loddo, M. et al., J Pathol. **233** (2014): 344-356

Lollini, P. L. et al., Int.J Cancer **55** (1993): 320-329

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

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

Lu, G. et al., Cancer Cell **26** (2014): 222-234

Lucas, S. et al., Int.J Cancer **87** (2000): 55-60

Luhrig, S. et al., Cell Div. **8** (2013): 3

Luis, Espinoza J. et al., Cancer Sci. **104** (2013): 657-662

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

Lukka, H. et al., Clin Oncol (R Coll.Radiol.) **14** (2002): 203-212

Luna, B. et al., Mol.Neurobiol. **52** (2015): 1341-1363

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

Ma, J. et al., Pathol.Oncol Res **19** (2013a): 821-832

Ma, L. D. et al., Zhongguo Shi Yan.Xue.Ye.Xue.Za Zhi. **21** (2013b): 1429-1434

Ma, T. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. **94** (2014): 3005-3007

Maggioni, A. et al., Protein Expr.Purif. **101** (2014): 165-171

Mahomed, F., Oral Oncol **47** (2011): 797-803

Mantel, A. et al., Exp.Dermatol. **23** (2014): 573-578

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

Marchio, C. et al., J Clin Pathol. **63** (2010): 220-228

Marechal, R. et al., Clin Cancer Res **15** (2009): 2913-2919

Marine, J. C., Nat Rev Cancer **12** (2012): 455-464

Markus, M. A. et al., Genomics **107** (2016): 138-144

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

Martin, R. W. et al., Cancer Res **67** (2007): 9658-9665

Martinez, I. et al., Eur.J Cancer **43** (2007): 415-432

Marzec, K. A. et al., Biomed.Res Int. **2015** (2015): 638526

Mason, C. C. et al., Leukemia (2015)

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

Massoner, P. et al., PLoS.One. **8** (2013): e55207

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

Matsuura, N. et al., Nihon Rinsho **53** (1995): 1643-1647

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

McGilvray, R. W. et al., Int.J Cancer **127** (2010): 1412-1420

Medeiros, A. C. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **3** (1994): 331-333

Mehta, J. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0120622

Mei, J. Z. et al., Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao. **27** (2007): 887-889

Mencia, N. et al., Biochem.Pharmacol. **82** (2011): 1572-1582

Mendoza-Maldonado, R. et al., PLoS.One. **5** (2010): e13720

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

Migliorini, D. et al., J Clin Invest **121** (2011): 1329-1343

Milutin, Gasperov N. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0129452

Missero, C. et al., Exp.Dermatol. **23** (2014): 143-146

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

Miyamoto, K. et al., Int.J Cancer **116** (2005): 407-414

Mohanraj, L. et al., Recent Pat Anticancer Drug Discov **6** (2011): 166-177

Mohelnikova-Duchonova, B. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. **72** (2013): 669-682

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

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

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

Morin, P. J., Cancer Res **65** (2005): 9603-9606

Morita, T. et al., Int.J Cancer **109** (2004): 525-532

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

Moser, J. J. et al., J Neurosci.Res **85** (2007): 3619-3631

Mou, X. et al., Sci.Rep. **4** (2014): 6138

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

Mukhopadhyay, P. et al., Biochim.Biophys.Acta **1815** (2011): 224-240

Muller, M. R. et al., Blood **103** (2004): 1763-1769

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

Nagashio, R. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 8649

Naito, T. et al., J Biol Chem **290** (2015): 15004-15017

Nakajima, H. et al., Cancer Sci. **105** (2014): 1093-1099

Nakano, K. et al., Exp.Cell Res **287** (2003): 219-227

Nakarai, C. et al., Clin Exp.Med. **15** (2015): 333-341

Nakashima, A. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **361** (2007): 218-223

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

Nguyen, M. H. et al., Int.J Oncol **41** (2012): 1285-1296

Ni, I. B. et al., Hematol.Rep. **4** (2012): e19

Ni, L. et al., J Cell Biochem. **106** (2009): 920-928

Nobusawa, S. et al., Brain Tumor Pathol. **31** (2014): 229-233

O'Brien, S. et al., Lancet Oncol **15** (2014): 48-58

O'Geen, H. et al., PLoS.Genet. **3** (2007): e89

Obama, K. et al., Clin Cancer Res **14** (2008): 1333-1339

Oehler, V. G. et al., Blood **114** (2009): 3292-3298

Ogasawara, N. et al., J Biochem. **149** (2011): 321-330

Ogbomo, H. et al., Neoplasia. **10** (2008): 1402-1410

Ogiso, Y. et al., Cancer Res **62** (2002): 5008-5012

Oh, Y. et al., J Biol.Chem **287** (2012): 17517-17529

Okabe, N. et al., Int.J Oncol **46** (2015): 999-1006

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

Olkhanud, P. B. et al., Cancer Res **69** (2009): 5996-6004

Olszewski-Hamilton, U. et al., Biomark.Cancer **3** (2011): 31-40

Orentas, R. J. et al., Front Oncol **2** (2012): 194

Orzol, P. et al., Histol.Histopathol. **30** (2015): 503-521

Ouyang, M. et al., BMC.Cancer **15** (2015): 132

Ozawa, H. et al., Ann.Surg.Oncol **17** (2010): 2341-2348

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

Palma, M. et al., Cancer Immunol Immunother. **57** (2008): 1705-1710

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

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

Pan, J. et al., Leuk.Res **36** (2012): 889-894

Pannu, V. et al., Oncotarget. **6** (2015): 6076-6091

Parikh, R. A. et al., Genes Chromosomes.Cancer **53** (2014): 25-37

Parikh, S. A. et al., Blood **118** (2011): 2062-2068

Parisi, M. A., Am.J Med.Genet.C.Semin.Med.Genet. **151C** (2009): 326-340

Park, E. et al., Mol.Cell **50** (2013): 908-918

Park, M. J. et al., Immunol.Invest **40** (2011): 367-382

Park, Y. R. et al., Cancer Genomics Proteomics. **13** (2016): 83-90

Parplys, A. C. et al., DNA Repair (Amst) **24** (2014): 87-97

Pasmant, E. et al., Mol.Med. **17** (2011): 79-87

Patil, A. A. et al., Oncotarget. **5** (2014): 6414-6424

Pattabiraman, D. R. et al., Leukemia **27** (2013): 269-277

Pawar, S. et al., J Ovarian.Res **7** (2014): 53

Payne, S. R. et al., Prostate **69** (2009): 1257-1269

Peng, B. et al., Mol.Biosyst. **11** (2015): 105-114

Pequeux, C. et al., Cancer Res **62** (2002): 4623-4629

Perrais, M. et al., J Biol Chem **276** (2001): 15386-15396

Petrini, I., Ann.Transl.Med. **3** (2015): 82

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

Phe, V. et al., BJU.Int. **104** (2009): 896-901

Piasecka, D. et al., Postepy Biochem. **61** (2015): 198-206

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

Potapenko, I. O. et al., Mol.Oncol **9** (2015): 861-876

Przybyl, J. et al., Int.J Biochem.Cell Biol **53** (2014): 505-513

Qian, M. X. et al., Cell **153** (2013): 1012-1024

Qiu, J. et al., Leukemia **17** (2003): 1891-1900

Quinn, D. I. et al., Urol.Oncol. (2015)

Qureshi, R. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 321-331

Rainer, J. et al., Mol.Endocrinol. **26** (2012): 178-193

Raja, S. B. et al., J Cell Sci. **125** (2012): 703-713

Rajadhyaksha, A. M. et al., Am.J Hum.Genet. **87** (2010): 643-654

Rajkumar, T. et al., BMC.Cancer **11** (2011): 80

Rakic, M. et al., Hepatobiliary.Surg.Nutr. **3** (2014): 221-226

Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics **50** (1999): 213-219

Ramsay, R. G. et al., Expert.Opin.Ther.Targets. **7** (2003): 235-248

RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/

Reid-Lombardo, K. M. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **20** (2011): 1251-1254

Reinisch, W. et al., J Immunother. **25** (2002): 489-499

Reinmuth, N. et al., Dtsch.Med.Wochenschr. **140** (2015): 329-333

Relogio, A. et al., PLoS.Genet. **10** (2014): e1004338

Rendon-Huerta, E. et al., J Gastrointest.Cancer **41** (2010): 52-59

Resende, C. et al., Helicobacter. **16 Suppl 1** (2011): 38-44

Richards, S. et al., J Natl.Cancer Inst. **91** (1999): 861-868

Ricke, R. M. et al., Cell Cycle **10** (2011): 3645-3651

Rincon, R. et al., Oncotarget. **6** (2015): 4299-4314

Rini, B. I. et al., Curr.Opin.Oncol. **20** (2008): 300-306

Rini, B. I. et al., Cancer **107** (2006): 67-74

Riordan, J. D. et al., PLoS.Genet. **9** (2013): e1003441

Ritter, A. et al., Cell Cycle **14** (2015): 3755-3767

Robak, T. et al., Expert.Opin.Biol.Ther **14** (2014): 651-661

Roca, H. et al., PLoS.One. **8** (2013): e76773

Rock, K. L. et al., Science **249** (1990): 918-921

Rodenko, B. et al., Nat Protoc. **1** (2006): 1120-1132

Rodini, C. O. et al., Int.J Oncol **40** (2012): 1180-1188

Rodriguez, F. J. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. **67** (2008): 1194-1204

Romanuik, T. L. et al., BMC.Med.Genomics **3** (2010): 43

Ronchi, C. L. et al., Neoplasia. **14** (2012): 206-218

Rouanne, M. et al., Crit Rev Oncol Hematol. **98** (2016): 106-115

Rucki, A. A. et al., World J Gastroenterol. **20** (2014): 2237-2246

Rudland, P. S. et al., Am.J Pathol. **176** (2010): 2935-2947

Rutkowski, M. J. et al., Mol Cancer Res **8** (2010): 1453-1465

Ryu, B. et al., PLoS.One. **2** (2007): e594

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)

S3-Leitlinie Zervixkarzinom, **032/033OL**, (2014)

Sadeque, A. et al., BMC.Med.Genomics **5** (2012): 59

Saeki, M. et al., PLoS.One. **8** (2013): e67326

Safarpour, D. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **139** (2015): 612-617

Saiki, R. K. et al., Science **239** (1988): 487-491

Salim, H. et al., Genes Chromosomes.Cancer **52** (2013): 895-911

Salman, B. et al., Oncoimmunology. **2** (2013): e26662

Sandoval, J. et al., J Clin Oncol **31** (2013): 4140-4147

Sangro, B. et al., J Clin Oncol **22** (2004): 1389-1397

Sankaranarayanan, P. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0121396

Santarlasci, V. et al., Eur.J Immunol. **44** (2014): 654-661

Sarma, S. N. et al., Environ.Toxicol.Pharmacol. **32** (2011): 285-295

Sasao, T. et al., Reproduction. **128** (2004): 709-716

Satija, Y. K. et al., Int.J Cancer **133** (2013): 2759-2768

Sato, N. et al., Genes Chromosomes.Cancer **49** (2010): 353-367

Savaskan, N. E. et al., Ann.Anat. **192** (2010): 309-313

Savaskan, N. E. et al., Curr.Neuropharmacol. **13** (2015): 258-265

Sawada, G. et al., Oncol Rep. **30** (2013): 1971-1975

Schetelig, J. et al., J Clin Oncol **26** (2008): 5094-5100

Scheurer, B. et al., Immunopharmacology **38** (1997): 167-175

Schmidt, S. M. et al., Cancer Res **64** (2004): 1164-1170

Schreiber, M. et al., J Biol Chem **273** (1998): 3509-3516

Seeger, F. H. et al., Immunogenetics **49** (1999): 571-576

Seidl, C. et al., Invest New Drugs **28** (2010): 49-60

Seppanen, M. et al., Acta Obstet.Gynecol.Scand. **87** (2008): 902-909

Shareef, M. M. et al., Arab.J Gastroenterol. **16** (2015): 105-112

Sharma, R. K. et al., Clin Exp.Metastasis **33** (2016): 263-275

Sharpe, D. J. et al., Oncotarget. **5** (2014): 8803-8815

Shen, C. et al., Cancer Res **73** (2013): 3393-3401

Shen, Y. et al., Oncotarget. **6** (2015a): 20396-20403

Shen, Y. et al., Cancer Cell Microenviron. **2** (2015b)

Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics (1986)

Sherman, S. K. et al., Surgery **154** (2013): 1206-1213

Shi, M. et al., World J Gastroenterol. **10** (2004): 1146-1151

Shi, Z. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 8519-8529

Shimizu, F. et al., Lab Invest **83** (2003): 187-197

Shioji, G. et al., J Hum.Genet. **50** (2005): 507-515

Showel, M. M. et al., F1000Prime.Rep. **6** (2014): 96

Siegel, S. et al., Blood **102** (2003): 4416-4423

Siew, Y. Y. et al., Int.Immunol. **27** (2015): 621-632

Silva, L. P. et al., Anal.Chem. **85** (2013): 9536-9542

Silvestris, F. et al., Adv.Exp.Med.Biol **714** (2011): 113-128

Singh, V. et al., Curr.Cancer Drug Targets. **13** (2013): 379-399

Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. **53** (2004): 187-195

Skawran, B. et al., Mod.Pathol. **21** (2008): 505-516

Small, E. J. et al., J Clin Oncol. **24** (2006): 3089-3094

Smetsers, S. et al., Fam.Cancer **11** (2012): 661-665

Smith, P. et al., Clin Cancer Res **13** (2007): 4061-4068

Sohrabi, A. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **15** (2014): 6745-6748

Song, H. R. et al., Mol.Carcinog **52 Suppl 1** (2013): E155-E160

Sonora, C. et al., J Histochem.Cytochem. **54** (2006): 289-299

Spaner, D. E. et al., Cancer Immunol Immunother. **54** (2005): 635-646

Srivastava, N. et al., Cancer Manag.Res. **6** (2014): 279-289

Stacey, S. N. et al., Nat Commun. **6** (2015): 6825

Stahl, M. et al., Ann.Oncol. **24 Suppl 6** (2013): vi51-vi56

Stangel, D. et al., J Surg.Res **197** (2015): 91-100

Stein, U., Expert.Opin.Ther.Targets. **17** (2013): 1039-1052

Steinberg, R. L. et al., Urol.Oncol (2016a)

Steinberg, R. L. et al., Urol.Oncol (2016b)

Steinway, S. N. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0128159

Stenman, G. et al., Cell Cycle **9** (2010): 2986-2995

Stevanovic, S. et al., J Clin Oncol **33** (2015): 1543-1550

Stintzing, S., F1000Prime.Rep. **6** (2014): 108

Stratakis, C. A. et al., DNA Seq. **9** (1998): 227-230

Struyf, S. et al., Am.J Pathol. **163** (2003): 2065-2075

Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. **9** (2008): 163

Su, Z. et al., Cancer Res. **63** (2003): 2127-2133

Subhash, V. V. et al., BMC.Cancer **15** (2015): 550

Sui, Y. et al., Oncogene **26** (2007): 822-835

Sukocheva, O. A. et al., World J Gastroenterol. **21** (2015): 6146-6156

Sun, S. et al., Gene **584** (2016): 90-96

Sun, W. et al., World J Gastroenterol. **19** (2013): 2913-2920

Sutherland, C. L. et al., Blood **108** (2006): 1313-1319

Suzuki, N. et al., J Orthop.Res **32** (2014): 915-922

Tabares-Seisdedos, R. et al., Mol.Psychiatry **14** (2009): 563-589

Takahashi, M. et al., Int.J Oncol **27** (2005): 1483-1487

Takatsu, H. et al., J Biol Chem **286** (2011): 38159-38167

Takayama, M. A. et al., Genes Cells **5** (2000a): 481-490

Takayama, T. et al., Cancer **68** (1991): 2391-2396

Takayama, T. et al., Lancet **356** (2000b): 802-807

Taketani, T. et al., Cancer Res **62** (2002): 33-37

Tang, C. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 4782-4794

Tatenhorst, L. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. **63** (2004): 210-222

Taverniti, V. et al., Nucleic Acids Res **43** (2015): 482-492

Taylor, M. et al., Breast Cancer Res **9** (2007): R46

Terabayashi, T. et al., PLoS.One. **7** (2012): e39714

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

Tian, Y. et al., Diagn.Pathol. **9** (2014): 42

Ting, L. et al., DNA Repair (Amst) **9** (2010): 1241-1248

Toda, M. et al., Meta Gene **2** (2014): 686-693

Toomey, P. G. et al., Cancer Control **20** (2013): 32-42

Torelli, G. F. et al., Haematologica **99** (2014): 1248-1254

Tran, E. et al., Science **344** (2014): 641-645

Tsujikawa, T. et al., Int.J Cancer **132** (2013): 2755-2766

Tumova, L. et al., Mol.Cancer Ther. **13** (2014): 812-822

Urata, Y. N. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 13676

Ushiku, T. et al., Histopathology **61** (2012): 1043-1056

Utrera, R. et al., EMBO J **17** (1998): 5015-5025

Vainio, P. et al., Am.J Pathol. **178** (2011a): 525-536

Vainio, P. et al., Oncotarget. **2** (2011b): 1176-1190

Valque, H. et al., PLoS.One. **7** (2012): e46699

van de Klundert, M. A. et al., PLoS.One. **7** (2012): e48940

Van Ginkel, P. R. et al., Biochim.Biophys.Acta **1448** (1998): 290-297

van Muijen, G. N. et al., Recent Results Cancer Res **139** (1995): 105-122

Van, Seuningen, I et al., Biochem.J **348 Pt 3** (2000): 675-686

Vater, I. et al., Leukemia **29** (2015): 677-685

Ventela, S. et al., Oncotarget. **6** (2015): 144-158

Verreman, K. et al., Biochem.J **439** (2011): 469-477

Vici, P. et al., J Exp.Clin Cancer Res **33** (2014): 29

Von Hoff, D. D. et al., N.Engl.J Med. **369** (2013): 1691-1703

von Rundstedt, F. C. et al., Transl.Androl Urol. **4** (2015): 244-253

Wallrapp, C. et al., Ann.Oncol **10 Suppl 4** (1999): 64-68

Walsh, M. D. et al., Mod.Pathol. **26** (2013): 1642-1656

Walter, S. et al., J Immunol **171** (2003): 4974-4978

Walter, S. et al., Nat Med. **18** (2012): 1254-1261

Walton, E. L. et al., Biology.(Basel) **3** (2014): 578-605

Wan, W. et al., World J Surg.Oncol **12** (2014): 185

Wang, C. et al., Nucleic Acids Res **43** (2015a): 4893-4908

Wang, C. Q. et al., Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.Oral Radiol. **117** (2014a): 353-360

Wang, D. et al., Chin Med.Sci.J **14** (1999a): 107-111

Wang, G. et al., Tumour.Biol **36** (2015b): 1055-1065

Wang, G. H. et al., Oncol Lett. **5** (2013a): 544-548

Wang, H. et al., Carcinogenesis **30** (2009a): 1314-1319

Wang, J. et al., Ann.Surg.Oncol **22** (2015c): 685-692

Wang, J. et al., J Exp.Clin Cancer Res **34** (2015d): 13

Wang, J. W. et al., Oncogene **23** (2004): 4089-4097

Wang, L. et al., J Cutan.Pathol. **42** (2015e): 361-367

Wang, L. et al., Mol.Biol Rep. **38** (2011a): 229-236

Wang, L. et al., Diagn.Pathol. **8** (2013b): 190

Wang, N. et al., Arch.Gynecol.Obstet. **283** (2011b): 103-108

Wang, Q. et al., Cell **138** (2009b): 245-256

Wang, Q. et al., BMC.Cancer **11** (2011c): 271

Wang, Q. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015f): 1971-1977

Wang, Q. et al., PLoS.One. **8** (2013c): e61640

Wang, R. et al., Mol.Cell Biochem. **405** (2015g): 97-104

Wang, S. et al., J Cell Sci. **120** (2007): 567-577

Wang, W. Z. et al., J Exp.Clin Cancer Res **29** (2010): 140

Wang, X. W. et al., Gut Liver **8** (2014b): 487-494

Wang, X. Z. et al., Oncogene **18** (1999b): 5718-5721

Wang, Y. et al., Cancer Cell **26** (2014c): 374-389

Wang, Y. P. et al., Ai.Zheng. **27** (2008): 243-248

Wang, Z. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015h): 1353-1361

Wang, Z. et al., Oncotarget. (2016)

Wang, Z. et al., Glycobiology **22** (2012): 930-938

Watanabe, N. et al., J Biol Chem **278** (2003): 26102-26110

Watts, C. A. et al., Chem Biol **20** (2013): 1399-1410

Wells, J. et al., J Biol Chem **284** (2009): 29125-29135

Weng, Y. R. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1389-1398

Wheler, J. J. et al., BMC.Cancer **15** (2015): 442

Whitaker, H. C. et al., Oncogene **33** (2014): 5274-5287

Wierda, W. G. et al., Blood **118** (2011): 5126-5129

Wierinckx, A. et al., Endocr.Relat Cancer **14** (2007): 887-900

Wilhelm, S. M. et al., Cancer Res **64** (2004): 7099-7109

Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423

Williams, G. L. et al., Cell Cycle **6** (2007): 1699-1704

Wilson, P. M. et al., Nat Rev.Clin Oncol **11** (2014): 282-298

Wilzen, A. et al., Int.J Oncol **34** (2009): 697-705

Wittig, B. et al., Hum.Gene Ther. **12** (2001): 267-278

Wlcek, K. et al., Cancer Biol Ther. **11** (2011): 801-811

Wong, R. P. et al., Pigment Cell Melanoma Res **25** (2012): 213-218

World Cancer Report, (2014)

World Health Organization, (2014), http://www.who.int/en/

Wu, J. et al., ACS Chem Biol **8** (2013): 2201-2208

Wu, Y. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 646-655

Xie, B. et al., Pathol.Oncol Res **19** (2013): 611-617

Xie, C. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **445** (2014): 263-268

Xiong, D. et al., Carcinogenesis **33** (2012): 1797-1805

Xu, X. et al., Oncogene **26** (2007): 7371-7379

Xu, X. et al., J Biol Chem **289** (2014): 8881-8890

Xue, J. H. et al., Acta Pharmacol.Sin. **32** (2011): 1019-1024

Yamada, T. et al., Br.J Cancer **108** (2013): 2495-2504

Yamashita, J. et al., Acta Derm.Venereol. **92** (2012): 593-597

Yamazoe, S. et al., J Exp.Clin Cancer Res **29** (2010): 53

Yan-Chun, L. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. (2015)

Yan-Fang, T. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0126566

Yang, J. J. et al., Haematologica **99** (2014a): e11-e13

Yang, L. et al., J Biol Chem **291** (2016): 3905-3917

Yang, L. et al., PLoS.One. **10** (2015a): e0133896

Yang, T. T. et al., Sci.Rep. **5** (2015b): 14096

Yang, Y. et al., Oncol Lett. **9** (2015c): 1833-1838

Yang, Y. et al., PLoS.One. **9** (2014b): e97578

Yang, Y. M. et al., Cancer Sci. **102** (2011): 1264-1271

Yao, Y. et al., Cell Physiol Biochem. **35** (2015): 983-996

Ye, B. G. et al., Oncotarget. (2016)

Yeh, I. et al., Nat.Commun. **6** (2015): 7174

Yeh, S. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **97** (2000): 11256-11261

Yonezawa, S. et al., Pathol.Int. **49** (1999): 45-54

Yoshimaru, T. et al., Nat Commun. **4** (2013): 2443

Yoshimaru, T. et al., Sci.Rep. **4** (2014): 7355

Young, A. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 808

Yu, C. J. et al., Int.J Cancer **69** (1996): 457-465

Yu, H. et al., Nat Chem Biol **11** (2015a): 847-854

Yu, T. et al., Cell Res **24** (2014): 1214-1230

Yu, X. et al., Tumour.Biol **36** (2015b): 967-972

Yuan, M. et al., Oncotarget. **5** (2014): 2820-2826

Zaganjor, E. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **111** (2014): 10568-10573

Zamuner, F. T. et al., Mol.Cancer Ther. **14** (2015): 828-834

Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577

Zavala-Zendejas, V. E. et al., Cancer Invest **29** (2011): 1-11

Zekri, A. R. et al., BMC.Res Notes **1** (2008): 106

Zeng, B. et al., Curr.Cancer Drug Targets. **13** (2013a): 103-116

Zeng, S. et al., Eur.J Cancer **49** (2013b): 3752-3762

Zeng, X. et al., Ai.Zheng. **26** (2007): 1080-1084

Zeng, X. X. et al., Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci. **19** (2015): 4353-4361

Zhan, W. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0142596

Zhang, B. et al., J Huazhong.Univ Sci.Technolog.Med.Sci. **30** (2010a): 322-325

Zhang, G. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 310

Zhang, J. et al., Theor.Biol Med.Model. **9** (2012a): 53

Zhang, Q. et al., Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi. **13** (2010b): 612-616

Zhang, W. et al., Clin Cancer Res **7** (2001): 822s-829s

Zhang, W. et al., Biochem.J (2016)

Zhang, X. et al., EMBO J **30** (2011): 2177-2189

Zhang, X. et al., Med.Oncol **32** (2015): 148

Zhang, X. et al., Int.J Med.Sci. **10** (2013a): 1795-1804

Zhang, Y. et al., Gene **497** (2012b): 93-97

Zhang, Y. et al., J Ovarian.Res **6** (2013b): 55

Zhao, J. et al., Int.J Med.Sci. **11** (2014a): 1089-1097

Zhao, J. G. et al., FEBS Lett. **588** (2014b): 4536-4542

Zhen, T. et al., Oncotarget. **5** (2014): 3756-3769

Zheng, M. et al., Breast Cancer Res Treat. **148** (2014): 423-436

Zheng, M. Z. et al., J Transl.Med. **5** (2007): 36

Zhong, M. et al., Mol.Cancer Res **8** (2010): 1164-1172

Zhong, T. et al., Biomed.Pharmacother. **69** (2015): 317-325

Zhou, X. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015): 961-969

Zhou, Y. et al., Front Biosci.(Landmark.Ed) **16** (2011): 1109-1131

Zhou, Z. et al., Gastroenterology **147** (2014): 1043-1054

Zhu, H. H. et al., Asian Pac.J Trop.Med. **7** (2014): 488-491

Zhu, J. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **8** (2015a): 9479-9486

Zhu, P. et al., Oncol Lett. **10** (2015b): 1487-1494

Zighelboim, I. et al., J Clin Oncol **27** (2009): 3091-3096

Zimmerman, K. M. et al., Mol.Cancer Res **11** (2013): 370-380

Zocchi, M. R. et al., Blood **119** (2012): 1479-1489

Zou, J. X. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 539-549

Zou, T. T. et al., Oncogene **21** (2002): 4855-4862

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Peptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 174 hoặc muối dược dụng của nó.

2. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này có khả năng gắn kết với phân tử của phức hợp tương thích mô chính (MHC) nhóm I, và trong đó khi được gắn kết với MHC, peptit này có khả năng được nhận biết bởi các tế bào T CD8.

3. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này được cải biến và/hoặc bao gồm các liên kết không peptit.

4. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này là một phần của protein dung hợp, chứa các axit amin ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (Ii).

5. Axit nucleic mã hóa peptit theo điểm 1.

6. Vectơ biểu hiện biểu hiện axit nucleic theo điểm 5.

7. Tế bào chủ tái tổ hợp chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, axit nucleic theo điểm 5 hoặc vectơ biểu hiện theo điểm 6, trong đó tế bào chủ tái tổ hợp này là tế bào trình diện kháng nguyên.

8. Phương pháp tạo ra peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 7 chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, hoặc biểu hiện axit nucleic theo điểm 5 hoặc vectơ biểu hiện theo điểm 6, và phân lập peptit nêu trên ra khỏi tế bào chủ tái tổ hợp nêu trên 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 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 3.

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 polypeptit có trình tự axit amin được nêu trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

11. Kháng thể nhận biết đặc hiệu peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, khi được gắn kết với phân tử MHC nhóm I.

12. Kit bao gồm:

đồ chứa để đựng dược phẩm chứa (các) peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, (các) axit nucleic theo điểm 5, (các) vectơ biểu hiện theo điểm 6, (các) tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 7, (các) tế bào lymphô T hoạt hóa theo điểm 10 hoặc kháng thể theo điểm 11, ở dạng dung dịch hoặc dạng đông khô nhanh.

13. Kit theo điểm 12, trong đó kit này còn chứa một hoặc nhiều thành phần trong số chất đệm, chất pha loãng, dụng cụ lọc, kim tiêm, hoặc bơm tiêm.

14. Thụ thể tế bào T có khả năng phản ứng với phối tử HLA, trong đó phối tử này có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 174.

15. Thụ thể tế bào T theo điểm 14, trong đó thụ thể tế bào T này được tạo ra dưới dạng phân tử hòa tan.

16. Thụ thể tế bào T theo điểm 15, trong đó phối tử là một phần của phức hợp

peptit-MHC.

17. Axit nucleic mã hóa thụ thể TCR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 14 đến 16.

18. Vectơ biểu hiện biểu có khả năng hiện axit nucleic theo điểm 17.

19. Tế bào chủ chứa axit nucleic theo điểm 17 hoặc axit nucleic mã hóa kháng thể theo điểm 11 hoặc vectơ biểu hiện theo điểm 18.

20. Phương pháp tạo ra thụ thể tế bào T theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 14 đến 16, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo điểm 19, và phân lập thụ thể tế bào T này ra khỏi tế bào chủ nêu trên và/hoặc môi trường nuôi cấy của nó.

21. Dược phẩm chứa ít nhất một hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm
a) peptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID No. 174;
b) thụ thể tế bào T có khả năng phản ứng với peptit và/hoặc phức hợp peptit-MHC nhóm I theo mục a);
c) protein dung hợp chứa peptit theo mục a), và các axit amin từ 1 đến 80 ở đầu tận cùng N của chuỗi bất biến liên quan đến kháng nguyên HLA-DR (Ii);
d) axit nucleic mã hóa thành phần theo mục bất kỳ trong số các mục từ a) đến c) hoặc vectơ biểu hiện chứa axit nucleic nêu trên,
e) tế bào chủ chứa vectơ biểu hiện nêu trong mục d),
f) tế bào lymphô T hoạt hóa, thu được bằng phương pháp bao gồm bước cho tế bào T tiếp xúc *in vitro* với peptit theo mục a) 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 này theo cách đặc hiệu kháng nguyên,
g) kháng thể, hoặc thụ thể tế bào T hòa tan, có khả năng phản ứng với peptit và/hoặc phức hợp peptit-MHC nhóm I theo mục a) và/hoặc tế bào chứa peptit theo mục a), và có khả năng được cải biến bằng cách dung hợp với

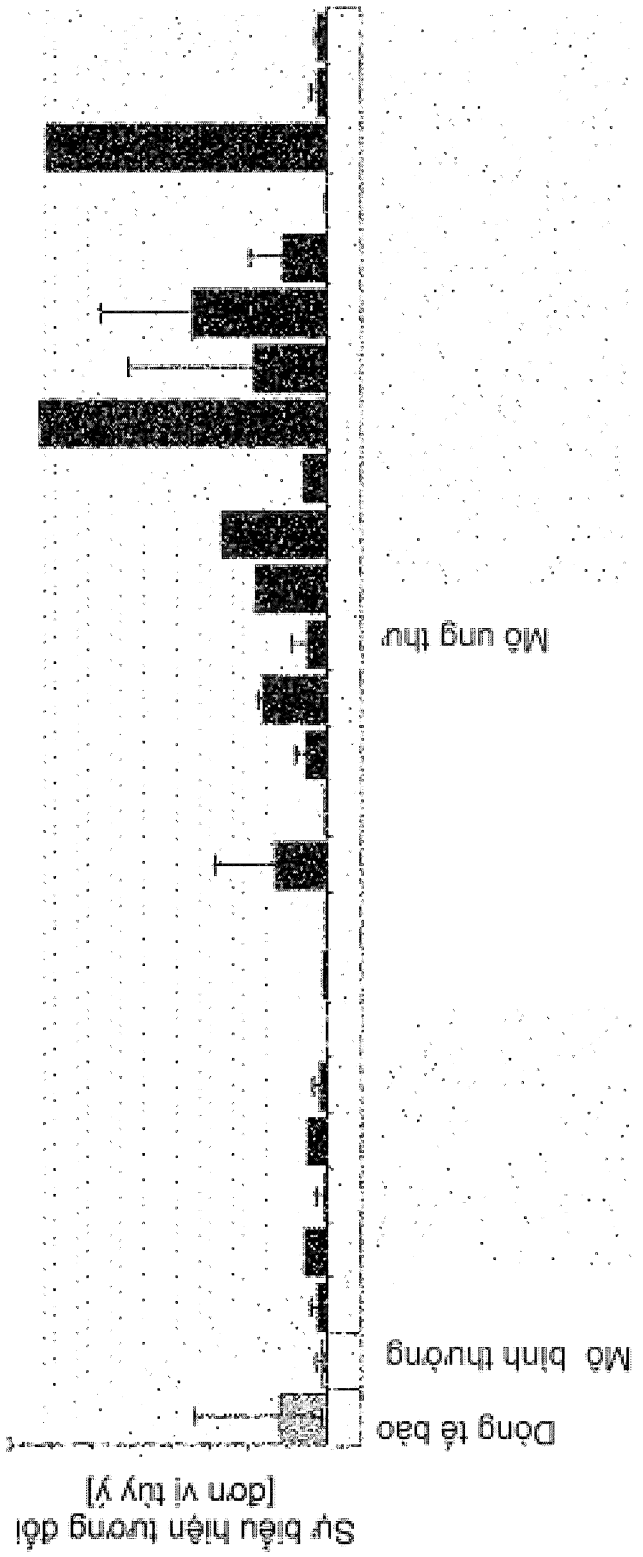
miền hoạt hóa miễn dịch hoặc độc tố, và

i) peptit được liên hợp hoặc đánh dấu theo mục bất kỳ trong số các mục từ a) đến g) và chất mang dược dụng.

Fig.1A

Peptit: LLLPLLPPLSPSLG (A*02)

SEQ ID NO: 33



Peptit được phát hiện trên
1 dòng tế bào (1 tụy), 1 mô bình thường (1 tuyến giáp), 22 mô ung thư (5 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư gan, 10 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tụy, 1 bệnh ung thư dạ dày (từ trái sang phải)

Fig.1B

Peptit: NYIPVKNGKQF (A*24)

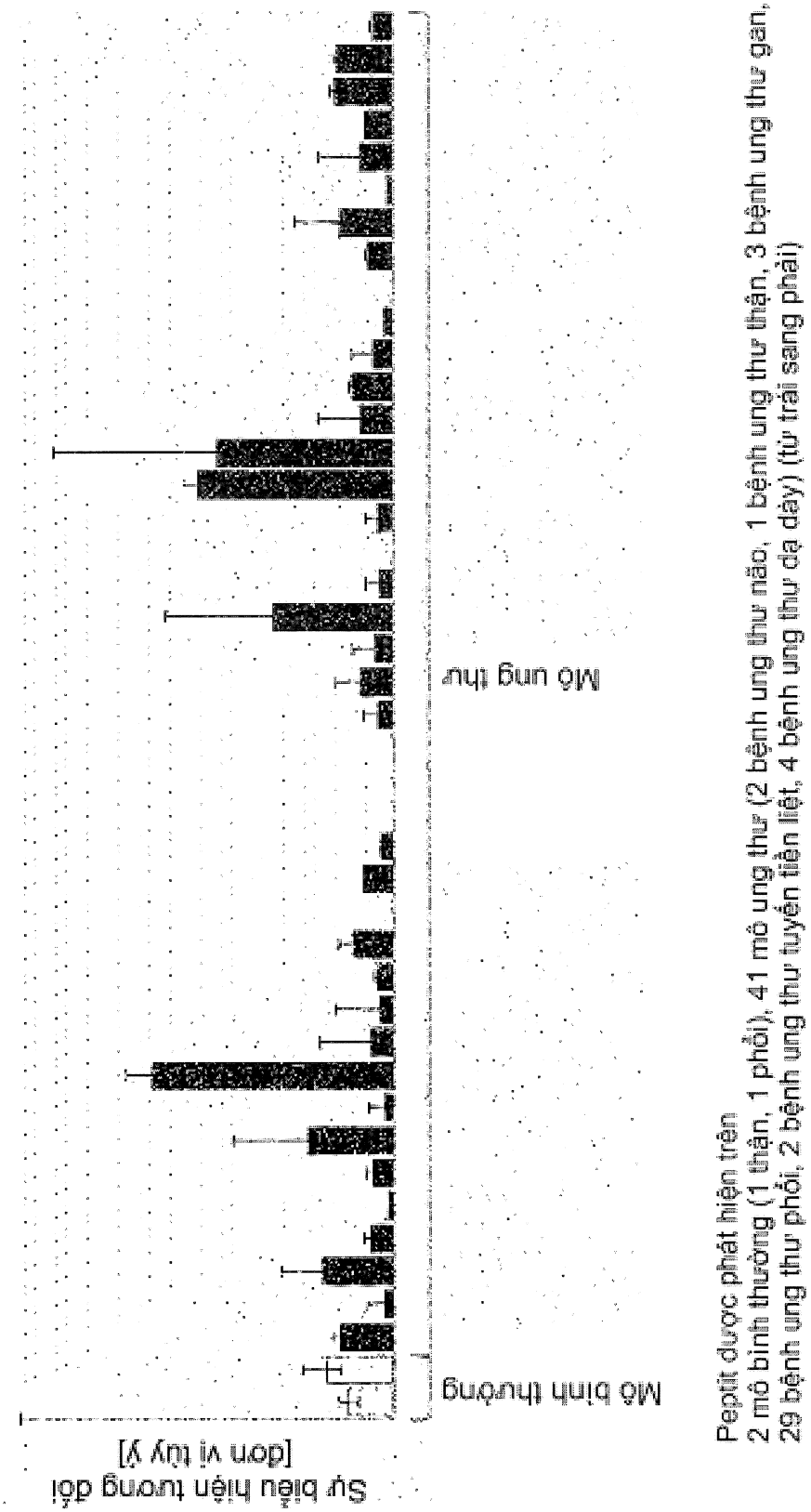
SEQ ID NO: 103

Peptit được phát hiện trên
11 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 8 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt)
(từ trái sang phải)

Fig.1C

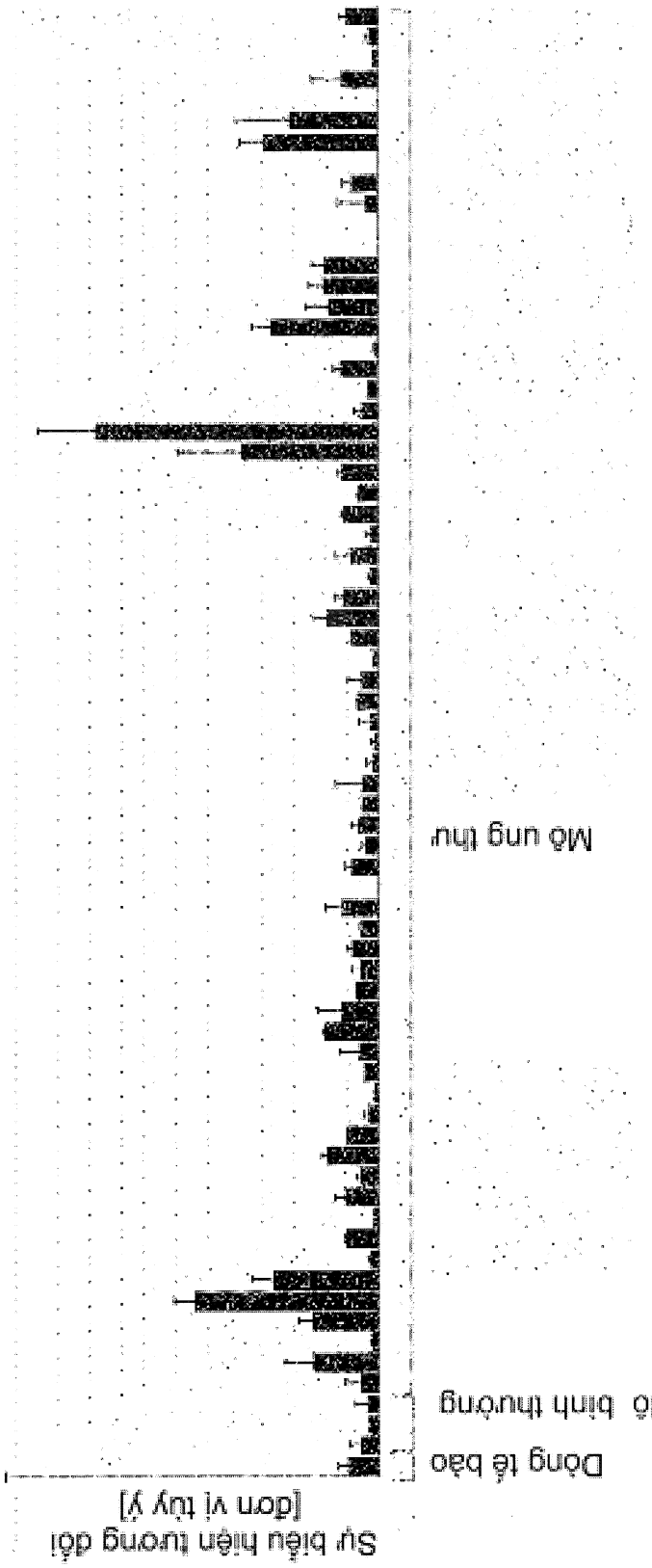
Peptit: EYLDRIGQLFF (A*24)

SEQ ID NO: 131



Peptit được phát hiện trên
2 mô bình thường (1 thận, 1 phổi), 41 mô ung thư (2 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư thận, 3 bệnh ung thư gan, 29 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 4 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1D
Peptit: FYINGQYQF (A*24)
SEQ ID NO: 176

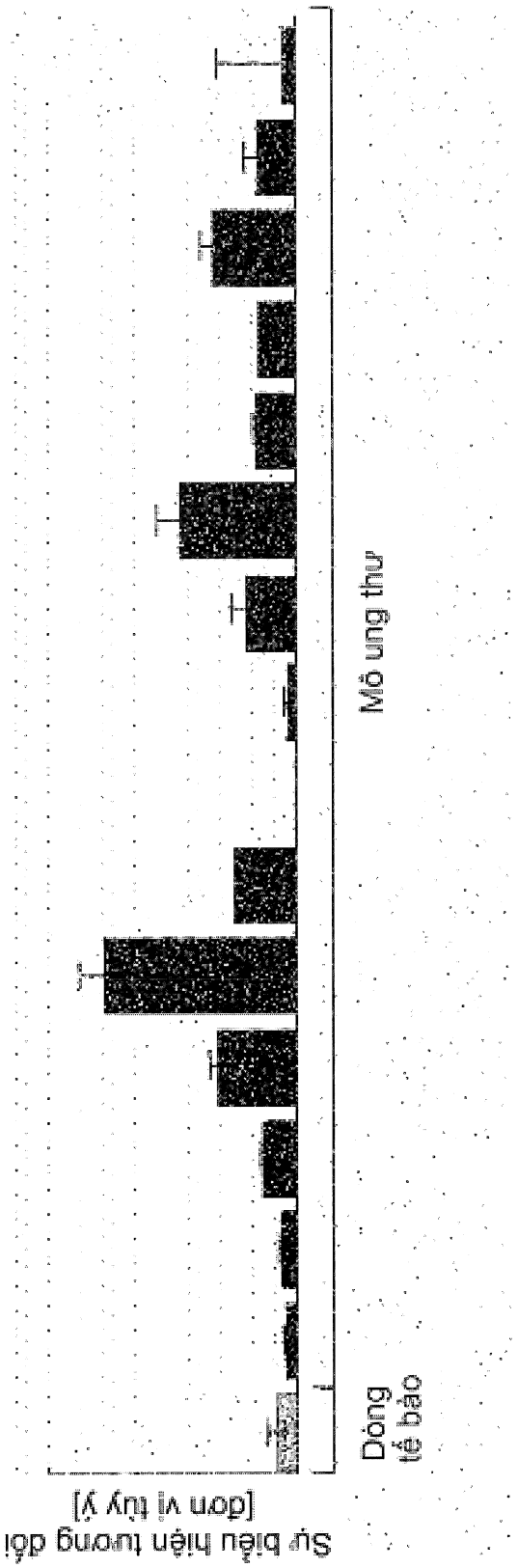


Peptit được phát hiện trên
1 bệnh tăng sản tuyến tiền liệt lành tính, 3 mô bình thường (1 thận, 1 tuyến yên, 1 da), 67 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư gan, 42 bệnh ung thư phổi, 12 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 7 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1E

Peptit: HLYNNEEQV (A*02)

SEQ ID NO: 16

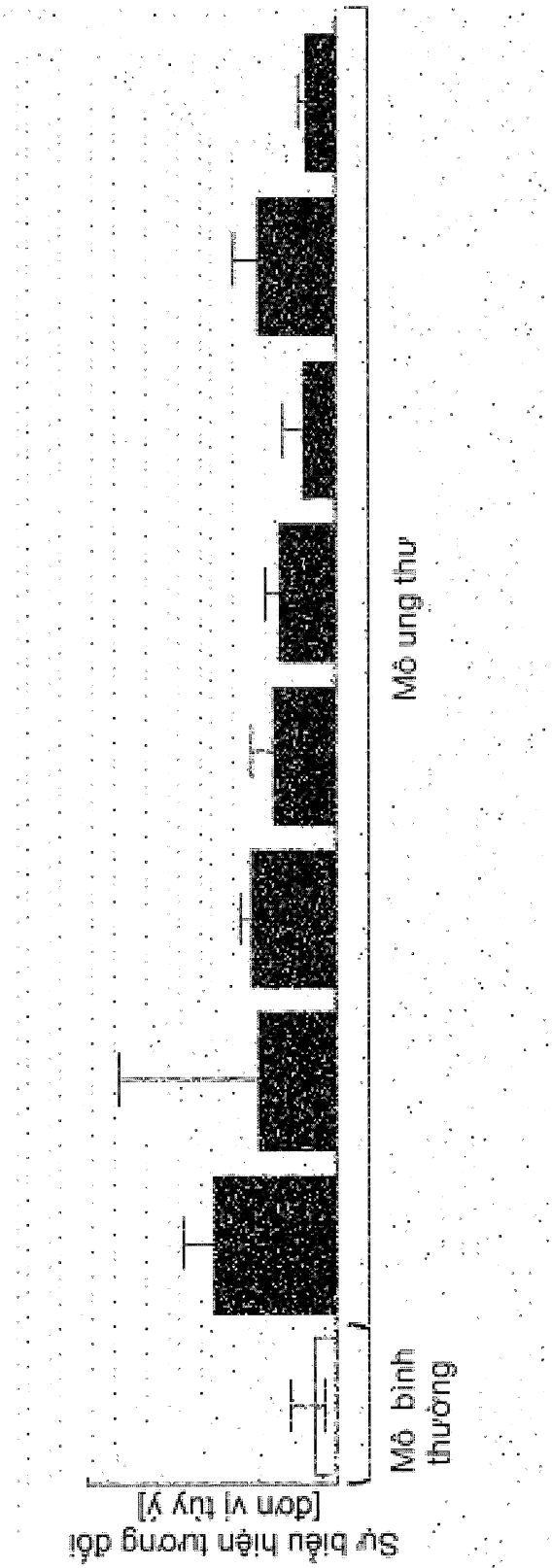


Peptit được phát hiện trên
1 dòng tế bào (tuỵ), 15 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư thực quản, 6 bệnh ung thư gan, 5 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư bàng quang) (từ trái sang phải)

Fig.1F

Peptit: YVLPKLYVKL (A*02)

SEQ ID NO: 35

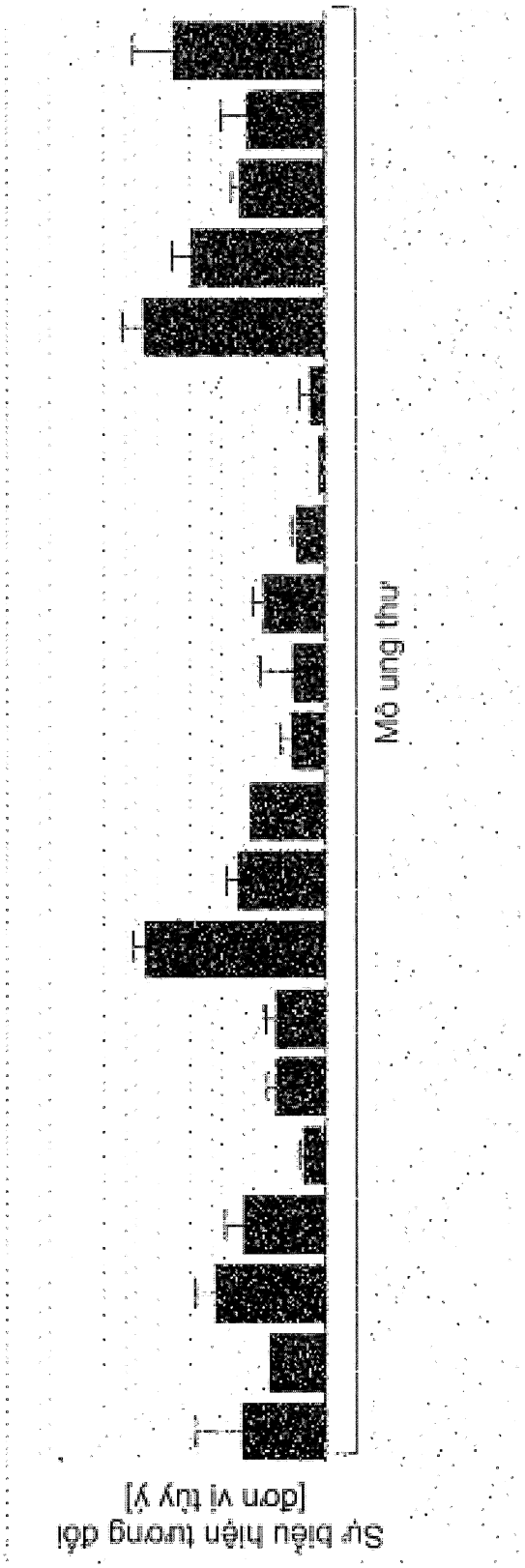


Peptit được phát hiện trên
1 mô bình thường (1 mẫu bạch cầu), 8 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 3 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư hạch bạch huyết) (từ trái sang phải)

Fig.1G

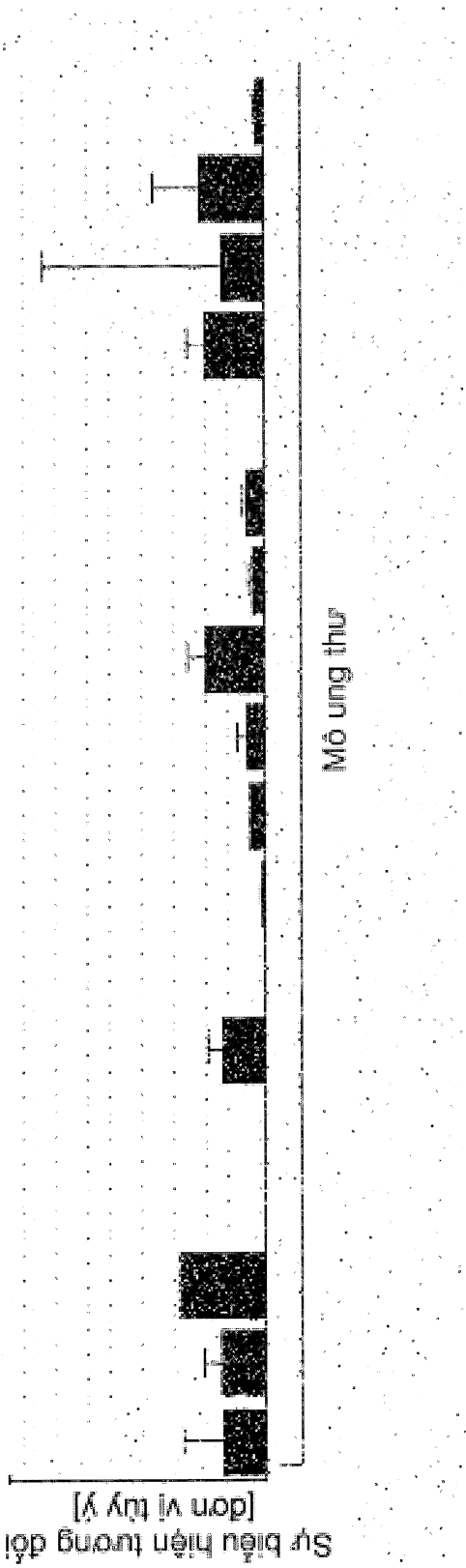
Peptit: SLLALPQDLQA (A*02)

SEQ ID NO: 40



Peptit được phát hiện trên
21 mô ung thư (1 bệnh ung thư ống mật chủ, 1 bệnh ung thư vú, 3 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 6 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư bàng quang, 3 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1H
Peptit: VLSPFILTL (A*02)
SEQ ID NO: 42

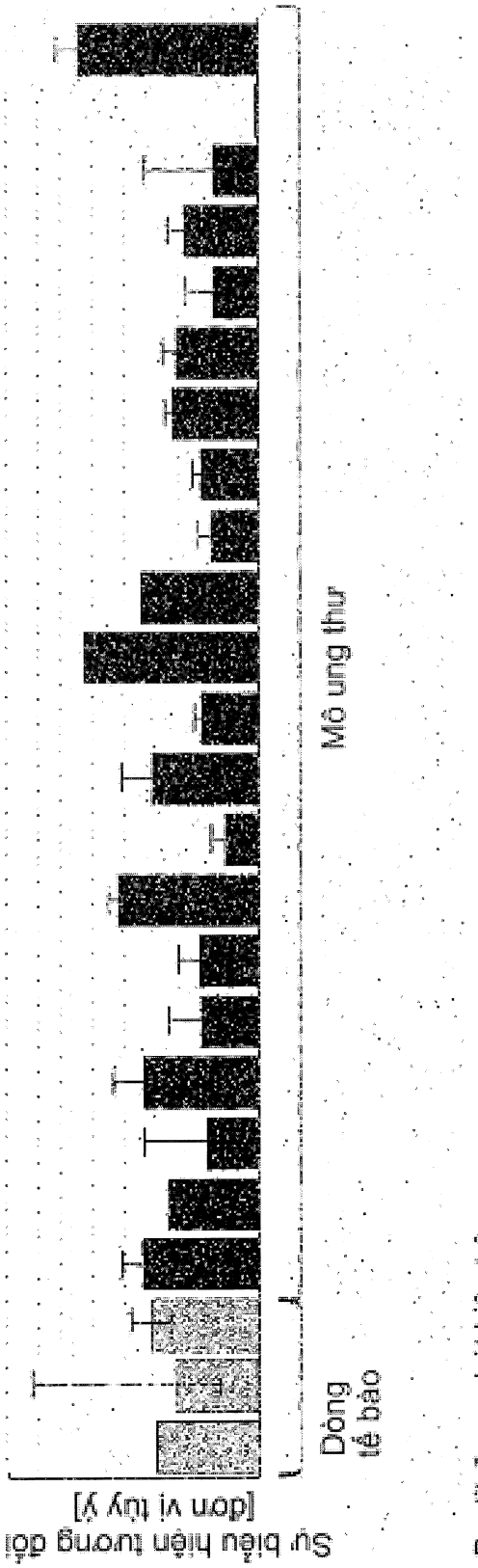


Peptit được phát hiện trên
18 mô ung thư (1 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thận,
6 bệnh ung thư phổi, 3 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 2 bệnh ung thư bàng quang,
1 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1I

Peptit: SLLSHVIVA (A*02)

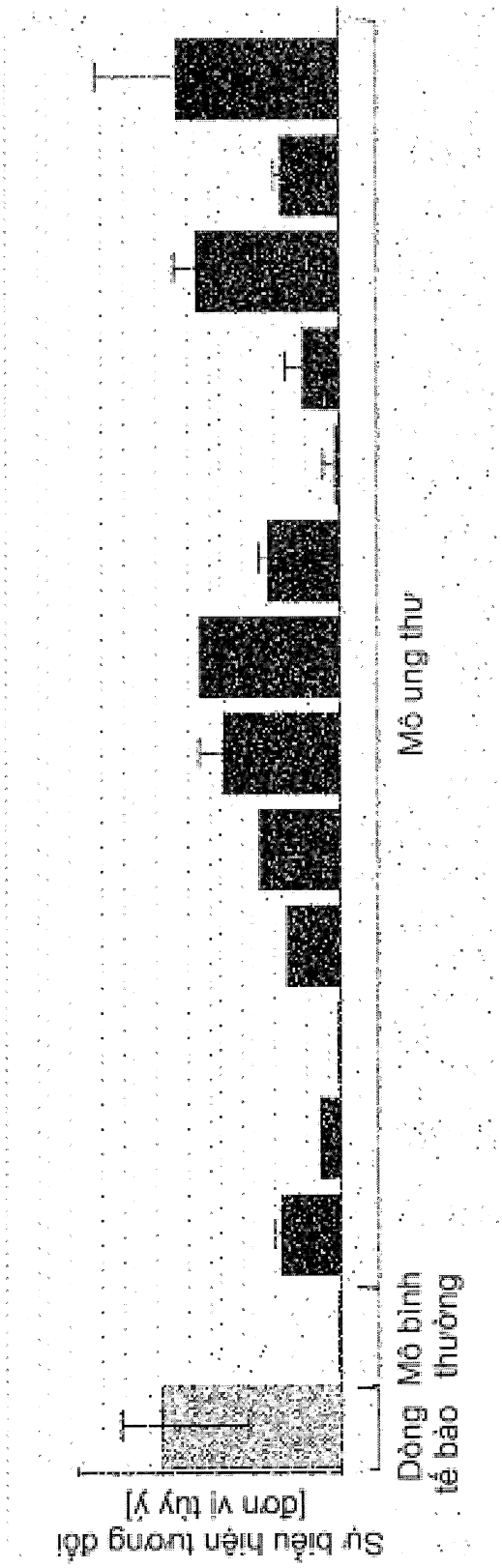
SEQ ID NO: 53



Peptit được phát hiện trên
3 dòng tế bào (1 tế bào máu, 2 tuỷ), 21 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 1 bệnh ung thư ống mật chủ,
2 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư vú, 2 bệnh ung thư thực quản, 1 bệnh ung thư túi mật, 1 bệnh ung thư thận,
1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 4 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 bệnh ung thư buồng trứng, 3 bệnh ung thư da,
1 bệnh ung thư bàng quang) (từ trái sang phải)

Fig.1J

Peptit: FITDFYTTV (A*02)
SEQ ID NO: 66

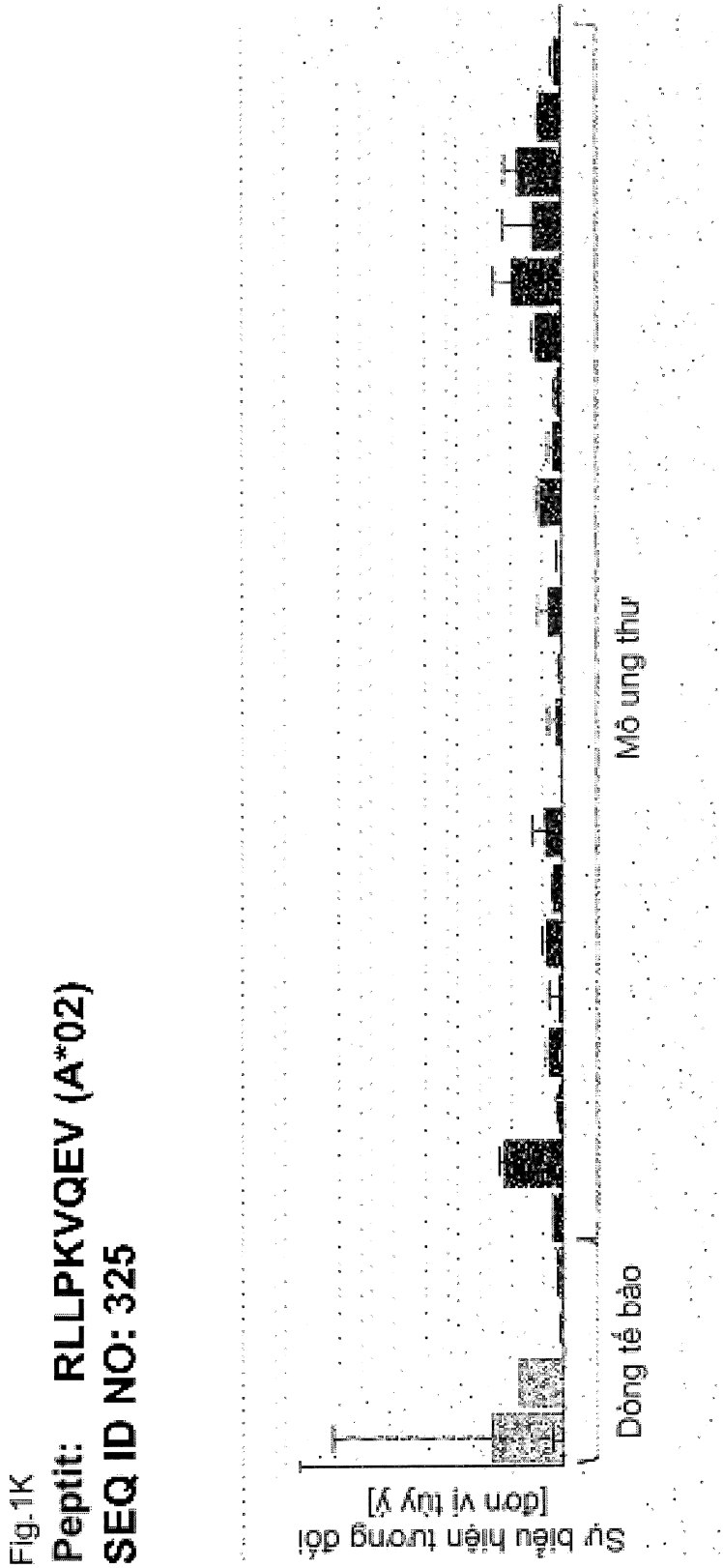


Peptit được phát hiện trên
1 dòng tế bào (da), 1 mô bình thường (1 ruột kết), 13 mô ung thư (1 bệnh ung thư vùng đầu và cổ, 6 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư da, 2 bệnh ung thư bàng quang) (từ trái sang phải)

Fig-1K

Peptit: RLLPKVQEV (A*02)

SEQ ID NO: 325

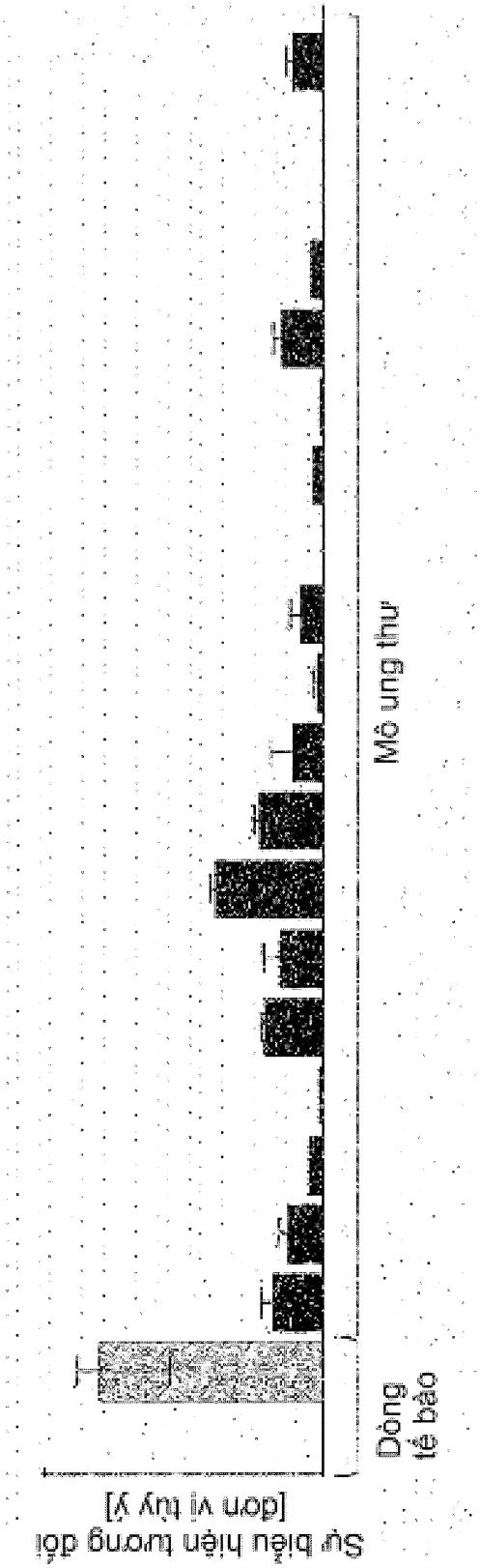


Peptit được phát hiện trên
4 dòng tế bào (2 tế bào máu, 1 thận, 1 đại tràng), 22 mô ung thư (1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư vú, 1 bệnh ung thư thực quản, 4 bệnh ung thư ruột kết, 1 bệnh ung thư trực tràng, 10 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư buồng trứng, 1 bệnh ung thư dạ dày, 1 bệnh ung thư bàng quang) (từ trái sang phải)

Fig.1L

Peptit: VLGPGPPPL (A*02)

SEQ ID NO: 339

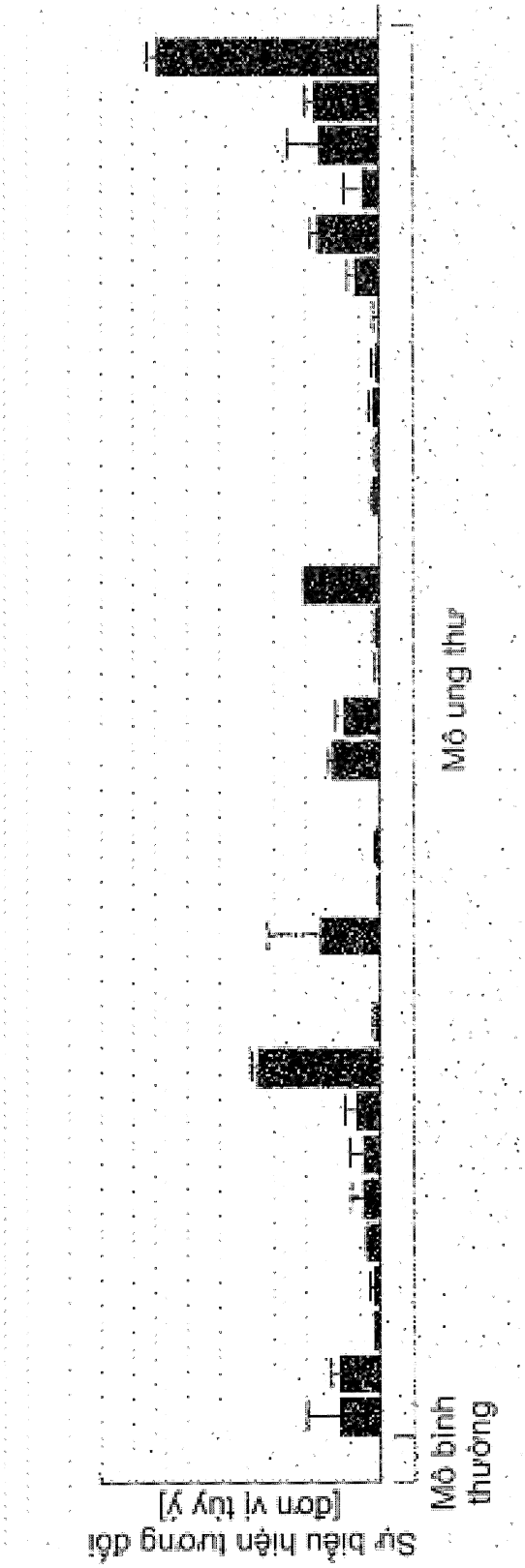


Peptit được phát hiện trên
2 dòng tế bào (1 thận, 1 tụy), 19 mô ung thư (4 bệnh ung thư dạng bạch cầu, 1 bệnh ung thư tế bào tủy, 1 bệnh ung thư tủy xương, 2 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 2 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư hạch bạch huyết, 1 bệnh ung thư da, 1 bệnh ung thư tử cung) (từ trái sang phải)

Fig.1M

Peptit: VYVQILQKL (A*24)

SEQ ID NO: 111



Peptit được phát hiện trên
1 mô bình thường (1 gan), 32 mô ung thư (2 bệnh ung thư gan, 24 bệnh ung thư phổi, 6 bệnh ung thư dạ dày)
(từ trái sang phải)

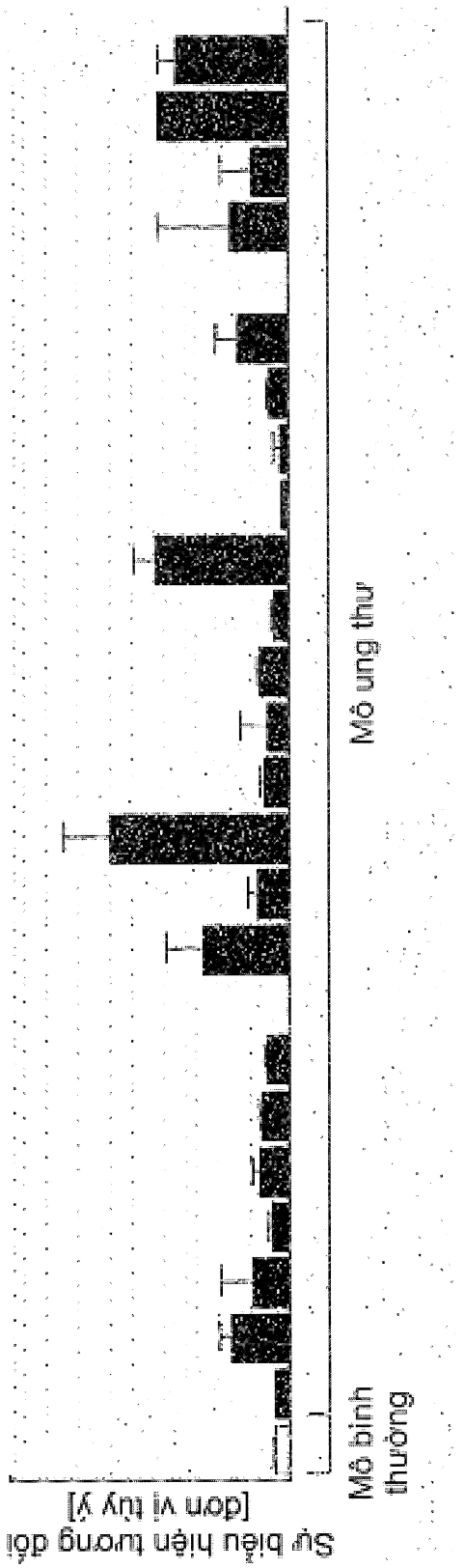
Fig.1N
Peptit: IYSFHTLSF (A*24)
SEQ ID NO: 113

Peptit được phát hiện trên
28 mô ung thư (1 tuyến tiền liệt, 1 bệnh ung thư não, 25 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1O

Peptit: RYLNKSFVL (A*24)

SEQ ID NO: 115

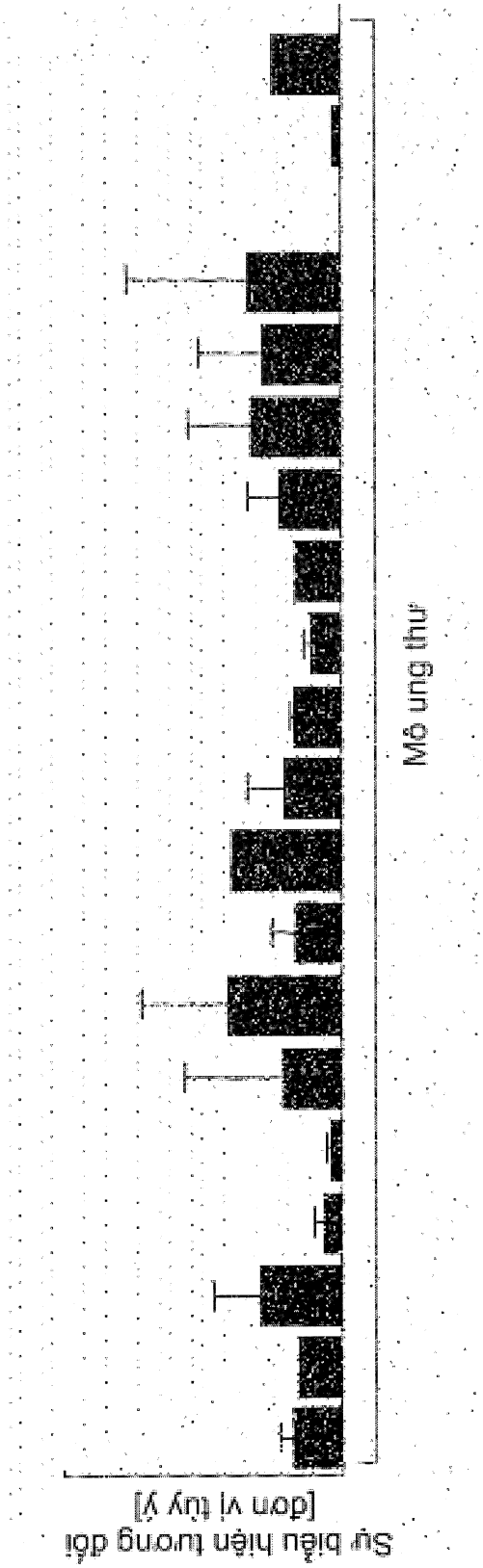


Peptit được phát hiện trên
1 mô bình thường (1 dạ dày), 25 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 2 bệnh ung thư gan, 17 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 3 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1P

Peptit: RYGLPAAWSTF (A*24)

SEQ ID NO: 121



Peptit được phát hiện trên
20 mô ung thư (2 bệnh ung thư gan, 17 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1Q

Peptit: VYALKVRTI (A*24)

SEQ ID NO: 145

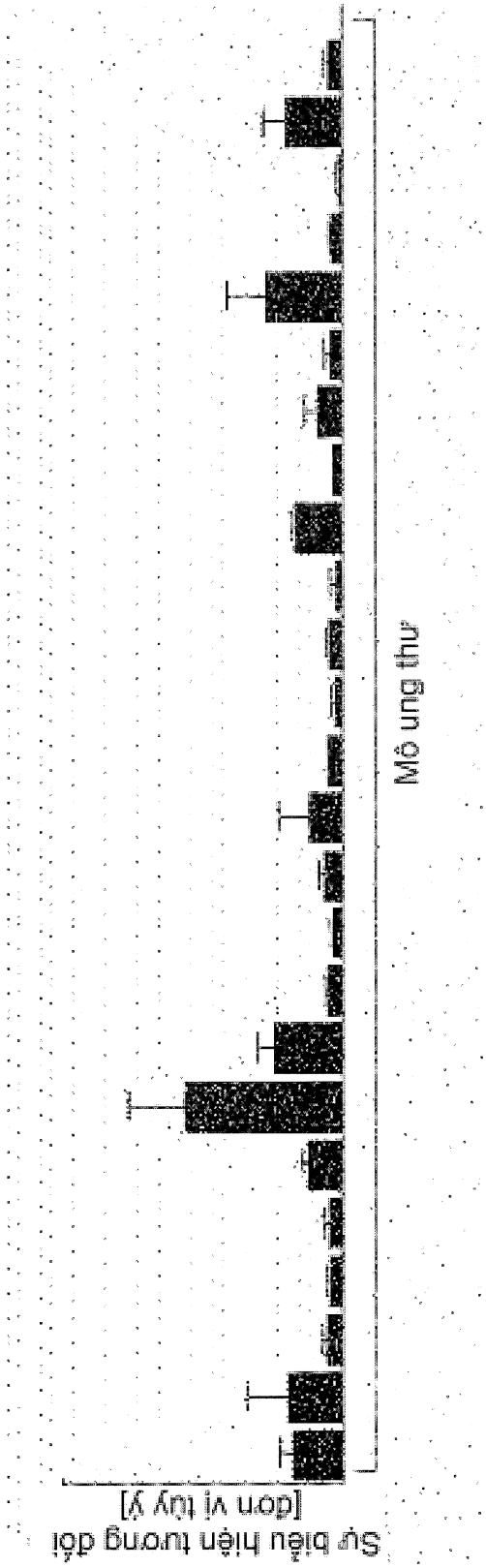
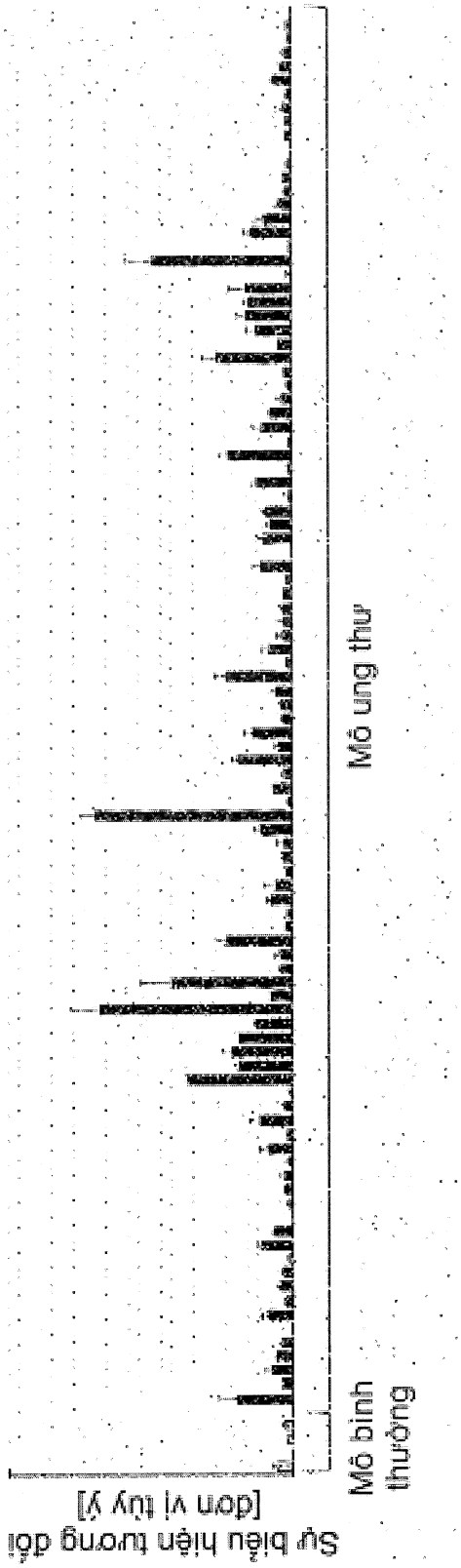


Fig.1R
Peptit: SYGTVSQIF (A*24)
SEQ ID NO: 148

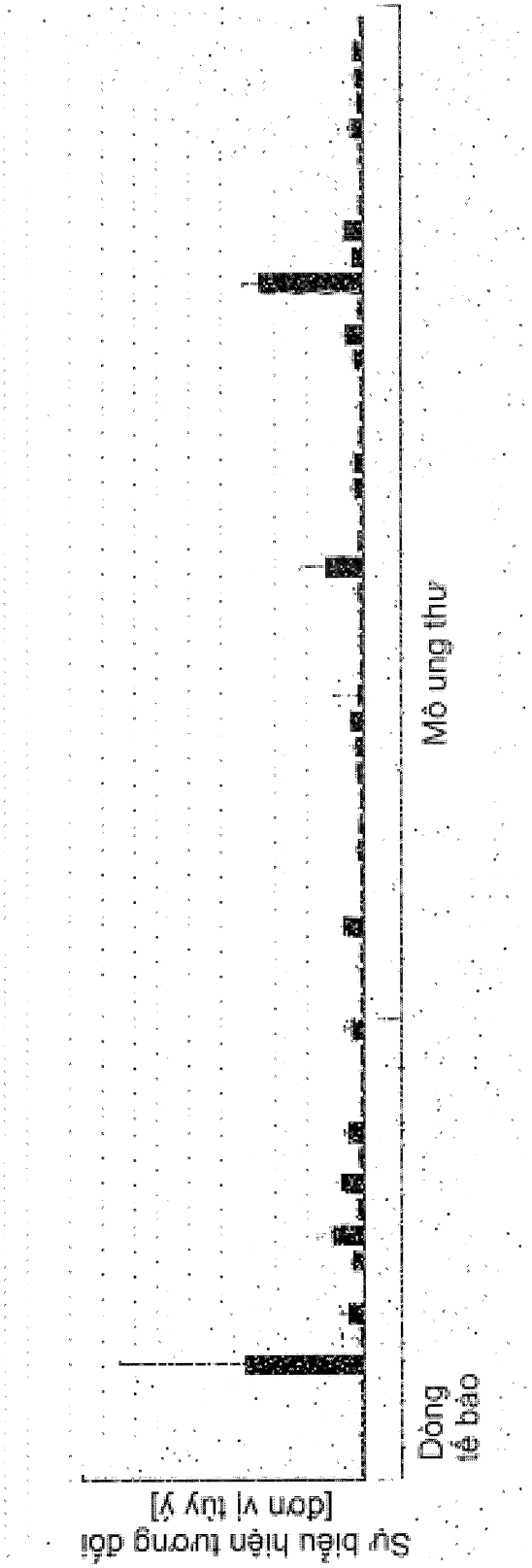


Peptit được phát hiện trên
5 mô bình thường (1 gan, 3 phổi, 1 tuyến yên), 100 mô ung thư (10 bệnh ung thư não, 4 bệnh ung thư gan, 74 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 11 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1S

Peptit: IYKWITDNF (A*24)

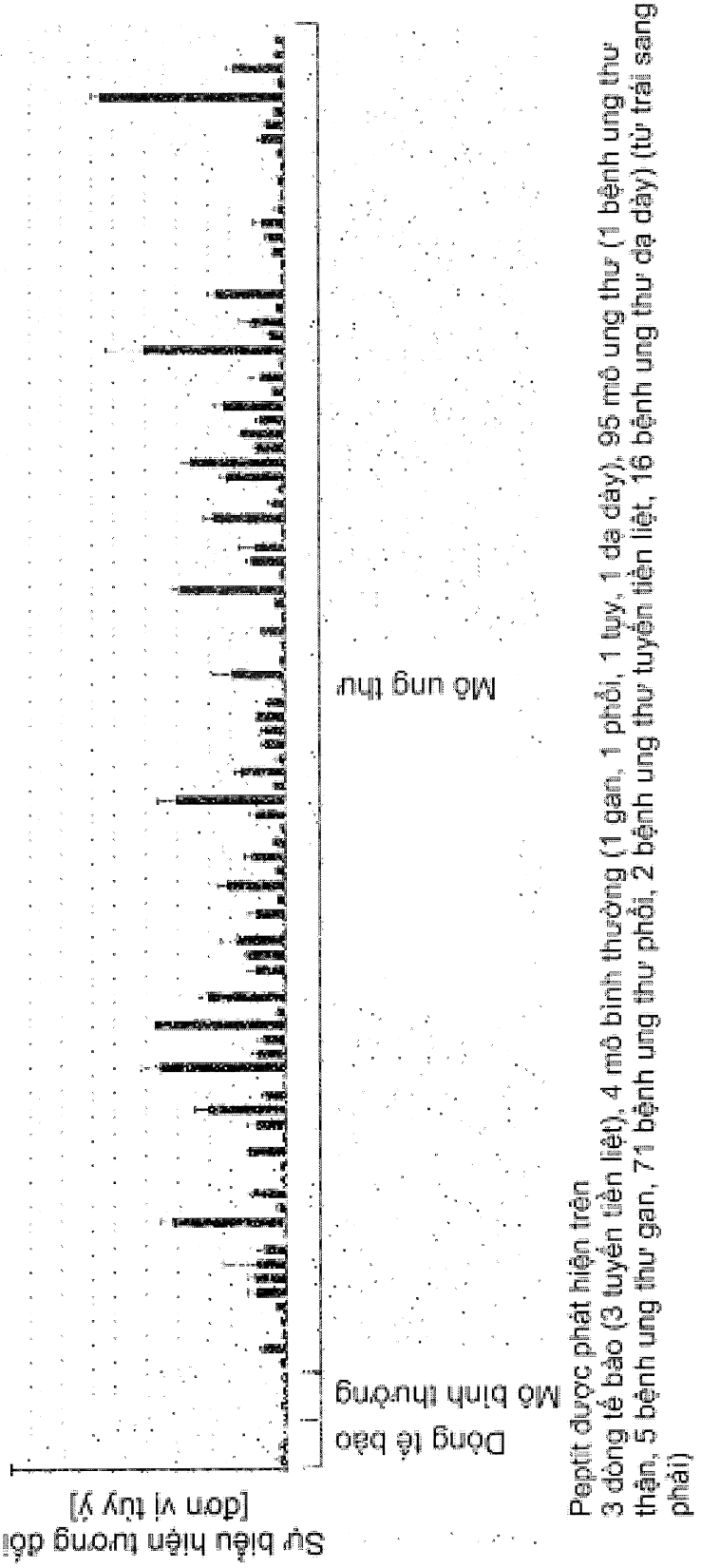
SEQ ID NO: 155



Peptit được phát hiện trên
4 mô bình thường (4 thận), 53 mô ung thư (10 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 26 bệnh ung thư phổi,
1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 15 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1T

Peptit: KYTSYILAF (A*24)
SEQ ID NO: 162

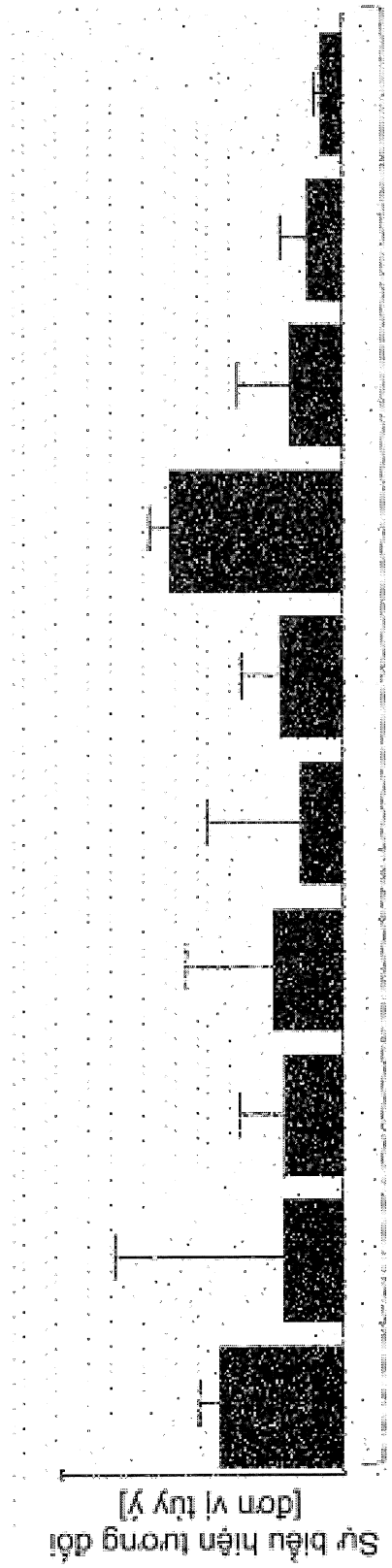


Peptit được phát hiện trên
3 dòng tế bào (3 tuyến tiền liệt), 4 mô bình thường (1 gan, 1 phổi, 1 tụy, 1 dạ dày), 95 mô ung thư (1 bệnh ung thư thận, 5 bệnh ung thư gan, 71 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 16 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1U

Peptit: EYFTPLLSGQF (A*24)

SEQ ID NO: 165

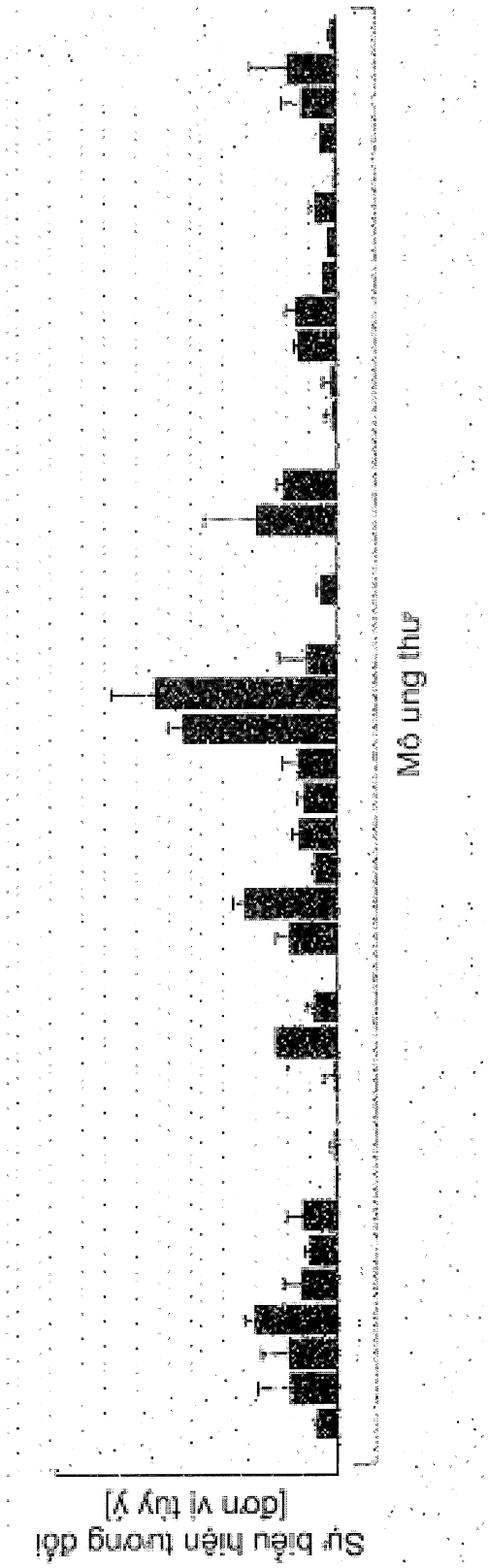


Peptit được phát hiện trên
10 mô ung thư (10 bệnh ung thư phổi) (từ trái sang phải)

Fig.1V

Peptit: LYSPVPFTL (A*24)

SEQ ID NO: 175

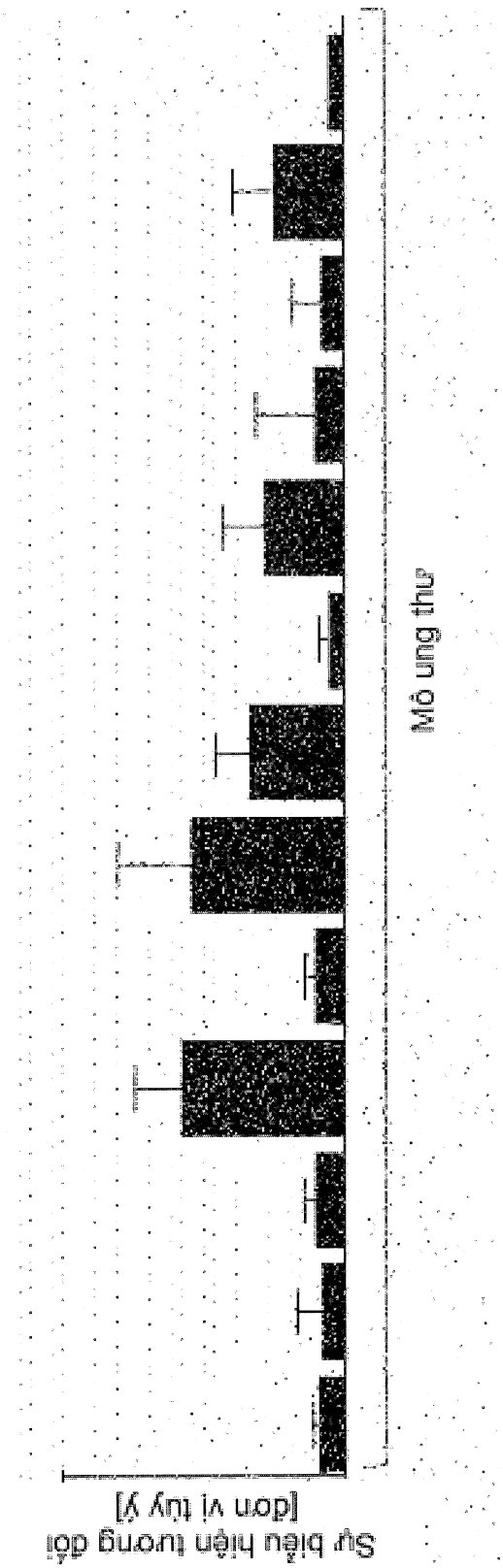


Peptit được phát hiện trên
42 mô ung thư (4 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư gan, 30 bệnh ung thư phổi, 7 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1W

Peptit: EYnSDLHQFF (A*24)

SEQ ID NO: 345

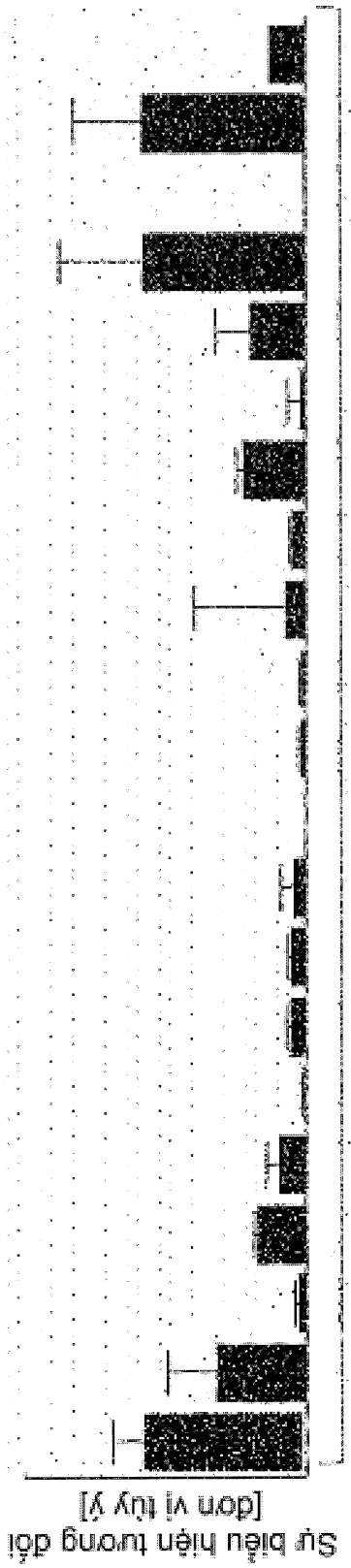


Peptit được phát hiện trên
13 mô ung thư (3 bệnh ung thư não, 10 bệnh ung thư phổi) (từ trái sang phải)

Fig.1X

Peptit: IYVIPQPHF (A*24)

SEQ ID NO: 346

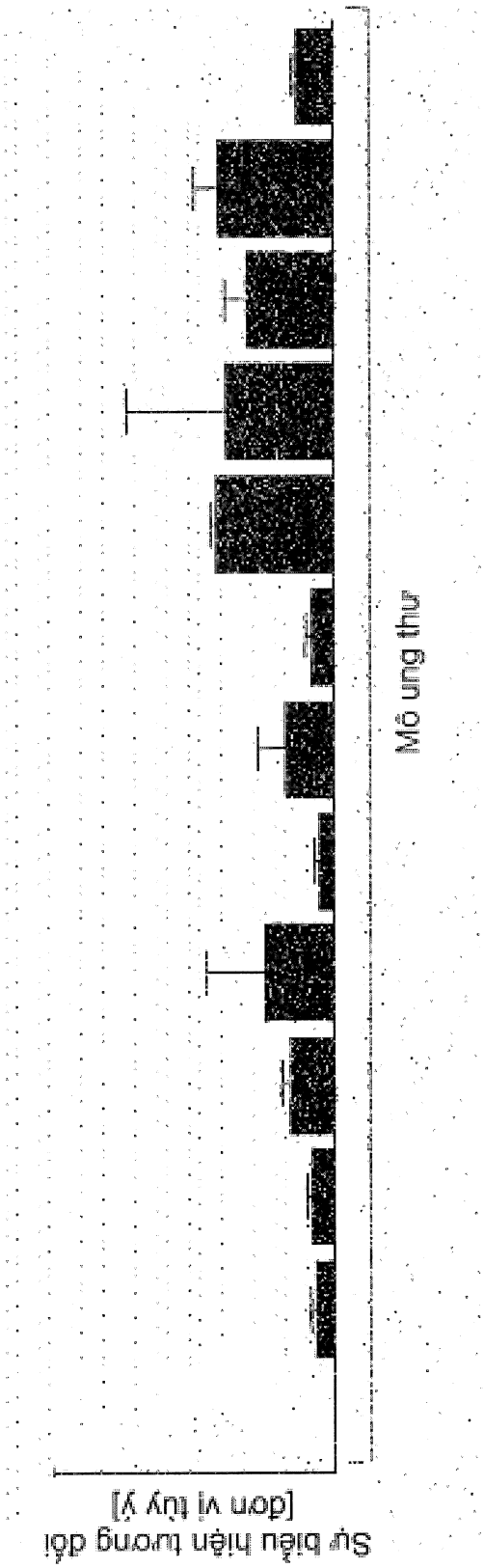


Peptit được phát hiện trên
21 mô ung thư (3 bệnh ung thư não, 1 bệnh ung thư thận, 1 bệnh ung thư gan, 14 bệnh ung thư phổi, 2 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1Y

Peptit: VYNEQIRDLL (A*24)

SEQ ID NO: 354

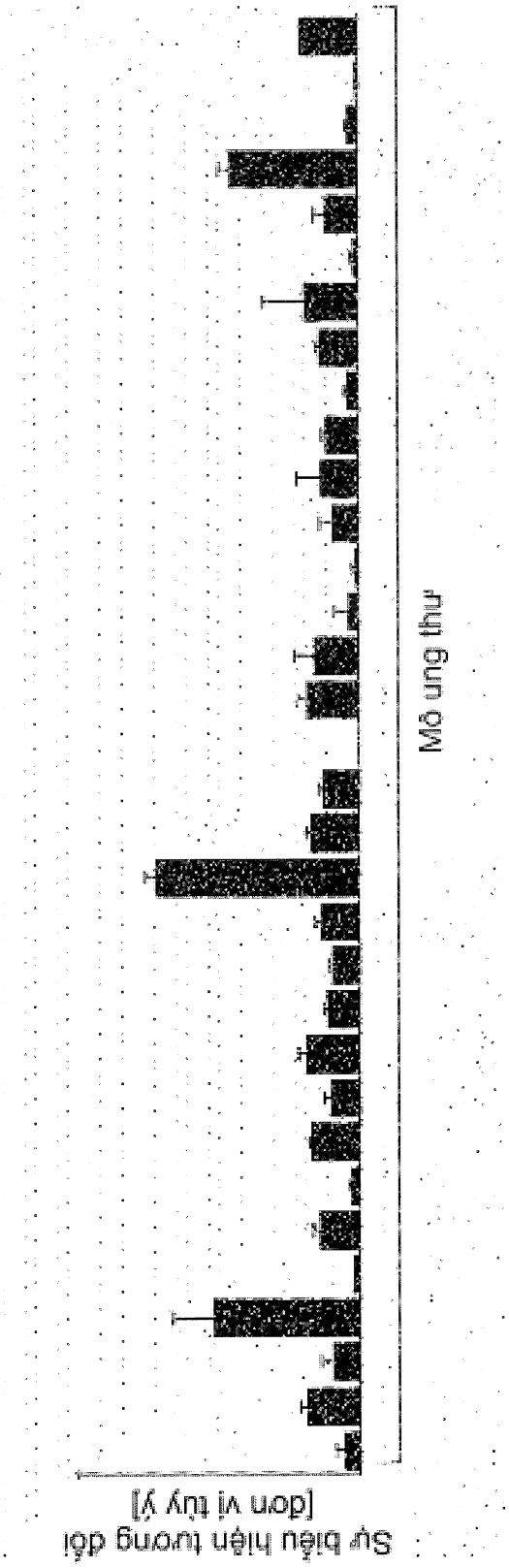


Peptit được phát hiện trên
13 mô ung thư (1 bệnh ung thư não, 11 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư dạ dày) (từ trái sang phải)

Fig.1Z

Peptit: VFSPDGHLF (A*24)

SEQ ID NO: 360



Peptit được phát hiện trên
33 mô ung thư (4 bệnh ung thư gan, 27 bệnh ung thư phổi, 1 bệnh ung thư tuyến tiền liệt, 1 bệnh ung thư dạ dày)
(từ trái sang phải)

Fig.2A

Gen: MXRA5

Peptit: LLWGHPRVA

SEQ ID NO: 78

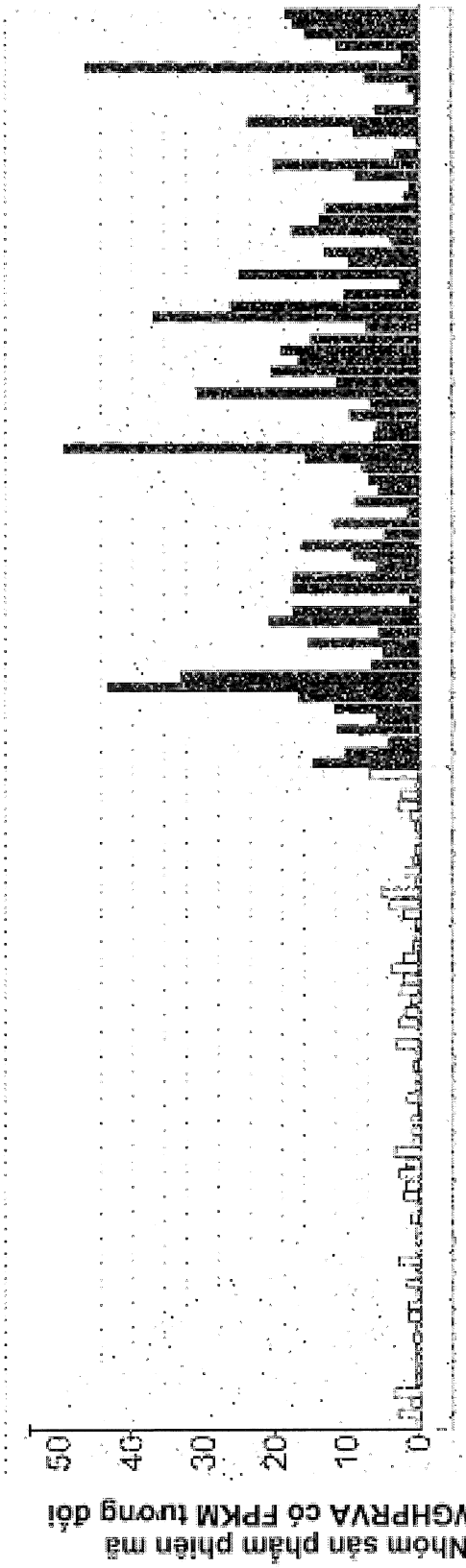


Fig.2B

Gen: KIF26B

Peptit: QYLDGTWSL

SEQ ID NO: 114

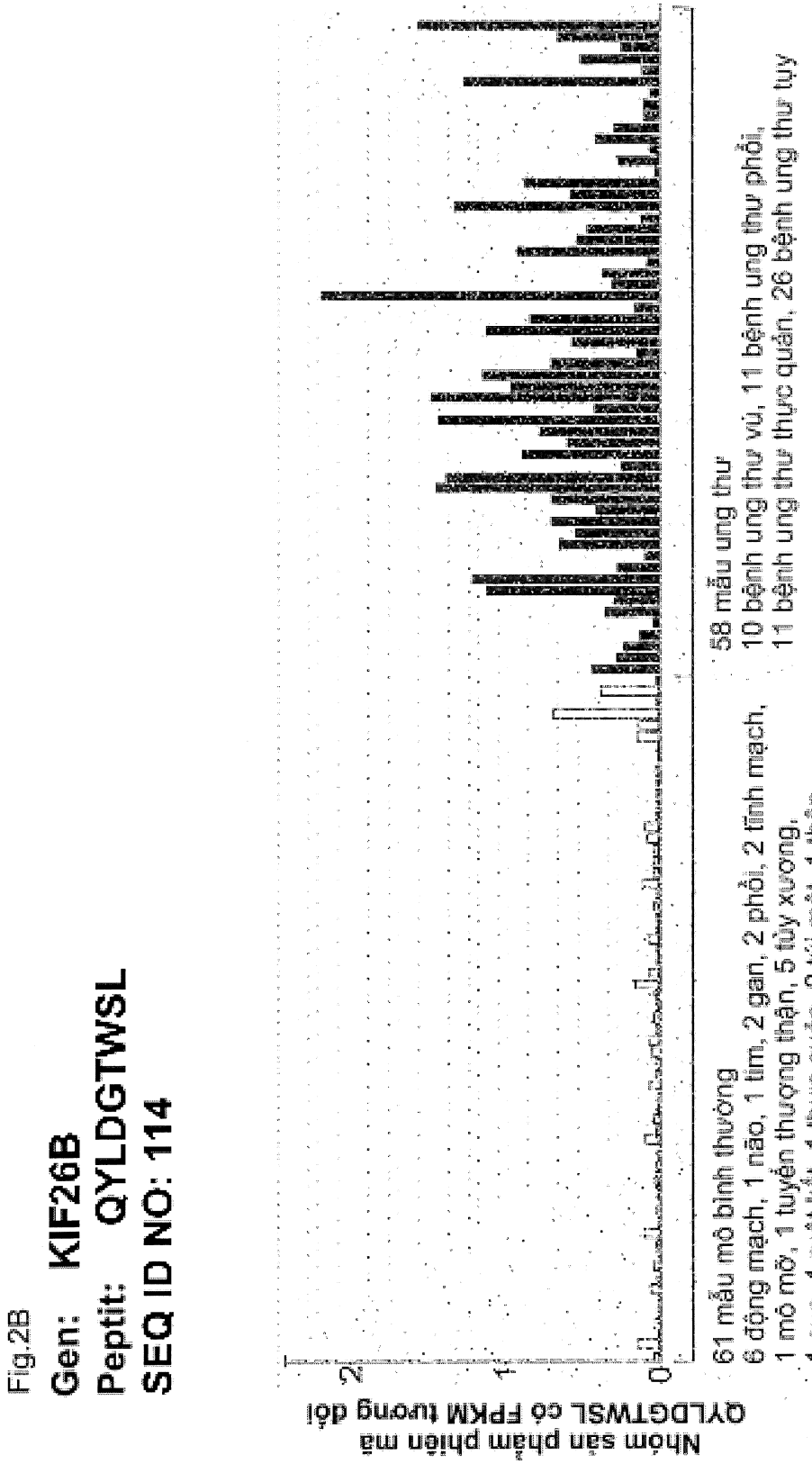


Fig.2C

Gen: IL4I1

Peptit: HYVPATKVF

SEQ ID NO: 164

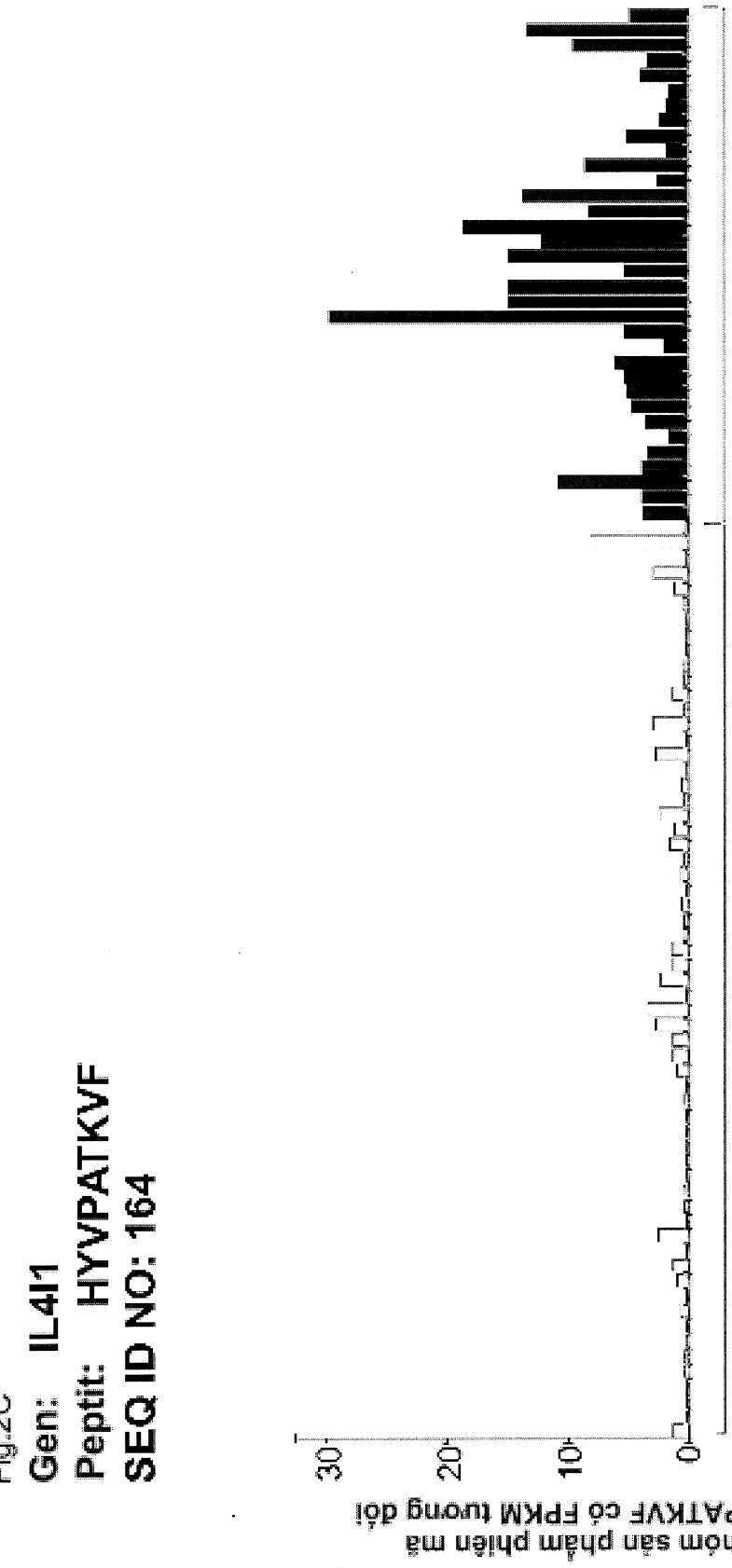


Fig.2D

Gen: TP63

Peptit: LYLENNAQTQF

SEQ ID NO: 193

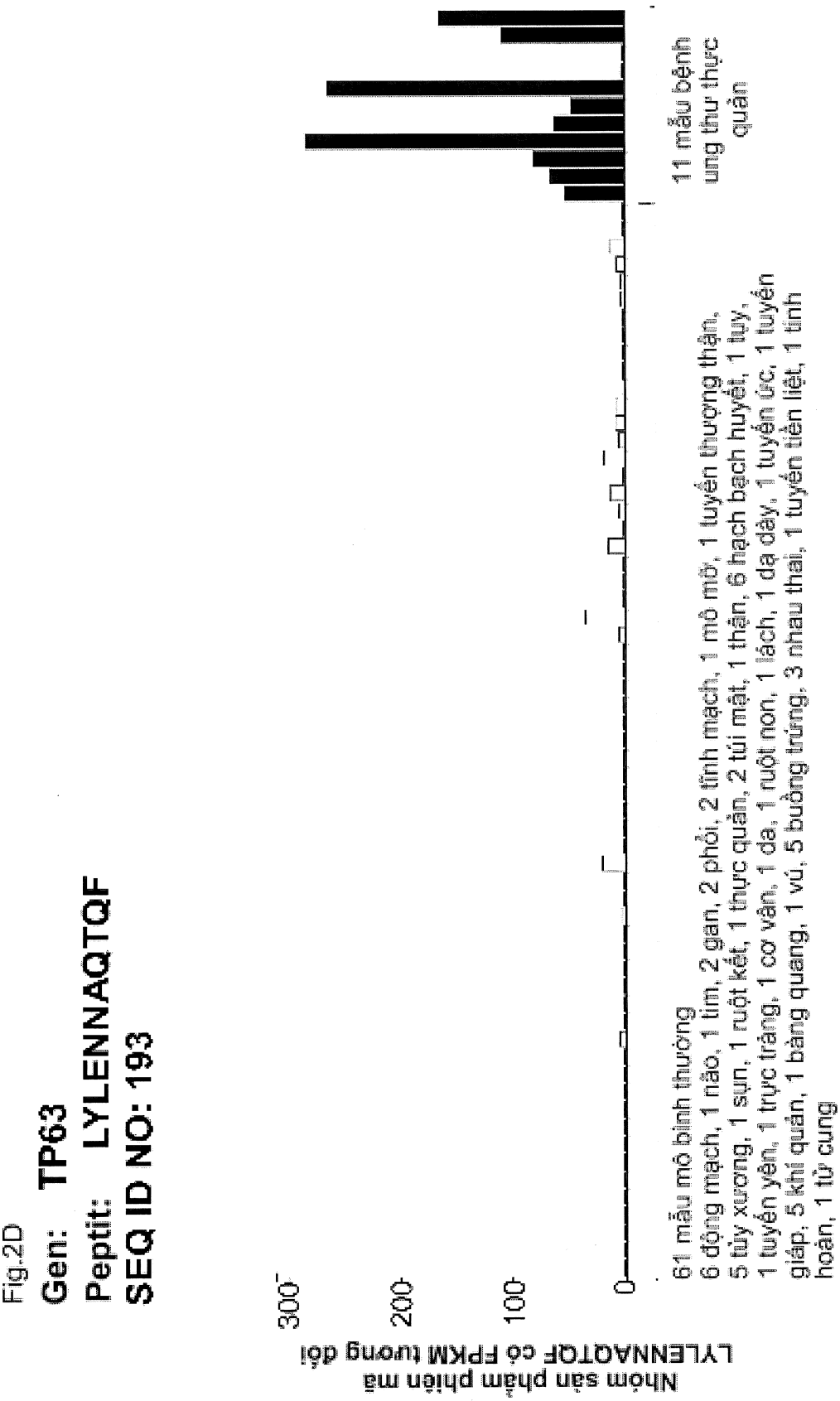


Fig.3

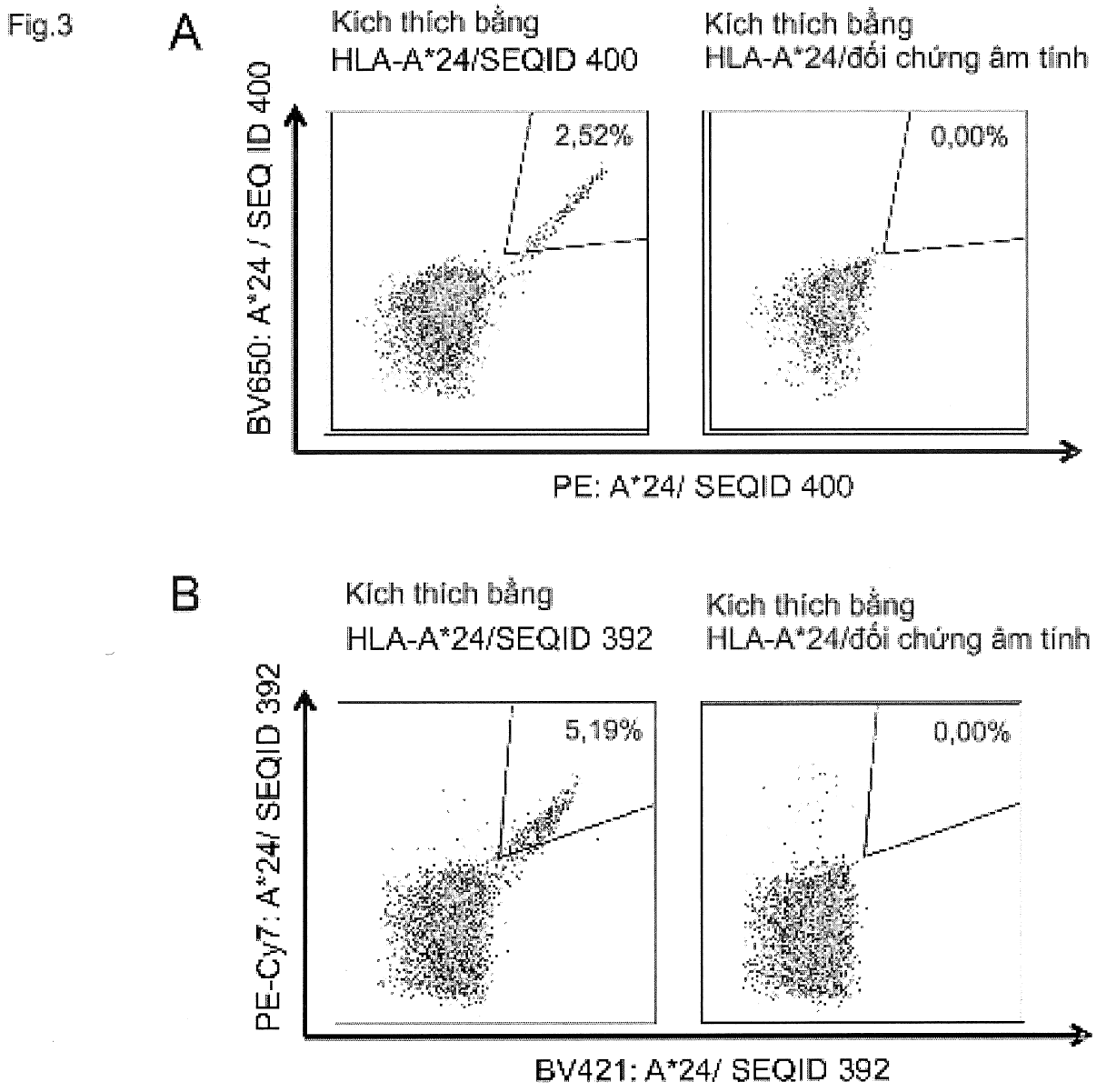

A
Kích thích bằng
HLA-A*24/SEQID 400
Kích thích bằng
HLA-A*24/đối chứng âm tính
2,52%
0,00%
BV650: A*24 / SEQ ID 400
PE: A*24/ SEQID 400
B
Kích thích bằng
HLA-A*24/SEQID 392
Kích thích bằng
HLA-A*24/đối chứng âm tính
5,19%
0,00%
PE-Cy7: A*24/ SEQID 392
BV421: A*24/ SEQID 392

Fig.4

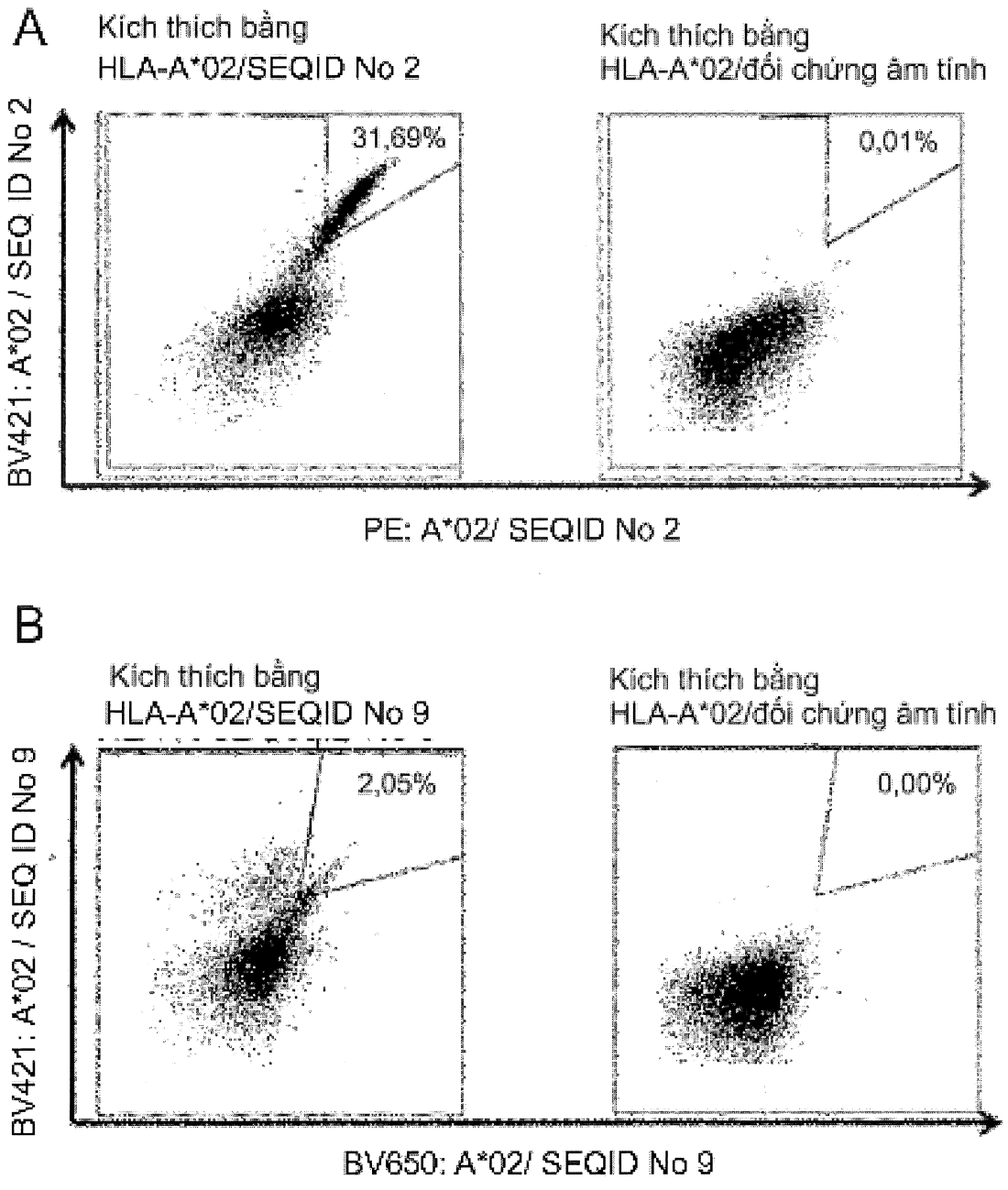

A
Kích thích bằng
HLA-A*02/SEQID No 2
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
31,69%
0,01%
BV421: A*02 / SEQ ID No 2
PE: A*02/ SEQID No 2
B
Kích thích bằng
HLA-A*02/SEQID No 9
Kích thích bằng
HLA-A*02/đối chứng âm tính
2,05%
0,00%
BV421: A*02 / SEQ ID No 9
BV650: A*02/ SEQID No 9

Fig.4 (tiếp theo)

C

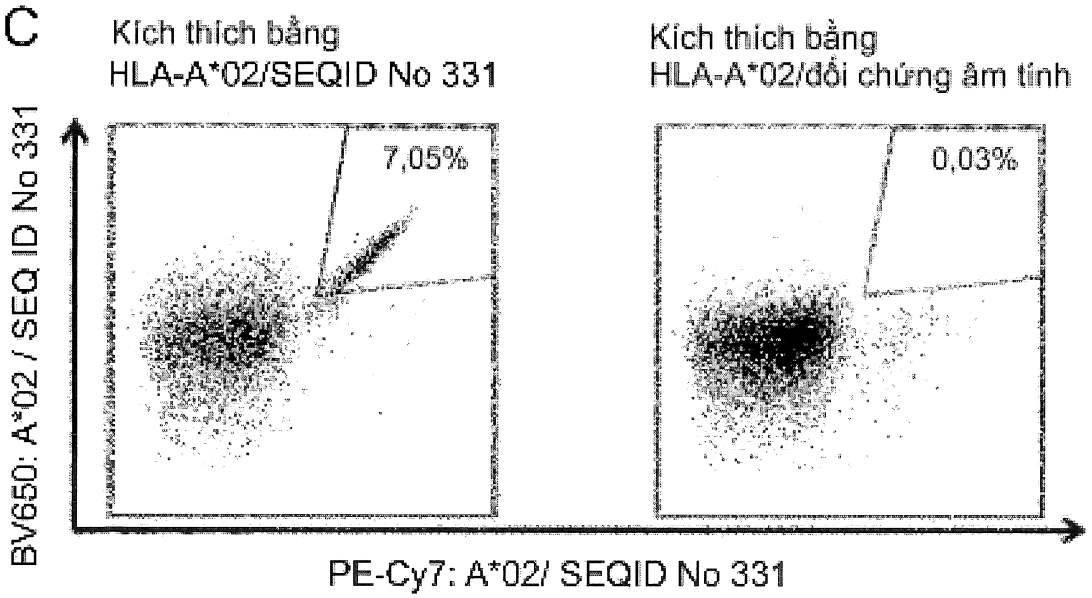


Fig.5

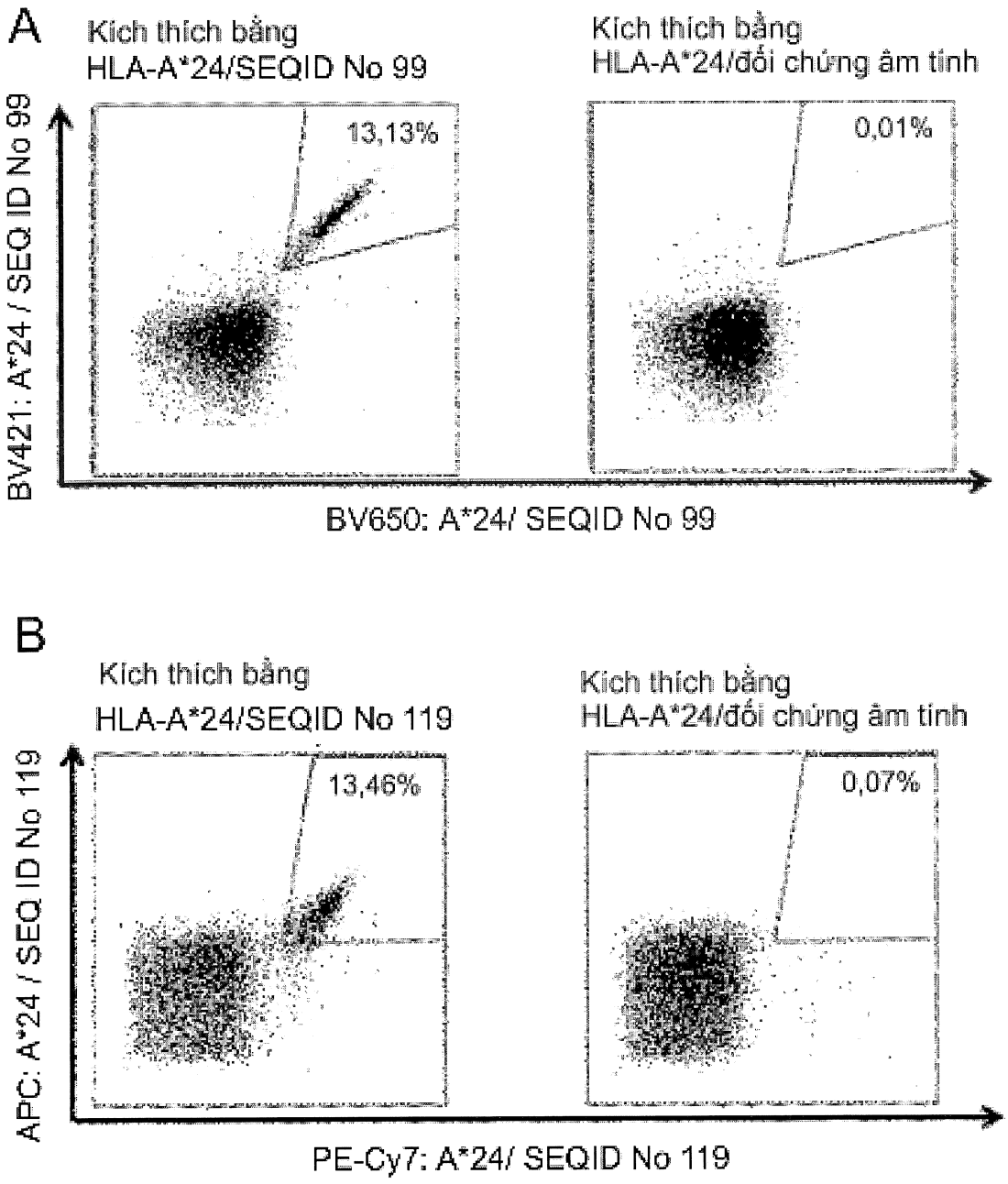
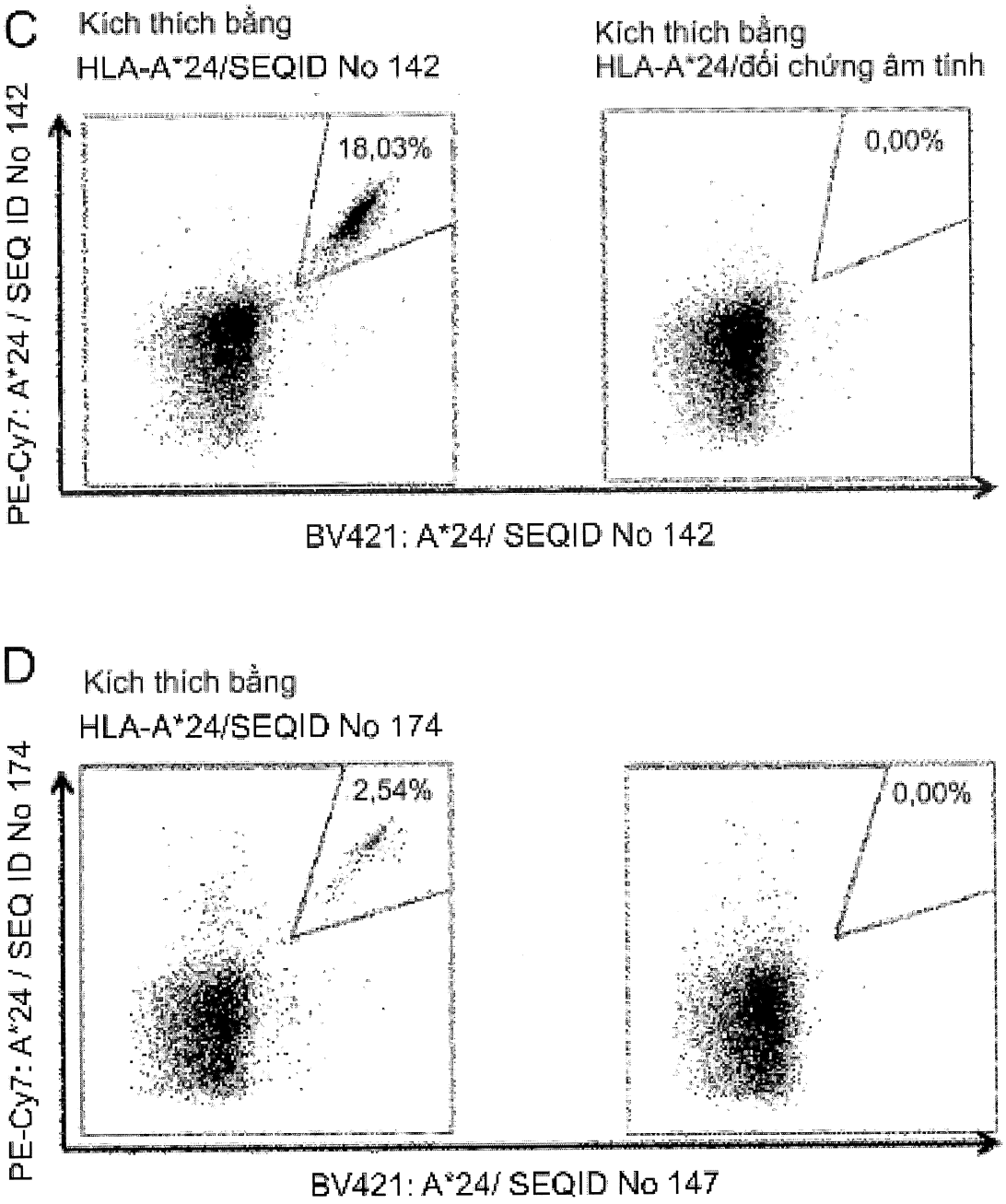

A
Kích thích bằng
HLA-A*24/SEQID No 99
Kích thích bằng
HLA-A*24/đối chứng âm tính
13,13%
0,01%
BV421: A*24 / SEQ ID No 99
BV650: A*24/ SEQID No 99
B
Kích thích bằng
HLA-A*24/SEQID No 119
Kích thích bằng
HLA-A*24/đối chứng âm tính
13,46%
0,07%
APC: A*24 / SEQ ID No 119
PE-Cy7: A*24/ SEQID No 119

Fig.5 (tiếp theo)



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Immatics biotechnologies GmbH

<120> Peptit để sử dụng trong liệu pháp miễn dịch, phương pháp tạo ra và dược phẩm chứa peptit này

<130> I32855WO

<150> GB 1515321.6
<151> 2015-08-28

<150> US 62/211,276
<151> 2015-08-28

<160> 419

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 1

Pro Leu Trp Gly Lys Val Phe Tyr Leu
1 5

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 2

Ala Leu Tyr Gly Lys Leu Leu Lys Leu
1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 3

Thr Leu Leu Gly Lys Gln Val Thr Leu
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 4

Glu Leu Ala Glu Ile Val Phe Lys Val
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 5

Ser Leu Phe Gly Gln Glu Val Tyr Cys
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 6

Phe Leu Asp Pro Ala Gln Arg Asp Leu
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 7

Ala Ala Ala Ala Lys Val Pro Glu Val
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 8

Lys Leu Gly Pro Phe Leu Leu Asn Ala
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 9

Phe Leu Gly Asp Tyr Val Glu Asn Leu
1 5

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 10

Lys Thr Leu Asp Val Phe Asn Ile Ile Leu
1 5 10

<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 11

Gly Val Leu Lys Val Phe Leu Glu Asn Val
1 5 10

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 12

Gly Leu Ile Tyr Glu Glu Thr Arg Gly Val
1 5 10

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 13

Val Leu Arg Asp Asn Ile Gln Gly Ile
1 5

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 14

Leu Leu Asp His Leu Ser Phe Ile Asn Lys Ile
1 5 10

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 15

Ala Leu Gly Asp Tyr Val His Ala Cys
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 16

His Leu Tyr Asn Asn Glu Glu Gln Val
1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 17

Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu
1 5

<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 18

Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys Val
1 5 10

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 19

Thr Leu Leu Pro Thr Val Leu Thr Leu
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 20

Ala Leu Asp Gly His Leu Tyr Ala Ile
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 21

Ser Leu Tyr His Arg Val Leu Leu Tyr
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 22

Met Leu Ser Asp Leu Thr Leu Gln Leu
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 23

Ala Gln Thr Val Val Val Ile Lys Ala
1 5

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 24

Phe Leu Trp Asn Gly Glu Asp Ser Ala Leu
1 5 10

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 25

Ile Gln Ala Asp Asp Phe Arg Thr Leu
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 26

Lys Val Asp Gly Val Val Ile Gln Leu
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 27

Lys Val Phe Gly Asp Leu Asp Gln Val
1 5

<210> 28

<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 28

Thr Leu Tyr Ser Met Asp Leu Met Lys Val
1 5 10

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 29

Thr Leu Cys Asn Lys Thr Phe Thr Ala
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 30

Thr Val Ile Asp Glu Cys Thr Arg Ile
1 5

<210> 31
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 31

Ala Leu Ser Asp Glu Thr Lys Asn Asn Trp Glu Val
1 5 10

<210> 32
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 32

Ile Leu Ala Asp Glu Ala Phe Phe Ser Val
1 5 10

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 33

Leu Leu Leu Pro Leu Leu Pro Pro Leu Ser Pro Ser Leu Gly
1 5 10

<210> 34
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 34

Leu Leu Pro Lys Lys Thr Glu Ser His His Lys Thr
1 5 10

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 35

Tyr Val Leu Pro Lys Leu Tyr Val Lys Leu
1 5 10

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 36

Lys Leu Tyr Gly Ile Glu Ile Glu Val
1 5

<210> 37
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 37

Ala Leu Ile Asn Asp Ile Leu Gly Glu Leu Val Lys Leu

1 5 10

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 38

Lys Met Gln Glu Asp Leu Val Thr Leu
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 39

Ala Leu Met Ala Val Val Ser Gly Leu
1 5

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 40

Ser Leu Leu Ala Leu Pro Gln Asp Leu Gln Ala
1 5 10

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 41

Phe Val Leu Pro Leu Val Val Thr Leu
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 42

Val Leu Ser Pro Phe Ile Leu Thr Leu
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 43

Leu Leu Trp Ala Gly Pro Val Thr Ala
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 44

Gly Leu Leu Trp Gln Ile Ile Lys Val
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 45

Val Leu Gly Pro Thr Pro Glu Leu Val
1 5

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 46

Ser Leu Ala Lys His Gly Ile Val Ala Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 47

Gly Leu Tyr Gln Ala Gln Val Asn Leu
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 48

Thr Leu Asp His Lys Pro Val Thr Val
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 49

Leu Leu Asp Glu Ser Lys Leu Thr Leu
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 50

Glu Tyr Ala Leu Leu Tyr His Thr Leu
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 51

Leu Leu Leu Asp Gly Asp Phe Thr Leu
1 5

<210> 52
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 52

Glu Leu Leu Ser Ser Ile Phe Phe Leu
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 53

Ser Leu Leu Ser His Val Ile Val Ala
1 5

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 54

Phe Ile Asn Pro Lys Gly Asn Trp Leu Leu
1 5 10

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 55

Ile Ala Ser Ala Ile Val Asn Glu Leu
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 56

Lys Ile Leu Asp Leu Thr Arg Val Leu
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 57

Val Leu Ile Ser Ser Thr Val Arg Leu
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 58

Ala Leu Asp Asp Ser Leu Thr Ser Leu
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 59

Ala Leu Thr Lys Ile Leu Ala Glu Leu
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 60

Phe Leu Ile Asp Thr Ser Ala Ser Met
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 61

His Leu Pro Asp Phe Val Lys Gln Leu
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 62

Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile
1 5

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 63

Thr Leu Ser Ser Glu Arg Asp Phe Ala Leu
1 5 10

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 64

Gly Leu Ser Ser Ser Ser Tyr Glu Leu
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 65

Lys Leu Asp Gly Ile Cys Trp Gln Val
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 66

Phe Ile Thr Asp Phe Tyr Thr Thr Val
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 67

Gly Val Ile Glu Thr Val Thr Ser Leu
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 68

Ala Leu Tyr Gly Phe Phe Phe Lys Ile
1 5

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 69

Gly Ile Tyr Asp Gly Ile Leu His Ser Ile
1 5 10

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 70

Gly Leu Phe Ser Gln His Phe Asn Leu
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 71

Gly Leu Ile Thr Val Asp Ile Ala Leu
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 72

Gly Met Ile Gly Phe Gln Val Leu Leu
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 73

Gly Val Pro Asp Thr Ile Ala Thr Leu
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 74

Ile Leu Asp Glu Thr Leu Glu Asn Val
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 75

Ile Leu Asp Asn Val Lys Asn Leu Leu
1 5

<210> 76
<211> 12
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 76

Ile Leu Leu Asp Glu Ser Asn Phe Asn His Phe Leu
1 5 10

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 77

Ile Val Leu Ser Thr Ile Ala Ser Val
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 78

Leu Leu Trp Gly His Pro Arg Val Ala
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 79

Ser Leu Val Pro Leu Gln Ile Leu Leu
1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 80

Thr Leu Asp Glu Tyr Leu Thr Tyr Leu
1 5

<210> 81

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 81

Val Leu Phe Leu Gly Lys Leu Leu Val
1 5

<210> 82
<211> 8
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 82

Val Leu Leu Arg Val Leu Ile Leu
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 83

Glu Leu Leu Glu Tyr Leu Pro Gln Leu
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 84

Phe Leu Glu Glu Glu Ile Thr Arg Val
1 5

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 85

Ser Thr Leu Asp Gly Ser Leu His Ala Val
1 5 10

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 86

Leu Leu Val Thr Ser Leu Val Val Val
1 5

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 87

Tyr Leu Thr Glu Val Phe Leu His Val Val
1 5 10

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 88

Ile Leu Leu Asn Thr Glu Asp Leu Ala Ser Leu
1 5 10

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 89

Tyr Leu Val Ala His Asn Leu Leu Leu
1 5

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 90

Gly Ala Val Ala Glu Glu Val Leu Ser Ser Ile

1 5 10

<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 91

Ser Ser Leu Glu Pro Gln Ile Gln Pro Val
1 5 10

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 92

Leu Leu Arg Gly Pro Pro Val Ala Arg Ala
1 5 10

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 93

Ser Leu Leu Thr Gln Pro Ile Phe Leu
1 5

<210> 94
<211> 18
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 94

Leu Lys Met Glu Asn Lys Glu Val Leu Pro Gln Leu Val Asp Ala Val
1 5 10 15

Thr Ser

<210> 95
<211> 21

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 95

Gly Leu Tyr Leu Pro Leu Phe Lys Pro Ser Val Ser Thr Ser Lys Ala
1 5 10 15

Ile Gly Gly Gly Pro
20

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 96

Tyr Tyr Thr Gln Tyr Ser Gln Thr Ile
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 97

Thr Tyr Thr Phe Leu Lys Glu Thr Phe
1 5

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 98

Val Phe Pro Arg Leu His Asn Val Leu Phe
1 5 10

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 99

Gln Tyr Ile Leu Ala Val Pro Val Leu
1 5

<210> 100
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 100

Val Tyr Ile Glu Ser Arg Ile Gly Thr Ser Thr Ser Phe
1 5 10

<210> 101
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 101

Ile Tyr Ile Pro Val Leu Pro Pro His Leu
1 5 10

<210> 102
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 102

Val Tyr Pro Phe Glu Asn Phe Glu Phe
1 5

<210> 103
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 103

Asn Tyr Ile Pro Val Lys Asn Gly Lys Gln Phe
1 5 10

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 104

Ser Tyr Leu Thr Trp His Gln Gln Ile
1 5

<210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 105

Ile Tyr Asn Glu Thr Ile Thr Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 106

Ile Tyr Asn Glu Thr Val Arg Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 107

Lys Tyr Phe Pro Tyr Leu Val Val Ile
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 108

Pro Tyr Leu Val Val Ile His Thr Leu
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 109

Leu Phe Ile Thr Gly Gly Gln Phe Phe
1 5

<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 110

Ser Tyr Pro Lys Ile Ile Glu Glu Phe
1 5

<210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 111

Val Tyr Val Gln Ile Leu Gln Lys Leu
1 5

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 112

Ile Tyr Asn Phe Val Glu Ser Lys Leu
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 113

Ile Tyr Ser Phe His Thr Leu Ser Phe
1 5

<210> 114

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 114

Gln Tyr Leu Asp Gly Thr Trp Ser Leu
1 5

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 115

Arg Tyr Leu Asn Lys Ser Phe Val Leu
1 5

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 116

Ala Tyr Val Ile Ala Val His Leu Phe
1 5

<210> 117
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 117

Ile Tyr Leu Ser Asp Leu Thr Tyr Ile
1 5

<210> 118
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 118

Lys Tyr Leu Asn Ser Val Gln Tyr Ile
1 5

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 119

Val Tyr Arg Val Tyr Val Thr Thr Phe
1 5

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 120

Gly Tyr Ile Glu His Phe Ser Leu Trp
1 5

<210> 121
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 121

Arg Tyr Gly Leu Pro Ala Ala Trp Ser Thr Phe
1 5 10

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 122

Glu Tyr Gln Ala Arg Ile Pro Glu Phe
1 5

<210> 123
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 123

Val Tyr Thr Pro Val Leu Glu His Leu

1 5

<210> 124
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 124

Thr Tyr Lys Asp Tyr Val Asp Leu Phe
1 5

<210> 125
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 125

Val Phe Ser Arg Asp Phe Gly Leu Leu Val Phe
1 5 10

<210> 126
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 126

Pro Tyr Asp Pro Ala Leu Gly Ser Pro Ser Arg Leu Phe
1 5 10

<210> 127
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 127

Gln Tyr Phe Thr Gly Asn Pro Leu Phe
1 5

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 128

Val Tyr Pro Phe Asp Trp Gln Tyr Ile
1 5

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 129

Lys Tyr Ile Asp Tyr Leu Met Thr Trp
1 5

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 130

Val Tyr Ala His Ile Tyr His Gln His Phe
1 5 10

<210> 131
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 131

Glu Tyr Leu Asp Arg Ile Gly Gln Leu Phe Phe
1 5 10

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 132

Arg Tyr Pro Ala Leu Phe Pro Val Leu
1 5

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 133

Lys Tyr Leu Glu Asp Met Lys Thr Tyr Phe
1 5 10

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 134

Ala Tyr Ile Pro Thr Pro Ile Tyr Phe
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 135

Val Tyr Glu Ala Met Val Pro Leu Phe
1 5

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 136

Ile Tyr Pro Glu Trp Pro Val Val Phe Phe
1 5 10

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 137

Glu Tyr Leu His Asn Cys Ser Tyr Phe
1 5

<210> 138
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 138

Val Tyr Asn Ala Val Ser Thr Ser Phe
1 5

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 139

Ile Phe Gly Ile Phe Pro Asn Gln Phe
1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 140

Arg Tyr Leu Ile Asn Ser Tyr Asp Phe
1 5

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 141

Ser Tyr Asn Gly His Leu Thr Ile Trp Phe
1 5 10

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 142

Val Tyr Val Asp Asp Ile Tyr Val Ile
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 143

Lys Tyr Ile Phe Gln Leu Asn Glu Ile
1 5

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 144

Val Phe Ala Ser Leu Pro Gly Phe Leu Phe
1 5 10

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 145

Val Tyr Ala Leu Lys Val Arg Thr Ile
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 146

Asn Tyr Tyr Glu Arg Ile His Ala Leu
1 5

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 147

Leu Tyr Leu Ala Phe Pro Leu Ala Phe
1 5

<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 148

Ser Tyr Gly Thr Val Ser Gln Ile Phe
1 5

<210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 149

Ser Tyr Gly Thr Val Ser Gln Ile
1 5

<210> 150
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 150

Ile Tyr Ile Thr Arg Gln Phe Val Gln Phe
1 5 10

<210> 151
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 151

Ala Tyr Ile Ser Gly Leu Asp Val Phe
1 5

<210> 152
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 152

Lys Phe Phe Asp Asp Leu Gly Asp Glu Leu Leu Phe
1 5 10

<210> 153
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 153

Val Tyr Val Pro Phe Gly Gly Lys Ser Met Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 154
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 154

Val Tyr Gly Val Pro Thr Pro His Phe
1 5

<210> 155
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 155

Ile Tyr Lys Trp Ile Thr Asp Asn Phe
1 5

<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 156

Tyr Tyr Met Glu Leu Thr Lys Leu Leu Leu
1 5 10

<210> 157
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 157

Asp Tyr Ile Pro Ala Ser Gly Phe Ala Leu Phe
1 5 10

<210> 158
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 158

Ile Tyr Glu Glu Thr Arg Gly Val Leu Lys Val Phe
1 5 10

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 159

Ile Tyr Glu Glu Thr Arg Gly Val Leu
1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 160

Arg Tyr Gly Asp Gly Gly Ser Ser Phe
1 5

<210> 161
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 161

Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe
1 5

<210> 162
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 162

Lys Tyr Thr Ser Tyr Ile Leu Ala Phe
1 5

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 163

Arg Tyr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Phe
1 5 10

<210> 164
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 164

His Tyr Val Pro Ala Thr Lys Val Phe
1 5

<210> 165
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 165

Glu Tyr Phe Thr Pro Leu Leu Ser Gly Gln Phe
1 5 10

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 166

Phe Tyr Thr Leu Pro Phe His Leu Ile
1 5

<210> 167

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 167

Arg Tyr Gly Phe Tyr Tyr Val Glu Phe
1 5

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 168

Arg Tyr Leu Glu Ala Ala Leu Arg Leu
1 5

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 169

Asn Tyr Ile Thr Gly Lys Gly Asp Val Phe
1 5 10

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 170

Gln Tyr Pro Phe His Val Pro Leu Leu
1 5

<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 171

Asn Tyr Glu Asp His Phe Pro Leu Leu
1 5

<210> 172
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 172

Val Phe Ile Phe Lys Gly Asn Glu Phe
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 173

Gln Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu
1 5

<210> 174
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 174

Val Tyr Glu Lys Asn Gly Tyr Ile Tyr Phe
1 5 10

<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 175

Leu Tyr Ser Pro Val Pro Phe Thr Leu
1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 176

Phe Tyr Ile Asn Gly Gln Tyr Gln Phe

1 5

<210> 177
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 177

Val Tyr Phe Lys Ala Gly Leu Asp Val Phe
1 5 10

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 178

Asn Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Phe
1 5

<210> 179
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 179

Thr Tyr Ile Pro Val Gly Leu Gly Arg Leu Leu
1 5 10

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 180

Lys Tyr Leu Gln Val Val Gly Met Phe
1 5

<210> 181
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 181

Val Tyr Pro Pro Tyr Leu Asn Tyr Leu
1 5

<210> 182
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 182

Ala Tyr Ala Gln Leu Gly Tyr Leu Leu Phe
1 5 10

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 183

Pro Tyr Leu Gln Asp Val Pro Arg Ile
1 5

<210> 184
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 184

Ile Tyr Ser Val Gly Ala Phe Glu Asn Phe
1 5 10

<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 185

Gln Tyr Leu Val His Val Asn Asp Leu
1 5

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 186

Val Phe Thr Thr Ser Ser Asn Ile Phe
1 5

<210> 187
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 187

Ala Tyr Ala Ala Asn Val His Tyr Leu
1 5

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 188

Gly Tyr Lys Thr Phe Phe Asn Glu Phe
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 189

Ala Tyr Phe Lys Gln Ser Ser Val Phe
1 5

<210> 190
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 190

Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Glu Thr Leu
1 5

<210> 191
<211> 12

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 191

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe
1 5 10

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 192

Arg Tyr Ser Thr Phe Ser Glu Ile Phe
1 5

<210> 193
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 193

Leu Tyr Leu Glu Asn Asn Ala Gln Thr Gln Phe
1 5 10

<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 194

Val Tyr Gln Ser Leu Ser Asn Ser Leu
1 5

<210> 195
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 195

Ala Tyr Ile Lys Gly Gly Trp Ile Leu
1 5

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 196

Gly Tyr Ile Arg Gly Ser Trp Gln Phe
1 5

<210> 197
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 197

Ile Phe Thr Asp Ile Phe His Tyr Leu
1 5

<210> 198
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 198

Asp Tyr Val Gly Phe Thr Leu Lys Ile
1 5

<210> 199
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 199

Ser Tyr Leu Asn His Leu Asn Asn Leu
1 5

<210> 200
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 200

Val Phe Ile His His Leu Pro Gln Phe
1 5

<210> 201
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 201

Gly Tyr Asn Pro Asn Arg Val Phe Phe
1 5

<210> 202
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 202

Arg Tyr Val Glu Gly Ile Val Ser Leu
1 5

<210> 203
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 203

Val Tyr Asn Val Glu Val Lys Asn Ala Glu Phe
1 5 10

<210> 204
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 204

Glu Tyr Leu Ser Thr Cys Ser Lys Leu
1 5

<210> 205
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 205

Val Tyr Pro Val Val Leu Asn Gln Ile
1 5

<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 206

Asn Tyr Leu Asp Val Ala Thr Phe Leu
1 5

<210> 207
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 207

Leu Tyr Ser Asp Ala Phe Lys Phe Ile Val Phe
1 5 10

<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 208

Thr Tyr Leu Glu Lys Ile Asp Gly Phe
1 5

<210> 209
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 209

Ala Phe Ile Glu Thr Pro Ile Pro Leu Phe
1 5 10

<210> 210
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 210

Ile Tyr Ala Gly Val Gly Glu Phe Ser Phe
1 5 10

<210> 211
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 211

Val Phe Lys Ser Glu Gly Ala Tyr Phe
1 5

<210> 212
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 212

Ser Tyr Ala Pro Pro Ser Glu Asp Leu Phe
1 5 10

<210> 213
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 213

Ser Tyr Ala Pro Pro Ser Glu Asp Leu Phe Leu
1 5 10

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 214

Lys Tyr Leu Met Glu Leu Thr Leu Ile
1 5

<210> 215
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 215

Ser Tyr Val Ala Ser Phe Phe Leu Leu
1 5

<210> 216
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 216

Phe Tyr Val Asn Val Lys Glu Gln Phe
1 5

<210> 217
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 217

Ile Tyr Ile Ser Asn Ser Ile Tyr Phe
1 5

<210> 218
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 218

Leu Tyr Ser Glu Leu Asn Lys Trp Ser Phe
1 5 10

<210> 219
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 219

Ser Tyr Leu Lys Ala Val Phe Asn Leu
1 5

<210> 220

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 220

Ser Tyr Ser Glu Ile Lys Asp Phe Leu
1 5

<210> 221
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 221

Lys Tyr Ile Gly Asn Leu Asp Leu Leu
1 5

<210> 222
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 222

His Tyr Ser Thr Leu Val His Met Phe
1 5

<210> 223
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 223

Thr Phe Ile Thr Gln Ser Pro Leu Leu
1 5

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 224

Pro Tyr Phe Phe Ala Asn Gln Glu Phe
1 5

<210> 225
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 225

Thr Tyr Thr Asn Thr Leu Glu Arg Leu
1 5

<210> 226
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 226

Met Tyr Leu Lys Leu Val Gln Leu Phe
1 5

<210> 227
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 227

Ile Tyr Arg Phe Ile Thr Glu Arg Phe
1 5

<210> 228
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 228

Ile Tyr Gln Tyr Val Ala Asp Asn Phe
1 5

<210> 229
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 229

Ile Tyr Gln Phe Val Ala Asp Ser Phe

1 5

<210> 230
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 230

Thr Tyr Gly Met Val Met Val Thr Phe
1 5

<210> 231
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 231

Ala Phe Ala Asp Val Ser Val Lys Phe
1 5

<210> 232
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 232

Tyr Tyr Leu Ser Asp Ser Pro Leu Leu
1 5

<210> 233
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 233

Gln Tyr Leu Thr Ala Ala Ala Leu His Asn Leu
1 5 10

<210> 234
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 234

Ser Tyr Leu Pro Ala Ile Trp Leu Leu
1 5

<210> 235
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 235

Val Tyr Lys Asp Ser Ile Tyr Tyr Ile
1 5

<210> 236
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 236

Val Tyr Leu Pro Lys Ile Pro Ser Trp
1 5

<210> 237
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 237

Lys Tyr Val Gly Gln Leu Ala Val Leu
1 5

<210> 238
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 238

Ser Tyr Leu Glu Lys Val Arg Gln Leu
1 5

<210> 239
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 239

Val Tyr Ala Ile Phe Arg Ile Leu Leu
1 5

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 240

Tyr Tyr Phe Phe Val Gln Glu Lys Ile
1 5

<210> 241
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 241

Ser Tyr Val Lys Val Leu His His Leu
1 5

<210> 242
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 242

Val Tyr Gly Glu Pro Arg Glu Leu Leu
1 5

<210> 243
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 243

Ser Tyr Leu Glu Leu Ala Asn Thr Leu
1 5

<210> 244
<211> 12

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 244

Val His Phe Glu Asp Thr Gly Lys Thr Leu Leu Phe
1 5 10

<210> 245
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 245

Leu Tyr Pro Gln Leu Phe Val Val Leu
1 5

<210> 246
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 246

Lys Tyr Leu Ser Val Gln Leu Thr Leu
1 5

<210> 247
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 247

Ser Phe Thr Lys Thr Ser Pro Asn Phe
1 5

<210> 248
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 248

Ala Phe Pro Thr Phe Ser Val Gln Leu
1 5

<210> 249
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 249

Arg Tyr His Pro Thr Thr Cys Thr Ile
1 5

<210> 250
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 250

Lys Tyr Pro Asp Ile Ala Ser Pro Thr Phe
1 5 10

<210> 251
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 251

Val Tyr Thr Lys Ala Leu Ser Ser Leu
1 5

<210> 252
<211> 13
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 252

Ala Phe Gly Gln Glu Thr Asn Val Pro Leu Asn Asn Phe
1 5 10

<210> 253
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 253

Ile Tyr Gly Phe Phe Asn Glu Asn Phe
1 5

<210> 254
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 254

Lys Tyr Leu Glu Ser Ser Ala Thr Phe
1 5

<210> 255
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 255

Val Tyr Gln Lys Ile Ile Leu Lys Phe
1 5

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 256

Val Phe Gly Lys Ser Ala Tyr Leu Phe
1 5

<210> 257
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 257

Ile Phe Ile Asp Asn Ser Thr Gln Pro Leu His Phe
1 5 10

<210> 258
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 258

Ala Tyr Ala Gln Leu Gly Tyr Leu Leu
1 5

<210> 259
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 259

Tyr Phe Ile Lys Ser Pro Pro Ser Gln Leu Phe
1 5 10

<210> 260
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 260

Val Tyr Met Asn Val Met Thr Arg Leu
1 5

<210> 261
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 261

Gly Tyr Ile Lys Leu Ile Asn Phe Ile
1 5

<210> 262
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 262

Val Tyr Ser Ser Gln Phe Glu Thr Ile
1 5

<210> 263
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 263

Arg Tyr Ile Leu Glu Asn His Asp Phe
1 5

<210> 264
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 264

Leu Tyr Thr Glu Thr Arg Leu Gln Phe
1 5

<210> 265
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 265

Ser Tyr Leu Asn Glu Ala Phe Ser Phe
1 5

<210> 266
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 266

Lys Tyr Thr Asp Trp Thr Glu Phe Leu
1 5

<210> 267
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 267

Ser Phe Leu Asn Ile Glu Lys Thr Glu Ile Leu Phe
1 5 10

<210> 268
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 268

Ile Phe Ile Thr Lys Ala Leu Gln Ile
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 269

Gln Tyr Pro Tyr Leu Gln Ala Phe Phe
1 5

<210> 270
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 270

Tyr Tyr Ser Gln Glu Ser Lys Val Leu Tyr Leu
1 5 10

<210> 271
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 271

Arg Phe Leu Met Lys Ser Tyr Ser Phe
1 5

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 272

Arg Tyr Val Phe Pro Leu Pro Tyr Leu
1 5

<210> 273

<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 273

Ile Tyr Gly Glu Lys Leu Gln Phe Ile Phe
1 5 10

<210> 274
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 274

Lys Gln Leu Asp Ile Ala Asn Tyr Glu Leu Phe
1 5 10

<210> 275
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 275

Lys Tyr Gly Thr Leu Asp Val Thr Phe
1 5

<210> 276
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 276

Gln Tyr Leu Asp Val Leu His Ala Leu
1 5

<210> 277
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 277

Phe Tyr Thr Phe Pro Phe Gln Gln Leu
1 5

<210> 278
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 278

Lys Tyr Val Asn Leu Val Met Tyr Phe
1 5

<210> 279
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 279

Val Trp Leu Pro Ala Ser Val Leu Phe
1 5

<210> 280
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 280

Thr Tyr Asn Pro Asn Leu Gln Asp Lys Leu
1 5 10

<210> 281
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 281

Asn Tyr Ser Pro Gly Leu Val Ser Leu Ile Leu
1 5 10

<210> 282
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 282

Asn Tyr Leu Val Asp Pro Val Thr Ile

1 5

<210> 283
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 283

Glu Tyr Gln Glu Ile Phe Gln Gln Leu
1 5

<210> 284
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 284

Asp Tyr Leu Lys Asp Pro Val Thr Ile
1 5

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 285

Val Tyr Val Gly Asp Ala Leu Leu His Ala Ile
1 5 10

<210> 286
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 286

Ser Tyr Gly Thr Ile Leu Ser His Ile
1 5

<210> 287
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 287

Ile Tyr Asn Pro Asn Leu Leu Thr Ala Ser Lys Phe
1 5 10

<210> 288
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 288

Val Tyr Pro Asp Thr Val Ala Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 289
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 289

Phe Phe His Glu Gly Gln Tyr Val Phe
1 5

<210> 290
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 290

Lys Tyr Gly Asp Phe Lys Leu Leu Glu Phe
1 5 10

<210> 291
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 291

Tyr Tyr Leu Gly Ser Gly Arg Glu Thr Phe
1 5 10

<210> 292
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 292

Phe Tyr Pro Gln Ile Ile Asn Thr Phe
1 5

<210> 293
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 293

Val Tyr Pro His Phe Ser Thr Thr Asn Leu Ile
1 5 10

<210> 294
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 294

Arg Phe Pro Val Gln Gly Thr Val Thr Phe
1 5 10

<210> 295
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 295

Ser Tyr Leu Val Ile His Glu Arg Ile
1 5

<210> 296
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 296

Ser Tyr Gln Val Ile Phe Gln His Phe
1 5

<210> 297
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 297

Thr Tyr Ile Asp Thr Arg Thr Val Phe
1 5

<210> 298
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 298

Ala Tyr Lys Ser Glu Val Val Tyr Phe
1 5

<210> 299
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 299

Lys Tyr Gln Tyr Val Leu Asn Glu Phe
1 5

<210> 300
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 300

Thr Tyr Pro Ser Gln Leu Pro Ser Leu
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 301

Lys Phe Asp Asp Val Thr Met Leu Phe
1 5

<210> 302
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 302

Leu Tyr Leu Pro Val His Tyr Gly Phe
1 5

<210> 303
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 303

Leu Tyr Ser Val Ile Lys Glu Asp Phe
1 5

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 304

Glu Tyr Asn Glu Val Ala Asn Leu Phe
1 5

<210> 305
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 305

Asn Tyr Glu Asn Lys Gln Tyr Leu Phe
1 5

<210> 306
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 306

Val Tyr Pro Ala Glu Gln Pro Gln Ile
1 5

<210> 307
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 307

Gly Tyr Ala Phe Thr Leu Pro Leu Phe
1 5

<210> 308
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 308

Thr Phe Asp Gly His Gly Val Phe Phe
1 5

<210> 309
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 309

Lys Tyr Tyr Arg Gln Thr Leu Leu Phe
1 5

<210> 310
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 310

Ile Tyr Ala Pro Thr Leu Leu Val Phe
1 5

<210> 311
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 311

Glu Tyr Leu Gln Asn Leu Asn His Ile
1 5

<210> 312
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 312

Ser Tyr Thr Ser Val Leu Ser Arg Leu
1 5

<210> 313
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 313

Lys Tyr Thr His Phe Ile Gln Ser Phe
1 5

<210> 314
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 314

Arg Tyr Phe Lys Gly Asp Tyr Ser Ile
1 5

<210> 315
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 315

Phe Tyr Ile Pro His Val Pro Val Ser Phe
1 5 10

<210> 316
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 316

Val Tyr Phe Glu Gly Ser Asp Phe Lys Phe
1 5 10

<210> 317
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 317

Val Phe Asp Thr Ser Ile Ala Gln Leu Phe
1 5 10

<210> 318
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 318

Thr Tyr Ser Asn Ser Ala Phe Gln Tyr Phe
1 5 10

<210> 319
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 319

Lys Tyr Ser Asp Val Lys Asn Leu Ile
1 5

<210> 320
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 320

Lys Phe Ile Leu Ala Leu Lys Val Leu Phe
1 5 10

<210> 321
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 321

Ser Leu Trp Phe Lys Pro Glu Glu Leu
1 5

<210> 322
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 322

Ala Leu Val Ser Gly Gly Val Ala Gln Ala
1 5 10

<210> 323
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 323

Ile Leu Ser Val Val Asn Ser Gln Leu
1 5

<210> 324
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 324

Ala Ile Phe Asp Phe Cys Pro Ser Val
1 5

<210> 325
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 325

Arg Leu Leu Pro Lys Val Gln Glu Val
1 5

<210> 326

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 326

Ser Leu Leu Pro Leu Val Trp Lys Ile
1 5

<210> 327
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 327

Ser Ile Gly Asp Ile Phe Leu Lys Tyr
1 5

<210> 328
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 328

Ser Val Asp Ser Ala Pro Ala Ala Val
1 5

<210> 329
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 329

Phe Ala Trp Glu Pro Ser Phe Arg Asp Gln Val
1 5 10

<210> 330
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 330

Phe Leu Trp Pro Lys Glu Val Glu Leu
1 5

<210> 331
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 331

Ala Ile Trp Lys Glu Leu Ile Ser Leu
1 5

<210> 332
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 332

Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala Lys
1 5

<210> 333
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 333

Gly Thr Phe Leu Glu Gly Val Ala Lys
1 5

<210> 334
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 334

Gly Arg Ala Asp Ala Leu Arg Val Leu
1 5

<210> 335
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 335

Val Leu Leu Ala Ala Gly Pro Ser Ala Ala

1 5 10

<210> 336
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 336

Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro His Phe Leu
1 5 10

<210> 337
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 337

Lys Val Leu Gly Lys Ile Glu Lys Val
1 5

<210> 338
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 338

Leu Leu Tyr Asp Gly Lys Leu Ser Ser Ala
1 5 10

<210> 339
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 339

Val Leu Gly Pro Gly Pro Pro Pro Leu
1 5

<210> 340
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 340

Ser Val Ala Lys Thr Ile Leu Lys Arg
1 5

<210> 341
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 341

Ser Tyr Leu Thr Gln His Gln Arg Ile
1 5

<210> 342
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 342

Asn Tyr Ala Phe Leu His Arg Thr Leu
1 5

<210> 343
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 343

Asn Tyr Leu Gly Gly Thr Ser Thr Ile
1 5

<210> 344
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 344

Glu Tyr Asn Ser Asp Leu His Gln Phe
1 5

<210> 345
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 345

Glu Tyr Asn Ser Asp Leu His Gln Phe Phe
1 5 10

<210> 346
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 346

Ile Tyr Val Ile Pro Gln Pro His Phe
1 5

<210> 347
<211> 8
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 347

Val Tyr Ala Glu Val Asn Ser Leu
1 5

<210> 348
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 348

Ile Tyr Leu Glu His Thr Glu Ser Ile
1 5

<210> 349
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 349

Gln Tyr Ser Ile Ile Ser Asn Val Phe
1 5

<210> 350
<211> 9

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 350

Lys Tyr Gly Asn Phe Ile Asp Lys Leu
1 5

<210> 351
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 351

Ile Phe His Glu Val Pro Leu Lys Phe
1 5

<210> 352
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 352

Gln Tyr Gly Gly Asp Leu Thr Asn Thr Phe
1 5 10

<210> 353
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 353

Thr Tyr Gly Lys Ile Asp Leu Gly Phe
1 5

<210> 354
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 354

Val Tyr Asn Glu Gln Ile Arg Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 355
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 355

Ile Tyr Val Thr Gly Gly His Leu Phe
1 5

<210> 356
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 356

Asn Tyr Met Pro Gly Gln Leu Thr Ile
1 5

<210> 357
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 357

Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe
1 5

<210> 358
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 358

Tyr Tyr Ser Glu Val Pro Val Lys Leu
1 5

<210> 359
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 359

Asn Tyr Gly Val Leu His Val Thr Phe
1 5

<210> 360
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 360

Val Phe Ser Pro Asp Gly His Leu Phe
1 5

<210> 361
<211> 12
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 361

Thr Tyr Ala Asp Ile Gly Gly Leu Asp Asn Gln Ile
1 5 10

<210> 362
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 362

Val Tyr Asn Tyr Ala Glu Gln Thr Leu
1 5

<210> 363
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 363

Ser Tyr Ala Glu Leu Gly Thr Thr Ile
1 5

<210> 364
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 364

Lys Tyr Leu Asn Glu Asn Gln Leu Ser Gln Leu
1 5 10

<210> 365
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 365

Val Phe Ile Asp His Pro Val His Leu
1 5

<210> 366
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 366

Gln Tyr Leu Glu Leu Ala His Ser Leu
1 5

<210> 367
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 367

Leu Tyr Gln Asp His Met Gln Tyr Ile
1 5

<210> 368
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 368

Lys Tyr Gln Asn Val Lys His Asn Leu
1 5

<210> 369
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 369

Val Tyr Thr His Glu Val Val Thr Leu
1 5

<210> 370
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 370

Arg Phe Ile Gly Ile Pro Asn Gln Phe
1 5

<210> 371
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 371

Ala Tyr Ser His Leu Arg Tyr Val Phe
1 5

<210> 372
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 372

Val Tyr Val Ile Glu Pro His Ser Met Glu Phe
1 5 10

<210> 373
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 373

Gly Tyr Ile Ser Asn Gly Glu Leu Phe
1 5

<210> 374
<211> 9
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 374

Val Phe Leu Pro Arg Val Thr Glu Leu
1 5

<210> 375
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 375

Lys Tyr Thr Asp Tyr Ile Leu Lys Ile
1 5

<210> 376
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 376

Val Tyr Thr Pro Val Ala Ser Arg Gln Ser Leu
1 5 10

<210> 377
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 377

Gln Tyr Thr Pro His Ser His Gln Phe
1 5

<210> 378
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 378

Val Tyr Ile Ala Glu Leu Glu Lys Ile
1 5

<210> 379

<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 379

Val Phe Ile Ala Gln Gly Tyr Thr Leu
1 5

<210> 380
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 380

Val Tyr Thr Gly Ile Asp His His Trp
1 5

<210> 381
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 381

Lys Tyr Pro Ala Ser Ser Ser Val Phe
1 5

<210> 382
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 382

Ala Tyr Leu Pro Pro Leu Gln Gln Val Phe
1 5 10

<210> 383
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 383

Arg Tyr Lys Pro Gly Glu Pro Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 384
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 384

Arg Tyr Phe Asp Val Gly Leu His Asn Phe
1 5 10

<210> 385
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 385

Gln Tyr Ile Glu Glu Leu Gln Lys Phe
1 5

<210> 386
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 386

Thr Phe Ser Asp Val Glu Ala His Phe
1 5

<210> 387
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 387

Lys Tyr Thr Glu Lys Leu Glu Glu Ile
1 5

<210> 388
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 388

Ile Tyr Gly Glu Lys Thr Tyr Ala Phe

1 5

<210> 389
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 389

Glu Tyr Leu Pro Glu Phe Leu His Thr Phe
1 5 10

<210> 390
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 390

Arg Tyr Leu Trp Ala Thr Val Thr Ile
1 5

<210> 391
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 391

Leu Tyr Gln Ile Leu Gln Gly Ile Val Phe
1 5 10

<210> 392
<211> 11
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 392

Arg Tyr Leu Asp Ser Leu Lys Ala Ile Val Phe
1 5 10

<210> 393
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 393

Lys Tyr Ile Glu Ala Ile Gln Trp Ile
1 5

<210> 394
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 394

Phe Tyr Gln Pro Lys Ile Gln Gln Phe
1 5

<210> 395
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 395

Leu Tyr Ile Asn Lys Ala Asn Ile Trp
1 5

<210> 396
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 396

Tyr Tyr His Phe Ile Phe Thr Thr Leu
1 5

<210> 397
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 397

Ile Tyr Asn Gly Lys Leu Phe Asp Leu
1 5

<210> 398
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 398

Ile Tyr Asn Gly Lys Leu Phe Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 399
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 399

Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu Phe
1 5

<210> 400
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 400

Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu
1 5

<210> 401
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 401

Val Phe Met Lys Asp Gly Phe Phe Tyr Phe
1 5 10

<210> 402
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 402

Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 403
<211> 10

<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 403

Thr Tyr Lys Tyr Val Asp Ile Asn Thr Phe
1 5 10

<210> 404
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 404

Arg Tyr Leu Glu Lys Phe Tyr Gly Leu
1 5

<210> 405
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 405

Asn Tyr Pro Lys Ser Ile His Ser Phe
1 5

<210> 406
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 406

Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe
1 5

<210> 407
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 407

Val Tyr Gly Ile Arg Leu Glu His Phe
1 5

<210> 408
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 408

Gln Tyr Ala Ser Arg Phe Val Gln Leu
1 5

<210> 409
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 409

Tyr Phe Ile Ser His Val Leu Ala Phe
1 5

<210> 410
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 410

Arg Phe Leu Ser Gly Ile Ile Asn Phe
1 5

<210> 411
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 411

Val Tyr Ile Gly His Thr Ser Thr Ile
1 5

<210> 412
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 412

Ser Tyr Asn Pro Leu Trp Leu Arg Ile
1 5

<210> 413
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 413

Asn Tyr Leu Leu Tyr Val Ser Asn Phe
1 5

<210> 414
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 414

Met Tyr Pro Tyr Ile Tyr His Val Leu
1 5

<210> 415
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 415

Ser Tyr Gln Lys Val Ile Glu Leu Phe
1 5

<210> 416
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 416

Ala Tyr Ser Asp Gly His Phe Leu Phe
1 5

<210> 417
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 417

Val Tyr Lys Val Val Gly Asn Leu Leu
1 5

<210> 418
<211> 10
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 418

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val
1 5 10

<210> 419
<211> 9
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 419

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5