

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202191013** (13) **A2**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2021.08.31**

(51) Int. Cl. *C07K 14/47* (2006.01)  
*A61K 39/00* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2016.06.17**

---

(54) **НОВЫЕ ПЕПТИДЫ И КОМБИНАЦИИ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ИММУНОТЕРАПИИ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КАРКАСОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ДРУГИХ ВИДОВ РАКА**

---

(31) **1510771.7; 62/182,026**

(32) **2015.06.19**

(33) **GB; US**

(62) **201792531; 2016.06.17**

(71) Заявитель:  
**ИММАТИКС БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ  
ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:

**Мар Андреа, Вайншенк Тони,  
Шор Оливер, Фритше Йенс, Сингх  
Харпреет (DE)**

(74) Представитель:

**Костюшенкова М.Ю., Угрюмов В.М.,  
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М.,  
Джермакян Р.В., Парамонова К.В.,  
Строкова О.В., Христофоров А.А.  
(RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к пептидам, белкам, нуклеиновым кислотам и клеткам для применения в иммунотерапевтических методах. В частности, настоящее изобретение относится к иммунотерапии рака. Настоящее изобретение относится далее к опухолиассоциированным пептидным эпитопам Т-клеток, в отдельности или в комбинации с другими опухолиассоциированными пептидами, которые могут, например, служить в качестве активных фармацевтических ингредиентов вакцинных композиций, стимулирующих противоопухолевые иммунные ответы, или стимулировать Т-клетки *ex vivo* с их перенесением в организм пациента. Пептиды, связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), или пептиды в отдельности могут быть также мишенями антител, растворимых Т-клеточных рецепторов и других связывающих молекул.

**A2**

**202191013**

**202191013**

**A2**

## **Новые пептиды и комбинации пептидов для применения в иммунотерапии и способы получения каркасов для применения при лечении рака поджелудочной железы и других видов рака**

Настоящее изобретение относится к пептидам, белкам, нуклеиновым кислотам и клеткам для применения в иммунотерапевтических методах. В частности, настоящее изобретение относится к иммунотерапии рака. Настоящее изобретение относится далее к опухолеассоциированным пептидным эпитопам Т-клеток, в отдельности или в комбинации с другими опухолеассоциированными пептидами, которые могут, например, служить в качестве активных фармацевтических ингредиентов вакцинных композиций, стимулирующих противоопухолевые иммунные ответы, или стимулировать Т-клетки *ex vivo* с их перенесением в организм пациента. Пептиды, связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), или пептиды в отдельности могут быть также мишенями антител, растворимых Т-клеточных рецепторов и других связывающих молекул.

Настоящее изобретение относится к нескольким новым пептидным последовательностям и их вариантам, образованным из молекул HLA I класса человеческих опухолевых клеток, которые могут быть использованы в вакцинных композициях для вызывания противоопухолевых иммунных ответов или в качестве мишеней для разработки фармацевтически/иммунологически активных соединений и клеток.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Рак поджелудочной железы является одним из наиболее агрессивных видов и смертельно опасных видов рака в мире. В 2012 г. он занимал 12-ое место среди наиболее распространенных раковых заболеваний у мужчин, насчитывая 178 000 случаев заболевания, и 11-ое место среди наиболее распространенных раковых заболеваний у женщин, насчитывая 160 000 случаев заболевания в мире. В том же году сообщалось о 330 000 смертей, позволяя раку поджелудочной железы занять седьмое место среди наиболее частых причин смерти от рака (World Cancer Report, 2014).

Рак поджелудочной железы – это не один тип заболевания, в ней можно выделить несколько различных подтипов. На долю экзокринных опухолей приходится примерно 95% всех случаев заболевания раком поджелудочной железы и сюда входят протоковые и ацинарные аденокарциномы, интрадуктальные папиллярные муцинозные опухоли (IPMN), солидные псевдопапиллярные опухоли, муцинозные кистозные аденомы и серозные цистаденомы. Оставшиеся 5% всех случаев рака поджелудочной железы относятся к подгруппе нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (World Cancer Report, 2014).

Протоковая инфильтрующая аденокарцинома представляет собой наиболее агрессивную форму рака поджелудочной железы и в связи с ее высокой частотой встречаемости (90% всех видов рака поджелудочной железы) в эпидемиологических данных, в основном, отражен этот конкретный подвид (World Cancer Report, 2014).

В 2012 г. 68% всех новых случаев заболевания приходилось на развитые страны с наиболее высоким уровнем заболеваемости в Центральной и Восточной Европе, Северной Америке, Аргентине, Уругвае и Австралии. Напротив, низкий уровень заболеваемости приходится на страны Африки и Восточной Азии. Рассмотрение уровня заболеваемости в течение времени во всем мире демонстрирует достаточную стабильность для обоих полов (World Cancer Report, 2014).

В связи с отсутствием специфических симптомов рак поджелудочной железы обычно диагностируют на поздних стадиях, и часто уже присутствуют метастазы. Прогноз при постановке диагноза крайне неблагоприятный; уровень 5-летней выживаемости составляет 5%, и соотношение смертности и заболеваемости равно 0,98 (World Cancer Report, 2014).

Сообщалось о нескольких факторах, повышающих риск развития рака поджелудочной железы, включая пожилой возраст, поскольку большинство пациентов старше 65 лет в момент постановки диагноза, и расовую принадлежность, поскольку в США у чернокожего населения риск возникновения заболевания в 1,5 раза выше, чем у белого населения. Другими факторами риска являются табакокурение, ожирение, диабет, группа крови не 0 по системе АВ0,

панкреатит и случаи заболевания раком поджелудочной железы в семье (World Cancer Report, 2014).

Считается, что вплоть до 10% всех случаев рака поджелудочной железы связаны с семейной наследственностью. Мутации зародышевой линии следующих генов ассоциируются с повышенным риском развития рака поджелудочной железы: p16/CDKN2A, BRCA2, PALB2, PRSS1, STK11, ATM и гены репарации ошибочно спаренных нуклеотидов. Кроме того, случаи спорадического рака поджелудочной железы также характеризуются мутациями различных онкогенов и генов-супрессоров опухоли. Наиболее распространенные мутации при протоковой аденокарциноме наблюдаются в онкогенах KRAS (95%) и AIB1 (вплоть до 60%) и генах-супрессорах опухоли TP53 (75%), p16/CDKN2A (95%) и SMAD4 (55%) (World Cancer Report, 2014).

Существует крайне мало вариантов лечения пациентов с раком поджелудочной железы. Одной существенной проблемой для эффективности лечения обычно является поздняя стадия опухоли при постановке диагноза. Кроме того, рак поджелудочной железы достаточно резистентен к химиотерапевтическим препаратам, что может быть вызвано плотностью и гиповаскуляризацией десмопластической стромы опухоли.

Согласно руководству, опубликованному Германским обществом по борьбе с раком, Германским благотворительным фондом помощи онкологическим больным (Deutsche Krebshilfe e.V) и Федеральной медицинской ассоциацией Германии, резекция опухоли является единственным имеющимся вариантом радикального лечения. Резекция рекомендуется, если опухоль ограничена поджелудочной железой, или если метастазы имеются только в смежных органах. Резекция не рекомендуется, если имеются отдаленные метастазы опухоли. За резекцией следует адъювантная химиотерапия препаратами гемцитабин или 5-флуороурацил +/- лейковорин в течение шести месяцев (S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013).

Пациенты с неоперабельными опухолями на поздних стадиях могут получать лечение комбинацией химиотерапии и лучевой химиотерапии (S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013).

Стандартная схема лечения при паллиативной химиотерапии – применение гемцитабина либо как монотерапии, либо в комбинации с эрлотинибом, ингибитором тирозинкиназной активности рецептора EGF. Альтернативными вариантами являются комбинация 5-фторурацила, лейковорина, иринотекана и оксалиплатина, известная также как протокол FOLFIRINOX, или гемцитабин в комбинации с наб-паклитакселом, которая, как было показано, давала лучшие результаты, чем монотерапия гемцитабином в рамках исследования MPACT (Von Hoff et al., 2013; S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013).

Высокое соотношение смертности к заболеваемости отражает острую необходимость внедрения более эффективных стратегий лечения рака поджелудочной железы.

Таргетные виды терапии, эффективность которых уже была продемонстрирована для нескольких других видов рака, представляют собой интересный вариант. Исходя из этого, было проведено несколько клинических исследований для оценки пользы таргетных видов терапии при раке поджелудочной железы на поздних стадиях, к сожалению, они имели крайне ограниченный успех (Walker and Ko, 2014). Тем не менее, генетическое разнообразие рака поджелудочной железы может открыть возможность для проведения персонализированной терапии, так как инвазивная протоковая аденокарцинома с биаллельной инактивацией BRCA2 или PALB2, как было показано, более чувствительна к лечению ингибиторами поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и митомицином С (World Cancer Report, 2014).

Целенаправленное воздействие на строму опухоли представляет собой альтернативный подход для разработок новых способов лечения рака поджелудочной железы. Типичное уплотнение и гиповаскуляризация стромы, возможно, действует как барьер для химиотерапевтических препаратов и, как было показано, испускает сигналы, стимулирующие пролиферацию, инвазию опухоли и сохранение раковых стволовых клеток. Таким образом, дизайн различных доклинических и клинических исследований был направлен на анализ эффективности истощения и инактивации стромы (Rucki and Zheng, 2014).

Сейчас проводятся исследования вакцинационных стратегий в качестве дальнейшей инновационной и многообещающей альтернативы для лечения рака поджелудочной железы. Вакцины на основе пептидов, мишенью которых являются мутации KRAS, активная теломераза, гастрин, сурвивин, СЕА и MUC1, уже прошли оценку в клинических исследованиях, показав отчасти многообещающие результаты. Кроме того, клинические исследования вакцин на основе дендритных клеток, аллогенных ГМ-КСФ-секретирующих вакцин и препарата альгенпантусель-Л у пациентов с раком поджелудочной железы выявили положительное влияние иммунотерапии. Сейчас ведутся дополнительные клинические исследования, изучающие далее эффективность различных протоколов вакцинации (Salman et al., 2013).

Принимая во внимание серьезные побочные эффекты и высокие расходы, связанные с лечением рака, существует необходимость идентифицировать факторы, которые могут быть использованы для лечения рака вообще и рака поджелудочной железы в частности. Также существует необходимость идентифицировать факторы, представляющие собой биомаркеры рака в целом и рака поджелудочной железы в частности, что позволит лучше ставить диагноз, составлять прогноз и предсказывать успех лечения.

Иммунотерапия рака представляет собой вариант специфического воздействия на раковые клетки при снижении до минимума побочных эффектов. В иммунотерапии рака находит применение существование опухолеассоциированных антигенов.

Актуальная классификация опухолеассоциированных антигенов (ТАА) включает следующие основные группы:

а) Раково-тестикулярные антигены: первые в истории идентифицированные ТАА, которые могут распознаваться Т-клетками, принадлежат к этому классу, называвшемуся первоначально «раково-тестикулярные антигены» (СТ), так как его члены экспрессируются в отличных по гистологической структуре опухолях человека, а среди нормальных тканей – только в сперматоцитах/сперматогониях семенника и изредка в плаценте. Так как клетки семенника не экспрессируют молекулы HLA I и II класса, то эти антигены не могут быть распознаны Т-клетками в нормальных тканях и, поэтому, могут рассматриваться как иммунологически

опухолеспецифические. Хорошо известными примерами антигенов СТ являются члены семейства MAGE и NY-ESO-1.

б) Антигены дифференциации: Данные ТАА встречаются в опухолевых и нормальных тканях, из которых образуется опухоль. Большинство из известных антигенов дифференциации обнаружено в меланомах и нормальных меланоцитах. Многие из этих линиеспецифических белков меланоцитов участвуют в биосинтезе меланина и поэтому не являются опухолеспецифическими, однако, несмотря на это, они широко применяются в противораковой терапии. Примеры включают, но не ограничиваются, тирозиназой и Melan-A/MART-1 для меланомы или ПСА для рака предстательной железы.

в) Избыточно экспрессируемые ТАА: гены, кодирующие широко экспрессированные ТАА, были обнаружены в различных по гистологической структуре опухолях, а также во многих нормальных тканях, в основном, с более низким уровнем экспрессии. Возможно, что многие эпитопы, процессируемые и потенциально презентруемые нормальными тканями, находятся ниже порогового уровня для распознавания Т-клетками, в то время как их избыточная экспрессия в опухолевых клетках может инициировать противораковый ответ, нарушая установившуюся ранее толерантность. Известными примерами ТАА этого класса являются Her-2/neu, сурвивин, теломераза или WT1.

г) Опухолеспецифические антигены: данные уникальные ТАА образуются в результате мутаций нормальных генов (таких как  $\beta$ -катенин, CDK4 и т. д.). Некоторые из этих молекулярных изменений ассоциированы с неопластической трансформацией и/или прогрессией. Опухолеспецифические антигены, в основном, способны индуцировать сильные иммунные ответы, не заключая в себе риска аутоиммунных реакций по отношению к нормальным тканям. С другой стороны, данные ТАА в большинстве случаев релевантны только для определенной опухоли, на которой они были идентифицированы, и обычно не являются общими для многих отдельных опухолей. Опухолевая специфичность (или ассоциация) пептида может также возникнуть, если пептид образован из опухолевого (опухоль-ассоциированного) экзона в случае белков с опухоль-специфическими (-ассоциированными) изоформами.

д) ТАА, образующиеся в результате аномальных пост-трансляционных модификаций: такие ТАА могут образоваться из белков, которые не являются ни специфическими, ни избыточно экспрессируемыми в опухолях, однако, несмотря на это, становятся опухолеассоциированными в ходе пост-трансляционных

процессов, происходящих преимущественно в опухолях. Примеры для этого класса возникают в результате изменения характера гликозилирования, приводящему к появлению новых эпитопов в опухолях, как в случае MUC1, или при таких событиях как белковый сплайсинг во время деградации, которые могут быть опухолеспецифическими или могут не быть ими.

е) Онковирусные белки: данные ТАА являются вирусными белками и могут играть ведущую роль в онкогенном процессе, и, так как они являются чужеродными (не человеческого происхождения), они могут провоцировать Т-клеточный ответ. Примерами таких белков являются вирусные белки человеческой папилломы типа 16, Е6 и Е7, которые экспрессированы в карциноме шейки матки.

Мишенями иммунотерапии, основанной на Т-клетках, являются пептидные эпитопы, полученные из опухолеассоциированных или опухолеспецифических белков, которые презентуются молекулами главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) (МНС). Антигены, которые распознаются опухолеспецифическими Т-лимфоцитами, то есть их эпитопами, могут быть молекулами, образованными из любого класса белков, таких как ферменты, рецепторы, факторы транскрипции и т. д., которые экспрессируются и, по сравнению с не измененными клетками того же происхождения, обычно имеют повышенный уровень в клетках соответствующей опухоли.

Существуют два класса молекул МНС, МНС I класса и МНС II класса. Молекулы МНС I класса состоят из альфа-тяжелой цепи и бета-2-микроглобулина, молекулы МНС II класса – из альфа- и бета-цепи. Их трехмерная форма образует связывающую бороздку, которая используется для нековалентного взаимодействия с пептидами.

Молекулы МНС I класса встречаются на большинстве клеток, имеющих ядро. Они презентуют пептиды, образующиеся при протеолитическом расщеплении преимущественно эндогенных белков, дефектных рибосомных продуктов (DRIP) и более крупных пептидов. Однако пептиды, образованные из эндосомальных компартментов или экзогенных источников, также часто встречаются на молекулах МНС I класса. Этот неклассический способ презентации I классом в литературе называется кросс-презентацией. (Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990). Молекулы МНС II класса могут встречаться преимущественно на профессиональных антигенпрезентирующих клетках (АПК) и, в первую очередь,

презентировать пептиды экзогенных или трансмембранных белков, которые поглощаются АПК, например, во время эндоцитоза и впоследствии процессируются.

Комплексы пептида и молекул МНС I класса распознаются CD8-положительными Т-клетками, несущими подходящий Т-клеточный рецептор (ТКР), тогда как комплексы пептида и молекул МНС II класса распознаются CD4-положительными хелперными Т-клетками, несущими подходящий ТКР. Хорошо известно, что ТКР, пептид и МНС встречаются в стехиометрическом соотношении 1:1:1.

CD4-положительные хелперные Т-клетки играют важную роль в индуцировании и поддержании эффективных ответов CD8-положительных цитотоксических Т-клеток. Идентификация CD4-положительных Т-клеточных эпитопов, образованных из опухолеассоциированных антигенов (ТАА), может быть чрезвычайно важна для разработки фармацевтических препаратов для инициации противоопухолевых иммунных ответов (Gnjatic et al., 2003). В месте локализации опухоли Т-хелперные клетки поддерживают благоприятное для ЦТЛ цитокиновое окружение (Mortara et al., 2006) и привлекают эффекторные клетки, к примеру, ЦТЛ, естественные киллерные клетки (НК), макрофаги, гранулоциты (Hwang et al., 2007).

При отсутствии воспаления экспрессия молекул МНС II класса преимущественно ограничена клетками иммунной системы, в особенности профессиональными антигенпрезентирующими клетками (АПК), например, моноцитами, образованными из моноцитов клетками, макрофагами, дендритными клетками. Было обнаружено, что опухолевые клетки больных раком пациентов экспрессируют молекулы МНС II класса (Dengjel et al., 2006).

Удлиненные пептиды по изобретению могут выступать в качестве активных эпитопов МНС II класса.

Т-хелперные клетки, активированные эпитопами МНС II класса, играют важную роль в управлении эффекторной функцией ЦТЛ в противоопухолевом иммунитете. Эпитопы Т-хелперных клеток, иницирующие ответы Т-хелперных клеток типа TH1, поддерживают эффекторные функции CD8-положительных киллерных Т-клеток, которые включают цитотоксические функции, направленные против опухолевых клеток, проявляющих комплексы опухолеассоциированный пептид / МНС на их

клеточной поверхности. Таким образом, опухолеассоциированные пептидные эпитопы Т-хелперных клеток, одни или в комбинации с другими опухолеассоциированными пептидами, могут служить в качестве активных фармацевтических ингредиентов вакцинных композиций, которые стимулируют противоопухолевые иммунные ответы.

На моделях млекопитающих животных, например, мышах, было показано, что даже при отсутствии CD8-положительных Т-лимфоцитов, CD4-положительных Т-клеток достаточно для ослабления клинических проявлений опухолей посредством ингибирования ангиогенеза при секреции интерферон-гамма (ИНФ-гамма). (Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999). Существуют доказательства того, что CD4 Т-клетки являются эффекторными клетками прямого противоопухолевого действия (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014).

Так как конститутивная экспрессия молекул HLA II класса обычно ограничена иммунными клетками, то выделение пептидов II класса непосредственно из первичных опухолей ранее считалось невозможным. Тем не менее, Dengjel с соавторами удалось идентифицировать ряд эпитопов MHC II класса непосредственно из опухолей (WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1).

Так как оба вида ответов, зависящие от CD8 и от CD4, вносят свой вклад в противоопухолевый эффект сообща и синергически, то идентификация и характеристика опухолеассоциированных антигенов, распознаваемых как CD8+ Т-клетками (лиганд: молекула MHC I класса + пептидный эпитоп), так и CD4-положительными хелперными Т-клетками (лиганд: молекула MHC II класса + пептидный эпитоп) являются важными при разработке противоопухолевых вакцин.

Для того чтобы пептид MHC I класса инициировал (вызывал) клеточный иммунный ответ, он также должен связываться с молекулой MHC. Этот процесс зависит от аллеля молекулы MHC и специфических полиморфизмов аминокислотной последовательности пептида. Пептиды, связывающиеся с MHC I класса, как правило, имеют 8-12 аминокислотных остатков в длину и обычно содержат два консервативных остатка («якори») в их последовательности, которые взаимодействуют с соответствующей связывающей бороздкой молекулы MHC.

Таким образом, каждый аллель МНС имеет «связывающий мотив», определяющий, какие пептиды могут специфически связываться со связывающей бороздкой.

В зависящей от МНС I класса иммунной реакции пептиды не только должны быть в состоянии связываться с конкретными молекулами МНС I класса, экспрессируемыми опухолевыми клетками, но они также должны затем распознаваться Т-клетками, несущими специфические Т-клеточные рецепторы (ТКР).

Для того чтобы белки были распознаны Т-лимфоцитами в качестве опухолеспецифических или –ассоциированных антигенов, и чтобы они могли использоваться в терапии, должны выполняться особые предварительные требования. Антиген должен экспрессироваться преимущественно опухолевыми клетками и не экспрессироваться или экспрессироваться в сравнительно малом количестве здоровыми тканями. В предпочтительном варианте осуществления пептид должен избыточно презентироваться опухолевыми клетками по сравнению с нормальными здоровыми тканями. Кроме того, желательно, чтобы соответствующий антиген не только присутствовал в каком-либо виде опухоли, но и также имел высокую концентрацию (т. е. несколько копий соответствующего пептида на клетку). Опухолеспецифические и опухолеассоциированные антигены часто образованы из белков, напрямую задействованных в трансформации нормальной клетки в опухолевую, в связи с их функцией, например, при контроле клеточного цикла или подавлении апоптоза. Кроме того, нисходящие мишени белков, напрямую являющихся причиной трансформации, могут быть представлены в повышенном количестве и, таким образом, быть косвенно опухолеассоциированными. Такие косвенно опухолеассоциированные антигены могут также быть мишенями вакцинационного подхода (Singh-Jasuja et al., 2004). Необходимо, чтобы эпитопы присутствовали в аминокислотной последовательности антигена, чтобы гарантировать, что такой пептид («иммуногенный пептид»), образованный из опухолеассоциированного антигена, ведет *in vitro* или *in vivo* к Т-клеточному ответу.

В сущности, любой пептид, способный связываться с молекулой МНС может выполнять функцию Т-клеточного эпитопа. Предварительным условием для индукции Т-клеточного ответа *in vitro* или *in vivo* является присутствие Т-клетки с

соответствующим ТКР и отсутствие иммунологической толерантности к данному конкретному эпитопу.

Поэтому антигены ТАА являются отправной точкой для разработки терапии на основе Т-клеток, включающей противоопухолевые вакцины, но не ограничивающейся ими. Методы идентификации и определения характеристики ТАА обычно основаны на использовании Т-клеток, которые могут быть выделены из организма пациентов или здоровых субъектов, или же они могут быть основаны на генерировании различающихся транскрипционных профилей или различающихся паттернов экспрессии пептидов между опухолевыми и нормальными тканями. Однако идентификация генов, избыточно экспрессированных в опухолевых тканях или человеческих опухолевых клеточных линиях или же селективно экспрессированных в таких тканях или клеточных линиях, не дает точной информации об использовании антигенов, транскрибированных с данных генов, в иммунотерапии. Это обусловлено тем, что только отдельная субпопуляция эпитопов этих антигенов подходит для такого применения, так как Т-клетка с соответствующим ТКР должна быть в наличии, и необходимо, чтобы отсутствовала или была минимальной иммунологическая толерантность к этому конкретному эпитопу. Поэтому в наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения важно выбрать только те пептиды, презентруемые в избытке или селективно, против которых может быть обнаружена функциональная и/или пролиферирующая Т-клетка. Такая функциональная Т-клетка определяется как Т-клетка, которая при стимуляции специфическим антигеном может быть распространена посредством клонирования и способна к выполнению эффекторных функций («эффекторная Т-клетка»).

В случае нацеливания на комплексы пептида с МНС специфических ТКР (например, растворимых ТКР) и антител или других связывающихся с ними молекул (каркасов) в соответствии с изобретением иммуногенность лежащих в основе пептидов является второстепенной. В таких случаях презентация является определяющим фактором.

#### **КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

В первом аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, включающему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, или его варианту, который по меньшей мере на 77%, предпочтительно, по меньшей мере на 88% гомологичен (предпочтительно, по меньшей мере на 77% или по меньшей мере на 88% идентичен) последовательности с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, где указанный вариант связывается с МНС и/или индуцирует Т-клеточную перекрестную реакцию с указанным пептидом, или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный пептид не является базовым полипептидом полной длины.

Настоящее изобретение относится далее к пептиду по настоящему изобретению, включающему последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO 161, или его варианту, который по меньшей мере на 77%, предпочтительно, по меньшей мере на 88% гомологичен (предпочтительно, по меньшей мере на 77% или по меньшей мере на 88% идентичен) последовательности с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO 161, где указанный пептид или его вариант обладает общей длиной, составляющей 8 – 100, предпочтительно 8 – 30 и, наиболее предпочтительно, 8 – 14 аминокислот.

В последующих таблицах представлены пептиды в соответствии с настоящим изобретением, соответствующие им SEQ ID NO и потенциальные исходные (лежащие в основе) гены для данных пептидов. Все пептиды Таблицы 1 и 2 связываются с HLA-A\*02. Пептиды из Таблицы 2 были раскрыты ранее в виде обширных списков в качестве результатов скрининга с высокой пропускной способностью с высокой долей ошибок или были вычислены с помощью алгоритмов, однако ранее ни в коей мере не были ассоциированы с раковыми заболеваниями. Пептиды из Таблицы 3 являются дополнительными пептидами, которые могут быть полезны в комбинации с другими пептидами по изобретению. Пептиды Таблицы 4 полезны также для диагностики и/или лечения различных других злокачественных заболеваний, которые включают избыточную экспрессию или избыточную презентацию соответствующего базового полипептида.

**Таблица 1: Пептиды в соответствии с настоящим изобретением**

SEQ ID NO.	Последовательность	Ид. № гена	Официальный(ые) символ(ы) гена
1	FVDTRTLL	1278	COL1A2
2	FGYDGDIFYRA	1278	COL1A2
3	ILIGETIKI	5742,5743	PTGS1, PTGS2
4	ALDPAAQAFLL	84919	PPP1R15B
5	ALLTGIISKA	23165	NUP205

6	ALTGIPLPLI	1017	CDK2
7	ALVDIVRSL	3995	FADS3
8	ALYTGSAIDFV	1293	COL6A3
9	QIIDAINKV	1293	COL6A3
10	VLLDKIKNL	1293	COL6A3
11	ALYYNPHLL	10527	IPO7
12	AQYKFVYQV	5784	PTPN14
13	FIDSSNPGL	92126	DSEL
14	FIIDNPQDLKV	5362	PLXNA2
15	FILANEHNV	3843	IPO5
16	GLIDYDTGI	667	DST
17	GLIDYDTGIRL	667	DST
18	ALFVRLAL	7045	TGFBI
19	ALWHDAENQTVV	23279	NUP160
20	GLIDIENPNRV	11333	PDAP1
21	GLVDGRDLVIV	9943	OXSR1
22	ILSTEIFGV	79703	C11orf80
23	KLDSSGGAVQL	23677	SH3BP4
24	KLSENAGIQSL	26064	RAI14
25	LINPNIATV	790	CAD
26	SLYTALTEA	4124	MAN2A1
27	TLLAHPVTL	27063	ANKRD1
28	VLDEFYSSL	11321	GPN1
29	YILPFSEVL	2132	EXT2
30	YIYKDTIQV	346389	MACC1
31	YLDSMYIML	8754	ADAM9
32	YVDDGLISL	5315	PKM
33	FLADPDTVNHL	57231	SNX14
34	FLEDDDIAAV	9945	GFPT2
35	FLFPSQYVDV	9871	SEC24D
36	FLGDLSHLL	10945	KDELR1
37	FLNPDEVHAI	81610	FAM83D
38	FLTEAALGDA	7980	TFPI2
39	FLTPSIFII	79971	WLS
40	GLAPQIHDL	128239	IQGAP3
41	GLLAGNEKLTM	3880	KRT19
42	ILSDMRSQYEV	3880	KRT19
43	HLGVKVFVS	1291	COL6A1
44	ILAQVGFSV	55117	SLC6A15
45	ILYSDDGQKWTV	131566	DCBLD2
46	TMVEHNYYV	131566	DCBLD2
47	LIYKDLVSV	85016	C11orf70
48	LLDENGVLKL	1022	CDK7
49	LLDGFPRTV	204	AK2
50	LLFGSDGYV	10897	YIF1A
51	LLGPAGARA	255738	PCSK9
52	LLSDPIPEV	57521	RPTOR
53	LLWDPSTGKQV	54475	NLE1
54	LTQPGPIASA	6374	CXCL5
55	NLAPAPLNA	7035	TFPI
56	NLIGVTAEL	80210	ARMC9
57	RLSELGITQA	79801	SHCBP1
58	RQYPWGVVQV	151011,23176,55752	SEPT10, SEPT8, SEPT11

59	SLSEFFMV	54434	SSH1
60	SLWEDYPHV	9697	TRAM2
61	SMYDGLLQA	51393	TRPV2
62	SVFPGARLL	10498	CARM1
63	SVTGIIVGV	57722	IGDCC4
64	TLFSEPKFAQV	84886	C1orf198
65	TLNEKLTAL	55845	BRK1
66	TVDDPYATFV	1072	CFL1
67	VIWGTDVNV	4173	MCM4
68	VLFDVTGQV	9961	MVP
69	VLFSGSLRL	115908	CTHRC1
70	VLGVIWGV	100527943,55969	TGIF2-C20orf24, C20orf24
71	VLLPEGGITAI	9904	RBM19
72	VMA SPGGLSAV	54443	ANLN
73	VMVDGKPVNL	5879,5881	RAC1, RAC3
74	YIDKDLEYV	29102	DROSHA
75	FSFVDLRL	1277	COL1A1
76	LVSESSDVLPK	100129958,3856	KRT8P44, KRT8
77	RLFPGSSFL	90993	CREB3L1
78	SLQDTEEKSR	2641	GCG
79	VVYEGQLISI	2335	FN1
80	LLPGTEYVSV	2335	FN1
81	VVYDDSTGLIRL	2898,2899	GRIK2, GRIK3
82	ALIAEGIAL	1778	DYNC1H1
83	ALSKEIYVI	515	ATP5F1
84	FILPIGATV	6509,6510	SLC1A4, SLC1A5
85	FLSDGTIISV	84916	CIRH1A
86	GLGDFIFYSV	5663,5664	PSEN1, PSEN2
87	GLLPALVAL	113278	SLC52A3
88	IIDDTIFNL	257641,4864	NPC1
89	KLADIQIEQL	5201	PFDN1
90	KLLTPITTL	1293	COL6A3
91	LLFNDVQTL	5339	PLEC
92	YLTNEGIAHL	5339	PLEC
93	SIDSEPALV	23420,283820, 408050	NOMO1, NOMO2, NOMO3
94	VMMEEFVQL	9875	URB1
95	ALADDDFLT	4173	MCM4
96	ALAPATGGGSLLL	80830	APOL6
97	ALDDMISTL	7203	CCT3
98	ALDQKVRVSV	4130	MAP1A
99	ALESFLKQV	5591	PRKDC
100	ALFGAGPASI	1806	DPYD
101	ALVEENGIFEL	11187	PKP3
102	ALYPGTDYTV	64420	SUSD1
103	AVAAVLTQV	10280	SIGMAR1
104	FLQPDLDSL	10514	MYBBP1A
105	FLSEVFHQA	5055	SERPINB2
106	FVWSGTAEA	23326	USP22
107	FVYGGPQVQL	91039	DPP9
108	IADGGFTEL	1107,1108,26038	CHD3, CHD4, CHD5
109	ILASVILNV	644538	SMIM10

110	ILLTGTPAL	84083	ZRANB3
111	LLLAAARLAAA	2923	PDIA3
112	LLSDVRFVL	53339	BTBD1
113	LMMSEDRISL	9945	GFPT2
114	SLFPHNPQFI	80135	RPF1
115	SLMDPNKFLLL	197131	UBR1
116	SMMDPNHFL	23304	UBR2
117	SVDGVIKEV	10577	NPC2
118	TLWYRPPPEL	100422910,1025, 51755,8621	MIR2861, CDK9, CDK12, CDK13
119	VLGDDPQLMKV	10629	TAF6L
120	VLVNDFFLV	3646	EIF3E
121	YLDEDTIYHL	4144	MAT2A

**Таблица 2: Дополнительные пептиды в соответствии с настоящим изобретением, ассоциация которых с раком не была известна ранее**

SEQ ID NO.	Последовательность	Ид. № гена	Официальный(ые) символ(ы) гена
122	MQAPRAALVFA	201799	TMEM154
123	KISTITPQI	996	CDC27
124	ALFEESGLIRI	1951,65010	CELSR3, SLC26A6
125	ALLGKLDAINV	5876	RABGGTB
126	ALLSLDPAAV	5591	PRKDC
127	ALSDDLALHFL	10575	CCT4
128	ALYDVRTILL	11065	UBE2C
129	ALYEKDNTYL	80279	CDK5RAP3
130	FLFGEEPSKL	23141	ANKLE2
131	FLIEEQKIVV	6164	RPL34
132	FLWAGGRASYGV	3192	HNRNPU
133	ILDDVSLTHL	5245	PHB
134	ILLAEGRLVNL	191	AHCY
135	KLDDTYIKA	7266	DNAJC7
136	KLFPGFETV	440	ASNS
137	KLGPEGELL	6510	SLC1A5
138	NIFPNPEATFV	11198	SUPT16H
139	SIDRNPPQL	6773	STAT2
140	SLLNPPETLNL	890	CCNA2
141	SLTEQVHSL	79598	CEP97
142	SLYGYLRGA	9790	BMS1
143	TADPLDYRL	4928	NUP98
144	TAVALLRLL	9761	MLEC
145	TTFPRPVTV	4841	NONO
146	VLISGWVHEI	51360	MBTPS2
147	YAFPKAVSV	9123	SLC16A3
148	YLHNQGIGV	701	BUB1B
149	ILGTEDLIVEV	79719	AAGAB
150	ALFQPHLINV	10097	ACTR2
151	ALLDIIRSL	9415	FADS2
152	ALLEPEFILKA	7011	TEP1
153	ALPKEDPTAV	22820	COPG1
154	KVADLVLMML	399761,642517,9790	BMS1P5, AGAP9, BMS1
155	LLLDPDTAVLKL	2932	GSK3B
156	LLLPPPPCPA	2519	FUCA2
157	MLLEIPYMAA	728689,8663	EIF3CL, EIF3C

158	SLIEKYFSV	3838,645680	KPNA2
159	SLLDLHTKV	27340	UTP20
160	VLLPDERTISL	1477	CSTF1
161	YLPDIKDKQA	5496	PPM1G

**Таблица 3: Пептиды, полезные, например, для персонализированной противораковой терапии**

SEQ ID NO.	Последовательность	Ид. № гена	Официальный(ые) символ(ы) гена
162	NADPQAVTM	10916	MAGED2
163	VMAPRTLVL	100507703,3105	HLA-A
164	YLGRLAHEV	23521,387841, 728658	RPL13A, RPL13AP20, RPL13AP5
165	YLLSYIQSI	64151	NCAPG
166	SLFPGQVVI	23649	POLA2
167	MLFGHPLLVS	8237	USP11
168	SEWGSPPHAAVP	5539	PPY
169	FMLPDPQNI	116461	TSEN15
170	ILAPAGSLPKI	29914	UBIAD1
171	LLLDVTPLSL	100287551,3306, 3312,3313	HSPA8P8, HSPA2, HSPA8, HSPA9
172	TMMSRPPVL	57708,79971	MIER1, WLS
173	SLAGDVALQQL	9918	NCAPD2
174	TLDPRSFL	2149	F2R
175	ALLESSLRQA	595	CCND1
176	YLMPGFIHL	168400,55510	DDX53, DDX43
177	SLYKGLLSV	25788	RAD54B
178	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3

Настоящее изобретение относится далее в общем к применению пептидов в соответствии с настоящим изобретением для лечения пролиферативных заболеваний, таких как, например, рак легких, рак почек, рак головного мозга, рак желудка, рак толстой или прямой кишки, рак печени, рак предстательной железы, лейкоз, рак молочной железы, карцинома клеток Меркеля (ККМ), меланома, рак яичника, рак пищевода, рак мочевого пузыря, рак эндометрия, рак желчного пузыря и рак желчных протоков.

Особенно предпочтительными являются пептиды – в отдельности или в комбинации – в соответствии с настоящим изобретением, выбранные из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161. Более предпочтительными являются пептиды – в отдельности или в комбинации – выбранные из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 79 (см. Таблицу 1), и их применение в иммунотерапии рака поджелудочной железы, рака легких, рака почек, рака головного мозга, рака желудка, рака толстой кишки или прямой кишки, рака печени, рака предстательной железы, лейкоза, рака

молочной железы, карциномы клеток Меркеля (ККМ), меланомы, рака яичника, рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, рака желчного пузыря и рака желчных протоков и, предпочтительно, рака поджелудочной железы.

Как показано в последующей Таблице 4, многие из пептидов в соответствии с настоящим изобретением присутствуют в других видах опухолей и могут, таким образом, применяться в иммунотерапии при других показаниях. См. также Фигуру 1 и Пример 1.

**Таблица 4: Пептиды в соответствии с настоящим изобретением и их конкретное применение при других пролиферативных заболеваниях, в особенности при других раковых заболеваниях.**

Для выбранных пептидов таблица демонстрирует, на каких дополнительных видах опухолей они были обнаружены и имели либо избыточную презентацию на более чем 5% исследованных опухолевых образцов, либо презентацию на более чем 5% исследованных опухолевых образцов с соотношением среднего геометрического для опухоли и для нормальных тканей, составляющим более 3. Избыточная презентация определяется как более высокая представленность на опухолевом образце по сравнению с образцом нормальной ткани с наивысшей презентацией.

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
1	FVDTRTLL	Пищевод
2	FGYDGDYRA	Поджелудочная железа, молочная железа, пищевод
3	ILIGETIKI	Мочевой пузырь
4	ALDPAAQAFLL	НМРЛ, печень, молочная железа, яичник, пищевод, мочевой пузырь
5	ALLTGIISKA	НМРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, пищевод
7	ALVDIVRSL	Лейкоциты
8	ALYTGSALDFV	НМРЛ, поджелудочная железа, молочная железа, пищевод, желчный пузырь, желчный проток
9	QIIDAINKV	Молочная железа, пищевод
10	VLLDKIKNL	Поджелудочная железа, желчный пузырь, желчный проток
11	ALYYNPHLL	Пищевод
12	AQYKFVYQV	Пищевод
13	FIDSSNPGL	Почки
14	FIIDNPQDLKV	НМРЛ, МРЛ, почки, печень, меланома, яичник, пищевод

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
16	GLIDYDTGI	Головной мозг, молочная железа
17	GLIDYDTGIRL	Головной мозг, меланома
19	ALWHDAENQTVV	НМРЛ, МРЛ, печень, меланома, пищевод, желчный пузырь, желчный проток
20	GLIDIENPNRV	Мочевой пузырь
22	ILSTEIFGV	НМРЛ, поджелудочная железа, лейкоциты, молочная железа
26	SLYTALTEA	Молочная железа
28	VLDEFYSSL	Толстая кишка, прямая кишка
29	YILPFSEVL	НМРЛ, почки, головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, пищевод, мочевой пузырь
30	YIYKDTIQV	НМРЛ, толстая кишка, прямая кишка
31	YLDSMYIML	НМРЛ, желудок, толстая кишка, прямая кишка, печень, поджелудочная железа, молочная железа, желчный пузырь, желчный проток
32	YVDDGLISL	Желудок
34	FLEDDDIAAV	Головной мозг, меланома
35	FLFPSQYVDV	НМРЛ, МРЛ, печень, молочная железа, яичник, пищевод
37	FLNPDEVHAI	НМРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, молочная железа, меланома, яичник, пищевод, мочевой пузырь
39	FLTPSIFII	Головной мозг, поджелудочная железа
40	GLAPQIHDL	Толстая кишка, прямая кишка, пищевод
41	GLLAGNEKLTM	Толстая кишка, прямая кишка, молочная железа, мочевой пузырь, эндометрий
42	ILSDMRSQYEV	Мочевой пузырь
45	ILYSDDGQKWTV	Меланома
46	TMVEHNYYV	НМРЛ, МРЛ, почки, поджелудочная железа, меланома, яичник, пищевод
48	LLDENGVLKL	Лейкоциты
50	LLFGSDGYV	Печень, пищевод
51	LLGPAGARA	Печень, пищевод
52	LLSDPIPEV	МРЛ, меланома, яичник, пищевод
57	RLSELGITQA	Пищевод
58	RQYPWGVVQV	Пищевод
59	SLSEFFMV	МРЛ, молочная железа, мочевой пузырь
60	SLWEDYPHV	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, яичник, мочевой пузырь
62	SVFPGARLL	МРЛ, лейкоциты, пищевод
63	SVTGIIVGV	Головной мозг, пищевод

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
64	TLFSEPKFAQV	МПЛ, печень, мочевого пузыря
67	VIWGTDVNV	Головной мозг, пищевод
68	VLFDVTGQV	Желудок
69	VLFSGSLRL	НМПЛ
70	VLGVIWGV	НМПЛ, печень, яичник, пищевод
71	VLLPEGGITAI	Лейкоциты
73	VMVDGKPVNL	Печень, желчный пузырь, желчный проток
75	FSFVDLRL	МПЛ, пищевод, желчный пузырь, желчный проток
77	RLFPGSSFL	Молочная железа, пищевод
79	VWYEGQLISI	НМПЛ, МПЛ, поджелудочная железа, молочная железа, пищевод
80	LLPGTEYVSV	МПЛ, печень
81	VWYDDSTGLIRL	МПЛ, головной мозг, лейкоциты, ККМ, яичник
82	ALIAEGIAL	Мочевого пузыря
83	ALSKEIYVI	Лейкоциты
84	FILPIGATV	Почки, желудок, молочная железа
85	FLSDGTIISV	НМПЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, меланома, яичник, пищевод, эндометрий
86	GLGDFIFYSV	Печень, поджелудочная железа
88	IIDDTIFNL	Желудок, мочевого пузыря
90	KLLTPITTL	НМПЛ, МПЛ, толстая кишка, прямая кишка, молочная железа
91	LLFNDVQTL	Пищевод, мочевого пузыря
92	YLTNEGIAHL	НМПЛ, толстая кишка, прямая кишка, меланома, яичник, пищевод
93	SIDSEPALV	Головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, молочная железа, мочевого пузыря
94	VMMEEFVQL	Головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, лейкоциты, яичник, пищевод, эндометрий, желчный пузырь, желчный проток
95	ALADDDFLTV	НМПЛ, МПЛ, желудок, лейкоциты, меланома, яичник, пищевод, мочевого пузыря
96	ALAPATGGGSLLL	Печень, меланома
97	ALDDMISTL	Желудок, мочевого пузыря
98	ALDQKVRVSV	Головной мозг, предстательная железа
99	ALSFLLKQV	Толстая кишка, прямая кишка, печень, молочная железа, мочевого пузыря
100	ALFGAGPASI	Печень
101	ALVEENGIFEL	НМПЛ, печень, ККМ, яичник, мочевого пузыря

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
102	ALYPGTDYTV	НМРЛ, МРЛ, головной мозг, печень, предстательная железа, желчный пузырь, желчный проток
103	AVAAVLTVQV	Печень
104	FLQPDLDLSD	Головной мозг, печень, поджелудочная железа, лейкоциты, мочевого пузырь
106	FVWSGTAEAE	Головной мозг, пищевод, мочевого пузырь
107	FVYGGPQVQL	Меланома
109	ILASVILNV	Предстательная железа
110	ILLTGTPAL	МРЛ, лейкоциты, молочная железа
111	LLLAAARLAAA	Печень, поджелудочная железа
113	LMMSEDRISL	Головной мозг, меланома
114	SLFPHNPQFI	МРЛ, головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, печень, меланома, пищевод, мочевого пузырь
115	SLMDPNKFLLL	Почки, головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, печень, предстательная железа, меланома, мочевого пузырь, желчный пузырь, желчный проток
116	SMMDPNHFL	Головной мозг, печень, ККМ, эндометрий, желчный пузырь, желчный проток
117	SVDGVIKEV	Желудок
118	TLWYRPPPEL	НМРЛ, меланома, пищевод
120	VLVNDFFLV	Желудок, толстая кишка, прямая кишка, печень, яичник, пищевод, мочевого пузырь, эндометрий
121	YLDEDTIYHL	Желудок
122	MQAPRAALVFA	Головной мозг, лейкоциты, мочевого пузырь, желчный пузырь, желчный проток
123	KISTITPQI	НМРЛ, печень, поджелудочная железа
124	ALFEESGLIRI	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, ККМ, меланома, яичник, пищевод
125	ALLGKLDAINV	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, яичник, желчный пузырь, желчный проток
128	ALYDVRTILL	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка
129	ALYEKDNTYL	МРЛ, головной мозг, печень, яичник, пищевод
130	FLFGEEPSKL	Поджелудочная железа, эндометрий
131	FLIEEQKIVV	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, меланома, яичник, пищевод, мочевого пузырь, желчный пузырь, желчный проток

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
132	FLWAGGRASYGV	Печень, яичник, пищевод
134	ILLAEGRLVNL	Яичник
135	KLDDTYIKA	Печень, пищевод, мочевого пузыря
136	KLFPGFIEITV	НМРЛ, МРЛ, печень, яичник, пищевод
137	KLGPEGELL	Толстая кишка, прямая кишка, печень, молочная железа, пищевод, мочевого пузыря
138	NIFPNPEATFV	НМРЛ, МРЛ, головной мозг, меланома
142	SLYGYLRGA	НМРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, поджелудочная железа, предстательная железа, молочная железа, яичник, пищевод, мочевого пузыря
143	TADPLDYRL	МРЛ, эндометрий
144	TAVALLRLL	МРЛ, лейкоциты
145	TTFPRPVTV	МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, лейкоциты
146	VLISGWHEI	Головной мозг, печень, меланома, яичник
147	YAFPKAVSV	НМРЛ, МРЛ, почки, желудок, лейкоциты, яичник, пищевод
148	YLHNQGIGV	МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, пищевод
149	ILGTEDLIVEV	НМРЛ, МРЛ, печень, лейкоциты, меланома, яичник, пищевод, желчный пузырь, желчный проток
150	ALFQPHLINV	НМРЛ, МРЛ, печень, лейкоциты, молочная железа, меланома, яичник, мочевого пузыря
151	ALLDIIRSL	НМРЛ, головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, предстательная железа, мочевого пузыря
152	ALLEPEFILKA	Толстая кишка, прямая кишка, лейкоциты, мочевого пузыря
154	KVADLVML	НМРЛ, толстая кишка, прямая кишка, лейкоциты, яичник, пищевод, мочевого пузыря
155	LLDPDTAVLKL	Печень, меланома
156	LLLPPPCPA	Поджелудочная железа, мочевого пузыря
157	MLLEIPYMAA	Толстая кишка, прямая кишка, меланома, яичник, мочевого пузыря
158	SLIEKYFSV	НМРЛ, МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, меланома, яичник, пищевод
159	SLLDLHTKV	Головной мозг, толстая кишка, прямая кишка, печень, лейкоциты

SEQ ID No.	Последовательность	Другие релевантные органы (виды рака) / заболевания
160	VLLPDERTISL	НМРЛ, МРЛ, печень, лейкоциты, яичник, мочевой пузырь
161	YLPDIKDKQA	Головной мозг, печень, лейкоциты, меланома
162	NADPQAVTM	МРЛ, почки, яичник, эндометрий
163	VMAPRTLVL	МРЛ
165	YLLSYIQSI	МРЛ, толстая кишка, прямая кишка, печень, меланома, яичник, пищевод, эндометрий
166	SLFPGQVVI	Головной мозг, мочевой пузырь, эндометрий
167	MLFGHPLLVSV	НМРЛ, МРЛ, головной мозг, печень, поджелудочная железа, предстательная железа, яичник
169	FMLPDPQNI	НМРЛ, МРЛ, головной мозг, печень, молочная железа, меланома, пищевод, мочевой пузырь
170	ILAPAGSLPKI	Мочевой пузырь
171	LLLDVTPLSL	Лейкоциты, мочевой пузырь
172	TMMSRPPVL	Головной мозг
174	TLDPRSFLL	Желудок, печень
175	ALLESSLRQA	Почки, молочная железа, мочевой пузырь
176	YLMPGFIHL	Печень, лейкоциты

Таблица 4В: Пептиды в соответствии с настоящим изобретением и их конкретное применение при других пролиферативных заболеваниях, в особенности при других раковых заболеваниях (поправка к Таблице 4). Для выбранных пептидов таблица демонстрирует, как и Таблица 4, на каких дополнительных видах опухолей они были обнаружены с избыточной презентацией (включая специфическую презентацию) на более чем 5% исследованных опухолевых образцов, или презентацией на более чем 5% исследованных опухолевых образцов с соотношением среднего геометрического для опухоли и для нормальных тканей, составляющим более 3. Избыточная презентация определяется как более высокая представленность на опухолевом образце по сравнению с образцом нормальной ткани с наивысшей презентацией. Нормальными тканями, на основе которых проводили испытание на избыточную презентацию, были: жировая ткань, ткань надпочечной железы, клетки крови, кровеносные сосуды, ткань костного мозга, головного мозга, ткань пищевода, глаз, желчного пузыря, сердца, почек, толстой кишки, печени, легких, лимфатических узлов, нервная ткань, ткань поджелудочной железы, паращитовидной железы, брюшной полости, гипофиза, плевры, слюнной

железы, скелетных мышц, кожа, ткань тонкого кишечника, селезенки, желудка, щитовидной железы, трахеи, мочеточника, мочевого пузыря.

SEQ ID NO.	Последовательность	Дополнительные виды
1	FVDTRTLL	Меланома, рак мочевого пузыря
3	ILIGETIKI	РЯ, ОМЛ
4	ALDPAAQAFLL	НМРЛ, РЖ, КРК, ХЛЛ, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ, НХЛ
5	ALLTGIISKA	Меланома, рак мочевого пузыря, рак матки
6	ALTGIPLPLI	НМРЛ, МРЛ, ХЛЛ, меланома, рак мочевого пузыря, рак матки, НХЛ
9	QIIDAINKV	Меланома, НХЛ, РЖ, НМРЛ
11	ALYYNPHLL	Рак головного мозга
12	AQYKFVYQV	ПКК, меланома, рак мочевого пузыря, рак матки
14	FIIDNPQDLKV	Рак головного мозга, рак мочевого пузыря, рак матки
15	FILANEHNV	Рак мочевого пузыря, рак матки
16	GLIDYDTGI	Меланома
18	ALFVRLAL	Меланома
19	ALWHDAENQTVV	Рак головного мозга, рак мочевого пузыря, рак матки
20	GLIDIENPNRV	Рак пищевода
21	GLVDGRDLVIV	НМРЛ, меланома, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ, НХЛ
22	ILSTEIFGV	Меланома, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
23	KLDSSGGAVQL	МРЛ, меланома
25	LINPNIATV	Меланома
28	VLDEFYSSL	Меланома
29	YILPFSEVL	РМЖ, меланома, рак матки, ОМЛ, НХЛ
30	YIYKDTIQV	ПКК, рак мочевого пузыря, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ
31	YLDSEMYIML	Меланома, рак пищевода, рак мочевого пузыря
32	YVDDGLISL	Меланома, ОМЛ
34	FLEDDDIAAV	КРК
37	FLNPDEVHAI	МРЛ, рак матки, НХЛ
38	FLTEAALGDA	ПКК, рак мочевого пузыря, рак матки
39	FLTPSIFII	Рак матки
41	GLLAGNEKLTM	РЖ, рак пищевода
42	ILSDMRSQYEV	РМЖ, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
44	ILAQVGFSV	Меланома
46	TMVEHNYYV	Рак мочевого пузыря, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
47	LIYKDLVSV	РЯ

50	LLFGSDGYV	Рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
52	LLSDPIPEV	Рак мочевого пузыря, ОМЛ, НХЛ
55	NLAPAPLNA	Меланома
56	NLIGVTAEL	Меланома, рак матки
57	RLSELGITQA	Меланома, рак мочевого пузыря, рак матки, ОЛМ, НХЛ, РЯ
58	RQYPWGVVQV	Меланома
59	SLSEFFMV	НХЛ
60	SLWEDYPHV	РМЖ, меланома, рак пищевода, рак матки
61	SMYDGLLQA	Меланома
65	TLNEKLTAL	Меланома, рак мочевого пузыря, ОМЛ
66	TVDDPYATFV	Меланома
67	VIWGTDVNV	Меланома, рак мочевого пузыря, ОМЛ
68	VLFDTVQV	Меланома
69	VLFSGSLRL	РМЖ, рак пищевода, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
70	VLGVIWGV	Рак головного мозга, РМЖ, рак мочевого пузыря, рак матки
71	VLLPEGGITAI	Рак головного мозга, рак мочевого пузыря
74	YIDKDLEYV	Рак мочевого пузыря, рак матки
75	FSFVDLRL	ПКК, РМЖ, меланома, НХЛ
77	RLFPGSSFL	РЖ
79	VVYEGQLISI	Рак желчного пузыря, рак желчных протоков, НХЛ
80	LLPGTEYVSV	РМЖ, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
82	ALIAEGIAL	РМЖ, рак матки
83	ALSKEIYVI	Рак головного мозга
84	FILPIGATV	ОМЛ, ХЛЛ, КРК, ГКК, меланома, НХЛ, РЯ, рак пищевода, НМРЛ, рак мочевого пузыря, рак матки
86	GLGDFIFYSV	НМРЛ, РМЖ, рак пищевода, рак мочевого пузыря
87	GLLPALVAL	Рак головного мозга, меланома
88	IIDDTIFNL	Меланома
89	KLADIQIEQL	Рак мочевого пузыря, РЯ
90	KLLTPITTL	Меланома, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
91	LLFNDVQTL	ХЛЛ, рак матки, НХЛ
92	YLTNEGIAHL	Рак мочевого пузыря
93	SIDSEPALV	Меланома, ОМЛ
94	VMMEEFVQL	НМРЛ, МРЛ, меланома, рак мочевого пузыря
95	ALADDDFLTV	ПКК, РМЖ, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
96	ALAPATGGGSL LL	НМРЛ, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, НХЛ
97	ALDDMISTL	Меланома
99	ALESFLKQV	НМРЛ, ПКК, рак головного мозга, ХЛЛ, меланома, РЯ, рак пищевода, ОМЛ, НХЛ

100	ALFGAGPASI	Рак мочевого пузыря
101	ALVEENGIFEL	Рак матки
102	ALYPGTDYTV	ОМЛ
103	AVAAVLTQV	Рак пищевода, рак мочевого пузыря, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ
104	FLQPDLDSL	МРЛ, рак матки
106	FVWSGTAEA	Меланома, рак матки, ОМЛ, НХЛ
107	FVYGGPQVQL	ХЛЛ, рак мочевого пузыря, НХЛ
108	IADGGFTEL	ОМЛ
109	ILASVILNV	Рак мочевого пузыря
110	ILLTGTPAL	Рак матки
111	LLLAAARLAAA	ОМЛ, РПрЖ, РМЖ, КРК, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, меланома, НХЛ, РЯ, рак головного мозга, НМРЛ, ПКК, МРЛ, рак мочевого пузыря, рак матки
113	LMMSEDRISL	НМРЛ, рак мочевого пузыря
114	SLFPHNPQFI	НМРЛ, ХЛЛ, ОМЛ, НХЛ
116	SMMDPNHFL	НМРЛ, меланома
117	SVDGVIKEV	Меланома, ОМЛ
118	TLWYRPEL	ХЛЛ, рак мочевого пузыря, рак матки
120	VLVNDFFLV	РМЖ, меланома, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ
121	YLDEDTIYHL	Меланома
123	KISTITPQI	Рак головного мозга, меланома, рак мочевого пузыря, рак матки, ОМЛ, НХЛ
124	ALFEESGLIRI	РМЖ, НХЛ
125	ALLGKLDAINV	НХЛ
126	ALLSLDPAAV	Рак головного мозга, рак мочевого пузыря, ОМЛ
127	ALSDLALHFL	ХЛЛ, РМЖ, меланома, рак матки, ОМЛ, НХЛ
128	ALYDVRTILL	РМЖ, рак мочевого пузыря, ОМЛ
129	ALYEKDNTYL	НМРЛ, РМЖ, рак мочевого пузыря, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, НХЛ
130	FLFGEEPSKL	ПКК, ХЛЛ, меланома, рак пищевода, рак мочевого пузыря, ОМЛ
131	FLIEEQKIVV	ОМЛ, НХЛ
132	FLWAGGRASY GV	Рак головного мозга, меланома, рак матки, ОМЛ
133	ILDDVSLTHL	Меланома
134	ILLAEGRLVNL	НМРЛ, меланома
135	KLDDTYIKA	Меланома, рак матки
137	KLGPEGELL	Меланома, ОМЛ
138	NIFPNPEATFV	РМЖ, рак мочевого пузыря, ОМЛ, НХЛ, РЯ
139	SIDRNPPQL	Меланома, ОМЛ
140	SLLNPPETLNL	ОМЛ
142	SLYGYLRGA	ХЛЛ, меланома, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, ОМЛ

143	TADPLDYRL	Меланома, ОМЛ
144	TAVALLRLL	РМЖ, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
145	TTFPRPVTV	ГКК, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
146	VLISGVVHEI	КРК, рак матки
147	YAFPKAVSV	Рак желчного пузыря, рак желчных протоков
148	YLHNQGIGV	Рак мочевого пузыря, рак матки, ОМЛ, НХЛ, РЯ
149	ILGTEDLIVEV	РПрЖ, РМЖ, КРК, ККМ, РЖ, рак мочевого пузыря, рак матки
151	ALLDIIRSL	РМЖ, рак матки, ОМЛ
152	ALLEPEFILKA	НМРЛ, рак головного мозга, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
154	KVADLVML	Рак желчного пузыря, рак желчных протоков
155	LLLDPDTAVLKL	МРЛ, ХЛЛ, РМЖ
156	LLLPPPPCPA	Меланома, рак матки, рак желчного пузыря, рак желчных протоков
157	MLLEIPYMAA	Рак матки
158	SLIEKYFSV	ХЛЛ, РМЖ, рак мочевого пузыря, рак матки, ОМЛ, НХЛ
159	SLLDLHTKV	НМРЛ, меланома, рак мочевого пузыря, рак матки
160	VLLPDERTISL	РМЖ, КРК, рак желчного пузыря, рак желчных протоков, меланома, рак головного мозга, РЖ, ПКК, рак матки
161	YLPDIIKDQKA	Рак матки

НМРЛ= немелкоклеточный рак легких, МРЛ= мелкоклеточный рак легких, ПКК= рак почки, КРК= рак толстого или прямого кишечника, РЖ= рак желудка, ГКК= рак печени, РПрЖ= рак предстательной железы, РМЖ= рак молочной железы, ККМ= карцинома клеток Меркеля, РЯ= рак яичника, НХЛ= неходжкинская лимфома, ОМЛ= острый миелоидный лейкоз, ХЛЛ= хронический лимфоцитарный лейкоз.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 4, 5, 8, 14, 19, 22, 29, 30, 31, 35, 37, 46, 60, 69, 70, 79, 85, 90, 92, 95, 101, 102, 118, 123, 124, 125, 128, 131, 136, 138, 142, 147, 149, 150, 151, 154, 158, 160, 167, 6, 9, 21, 84, 85, 94, 96, 99, 111, 113, 114, 116, 129, 134, 152, 159 и 169 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения немелкоклеточного рака легких (НМРЛ).

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 14, 19, 35, 46, 52, 59, 60, 62, 64, 75, 79, 80, 81,

90, 95, 102, 110, 114, 124, 125, 128, 129, 131, 136, 138, 143, 144, 145, 147, 148, 149, 150, 158, 160, 162, 163, 165, 167, 169, 4, 6, 23, 37, 94, 104 и 155 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения мелкоклеточного рака легких (МРЛ).

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 13, 14, 29, 46, 84, 115, 147, 162, 175, 12, 30, 38, 75, 95, 99, 111, 130 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака почек.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 16, 17, 29, 34, 39, 63, 67, 81, 93, 94, 98, 102, 104, 106, 113, 114, 115, 116, 122, 129, 138, 146, 151, 159, 161, 166, 167, 169, 172, 11, 14, 19, 70, 71, 83, 87, 99, 112, 123, 126, 132, 152 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака головного мозга.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 31, 32, 68, 84, 88, 95, 97, 117, 120, 121, 147, 174, 4, 9, 41, 77, 149 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака желудка.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 5, 28, 29, 30, 31, 37, 40, 41, 60, 85, 90, 92, 93, 94, 99, 114, 115, 120, 124, 125, 128, 131, 137, 142, 145, 148, 151, 152, 154, 157, 158, 159, 165, 4, 34, 84, 111, 146, 149 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака толстой и прямой кишки.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 4, 5, 14, 19, 31, 35, 37, 48, 50, 51, 60, 64, 70, 73, 80, 85, 86, 96, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 111, 114, 115, 116, 120, 123, 124, 125,

129, 131, 132, 135, 136, 137, 142, 145, 146, 148, 149, 150, 155, 158, 159, 160, 161, 165, 167, 169, 174 и 176 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака печени.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 2, 8, 10, 22, 31, 39, 46, 79, 86, 104, 111, 123, 130, 142, 156 и 167 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака поджелудочной железы.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 98, 102, 109, 111, 115, 142, 148, 151 и 167 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака предстательной железы.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 7, 22, 48, 62, 71, 81, 83, 94, 95, 104, 110, 122, 144, 145, 147, 149, 150, 152, 154, 159, 160, 161, 171 и 176 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения лейкоза.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 3, 4, 21, 29, 30, 32, 52, 57, 65, 67, 84, 93, 99, 102, 103, 106, 108, 111, 114, 117, 120, 123, 126, 127, 128, 139, 140, 142, 143, 148, 151 и 158 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения ОМЛ.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 4, 6, 84, 91, 99, 107, 114, 118, 127, 130, 142, 155 и 158 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения ХЛЛ.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 2, 4, 8, 9, 16, 22, 26, 31, 35, 37, 41, 59, 77, 79, 84, 90, 93, 99, 110, 137, 142, 150, 169, 175, 29, 42, 60, 69, 70, 75, 80, 82, 86, 95, 111, 120, 124, 127, 128, 129, 138, 144, 149, 151, 155, 158 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака молочной железы.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида в соответствии с настоящим изобретением в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 149, 81, 101, 116 и 124 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения карциномы клеток Меркеля (ККМ).

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 14, 17, 19, 34, 37, 45, 46, 52, 85, 92, 95, 96, 107, 113, 114, 115, 118, 124, 131, 138, 146, 149, 150, 155, 157, 158, 161, 165, 169, 1, 5, 6, 9, 12, 16, 18, 21, 22, 23, 25, 28, 29, 31, 32, 44, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 65, 66, 67, 68, 75, 84, 87, 88, 90, 93, 94, 97, 99, 106, 111, 116, 117, 120, 121, 123, 127, 128, 129, 130, 132, 133, 134, 135, 137, 139, 142, 143, 156, 159 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения меланомы.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID NO: 4, 14, 35, 37, 46, 52, 60, 70, 81, 85, 92, 94, 95, 101, 120, 124, 125, 129, 131, 132, 134, 136, 142, 146, 147, 149, 150, 154, 157, 158, 160, 162, 165, 167, 3, 47, 57, 84, 89, 99, 111, 138 и 148 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака яичника.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 19, 29, 35, 37, 40, 46, 50, 51, 52, 57, 58, 62, 63, 67, 70, 75, 77, 79, 85, 91, 92, 94, 95, 106, 114, 118, 120, 124,

129, 131, 132, 135, 136, 137, 142, 147, 148, 149, 154, 158, 165, 169, 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 19, 29, 35, 37, 40, 46, 50, 51, 52, 57, 58, 62, 63, 67, 70, 75, 77, 79, 85, 91, 92, 94, 95, 106, 114, 118, 120, 124, 129, 131, 132, 135, 136, 137, 142, 147, 148, 149, 154, 158, 165 и 169 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака пищевода.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 3, 4, 20, 29, 37, 41, 42, 59, 60, 64, 82, 88, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 104, 106, 114, 115, 120, 122, 131, 135, 137, 142, 150, 151, 152, 154, 156, 157, 160, 166, 169, 170, 171, 175, 1, 5, 6, 12, 14, 15, 19, 30, 31, 38, 46, 52, 57, 65, 67, 70, 71, 74, 84, 86, 89, 92, 94, 100, 103, 107, 109, 111, 113, 118, 123, 126, 127, 128, 129, 130, 138, 148, 149, 158 и 159 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака мочевого пузыря.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 41, 85, 94, 116, 120, 130, 143, 162, 165 и 166 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака эндометрия.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 8, 10, 19, 31, 73, 75, 94, 102, 115, 116, 122, 125, 131, 149, 4, 21, 22, 30, 46, 50, 69, 70, 80, 90, 95, 96, 103, 111, 120, 129, 142, 144, 145, 147, 152, 154, 156 и 160 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака желчного пузыря и желчных протоков.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного пептида по настоящему изобретению в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID No. 4, 5, 6, 12, 14, 15, 19, 29, 37, 38, 39, 42, 46, 50, 56, 57, 60, 70, 74, 82, 84, 91, 95, 101, 103, 104, 106, 110, 111, 118, 123, 129, 132, 135, 146, 148, 149, 151, 156, 157, 158, 159, 160 и 161 – в одном предпочтительном варианте осуществления в комбинации – для лечения рака матки.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к применению пептидов в соответствии с настоящим изобретением для – предпочтительно комбинированного – лечения пролиферативного заболевания, выбранного из группы: рак поджелудочной железы, рак легких, рак почек, рак головного мозга, рак желудка, рак толстой или прямой кишки, рак печени, рак предстательной железы, лейкоз, рак молочной железы, карцинома клеток Меркеля (ККМ), меланома, рак яичника, рак пищевода, рак мочевого пузыря, рак эндометрия, рак желчного пузыря и рак желчных протоков.

Настоящее изобретение, более того, относится к пептидам в соответствии с настоящим изобретением, имеющим способность связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I класса или – в удлиненной форме, такой как вариант по длине – МНС II класса.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с настоящим изобретением, где указанные пептиды (каждый из них) состоят или состоят по существу из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с настоящим изобретением, где указанный пептид модифицирован и/или включает непептидные связи.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с настоящим изобретением, где указанный пептид является частью слитого белка, в частности слитого с N-терминальными аминокислотами HLA-DR антиген-ассоциированной инвариантной цепи (Ii), или слитого с антителом (или встроенный в последовательность), таким как, например, антителом, специфичным для дендритных клеток.

Настоящее изобретение далее относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей пептиды в соответствии с настоящим изобретением. Настоящее изобретение далее относится к нуклеиновой кислоте в соответствии с настоящим изобретением, которая является ДНК, кДНК, ПНК, РНК или их комбинациями.

Настоящее изобретение далее относится к вектору экспрессии, способному к экспрессии и/или экспрессирующему нуклеиновую кислоту в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к пептиду в соответствии с настоящим изобретением, к нуклеиновой кислоте в соответствии с настоящим изобретением или к вектору экспрессии в соответствии с настоящим изобретением для применения в лечении заболеваний и в медицине, в частности, в лечении рака.

Настоящее изобретение далее относится к антителам, которые являются специфическими по отношению к пептидам в соответствии с настоящим изобретением или комплексам указанных пептидов в соответствии с настоящим изобретением и МНС и способам их получения.

Настоящее изобретение далее относится к Т-клеточным рецепторам (ТКР), в частности, к растворимым ТКР и клонированным ТКР, встроенным в аутологичные или аллогенные Т-клетки, и способам их получения, а также к естественным киллерным клеткам (НК) или другим клеткам, несущим указанный ТКР или вступающим в перекрестную реакцию с указанными ТКР.

Антитела и ТКР являются дополнительными вариантами осуществления иммунотерапевтического применения пептидов в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к клетке-хозяину, включающей нуклеиновую кислоту в соответствии с настоящим изобретением или вектор экспрессии, описанный ранее. Настоящее изобретение далее относится к клетке-хозяину в соответствии с настоящим изобретением, которая является антигенпрезентирующей клеткой, предпочтительно – дендритной клеткой.

Настоящее изобретение далее относится к способу получения пептида в соответствии с настоящим изобретением, причем указанный способ включает культивацию клетки-хозяина в соответствии с настоящим изобретением и выделение пептида из указанной клетки-хозяина или его культуральной среды.

Настоящее изобретение далее относится к указанному способу в соответствии с настоящим изобретением, где антиген нагружен на молекулы МНС I или II класса, экспрессированные на поверхности подходящей антигенпрезентирующей клетки или искусственной антигенпрезентирующей клетки, при контактировании достаточного количества антигена с антигенпрезентирующей клеткой.

Настоящее изобретение далее относится к способу в соответствии с настоящим изобретением, где антигенпрезентирующая клетка включает вектор экспрессии, способный экспрессировать или экспрессирующий указанный пептид, содержащий последовательность с SEQ ID No. 1 по SEQ ID No.: 161, предпочтительно содержащий SEQ ID No. 1 по SEQ ID No. 79 или его вариантную аминокислотную последовательность.

Настоящее изобретение далее относится к активированным Т-клеткам, полученным способом в соответствии с настоящим изобретением, где указанная Т-клетка селективно распознают клетку, которая экспрессирует полипептид, включающий аминокислотную последовательность в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к способу уничтожения клеток-мишеней у пациента, чьи клетки-мишени аберрантно экспрессируют полипептид, включающий любую аминокислотную последовательность в соответствии с настоящим изобретением, причем способ включает введение пациенту эффективного числа Т-клеток, полученных в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к применению любого описанного пептида, нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим изобретением, вектора экспрессии в соответствии с настоящим изобретением, клетки в соответствии с настоящим изобретением, активированного Т-лимфоцита, Т-клеточного рецептора или антитела или других молекул, связывающихся с пептидом и/или комплексом пептид-МНС в соответствии с настоящим изобретением в качестве лекарственного средства или в производстве лекарственного средства. Предпочтительно, если указанное лекарственное средство обладает активным противораковым действием.

Предпочтительно, если указанное лекарственное средство предназначено для клеточной терапии, является вакциной или белком на основе растворимого ТКР или антителом.

Настоящее изобретение относится далее к применению пептидов в соответствии с настоящим изобретением, где указанные раковые клетки являются клетками рака поджелудочной железы, рака легких, рака почек, рака головного мозга, рака желудка, рака толстой или прямой кишки, рака печени, рака предстательной железы, лейкоз, рака молочной железы, карциномы клеток Меркеля (ККМ), меланомы, рака яичника, рака пищевода, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, рака желчного пузыря, рака желчных протоков и, предпочтительно, рака поджелудочной железы.

Настоящее изобретение далее относится к биомаркерам, основанным на пептидах в соответствии с настоящим изобретением, в контексте изобретения называемые «мишенями», которые могут быть использованы при постановке диагноза рака, предпочтительно рака поджелудочной железы. В роли маркера может выступать избыточная презентация самого(их) пептида(ов), или избыточная экспрессия соответствующего(их) гена(ов). Эти маркеры могут также использоваться для предсказания вероятности успеха лечения, предпочтительно иммунотерапии, и, наиболее предпочтительно, иммунотерапии, направленной на ту же мишень, которая была идентифицирована биомаркером. Например, для окрашивания срезов опухоли для выявления присутствия интересующего пептида в комплексе с МНС может использоваться антитело или растворимый ТКР.

Факультативно антитело обладает дополнительной эффекторной функцией, например, несет иммуностимулирующий домен или токсин.

Настоящее изобретение относится также к применению этих новых мишеней в контексте лечения рака.

Ген AAGAB кодирует белок, который взаимодействует с субъединицами гамма-адаптина и альфа-адаптина комплексов, задействованных в переносе покрытых клатрином везикул. Мутации этого гена ассоциируются с точечной ладонно-

подошвенной кератодермией I типа (RefSeq, 2002). AAGAB является мишенью miR-205, который избыточно экспрессируется клетками рака шейки матки (Xie et al., 2012). Нокадаун гена AAGAB приводит к усилению деления и пролиферации клеток (Pohler et al., 2012).

ACTR2 кодирует ARP2, гомолог 2, связанный с актином, главный компонент комплекса ARP2/3. Этот комплекс необходим для сохранения формы и подвижности клетки во время сборки актина и образования ламеллиподий (RefSeq, 2002). ARP2/3 в комплексе с другими белками, как было показано, играет важнейшую роль в инвазии и миграции раковых клеток (Nurnberg et al., 2011; Feldner and Brandt, 2002; Frugtniet et al., 2015; Kurisu and Takenawa, 2010; Kirkbride et al., 2011). ARP2/3 в комплексе с членами семейства WASP/WAVE способствует инвазии и миграции клеток при раке молочной железы (Frugtniet et al., 2015). Комплекс ARP2/3 с ArgBP2 приобретает противоопухолевую функцию, когда регулируется адгезия и миграция клеток рака поджелудочной железы (Roignot and Soubeyran, 2009).

ADAM9 кодирует одного из членов семейства ADAM (домен дезинтегрина и металлопротеиназы, член 9). Члены этого семейства участвуют во взаимодействиях между клетками и между клетками и матриксом (RefSeq, 2002). Выключение гена ADAM9 снижает пролиферацию раковых клеток плоскоклеточной карциномы пищевода (ПлККп) (Liu et al., 2015b). ADAM9 играет важную роль в пролиферации и инвазии клеток меланомы (Ebrahimi et al., 2014). Уровень ADAM9, как было продемонстрировано, повышен в клетках остеосаркомы, мышечно-инвазивного (МИ) рака мочевого пузыря, немелкоклеточного рака легких, рака поджелудочной железы, рака толстой кишки, плоскоклеточной карциномы полости рта, рака шейки матки, рака предстательной железы, рака почек, рака желудка, рака лимфатических узлов и рака молочной железы (Shaker et al., 2011; Vincent-Chong et al., 2013; Li et al., 2013; Ebrahimi et al., 2014; Zhang et al., 2014a; Jia et al., 2014; O'Shea et al., 2003; Jiang et al., 2014a; Zubel et al., 2009). ADAM9 был задействован в развитии метастазов рака легких в головной мозг (Sher et al., 2014; Lin et al., 2014a; Shintani et al., 2004).

AGAP9 кодирует ArfGAP с доменом ГТФазы, анкириновым повтором и PH доменом 9 и локализован на хромосоме 10q11.22 (RefSeq, 2002).

АНСУ кодирует аденозилгомоцистеиназу. Он регулирует внутриклеточную концентрацию S-аденозилгомоцистеина (SAH), считающуюся важной для реакций трансметилирования (RefSeq, 2002). Пониженный уровень АНСУ вносит свой вклад в онкогенез (Leal et al., 2008). АНСУ может способствовать апоптозу. Он ингибирует миграцию и адгезию клеток плоскоклеточной карциномы пищевода, что позволяет предположить, что он играет роль в онкогенезе пищевода (Li et al., 2014b). Уровень белковой экспрессии АНСУ повышен при раке толстой кишки (Kim et al., 2009; Watanabe et al., 2008; Fan et al., 2011). АНСУ может быть потенциальным биомаркером рака яичника (Peters et al., 2005).

AK2 кодирует аденилаткиназу 2. AK2 локализован в межмембранном пространстве митохондрии и может играть роль в апоптозе (RefSeq, 2002). AK2 опосредует новый внутренний механизм апоптоза, который может быть задействован в онкогенезе (Lee et al., 2007).

ANKLE2 кодирует анкириновый повтор и белок 2, содержащий LEM-домен. ANKLE2 является членом семейства LEM белков внутренней ядерной мембраны. Кодированный белок выполняет функцию митотического регулятора за счет постмитотического формирования ядерной оболочки (RefSeq, 2002).

ANKRD1 кодирует домен-1 анкиринового повтора. Он локализован в ядре эндотелиальных клеток и индуцируется стимуляцией ИЛ-1 и TNF-альфа. Взаимодействия между этим белком и саркомерными белками миопалладином и титином позволяют предположить, что он может быть также задействован в системе сенсоров растяжения микрофибрилл (RefSeq, 2002). Эктопическая экспрессия ANKRD1 ведет к снижению образования колоний и усилению процесса гибели клеток посредством апоптоза в клетках гепатомы (Park et al., 2005). Высокая экспрессия ANKRD1 при карциноме яичника ассоциируется с плохой выживаемостью (Lei et al., 2015).

ANLN кодирует актин-связывающий белок, который играет роль в клеточном росте и миграции, а также в процессе цитокинеза. Как считается, ANLN регулирует динамику в актиновом цитоскелете в подоцитах, компонентах клубочка. Мутации этого гена ассоциируются с фокальным сегментарным гломерулосклерозом 8

(RefSeq, 2002). Как было показано, ANLN экспрессируется в высокой степени в тканях рака молочной железы, а также плоскоклеточных карцином головы и шеи. Нокдаун ANLN заметно ингибировал уровень пролиферации, способность образовывать колонии и миграцию клеток рака молочной железы (Zhou et al., 2015b). ANLN экспрессируется в избытке клетками пролиферативных опухолей желудка, карциномы поджелудочной железы и гормон-рефрактерных раковых заболеваний предстательной железы (Pandi et al., 2014; Tamura et al., 2007; Shimizu et al., 2007; Olakowski et al., 2009). ANLN является биомаркером гепатоклеточной карциномы (Kim et al., 2013a). Экспрессия ANLN является маркером благоприятного прогноза для пациентов с почечноклеточной карциномой (Ronkainen et al., 2011).

APOE6 кодирует аполипопротеин L, 6. APOE6 является членом семейства генов аполипопротеина L. Кодированный белок обнаружен в цитоплазме, где он может влиять на движение липидов или позволять липидам связываться с органеллами (RefSeq, 2002). В раковых клетках APOE6 вызывает опосредованный митохондриями апоптоз (Liu et al., 2005).

ARMC9 (также называемый KU-MEL-1) кодирует белок, содержащий арматиллоповтор, который является выделенным ранее антигеном меланомы, преимущественно экспрессируемым в меланоцитах. Он ассоциируется с синдромом Фогта-Коянаги-Харада (Otani et al., 2006). ARMC9 экспрессируется в высокой степени в клеточных линиях и образцах ткани меланомы. Антигены к ARMC9 были обнаружены в сыворотке пациентов, проходивших лечение рака головного мозга, толстой кишки и пищевода (Kiniwa et al., 2001).

ASNS кодирует аспарагинсинтазу. Ген ASNS является компонентом мутации в температурно-чувствительной мутантной клеточной линии ts11 хомяка, которая блокирует прохождение фазы клеточного цикла G1 при непермиссивной температуре (RefSeq, 2002). Экспрессия ASNS индуцируется истощением глюкозы и защищает клетки рака поджелудочной железы от апоптоза (Cui et al., 2007). ASNS ассоциируется с резистентностью к лекарственным средствам при лейкозе и раке матки (Lin et al., 2012; Zhang et al., 2013a). Нокдаун ASNS в клетках линии A375 снижает уровни экспрессии CDK4, CDK6 и циклина D1 и повышает уровень экспрессии p21 (Li et al., 2015a). Снижение уровня ASNS вызывает блокировку клеточного цикла и ингибирует пролиферацию клеток при раке молочной железы

(Yang et al., 2014a). ASNS экспрессируется в высокой степени в клетках глиом (Panosyan et al., 2014). ASNS является потенциальным биомаркером рака яичника (Lorenzi et al., 2006; Lorenzi et al., 2008; Lorenzi and Weinstein, 2009).

ATP5F1 кодирует митохондриальный комплекс F<sub>0</sub> АТФ-синтазы, транспортирующий H<sup>+</sup>, субъединицу B1, субъединицу митохондриальной АТФ-синтазы (RefSeq, 2002). Уровень ATP5F1 повышен при гепатоклеточной карциноме, ассоциированной с вирусом гепатита В (Lee et al., 2008a).

BMS1 кодирует фактор биогенеза рибосом BMS1 и локализован на хромосоме 10q11.21. Подобный белок в дрожжах выполняет функцию в процессинге 35S-рРНК, куда входят различные этапы расщепления, важные для образования рибосом 40S (RefSeq, 2002; Perez-Fernandez et al., 2011).

BMS1P5 кодирует псевдоген 5 фактора биогенеза рибосом BMS1 и локализован на хромосоме 10q11.22 (RefSeq, 2002).

BRK1 (также называемый C3orf10 и ли HSPC300) кодирует самую малую субъединицу белкового комплекса Wave и является важным регулятором сигнального пути Wave/Scar, задействованного в динамике актинового цитоскелета во время эмбрионального развития и трансформации клетки (Derivery et al., 2008; Escobar et al., 2010). BRK1 обладает онкогенным потенциалом в различных видах рака, в том числе раке легких и почечноклеточных карциномах (Cascon et al., 2007; Cai et al., 2009; Escobar et al., 2010). BRK1 регулируется факторами транскрипции Sp1 и NRF-1. Он задействован в сигнальном пути Wave/Scar после регуляции Arp2/3, и необходим для пролиферации и трансформации клеток (Li et al., 2014a; van't Veer et al., 2006; Escobar et al., 2010; Wang et al., 2013c).

BTBD1 кодирует белок 1, содержащий домен ВТВ (POZ). С-конец белка связывает топоизомеразу I. N-конец содержит богатый пролином участок и домен ВТВ/POZ, оба из которых обычно задействованы в межбелковых взаимодействиях (RefSeq, 2002).

BUB1B кодирует киназу, задействованную в функции контрольной точки веретена деления. Белок локализован в кинетохоре и играет роль в ингибировании

комплекса/циклосома, стимулирующего анафазу (APC/C), задерживающего начало анафазы и обеспечивающего правильное расхождение хромосом. Нарушения функции контрольной точки веретена деления были обнаружены во многих формах рака. (RefSeq, 2002). BUB1B является белком, ингибирующим опухоль. BUB1B регулирует контрольную точку сборки веретена деления. BUB1B деактивирован, или его уровень понижен в опухолях. Мутации BUB1B связаны также с развитием опухоли (Aylon and Oren, 2011; Fagin, 2002; Malumbres and Barbacid, 2007; Rao et al., 2009). BUB1B ассоциируется с развитием опухоли желудка за счет онкогенной активации (Resende et al., 2010). Мутация BUB1B является одной из причин колоректального рака (Karess et al., 2013; Grady, 2004).

C11orf70 кодирует белок с не охарактеризованной функцией, но относится к связыванию белка-мутанта, который вызывает боковой амиотрофический склероз (Wang et al., 2015i). Уровень C11orf70 понижен в герминогенных опухолях семенника по сравнению с нормальной тканью семенника (Gonzalez-Exposito et al., 2015; Alagaratnam et al., 2009). Генетический участок C11orf70 отражает отклонения в количестве копий ДНК при плоскоклеточных карциномах полости рта, что ассоциируется со смертностью, специфической для рака полости рта (Chen et al., 2015a).

C11orf80 кодирует открытую рамку считывания 80 хромосомы 11 и локализован на хромосоме 11q13.2 (RefSeq, 2002).

C11orf98 кодирует открытую рамку считывания 198 хромосомы 1 и локализован на хромосоме 1q42.2 (RefSeq, 2002).

C20orf24 кодирует открытую рамку считывания 24 хромосомы 20 и локализован на хромосоме 20q11.23 (RefSeq, 2002). C20orf24 играет важную роль в трансформации аденомы в карциному, связанной с хромосомной нестабильностью. C20orf24 имеет существенную избыточную экспрессию в клетках карцином по сравнению с аденомами. C20orf24 может служить в качестве высоко специфического биомаркера колоректального рака (Carvalho et al., 2009).

CAD кодирует трехфункциональный белок карбамоилфосфат-синтазу 2, аспаратат-транскарбамилазу и дигидрооротазу, который катализирует три первые реакции

сигнального пути биосинтеза пиримидина (RefSeq, 2002). Активность CAD повышена при различных видах рака, включая гепатомы, саркомы и аденокарциномы почек, и он очень часто ассоциируется с амплификацией гена CAD (Smith et al., 1990; Aoki and Weber, 1981; Smith et al., 1997). CAD является мишенью различных сигнальных путей, регулирующих онкогенез и опухолегенез, например, MAPK, mTORC1 и c-Myc (Mac and Farnham, 2000; Graves et al., 2000; Sharma et al., 2014). CAD способствует транслокации андрогенного рецептора в ядро и стимулирует его транскрипционную активность в опухолевых клетках предстательной железы. После радикальной простатэктомии более высокий уровень мРНК CAD ассоциируется с локальным распространением опухоли и рецидивом рака (Morin et al., 2012).

CARM1 кодирует аргинин-метилтрансферазу 1, ассоциированную с коактиватором. CARM1 принадлежит к семейству метилтрансфераз аргининов белка (PRMT). Кодированный фермент катализирует метилирование атомов азота гуанидина аргинильных остатков в белках. Этот фермент участвует в экспрессии генов (RefSeq, 2002). Регулирование экспрессии CARM1, как было продемонстрировано, нарушено в клетках колоректального рака и рака предстательной железы, меланомы и рака молочной железы. CARM1 избыточно экспрессируется не только в опухолях предстательной железы, но и в простатических интраэпителиальных неоплазиях (ПИН). CARM1 имеет значимую избыточную экспрессию в немелкоклеточных карциномах легких (НМРЛ). Экспрессия CARM1 повышена в аденомах и имеет абберрантные уровни в карциномах во время гепатоклеточного канцерогенеза (Limm et al., 2013; Osada et al., 2013; Elakoum et al., 2014; Baldwin et al., 2014). CARM1 метилирует хроматин-ремоделирующий фактор BAF155, усиливая прогрессирование опухоли и образование метастазов (Wang et al., 2014a; Stefansson and Esteller, 2014).

CCNA2 кодирует циклин A2, член семейства высоко консервативных циклинов. CCNA2 связывает и активирует киназы CDC2 или CDK2, и, таким образом, способствует переходам как от G1 фазы клеточного цикла к S, так и от G2 к M (RefSeq, 2002). Избыточная экспрессия CCNA2 ингибирует пролиферацию клеток гепатоклеточной карциномы. Избыточная экспрессия CCNA2 в клетках аденокарциномы эндометрия снижает клеточный рост и усиливает апоптоз. Экспрессия CCNA2 в клетках меланомы снижает рост опухоли и развитие

метастазов и одновременно усиливает процесс апоптоза в опухолях (Lau, 2011). CCNA2 может способствовать пролиферации, инвазии, адгезии, дифференциации, выживаемости раковых клеток и метастазированию. Он играет важную роль в ангиогенезе и образовании внеклеточного матрикса. CCNA2 способствует росту опухоли и повышает васкуляризацию опухоли, когда он экспрессируется в избытке клетками аденокарциномы желудка. Выключение экспрессии CCNA2 снижает рост опухоли в клетках рака желудка. CCNA2 может способствовать пролиферации клеток рака предстательной железы (Lau, 2011; Chen and Du, 2007). Избыточная экспрессия CCNA2 индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход, приводя к инвазии и образованию метастазов при опухоли гортани (Liu et al., 2015e). Экспрессия CCNA2 нарушена при колоректальном раке (Chang et al., 2014). CCNA2 экспрессируется в избытке при раке предстательной железы, глиомах, раке поджелудочной железы и раке молочной железы. CCNA2 ассоциируется с повышенной агрессивностью, васкуляризацией и независимостью от эстрогенов при раке молочной железы, что позволяет предположить, что он играет существенную роль в прогрессировании рака молочной железы (Zuo et al., 2010).

CCND1 кодирует циклин D1. Он относится к высоко консервативному семейству циклинов, члены которого характеризуются исключительной частотой присутствия белков в течение клеточного цикла. Мутации, амплификации и избыточная экспрессия CCND1, изменяющего ход клеточного цикла, часто наблюдались в различных опухолях и могут благоприятствовать онкогенезу (RefSeq, 2002). CCND1 амплифицирован и избыточно экспрессирован в случае метастазов в лимфатические узлы при плоскоклеточной карциноме полости рта, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта, немелкоклеточном раке легких, опухолях гипофиза и раке молочной железы (Noorlag et al., 2015; Dworakowska, 2005; Gautschi et al., 2007; Lambros et al., 2007; Yang et al., 2008; Yu and Melmed, 2001). CCND1 в избытке экспрессируется в лимфомах мантийной зоны, нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы, аденомах паращитовидной железы и саркомах Юинга (Navarro et al., 2011; Sander, 2011; Capurso et al., 2012; Delas et al., 2013; Setoodeh et al., 2013; Sanchez et al., 2008; Westin et al., 2009). CCND1 может повышать риск заболевания колоректальным раком (Yang et al., 2012b; Andersen et al., 2013). Генетические изменения CCND1 могут привести к раку мочевого пузыря (Zhang et al., 2003; Baffa et al., 2006).

ССТ3 кодирует шаперонин-содержащий TCP1, субъединицу 3 (гамма), молекулярный шаперон (RefSeq, 2002). Повышенный уровень ССТ3 наблюдается при гепатоклеточной карциноме (Midorikawa et al., 2002; Skawran et al., 2008). ССТ3 является потенциальным новым биомаркером рака яичника (Peters et al., 2005).

ССТ4 кодирует шаперонин-содержащий TCP1, субъединицу 4. ССТ4 поддерживает сворачивание вновь транслированных субстратов полипептидов за счет нескольких циклов АТФ-управляемого высвобождения и повторного связывания частично свернутых промежуточных форм (RefSeq, 2002). Нарушение регуляции ССТ4 приводит к плоскоклеточной карциноме пищевода и аденокарциноме легких (Wang et al., 2015j; Tano et al., 2010). Уровень ССТ4 повышен при раке желудка (Malta-Vacas et al., 2009).

CDC27 кодирует белок 27 цикла клеточного деления. Белок, кодируемый этим геном является компонентом комплекса, стимулирующего анафазу (APC). Этот белок может быть задействован в контроле сроков митоза (RefSeq, 2002). CDC27 способствует повышению устойчивости к лучевому воздействию клеток трижды негативного рака молочной железы и плоскоклеточной карциномы шейки матки, когда его уровень понижен (Rajkumar et al., 2005; Ren et al., 2015). CDC27 играет важнейшую роль в прогрессировании гепатоклеточной карциномы, а также коррелирует с неблагоприятным прогнозом при плоскоклеточной карциноме пищевода и раке поджелудочной железы (Ahn et al., 2014; Wang et al., 2015h). Полиморфизмы CDC27 могут вносить свой вклад в развитие предрасположенности к раку молочной железы за счет влияния на прохождении фазы митоза клетками (Guo et al., 2015). Мутация CDC27 задействована в раке предстательной железы (Lindberg et al., 2013). Мутация CDC27 и понижение уровня имеются в нескольких клеточных линиях карциномы молочной железы и толстой кишки (Fan et al., 2004; Roy et al., 2010; Pawar et al., 2010).

CDK12 кодирует циклин-зависимую киназу 12 и локализован на хромосоме 17q12 (RefSeq, 2002). Мутации CDK12 были идентифицированы в ряду опухолей, включая опухоли яичника, молочной железы, предстательной железы и кишечника (Vrabel et al., 2014).

CDK13 кодирует циклин-зависимую киназу 13, члена семейства циклин-зависимых сериновых/треониновых протеинкиназ. Члены этого семейства известны своими незаменимыми ролями в качестве основных переключателей клеточного цикла. Они могут играть роль в процессинге мРНК и могут быть задействованы в регуляции гемопозза (RefSeq, 2002). CDK13 ассоциируется с раком поджелудочной железы и раком кожи (Ansari et al., 2015; Nelson et al., 1999; Chandramouli et al., 2007). CDK13 амплифицирован при гепатоклеточной карциноме (Kim et al., 2012b).

CDK2 кодирует циклин-зависимую киназу 2, сериновую/треониновую протеинкиназу, которая участвует в регуляции клеточного цикла. Активность этого белка является особенно критичной во время перехода от G1 к S-фазе (RefSeq, 2002). Избыточная экспрессия CDK2 указывает на неправильное регулирование клеточного цикла, что, как предполагается, напрямую связано с гиперпролиферацией раковых клеток (Chohan et al., 2015). CDK2 ассоциируется с лейкемией, колоректальной карциномой, меланомой, неоплазией шейки матки, ассоциированной с человеческим папилломавирусом, раком легких, раком молочной железы и раком предстательной железы (Foster et al., 2001; Zajac-Kaye, 2001; Raso et al., 2013; He et al., 2013; Duensing and Munger, 2002; Hu and Zuckerman, 2014; Agarwal, 2000). CDK2 экспрессируется в высокой степени клетками лимфомы мантийных клеток (Rummel et al., 2004).

CDK5RAP3 кодирует белок 3, ассоциированный с регуляторной субъединицей CDK5. CDK5RAP3 играет роль в сигнальных путях, управляющих регуляцией транскрипции и ходом клеточного цикла. Возможно, он выполняет функции в онкогенезе и метастазировании (RefSeq, 2002). CDK5RAP3 избыточно экспрессируется клетками гепатоклеточной карциномы и способствует образованию метастазов (Mak et al., 2011; Mak et al., 2012).

CDK7 кодирует циклин-зависимую киназу 7, члена семейства циклин-зависимых протеинкиназ. Он является незаменимым компонентом фактора транскрипции TFIIH, который задействован в инициации транскрипции и репарации ДНК. Этот белок, как считается, осуществляет непосредственную связь между регуляцией транскрипции и клеточным циклом (RefSeq, 2002). Генетические полиморфизмы CDK7 за счет его взаимодействия с окружением или с другими генами предрасполагают людей к развитию рака молочной железы (Yoo and Kang, 2003).

CDK7 ассоциируется с повышенным риском возникновения рака поджелудочной железы (Efthimiou et al., 2001). CDK7 ассоциируется с раком молочной железы (Cance and Liu, 1995).

CDK9 кодирует циклин-зависимую киназу 9, члена семейства циклин-зависимых протеинкиназ. Этот белок формирует комплекс и регулируется своей регуляторной субъединицей циклином Т или циклином К (RefSeq, 2002). CDK9, скорее всего, задействован в программе дифференциации нескольких видов клеток, таких как мышечные клетки, моноциты и нейроны. Возможно, что CDK9 имеет антиапоптотическую функцию в моноцитах. Участие CDK9 в нескольких физиологических процессах в клетке может вести к возникновению рака (De and Giordano, 2002).

CELSR3 кодирует рецептор 3 семипроходного кадгерина типа EGF LAG. Кодированный белок может быть задействован в регуляции контакт-зависимого отрастания нейритов и может играть роль в образовании опухоли (RefSeq, 2002). Микроматричный анализ показал, что CELSR3 гиперметилирован при плоскоклеточной карциноме полости рта по сравнению с нормальной слизистой оболочкой полости рта (Khor et al., 2014). CELSR3 ассоциируется с раком яичника и опухолями головного мозга (Asad et al., 2014; Katoh and Katoh, 2007). Уровень CELSR3 повышен в звездчатых клетках рака поджелудочной железы и печени (Erkan et al., 2010).

CEP97 кодирует центросомный белок 97 кДа и локализован на хромосоме 3q12.3 (RefSeq, 2002). CEP97 ассоциируется с раком молочной железы (Rappa et al., 2014).

CFL1 кодирует кофилин 1. Он задействован в транслокации комплекса актин-кофилин из цитоплазмы в ядро (RefSeq, 2002). Мутация CFL1 ассоциируется с множественной эндокринной неоплазией 4 типа и мультиформной глиобластомой (Solomon et al., 2008; Georgitsi, 2010). CFL1 экспрессируется в избытке клетками лимфомы, лейкоза, нейробластомы, рака яичника, предстательной железы, молочной железы и раковых заболеваний легких и клетками мезотелиомы (Rana et al., 2008). Уровень CFL1 понижен в опухолях мужских половых клеток (von Eyben, 2004).

CHD3 кодирует ДНК-связывающий белок 3 с хромодоменом геликазы. Этот белок является одним из компонентов комплекса гистондеацетилазы, называемого комплексом Mi-2/NuRD, который участвует в ремоделировании хроматина за счет деацетилирования гистонов (RefSeq, 2002). Уровень CHD3 повышен при интраэпителиальных неоплазиях поджелудочной железы и карциноме поджелудочной железы (Wang et al., 2011). Мутация CHD3 ассоциируется с раком желудка и колоректальным раком (Kim et al., 2011a). CHD3 экспрессируется в избытке при остром миелолейкозе (Camos et al., 2006).

CHD4 кодирует ДНК-связывающий белок 4 с хромодоменом геликазы. Он представляет основной компонент комплекса ремоделирования нуклеосом и деацетилазы и играет важную роль в эпигенетическом подавлении транскрипции. Соматические мутации этого гена ассоциируются с серозными эндометриоидными опухолями (RefSeq, 2002). CHD4 является новой терапевтической мишенью при остром миелоидном лейкозе (Sperlazza et al., 2015). CHD4 эпигенетически контролирует регуляцию генов и ответ на повреждение ДНК в стволовых клетках рака печени EpCAM+ (Nio et al., 2015). CHD4 модулирует терапевтический ответ в раковых клетках-мутантах BRCA2 (Guillemette et al., 2015). CHD4 ассоциируется с глиобластомой и раком толстой кишки (Cai et al., 2014; Chudnovsky et al., 2014).

CHD5 кодирует ДНК-связывающий белок 5 с хромодоменом геликазы. CHD5 является потенциальным геном-супрессором опухоли, который может играть роль в развитии нейробластомы (RefSeq, 2002). CHD5 действует как ген-супрессор опухоли в глиомах и ряде других опухолей, включая рак молочной железы, толстой кишки, легких, яичника и предстательной железы (Kolla et al., 2014).

CIRH1A (также называемый Cirhin) кодирует белок аутосомно-рецессивного цирроза 1 А, содержащий повторы WD40, локализованный в ядрышках. Он вызывает детский цирроз североамериканских индейцев (NAIC) (RefSeq, 2002). CIRH1A может повышать экспрессию канонического элемента NF-κарраВ и, возможно, участвует в регуляции других генов, содержащих элементы NF-κарраВ. Это позволяет предположить, что CIRH1A может оказывать влияние на сигнальный путь NF-κарраВ, связанный с раком (Yu et al., 2009).

COL1A1 кодирует коллаген, тип 1, альфа 1. Тип 1 – это фибриллообразующий коллаген, обнаруженный в большинстве соединительных тканей и наиболее распространенный в костях, роговой оболочке глаза, слое дермы и сухожилиях. Реципрокные транслокации между хромосомами 17 и 22, где локализован этот ген и ген фактора роста тромбоцитов бета, ассоциируются с конкретным видом опухоли кожи, называемым выбухающая дерматофибросаркома, образующаяся вследствие нарушения регуляции экспрессии фактора роста (RefSeq, 2002). COL1A1 дифференциально экспрессируется в клетках рака желудка (Yasui et al., 2004). COL1A1 ассоциируется с пигментной формой выбухающей дерматофибросаркомы (Zhang et al., 2013c).

COL1A2 кодирует коллаген, тип 1, альфа 2. Тип 1 – это фибриллообразующий коллаген, обнаруженный в большинстве соединительных тканей и наиболее распространенный в костях, роговой оболочке глаза, слое дермы и сухожилиях (RefSeq, 2002). COL1A2 ассоциируется с раком желудка (Yasui et al., 2004; Yasui et al., 2005).

COL6A1 кодирует коллаген, тип 6, альфа 1. Коллаген VI является основным структурным компонентом микрофибрилл. Мутации этих генов, кодирующих субъединицы коллагена VI, приводят к аутосомно-доминантному нарушению под названием миопатия Бетлема (RefSeq, 2002). Уровень экспрессии COL6A1 повышен в реактивной строме кастрат-резистентного рака предстательной железы и способствует росту опухоли (Zhu et al., 2015c). COL6A1 избыточно экспрессируется в клетках рака поджелудочной железы CD166-, которые демонстрируют более сильные инвазивные и миграционные свойства, чем раковые клетки CD166+ (Fujiwara et al., 2014). COL6A1 экспрессируется в высокой степени в костных метастазах (Blanco et al., 2012). Было обнаружено, что уровень COL6A1 повышен в раке шейки матки и яичника (Zhao et al., 2011; Parker et al., 2009). COL6A1 дифференциально экспрессируется в астроцитомах и глиобластомах (Fujita et al., 2008).

COL6A3 кодирует коллаген, тип VI, альфа 3, одну из трех альфа-цепей коллагена VI типа, коллагена, формирующего филаменты-бусины, представленного в большинстве соединительных тканей, и важного в организации компонентов матрикса (RefSeq, 2002). COL6A3 кодирует цепь альфа-3 коллагена VI типа,

коллагена, формирующего филаменты-бусины, представленного в большинстве соединительных тканей и играющего важную роль в организации компонентов матрикса (RefSeq, 2002). COL6A3 экспрессируется вследствие альтернативного сплайсинга при раке толстой кишки, мочевого пузыря и предстательной железы. Длинная изоформа COL6A3 экспрессируется практически исключительно в раковых образцах и могла бы потенциально служить в качестве нового маркера рака (Thorsen et al., 2008). COL6A3 экспрессируется в высокой степени в тканях протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и подвергается опухолеспецифическому альтернативному сплайсингу (Kang et al., 2014). COL6A3, как было продемонстрировано, коррелирует с раком яичника высокой степени злокачественности и способствует развитию устойчивости к цисплатину. Наблюдалось, что COL6A3 часто экспрессируется в избытке в тканях рака желудка (Xie et al., 2014). Мутация(и) COL6A3 значимо предсказывала(и) лучшую общую выживаемость у пациентов с колоректальными карциномами вне зависимости от дифференциации опухоли и стадии по системе TNM (Yu et al., 2015b). Уровень экспрессии COL6A3, как сообщалось, повышен при раке поджелудочной железы, раке толстой кишки, раке желудка, глиобластоме, плоскоклеточном раке и раке яичника. Варианты транскриптов, ассоциированные с раком, включая экзоны 3, 4 и 6, были обнаружены в клетках рака толстой кишки, рака мочевого пузыря, предстательной железы и рака поджелудочной железы (Arafat et al., 2011; Smith et al., 2009; Yang et al., 2007; Xie et al., 2014; Leivo et al., 2005; Sherman-Baust et al., 2003; Gardina et al., 2006; Thorsen et al., 2008). При раке яичника уровни COL6A3 коррелировали с более высокой степенью злокачественности, а при раке поджелудочной железы, как было продемонстрировано, COL6A3 представлял собой подходящий диагностический биомаркер сыворотки (Sherman-Baust et al., 2003; Kang et al., 2014).

COPG1 (также называемый COPG) кодирует субъединицу гамма коацерватного комплекса белков (COP1), который опосредует ретроградный транспорт из аппарата Гольджи обратно в ЭР и внутри аппарата Гольджи. COPG1 связывается с ARF-GAP (Waters et al., 1991; Watson et al., 2004). COPG1 коррелирует с возрастом пациентов, а также с более высокой степенью злокачественности и степенью глиосарком (Corrolo et al., 2014). COPG1, как было обнаружено, обильно экспрессируется клетками рака легких и эндотелиальными клетками, связанными с клетками рака легких (Park et al., 2008).

CREB3L1 кодирует белок 1, подобный 3, связывающийся с элементами ответа на цАМФ. В ответ на стресс ЭР CREB3L1 расщепляется и высвобождающийся домен цитоплазматического фактора транскрипции перемещается в ядро. Там он активирует транскрипцию генов-мишеней за счет связывания с элементами В-бокса (RefSeq, 2002). Мутации CREB3L1 часто обнаруживаются при склерозирующей эпителиоидной фибросаркоме (SEF) (Prieto-Granada et al., 2015). CREB3L1 индуцируется стрессом ЭР в клеточных линиях глиомы человека и вносит свой вклад в получении ответа на присутствие несвернутых белков, образование внеклеточного матрикса и миграцию клеток (Vellanki et al., 2013). CREB3L1 эпигенетически выключен при раке мочевого пузыря, способствуя распространению и миграции раковых клеток (Rose et al., 2014). CREB3L1 играет важную роль в подавлении онкогенеза при раке молочной железы. Для развития метастатического фенотипа необходима потеря экспрессии. (Mellor et al., 2013).

CSTF1 кодирует фактор стимуляции расщепления, 3' пре-РНК, субъединицу 1, 50 кДа. Он участвует в полиаденилировании и расщеплении пре-мРНК на конце 3' (RefSeq, 2002). Вариация в CSTF1, как было обнаружено, ассоциируется с риском возникновения рака молочной железы у носителей мутации BRCA2 (Blanco et al., 2015).

CTHRC1 кодирует белок 1, содержащий повтор с тройной спиралью коллагена. CTHRC1 может играть роль в клеточном ответе на повреждение артерий за счет участия в ремоделировании сосудов. Мутации в этом локусе ассоциируются с синдромом Баррета и аденокарциномой пищевода (RefSeq, 2002). CTHRC1 демонстрирует повышенную экспрессию при раке желудка и протоковой карциноме молочной железы (Kim et al., 2013b; Yu et al., 2015a; Song et al., 2015). Уровень CTHRC1 повышен при колоректальном раке (Yan et al., 2015a; Yan et al., 2015b). Экспрессия CTHRC1 в высокой степени коррелирует с прогрессированием гепатоклеточной карциномы у пациентов, инфицированных вирусом гепатита В. CTHRC1 усиливает формирование колоний, миграцию и инвазию клеток гепатомы (Tameda et al., 2014; Zhang et al., 2015b). CTHRC1 экспрессируется в избытке при немелкоклеточном раке легких. Избыточная экспрессия ассоциируется с агрессивностью опухоли и неблагоприятным прогнозом (Ke et al., 2014b). Уровень CTHRC1 повышен при плоскоклеточной карциноме пищевода и аденокарциноме

Баррета (Timme et al., 2014). CTHRC1 способствует клеточной адгезии и выживаемости при меланоме (Ip et al., 2011).

CXCL5 кодирует лиганд 5 хемокина с участком C-X-C. Предполагают, что этот белок связывается со связанным с G-белком рецептором 2 хемокина с мотивом C-X-C для мобилизации нейтрофилов, стимуляции ангиогенеза и ремоделирования соединительных тканей. Как считается, этот белок играет роль в пролиферации, миграции и инвазии раковых клеток (RefSeq, 2002). CXCL5 играет основную роль в выживаемости, росте и метастазировании клеток почечноклеточной карциномы (Parihar and Tunuguntla, 2014). CXCL5 задействован в переходе от хронического воспаления к раку пищевода и желудка (Verbeke et al., 2012). CXCL5 ассоциируется с острым миелолейкозом (Kittang et al., 2010).

DCBLD2 кодирует дискоидин, белок 2, содержащий домены CUB и LCCL, имеющий также название нейропиплин-подобный эндотелиальный и образованный из клеток гладких мышц трансмембранный ко-рецепторный белок (RefSeq, 2002). Уровень DCBLD2 повышен при глиобластоме и раковых опухолях головы и шеи (РГШ) и необходим для стимулируемого EGFR онкогенеза (Feng et al., 2014). Кроме того, уровень DCBLD2 повышен в сублиниях и образцах ткани высоко метастатического рака легких (Koshikawa et al., 2002). Напротив, экспрессия DCBLD2 подавлена при гиперметилировании его промотора при раке желудка (Kim et al., 2008).

DDX43 кодирует полипептид 43, имеющий в своем составе DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)-бокс. DDX43 является АТФ-зависимой РНК-геликазой и демонстрирует опухолеспецифическую экспрессию (RefSeq, 2002). DDX43 экспрессируется в избытке клетками увеальных меланом и острого и хронического миелоидного лейкоза (Chen et al., 2011a; Lin et al., 2014b; Ambrosini et al., 2014). DDX43 является биомаркером прогноза рака молочной железы (Wiese and Pajeva, 2014). DDX43 экспрессируется в клеточных линиях глиом (Akiyama et al., 2014).

DDX53 кодирует полипептид 53, имеющий в своем составе DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)-бокс. DDX53 содержит несколько доменов, обнаруженных у членов белкового семейства геликаз DEAD-бокс (RefSeq, 2002). Раково-тестикулярный антиген DDX53 и осуществляет негативную регуляцию экспрессии p53 за счет HDAC2 и придает резистентность к противораковым лекарственным препаратам (Kim et al.,

2010b). miR-200b и раково-тестикулярный антиген DDX53 образуют петлю обратной связи в целях регуляции инвазии и онкогенных и ангиогенных реакций линии раковых клеток на лекарственные препараты, мишенями которых являются микротрубочки (Kim et al., 2013c). miR-217 и DDX53 образуют петлю обратной связи для регуляции ответа на противораковые препараты за счет сигнальных путей EGFR и HER2 (Kim et al., 2016). DDX53 является одним из нескольких генов с аномальным статусом гипометилирования ДНК при лейомиоме матки (Maekawa et al., 2011). В линиях клеток, полученных из 21 злокачественного заболевания В-клеток и 4 злокачественных заболеваний Т-клеток, наблюдался широкий профиль экспрессии мРНК для DDX53 (Liggins et al., 2010).

DNAJC7 кодирует гомолог DnaJ (Hsp40), подсемейство С, члена 7, члена белкового семейства DNAJ белков теплового шока (HSP) 40. Этот белок связывается с белками-шаперонами HSP70 и HSP90 АТФ-зависимым образом и может выполнять функцию ко-шаперона (RefSeq, 2002). DNAJC7 усиливает стабильность и активность p53 за счет блокировки образования комплекса между p53 и MDM2 (Kubo et al., 2013).

DPP9 кодирует дипептидилпептидазу 9. DPP9, скорее всего, задействован в регуляции активности своих субстратов и связан с различными заболеваниями, в том числе сахарным диабетом 2 типа и раком (RefSeq, 2002). Возможно, что DPP9 играет роль в развитии рака молочной железы и яичника (Wilson and Abbott, 2012). DPP9 играет важную сигнальную роль в регуляции сигнальных путей выживания и пролиферации клеток (Yao et al., 2011). Уровни мРНК DPP9 повышены в опухолях яичка (Yu et al., 2010). DPP9 избыточно экспрессируется в менингиомах (Stremenova et al., 2010).

DPYD (также известный как DPD) кодирует дигидропиримидин дегидрогеназу, фермент катаболизма пиримидинов и первичный скорость-лимитирующий фактор в сигнальном пути катаболизма урацила и тимидина. Мутации этого гена приводят к дефициту дигидропиримидин-дегидрогеназы, ошибке в метаболизме пиримидинов, ассоциированной с тимидин-урацилурией, и повышенному риску токсичности у пациентов, больных раком, получающих химиотерапию на основе 5-фторурацила (RefSeq, 2002). Уровень экспрессии DPYD может быть использован как предсказательный фактор эффективности химиотерапии при раке желудка

(Wan et al., 2016). Статистически значимые ассоциации были обнаружены между вариантами DPYD и повышенной частотой возникновения нежелательных явлений 3 степени тяжести и выше, связанных с фторурацилом, у пациентов, проходивших лечение адъювантной комбинированной химиотерапией на основе фторурацила (Cavalcante et al., 2015; Lee et al., 2016; Boige et al., 2016). Существует корреляция между полиморфизмом DPYD и экспрессией KRAS дикого типа при колоректальном раке (Kleist et al., 2015). Повышенный уровень экспрессии гена DPYD приводит к токсическому воздействию фторпиримидина при колоректальном раке (Chai et al., 2015; Falvella et al., 2015; van Staveren et al., 2015; Nakamura et al., 2015; Chen et al., 2015c; Hu et al., 2015b). Полиморфная экспрессия DPYD может быть важна в определении ответа на лечение у пациентов с раком головы и шеи, раком поджелудочной железы, плоскоклеточной карциномой пищевода, раком пищеварительной системы, раком желудка, гепатоклеточной карциномой и колоректальным раком (Kim et al., 2015; Toffoli et al., 2015; Ishizuka et al., 2015; Baba et al., 2015; Launay et al., 2016; Kikuchi et al., 2015; Li et al., 2016; Shimamoto et al., 2016; Bai et al., 2015; Dhawan et al., 2016).

DROSHA, один из двух важнейших ферментов для синтеза микроРНК, избыточно экспрессируется в клетках нескольких видов рака, в том числе гастроинтестинальных опухолей, рака молочной железы и рака шейки матки и, по-видимому, усиливает пролиферацию, образование колоний и миграцию опухолевых клеток (Avery-Kiejda et al., 2014; Havens et al., 2014; Zhou et al., 2013).

DSEL кодирует белок, подобный дерматансульфат-эпимеразе, и локализован на хромосоме 18q22.1 (RefSeq, 2002). DSE является важным паралогом DSEL. DSE является иммуногенной мишенью в иммунотерапии гепатоклеточной карциномы и колоректальной карциномы (Mizukoshi et al., 2011; Sasatomi et al., 2002).

DST (также известный как антиген буллезного пемфигоида 1 (BPAG1)) кодирует дистонин, члена семейства белков плакинов, адгезивных белков, участвующих в формировании бляшек сцепления. Изоформа полной длины не определена, тем не менее, имеется несколько изоформ, экспрессируемых в нервной и мышечной ткани или в эпителиальной ткани, обеспечивая заякоривание либо промежуточных филаментов нервных клеток на актиновом цитоскелете, либо кератин-содержащих промежуточных филаментов – на полудесмосомах (RefSeq, 2002; Bouameur et al.,

2014; Li et al., 2007). DST может быть связан с метастазированием рака молочной железы (Sun et al., 2006). Аутоантитела к DST могут быть обнаружены при лимфоцитарном лейкозе и фолликулярных лимфомах (Aisa et al., 2005; Taintor et al., 2007). Уровень DST повышен в клетках 5-8F (высокий онкогенный и метастатический потенциал) по сравнению с клетками 6-10B (онкогенные, но не способные к метастазированию) при назофарингеальной карциноме (Fang et al., 2005). DST экспрессируется в высокой степени при плоскоклеточной карциноме головы и шеи (Lin et al., 2004). К DST имеются аутоантитела при паранеопластической пузырьчатке, которая ассоциируется с неоплазиями (Yong and Tey, 2013; Wang et al., 2005; Preisz and Karpati, 2007; Zhu and Zhang, 2007). Экспрессия DST при раке предстательной железы имеет четкую обратную корреляцию с прогрессированием (Vanaja et al., 2003). Аутоантитела к DST являются многообещающим маркером для постановки диагноза меланомы (Shimbo et al., 2010). DST может быть обнаружен в моче пациентов с раковой кахексией (Skipworth et al., 2010). DST дифференциально экспрессируется в аденокарциномах и плоскоклеточных карциномах легких (McDoniels-Silvers et al., 2002). Уровень DST отчетливо повышается при начале инвазивного роста клеток (Herold-Mende et al., 2001).

DYNC1H1 кодирует тяжелую цепь 1 динеина, субъединицу основного моторного белка ретроградного транспорта по микротрубочкам. В исследовании по полноэкзомному секвенированию были выявлены соматические мутации внутри гена DYNC1H1 у пациентов с интрадуктальными папиллярными муцинозными опухолями поджелудочной железы (Furukawa et al., 2011).

EIF3C кодирует эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединицу C и локализован на хромосоме 16p11.2 (RefSeq, 2002). EIF3C экспрессируется в избытке и способствует пролиферации клеток в клетках типа U-87 MG человека (Hao et al., 2015). EIF3C экспрессируется в высокой степени в клетках рака толстой кишки (Song et al., 2013). мРНК EIF3C избыточно экспрессируется в семиномах яичка (Rothe et al., 2000).

EIF3CL кодирует эукариотический фактор инициации трансляции 3, подобный C-субъединице. Он локализован на хромосоме 16p11.2 (RefSeq, 2002).

EIF3C кодирует эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединицу E и локализован на хромосоме 8q22-q23 (RefSeq, 2002). EIF3E, возможно, играет роль в онкогенезе плоскоклеточной карциномы полости рта (Yong et al., 2014). EIF3E является необходимым для пролиферации и выживаемости клеток глиобластомы (Sesen et al., 2014). EIF3E играет онкогенную роль в прогрессии рака молочной железы. Пониженные уровни экспрессии EIF3E вызывают эпителиально-мезенхимальный переход в эпителиальных клетках молочной железы (Gillis and Lewis, 2013; Grzmil et al., 2010). Уровень экспрессии EIF3E значимо повышен при раке мочевого пузыря (Chen et al., 2011b). EIF3E задействован в развитии немелкоклеточной карциномы легких (Marchetti et al., 2001).

EXT2 кодирует экзостозин гликозилтрансферазу 2, одну из двух гликозилтрансфераз, задействованных в стадии элонгации цепи в процессе биосинтеза гепаринсульфата. Мутации данного гена вызывают форму II типа множественного экзостоза (RefSeq, 2002). Мутация EXT2 играет роль в хондросаркоме (Samuel et al., 2014). Мутация EXT2 является причиной синдрома множественной остеохондромы (Jochmann et al., 2014). Мутация EXT2 вызывает наследственные множественные экзостозы, приводя к дефициту гепарансульфата (Huegel et al., 2013).

F2R (также известный как PAR1) кодирует рецептор тромбина, фактора коагуляции II, трансмембранный рецептор, задействованный в регуляции тромботического ответа (RefSeq, 2002). F2R связывается с плекстрин-гомологичным доменом (PH) Etk/Bmx. Мутант F2R, который неспособен связываться с PH-доменом, снижает инвазию опухолей молочной железы вневорсинчатых трофобластов (Kancharla et al., 2015). F2R, как считается, стимулирует инвазию рака и развитие метастазов, способствуя миграции клетки опухоли, ангиогенезу и взаимодействию с клетками сосудов организма-хозяина (Wojtukiewicz et al., 2015). Снижение уровня экспрессии F2R ведет к гибели раковых клеток (Burns and Thevenin, 2015). Полиморфизмы F2R ассоциируются с острыми повреждениями у пациентов с раком прямой кишки (Zhang et al., 2015a). F2R коррелирует с неблагоприятным прогнозом, в особенности для пациентов с ЭР-негативным раком молочной железы (Lidfeldt et al., 2015). Мыши с дефицитом F2R демонстрировали замедленный рост клеток аденокарциномы толстой кишки (Adams et al., 2015). Матричная металлопротеиназа (MMP)-1 активирует F2R для индукции ангиогенеза (Fan et al.,

2015). F2R задействован в снижении уровня PTEN при раке легких (Xu et al., 2015). Активация F2R индуцирует сигнальный путь Hippo-YAP, который коррелирует с эпителиально-мезенхимальным переходом (Jia et al., 2015; Owens et al., 2015; Yang et al., 2015a; Fujimoto et al., 2015). Ингибирование активации F2R уменьшает миграцию раковых клеток и инвазию при HER-2-негативном раке молочной железы, гепатоклеточной карциноме и раке желудка (Mussbach et al., 2015; Wang et al., 2015g; Gonda et al., 2015).

FADS2 кодирует десатуразу 2 жирных кислот, члена семейства генов десатураз жирных кислот. Ферменты десатуразы регулируют ненасыщенность жирных кислот за счет введения двойных связей между определенными атомами углерода жирнокислотной цепи (RefSeq, 2002). Повышенный уровень FADS2 имеется при гепатоклеточной карциноме (Muir et al., 2013). Активность FADS2 повышена в ткани молочной железы (Pender-Cudlip et al., 2013). Экспрессия FADS2 ассоциируется с агрессивностью рака молочной железы (Lane et al., 2003). Ингибирование FADS2 замедляет онкогенез кишечника (Hansen-Petrik et al., 2002).

FADS3 кодирует десатуразу 3 жирных кислот. Ферменты десатуразы регулируют ненасыщенность жирных кислот за счет введения двойных связей между определенными атомами углерода жирнокислотной цепи (RefSeq, 2002).

FAM83D кодирует семейство со сходством последовательности 83, члена D, и локализован на хромосоме 20q11.23 (RefSeq, 2002). Повышение уровня FAM83D воздействует на пролиферацию и инвазию клеток гепатоклеточной карциномы (Wang et al., 2015a; Liao et al., 2015). Уровень FAM83D значимо повышен в клеточных линиях рака молочной железы и в клетках первичного рака молочной железы человека (Wang et al., 2013e).

FN1 кодирует фибронектин 1, гликопротеин, присутствующий в димерной растворимой форме в плазме крови и в димерной или мультимерной форме – на поверхности клетки и во внеклеточном матриксе. Он задействован в процессах клеточной адгезии и миграции, включая эмбриогенез, заживление ран, коагуляцию крови, защиту организма хозяина и метастазирование (RefSeq, 2002). FN1 является важным опухолеассоциированным агентом, мишенью которого является ангиогенез (Sollini et al., 2015). FN1 является одним из нескольких биомаркеров рака

поджелудочной железы (Ansari et al., 2014). FN1 является одним из многочисленных факторов, отвечающих за развитие резистентности к эндокринной терапии при раке молочной железы. Регуляция FN1 существенно нарушена, и он способствует опухолевой прогрессии и распространению метастазов при раке молочной железы (Oskarsson, 2013; Zheng et al., 2014). Он является биомаркером эпителиально-мезенхимального перехода при плоскоклеточной карциноме (Scanlon et al., 2013). FN1 играет важную роль при множественной миеломе (Neri and Bahlis, 2012).

FUCA2, секретлируемая форма  $\alpha$ -L-фукозидазы 2 человека, был идентифицирован в качестве ключевого фермента, отвечающего за трансфер L-фукозы. Этот гидролитический фермент, как было обнаружено, необходим для адгезии *H. pylori* к клеткам рака желудка человека и демонстрирует мощный потенциал в качестве диагностического маркера и мишени для лечения рака желудка, ассоциированного с *H. pylori* (Liu et al., 2009).

GCG кодирует глюкагон. Это гормон поджелудочной железы, который препятствует действию инсулина по снижению уровня глюкозы за счет стимуляции гликогенолиза и гликонеогенеза. Он является лигандом для специфического рецептора, связанного с G-белком, сигнальный путь которого контролирует пролиферацию клеток (RefSeq, 2002). Визуализация рецептора GCG, возможно, представляет собой потенциальный инструмент для оценки массы бета-клеток поджелудочной железы. Он также может стать мишенью для визуализации других опухолей, например, гастриномы, феохромоцитомы и медуллярного рака щитовидной железы (Hubalewska-Dydejczyk et al., 2015). GCG играет ключевую роль в процессе канцерогенеза в толстой кишке (Kannen et al., 2013). GCG является перспективной меткой для нейроэндокринных опухолей (Reubi and Maescke, 2008).

GFPT2 кодирует глутаминфруктозо-6 фосфаттрансаминазу 2 и локализован на хромосоме 5q34-q35 (RefSeq, 2002). GFPT2 играет важную роль при раке молочной железы и лимфоцитарном лейкозе (Kuang et al., 2008; Simpson et al., 2012).

GPN1 кодирует ГТФазу 1 GPN-петли и локализован на хромосоме 2p23.3 (RefSeq, 2002). GPN1 является цитоплазматической ГТФазой, задействованной во внутриядерной локализации гена репарации ДНК ХРА, критического фактора,

контролирующего сигнальные пути эксцизионной репарации нуклеотидов (Nitta et al., 2000).

GRIK2 кодирует глутаматный рецептор, ионотропный, каинатный 2. Мутации этого гена ассоциируются с аутосомно-рецессивной умственной отсталостью (RefSeq, 2002). TRMT11-GRIK2 является одним из нескольких химерных транскриптов, обнаруженных в клетках рака предстательной железы, и он ассоциируется с агрессивностью опухоли (Yu et al., 2014). Однонуклеотидные полиморфизмы GRIK2 ассоциируются с повышенным риском или предрасположенностью к раку полости рта (Bhatnagar et al., 2012). GRIK2 является потенциальным биомаркером рака легких (Rauch et al., 2012). Инактивация GRIK2 делецией хромосомы может благоприятствовать развитию Т-клеточных лимфом. Инактивация GRIK2 играет роль при канцерогенезе опухоли желудка (Resende et al., 2011; Lopez-Nieva et al., 2012).

GRIK3 кодирует белок-рецептор глутаматный, ионотропный, каинатный 3. Он относится к семейству рецепторов глутамата, которые преимущественно являются доминирующими рецепторами возбуждающих нейротрансмиттеров в головном мозге млекопитающих и активируются в ходе многих нормальных нейрофизиологических процессов (RefSeq, 2002). GRIK3 ассоциируется с аденокарциномой легких (метилирование, функциональные модификации), опухолями центральной нервной системы у детей, лимфоцитарным лейкозом и нейробластомой (Pradhan et al., 2013). GRIK3 дифференциально экспрессируется в нескольких опухолях центральной нервной системы у детей (Brocke et al., 2010).

GSK3B кодирует киназу 3-бета гликогенсинтазу. Он задействован в метаболизме энергии, развитии нервных клеток и формировании типа туловища (RefSeq, 2002). Аберрантная регуляция GSK3B, как было показано, способствует росту клеток при некоторых видах рака, супрессируя его в других случаях, и может играть важную роль при раке пищевода (Gao et al., 2014b). Регулирование экспрессии GSK3B нарушено при множественной глиобластоме (Atkins et al., 2013). GSK3B с нарушенной регуляцией стимулирует рак желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и печени (Miyashita et al., 2009).

HLA-A кодирует главный комплекс гистосовместимости 1 А класса, который играет центральную роль в иммунной системе за счет презентации пептидов, образованных из полости эндоплазматического ретикулула (RefSeq, 2002). Потеря антигенов HLA-A представляет собой распространенную особенность опухолей человека. Снижение доли HLA-A, HLA-B и HLA-C-положительных клеток, выборочная потеря конкретных антигенов и полная потеря экспрессии молекулы 1 класса документально подтверждена для меланом, карцином, лимфом, нейробластом и острых лейкозов (Garrido and Ruiz-Cabello, 1991; Salerno et al., 1990). Экспрессия HLA-A при раке желудка и раке пищевода регулируется преимущественно сигнальным путем MAPK, и отчасти она находится под влиянием сигнального пути Akt, обеспечивая четкую обратную корреляцию между экспрессией p-Erk и экспрессией HLA 1 класса в клинических образцах опухолей (Mimura et al., 2013).

HNRNPU (называемый также SAF-A) кодирует гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин U, принадлежащий к подсемейству гетерогенных ядерных рибопротеинов (гяРНП), связывающихся с РНК, которое ассоциируется с процессингом пре-мРНК и другими аспектами метаболизма и транспорта мРНК в ядре. Как считается, HNRNPU участвует в упаковке гяРНК в крупные рибонуклеопротеиновые комплексы (RefSeq, 2002). Повышенный уровень miR-193a-3p, который ингибирует метастазирование при раке легких, снижает уровень экспрессии HNRNPU (Deng et al., 2015b). Длинные некодирующие РНК H19 могут - за счет ассоциации с белковым комплексом HNRNPU/PCAF/RNAPol II - активировать сигнальный путь miR-200, тем самым, способствуя мезенхимально-эпителиальному переходу клеточного цикла и подавлению развития метастазов опухоли при гепатоклеточной карциноме (Zhang et al., 2013d). HNRNPU взаимодействует с SOX2, ключевым геном сохранения стволовости эмбриональных и взрослых стволовых клеток, который, по-видимому, реактивируется при нескольких видах рака у человека (Fang et al., 2011).

HSPA2 кодирует белок теплового шока 70-2, специфический для семенника, необходимый для роста сперматоцитов и раковых клеток. Различные исследования позволяют предположить, что HSPA2 играет важную роль в прогрессии рака шейки матки, почечно-клеточной карциномы и рака мочевого пузыря. Полиморфизмы

этого гена ассоциируются с развитием рака желудка (Ferrer-Ferrer et al., 2013; Garg et al., 2010a; Garg et al., 2010b; Singh and Suri, 2014).

HSPA8, как было показано, избыточно экспрессируется при плоскоклеточной карциноме пищевода. Высокие уровни экспрессии HSPA8 в клетках рака пищевода противодействовали вызванному окислительным стрессом апоптозом этих клеток *in vitro*. Кроме того, HSPA8 экспрессируется в избытке при множественной миеломе и карциноме толстой кишки, и индуцированная BCR-ABL1 экспрессия HSPA8 способствует выживаемости клеток при хроническом миелолейкозе (Chatterjee et al., 2013; Dadkhah et al., 2013; Jose-Eneriz et al., 2008; Kubota et al., 2010; Wang et al., 2013a).

HSPA8P8 является псевдогеном (RefSeq, 2002).

HSPA9 кодирует белок теплового шока 9, 70 кДа. Этот белок играет роль в клеточной пролиферации, реакции на стресс и поддержании функций митохондрий (RefSeq, 2002). HSPA9 регулирует клеточные процессы, от вирусной инфекции до нейродегенерации, куда также входит канцерогенез (Flachbartova and Kovacech, 2013). Уровень HSPA9 повышен при гепатоклеточной карциноме и колоректальном раке (Rozenberg et al., 2013; Chen et al., 2014a; Kuramitsu and Nakamura, 2005). HSPA9 играет роль в развитии рака желудка (Ando et al., 2014). HSPA9 является потенциальной терапевтической мишенью улучшенного метода лечения рака яичника, устойчивого к лекарственным средствам (Yang et al., 2013).

IGDCC4 кодирует члена 4 надсемейства иммуноглобулинов, подкласс DCC, и локализован на хромосоме 15q22.31 (RefSeq, 2002). GDCC4 экспрессируется при гепатоклеточной карциноме (Joy and Burns, 1988; Marquardt et al., 2011). GDCC4 играет роль при остром лимфобластном лейкозе (Taylor et al., 2007).

IGF2BP3 кодирует инсулиноподобный фактор роста II мРНК-связывающий белок 3, онкофетальный белок, который подавляет трансляцию инсулиноподобного фактора роста II (RefSeq, 2002). Несколько исследований показали, что IGF2BP3 участвует в различных важных аспектах клеточных функций, таких как клеточная поляризация, миграция, морфология, метаболизм, пролиферация и дифференциация. Исследования *in vitro* показали, что IGF2BP3 способствует

пролиферации, адгезии и инвазии опухолевых клеток. Кроме того, было продемонстрировано, что IGF2BP3 ассоциируется с агрессивными видами рака и поздними стадиями (Bell et al., 2013; Gong et al., 2014). Избыточную экспрессию IGF2BP3 описывали при многочисленных видах раковых опухолей, и она коррелировала с неблагоприятным прогнозом, поздней стадией опухолей и метастазами, как, например, при нейробластоме, колоректальной карциноме, внутripеченочной холангиокарциноме, гепатоклеточной карциноме, раке предстательной железы и почечноклеточной карциноме (Bell et al., 2013; Findeis-Hosey and Xu, 2012; Hu et al., 2014a; Szarvas et al., 2014; Jeng et al., 2009; Chen et al., 2011c; Chen et al., 2013; Hoffmann et al., 2008; Lin et al., 2013b; Yuan et al., 2009).

IPO5 кодирует импортин 5, члена семейства импортин-бета. Импортин-5 необходим в транслокации белков через ядерный поровый комплекс (RefSeq, 2002).

IPO7 кодирует импортин 7. Этот важный импортин альфа/бета-комплекс и ГТФаза Ran опосредуют перемещение белков в ядро за счет классического сигнала ядерной локализации (RefSeq, 2002). IPO7 часто экспрессируется в избытке при раке (Golomb et al., 2012). Регуляция экспрессии IPO7 нарушена при глиобластоме, Ходжкинской лимфоме и раке молочной железы (Jung et al., 2013; Ju et al., 2013; Nagel et al., 2014; Xue et al., 2015). IPO7 является мишенью микроРНК, уровень которой понижен при карциноме предстательной железы (Szczyrba et al., 2013). Повышенные уровни мРНК IPO7 при колоректальной карциноме ассоциируются с повышенной пролиферацией (Li et al., 2000).

IQGAP3 кодирует члена семейства GAP, содержащего IQ-мотив, который действует как интерфейс между сигнальными путями клеток и цитоскелетом. IQGAP3 регулирует отращивание нейритов, стимулируемое Rac1/Cdc42, и взаимодействует напрямую с кальмодулином и легкой цепью миозина (Wang et al., 2007; Atcheson et al., 2011). IQGAP3 экспрессируется в избытке клетками рака легких и ассоциируется с ростом, миграцией и инвазией опухолевых клеток. Кроме того, его уровень повышен при амплификации хромосом в гепатоклеточной карциноме, и уровень экспрессии IQGAP3 повышен у пациентов, больных колоректальным раком с p53-мутацией, с плохой выживаемостью (Katkooori et al., 2012; Yang et al., 2014b; Skawran

et al., 2008). IQGAP3 модулирует сигнальный каскад EGFR/Ras/ERK и взаимодействует с Rac/Cdc42 (Yang et al., 2014b; Kunitomo et al., 2009).

KDEL1 кодирует KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) рецептор удержания белков в эндоплазматическом ретикулуме 1. KDEL1 имеет схожую структуру и функции, как и дрожжевой продукт гена ERD2 (RefSeq, 2002). KDEL1 играет роль в онкогенезе (Yi et al., 2009). Пониженные уровни KDEL1 были обнаружены в клетках гепатомы (Hou et al., 2015). Снижение уровня экспрессии KDEL1 наблюдалось при миелолейкозе (Caldarelli et al., 2013).

KPNA2 кодирует альфа-кариоферин 2. KPNA2 может быть задействован в ядерном транспорте белков (RefSeq, 2002). Регуляция экспрессии KPNA2 нарушена при эпителиальном раке яичника (Lin et al., 2015). Уровень экспрессии KPNA2 понижен при крупных опухолях типа плоскоклеточная карцинома полости рта в сравнении с малыми опухолями (Diniz et al., 2015). KPNA2 вносит свой вклад в аберрантную локализацию ключевых белков и неблагоприятный прогноз при раке молочной железы (Alshareeda et al., 2015). Экспрессия KPNA2 существенно повышена при уротелиальной карциноме верхних мочевых путей и раке эндометрия (Ikenberg et al., 2014; Shi et al., 2015). KPNA2 способствует росту опухоли при гепатоклеточной карциноме (Hu et al., 2014b).

KRT19 кодирует члена семейства кератинов. Кератины – это белки промежуточных филаментов, отвечающие за структурную целостность эпителиальных клеток, и они подразделяются на цитокератины и кератин волос. KRT19 специфически экспрессируется в перидерме, временном поверхностном слое, который покрывает развивающуюся эпидерму (RefSeq, 2002). Экспрессия KRT19 в опухолевых клетках является прогностическим маркером нескольких видов опухолей, таких как рак молочной железы, легких, яичника и гепатоклеточный рак (Skondra et al., 2014; Gao et al., 2014a; Liu et al., 2013a; Lee et al., 2013). Как было показано, KRT19 является независимым прогностическим фактором нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, в особенности инсулин-негативных опухолей. KRT19-положительные опухоли ассоциируются с неблагоприятным исходом вне зависимости от установленных патологических параметров, таких как размер, митозы, лимфоваскулярная инвазия и некроз (Jain et al., 2010).

KRT8 (также называемый СК8) кодирует члена семейства кератинов II типа, который димеризуется с кератином 18 до образования промежуточного филамента в клетках однослойного эпителия. KRT8 играет роль в поддержании целостности клеточной структуры, а также имеет функцию в сигнальной трансдукции и дифференциации клеток (RefSeq, 2002). Уровень KRT8 повышен, и он секретируется из различных раковых клеток, включая рак легких, предстательной железы и молочной железы. Высокие уровни KRT8 коррелируют с усилением миграции и инвазии (Gonias et al., 2001; Kuchma et al., 2012; Fukunaga et al., 2002; Takei et al., 1995). Сигнальный путь MEK/ERK регулирует фосфорилирование KRT8, индуцируемое сфингозил-фосфорихолином по Ser431. Оно приводит к реорганизации кератинового цитоскелета и впоследствии усиливает миграцию опухолевых клеток (Busch et al., 2012). Супрессор опухоли SMAR снижает уровни экспрессии KRT8, и это ведет к ослаблению миграции и инвазивности клеток (Pavithra et al., 2009; Mukhopadhyay and Roth, 1996).

KRT8P44 кодирует кератин 8, псевдоген 44, который локализован на хромосоме 6q26 (RefSeq, 2002).

MACC1 кодирует ключевой регулятор – сигнальный путь рецептора фактора роста гепатоцитов (HGF), который задействован в росте клеток, эпителиально-мезенхимальном переходе, ангиогенезе, подвижности клеток, инвазивности и метастазировании (RefSeq, 2002). MACC1 экспрессируется в избытке во многих видах раковых опухолей, включая рак желудка, колоректальный рак, рак легких и молочной железы, и ассоциируется с прогрессированием рака, метастазированием и плохой выживаемостью пациентов (Huang et al., 2013b; Ma et al., 2013; Stein, 2013; Wang et al., 2015b; Wang et al., 2015m; Ilm et al., 2015). MACC1 стимулирует канцерогенез за счет использования в качестве мишени сигнальных путей бета-катенина и PI3K/AKT, что приводит к повышению уровня c-Met и бета-катенина и их генов-мишеней по ходу транскрипции, включая c-Myc, циклин D1, caspase9, BAD и MMP9 (Zhen et al., 2014; Yao et al., 2015).

MAGED2 кодирует семейство антигена меланомы D, 2, члена недавно охарактеризованного кластера MAGE-D на Xp11.2, горячей точки для X-сцепленной умственной отсталости. MAGED2 повсеместно экспрессируется с высокими уровнями экспрессии на специфических участках головного мозга и в интерстиции

семенника. **MAGED2** является потенциальным негативным регулятором активности p53 дикого типа (Langnaese et al., 2001; Papageorgio et al., 2007). Избыточная экспрессия **MAGED2** ассоциируется с меланомой, раком молочной железы и раком толстой кишки (Li et al., 2004; Strekalova et al., 2015).

**MAN2A1** кодирует альфа-маннозидазу 2A класса, члена 1, который локализован в аппарате Гольджи и катализирует конечный гидролитический этап в сигнальном пути связанного с аспарагином созревания олигосахаридов (RefSeq, 2002). Свайнсонин ингибирует **MAN2A1**, приводя к ингибированию выработки 1,6-разветвленных N-связанных бета-гликанов, которые связаны со злокачественным фенотипом опухолевых клеток (Yagel et al., 1990; Gerber-Lemaire and Juillerat-Jeanneret, 2010; Santos et al., 2011; Przybylo et al., 2005; Dennis and Laferte, 1987; Baptista et al., 1994; Goss et al., 1994; Fujieda et al., 1994; Korczak and Dennis, 1993; Roberts et al., 1998; Goss et al., 1997; Goss et al., 1995; Seftor et al., 1991). Однонуклеотидный полиморфизм **MAN2A1** тесно ассоциируется с острым лимфобластным лейкозом у детей (Han et al., 2010).

**MAP1A** кодирует ассоциированный с микротрубочками белок 1A, который задействован в сборке микротрубочек, необходимом этапе нейрогенеза (RefSeq, 2002). **MAP1A** накапливается в индуцируемых ретиноевой кислотой клетках эмбриональной карциномы P19 (Vaillant and Brown, 1995). Уровень **MAP1A** понижен в окружающей опухоль строме рака предстательной железы (Zhu et al., 2015b). **MAP1A** может играть роль в клеточной пролиферации (Matsuno et al., 2004). Данусертиб существенно снижает уровень экспрессии связанного с мембраной **MAP1A** в клетках рака молочной железы (Li et al., 2015c). Байкалейн повышает уровень **MAP1A** в клеточной линии гепатоклеточной карциномы HepG2 (Wang et al., 2015l). **MAP1A** обратно коррелирует с p62 при плоскоклеточной карциноме кожи (Yoshihara et al., 2014). Гамма-токотриенол индуцирует усиленное превращение **MAP1A** из его цитозольной в липидную изоформу (Tiwari et al., 2014).

**MAT2A** кодирует метионин-аденозилтрансферазу 2A, которая катализирует выработку S-аденозилметионина из метионина и АТФ (RefSeq, 2002). Уровень **MAT2A** повышен в тамоксифен-резистентных клетках MCF-7 рака молочной железы (Phuong et al., 2015). В клетках рака толстой кишки имеются высокие уровни сумоилированного и общего **MAT2A**. Взаимодействие между Ubc9, Vcl2 и **MAT2A**

усиливает рост и выживаемость раковых клеток (Tomasi et al., 2015). Уровень экспрессии MAT2A понижен при почечноклеточной карциноме и в клеточной линии WCH17 гепатоклеточной карциномы, обработанной S-аденозилметионином (Kuang et al., 2014; Wang et al., 2014b). Переключение MAT1A:MAT2A ассоциируется с глобальным гипометилированием ДНК, уменьшением репарации ДНК, геномной нестабильностью и нарушением передачи сигнала при гепатоклеточной карциноме (Woodburn et al., 2013; Frau et al., 2013). Уровень MAT2A повышен при гепатоклеточной карциноме, раке желудка и раке толстой кишки (Frau et al., 2012; Zhang et al., 2013e; Tomasi et al., 2013; Frau et al., 2013; Lo et al., 2013). MAT2A коррелирует с классификацией опухоли, метастазами в лимфатические узлы и плохой дифференциацией опухоли у пациентов с раком желудка (Liu et al., 2011b; Zhang et al., 2013e). MAT2A является транскрипционным ко-репрессором онкогенного белка MafK (Kato et al., 2011). MAT2A связан с ростом опухоли и прогрессированием при раке печени (Vazquez-Chantada et al., 2010; Liu et al., 2011a; Lu and Mato, 2008).

MBTPS2 является внедренной в мембрану цинковой металлопротеазой, которая активирует сигнальные пути белков, задействованных в контроле транскрипции стеринами и играет роль в ответе на стресс ЭР (Oeffner et al., 2009).

MCM4 кодирует компонент 4 комплекса обслуживания минихромосом, который необходим для инициации репликации генома у эукариот (RefSeq, 2002). Экспрессия MCM4 ассоциируется с повышенным уровнем карбоангидразы IX, трансмембранного гликопротеина, который коррелирует с пониженной выживаемостью и прогрессированием рака в нескольких видах, включая рак пищевода (Huber et al., 2015). Has-miR-615-3p может быть задействован в развитии назофарингеальной карциномы за счет регулирования MCM4 (Chen et al., 2015b). MCM4, возможно, играет роль в развитии рака мочевого пузыря (Zekri et al., 2015). Мутация с приобретением функции p53 повышает уровень экспрессии MCM4 при раке молочной железы (Polotskaia et al., 2015). Мутация MCM4, представленная в клетках рака кожи человека, демонстрирует пониженную активность ДНК-геликазы (Ishimi and Irie, 2015). Избыточная экспрессия MCM4 в отдельности лишь слабо ассоциируется с более короткой выживаемостью пациентов с раком молочной железы. Избыточная экспрессия всех шести частей комплекса MCM тесно ассоциируется с более короткой выживаемостью (Kwok et al., 2015). MCM4

дифференциально экспрессируется в аденокарциноме легких и плоскоклеточной карциноме гортани (Lian et al., 2013; Zhang et al., 2014c). MCM4 экспрессируется в существенном избытке при раке шейки матки (Das et al., 2013; Das et al., 2015). MCM4 может быть использован в качестве биомаркера колоректального рака (Fijneman et al., 2012).

MIER1 (также называемый MI-ER1) кодирует регулятор транскрипции, который первоначально был идентифицирован у *Xenopus leavis* (RefSeq, 2002). Уровень MIER1 повышен при хроническом миелолейкозе (ХМЛ) и раке молочной железы, при которых потеря ядерного альфа-варианта транскрипта ассоциируется с прогрессированием и пролиферацией рака (McCarthy et al., 2008; Ding et al., 2003; Mascarenhas et al., 2014). Транскрипционный репрессор MIER1 функционирует за счет взаимодействия с HDAC1 (Ding et al., 2003).

MIR2861 является короткой некодирующей РНК, которая задействована в пост-транскрипционной регуляции экспрессии генов, влияя как на стабильность, так и трансляцию различных мРНК (RefSeq, 2002). Уровень экспрессии MIR2861 повышен в клетках папиллярной карциномы щитовидной железы (ПКЩЗ) с метастазами в лимфатические узлы по сравнению с ПКЩЗ без метастазов в лимфатические узлы (Wang et al., 2013f).

MLEC кодирует малектин, являющийся заякоренным на мембране белком ЭР I типа. MLEC имеет аффинность по отношению к Glc2Man9GlcNAc2 (G2M9) N-гликанов и задействован в регуляции гликозилирования в ЭР. Как было показано, MLEC взаимодействует с рибофорином I и может быть задействован в направлении деградации неправильно свернутых белков (RefSeq, 2002; Pierce and Taniguchi, 2009). Экспрессия MLEC нарушена при колоректальном раке и усилена в глиобластоме (Sethi et al., 2015; Demeure et al., 2016). MLEC может стать биомаркером папиллярной карциномы щитовидной железы (Ban et al., 2012).

MVP кодирует главный компартмент комплекса vault, белок, который может играть роль в многочисленных клеточных процессах за счет регуляции сигнальных путей MAPK, JAK/STAT и PI3K/Akt. Он также играет роль в процессах мультилекарственной устойчивости, врожденного иммунитета, в выживаемости и дифференциации клеток, и экспрессия этого гена может быть прогностическим

маркером нескольких видов рака (RefSeq, 2002; Tucci et al., 2009; Lara et al., 2011; Scagliotti et al., 1999; van den Heuvel-Eibrink MM et al., 2000; Perez-Tomas, 2006; Scheffer et al., 2000; Ramachandran, 2007; Sekine et al., 2007; Lu and Shervington, 2008). MVP экспрессируется в высокой степени в нескольких опухолях центральной нервной системы (Yang et al., 2012a). MVP экспрессируется в высокой степени в раковых клетках и в нескольких химиорезистентных клеточных линиях рака (Szaflarski et al., 2011; Mossink et al., 2003). Уровень экспрессии MVP растет с возрастом и способствует резистентности к апоптозу (Ryu and Park, 2009).

MYBBP1A (также называемый p160) кодирует регулятор транскрипции в ядрышке, который первоначально был идентифицирован по его способности связываться с белком-протоонкогеном Myb. MYBBP1A, возможно, играет роль во многих клеточных процессах, включая ответ на ядрышковый стресс, подавление опухоли и синтез рибосомной ДНК (RefSeq, 2002). Регуляция MYBBP1A нарушена в различных видах рака, включая рак легких, молочной железы и головы и шеи. Он ассоциируется с клеточной пролиферацией и метастазированием (Bidkhorji et al., 2013; George et al., 2015; Acuna Sanhueza et al., 2012; Akaogi et al., 2013). MYBBP1A стимулирует транскрипционную активность за счет активации путей p53, а также связывания с Myb, и регулирует клеточный цикл и митоз, приводя к остановке фазы G2/M или аномальному митозу за счет влияния на контроль над ходом расхождения хромосом (Tavner et al., 1998; Tsuchiya et al., 2011; Mori et al., 2012; Ono et al., 2013).

NCAPD2 (также называемый CNAP1) кодирует не-SMC субъединицу D2 комплекса конденсина I, которая задействована в конденсации хромосом и ассоциируется с болезнью Альцгеймера (Ball, Jr. et al., 2002; Zhang et al., 2014b). Избыточная экспрессия NCAPD2 была обнаружена в развитии рака яичника вместе с его амплификацией и мутацией во время прогрессирования опухоли (Emmanuel et al., 2011).

NCAPG кодирует не-SMC субъединицу G комплекса конденсина I, которая отвечает за конденсацию и стабилизацию хромосом во время митоза и мейоза (RefSeq, 2002). Уровень NCAPG понижен у пациентов с множественной миеломой, острым миелолейкозом и в лейкозных клетках из крови или клетках миеломы (Cohen et al., 2014). NCAPG может быть геном мультирезистентности при колоректальном раке (Li et al., 2012). Уровень NCAPG сильно повышен при клеточной карциноме

человека хромофобного подтипа, но не при обычной почечноклеточной карциноме человека (Kim et al., 2010a). Повышенный уровень NCAPG ассоциируется с прогрессированием меланомы (Ryu et al., 2007). NCAPG ассоциируется с увеальной меланомой (Van Ginkel et al., 1998). NCAPG демонстрирует различные уровни экспрессии в клетках различных опухолей (Jager et al., 2000).

NLE1 кодирует белок «notchless homolog» и члена семейства белков WD40-повтора, который задействован в эмбриональном развитии за счет различных сигнальных путей и, возможно, играет роль в созревании рибосом (Beck-Cormier et al., 2014; Romes et al., 2016; Lossie et al., 2012).

NOMO1 (также называемый PM5) кодирует Nodal модулятор 1, белок, который, возможно, является частью белкового комплекса, который участвует в сигнальном пути Nodal в процессе развития организма позвоночных (RefSeq, 2002). Регуляция экспрессии NOMO1 нарушена в клетках рака предстательной железы и Т-клеточной лимфомы (Stubbs et al., 1999; Lange et al., 2009).

NOMO2 кодирует Nodal модулятор 2, белок, который, возможно, является частью белкового комплекса, который участвует в сигнальном пути Nodal в процессе развития организма позвоночных (RefSeq, 2002). Уровень NOMO2 повышен на участке клетки, где граничит эпителий и строма, во время перехода к интраэпителиальной неоплазии шейки матки (CIN) 3 и раку шейки матки, представляя собой часть проинвазивной геномной сигнатуры, которая может быть ответом на скученность эпителиальных опухолевых клеток (Gius et al., 2007).

NOMO3 кодирует Nodal модулятор 3, белок, который, возможно, является частью белкового комплекса, который участвует в сигнальном пути Nodal в процессе развития организма позвоночных (RefSeq, 2002). Регуляция экспрессии NOMO3 нарушена метилированием ДНК при немелкоклеточном раке легких (Mullapudi et al., 2015). NOMO3 является обогащенным мембранным белком, ассоциированным с гликозилированием тканей рака яичника (Allam et al., 2015).

NONO (также известный как p54nrb) кодирует белок, содержащий домен не-POU, связывающийся с октамерами. NONO является РНК-связывающим белком, который играет различные роли в ядре, включая регуляцию транскрипции и

сплайсинг РНК. Перегруппировка между этим геном и фактором транскрипции E3 наблюдалась при папиллярной почечноклеточной карциноме (RefSeq, 2002; Macher-Goeppinger et al., 2012). Экспрессия NONO тесно коррелирует с инвазией в кровеносные сосуды и снижением выживаемости (Barboro et al., 2008). Фуроспиносулин селективно ингибирует рост адаптировавшихся к условиям гипоксии раковых клеток, возможно, за счет прямого связывания с NONO (Arai et al., 2016). NONO опосредует действие MIA/CD-RAP по стимуляции хондрогенеза и прогрессирования злокачественной меланомы (Schmid et al., 2013). Экспрессия NONO коррелирует с экспрессией с-Мус, циклина D1 и CDK4 (Nelson et al., 2012). Нокаут NONO в клетках колоректального рака, избыточно экспрессирующих YB-1, может сенсibiliзировать их к оксалиплатину (Tsofack et al., 2011). Симвастатин сильно уменьшает уровень NONO и снижает прогрессирование меланомы (Schiffner et al., 2011; Zanfardino et al., 2013). NONO экспрессируется в избытке при раке молочной железы и меланоме (Schiffner et al., 2011; Zhu et al., 2015d).

NPC1 кодирует крупный белок болезни Ниманна-Пика, типа С1, который находится в пограничной мембране эндосом и лизосом и опосредует внутриклеточный транспорт холестерина за счет связывания холестерина со своим N-концевым доменом (RefSeq, 2002). Промотор NPC1 гипометилирован, и при раке пищевода уровень экспрессии NPC1 повышен (Singh et al., 2015). NPC1 дифференциально экспрессируется в изогенных клеточных линиях метастатического рака, эмбриональных стволовых клетках человека и клетках эмбриональной карциномы человека (Lund et al., 2015; Dormeyer et al., 2008). Деградация NPC1 регулируется путем Akt. Таким образом, NPC1 связан с пролиферацией и миграцией клеток при раке шейки матки (Du et al., 2015). Лечение силденафилом снижает уровень экспрессии NPC1 и уничтожает стволовые клетки рака головного мозга (Booth et al., 2015). Ингибиторы метаболизма холестерина, включая NPC1 для поглощения холестерина, считаются полезными для лечения рака (Ali-Rahmani et al., 2014). Уровень NPC1 повышен в клетках MCF-7 TNF-альфа-резистентной аденокарциномы молочной железы (Vincent et al., 2010; Moussay et al., 2011).

NPC2 кодирует белок с доменом распознавания липидов, который может выполнять функцию в регуляции транспорта холестерина через систему поздних эндосом с лизосомами. Мутации этого гена ассоциируются с болезнью Ниманна-Пика и атрофией лобной доли (RefSeq, 2002). Регуляция экспрессии NPC2

нарушена при различных видах рака, в том числе при раке молочной железы, толстой кишки, легких, почек и печени (McDonald et al., 2004; Garcia-Lorenzo et al., 2012; Liao et al., 2013). Связанные с NPC расстройства холестерина обмена индуцируют аномальные сигнальные реакции, приводя к активации пути p38 MAPK, Mdm2-опосредованной деградации p53, активации ROCK и увеличению синтеза RhoA (Qin et al., 2010).

NUP160 кодирует нуклеопорин 160 кДа, являющийся частью ядерного порового комплекса, который опосредует ядерно-плазматический транспорт (RefSeq, 2002). NUP160-SLC43A3 является рекуррентным гибридным онкогеном при ангиосаркоме и ассоциируется с прогрессированием опухоли (Shimozono et al., 2015).

NUP205 кодирует нуклеопорин 205 кДа (RefSeq, 2002). NUP205 стабилизируется TMEM209. Это взаимодействие является решающим активатором пролиферации рака легких (Fujitomo et al., 2012).

NUP98 кодирует нуклеопорин 98 кДа, который участвует во многих клеточных процессах, включая импорт в ядро, экспорт из ядра, прохождение митоза и регуляцию экспрессии генов. Транслокации между этим геном и многими другими генами-партнерами наблюдались при различных видах лейкозов. Перегруппировка обычно приводит к образованию химерных форм генов из N-концевого домена GLGF этого гена с C-концом гена-партнера (RefSeq, 2002). Перегруппировка NUP98 вызывает лейкоз у мышей. Она усиливает пролиферацию и нарушает дифференциацию в первичных кроветворных клетках-предшественниках человека (Takeda and Yaseen, 2014). Нарушение регуляции генов гомеобокса, которое вызывает перегруппировку NUP98, приводит к лейкозной трансформации (Gough et al., 2011; De et al., 2014; Slape and Aplan, 2004; Grier et al., 2005; Abramovich et al., 2005; Nakamura, 2005; Shimada et al., 2000; Argiropoulos and Humphries, 2007). NUP98 производит перегруппировку с несколькими партнерами при злокачественных новообразованиях кроветворной системы, включая острый миелолейкоз, хронический миелолейкоз в фазе бластного криза, миелодиспластический синдром, острый лимфобластный лейкоз и билинейный/бифенотипический лейкоз (Tosic et al., 2009; Haznedaroglu and Beyazit, 2010; Shi et al., 2011; Gough et al., 2011; Panagopoulos et al., 2003; Morerio et al., 2006; Moore et al., 2007; Ahuja et al., 2001; McCormack et al., 2008; Lam and Aplan, 2001).

NUP98 связан с онкогенезом (Xu and Powers, 2009; Simon and Rout, 2014). NUP98 является модулятором геномной стабильности и супрессором развития опухоли (Rao et al., 2009).

OXSR1 кодирует Ser/Thr протеинкиназу, которая регулирует последующие киназы в ответ на окислительный стресс и может играть роль в регуляции актинового скелета (RefSeq, 2002). Уровень OXSR1 повышен в опухолевой строме пациентов с раком молочной железы человека и ассоциируется с рецидивом (Pavlides et al., 2010).

PCSK9 кодирует члена семейства субтилизин-подобных пропротеинконвертаз, которое включает протеазы, процессирующие предшественников белков и пептидов, участвующих в транспорте через регулируемые или конститутивные ветви секреторного пути. Он играет роль в метаболизме холестерина и жирных кислот (RefSeq, 2002). Регуляция PCSK9 нарушена в различных видах рака, включая рак печени, легких и желудка (Bhat et al., 2015; Marimuthu et al., 2013; Demidyuk et al., 2013). Недостаток PCSK9 снижает развитие метастазов в печень за счет его способности снижения уровней холестерина и усиления опосредованного TNF-альфа апоптоза. Другие исследования, напротив, не демонстрируют влияния уровней холестерина на риск развития рака (Folsom et al., 2007; Sun et al., 2012).

PDAP1 кодирует фосфопротеин, который может повышать уровень PDGFA-стимулируемого роста фибробластов, а также снижать митогенность PDGFB (RefSeq, 2002). PDAP1 экспрессируется в избытке в различных видах рака, включая рак желудка и прямой кишки, и, таким образом, мог бы играть роль биомаркера (Choi et al., 2011; Marimuthu et al., 2013).

PDIA3 (также известный как ERp57) кодирует члена 3 семейства А протеин-дисульфидизомераз, белок эндоплазматического ретикулума, который взаимодействует с шаперонами лектиновой природы, кальретикулином и кальнексином, приводя к модулированию сворачивания вновь синтезированных гликопротеинов (RefSeq, 2002; Coe and Michalak, 2010). PDIA3 может использоваться в качестве биомаркера и в диагностике опухолей (Shishkin et al., 2013). Дифференциальная экспрессия PDIA3 наблюдается в клетках глиом (Deighton et al., 2010). PDIA3 участвует в развитии патологии у человека, включая

рак и болезнь Альцгеймера (Coe and Michalak, 2010). PDIA3 является вспомогательным фактором TAP, который нагружает вирусные пептиды и аутопептиды на молекулы MHC I класса (Coe and Michalak, 2010; Abele and Tampe, 2011).

PFDN1 кодирует префолдин, субъединицу 1, одну из шести субъединиц префолдина, комплекса молекулярных шаперонов, который связывается с и стабилизирует вновь синтезированные полипептиды, тем самым позволяя им правильно сворачиваться (RefSeq, 2002). PFDN1 задействован в прогрессировании колоректального рака и положительно коррелирует с размером и инвазией опухоли (Wang et al., 2015e). Уровень PFDN1 повышен в клетках нескольких видов рака, включая колоректальный рак (Wang et al., 2015e). PFDN1 может быть использован в качестве контрольного гена при назофарингеальной карциноме (Guo et al., 2010).

PHB кодирует прохибитин, который, как предполагается, играет роль в процессе клеточного старения и подавления опухоли у человека (RefSeq, 2002; Mishra et al., 2010; Theiss and Sitaraman, 2011; Zhou and Qin, 2013; Mishra et al., 2005; McClung et al., 1995; Rajalingam and Rudel, 2005). PHB активирует сигнальный путь Raf/MEK/ERK, который задействован в росте и злокачественной трансформации клеток (Rajalingam and Rudel, 2005). PHB является потенциальным биомаркером назофарингеальной карциномы, который предсказывает клинический ответ на лучевую терапию (Chen et al., 2015e). PHB был идентифицирован при протеомном анализе раковых клеток, резистентных к лекарственным препаратам, анализе действия лекарственного препарата и тканей, пораженных заболеванием (Guo et al., 2013). PHB экспрессируется в избытке во многих видах рака (Zhou and Qin, 2013). Капсидный белок вируса гепатита С, который представляет собой основной фактор риска возникновения гепатоклеточной карциномы, вызывает избыточное генерирование окислительного стресса, повреждая прохибитин (Theiss and Sitaraman, 2011; Schrier and Falk, 2011; Koike, 2014). Дифференциальная экспрессия PHB наблюдается в клетках глиом (Deighton et al., 2010).

PKM2 кодирует пируваткиназу, мышечную, белок, участвующий в гликолизе. PKM2 взаимодействует с тиреоидным гормоном и, таким образом, может опосредовать воздействие клеточного метаболизма, индуцируемое тиреоидными гормонами. Также считается, что он участвует в бактериальном патогенезе (RefSeq, 2002;

Israelsen and Vander Heiden, 2015). PKM2, как было продемонстрировано, имеет решающее значение для пролиферации раковых клеток и роста опухоли (Chen et al., 2014b; Li et al., 2014c; DeLaBarre et al., 2014). N-мус выступает в роли регулятора транскрипции для PKM2 при медуллобластоме (Tech et al., 2015). PKM2, вероятно, играет роль в гепатоканцерогенезе эпителиально-мезенхимальном переходе и ангиогенезе (Nakao et al., 2014). PKM2 является одним из двух ключевых факторов эффекта Варбурга в онкологии (Tamada et al., 2012; Warner et al., 2014; Ng et al., 2015). Уровень экспрессии PKM2 повышен в раковых клетках (Chaneton and Gottlieb, 2012; Luo and Semenza, 2012; Wu and Le, 2013). В злокачественных клетках PKM2 выполняет функции в процессе гликолиза и выступает в роли ко-активатора транскрипции и протеинкиназы. В случае последней функции он перемещается в ядро и фосфорилирует гистон 3, который, в конечном итоге, приводит к прохождению клеточного цикла при глиобластомах (Semenza, 2011; Luo and Semenza, 2012; Tamada et al., 2012; Venneti and Thompson, 2013; Yang and Lu, 2013; Gupta et al., 2014; Iqbal et al., 2014; Chen et al., 2014b; Warner et al., 2014). Малоактивная димерная форма PKM2, возможно, вместо активной тетрамерной формы играет роль в раке (Mazurek, 2011; Wong et al., 2015; Iqbal et al., 2014; Mazurek, 2007).

PKP3 кодирует плакофилин, 3, члена семейств Arm-повторов и плакофилинов, который локализован на десмосомах и ядрах и участвует в присоединении кадхеринов к промежуточным филаментам в цитоскелете. PKP3 может играть роль в клеточной адгезии, зависимой от десмосом, и сигнальных путях (RefSeq, 2002). Повышенный уровень мРНК PKP3 в крови пациентов с гастроинтестинальным раком может использоваться в качестве биомаркера и прогностического фактора исхода заболевания (Valladares-Ayerbes et al., 2010). Избыточная экспрессия PKP3 коррелировала с неблагоприятным исходом при раке молочной железы, легких и предстательной железы, тогда как пониженный уровень экспрессии при раке мочевого пузыря связан с инвазивным поведением (Furukawa et al., 2005; Breuninger et al., 2010; Demirag et al., 2012; Takahashi et al., 2012). Потеря экспрессии PKP3 ведет к повышению уровня белков MMP7 и PRL3, которые требуются для миграции клеток и образования опухоли (Khapare et al., 2012; Basu et al., 2015b).

PLEC кодирует плектин, члена семейства плакинов, белок, задействованный в поперечной сшивке и организации цитоскелета и комплексов адгезии (Bouameur et

al., 2014). PLEC экспрессируется в избытке клетками колоректальной аденокарциномы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и рака поджелудочной железы (Lee et al., 2004; Katada et al., 2012; Bausch et al., 2011).

PLXNA2 кодирует плексин A2, который является ко-рецептором семафорина. Как считается, PLXNA2 передает сигналы семафорина 3A и 3C (RefSeq, 2002). KIAA1199 связывается с PLXNA2, приводя к ингибированию клеточной гибели, опосредуемой семафоринем 3A, за счет стабилизации и сигнальных реакций EGFR (Shostak et al., 2014). Уровень PLXNA2 повышен при TMPRSS2-ERG-положительном раке предстательной железы и метастатическом раке предстательной железы, приводя к повышенной миграции и инвазии клеток (Tian et al., 2014). PLXNA2 имеет более высокие уровни экспрессии в клетках более агрессивного рака молочной железы и ассоциируется с онкогенезом (Gabrovska et al., 2011).

POLA2 кодирует дополнительную единицу ДНК-полимеразы альфа (также называемую 70/68 кДа или В-субъединица), которая играет важную роль в инициации репликации ДНК за счет связывания каталитической субъединицы А и комплекса примазы (Collins et al., 1993; Pollok et al., 2003). Регуляция уровня POLA2 нарушена при различных видах рака, включая гастроинтестинальные стромальные опухоли и немелкоклеточный рак легких (Mah et al., 2014; Kang et al., 2015). Во время S-фазы POLA2 присоединяется к теломерам. Он ассоциируется с теломеразной активностью и важен для правильного процессинга теломерных выступающих концов посредством достройки (Diotti et al., 2015).

PPM1G кодирует протеинфосфатазу, Mg<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup> зависимую, 1G. Этот белок, как было обнаружено, отвечает за дефосфорилирование факторов сплайсинга пре-мРНК, что важно для формирования функциональных сплайсеосом (RefSeq, 2002). PPM1G регулирует E3-лигазу WWP2, которая дифференциально регулирует клеточные белки p73 и DeltaNp73 (Chaudhary and Maddika, 2014). PPM1G способен связываться со стимулирующими апоптоз белками p53, которые исключительно экспрессируются в избытке в различных видах опухолей (Skene-Arnold et al., 2013). PPM1G снижает экспрессию USP7S за счет дефосфорилирования, приводя к накоплению p53 (Khoronenkova et al., 2012).

PPP1R15B кодирует белок, взаимодействующий с протеинфосфатазой-1 (PP1). PPP1R15B стимулирует дефосфорилирование фактора инициации транскрипции EIF2-альфа за счет привлечения каталитических субъединиц PP1 (RefSeq, 2002). Снижение уровня PPP1R15B приводит к нарушению пролиферации в связи с неудачным переходом от G1 к фазе S клеточного цикла, индукцией апоптоза за счет повышения активности каспазы 3/7 и регуляции активности рецепторов эстрогенов альфа (Shahmoradgoli et al., 2013).

PPY кодирует белок, который синтезируется как предшественник полипептида, состоящий из 95 аминокислот, в островковых клетках Лангерганса поджелудочной железы. Он расщепляется на два пептидных продукта; активный гормон, состоящий из 36 аминокислот и икозапептид с неизвестной функцией. Гормон действует в качестве регулятора функций поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта и может быть важен в регуляции усвоения пищи (RefSeq, 2002). Пациенты с сахарным диабетом на фоне рака поджелудочной железы имеют ослабленный ответ PPY на смешанную пищу в сравнении с пациентами с сахарным диабетом 2 типа. Тем не менее, ослабленный ответ PPY наблюдается только у тех пациентов с карциномой поджелудочной железы, у которых опухоль локализована в головке поджелудочной железы (Hart et al., 2015).

PRKDC кодирует каталитическую субъединицу ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) (RefSeq, 2002). PRKDC – это ген, часто подвергающийся мутации при раке яичника, ассоциированным с эндометриозом, и раке молочной железы (Er et al., 2016; Wheler et al., 2015). Уровень PRKDC повышен в раковых тканях по сравнению с нормальными тканями при колоректальной карциноме. Пациенты с высокими уровнями экспрессии PRKDC демонстрируют худшую общую выживаемость (Sun et al., 2016b).

PSEN1 кодирует пресенилин 1, который связан с болезнью Альцгеймера. Он является частью комплекса гамма-секретазы, который необходим для активации сигнального пути Notch (RefSeq, 2002; Ponnurangam et al., 2015). Избыточная экспрессия PSEN1 малой интерферирующей РНК повышает чувствительность химиорезистентных клеток рака мочевого пузыря к клеточной гибели, вызываемой лекарственными средствами (Deng et al., 2015a). PSEN1 играет ключевую роль в эпителиально-мезенхимальном переходе и химиорезистентности за счет снижения

уровней E-кадгерина (Sehrawat et al., 2014; Dinicola et al., 2016). TRAF6-опосредованная активация PSEN1 приводит к стимуляции инвазивности опухоли (Gudey et al., 2014; Sundar et al., 2015). Как считается, пониженные уровни экспрессии комплекса гамма-секретазы являются фактором риска смертности от рака молочной железы (Peltonen et al., 2013). PSEN1 дифференциально экспрессируется клетками Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза, вызванного нарушением регуляции сигнального пути Notch1 (Paryan et al., 2013). PSEN1 избыточно экспрессируется клеточными линиями плоскоклеточной карциномы полости рта и первичными кератиноцитами полости рта, выделенными из ткани плоскоклеточной карциномы полости рта. Избыточная экспрессия PSEN1 приводит к снижению клеточной адгезии при плоскоклеточной карциноме полости рта за счет влияния на P-кадгерин (Bauer et al., 2013). The endocannabinoid anandamide increases the expression and recruitment of PSEN1 in cholangiocarcinoma (Frampton et al., 2010). p53 is able to regulate PSEN1 expression (Checler et al., 2010). PSEN1 задействован в реверсии опухоли (Telerman and Amson, 2009).

PSEN2 кодирует пресенилин 2, который связан с болезнью Альцгеймера. Он является частью комплекса гамма-секретазы, который необходим для активации сигнального пути Notch (RefSeq, 2002). Уровень окислительного стресса и экспрессии p53 повышены в клетках PC12, несущих ген PSEN2 с мутацией (Nguyen et al., 2007). PSEN2 является полезным прогностическим фактором при раке молочной железы. Новые аллели PSEN2, R62H и R71W, влияют на функцию PSEN2 и могут потенциально создавать умеренный риск предрасположенности к раку молочной железы (To et al., 2006; Xu et al., 2006). PSEN2 является частью 10-генной сигнатуры, которая ассоциируется с периодом выживаемости без рецидивов, но не общим временем выживаемости при карциноме яичника (Chen and Liu, 2015). Потеря экспрессии PSEN2 может вызывать развитие опухоли легких за счет повышения уровня iPLA2 (Yun et al., 2014). Снижение уровня экспрессии комплекса гамма-секретазы, как считается, представляет собой фактор риска смертности от рака молочной железы (Peltonen et al., 2013). PSEN2 дифференциально экспрессируется при мегакариоцитарном лейкозе и раке желудка. Экспрессия PSEN2 коррелирует с типом опухоли, стадией опухоли согласно UICC, степенью злокачественности опухоли и выживаемостью пациента (Warneke et al., 2013; Hao et al., 2006). Промотор PSEN2 деметилирован в тканях глиомы, вызывая избыточную экспрессию PSEN2 (Liu et al., 2012). 2-арахидонилглицерин повышает

уровень экспрессии и привлечение PSEN2 при холангиокарциноме (Frampton et al., 2010). За счет расщепления Epc (эндотелиальных клеток-предшественников) PSEN2 вызывает пролиферацию опухолевых клеток рака поджелудочной железы крыс (Maetzel et al., 2009; Thuma and Zoller, 2013).

PTGS1 (также известный как Cox1) кодирует простагландин-эндопероксид-синтазу 1 (простагландин G/H-синтаза и циклооксигеназа). PTGS1 имеет конститутивную экспрессию и катализирует превращение арахидата в простагландин. Кодированный белок регулирует ангиогенез в эндотелиальных клетках и ингибируется нестероидными противовоспалительными лекарственными препаратами, такими как аспирин. Исходя из его способности выполнять функции как циклооксигеназы, так и пероксидазы, PTGS1 был идентифицирован как полифункциональный белок (т. наз. moonlighting). Этот белок может стимулировать пролиферацию клеток во время прогрессирования опухоли (RefSeq, 2002; Tietz et al., 2013). PTGS1 может быть задействован в онкогенезе (Rouzer and Marnett, 2009). Усиленный рост опухоли сопровождается повышенным уровнем PTGS1, который играет роль в выработке простагландина и VEGF (Campioni et al., 2015). PTGS1 ассоциируется с уменьшением выживаемости при рецидивирующей карциноме малой слюнной железы (Haumerle et al., 2015). PTGS1 ассоциируется с онкогенезом молочной железы (Basu et al., 2015a; Serra et al., 2016). Экспрессия PTGS1 часто нарушена при прогрессировании рака (Karnezis et al., 2012). Делеция PTGS1 приводит к стойкому уменьшению проявлений базальноклеточной карциномы (Arbiser, 2010). Аспирин ингибирует вызванную PTGS1 активацию тромбоцитов, которая, как считается, задействована в развитии воспалительных процессов и рака, включая колоректальную карциному, рак головы и шеи, гастроинтестинальный рак и рак поджелудочной железы (Pereira et al., 2009; Perrone et al., 2010; Schror, 2011; Garcia Rodriguez et al., 2013; Bruno et al., 2012; Yue et al., 2014; Sostres et al., 2014; Schror and Rauch, 2013; Guillem-Llobat et al., 2014; Patrignani and Patrono, 2015; Patrono, 2015; Dovizio et al., 2015; Jimenez et al., 2007; Klass and Shin, 2007).

PTGS2 (также называемый COX-2) кодирует простагландин-эндопероксид-синтазу 2 (циклооксигеназу), ключевой фермент биосинтеза простагландинов, который действует как диоксигеназа и пероксидаза (RefSeq, 2002). Экспрессия PTGS2 и простагландинов ассоциируется с различными видами рака, включая опухоли

молочной железы, легких, желудка, поджелудочной железы, толстой и прямой кишки и предстательной железы. Уровень его экспрессии также прямо пропорционален агрессивности опухоли, включая метастазы (Shao et al., 2012; Kunzmann et al., 2013; Misra and Sharma, 2014; Aziz and Qiu, 2014; Thill et al., 2014; Knab et al., 2014; Huang and Huang, 2014; Wang et al., 2014c). Противовоспалительные средства, направленные против PTGS2, обладают сильным потенциалом по химиопрофилактике рака (Harris, 2009; Ghosh et al., 2010).

PTPN14 кодирует протеинтирозинфосфатазу нерецепторного типа 14, которая, по-видимому, регулирует развитие лимфатической системы у млекопитающих. Мутация с потерей функции была обнаружена у родственной группы с атрезией хоан с лимфедемой (RefSeq, 2002). PTPN14 инициирует сигнальные реакции TGF-бета, регулирует эпителиально-мезенхимальный переход и органогенез (Wyatt and Khew-Goodall, 2008). Уровень PTPN14 понижен при холангиокарциноме и обратно коррелирует с клинико-патологическими характеристиками и выживаемостью (Wang et al., 2015d; Wang et al., 2015c). PTPN14 ингибирует транспорт растворимых и связанных с мембраной белков, приводя к предотвращению метастазов (Belle et al., 2015). PTPN14 отрицательно регулирует онкоген Yes-ассоциированный белок (YAP), ключевой белок сигнального пути Hippo, который отвечает за размер органов и опухолегенез (Liu et al., 2013b; Huang et al., 2013a; Lin et al., 2013a). Мутации с потерей функции PTPN14 участвуют в развитии рецидивов при нейробластоме, рака молочной железы и колоректального рака (Laczmanska and Sasiadek, 2011; Wang et al., 2004; Schramm et al., 2015; Wyatt and Khew-Goodall, 2008).

RABGGTB является бета-субъединицей геранилгеранилтрансферазы Rab, которая катализирует пост-трансляционное геранилгеранилирование ГТФаз Rab (Pylypenko et al., 2003). RABGGTB избыточно экспрессируется клетками рефрактерной к химиотерапии диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (Linderoth et al., 2008).

RAC1 кодирует связанный с gas субстрат 1 ботулинического токсина C3 (семейство rho, малый ГТФ-связывающий белок Rac1), ГТФазы, которая принадлежит к надсемейству RAS малых ГТФ-связывающих белков. Члены этого надсемейства, скорее всего, регулируют разнообразные клеточные процессы, включая контроль роста клетки, реорганизацию цитоскелета и активацию протеинкиназ (RefSeq,

2002). RAC1 является важным для развития нервного гребня и может предотвращать образование меланомы (Shakhova, 2014). RAC1 может активироваться фактором роста гепатоцитов и рецептором тирозинкиназы Met, приводя к пролиферации и миграции эндотелиальных клеток (Barrow-McGee and Kermorgant, 2014; Gallo et al., 2015). RAC1 индуцирует ROS при вирусном онкогенезе саркомы Капоши (Mesri et al., 2013). RAC1 участвует в возникновении и прогрессировании меланомы, рака молочной железы и рака головы и шеи (Alan and Lundquist, 2013; Imianitov, 2013; Meierjohann, 2014). Tiam1 способен регулировать RAC1, который, в свою очередь, регулирует сигнальные пути, задействованные в активных функциях цитоскелета, клеточной полярности, эндоцитозе и мембранном транспорте, миграции, адгезии и инвазии клеток, росте и выживании клеток, метастазировании, ангиогенезе и канцерогенезе (Bid et al., 2013; Boissier and Huynh-Do, 2014). RAC1 рассматривается как онкоген (Kunz, 2013; Kunz, 2014). Мутации RAC1 могут приводить к ряду нарушений, включая злокачественную трансформацию (Read, 2013; Chi et al., 2013). Активация Rac1 приводит к образованию стресс-волокон актина, мембранных складок, ламеллиподий и филоподий (Klorocka et al., 2013; van and van Buul, 2012; Lane et al., 2014). Уровень RAC1 понижен в астроцитных опухолях, но он экспрессируется в избытке в медуллобластомных опухолях (Khalil and El-Sibai, 2012).

RAC3 кодирует связанный с gas субстрат 3 ботулинического токсина C3 (семейство rho, малый ГТФ-связывающий белок Rac3), ГТФазы, которая принадлежит к надсемейству RAS малых ГТФ-связывающих белков. Члены этого надсемейства, скорее всего, регулируют разнообразные клеточные процессы, включая контроль роста клетки, реорганизацию цитоскелета и активацию протеинкиназ (RefSeq, 2002). Избыточная экспрессия RAC3 ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при карциноме эндометрия (Balmer et al., 2006). RAC3 является мишенью ARHGAP6, который действует в качестве супрессора опухоли при раке шейки матки (Li et al., 2015b). RAC3 участвует в организации цитоскелета, миграции и инвазии клеток (Liu et al., 2015c). Дифференциальная экспрессия RAC3 наблюдается в клетках лейкоза и немелкоклеточного рака легких, и он задействован в росте опухоли (Tan and Chen, 2014; Liu et al., 2015c; Koldehoff et al., 2008). RAC3 участвует в TGF-бета-индуцированном снижении уровня E-кадгерина в клетках рака пищевода (Dong et al., 2014; Xu et al., 2007). Rac3 индуцирует сигнальный путь Rac3/ERK-2/NF- $\kappa$ B, который стимулирует агрессивность клеток рака молочной

железы. Активность эндогенного белка Rac коррелирует с высоким метастатическим потенциалом клеток рака молочной железы (Gest et al., 2013; Vaugher et al., 2005). Уровень RAC3 повышен в нескольких видах рака, включая лейкоз, рак предстательной железы и рак молочной железы (Fernandez Larrosa et al., 2012; Liu et al., 2015c; Culig and Bartsch, 2006; Calaf and Roy, 2007; Engers et al., 2007; Colo et al., 2007a; Colo et al., 2007b). RAC3 является ко-активатором NF-каппаВ, регулирующего экспрессию циклина D1 (Rubio et al., 2012; Colo et al., 2007b). Избыточная экспрессия RAC3 в клетках ЭР-альфа-положительного рака молочной железы приводит к усиленной миграции клеток (Walker et al., 2011; Rubio et al., 2006).

RAD54 кодирует белок, относящийся к надсемейству DEAD-подобных геликаз. Он имеет сходство с RAD54 и RDH54 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, которые оба задействованы в гомологичной рекомбинации и репарации ДНК. Связываясь с двухнитевой ДНК, этот белок проявляет АТФазную активность в присутствии ДНК. Этот ген экспрессируется в высокой степени в семеннике и селезенке, что позволяет предположить активное участие в мейотической и митотической рекомбинации (RefSeq, 2002). Гомозиготные мутации RAD54В наблюдались в первичных лимфомах и раковых опухолях толстой кишки (Hiramoto et al., 1999). RAD54В препятствует воздействию от прямого связывания RAD51 с дцДНК, дестабилизирующему геном, в опухолевых клетках человека (Mason et al., 2015).

RAI14 (также называемый NORPEG) кодирует белок 14, индуцируемый ретиноевой кислотой. Этот ген обнаружен в клетках пигментного эпителия сетчатки, где он индуцируется полностью транс-ретиноевой кислотой, которая повсеместно экспрессируется в человеческих тканях, и может играть роль в развитии семенника и сперматогенезе у человека (Kutty et al., 2001; Yuan et al., 2005). Регуляция экспрессии RAI14 нарушена в клетках рака желудка и связана с клеточной пролиферацией. Он является прогностическим маркером выживаемости без рецидивов для пациентов с раком легких и молочной железы (Zhou et al., 2015a; Hsu et al., 2013).

RBM19 кодирует ядерный белок, который содержит шесть РНК-связывающих мотивов, и может быть задействован в биогенезе рибосом (RefSeq, 2002). RBM19 обильно экспрессируется клетками колоректальной карциномы человека (Lorenzen

et al., 2005). Инактивация RBM19 вследствие мутации приводит к повышению активности p53 и усилению апоптоза у мышей (Zhang et al., 2008; Deisenroth and Zhang, 2010).

RPF1 (также называемый BXDC5) кодирует белок, связывающийся с ядрышковой РНК, который содержит сигма(70)-подобный мотив и необходим для биогенеза рибосом (Wehner and Baserga, 2002).

RPL13A кодирует члена семейства L13P рибосомных белков, который является компонентом рибосомной субъединицы 60S. Кодируемый белок также играет роль в подавлении генов воспалительного ответа в качестве компонента комплекса IFN-гамма-активируемого ингибитора трансляции (GAIT) (RefSeq, 2002). Регуляция экспрессии RPL13A нарушена в различных видах рака, включая рак предстательной железы, печени и колоректальный рак (Kasai et al., 2003; Ohl et al., 2005; Yoon et al., 2006). Истощение RPL13A вызывает значительное снижение метилирования рибосомной РНК и кэп-независимой инициации трансляции, опосредованной элементами IRES, образованными из мРНК p27, p53 и SNAT2 (Chaudhuri et al., 2007).

RPL13AP20 кодирует псевдоген рибосомного белка L13a, который локализован на хромосоме 12p13.1 (Balasubramanian et al., 2009).

RPL13AP5 кодирует псевдоген рибосомного белка L13a, который локализован на хромосоме 10q24.1 (Balasubramanian et al., 2009).

RPL34 кодирует рибосомный белок L34, который является компонентом субъединицы 60S. Избыточная экспрессия этого гена наблюдается в некоторых раковых клетках (RefSeq, 2002). Избыточная экспрессия RPL34 приводит к стимуляции злокачественной трансформации при немелкоклеточном раке легких (Yang et al., 2016). RPL34 играет решающую роль в клеточной пролиферации, распределении клеточного цикла и апоптозе злокачественных клеток желудка у человека (Liu et al., 2015a).

RPTOR (также известный как RAPTOR) кодирует регуляторный белок mTOR, комплекс 1. Этот белок является компартментом сигнального пути, который

регулирует рост клетки в ответ на уровни питательных веществ и инсулина. Этот белок производит положительную регуляцию последующей эффекторной киназы рибосомального белка S6 и отрицательную регуляцию киназы mTOR (RefSeq, 2002). Как в отсутствие комплекса туберозного склероза 1, так и 2, конститутивно активируются сигнальные пути mTOR-RPTOR, приводя к усиленному синтезу белка с нарушением регуляции синтеза белков и клеточному росту (Avruch et al., 2005; Kwiatkowski and Manning, 2005). mTOR положительно регулирует рост и выживаемость клеток, в первую очередь, за счет прямого взаимодействия с RPTOR (Sun, 2013). В комплексе с mTOR, RPTOR контролирует кэп-зависимую трансляцию, и эта функция необходима для вызываемого PI3K онкогенеза (Vogt et al., 2010). Рапалогии – это вещества, которые, в первую очередь, ингибируют комплекс mTOR-RPTOR 1 (mTORC1, рапамицин-чувствительный) и используются в лечении рака молочной железы (Wysocki, 2009; De et al., 2013; Vinayak and Carlson, 2013; Le et al., 2008).

SEC24D кодирует SEC24 гомолог D, компонент комплекса белков оболочки COPII. SEC24D имеет сходство с дрожжевым компонентом Sec24p комплекса COPII. COPII – это комплекс белков оболочки, отвечающий за почкование везикул из ЭР. Этот продукт гена задействован в придании формы везикулам, а также в выборе и концентрации грузов. Мутации этого гена ассоциируются с синдромом Коул-Карпентера, нарушением, влияющим на формирование костей приводящим к черепно-лицевым порокам и ломкости костей (RefSeq, 2002). Доля индукции SEC24D увеличена в клеточной линии LNCaP рака предстательной железы человека (DePrimo et al., 2002; Zhao et al., 2004). SEC24D может фосфорилироваться сигнальным путем Akt (Sharpe et al., 2011).

SEPT10 кодирует члена семейства септинов филамент-образующих цитоскелетных ГТФаз. Он локализован на цитоплазме и в ядре и демонстрирует ГТФ-связывающую и ГТФазную активность (RefSeq, 2002). Уровень SEPT10 понижен в различных видах рака, включая рак мочевого пузыря, молочной железы, печени, легких, поджелудочной железы и предстательной железы, а также меланому и лейкоз. Он ассоциируется с неблагоприятным прогнозом для выживаемости (Kienle et al., 2010; Liu et al., 2010b).

SEPT11 кодирует члена семейства консервативных септинов, образующих филаменты цитоскелетных ГТФаз, которые участвуют в выполнении ряда клеточных функций, включая цитокинез и везикулярный транспорт (RefSeq, 2002). SEPT11 экспрессируется в избытке в различных видах рака, включая рак головного мозга, шейки матки, поджелудочной железы и предстательной железы, меланому и лейкоз (Liu et al., 2010b). Потеря гетерозиготности (LOH) гена SEPT11 ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при гепатоклеточных карциномах. Химерный транскрипт с вовлечением MLL был идентифицирован в миелоидной неоплазии (Huang et al., 2010; Cerveira et al., 2011).

SEPT8 кодирует члена семейства септинов, связывающихся с нуклеотидами белков, которое является высоко консервативным, и играет роль в регуляции цитоскелетной организации и цитокинезе (RefSeq, 2002). Уровень SEPT8 повышен в различных видах рака, включая рак мочевого пузыря, печени, поджелудочной железы и легких, а также лейкоз (Liu et al., 2010b).

SERPINB2 (также известный как PAI2) кодирует ингибитор серпин-пептидазы, клада В (овальбумин), член 2, и он локализован на хромосоме 18q21.3. Он является нетрадиционным ингибитором серпин-пептидазы (SERPIN), который влияет на экспрессию генов, пролиферацию и дифференциацию и апоптоз клеток (RefSeq, 2002; Medcalf and Stasinopoulos, 2005). SERPINB2 кодирует ингибитор серпин-пептидазы, клада В (овальбумин), член 2, ингибитор внеклеточного плазминогенного активатора протеазной урокиназы и тканевого плазминогенного активатора (Schroder et al., 2014). SERPINB2 экспрессируется в ряду различных опухолей. Экспрессия SERPINB2 ассоциируется с благоприятным прогнозом при раке молочной железы и поджелудочной железы, но неблагоприятным прогнозом – при раке эндометрия, яичника и колоректальном раке (Schroder et al., 2014). SERPINB2 – это ген, связанный с инвазией и метастазированием (Pucci et al., 2016). SERPINB2 регулирует действие активатора плазминогена урокиназного типа (uPA), который вызывает превращение плазминогена в плазмин. Плазмин способен расщеплять внеклеточный матрикс (ECM) – это важный процесс опухолевой прогрессии (Gershtein and Kushlinskii, 1999; Ulisse et al., 2009; Berger, 2002; Baldini et al., 2012; Mekkawy et al., 2014; Andreasen et al., 2000). Результатом расщепления ECM становится прогрессирование опухоли, увеличение опухолевой массы, высвобождение фактора роста опухоли, активация цитокинов, пролиферация,

миграция и инвазия опухолевых клеток (Hildenbrand et al., 2010; Magdolen et al., 2003; Halamkova et al., 2012; Duffy, 2004; Mekkawu et al., 2014; Dass et al., 2008). Многие опухоли демонстрируют корреляцию между компонентами системы uPA и агрессивностью опухоли и выживаемостью (Mekkawu et al., 2014; Duffy and Duggan, 2004; Han et al., 2005). Высокие уровни SERPINB2 снижают рост опухоли и метастазирование (Croucher et al., 2008).

SH3BP4 кодирует белок 4, связывающийся с доменом SH3, который задействован в специфическом для груза контроле опосредованного клатрином эндоцитоза, специфически контролируя интернализацию специфического белкового рецептора (RefSeq, 2002). Уровень экспрессии SH3BP4 повышен в 7 раз в клеточной линии Y79 ретинобластомы (Khanobdee et al., 2004). Стимуляция рецептора 10 фактора роста фибробластов в SH3BP4-истощенных клетках вызывает снижение миграции клеток рака молочной железы и ингибирование эпителиальных ответвлений в легочных эксплантатах мышей (Francavilla et al., 2013).

SHCBP1 кодирует белок, который ассоциируется с централспиндлином человека, и является одним из важнейших факторов, задействованных в организации экваториальной пластинки и завершении цитокинеза (Asano et al., 2014). Повышенный уровень SHCBP1 имеется при гепатоклеточной карциноме человека. Целенаправленное воздействие на SHCBP1 ингибирует пролиферацию клеток в клеточных линиях гепатоклеточной карциномы человека (Tao et al., 2013). Среди 16 генов с сопутствующими изменениями генома SHCBP1 может быть вовлечен в онкогенез и процессы инвазии и прогрессирования от преинвазивной протоковой карциномы *in situ* к форме инвазивной протоковой карциномы (Colak et al., 2013).

SIGMAR1 (также называемый OPRS1 или SIG-1R) кодирует сигма-неопиоидный внутриклеточный рецептор, который взаимодействует со множеством психотомиметических средств, включая кокаин и амфетамины. Мутации этого гена ассоциируются с юношеским боковым амиотрофическим склерозом (RefSeq, 2002). SIGMAR1 экспрессируется в избытке в клеточных линиях опухолей и опухолях различных раковых тканей, включая рак легких, толстой кишки, кожи и молочной железы. Избыточная экспрессия SIGMAR1 ассоциируется с пролиферацией клеток (Vilner et al., 1995; Aydar et al., 2004; Aydar et al., 2006; Bem et al., 1991; Skrzycki and Czczot, 2013). SIGMAR1 стимулирует сигнальные реакции hERG/bet1-интегрина,

инициирует активацию сигнального пути PI3K/Akt и индуцирует фосфорилирование таких белков трансляционной регуляции, как p70S6K, S6 и 4E-BP1. SIGMAR1 повышает подвижность и секрецию VEGF, тем самым усиливая агрессивность опухолевых клеток (Crottes et al., 2016; Kim et al., 2012a).

SLC16A3 кодирует члена 3 семейства транспортеров растворенных веществ 16, монокарбоксилатный транспортер в симпорте с протоном (RefSeq, 2002). В большинстве солидных опухолей, как известно, выработка энергии зависит от гликолиза. Высокий уровень гликолиза приводит к повышению выработки лактата, что ассоциировалось с неблагоприятным клиническим исходом и прямым способствованием росту и прогрессированию опухоли. SLC16A3 – это один из немногочисленных транспортеров монокарбоксилатов, который способствует экспорту лактатов из раковых клеток (Dhur et al., 2012; Draoui and Feron, 2011). Экспрессия SLC16A3 ассоциировалась с неблагоприятным прогнозом у пациентов с гепатоклеточным раком и повышением клеточной пролиферации, миграции и инвазии в экспериментах с клеточными линиями (Gao et al., 2015). Функциональное участие SLC16A3 в онкогенезе было продемонстрировано в подгруппе рака поджелудочной железы (Baek et al., 2014).

SLC1A4 (также известный как ASCT1) кодирует семейство транспортеров растворенных веществ (транспортер глутамата/нейтральных аминокислот), члена 4, который локализован на хромосоме 2p15-p13 (RefSeq, 2002). Клеточная линия гепатоклеточной карциномы C3A усиливает экспрессию SLC1A4 после истощения цистеина (Lee et al., 2008b). SLC1A4 выполняет привлечение аминокислот в аденокарциноме пищевода (Younes et al., 2000). Нокадаун ASCT2 увеличивает уровни мРНК SLC1A4 в клетках гепатомы человека (Fuchs et al., 2004). Активация  $\nu$ -туса гена-гомолога вирусного онкогена миелоцитоматоза приводит к росту уровня SLC1A4 в линии клеток Hs683 глиомы человека (Jiang et al., 2012). Истощение глутамин не приводит к повышению уровня SLC1A4 в нейробластоме (Wasa et al., 2002).

SLC1A5 (также известный как ASCT2) кодирует семейство транспортеров растворенных веществ (транспортер глутамата/нейтральных аминокислот), члена 5, который является натрий-зависимым транспортером нейтральных аминокислот, способным выступать в качестве рецептора ретровируса RD114/типа D (RefSeq,

2002). Активация c-Myc ведет к росту уровня экспрессии SLC1A5 (Perez-Escuredo et al., 2016). Избыточная экспрессия SLC1A5 ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при светлоклеточной почечноклеточной карциноме (Liu et al., 2015d). Высокий уровень экспрессии CD147 у пациентов с раком поджелудочной железы значимо ассоциируется с SLC1A5 (Kaira et al., 2015). SLC1A5, возможно, является биомаркером немелкоклеточного рака легких (Hassanein et al., 2015; Hassanein et al., 2016). Убиквитинлигаза RNF5 регулирует SLC1A5 при раке молочной железы (Jeon et al., 2015). SLC1A5 избыточно экспрессируется в нескольких видах рака, включая распространенный рак гортани, рак предстательной железы и аденокистозную карциному (Koo and Yoon, 2015; Wang et al., 2015f; Bhutia et al., 2015; Nikkuni et al., 2015; Ganapathy et al., 2009). Ингибирование SLC1A5 в клетках рака молочной железы приводит к снижению поглощения глутамина и пролиферации (Chen et al., 2015d; van et al., 2015). SLC1A5 может стимулировать рост опухоли за счет регуляции mTOR (Nakanishi and Tamai, 2011; Fuchs and Bode, 2005; Corbet et al., 2016; McGivan and Bungard, 2007).

SLC26A6 кодирует члена 26 семейства транспортеров растворенных веществ, которое состоит из белков-переносчиков анионов. SLC26A6 задействован в переносе хлоридных, оксалатных, сульфатных и бикарбонатных ионов (RefSeq, 2002). Мутации SLC26A6 были идентифицированы в различных клеточных линиях колоректального рака (Donnard et al., 2014). Экспрессия гена SLC26A6 и промоторная активность ингибируются IFN-гамма (Saksena et al., 2010).

SLC52A3 (также называемый RFT2 или C20orf54) кодирует члена 52 семейства транспортеров растворенных веществ. Это белок-переносчик рибофлавина, который, скорее всего, играет роль во всасывании рибофлавина в кишечнике (RefSeq, 2002). Регуляция SLC52A3 нарушена в различных видах рака, включая рак желудка, плоскоклеточную карциному пищевода и рак шейки матки. Однонуклеотидные полиморфизмы SLC52A3 коррелируют с риском возникновения рака при плоскоклеточной карциноме пищевода и аденокарциномах кардиального отдела желудка (Jiang et al., 2014b; Duan et al., 2015; Matnuri et al., 2015; Eli et al., 2012; Aili et al., 2013). Нокадаун SLC52A3 повышает уровни белков p21 и p27 и снижает уровень их нисходящих мишеней, циклина E1 и Cdk2, приводя к блокировке клеточного цикла на фазе G1-G1/S. Нокадаун SLC52A3 также приводит к активации каспазы-3 и апоптозу (Jiang et al., 2014b).

SLC6A15 кодирует члена 6 семейства транспортеров растворенных веществ, который переносит нейтральные аминокислоты. SLC6A15, возможно, играет роль в транспорте аминокислот нервных клеток и, возможно, ассоциируется с большой депрессией (RefSeq, 2002). SLC6A15 гиперметилован и, таким образом, его уровень понижен при колоректальном раке, и он может быть кандидатом в биомаркеры для анализов кала (Kim et al., 2011b; Mitchell et al., 2014).

SMIM10 (также называемый CXorf69 или LOC644538) кодирует малый интегральный мембранный белок, локализованный на хромосоме Xq26.3 (RefSeq, 2002).

SNX14 кодирует члена семейства сортирующих нексинов и содержит регулятор домена передачи сигналов G-белка (RGS) (RefSeq, 2002). Уровень SNX14 понижен при трансформации *gasV12/E1A* эмбриональных фибробластов мыши и может ассоциироваться с развитием опухоли (Vasseur et al., 2005).

SSH1 (также называемый SSH1L) кодирует члена семейства гомологов «слингшот» (SSH) фосфатаз. Семейство SSH, по-видимому, играет роль в динамике актина за счет реактивации белков кофилинов (RefSeq, 2002). SSH1 экспрессируется в избытке при раке поджелудочной железы и ассоциируется с миграцией опухолевых клеток (Wang et al., 2015k). Ингибирование PKD1 нейрегулином приводит к перемещению SSH1 к F-актину, повышению активности кофилина и усилению процесса реорганизации актинового цитоскелета и миграции клеток. SSH1-зависимая активация кофилина индуцируется сигнальным путем PI3K/Akt (Wang et al., 2010; Doppler et al., 2013).

STAT2 действует как положительный регулятор в ответе на транскрипционную активацию, вызываемом интерферонами (Steen and Gamero, 2012). STAT2 может регулировать ответ опухолевых клеток на интерфероны (Shodeinde et al., 2013). Связь между STAT2 и развитием опухоли наблюдалась у трансгенных мышей без STAT2 (Yue et al., 2015) или конститутивно экспрессирующих IFN-альфа в головном мозге (Wang et al., 2003).

SUPT16H кодирует субъединицу FACT (фактор, способствующий транскрипции хроматина), вспомогательного фактора, который необходим для транскрипции ДНК, упакованной в хроматин (RefSeq, 2002). Регуляция SUPT16H нарушена в эндотелиальных и стромальных компонентах юношеской ангиофибромы носоглотки (JNA) и, таким образом, может играть роль потенциального молекулярного маркера (Silveira et al., 2012). SUPT16H задействован в репарации двухнитевых разрывов в ДНК путем ремоделирования хроматина. SUPT16H активирует p53 за счет образования комплекса с CK2 (Keller et al., 2001; Kari et al., 2011).

SUSD1 кодирует белок, содержащий домен sushi, и ассоциируется с повышенным риском венозных тромбозов (Tang et al., 2013). Гетерозиготный химерный транскрипт SUSD1-ROD1/PTBP3 экспрессируется в клеточной линии рака молочной железы человека (Newman et al., 2013).

TAF6L кодирует белок со сходством структуры с фактором 6, ассоциированным с гистонотипным белком, связывающим TATA-боксы (TAF6). Он является компонентом комплекса PCAF гистонацетилазы, который требуется для миогенной транскрипции и дифференциации (RefSeq, 2002). Экспрессия miR-145 и miR-196a отрицательно коррелирует с экспрессией TAF6L (Havelange et al., 2011). TAF6L инактивирован в клеточной линии H187 мелкоклеточного рака легких с образованием химерного транскрипта TAF6L-GNG3 (Fernandez-Cuesta et al., 2015).

TER1 кодирует ассоциированный с теломеразой белок 1, компонент комплекса рибонуклеопротеинов, отвечающий за активность теломеразы, которая катализирует добавление новых теломер к концам хромосом (RefSeq, 2002; Szaflarski et al., 2011). TER1 является основной частью рибонуклеопротеинов «vault», к которому также принадлежит главный белок «vault» (MVP) (Lara et al., 2011; Mossink et al., 2003). TER1 экспрессируется при карциноме щитовидной железы (Hoang-Vu et al., 2002).

TFPI кодирует ингибитор пути тканевого фактора, ингибитор протеаз, который регулирует зависимый от тканевого фактора (TF) сигнальный путь коагуляции крови (RefSeq, 2002). TFPI экспрессируется в раке молочной железы, колоректальном раке и клеточных линиях рака поджелудочной железы (Kuger, 2007). TFPI

индуцирует HIF1-альфа, c-Myc, c-SRC и HDAC2 в клетках рака молочной железы (Davies et al., 2014). Уровень экспрессии TFPI понижен в саркомах по сравнению с незлокачественными поражениями (Savitskaya et al., 2012). TFPI ингибирует протеазную активность комплекса TF-VIIa6 который задействован в процессе метастазирования (Fischer et al., 1999; Sandset and Abildgaard, 1991; Lindahl et al., 1991).

TFPI2 кодирует ингибитор 2 пути тканевого фактора, который может ингибировать ряд серинпротеаз, включая фактор VIIa/тканевый фактор, фактор Ха, плазмин, трипсин, химотрипсин и плазматический калликреин. Этот ген был идентифицирован в качестве гена-супрессора опухоли в нескольких видах рака (RefSeq, 2002; Sierko et al., 2007). TFPI2 может применяться в качестве биомаркера предсказания рецидива при карциноме поджелудочной железы (Zhai et al., 2015c). Метилирование ДНК TFPI2 может использоваться в качестве биомаркера колоректального рака в анализе кала на скрытую кровь (Koga et al., 2015). TFPI2 вызывает апоптоз и ингибирует инвазивность, рост новообразований, метастазирование и ангиогенез (Ghilardi et al., 2015; Amirkhosravi et al., 2007; Sierko et al., 2007). TFPI2 при раке гиперметилирован, и его уровень понижен, а экспрессия коррелирует со степенью злокачественности рака, развитием рецидивов на ранней стадии и неблагоприятным прогнозом (Sun et al., 2016a; Sierko et al., 2007). Уровень TFPI2 понижен при раке поджелудочной железы и холангиокарциноме (Chu et al., 2015; Zhai et al., 2015a; Zhai et al., 2015b). TFPI2 метилирован при раке желудка, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы собак, остром миелоидном лейкозе, немелкоклеточном раке легких, раке шейки матки, плоскоклеточной карциноме полости рта, раке толстой кишки, ассоциированном с воспалением, и гепатоклеточной карциноме (Qu et al., 2013; Ferraresso et al., 2014; Liu et al., 2014b; Shao et al., 2014; Lai et al., 2014; Hamamoto et al., 2015; Li et al., 2015d; Gerecke et al., 2015; Dong et al., 2015; Sun et al., 2016a). TFPI2 – хорошо подтвержденный биомаркер метилирования ДНК при раке (Fukushige and Horii, 2013; Huisman et al., 2015).

TGFBI кодирует белок, содержащий домен RGD, связывающийся с коллагенами I, II и IV типа, и индуцируется трансформирующим фактором роста-бета, который играет роль во взаимодействии клеток и коллагенов и оказывает воздействие по ингибированию клеточной адгезии (RefSeq, 2002). Уровень экспрессии TGFBI, как

было показано, повышен при холангиокарциноме, карциноме печени, карциноме желудка, плоскоклеточной карциноме пищевода и светлоклеточной почечноклеточной карциноме. Кроме того, как было продемонстрировано, TGFBI ассоциируется с колоректальным раком (Lebdai et al., 2015; Ozawa et al., 2014; Zhu et al., 2015a; Han et al., 2015).

TGIF2-C20orf24 кодирует слитый белок, последовательность которого идентична последовательности TGIF2 и C20orf24 (RefSeq, 2002).

TMEM154 кодирует трансмембранный белок, который ассоциируется с повышенным риском возникновения сахарного диабета 2 типа и который, вероятно, играет роль в функционировании бета-клеток (Harder et al., 2015).

TRAM2 кодирует мембранный белок 2, ассоциированный с транслокацией. Он является компонентом транслоккона, гейтированного макромолекулярного канала, который контролирует посттрансляционный процессинг растущих секреторных и мембранных белков на мембране эндоплазматического ретикулума (ЭР) (RefSeq, 2002). Runx2 может регулировать экспрессию TRAM2 (Pregizer et al., 2007). Однонуклеотидные полиморфизмы в TRAM2 могут увеличивать риск перелома костей у пациентов с ЭР-положительным раком молочной железы (Liu et al., 2014a).

TRPV2 кодирует ионный канал, который активируется температурой свыше 52 градусов Цельсия. Он может быть задействован в трансдукции реакций в ответ на высокую температуру в сенсорных ганглиях (RefSeq, 2002). Регуляция TRPV2 нарушена в различных видах рака, включая рак пищевода, предстательной железы, печени и мочевого пузыря, а также лейкоз. Потеря или нарушения в TRPV2 приводит к неконтролируемой пролиферации и резистентности к инициирующим апоптоз стимулам (Liberati et al., 2014a; Zhou et al., 2014; Liberati et al., 2014b; Liu et al., 2010a; Morelli et al., 2013). Сайленсинг гена TRPV2 в клетках глиомы приводит к снижению уровня Fas и про-каспазы 8, а также повышению уровня циклина E1, CDK2 E2F1 и Bcl-2-ассоциированного X-белка. Избыточная экспрессия TRPV2 в клетках рака мочевого пузыря приводит к усилению миграции и инвазии клеток (Nabissi et al., 2010; Liu and Wang, 2013).

TSEN15 кодирует эндонуклеазу сплайсинга тРНК, субъединицу 15. Эта эндонуклеаза катализирует удаление интронов из предшественников тРНК (RefSeq, 2002; Trotta et al., 2006). TSEN15 является мишенью миРНК-449а, которая действует как супрессор опухоли в нейробластоме. TSEN15 играет важную роль в опосредовании функции миРНК-449а, вызывающей дифференциацию (Zhao et al., 2015). TSEN15 ассоциируется с потенциалом для дифференциации клеток в зародышевых клетках бедра человека (Mirmalek-Sani et al., 2009).

UBE2C (также называемый UBCH10) кодирует члена семейства E2 убиквитин-конъюгирующих ферментов. Он необходим для разрушения митотических циклинов и прохождения клеток через клеточный цикл (RefSeq, 2002). Уровень UBE2C часто повышен за счет амплификации генов, как это наблюдалось у пациентов с раком молочной железы, легких и колоректальным раком. Повышенный уровень UBE2C коррелирует с неблагоприятным прогнозом и прогрессированием опухоли (Okamoto et al., 2003; Wagner et al., 2004; Fujita et al., 2009; Chen et al., 2010; Hao et al., 2012). Уровень UBE2C повышен в клетках U251 глиомы и тканях пациентов с колоректальной карциномой (КРК). Нокадаун UBE2C вызывает апоптоз путем индукции Вах и p53, снижения уровня Bcl-2 и блокировки фазы G2/M клеточного цикла. Подавление UBE2C нарушает регуляцию циклина В и ERK1 в КРК (Cacciola et al., 2015; Jiang et al., 2010).

UBIAD1 (также называемый TERE1) кодирует белок, содержащий домен UbiA пренилтрансферазы, который, возможно, участвует в метаболизме холестерина и фосфолипидов (RefSeq, 2002). Уровень гена-супрессора опухоли UBIAD1 понижен в различных видах рака, включая рак мочевого пузыря, предстательной железы и почек, и ассоциируется с регуляцией роста (McGarvey et al., 2001; Fredericks et al., 2011; McGarvey et al., 2003; Fredericks et al., 2013). UBIAD1 регулирует фосфорилирование связанной с фактором роста киназы p42/44 MAP. Правильная локализация UBIAD1 в аппарате Гольджи влияет на его активность как гена-супрессора опухолей, включая процесс апоптоза (McGarvey et al., 2005; Wang et al., 2013d).

UBR1 кодирует компонент E3 убиквитин-протеин лигазы N-рекогнин 1. Он связывается с дестабилизирующим N-концевым остатком субстратного белка и участвует в образовании связанной с субстратом мультиубиквитиновой цепи,

направляя белок на протеолитический путь системы убиквитина (RefSeq, 2002). Потеря или снижение уровня экспрессии UBR1 ассоциируется со спонтанными В-клеточными лимфомами и Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом (Chen et al., 2006). UBR1 регулирует гомеостаз MGMT, фермента репарации ДНК, который защищает клетки от канцерогенного воздействия алкилирующих агентов (Leng et al., 2015).

UBR2 кодирует убиквитин-лигазу E3 протеолитического пути правила N-конца, который направлен на белки с дестабилизирующими N-концевыми остатками в целях их полиубиквитилирования и деградации, опосредованной протеасомами (RefSeq, 2002). Аутоантитела к UBR2 обнаружены в сыворотке пациентов с аутоиммунным панкреатитом и раком поджелудочной железы (Frulloni et al., 2009). Уровень экспрессии UBR2 повышен в случае действия кахектических стимулов, вызываемых опухолевыми клетками, за счет активации фосфорилирования p38beta/MAPK, C/EBPbeta и связывания с промотором UBR2 (Zhang et al., 2013b).

UBR1 необходим для биогенеза рибосом во время ранней стадии созревания рибосомных субъединиц 60S (Rosado and de la Cruz, 2004).

USP11 кодирует убиквитин-специфическую пептидазу 11. Убиквитинирование белков контролирует многие внутриклеточные процессы, включая ход клеточного цикла, активацию транскрипции и передачу сигналов (RefSeq, 2002). USP11 является новым регулятором p53, который требуется для активации p53 в ответ на повреждение ДНК (Ke et al., 2014a). USP11 играет основную роль в промиелоцитарном лейкозе и раке поджелудочной железы (Burkhart et al., 2013; Wu et al., 2014).

USP22 кодирует убиквитин-специфическую пептидазу 22 и локализован на хромосоме 17p11.2 (RefSeq, 2002). Высокие уровни экспрессии USP22 наблюдались в клетках гепатоклеточной карциномы, карциномы толстой кишки, карциномы желудка, эпителиального рака яичника, рака поджелудочной железы, глиомы, аденокистозной карциноме слюнной железы и папиллярной карциноме щитовидной железы (Wang et al., 2013b; Dai et al., 2014; Liang et al., 2014a; Liang et al., 2014b; Ji et al., 2015; He et al., 2015; Wang et al., 2015n; Tang et al., 2015). USP22 способствует прогрессированию опухоли и вызывает эпителиально-

мезенхимальный переход при аденокарциноме легких (Hu et al., 2015a). USP22 выступает в роли онкогена за счет регуляции стабильности циклооксигеназы 2 в клетках немелкоклеточного рака легких (Xiao et al., 2015). USP22 играет ведущую роль в регуляции патологических процессов назофарингеальной карциномы, и он может быть потенциальной мишенью лечения (Zhuang et al., 2015). Избыточная экспрессия USP22 может делать свой вклад в прогрессирование рака молочной железы (Zhang et al., 2011).

UTP20 является компонентом комплекса малой ядерной РНК U3 с белком и задействован в процессинге 18s рРНК (RefSeq, 2002). Экспрессия UTP20 понижена в клеточных линиях метастатического рака молочной железы человека (Schwirzke et al., 1998; Goodison et al., 2003). UTP20 экспрессируется на высоких уровнях в тканях рака желудка и предраковых поражениях, что указывает на участие UTP20 в трансформации клеток (Xing et al., 2005).

WLS (также называемый EVI или GPR177) кодирует медиатор секреции Wnt-лигандов, ассоциированный с геном Wntless. WLS представляет собой, как давно установлено, партнера белков Wnt ориентированного на содействие их секреции в во внеклеточное окружение (Banziger et al., 2006). WLS избыточно экспрессируется при различных видах рака, включая рак молочной железы, желудка, яичника и колоректальный рак, а также лейкоз, и он ассоциируется с неблагоприятным исходом (Chiou et al., 2014; Stewart et al., 2015; Lu et al., 2015; Voloshanenko et al., 2013). WLS важен в секреции всех Wnt-белков. Он регулирует экспрессию бета-катенина и циклина-D1, тем самым влияя на клеточную пролиферацию (Yang et al., 2015b; Banziger et al., 2006).

YIF1A кодирует гомолог А фактора, взаимодействующего с Yip1, и локализован на хромосоме 11q13 (RefSeq, 2002). При гепатоклеточной карциноме в гене YIF1A было обнаружено несколько мутаций (амплификаций и делеций) (Nalesnik et al., 2012). Экспрессия YIF1A демонстрирует существенную разницу между нормальными образцами и образцами плоскоклеточной карциномы (Sugimoto et al., 2009).

ZRANB3 кодирует белок 3 с доменом «zinc finger», содержащий RAN-связывающий домен, и локализуется на хромосоме 2q21.3 (RefSeq, 2002). ZRANB3 кодирует

белок с доменом «zinc finger», являющийся структурно-специфической АТФ-зависимой эндонуклеазой. Он задействован в ответе на репликативный стресс, направленном на сохранении геномной целостности (Ciccia et al., 2012; Weston et al., 2012). Однонуклеотидный полиморфизм rs4954256, локализованный в гене ZRANB3 на хромосоме 2q21.3, ассоциировался с возрастанием в 3,93 раза полного патологического ответа на сопутствующую радиохимиотерапию в лечении рака пищевода (Chen et al., 2012). ZRANB3 часто имеет мутации при раке эндометрия (Lawrence et al., 2014).

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Стимуляция иммунных ответов зависит от присутствия антигенов, распознаваемых иммунной системой хозяина как чужеродные. Открытие существования опухолеассоциированных антигенов повысило возможность использования иммунной системы хозяина для вмешательства в рост опухоли. Различные механизмы управления обеими ветвями иммунной системы, как гуморальной, так и клеточной, исследуются в настоящее время для иммунотерапии рака.

Специфические элементы клеточных иммунных ответов способны к специфическому распознаванию и уничтожению опухолевых клеток. Выделение Т-клеток из популяций опухоль-инфильтрирующих клеток или из периферической крови предполагает, что такие клетки играют важную роль в естественной иммунной защите против рака. В частности, CD8-положительные Т-клетки, которые распознают пептиды, связанные с молекулами I класса главного комплекса гистосовместимости (МНС), играют важную роль в этом ответе. Эти пептиды обычно состоят из 8-10 аминокислотных остатков, полученных из белков или дефектных рибосомных продуктов (DRIP), находящихся в цитозоле. Молекулы МНС человека называются также человеческими лейкоцитарными антигенами (HLA).

Понятие «Т-клеточный ответ» означает специфическую пролиферацию и активацию эффекторных функций, индуцированных пептидом *in vitro* или *in vivo*. Для цитотоксических Т-клеток, рестриктированных по МНС I класса, эффекторными функциями может быть лизис клеток-мишеней, нагруженных пептидом, нагруженных предшественником пептида, или клеток-мишеней, естественно презентующих пептид; секреция цитокинов, предпочтительно интерферона-

гамма, TNF-альфа или ИЛ-2, индуцированная пептидом; секреция эффекторных молекул, предпочтительно гранзимов или перфоринов, индуцированная пептидом, или дегрануляция.

Понятие «пептид» в контексте настоящего описания обозначает серии аминокислотных остатков, связанных друг с другом обычно пептидными связями между альфа-аминными и карбонильными группами смежных аминокислот. Пептиды предпочтительно имеют длину в 9 аминокислот, но могут быть короче – 8 аминокислот в длину, и длиннее – 10, 11, 12 или 13 аминокислот или длиннее и в случае пептидов, связанных с молекулами МНС II класса (удлиненные варианты пептидов по изобретению), они могут иметь длину в 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 или более аминокислот.

Кроме того, понятие «пептид» включает в себя соли серий аминокислотных остатков, связанных друг с другом обычно пептидными связями между альфа-аминными и карбонильными группами смежных аминокислот. Предпочтительно, если соли являются фармацевтически приемлемыми солями пептидов, такими как, например, хлорид или ацетат (трифторацетат). Было замечено, что соли пептидов в соответствии с настоящим изобретением существенно отличаются от пептидов в их состоянии(ях) *in vivo*, так как пептиды не являются солями *in vivo*.

Понятие «пептид» включает также понятие «олигопептид». Понятие «олигопептид» в контексте настоящего описания обозначает серии аминокислотных остатков, связанных друг с другом обычно пептидными связями между альфа-аминными и карбонильными группами смежных аминокислот. Длина олигопептида не особенно важна для изобретения до тех пор, пока в нем сохраняются надлежащие эпитоп или эпитопы. Олигопептиды типично бывают менее чем около 30 аминокислотных остатков в длину и более чем около 15 аминокислот в длину.

Понятие «полипептид» обозначает серии аминокислотных остатков, связанных один с другим типично пептидными связями между альфа-аминными и карбонильными группами смежных аминокислот. Длина полипептида не особенно важна для изобретения до тех пор, пока сохраняются надлежащие эпитопы. В отличие от терминов «пептид» или «олигопептид», термин «полипептид» введен

для обозначения молекул, содержащих более приблизительно 30 аминокислотных остатков.

Пептид, олигопептид, белок или полинуклеотид, кодирующий такую молекулу, является «иммуногенным» (и, таким образом, «иммуногеном» в рамках настоящего изобретения), если он способен индуцировать иммунный ответ. В случае настоящего изобретения иммуногенность получает более специфическое определение как способность индуцировать Т-клеточный ответ. Таким образом, «иммуноген» будет представлять собой молекулу, которая способна индуцировать иммунный ответ, и, в случае настоящего изобретения, молекулу, способную индуцировать Т-клеточный ответ. В другом аспекте иммуноген может быть пептидом, комплексом пептида и МНС, олигопептидом и/или белком, используемым для получения специфических антител или ТКР против него.

Для Т-клеточного «эпитопа» I класса необходим короткий пептид, который связан с рецептором МНС I класса, образующим трехчленный комплекс (альфа-цепь МНС I класса, бета-2-микроглобулин и пептид), который может быть распознан Т-клеткой, несущей подходящий Т-клеточный рецептор, связывающийся с комплексом МНС/пептид с подходящей аффинностью. Пептиды, связывающиеся с молекулами МНС I класса, типично имеют длину в 8-14 аминокислот и, особенно типично, длину в 9 аминокислот.

У человека имеется три различных генетических локуса, которые кодируют молекулы МНС I класса (молекулы МНС человека называются также человеческими лейкоцитарными антигенами (HLA)): HLA-A, HLA-B и HLA-C. HLA-A\*01, HLA-A\*02 и HLA-A\*07 являются примерами различных аллелей МНС I класса, которые могут экспрессироваться из этих локусов.

Таблица 5: Частоты экспрессии F HLA-A\*02 и HLA-A\*24 и наиболее частых серологических видов HLA-DR. Частоты экспрессии выведены из частот гаплотипа Gf среди американцев, приводимых в работе Mori и соавт. (Mori et al., 1997), с использованием формулы Харди-Вейнберга  $F=1-(1-Gf)^2$ . Комбинации A\*02 или A\*24 с определенными аллелями HLA-DR вследствие неравномерного распределения связей могут быть обогащенными или менее частыми, чем ожидается от их

индивидуальных частот выявления. Более подробная информация представлена в работе Chanock и соавт. (Chanock et al., 2004).

Аллель	Популяция	Рассчитанный фенотип по частоте аллеля
A*02	Европеоидная раса (Северная Америка)	49,1%
A*02	Афроамериканцы (Северная Америка)	34,1%
A*02	Монголоиды (Северная Америка)	43,2%
A*02	Латиноамериканцы (Северная Америка)	48,3%
DR1	Европеоидная раса (Северная Америка)	19,4%
DR2	Европеоидная раса (Северная Америка)	28,2%
DR3	Европеоидная раса (Северная Америка)	20,6%
DR4	Европеоидная раса (Северная Америка)	30,7%
DR5	Европеоидная раса (Северная Америка)	23,3%
DR6	Европеоидная раса (Северная Америка)	26,7%
DR7	Европеоидная раса (Северная Америка)	24,8%
DR8	Европеоидная раса (Северная Америка)	5,7%
DR9	Европеоидная раса (Северная Америка)	2,1%
DR1	Афроамериканцы (Северная Америка)	13,20%
DR2	Афроамериканцы (Северная Америка)	29,80%
DR3	Афроамериканцы (Северная Америка)	24,80%
DR4	Афроамериканцы (Северная Америка)	11,10%
DR5	Афроамериканцы (Северная Америка)	31,10%
DR6	Афроамериканцы (Северная Америка)	33,70%
DR7	Афроамериканцы (Северная Америка)	19,20%
DR8	Афроамериканцы (Северная Америка)	12,10%
DR9	Афроамериканцы (Северная Америка)	5,80%
DR1	Монголоиды (Северная Америка)	6,80%
DR2	Монголоиды (Северная Америка)	33,80%
DR3	Монголоиды (Северная Америка)	9,20%
DR4	Монголоиды (Северная Америка)	28,60%
DR5	Монголоиды (Северная Америка)	30,00%
DR6	Монголоиды (Северная Америка)	25,10%
DR7	Монголоиды (Северная Америка)	13,40%
DR8	Монголоиды (Северная Америка)	12,70%
DR9	Монголоиды (Северная Америка)	18,60%
DR1	Латиноамериканцы (Северная Америка)	15,30%
DR2	Латиноамериканцы (Северная Америка)	21,20%
DR3	Латиноамериканцы (Северная Америка)	15,20%
DR4	Латиноамериканцы (Северная Америка)	36,80%
DR5	Латиноамериканцы (Северная Америка)	20,00%
DR6	Латиноамериканцы (Северная Америка)	31,10%
DR7	Латиноамериканцы (Северная Америка)	20,20%
DR8	Латиноамериканцы (Северная Америка)	18,60%
DR9	Латиноамериканцы (Северная Америка)	2,10%

Аллель	Популяция	Рассчитанный фенотип по частоте аллеля
A*24	Филиппины	65%
A*24	Русские ненцы	61%
A*24:02	Япония	59%
A*24	Малайзия	58%
A*24:02	Филиппины	54%
A*24	Индия	47%
A*24	Южная Корея	40%
A*24	Шри-Ланка	37%
A*24	Китай	32%
A*24:02	Индия	29%
A*24	Западная Австралия	22%
A*24	США	22%
A*24	Россия, Самара	20%
A*24	Южная Америка	20%
A*24	Европа	18%

Пептиды по изобретению, предпочтительно когда они включены в состав вакцины по изобретению согласно описанию в настоящем документе, связываются с аллелью A\*02. Вакцина также может включать универсальные пептиды, связывающиеся с МНС II класса. Поэтому вакцина по изобретению может применяться для лечения рака у пациентов, которые являются A\*02-положительными, причем в связи с универсальной по связыванию природе данных пептидов не нужен подбор аллотипов МНС II класса.

Если пептиды A\*02 по изобретению скомбинировать с пептидами, связывающимися с другим аллелем, например A\*24, лечение может пройти более высокий процент любой популяции пациентов по сравнению с вакцинацией для каждого аллеля МНС I класса в отдельности. Тогда как в большинстве популяций любым одним аллелем могут быть охвачены менее чем 50% пациентов, вакциной, включающей эпитопы HLA-A\*24 и HLA-A\*02 можно лечить не менее 60% пациентов любой соответствующей популяции. Говоря конкретно, следующие процентные доли пациентов будут положительными по меньшей мере для одного из этих аллелей в различных регионах: США – 61%, Западная Европа – 62%, Китай – 75%, Южная Корея – 77%, Япония – 86% (рассчитано по данным [www.allelefrequencies.net](http://www.allelefrequencies.net)).

В предпочтительном варианте осуществления понятие «нуклеотидная последовательность» относится к гетерополимеру дезоксирибонуклеотидов.

Нуклеотидная последовательность, кодирующая конкретный пептид, олигопептид или полипептид, может быть встречающейся в природе или может быть синтезирована. В целом, сегменты ДНК, кодирующие пептиды, полипептиды и белки данного изобретения, собраны из фрагментов кДНК и коротких олигонуклеотидных линкеров или же из серий олигонуклеотидов для получения синтетического гена, который способен экспрессироваться в рекомбинантной транскрипционной единице, включающей регуляторные элементы, образованные из микробного или вирусного оперона.

В контексте настоящего описания понятие «нуклеотид, кодирующий пептид», относится к нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид, включая искусственные (сделанные человеком) старт- и стоп-кодоны, совместимые с биологической системой, которой должна экспрессироваться последовательность, например, дендритная клетка или другая клеточная система, пригодная для получения ТКР.

Используемая в контексте данного описания ссылка на последовательность нуклеиновой кислоты включает как однонитевую, так и двухнитевую нуклеиновую кислоту. Таким образом, например, для ДНК специфическая последовательность, если в контексте не указано иное, относится к однонитевой ДНК такой последовательности, дуплексу такой последовательности с его комплементом (двухнитевая ДНК) и комплементу такой последовательности.

Понятие «кодирующая область» относится к тому участку гена, который в естественных или обычных условиях кодирует продукт экспрессии того гена в его естественном геномном окружении, т. е., участку, кодирующему *in vivo* нативный продукт экспрессии гена.

Кодирующая область может быть получена из не мутировавшего («нормального»), мутировавшего или измененного гена или может даже быть получена из последовательности ДНК, или же гена, целиком синтезированного в лаборатории с использованием методов, хорошо известных специалистам области синтеза ДНК.

Понятие «продукт экспрессии» означает полипептид или белок, являющийся природным продуктом трансляции гена и любой последовательности нуклеиновой кислоты, которая кодирует эквиваленты, образующиеся в результате вырождения генетического кода и, таким образом, кодирует ту/те же самую(ые) аминокислоту(ы).

Понятие «фрагмент», если относится к кодирующей последовательности, означает участок ДНК, включающий меньше, чем полную кодирующую область, продукт экспрессии которого по существу сохраняет ту же самую биологическую функцию или активность, что и продукт экспрессии полной кодирующей области.

Понятие «сегмент ДНК» относится к полимеру ДНК в виде отдельного фрагмента или в качестве компонента более крупной конструкции ДНК, которая была образована из ДНК, выделенной по меньшей мере один раз в по существу чистой форме, т.е., без контаминирующих эндогенных материалов и в количестве или с концентрацией, позволяющей идентификацию, манипуляцию и восстановление сегмента и его составных нуклеотидных последовательностей стандартными биохимическими методами, например, с использованием вектора для клонирования. Такие фрагменты предлагаются в форме открытой рамки считывания, не прерываемой внутренними не-транслированными последовательностями или интронами, которые обычно присутствуют в эукариотических генах. Последовательности нетранслированной ДНК могут присутствовать за открытой рамкой считывания, где она не интерферирует с манипуляцией или экспрессией кодирующих областей.

Понятие «праймер» означает короткую последовательность нуклеиновой кислоты, которая может быть спарена с одной нитью ДНК с получением свободного конца 3'ОН, на котором ДНК-полимераза начинает синтезировать дезоксирибонуклеотидную цепь.

Понятие «промотор» означает участок ДНК, задействованный в связывании РНК-полимеразы для инициации транскрипции.

Понятие «выделенный» означает, что материал удален из его исходного окружения (к примеру, естественного окружения, если он встречается в природе). Например, встречающийся в природе полинуклеотид или полипептид, представленный в живых организмах, не является выделенным, но тот же самый полинуклеотид или полипептид, отделенный от некоторых или всех сосуществующих материалов природной системы, является выделенным. Такие полинуклеотиды могли быть частью вектора и/или такие полинуклеотиды или полипептиды могли быть частью композиции и все-таки могли быть выделены, так что такой вектор или композиция не является частью своего естественного окружения.

Полинуклеотиды и рекомбинантные или иммуногенные полипептиды, раскрытые в соответствии с настоящим изобретением, могут также быть в «очищенной» форме. Понятие «очищенный» не требует абсолютной чистоты; скорее оно предназначено для дачи относительного определения и может включать препараты с высокой очисткой или препараты только с частичной очисткой, в соответствии с тем, как эти термины понимаются специалистами соответствующей области. Например, отдельные клоны, выделенные из библиотеки кДНК, как обычно очищались до электрофоретической гомогенности. Очистка исходного материала или природного материала от примесей по меньшей мере на один порядок величины, предпочтительно два или три порядка, и, более предпочтительно, четыре или пять порядков величины определено рассматривается в изобретении. Более того, определено включен заявленный полипептид, чистота которого составляет, предпочтительно, 99,999% или по меньшей мере 99,99% или 99,9%; и даже желательно 99% по массе или более.

Нуклеиновые кислоты и полипептиды как продукты экспрессии, раскрываемые в соответствии с настоящим изобретением, в равной степени, как и векторы экспрессии, содержащие такие нуклеиновые кислоты и/или такие полипептиды, могут быть в «обогащенной форме». Используемый здесь термин «обогащенный» означает, что концентрация материала по меньшей мере приблизительно в 2, 5, 10, 100 или 1000 раз выше его естественной концентрации (например), преимущественно 0,01%, по массе, предпочтительно, по меньшей мере, около 0,1% по массе. Рассматриваются также обогащенные препараты с концентрацией примерно 0,5%, 1%, 5%, 10% и 20% по массе. Последовательности, конструкции, векторы, клоны и другие материалы, включенные в настоящее изобретение, могут

быть предпочтительно в обогащенной форме или выделенными. Понятие «активный фрагмент» означает фрагмент - обычно пептида, полипептида или последовательности нуклеиновой кислоты, - который дает иммунный ответ (т.е. обладает иммуногенной активностью), если он введен отдельно или факультативно с подходящим адъювантом или в векторе животному, такому как млекопитающее, например, кролику или мыши, также включая человека; причем такой иммунный ответ принимает форму стимуляции Т-клеточного ответа у животного-реципиента, такого как человек. Альтернативно «активный фрагмент» может также быть использован для инициации ответа Т-клетки *in vitro*.

В контексте настоящего описания понятия «участок», «сегмент» и «фрагмент», если они использованы по отношению к полипептидам, относятся к непрерывной последовательности остатков, таких как аминокислотные остатки, последовательность которых формирует подкласс более крупной последовательности. Например, если полипептид был подвергнут обработке любой из известных эндопептидаз, таких как трипсин или химотрипсин, то полученные в результате такой обработки олигопептиды будут представлять участки, сегменты или фрагменты исходного полипептида. При использовании по отношению к полинуклеотидам эти понятия относятся к продуктам, полученным при обработке указанных полинуклеотидов любой из эндонуклеаз.

В соответствии с настоящим изобретением понятие «процентная доля идентичности» или «идентичный с процентной долей», если оно относится к последовательности, означает, что последовательность сравнивается с заявленной или описанной последовательностью после выравнивания сравниваемой последовательности («Сравниваемая последовательность») с описанной или заявленной последовательностью («Контрольная последовательность»). Процентная доля идентичности определяется затем по следующей формуле:

$$\text{процентная доля идентичности} = 100 [1 - (C/R)]$$

где «С» является числом различий между Контрольной последовательностью и Сравниваемой последовательностью по длине выравнивания между Контрольной последовательностью и Сравниваемой последовательностью, где

- (i) каждое основание или аминокислота в Контрольной последовательности, которые не имеют соответствующего выравненного основания или аминокислоты в Сравняваемой последовательности, и
  - (ii) каждая брешь в Контрольной последовательности и
  - (iii) каждое выравненное основание или аминокислота в Контрольной последовательности, которые отличаются от выравненного основания или аминокислоты в Сравняваемой последовательности, представляют собой различие; и
  - (iiii) выравнивание должно начинаться с позиции 1 выравненных последовательностей;
- и «R» - это число оснований или аминокислот в Контрольной последовательности по длине выравнивания со Сравняваемой последовательностью с любой брешью, образующейся в Контрольной последовательности, считающейся также за основание или аминокислоту.

Если существует противопоставление между Сравняваемой последовательностью и Контрольной последовательностью, для которых процентная доля идентичности, по расчетам выше, приблизительно равна или выше установленной минимальной Процентной доли идентичности, тогда Сравняваемая последовательность имеет установленную минимальную процентную долю идентичности с Контрольной последовательностью, если даже могут существовать выравнивания, в которых подсчитанная здесь выше процентная доля идентичности меньше, чем установленная процентная доля идентичности.

Как было упомянуто выше, в настоящем изобретении, таким образом, предложен пептид, включающий последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161 или ее вариант, который на 88% гомологичен последовательностям с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, или их варианту, который индуцирует Т-клеточную перекрестную реакцию с указанным пептидом. Пептиды по изобретению обладают способностью связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I класса или – удлинённые версии упомянутых пептидов – с МНС II класса.

В настоящем изобретении термин «гомологичный» относится к степени идентичности (см. выше, Процентная доля идентичности) между

последовательностями двух аминокислотных последовательностей, т.е. пептидных или полипептидных последовательностей. Упомянутая ранее «гомология» определяется при сравнении двух последовательностей, сопоставляемых в оптимальных условиях для сравниваемых последовательностей. Такая гомология последовательностей может быть подсчитана с помощью создания выравнивания, например, по алгоритму ClustalW. Широко распространено программное обеспечение для анализа последовательностей, в частности, Vector NTI, GENETYX или другие инструменты, предоставляемые банками данных свободного доступа.

Специалист данной области будет в состоянии оценить, будут ли Т-клетки, индуцированные вариантом конкретного пептида, способны к перекрестной реакции с самим пептидом (Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997).

Под «вариантом» данной аминокислотной последовательности авторы изобретения имеют в виду, что боковые цепи, например, одного или двух аминокислотных остатков, изменены (например, путем их замещения боковой цепью остатка другой встречающейся в природе аминокислоты или какой-либо другой боковой цепью) так, что пептид по-прежнему способен связываться с молекулой HLA по существу таким же путем, как и пептид, состоящий из данной аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161. Например, пептид может быть модифицирован таким образом, что он по меньшей мере сохранит, если не улучшит, способность взаимодействовать и связываться со связывающей бороздкой подходящей молекулы MHC, такой как HLA-A\*02 или -DR, и, таким образом, он по меньшей мере сохранит, если не улучшит, способность связываться с ТКР активированных Т-клеток.

Данные Т-клетки могут затем вступать в перекрестную реакцию с клетками и уничтожать клетки, которые экспрессируют полипептид, который содержит природную аминокислотную последовательность родственного пептида, как определено в аспектах этого изобретения. По информации из научной литературы и банков данных (Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997), конкретные позиции связывающихся с HLA пептидов являются типичными якорными остатками, формирующими центральную последовательность, подходящую к

соединительному элементу рецептора HLA, который определяется полярными, электрофизическими, гидрофобными и пространственными свойствами полипептидных цепей, образующих связывающую бороздку. Так, специалист данной области будет в состоянии модифицировать аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, сохраняя известные якорные остатки, и будет в состоянии определить, сохранят ли такие варианты способность связываться с молекулами MHC I или II класса. Варианты по настоящему изобретению сохраняют способность связываться с ТКР активированных Т-клеток, которые могут впоследствии вступать в перекрестную реакцию и уничтожать клетки, экспрессирующие полипептид, который содержит природную аминокислотную последовательность родственного пептида, как определено в аспектах настоящего изобретения.

Исходные (немодифицированные) пептиды, раскрываемые в данном описании, могут быть модифицированы путем замены одного или нескольких остатков в различных, возможно отобранных, участках по длине пептидной цепи, если не заявлено иное. Предпочтительно, если такие замены расположены на конце аминокислотной цепи. Такие замены могут носить консервативный характер, например, когда одна аминокислота заменяется аминокислотой с похожей структурой и характеристиками, так же как при замене гидрофобной аминокислоты на другую гидрофобную аминокислоту. Еще более консервативной будет замена аминокислот одинакового или похожего размера и химического характера, как, например, при замене лейцина на изолейцин. В исследованиях вариаций последовательностей внутри семейств встречающихся в природе гомологичных белков определенные замены аминокислот допускаются чаще, чем другие, и они часто связаны со сходствами по размеру, заряду, полярности и гидрофобности между исходной аминокислотой и ее заменой; и таковой является основа определения «консервативных замен».

Консервативные замены определены в контексте настоящего описания как обмены внутри одной из последующих пяти групп: группа 1 – малые, алифатические, неполярные или слабо полярные остатки (Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); группа 2 – полярные, отрицательно заряженные остатки и их амиды (Asp, Asn, Glu, Gln); группа 3 – полярные, положительно заряженные остатки (His, Arg, Lys); группа 4 –

крупные, алифатические, неполярные остатки (Met, Leu, Ile, Val, Cys); и группа 5 – крупные, ароматические остатки (Phe, Tyr, Trp).

Менее консервативные замены могут охватывать замену одной аминокислоты другой, имеющей похожие характеристики, но отличающейся в какой-то степени по размеру, как в случае замены аланина остатком изолейцина. Высоко неконсервативные замены могут охватывать замену кислой аминокислоты полярной, или даже такой, которая имеет основной характер. Такие «радикальные» замены не могут, однако, быть отвергнуты как потенциально неэффективные из-за того, что химические эффекты не полностью предсказуемы, и радикальные замены могут неожиданно привести к благоприятным эффектам, не предсказуемым исходя из обычных химических принципов.

Разумеется, в таких заменах могут участвовать другие структуры, отличающиеся от обычных L-аминокислот. Таким образом, D-аминокислоты могут быть заменены L-аминокислотами, обычно встречающимися в антигенных пептидах по изобретению и также охватываемые настоящим раскрытием сущности изобретения. Кроме того, нестандартные аминокислоты (т.е. отличающиеся от повсеместно встречающихся протеиногенных аминокислот) могут быть также использованы в целях замены для получения иммуногенов и иммуногенных полипептидов в соответствии с настоящим изобретением.

Если были произведены замены в более чем одной позиции с получением пептида с по существу эквивалентной или большей антигенной активностью, как определено ниже, то комбинации таких замен будут проанализированы для определения того, приведут ли эти комбинации замен к дополнительным или синергическим эффектам по отношению к антигенности пептида. По большей части не более 4 позиций внутри пептида должны замещаться одновременно.

Пептид, состоящий по существу из аминокислотной последовательности, как указано в настоящей заявке, может иметь замену одной или двух неякорных аминокислот (см. ниже относительно якорного мотива), так что способность связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I или II класса не будет существенно изменена или подвергнута негативному влиянию по сравнению с немодифицированным пептидом. В другом варианте

осуществления в пептиде, состоящем, по существу, из аминокислотной последовательности, как указано в настоящей заявке, одна или две аминокислоты могут быть заменены партнерами по консервативной замене (см. информацию ниже), так что способность связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I или II класса не будет существенно изменена или подвергнута негативному влиянию по сравнению с немодифицированным пептидом.

Аминокислотные остатки, которые не вносят существенный вклад во взаимодействие с Т-клеточным рецептором, могут быть модифицированы заменой на другие аминокислоты, включение которых существенно не влияет на реактивность Т-клетки и не устраняет связывание с соответствующим МНС. Таким образом, помимо данного условия, пептид по изобретению может быть любым пептидом (в этот термин авторы изобретения включают олигопептиды или полипептиды), который включает аминокислотные последовательности или их участок или их вариант, как дано.

**Таблица 6: Предпочтительные варианты и мотив пептидов в соответствии с SEQ ID NO: 7, 32, 46 и 76.**

Позиция	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 7	A	L	V	D	I	V	R	S	L
Варианты									V
									I
									A
		M							V
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		V							V
		V							I
		V							
		V							A
		T							V
	T							I	
	T								

		T							A
		Q							V
		Q							I
		Q							
		Q							A
Позиция	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 32	Y	V	D	D	G	L	I	S	L
Варианты		I							V
		I							I
		I							
		I							A
		M							V
		M							I
		M							
		M							A
		A							V
		A							I
		A							
		A							A
		L							V
		L							I
		L							
		L							A
		T							V
		T							I
		T							
		T							A
	Q							V	
	Q							I	
	Q								
	Q							A	
Позиция	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 46	T	M	V	E	H	N	Y	Y	V
Варианты									L
									I
									A
		A							L
		A							I
		A							
		A							A
		L							L
		L							I
		L							
	L							A	



	T										A
	Q										V
	Q										I
	Q										L
	Q										A

Более длинные (удлиненные) пептиды также могут быть пригодными. Возможно, чтобы эпитопы, связывающиеся с молекулами МНС I класса, хотя они обычно имеют длину между 8 и 11 аминокислотами, были получены при процессинге пептидов из более длинных пептидов или белков, включающих истинный эпитоп. Предпочтительно, чтобы остатки, которые примыкают к истинному эпитопу, существенно не влияли на протеолитическое расщепление, необходимое для презентации истинного эпитопа во время процессинга.

Пептиды по изобретению могут быть удлинены с помощью вплоть до четырех аминокислот, это значит, что 1, 2, 3 или 4 аминокислоты могут быть добавлены к одному из концов в любой комбинации, представленной между 4:0 и 0:4. Комбинации элонгаций в соответствии с изобретением могут быть взяты из Таблицы 7.

**Таблица 7: Комбинации элонгаций пептидов по изобретению**

<b>С-конец</b>	<b>N-конец</b>
4	0
3	0 или 1
2	0 или 1 или 2
1	0 или 1 или 2 или 3
0	0 или 1 или 2 или 3 или 4
<b>N-конец</b>	<b>С-конец</b>
4	0
3	0 или 1
2	0 или 1 или 2
1	0 или 1 или 2 или 3
0	0 или 1 или 2 или 3 или 4

Аминокислотами для элонгации/удлинения могут быть пептиды исходной последовательности белка или любая(ые) другая(ие) аминокислота(ы). Элонгация

может быть использована для повышения стабильности или растворимости пептидов.

Таким образом, эпитопы настоящего изобретения могут быть идентичны встречающимся в природе опухолеассоциированным или опухолеспецифическим эпитопам или могут включать эпитопы, отличающиеся не более чем четырьмя остатками от контрольного пептида, при условии, что они имеют, по существу, идентичную антигенную активность.

В альтернативном варианте осуществления пептид удлинен с одной или другой стороны или с двух сторон одновременно добавлением более 4 аминокислот, предпочтительно, до общей длины вплоть до 30 аминокислот. Это может привести к образованию пептидов, связывающихся с МНС II класса. Связывание с МНС II класса может быть проверено известными из уровня техники способами.

Соответственно, в настоящем изобретении предлагаются пептидные эпитопы и эпитопы пептидных вариантов, связывающихся с молекулами МНС I класса, в которых указанный пептид или вариант имеет общую длину между 8 и 100, предпочтительно между 8 и 30, и, наиболее предпочтительно, между 8 и 14, а именно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 аминокислот, в случае удлиненных пептидов, связывающихся с молекулами МНС II класса, длина может также быть 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 аминокислоты.

Разумеется, пептид или вариант в соответствии с настоящим изобретением будет обладать способностью связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I или II класса. Связывание пептида или варианта с комплексом МНС может быть проверено способами, известными из уровня техники.

Предпочтительно, чтобы Т-клетки, специфичные для пептида в соответствии с настоящим изобретением были испытаны относительно замещенных пептидов; концентрация пептида, при которой замещенные пептиды достигают половины максимального роста лизиса относительно фона, составляет не более чем около 1 мМ, предпочтительно, не более чем около 1 мкМ, более предпочтительно, не более чем около 1 нМ, и еще более предпочтительно не более чем около 100 пМ и,

наиболее предпочтительно, не более чем около 10 пМ. Также предпочтительно, чтобы замещенный пептид распознавался Т-клетками более чем одного индивида, по меньшей мере двух и, более предпочтительно, трех индивидов.

В особенно предпочтительном варианте осуществления изобретения пептид состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161.

«Состоит по существу из» подразумевает, что пептид в соответствии с настоящим изобретением, помимо любой из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, или его вариант, содержит дополнительные находящиеся на N- и/или C-конце фрагменты последовательности аминокислот, которые не являются обязательно формирующими часть пептида, которая функционирует как эпитоп для молекул МНС.

Тем не менее, эти фрагменты могут быть важны для обеспечения эффективного введения пептида в соответствии с настоящим изобретением в клетки. В одном варианте осуществления настоящего изобретения пептид является частью слитого белка, которая включает, например, 80 N-терминальных аминокислот антиген-ассоциированной инвариантной цепи (р33, в дальнейшем "Ii") HLA-DR, как взятый из банка данных NCBI, инвентарный номер - GenBank Accession-number X00497. В других видах слияния пептиды по настоящему изобретению могут быть слиты с антителом, описанным в настоящем документе, или его функциональной частью, в частности встроены в последовательность антитела, так чтобы быть специфической мишенью указанного антитела, или, например, слиты с или встроены в антитело, являющееся специфичным для дендритных клеток, описанных в настоящей заявке.

Кроме того, пептид или вариант может быть дополнительно модифицирован для улучшения стабильности и/или связывания с молекулами МНС в целях получения более сильного иммунного ответа. Методы такой оптимизации пептидной последовательности хорошо известны из уровня техники и включают, например, введение реверсированных пептидных или непептидных связей.

В реверсированной пептидной связи аминокислотные остатки присоединены не пептидными связями (-CO-NH-), а пептидная связь реверсируется. Такие ретро-обратные пептидомиметики могут быть получены методами, известными из уровня техники, например, такими, как описано в работе Meziere и соавт. (1997) (Meziere et al., 1997), включенной в настоящее описание по ссылке. Этот подход охватывает получение псевдопептидов, которые содержат изменения, охватывающие остов, но не ориентацию боковых цепей. Meziere и соавт. (Meziere et al., 1997) показывают, что эти псевдопептиды пригодны для связывания с МНС и индукции ответов Т-хелперных клеток. Ретро-обратные пептиды, которые содержат связи NH-CO вместо пептидных связей CO-NH, намного более устойчивы к протеолизу.

Непептидной связью является, например, -CH<sub>2</sub>-NH-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-, -COCH<sub>2</sub>-, -CH(OH)CH<sub>2</sub>- и -CH<sub>2</sub>SO-. В патенте США № 4 897 445 предлагается метод твердофазного синтеза непептидных связей (-CH<sub>2</sub>-NH) в полипептидных цепях, который включает полипептиды, синтезированные с использованием стандартной методики, и непептидную связь, синтезированную при реакции альдегида и аминокислоты в присутствии NaCNBH<sub>3</sub>.

Пептиды, включающие последовательности, описанные выше, могут быть синтезированы с дополнительными химическими группами, находящимися на их аминном и/или карбоксильном концах, для увеличения стабильности, биологической доступности и/или аффинности пептидов. Например, гидрофобные группы, такие как карбобензоксильные, данзильные или трет-бутилоксикарбонильные группы, могут быть добавлены к аминным концам пептидов. Подобным образом, ацетильная группа или 9-флуоренилметокси-карбонильная группа может быть размещена на аминных концах пептидов. Кроме того, гидрофобная группа, трет-бутилоксикарбонильная или амидная группа может быть добавлена к карбоксильным концам пептидов.

Кроме того, все пептиды по изобретению могут быть синтезированы в целях изменения их пространственной конфигурации. Например, может быть использован D-изомер одного или нескольких аминокислотных остатков пептида, а не обычный L-изомер. Более того, по меньшей мере один из аминокислотных остатков пептидов по изобретению может быть замещен одним из хорошо известных не встречающихся в природе аминокислотных остатков. Изменения,

такие как данные, могут служить для повышения стабильности, биологической доступности и/или связывающих свойств пептидов по изобретению.

Подобным образом, пептид или вариант по изобретению может быть модифицирован химическим способом посредством реакции отдельных аминокислот как до, так и после синтеза пептида. Примеры таких модификаций хорошо известны из уровня техники и обобщаются, например, в работе R. Lundblad, *Chemical Reagents for Protein Modification*, 3rd ed. CRC Press, 2004 (Lundblad, 2004), которая включена в описание по ссылке. Химическая модификация аминокислот включает, но без ограничения, модификацию с помощью ацилирования, амидинирования, пиридоксилерования лизина, восстановительного алкилирования, тринитробензилирования аминных групп 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), амидную модификацию карбоксильных групп и сульфгидрильную модификацию с помощью окисления надмуравьиной кислотой цистеина до цистеиновой кислоты, образование производных ртути, образование смешанных дисульфидов с другими тиоловыми соединениями, реакцию с малеимидом, карбоксиметилирование йодоуксусной кислотой или йодацетамидом и карбамоилирование цианатом при щелочном уровне pH, хотя не ограничиваясь ими. В этой связи специалист данной области может проконсультироваться с главой 15 в работе *Current Protocols In Protein Science*, Eds. Hassan и соавт. (John Wiley and Sons NY 1995-2000) (Coligan et al., 1995) для получения более обширной информации о методах, связанных с химической модификацией белков.

Вкратце, модификация, например, аргинильных остатков в белках часто основана на реакции вицинальных дикарбонильных соединений, таких как фенилглиоксаль, 2,3-бутандион и 1,2-циклогександион, с образованием аддукта. Другим примером является реакция метилглиоксаля с остатками аргинина. Цистеин может быть модифицирован без сопутствующей модификации других нуклеофильных сайтов, таких как лизин и гистидин. В результате для модификации цистеина доступно большое число реагентов. Веб-сайты компаний, таких как Sigma-Aldrich (<http://www.sigma-aldrich.com>), предоставляют информацию по конкретным реагентам.

Распространено также избирательное восстановление дисульфидных связей в белках. Дисульфидные связи могут быть образованы и окислены во время тепловой обработки биофармацевтических средств. К-реагент Вудворда может использоваться для модификации определенных остатков глутаминовой кислоты. N-(3-(диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид может использоваться для образования внутримолекулярных поперечных связей между остатком лизина и остатком глутаминовой кислоты. Например, диэтилпирокарбонат является реагентом для модификации гистидильных остатков в белках. Гистидин может также быть модифицирован при использовании 4-гидрокси-2-ноненаля. Реакция остатков лизина и других  $\alpha$ -аминных групп полезна, например, при связывании пептидов с поверхностями или поперечной сшивке белков/пептидов. Лизин является сайтом присоединения полиэтиленгликоля и основным сайтом модификации при гликозилировании белков. Остатки метионина в белках могут быть модифицированы, например, с помощью йодацетамида, бромэтиламина и хлорамина T.

Тетранитрометан и N-ацетилимидазол могут быть использованы для модификации тирозильных остатков. Поперечная сшивка посредством образования дитирозина может быть произведена с помощью перекиси водорода/ионов меди.

В последних исследованиях по модификации триптофана использовались N-бромсукцинимид, 2-гидрокси-5-нитробензилбромид или 3-бром-3-метил-2-(2-нитрофенилмеркапто)-3H-индол (BPNS-скатол).

Успешная модификация терапевтических белков и пептидов ПЭГ (полиэтиленгликолем) часто связана с увеличением полупериода циркуляции, тогда как поперечная сшивка белков глутаральдегидом, полиэтиленгликоль-диакрилатом и формальдегидом используется для получения гидрогелей. Химическая модификация аллергенов для иммунотерапии часто достигается при карбамоилировании цианатом калия.

Пептид или вариант, в котором пептид модифицирован или включает непептидные связи, является предпочтительным вариантом осуществления изобретения. Как правило, пептиды и варианты (по меньшей мере те, что содержат пептидные связи между аминокислотными остатками) могут быть синтезированы Fmoc-

полиамидным способом твердофазного синтеза пептидов, как раскрыто у Lukas и соавт. (Lukas et al., 1981) и в прилагающихся ссылках. Временная защита N-аминогруппы производится 9-флуоренилметилоксикарбонильной (Fmoc) группой. Повторное расщепление этой высоко щелочелабильной защитной группы осуществляется при использовании 20% пиперидина в N, N-диметилформамиде. Функциональные группы боковой цепи могут быть защищены получением таких соединений, как их бутиловые эфиры (в случае серина, треонина и тирозина), бутиловые сложные эфиры (в случае глутаминовой кислоты и аспарагиновой кислоты), бутилоксикарбонильное производное (в случае лизина и гистидина), тритильное производное (в случае цистеина) и производное 4-метокси-2,3,6-триметилбензолсульфонила (в случае аргинина). Если глутамин или аспарагин являются C-терминальными остатками, для защиты амидогруппы боковой цепи используется 4,4'-диметоксибензгидрильная группа. Твердофазный носитель основан на полимере полидиметилакриламиде, состоящем из трех мономеров: диметилакриламида (каркасный мономер), бис-акрилоилэтилендиамин (компонент для перекрестной сшивки, линкер) и метилового эфира акрилоилсаркозина (функционализирующий агент). Для образования легкорасщепляемой связи пептида и смолы используется нестойкое к действию кислот производное 4-гидроксиметилфеноксиуксусной кислоты. Все аминокислотные производные добавляются в виде предварительно синтезированных симметричных ангидридных производных за исключением аспарагина и глутамина, которые добавляются с применением обратной реакции соединения, опосредованной N, N-дициклогексилкарбодиимид/1-гидроксибензотриазолом. Все реакции сочетания и снятия защитных групп отслеживались с помощью методов контроля с применением нингидрина, тринитробензолсульфоновой кислоты или изотина. После завершения синтеза пептиды отщепляются от смолы-носителя с сопутствующим удалением защитных групп боковой цепи при обработке 95% трифторуксусной кислотой, содержащей 50 % смеси поглотителей. Обычно используемые поглотители включают этандитиол, фенол, анизол и воду, окончательный выбор зависит от составляющих аминокислот синтезируемого пептида. Также возможна комбинация твердофазных и жидкофазных методов синтеза пептидов (см., например, (Bruckdorfer et al., 2004), и прилагаемые ссылки).

Трифторуксусную кислоту удаляют выпариванием в вакууме с последующим измельчением с диэтиловым эфиром для получения сырого пептида. Любые присутствующие поглотители удаляются простой технологией экстракции, которая позволяет получить сырой пептид без поглотителей после лиофилизации водной фазы. Реагенты для синтеза пептидов, как правило, имеются в наличии, например, в Calbiochem-Novabiochem (Ноттингем, Великобритания).

Очистка может быть произведена любой методикой или комбинацией таких методик как перекристаллизация, эксклюзионная хроматография, ионообменная хроматография, хроматография гидрофобного взаимодействия и (обычно) обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием, к примеру, градиентного разделения в системе ацетонитрил/вода.

Анализ пептидов может быть произведен при помощи тонкослойной хроматографии, электрофореза, в частности капиллярного электрофореза, твердофазной экстракции (ТФЭ), обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, аминокислотного анализа после кислотного гидролиза и масс-спектрометрического анализа при бомбардировке быстрыми атомами (FAB), а также масс-спектрометрического анализа MALDI и ESI-Q-TOF.

В целях выбора презентруемых в избытке пептидов был рассчитан профиль презентации, позволяющий оценить медианное значение презентации образца, а также вариации повторных измерений. В профиле сравниваются образцы опухолевой формы, представляющей интерес, с фоновым уровнем образцов нормальной ткани. Каждый из этих профилей может быть затем консолидирован в показатель избыточной презентации путем расчета значения  $p$  по линейной модели со смешанными эффектами (Pinheiro et al., 2015), скорректировав ее для повторных анализов на уровень ложноположительных результатов (Benjamini and Hochberg, 1995).

Для идентификации и относительной количественной оценки лигандов HLA с помощью масс-спектрометрического анализа молекулы HLA из подвергнутых шоковой заморозке образцов тканей были очищены и из них выделены HLA-ассоциированные пептиды. Выделенные пептиды были разделены и

последовательности были идентифицированы с помощью методов жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (LC-MS) с ионизацией электрораспылением (nanoESI) в режиме реального времени. Полученные пептидные последовательности подтверждали сравнением картины фрагментации пептидов TUMAP, записанной на образцах рака поджелудочной железы (N = 20 A\*02-положительный образец), с картинами фрагментации соответствующих синтетических контрольных пептидов с идентичными последовательностями. Поскольку пептиды были идентифицированы непосредственно в качестве лигандов молекул HLA опухолевых клеток, то эти результаты дают прямое доказательство процессирования и презентации идентифицированных пептидов на ткани рака поджелудочной железы.

Технологическая платформа лекарственных средств, находящаяся в разработке, XPRESIDENT® v2.1 (см., например, патентную заявку США 2013-0096016, включенную в настоящее описание в своей полноте путем ссылки) позволяет произвести идентификацию и выбор соответствующих избыточно презентуемых пептидов в качестве кандидатов для вакцины, основываясь на прямом относительном количественном определении уровней HLA-рестриктированных пептидов на раковой ткани в сравнении с несколькими различными нераковыми тканями и органами. Это было осуществлено путем разработки дифференциального количественного определения на основе данных ЖХ-МС без использования изотопной метки (label-free), обработанных запатентованной технологической платформой для анализа данных, объединяющей алгоритмы для идентификации последовательности, спектральной кластеризации, подсчета ионов, выравнивания времени удерживания, деконволюции по состояниям заряда и нормализации.

Для каждого пептида и образца были подсчитаны уровни презентации, включающие оценки погрешности. Были идентифицированы пептиды, презентуемые исключительно на опухолевой ткани, и пептиды, избыточно презентуемые на опухолевых тканях в сравнении с не пораженными раком тканями и органами.

Комплексы HLA-пептид из образцов рака поджелудочной железы были очищены и HLA-ассоциированные пептиды были выделены и проанализированы методом ЖХ-

МС (см. примеры). Все TUMAP, содержащиеся в настоящей патентной заявке, были идентифицированы с помощью этого подхода на образцах рака поджелудочной железы, что подтверждает их презентацию на клетках рака поджелудочной железы.

Пептиды TUMAP, идентифицированные на многочисленных тканях рака поджелудочной железы и нормальных тканях, были подвергнуты количественному анализу с помощью ЖХ/МС без изотопной метки с использованием подсчета ионов. Метод основан на предположении, что площади пика пептида при анализе методом ЖХ/МС коррелируют с его содержанием в образце. Все количественные сигналы пептида в различных экспериментах с использованием ЖХ/МС были нормализованы, исходя из основной тенденции, было вычислено их среднее значение на образец, и сведены в гистограмму в т. н. профиль презентации. В профиле презентации консолидированы различные методы анализа, такие как поиск в банке данных белков, спектральная кластеризация, деконволюция состояния заряда (разряд) и выравнивание времени удерживания и нормализация.

В настоящем изобретении предложены пептиды, которые пригодны для лечения раковых заболеваний / опухолей, предпочтительно рака поджелудочной железы, клетки которых презентируют в избытке или исключительно пептиды по изобретению. Как показал масс-спектрометрический анализ, эти пептиды естественно презентировались молекулами HLA на образцах рака поджелудочной железы человека.

Многие из исходных генов/белков (называемых также «белками полной длины» или «базовыми белками»), из которых были получены пептиды, были в высокой степени избыточно экспрессированы в клетках рака по сравнению с нормальными тканями – понятие «нормальные ткани» в связи с настоящим изобретением подразумевает здоровые клетки легких или другие нормальные клетки ткани, демонстрирующие высокую степень ассоциации исходных генов с опухолью (см. Пример 2). Более того, сами пептиды в высшей степени избыточно презентируются на опухолевой ткани – понятие «опухолевая ткань» в связи с настоящим изобретением подразумевает образец рака поджелудочной железы, но не на нормальных тканях (см. Пример 1).

Связанные с HLA пептиды могут распознаваться иммунной системой, конкретно Т-лимфоцитами. Т-клетки могут разрушать клетки, презентующие распознанный комплекс HLA/пептид; к примеру, клетки рака поджелудочной железы, презентующие полученные пептиды.

Было показано, что пептиды по настоящему изобретению способны стимулировать Т-клеточные ответы и/или избыточно презентуются и, поэтому, могут использоваться для получения антител и/или ТКР, такие как растворимые ТКР, в соответствии с настоящим изобретением (см. Пример 3, Пример 4). Кроме того, пептиды, если находятся в комплексе с соответствующей молекулой МНС, могут быть использованы для получения антител и/или ТКР, в частности растворимых ТКР, в соответствии с настоящим изобретением. Соответствующие способы хорошо известны специалисту данной области, а также могут быть найдены в соответствующих литературных источниках. Таким образом, пептиды по настоящему изобретению пригодны для генерирования иммунного ответа в организме пациента для уничтожения опухолевых клеток. Иммунный ответ у пациента может быть индуцирован при непосредственном введении описанных пептидов или подходящих веществ-предшественников (к примеру, удлиненных пептидов, белков или нуклеиновых кислот, кодирующих эти пептиды) пациенту, в идеальном случае в комбинации с веществом, усиливающим иммуногенность (т. е. адъювантом). Можно ожидать, что иммунный ответ, вызванный такой терапевтической вакцинацией, будет высоко специфично направлен против опухолевых клеток, так как целевые пептиды по настоящему изобретению не презентуются на нормальных тканях в сравнимом количестве копий, предотвращая, тем самым, риск нежелательных аутоиммунных реакций против нормальных клеток у пациента.

Настоящее описание далее относится к Т-клеточным рецепторам (ТКР), включающим альфа-цепь и бета-цепь («альфа/бета-ТКР»). Также предложены пептиды HAVCR1-001, способные связываться с ТКР и антителами, если они презентуются молекулой МНС. Настоящее описание также относится к нуклеиновым кислотам, векторам и клеткам-хозяевам для экспрессии ТКР и пептидам по настоящему изобретению; и методам их применения.

Понятие «Т-клеточный рецептор» (аббревиатура ТКР) относится к гетеродимерной молекуле, включающей альфа-полипептидную цепь (альфа-цепь) и бета-полипептидную цепь (бета-цепь), где гетеродимерный рецептор способен связываться с пептидным антигеном, презентруемым молекулой HLA. Это понятие включает также так называемые гамма/дельта-ТКР.

В одном варианте осуществления согласно описанию предложен способ получения ТКР, согласно настоящему описанию, при чем способ включает культивацию клетки-хозяина, способной экспрессировать ТКР в условиях, подходящих для стимуляции экспрессии ТКР.

Настоящее описание в другом аспекте далее относится к способам в соответствии с настоящим описанием, где антиген нагружен на молекулы МНС I или II класса, экспрессированные на поверхности подходящей антигенпрезентирующей клетки или искусственной антигенпрезентирующей клетки, при контактировании достаточного количества антигена с антигенпрезентирующей клеткой, или же антиген нагружен на тетрамеры МНС I или II класса путем тетрамеризации комплексов антиген-мономер МНС I или II класса.

Альфа- и бета-цепи альфа-/бета-ТКР и гамма- и дельта-цепи гамма-/дельта-ТКР, как правило, считаются такими, что каждая из них имеет два «домена», а именно переменные и константные домены. Переменный домен состоит из последовательно расположенных переменного сегмента (V) и соединительного сегмента (J). Переменный домен может также включать лидерный сегмент (L). Бета- и дельта-цепи могут также включать сегменты разнообразия (D). Константные домены альфа и бета могут также включать C-терминальные трансмембранные (TM) домены, которые закоривают альфа- и бета-цепи на клеточной мембране.

В отношении гамма-/дельта-ТКР, понятие «гамма переменный домен ТКР», используемый в контексте данного изобретения, относится к соединению сегмента гамма V ТКР (TRGV) без лидерного сегмента (L) и сегмента ТКР гамма J (TRGJ), а понятие «константный домен ТКР гамма» относится к внеклеточному сегменту TRGC или C-терминальной усеченной последовательности TRGC. В равной степени понятие «дельта переменный домен ТКР» относится к соединению

сегмента ТКР дельта V (TRDV) без лидерного сегмента (L) и сегмента ТКР дельта D/J (TRDD/TRDJ), а понятие «константный домен ТКР-дельта» относится к внеклеточному сегменту TRDC или С-терминальной усеченной последовательности.

ТКР по настоящему изобретению предпочтительно связываются с комплексом пептида HAVCR1-001 и молекулы HLA с аффинностью связывания (KD) около 100 мкМ или ниже, около 50 мкМ или ниже, около 25 мкМ или ниже или около 10 мкМ или ниже. Более предпочтительными являются высокоаффинные ТКР с аффинностью связывания, составляющей около 1 мкМ или ниже, около 100 нМ или ниже, около 50 нМ или ниже, около 25 нМ или ниже. Неограничивающие примеры диапазонов предпочтительной аффинности связывания для ТКР по настоящему изобретению включают значения от около 1 нМ до около 10 нМ; от около 10 нМ до около 20 нМ; от около 20 нМ до около 30 нМ; от около 30 нМ до около 40 нМ; от около 40 нМ до около 50 нМ; от около 50 нМ до около 60 нМ; от около 60 нМ до около 70 нМ; от около 70 нМ до около 80 нМ; от около 80 нМ до около 90 нМ; и от около 90 нМ до около 100 нМ.

Понятие «специфическое связывание», используемое в связи с понятием ТКР по настоящему изобретению, и его грамматические варианты используются для обозначения ТКР с аффинностью связывания (KD) для комплекса пептида HAVCR1-001 и молекулы HLA 100 мкМ или ниже.

Альфа/бета гетеродимерные ТКР согласно настоящему описанию могут иметь введенную дисульфидную связь между их константными доменами. Предпочтительные ТКР этого вида включают те, что имеют последовательность константного домена TRAC и последовательность константного домена TRBC1 или TRBC2, кроме тех случаев, когда Thr 48 домена TRAC и Ser 57 доменов TRBC1 или TRBC2 замещены остатками цистеина, причем указанные остатки цистеина формируют дисульфидную связь между последовательностью константного домена TRAC и последовательностью константного домена TRBC1 или TRBC2 ТКР.

С введением межцепочечной связи, упомянутой выше, или без нее альфа/бета гетеродимерные ТКР по настоящему изобретению могут иметь

последовательность константного домена TRAC и последовательность константного домена TRBC1 или TRBC2, и последовательность константного домена TRAC и последовательность константного домена TRBC1 или TRBC2 ТКР может быть связана встречающейся в природе дисульфидной связью между Cys4 экзона 2 домена TRAC и Cys2 экзона 2 домена TRBC1 или TRBC2.

ТКР по настоящему изобретению могут включать поддающуюся обнаружению метку, выбранную из группы, состоящей из радионуклида, флуорофора и биотина. ТКР по настоящему изобретению могут конъюгированы с терапевтически активным ингредиентом, таким как радионуклид, химиотерапевтическим средством или токсином.

В одном варианте осуществления ТКР по настоящему изобретению, имеющий по меньшей мере одну мутацию альфа-цепи и/или имеющий по меньшей мере одну мутацию бета-цепи, обладает модифицированным гликозилированием в сравнении с ТКР без мутаций.

В одном варианте осуществления ТКР, содержащий по меньшей мере одну мутацию в альфа-цепи ТКР и/или бета-цепи ТКР, имеет аффинность связывания по отношению к и/или полупериод связывания по отношению к комплексу пептида HAVCR1-001 и молекулы HLA, которые по меньшей мере вдвое выше, чем у ТКР, содержащего альфа-цепь ТКР без мутаций и/или бета-цепь ТКР без мутаций. Усиление аффинности опухолеспецифических ТКР, а также ее использование, опирается на существование «окна» с оптимальными показателями аффинности для ТКР. Существование такого окна основано на наблюдениях, что ТКР, специфические для HLA-A2-рестриктированных патогенов, обладают показателями KD, которые, в основном, примерно в 10 раз ниже по сравнению с ТКР, специфическими для HLA-A2-рестриктированных опухолеассоциированных аутоантигенов. Сейчас известно, хотя опухолевые антигены имеют иммуногенный потенциал, поскольку опухоли возникают из собственных клеток индивида, только мутантные белки или белки с изменениями в трансляционном процессинге будут восприниматься иммунной системой как чужеродные. Антигены, уровень которых повышен или которые экспрессируются в избытке (так называемые аутоантигены), не будут в обязательном порядке вызывать функциональный иммунный ответ против опухоли: Т-клетки, экспрессирующие ТКР, которые являются высоко

активными по отношению к данным антигенам, будут подвергаться отрицательному отбору внутри вилочковой железы в процессе, известном как центральная толерантность, что означает, что останутся лишь Т-клетки с низкоаффинными ТКР к аутоантигенам. Поэтому аффинность ТКР или вариантов согласно настоящему описанию по отношению к HAVCR1-001 может быть усилена способами, хорошо известными из уровня техники.

Настоящее описание относится далее к способу идентификации и выделения ТКР в соответствии с настоящим описанием, причем указанный способ включает инкубацию МКПК HLA-A\*02-отрицательных здоровых доноров с A2/мономерами HAVCR1-001, инкубацию МКПК с тетрамер-фикоэритрином (PE) и выделение Т-клеток с высокой авидностью с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS)–Calibur.

Настоящее описание относится далее к способу идентификации и выделения ТКР в соответствии с настоящим описанием, причем указанный способ включает получение трансгенной мыши с целыми человеческими локусами гена TCR $\alpha\beta$  (1,1 и 0,7 млн. п. н.), Т-клетки которой экспрессируют различные ТКР человека, компенсируя недостаток ТКР у мыши, иммунизацию мыши пептидом HAVCR1-001, инкубацию МКПК, полученных у трансгенной мыши с тетрамер-фикоэритрином (PE) и выделение Т-клеток с высокой авидностью с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS)–Calibur.

В одном аспекте для получения Т-клеток, экспрессирующих ТКР согласно настоящему описанию, нуклеиновые кислоты, кодирующие цепи ТКР-альфа и/или ТКР-бета согласно настоящему описанию, клонируют в векторы экспрессии, такие как гамма-ретровирус или -лентивирус. Рекомбинантные вирусы получают и проводят испытание их функциональности, такой как антигенная специфичность и функциональная авидность. Аликвота конечного продукта затем используется для трансдукции целевой популяции Т-клеток (как правило, очищенных от МКПК пациента), которую культивируют перед инфузией пациенту.

В другом аспекте для получения Т-клеток, экспрессирующих ТКР согласно настоящему описанию, РНК ТКР синтезируют с помощью методик, известных из уровня техники, например, транскрипционные системы *in vitro*. Синтезированные *in*

in vitro РНК ТКР затем вводят с помощью электропорации в первичные CD8<sup>+</sup> Т-клетки, полученные у здоровых доноров, в целях повторной экспрессии альфа- и/или бета-цепей опухолеспецифических ТКР.

Для увеличения уровня экспрессии нуклеиновые кислоты, кодирующие ТКР согласно настоящему описанию, могут быть функционально связаны с сильными промоторами, такими как длинные терминальные повторы ретровируса (LTR), цитомегаловируса (CMV), вируса стволовых клеток мыши (MSCV) U3, фосфолицерат-киназой (PGK),  $\beta$ -актином, убиквитином и комбинированным промотором вируса обезьян 40 (SV40)/CD43, фактором элонгации (EF)-1a и промотором вируса некроза селезёнки (SFFV). В предпочтительном варианте осуществления промотор является гетерологичным по отношению к экспрессируемой нуклеиновой кислоте.

В дополнение к сильным промоторам экспрессионные кассеты ТКР согласно настоящему описанию могут содержать дополнительные элементы, которые могут усиливать экспрессию трансгена, включая центральный полипуриновый тракт (сPPT), который способствует ядерной транслокации лентивирусных конструкций (Follenzi et al., 2000), и пост-транскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурков (wPRE), который повышает уровень экспрессии трансгена за счет увеличения стабильности РНК (Zufferey et al., 1999).

Альфа- и бета-цепи ТКР по настоящему изобретению могут кодироваться нуклеиновыми кислотами, локализованными в отдельных векторах, или могут кодироваться полинуклеотидами, локализованными в одном и том же векторе.

Для достижения высоких уровней экспрессии ТКР на поверхности требуется транскрипция высоких уровней как цепей ТКР-альфа, так и ТКР-бета, введенного ТКР. Для этого цепи ТКР-альфа и ТКР-бета согласно настоящему описанию могут быть клонированы в бицистронные конструкции в одном векторе, который, как было показано, способен преодолеть данное препятствие. Использование участка внутренней посадки рибосомы вируса (IRES) между цепями ТКР-альфа и ТКР-бета приводит к скоординированной экспрессии обеих цепей, поскольку цепи ТКР-альфа и ТКР-бета образуются из одного транскрипта, который разделяется на два белка

во время транскрипции, обеспечивая получение равного молярного соотношения цепей ТКР-альфа и ТКР-бета. (Schmitt et al. 2009).

Нуклеиновые кислоты, кодирующие ТКР согласно настоящему описанию, могут быть кодон-оптимизированы для увеличения экспрессии клеткой-хозяином. Избыточность генетического кода позволяет кодирование некоторых аминокислот более чем одним кодоном, однако некоторые конкретные кодоны менее «оптимальны», чем другие, по причине относительной доступности подходящих тРНК, а также других факторов (Gustafsson и соавт., 2004). Как было показано, модификации последовательностей генов ТКР-альфа и ТКР-бета, так чтобы каждая аминокислота кодировалась оптимальным кодоном для экспрессии генов млекопитающих, а также удаление нестабильных мотивов мРНК или криптических сайтов сплайсинга, существенно усиливали экспрессию генов ТКР-альфа и ТКР-бета (Scholten и соавт., 2006).

Кроме того, нарушение комплементарности между введенными и эндогенными цепями ТКР может привести к приобретению специфичности, которая будет представлять значительный риск для аутоиммунности. Например, формирование смешанных димеров ТКР может снизить число молекул CD3, имеющих в наличии для формирования правильно спаренных комплексов ТКР, и, таким образом, может существенно снизить функциональную avidность клеток, экспрессирующих введенный ТКР (Kuball и соавт., 2007).

Для снижения ошибочного спаривания С-концевой домен введенных цепей ТКР согласно настоящему описанию может быть модифицирован в целях стимуляции межцепочечной аффинности, при этом снижая способность введенных цепей спариваться с эндогенным ТКР. Данные стратегии могут включать замещение С-концевых доменов ТКР-альфа и ТКР-бета-цепей человека их мышинными эквивалентами (С-концевой «муринизированный» домен ); получение второй межцепочечной дисульфидной связи в С-концевом домене за счет введения второго остатка цистеина в обе цепи: ТКР-альфа и ТКР-бета введенного ТКР (модификация цистеином); обмен взаимодействующими остатками в С-концевом домене ТКР-альфа и ТКР-бета-цепей («выступ-во-впадину»); и слияние переменных доменов цепей ТКР-альфа и ТКР-бета непосредственно в CD3 $\zeta$  (слияние CD3 $\zeta$ ). (Schmitt et al. 2009).

В одном варианте осуществления клетка-хозяин генетически модифицирована, чтобы экспрессировать ТКР согласно настоящему описанию. В предпочтительных вариантах осуществления клетка-хозяин является человеческой Т-клеткой или предшественником Т-клетки. В одних вариантах осуществления Т-клетка или предшественник Т-клетки получены у пациента, больного раком. В других вариантах осуществления Т-клетка или предшественник Т-клетки получены у здорового донора. Клетки-хозяева согласно настоящему описанию могут быть аллогенными или аутологичными в отношении пациента, подлежащего лечению. В одном варианте осуществления клетка-хозяин является гамма/дельта Т-клеткой, трансформированной для экспрессии альфа-/бета-ТКР.

«Фармацевтическая композиция» является композицией, подходящей для введения человеку в рамках лечения. Предпочтительно, если фармацевтическая композиция является стерильной и произведена в соответствии с правилами GMP (надлежащей производственной практики).

Фармацевтические композиции включают пептиды как в свободной форме, так и в форме фармацевтически приемлемой соли (см. также выше). Используемое в контексте данного изобретения понятие «фармацевтически приемлемая соль» относится к производным раскрытых пептидов, причем пептид модифицирован путем получения кислых или основных солей вещества. Например, кислые соли получают из свободного основания (как правило, где нейтральная форма лекарственного средства имеет нейтральную группу  $-NH_2$ ) с применением реакции с подходящей кислотой. Подходящие кислоты для получения кислых солей включают как органические кислоты, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, гликолевую кислоту, пировиноградную кислоту, щавелевую кислоту, яблочную кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, малеиновую кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, коричную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, п-толуолсульфоокислоту, салициловую кислоту и подобные, так и неорганические кислоты, например, соляную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и тому подобные. И наоборот, приготовление основных солей кислотных компонентов, которые могут присутствовать на пептиде, производится при

использовании фармацевтически приемлемого основания, такого как гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид аммония, гидроксид кальция, триметиламин и тому подобных.

В одном особенно предпочтительном варианте осуществления фармацевтические композиции включают пептиды в виде солей уксусной кислоты (ацетаты), трифторацетатов или соляной кислоты (хлориды).

Предпочтительно, если лекарственное средство по настоящему изобретению является иммунотерапевтическим препаратом, таким как вакцина. Она может вводиться непосредственно пациенту, в пораженный орган или системно в/к, в/м, п/к, в/б и в/в или вноситься *ex vivo* в клетки, полученные от пациента, или в человеческую клеточную линию, которые затем могут вводиться пациенту или использоваться *in vitro* для селекции субпопуляции из иммунных клеток, полученных от пациента, которые после этого вновь вводятся пациенту. Если нуклеиновая кислота введена в клетки *in vitro*, то может быть полезно, чтобы клетки были трансфицированными, чтобы совместно экспрессировать иммуностимулирующие цитокины, такие как интерлейкин-2. Пептид может быть по существу чистым или в комбинации с иммуностимулирующим адъювантом (см. ниже) или использоваться в комбинации с иммуностимулирующими цитокинами или же вводиться с подходящей системой доставки, например, липосомами. Пептид может быть также конъюгирован с подходящим носителем, таким как гемоцианин фиссуреллы (KLH) или маннан (см. WO 95/18145 и (Longenecker et al., 1993)). Пептид может быть также меченым или может быть слитым белком или гибридной молекулой. Пептиды, последовательность которых дана в настоящем изобретении, как ожидается, стимулируют CD4+ или CD8+ Т-клетки. Тем не менее, стимуляция CD8 Т-клеток более эффективна в присутствии поддержки, предоставляемой CD4 хелперными Т-клетками. Таким образом, для эпитопов MHC I класса, которые стимулируют CD8 Т-клетки, партнеры в слиянии или участки гибридной молекулы надлежащим образом предоставляют эпитопы, которые стимулируют CD4-положительные Т-клетки. CD4- и CD8-стимулирующие эпитопы хорошо известны из уровня техники и включают те, что были идентифицированы в настоящем изобретении.

В одном аспекте вакцина включает по меньшей мере один пептид, имеющий аминокислотную последовательность с SEQ ID No. 1 по SEQ ID No 161, и по меньшей мере один дополнительный пептид, предпочтительно от двух до 50, более предпочтительно от двух до 25, еще более предпочтительно от двух до 20 и, наиболее предпочтительно, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать или восемнадцать пептидов. Пептид(ы) может(могут) быть получен(ы) из одного или более специфических ТАА и может(могут) связываться с молекулами МНС I класса.

В еще одном аспекте изобретения предлагается нуклеиновая кислота (например, полинуклеотид), кодирующая пептид или вариант пептида по изобретению. Полинуклеотид может быть, например, ДНК, κДНК, ПНК, РНК или их комбинациями, как одно-, так и/или двухнитевыми; природными или стабилизированными формами полинуклеотидов, такими как, например, полинуклеотиды с фосфоротиоатным остовом, и может содержать или не содержать интроны при условии, что полинуклеотид кодирует пептид. Разумеется, только пептиды, которые содержат встречающиеся в природе аминокислотные остатки, присоединенные встречающимися в природе пептидными связями, могут кодироваться полинуклеотидом. В другом аспекте изобретения предложен вектор экспрессии, способный экспрессировать полипептид в соответствии с изобретением.

Был разработан ряд способов связывания полинуклеотидов, в особенности ДНК, с векторами, например, с помощью комплементарных липких концов. К примеру, к сегменту ДНК могут быть добавлены комплементарные гомополимерные хвосты для встраивания в векторную ДНК. Этот вектор и сегмент ДНК в таком случае соединены водородной связью между комплементарными гомополимерными хвостами, образуя молекулы рекомбинантной ДНК.

Синтетические линкеры, содержащие один или несколько сайтов рестрикции, обеспечивают альтернативный способ присоединения сегмента ДНК к векторам. Синтетические линкеры, содержащие ряд сайтов распознавания рестрикционной эндонуклеазы, имеются в продаже в различных источниках, включая International Biotechnologies Inc, Нью-Хейвен, Коннектикут, США.

В желаемом способе модификации ДНК, кодирующей полипептид по изобретению, используется полимеразная цепная реакция, как раскрыто в работе Saiki RK и соавт. (Saiki et al., 1988). Этот способ может быть использован для введения ДНК в подходящий вектор, например, при создании подходящих сайтов рестрикции, или же он может быть использован для модификации ДНК другими пригодными путями, известными из уровня техники. Если используются вирусные векторы, то предпочтительными являются поксвирусные или аденовирусные векторы.

Затем ДНК (или в случае ретровирусных векторов РНК) может экспрессироваться в подходящем хозяине для получения полипептида, включающего пептид или вариант по изобретению. Таким образом, ДНК, кодирующая пептид или вариант по изобретению, может быть использована в соответствии с известными методиками, модифицированными соответствующим образом с учетом раскрытых в данном описании идей, для конструирования вектора экспрессии, который затем используется для трансформации подходящей клетки-хозяина для экспрессии и получения полипептида по изобретению. Такие методики включают те, что раскрыты, например, в патентах США №№ 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 и 4 810 648.

ДНК (или в случае ретровирусных векторов – РНК), кодирующая полипептид, представляющий собой соединение по изобретению, может быть присоединена к обширному ряду других последовательностей ДНК для введения в соответствующего хозяина. ДНК-спутник будет зависеть от природы хозяина, способа введения ДНК хозяину и от того, желательно ли поддержание в эписомальной или интеграционной форме.

Как правило, ДНК вводится в вектор экспрессии, такой как плазмида, с соответствующей ориентацией и правильной рамкой считывания для экспрессии. Если необходимо, то ДНК может быть соединена с соответствующими нуклеотидными последовательностями, обеспечивающими координацию транскрипции и трансляции, распознаваемыми желательным хозяином, хотя такие контрольные элементы обычно имеются в векторе экспрессии. Вектор вводится затем хозяину стандартными способами. Как правило, не все хозяева трансформируются вектором. Поэтому будет необходимо выделить трансформированные клетки-хозяева. Одна из методик отбора включает введение

в вектор экспрессии последовательности ДНК с любыми необходимыми элементами контроля, которая кодирует выбранный признак в трансформированной клетке, такой как устойчивость к антибиотикам.

В качестве альтернативы ген для такого выбираемого признака может быть на другом векторе, который используется для совместной трансформации желаемой клетки-хозяина.

Клетки-хозяева, которые были трансформированы рекомбинантной ДНК по изобретению, культивируют затем в течение достаточного времени и при соответствующих условиях, известных специалистам данной области, с учетом раскрытых в данном описании идей, что ведет к экспрессии полипептида, который после этого может быть выделен.

Известно множество систем экспрессии, включающих бактерии (например, *E. coli* и *Bacillus subtilis*), дрожжи (например, *Saccharomyces cerevisiae*), мицелиальные грибы (например, *Aspergillus spec.*), растительные клетки, клетки животных и насекомых. Предпочтительно, чтобы система была клетками млекопитающих, такими как клетки CHO, имеющимися в наличии в Американской коллекции типовых культур ATCC.

Типичная клеточная векторная плаزمиды млекопитающих для конститутивной экспрессии включает промотор CMV или SV40 с подходящим концевым участком поли-А и маркером устойчивости, таким как неомицин. Одним примером является pSVL, имеющимся в наличии в компании Pharmacia, Пискатеуэй, Нью-Джерси, США. Примером индуцируемого вектора экспрессии млекопитающих является pMSG, также имеющийся в наличии в Pharmacia. Пригодными плазмидными векторами дрожжей являются pRS403-406 и pRS413-416, и они, как правило, имеются в наличии у компании Stratagene Cloning Systems, Ла Джолла, Калифорния 92037, США. Плазмиды pRS403, pRS404, pRS405 и pRS406 являются дрожжевыми интегрирующими плазмидами (YIps) и включают дрожжевые селективируемые маркеры HIS3, TRP1, LEU2 и URA3. Плазмиды pRS413-416 являются дрожжевыми плазмидами с центромерами (Ycp). Основанные на промоторе CMV векторы (например, компании Sigma-Aldrich) обеспечивают кратковременную или устойчивую экспрессию, цитоплазмическую экспрессию или секрецию и N-

терминальную или С-терминальную маркировку в различных комбинациях FLAG, 3xFLAG, с-тус или MAT. Данные слитые белки позволяют проводить выявление, очистку и анализ рекомбинантного белка. Слияния с двойной меткой обеспечивают гибкость при выявлении.

Сильный регуляторный участок промотора цитомегаловируса человека (CMV) повышает уровни конститутивной экспрессии белка, достигающие 1 мг/л в клетках COS. Для менее активных клеточных линий белковые уровни обычно составляют ~0,1 мг/л. Присутствие точки начала репликации SV40 будет приводить к высоким уровням репликации ДНК в пермиссивных клетках COS. Векторы CMV, например, могут содержать точку начала репликации pMB1 (производное pBR322) в бактериальных клетках, ген бета-лактамазы для отбора устойчивости к ампициллину у бактерий, *polyA* гормона роста человека, и точку начала репликации f1. Векторы, содержащие лидерную последовательность препротрипсина (PPT), могут направлять секрецию слитых белков FLAG в культуральной среде для очистки с использованием антител к FLAG, смол и планшетов. Другие векторы и системы экспрессии для применения с различными клетками-хозяевами хорошо известны из уровня техники.

В другом предпочтительном варианте осуществления кодируются два или более пептида или варианта пептидов по изобретению и, таким образом, они экспрессируются последовательно (как в случае структуры типа «бусины на нити»). В этих целях пептиды или варианты пептидов могут быть соединены или слиты воедино с помощью фрагментов линкерных аминокислот, таких как, например, LLLLLL, или же могут быть соединены без какого(их)-либо дополнительного(ых) пептида(ов) между ними. Эти структуры могут быть также использованы в противораковой терапии и, возможно, индуцировать иммунные ответы с участием как молекул MHC I, так и MHC II класса.

Настоящее изобретение относится также к клетке-хозяину, трансформированной с помощью полинуклеотидной векторной конструкции по настоящему изобретению. Клетка-хозяин может быть как прокариотической, так и эукариотической. Бактериальные клетки могут быть, предпочтительно, прокариотическими клетками-хозяевами при некоторых условиях и обычно являются штаммом *E. coli*, таким как, например, *E. coli* штамм DH5, имеющимся в наличии в Bethesda Research

Laboratories Inc., Бетесда, Мэриленд, США, и RR1, имеющимся в наличии в Американской коллекции типовых культур ("American Type Culture Collection" (ATCC), Роквил, Мэриленд, США (№ ATCC 31343). Предпочтительные эукариотические клетки-хозяева включают дрожжи, клетки насекомых и млекопитающих, предпочтительно клетки позвоночных, таких как линии фибробластных клеток и клеток толстой кишки таких видов как мышь, крыса, обезьяна или человек. Дрожжевые клетки-хозяева включают YPH499, YPH500 и YPH501, которые, как правило, имеются в наличии в Stratagene Cloning Systems, Ла Джола, Калифорния 92037, США. Предпочтительные клетки-хозяева млекопитающих включают клетки яичника китайского хомяка (CHO), имеющиеся в наличии в ATCC как CCL61, эмбриональные клетки швейцарской мыши линии NIH/3T3, имеющиеся в наличии в ATCC как CRL 1658, клетки COS-1 из почек обезьяны, имеющиеся в наличии в ATCC как CRL 1650, и клетки 293, являющиеся эмбриональными клетками почек эмбрионов человека. Предпочтительными клетками насекомых являются клетки Sf9, которые могут трансфицироваться с помощью бакуловирусных векторов экспрессии. Обзор в отношении выбора подходящих клеток-хозяев для экспрессии представлен, например, в учебном пособии авторов Paulina Balbás и Argelia Lorence «Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols », часть первая, второе издание, ISBN 978-1-58829-262-9, и другой литературе, известной специалисту данной области.

Трансформация соответствующих клеток-хозяев с помощью ДНК-конструкции по настоящему изобретению производится при помощи хорошо известных способов, которые обычно зависят от типа используемого вектора. Относительно трансформации прокариотических клеток-хозяев см., например, работу Cohen и соавт. (Cohen et al., 1972) и (Green and Sambrook, 2012) . Трансформация дрожжевых клеток описывается в работе Sherman и соавт. (Sherman et al., 1986). Также подходит метод Бигса (Beggs) (Beggs, 1978) . Что касается клеток позвоночных, то подходящие для трансфекции таких клеток реагенты, например, фосфат кальция и DEAE-декстран или липосомальные составы, имеются в наличии в Stratagene Cloning Systems или Life Technologies Inc., Гейтерсберг, Мэриленд 20877, США. Электропорация также подходит для трансформации и/или трансфекции клеток и хорошо известна из уровня техники для трансформации дрожжевых клеток, бактериальных клеток, клеток насекомых и клеток позвоночных.

Успешно трансформированные клетки, т. е. клетки, которые содержат конструкцию ДНК по настоящему изобретению, могут быть идентифицированы хорошо известными способами, такими как ПЦР. Альтернативно наличие белка в супернатанте может быть выявлено с применением антител.

Следует понимать, что некоторые клетки-хозяева по изобретению подходят для получения пептидов по изобретению, например, бактериальные, дрожжевые клетки и клетки насекомых. Тем не менее, в конкретных терапевтических методах могут использоваться другие клетки-хозяева. Например, антигенпрезентирующие клетки, такие как дендритные клетки, могут с пользой быть использованы для экспрессии пептидов по изобретению так, что их можно будет нагружать на подходящие молекулы МНС. Таким образом, в настоящем изобретении предложена клетка-хозяин, включающая нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии в соответствии с изобретением.

В предпочтительном варианте осуществления клетка-хозяин является антигенпрезентирующей клеткой, в частности, дендритной клеткой или антигенпрезентирующей клеткой. АПК, нагруженные рекомбинантным слитым белком, содержащим простатическую кислотную фосфатазу (PAP), были одобрены Управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США (FDA) 29 апреля 2010 г. для применения при лечении метастатического HRPC (гормон-рефрактерного рака предстательной железы), протекающего бессимптомно или с минимально выраженными симптомами (сипулейцел-Т) (Rini et al., 2006; Small et al., 2006).

В другом аспекте изобретения предложен способ получения пептида или его варианта, причем способ включает культивацию клетки-хозяина и выделение пептида из клетки-хозяина или его культуральной среды.

В другом варианте осуществления пептид, нуклеиновая кислота или вектор экспрессии по изобретению применяются в медицине. Например, пептид или его вариант может приготавливаться для внутривенного (в/в) введения, подкожного (п/к) введения, внутрикожного (в/к) введения, внутрибрюшинного (в/б) введения, внутримышечного (в/м) введения. Предпочтительные способы введения пептидов

включают п/к, в/к, в/б, в/м и в/в. Предпочтительные способы введения ДНК включают в/к, в/м, п/к, в/б и в/в. Вводиться могут, к примеру, дозы от 50 мкг до 1,5 мг, предпочтительно от 125 мкг до 500 мкг пептида или ДНК, в зависимости от соответствующего пептида или ДНК. Дозировка в данном диапазоне успешно использовалась в предыдущих клинических исследованиях (Walter et al., 2012).

Полинуклеотид, применяемый в активной вакцинации, может быть по существу чистым или содержаться в подходящем векторе или системе доставки. Нуклеиновая кислота может быть ДНК, кДНК, ПНК, РНК или их комбинацией. Методы конструирования и введения такой нуклеиновой кислоты хорошо известны из уровня техники. Обзор представлен, например, в работе Teufel и соавт. (Teufel et al., 2005). Полинуклеотидные вакцины просто получить, однако механизм действия этих векторов по индуцированию иммунного ответа понятен не полностью. Подходящие векторы и системы доставки включают вирусные ДНК и/или РНК, такие как системы, которые основаны на аденовирусе, вирусе осповакцины, ретровирусах, вирусе герпеса, аденоассоциированном вирусе или гибридах, содержащих элементы более чем одного вируса. Невирусные системы доставки включают катионные липиды и катионные полимеры и хорошо известны из уровня техники в области доставки ДНК. Также может быть использована физическая доставка, такая как посредством «генного пистолета». Пептид или пептиды, кодируемые нуклеиновой кислотой, могут быть слитым белком, например, с эпитопом, который стимулирует Т-клетки против соответствующего противоположного определяющего комплементарность участка CDR, как описывается выше.

Лекарственное средство по изобретению может также включать один или более адъювантов. Адъюванты – это вещества, которые неспецифически усиливают или потенцируют иммунный ответ (например, иммунные ответы, опосредованные CD8-положительными Т-клетками или хелперными Т-клетками (TH) на антиген, и могут, таким образом, рассматриваться как полезные в лекарственном средстве по настоящему изобретению. Подходящие адъюванты включают, но без ограничения, 1018 ISS, соли алюминия, AMPLIVAX®, AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, флагеллин или лиганды TLR5, полученные из флагеллина, лиганд FLT3, ГМ-КСФ, IC30, IC31, имиквимод (ALDARA®), резимиквимод, ImuFact IMP321, интерлейкины, такие как ИЛ-2, ИЛ-13, ИЛ-21, интерферон-альфа или бета или их

пегилированные производные, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, иммуностимулирующие комплексы ISCOM, JuvImmune®, LipoVac, MALP2, MF59, монофосфорил липид А, Монтанид IMS 1312, Монтанид ISA 206, Монтанид ISA 50V, Монтанид ISA-51, эмульсии «вода в масле» и «масло в воде», ОК-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, OspA, векторную систему PepTel®, основанные на поли-(лактид когликолиде) [PLG] и декстране микрочастицы, талактоферрин SRL172, виросомы и другие вирусоподобные частицы, YF-17D, VEGF trap, R848, Бета-глюкан, Pam3Cys, стимулон Aquila QS21, который получают из сапонины, микобактериальные экстракты и синтетические имитаторы бактериальных клеточных стенок и другие запатентованные адъюванты, такие как Detox компании Ribi, Quil или Superfos. Предпочтительными адъювантами являются такие как адъювант Фрейнда или ГМ-КСФ. Несколько иммунологических адъювантов (например, MF59), специфических для дендритных клеток, и их получение были описаны ранее (Allison and Krummel, 1995). Также могут использоваться цитокины. Несколько цитокинов были непосредственно соотнесены с влиянием на миграцию дендритных клеток к лимфоидным тканям (например, TNF- $\alpha$ ), ускоряя созревание дендритных клеток до эффективных, презентующих антиген Т-лимфоцитам, клеток (например, ГМ-КСФ, ИЛ-1 и ИЛ-4) (патент США № 5 849 589, специально включенный сюда в полном объеме путем ссылки) и действуя как иммуноадъюванты (например, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-23, ИЛ-7, ИНФ-альфа, ИНФ-бета) (Gabrilovich et al., 1996).

Об иммуностимулирующих олигонуклеотидах CpG также сообщалось, что они усиливают эффекты адъювантов в составе вакцин. Не желая быть связанными соответствием какой-либо конкретной теории, авторы полагают, что CpG-олигонуклеотиды при активации врожденной (не приобретенной) иммунной системы действуют с помощью Toll-подобных рецепторов (TLR), в основном, TLR9. Вызванная CpG активация TLR9 усиливает антиген-специфичные гуморальные и клеточные ответы на широкий спектр антигенов, включая пептидные или белковые антигены, живые или убитые вирусы, вакцины из дендритных клеток, аутологичные клеточные вакцины и полисахаридные конъюгаты как в профилактических, так и терапевтических вакцинах. Более важно то, что улучшается созревание и дифференциация дендритных клеток, приводя к повышенной активации клеток типа TH1 и интенсивной выработке цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) даже при отсутствии помощи со стороны CD4 Т-клеток. Активация TH1, вызванная

стимуляцией TLR9, сохраняется даже в присутствии вакцинных адъювантов, таких как квасцы или неполный адъювант Фрейнда (IFA), которые обычно способствуют активации TH2. CpG-олигонуклеотиды проявляют даже бóльшую адъювантную активность, если они входят в состав или вводятся в организм вместе с другими адъювантами или в таких составах как микрочастицы, наночастицы, липидные эмульсии или в подобных составах, которые в особенности необходимы для инициации сильного ответа, если антиген относительно слаб. Они также ускоряют иммунную реакцию и позволяют снизить дозы антигена приблизительно на два порядка в сравнении с ответами антитела на полную дозу вакцины без CpG, что наблюдалось в некоторых экспериментах (Krieg, 2006). В патенте США № 6 406 705 B1 описывается комбинированное применение CpG-олигонуклеотидов, адъювантов, не включающих нуклеиновые кислоты, и антигена для вызывания антиген-специфического иммунного ответа. Антагонистом CpG TLR9 является dSLIM (иммуномодулятор со структурой типа двуцепочечный стебель-петля) компании Mologen (Берлин, Германия), который является предпочтительным компонентом фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Также могут быть использованы другие молекулы, связывающиеся с TLR, такие как TLR 7, TLR 8 и/или TLR 9, связывающиеся с РНК.

Другие примеры пригодных к использованию адъювантов включают, но без ограничения, химически модифицированные CpG (например, CpR, Idera), аналоги dsРНК, такие как поли-(I:C) и их производные (например, AmpliGen®, Hiltonol®, поли-(ICLC), поли(IC-R), поли(I:C12U), бактериальные ДНК или РНК, отличные от CpG, а также иммуноактивные малые молекулы и антитела, такие как циклофосфамид, сунитиниб, бевацизумаб®, целебрекс, NCX-4016, силденафил, тадалафил, варденафил, сорафениб, темозоломид, темсиролимус, XL-999, CP-547632, пазопаниб, VEGF Trap, ZD2171, AZD2171, анти-CTLA4, другие антитела, нацеленные на основные структуры иммунной системы (например, антитела к CD40, TGFбета, рецептору TNFальфа) и SC58175, которые могут действовать терапевтически и/или как адъюванты. Количества и концентрации адъювантов и добавок, пригодных для использования в контексте настоящего изобретения, могут быть легко определены опытным специалистом без проведения излишних экспериментов.

Предпочтительными адъювантами являются анти-CD40, имиквимод, резиквимод, ГМ-КСФ, циклофосфамид, сунитиниб, бевацизумаб, интерферон-альфа, CpG олигонуклеотиды и их производные, поли- (I:C) и ее производные, РНК, силденафил и составы из твердых микрочастиц с PLG или вирусомы.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтической композиции в соответствии с изобретением адъювант выбран из группы, состоящей из колониестимулирующих факторов, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ, сарграмостим), циклофосфамид, имиквимод, резиквимод и интерферон-альфа.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтической композиции в соответствии с изобретением адъювант выбран из группы, состоящей из колониестимулирующих факторов, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ, сарграмостим), циклофосфамид, имиквимод и резиквимод. В предпочтительном варианте осуществления фармацевтической композиции в соответствии с изобретением адъювантом является циклофосфамид, имиквимод или резиквимод. Еще более предпочтительными адъювантами являются монтанид IMS 1312, монтанид ISA 206, монтанид ISA 50V, монтанид ISA-51, поли-ICLC (Hiltonol®) и моноклональные антитела к CD40 или их комбинации.

Эта композиция используется для парентерального введения, такого как подкожное, внутривенное, внутримышечное или для перорального введения. Для этого пептиды и – факультативно – другие молекулы растворяют или суспендируют в фармацевтически приемлемом, предпочтительно водном, носителе. Помимо того, композиция может содержать вспомогательные вещества, такие как буферы, связующие агенты, балластные вещества, разбавители, ароматизаторы, смазочные вещества и т.д. Пептиды могут быть также введены вместе с иммуностимулирующими агентами, такими как цитокины. Обширный список вспомогательных веществ, которые могут быть использованы в такой композиции, может быть взят, например, из работы А. Kibbe, «Handbook of Pharmaceutical Excipients» (Kibbe, 2000). Композиция может использоваться для предупреждения, профилактики и/или лечения аденоматозных или раковых заболеваний. Примеры фармацевтических композиций могут быть взяты, например, из EP2112253.

Важно понимать, что иммунный ответ, вызванный вакциной в соответствии с изобретением, направлен на раковые клетки на различных стадиях клеточного цикла и различных стадиях развития опухоли. Кроме того, атака направлена на различные сигнальные пути, ассоциированные с раковым заболеванием. Это является преимуществом в сравнении с вакцинами, направленными только на одну или немногие мишени, что может привести к тому, что опухоль легко приспособится к такой атаке (ускользание опухоли). Кроме того, не все отдельные опухоли имеют одинаковые паттерны экспрессии антигенов. Поэтому комбинация нескольких опухолеассоциированных пептидов гарантирует, что на каждой отдельной опухоли имеются по меньшей мере некоторые из этих мишеней. Композиция разработана исходя из того, что, как ожидается, каждая опухоль экспрессирует несколько антигенов и охватывает несколько независимых сигнальных путей, необходимых для роста и сохранения опухоли. Таким образом, вакцина в виде «готовой к применению» может быть легко использована для более крупной популяции пациентов. Это означает, что предварительный отбор пациентов для лечения вакциной может быть ограничен HLA-типированием, не требуя никакого дополнительного анализа биомаркеров экспрессии антигена, однако при этом остается гарантия одновременного воздействия на несколько мишеней в виде индуцированного иммунного ответа, что важно для эффективности (Vanhergeau et al., 2001; Walter et al., 2012).

В контексте настоящего описания понятие «каркас» относится к молекуле, которая специфически связывается с (например, антигенной) детерминантой. В одном варианте осуществления каркас способен направлять единицу, к которой он прикреплен (например, (второй) антиген-связывающий элемент) к сайту-мишени, например, к конкретному виду опухолевых клеток или стромы опухоли, несущих антигенную детерминанту (например, комплекс пептида с МНС в соответствии с настоящей патентной заявкой). В другом варианте осуществления каркас способен активировать пути передачи сигналов за счет его антигена-мишени, например, антигена комплекса Т-клеточного рецептора. Каркасы включают, но без ограничения, антитела и их фрагменты, антигенсвязывающие домены антитела, включающие переменный участок тяжелой цепи антитела и переменный участок легкой цепи антитела, связывающие белки, включающие по меньшей мере один мотив анкиринового повтора и однодоменные антигенсвязывающие (SDAB)

молекулы, аптамеры, (растворимые) ТКР и (модифицированные) клетки, такие как аллогенные или аутологичные Т-клетки. Чтобы оценить, является ли молекула каркасом, связывающимся с мишенью, может быть проведен анализ связывания.

«Специфическое» связывание обозначает, что каркас связывается с представляющим интерес комплексом пептида с МНС лучше, чем с другими встречающимися в природе комплексами пептида с МНС, в такой степени, что каркас, снабженный активной молекулой, способной уничтожать клетку, несущую специфическую мишень, не способен уничтожить другую клетку без специфической мишени, но презентирующую другой(ие) комплекс(ы) пептида с МНС. Связывание с другими комплексами пептида с МНС не играет роли, если пептид перекрестно реагирующего комплекса пептида с МНС не является встречающимся в природе, т. е. не образован из человеческого HLA-пептидома. Испытания для оценки потенциала уничтожения клетки-мишени хорошо известны из уровня техники. Они должны проводиться с использованием клеток-мишеней (первичные клетки или клеточные линии) с неизменной презентацией комплексов пептида с МНС или клеток, нагруженных пептидами, таким образом, что будет достигаться уровень встречающихся в природе комплексов пептида с МНС.

Каждый каркас может включать метку, которая обеспечивает возможность обнаружения связанного каркаса за счет определения наличия или отсутствия сигнала, подаваемого меткой. Например, каркас может быть помечен флуоресцентным красителем или любой другой применимой маркерной молекулы клетки. Такие маркерные молекулы хорошо известны из области техники. Например, флуоресцентное мечение, например, с помощью флуоресцентного красителя, может обеспечивать визуализацию связанного аптамера посредством флуоресцентной или лазерной сканирующей микроскопии или проточной цитометрии.

Каждый каркас может быть конъюгирован со второй активной молекулой, такой как, например, ИЛ-21, антитело к CD3 и антитело к CD28.

Для получения дальнейшей информации о полипептидных каркасах см., например, раздел уровня техники патентной заявки WO 2014/071978A1 и цитируемую в ней литературу.

Настоящее изобретение далее относится к аптамерам. Аптамеры (см., например, заявку WO 2014/191359 и цитируемую в ней литературу) – это короткие одноцепочечные молекулы нуклеиновых кислот, которые могут сворачиваться в определенные трехмерные структуры и распознавать специфические структуры-мишени. Оказалось, что они представляют собой подходящую альтернативу для разработки таргетной терапии. Как было продемонстрировано, аптамеры селективно связываются с различными сложными мишенями с высокой аффинностью и специфичностью.

Аптамеры, распознающие молекулы, которые находятся на поверхности клеток, были идентифицированы в последнее десятилетие и предоставляют возможность для разработки диагностических и терапевтических подходов. Так как было продемонстрировано, что аптамеры практически не обладают токсичностью и иммуногенностью, они являются многообещающими кандидатами для биомедицинского применения. Действительно, аптамеры, например, аптамеры, распознающие простатический специфический мембранный антиген, были успешно задействованы в таргетной терапии и продемонстрировали функциональность в моделях с ксенотрансплантатами *in vivo*. Кроме того, были идентифицированы аптамеры, распознающие конкретные опухолевые линии.

Могут быть отобраны ДНК-аптамеры, проявляющие широкий спектр свойств по распознаванию различных раковых клеток, и, в частности, клеток, образованных из солидных опухолей, тогда как неопухолежденные и первичные здоровые клетки не распознаются. Если идентифицированные аптамеры распознают не только конкретный опухолевый подтип, но и взаимодействуют с различными опухолями, это делает возможным применение аптамеров в качестве так называемых диагностических и терапевтических средств широкого спектра действия.

Более того, исследование поведения по связыванию с клетками с помощью проточной цитометрии показало, что аптамеры проявляли очень хорошую кажущуюся аффинность, которая выражалась на наномолярном уровне.

Аптамеры пригодны для диагностических и терапевтических целей. Кроме того, как могло быть продемонстрировано, некоторые аптамеры захватываются

опухолевыми клетками и, таким образом, могут действовать в качестве молекулярных носителей для направленной доставки противораковых средств, таких как мРНК, в опухолевые клетки.

Могут быть отобраны аптамеры к сложным мишеням, таким как клетки и ткани и комплексы пептидов, включающих, предпочтительно состоящих из последовательности в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID NO 1 по SEQ ID NO 161, в соответствии с представленным изобретением с молекулой МНС, используя метод cell-SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment - систематическая эволюция лигандов при экспоненциальном обогащении).

Пептиды по настоящему изобретению могут использоваться для получения и разработки специфических антител к комплексам МНС/пептид. Они могут быть использованы в терапии, нацеливающей токсины или радиоактивные вещества на пораженную ткань. Другим видом использования данных антител может быть «нацеливание» радионуклидов на пораженную ткань в целях визуализации, такой как ПЭТ (позитронно-эмиссионная томография). Это может помочь в обнаружении небольших метастазов или в определении размера и точной локализации пораженных тканей.

Таким образом, в другом аспекте изобретения предложен способ получения рекомбинантного антитела, специфически связывающегося с главным комплексом гистосовместимости человека (МНС) I или II класса в комплексе с рестриктированным по HLA антигеном, причем способ включает: иммунизацию генетически модифицированного, не являющегося человеком млекопитающего, содержащего клетки, экспрессирующие молекулы указанного главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I или II класса с растворимой формой молекулы МНС I или II класса в комплексе с указанным рестриктированным по HLA антигеном; выделение молекул мРНК из продуцирующих антитела клеток указанного не являющегося человеком млекопитающего; создание библиотеки фагового отображения, содержащей фаги, экспонирующие белковые молекулы, закодированные указанными молекулами мРНК; и выделение, по меньшей мере, одного фага из указанной библиотеки фагового отображения, причем указанный, по меньшей мере, один фаг, экспонирует на поверхности указанное антитело,

специфически связывающееся с указанным главным комплексом гистосовместимости человека (МНС) I или II класса в комплексе с указанным рестриктированным по HLA антигеном.

В другом аспекте изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с главным комплексом гистосовместимости человека (МНС) I или II класса в комплексе с рестриктированным по HLA антигеном, где антитело предпочтительно является поликлональным антителом, моноклональным антителом, биспецифичным антителом и/или химерным антителом.

Соответствующие способы получения таких антител и одноцепочечных главных комплексов гистосовместимости I класса, в равной степени как и другие инструменты для получения данных антител, раскрыты в патентных заявках WO 03/068201, WO 2004/084798, WO 01/72768, WO 03/070752 и в опубликованных работах (Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003), которые все в целях настоящего изобретения в явном виде включены во всей полноте путем ссылки.

Предпочтительно, если антитело связывается с аффинностью связывания ниже 20 наномолей, предпочтительно ниже 10 наномолей, с комплексом, который также называется «специфическим» в контексте настоящего изобретения.

Настоящее изобретение относится к пептиду, включающему последовательность, которая выбирается из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO 1 по SEQ ID NO 161 или их вариант, который по меньшей мере на 88% гомологичен (предпочтительно, если он идентичен) последовательности с SEQ ID NO 1 по SEQ ID NO 161, или их варианту, который индуцирует Т-клеточную перекрестную реакцию с указанным пептидом, где указанный пептид не является базовым полипептидом полной длины.

Настоящее изобретение далее относится к пептиду, включающему последовательность, которая выбирается из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO 1 по SEQ ID NO 161 или их вариант, который по меньшей мере на 88% гомологичен (предпочтительно, если он идентичен) SEQ ID NO 1 по SEQ ID NO 161, где указанный пептид или его вариант имеет общую длину

от 8 до 100, предпочтительно от 8 до 30 и, наиболее предпочтительно, от 8 до 14 аминокислот.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с изобретением, способным связываться с молекулой главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) I или II класса.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с изобретением, где пептид состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с изобретением, где пептид модифицирован (химическим способом) и/или включает непептидные связи.

Настоящее изобретение далее относится к пептидам в соответствии с изобретением, где пептид является частью слитого белка, в частности включающим N-терминальные аминокислоты HLA-DR антиген-ассоциированной инвариантной цепи (Ii), или где пептид слит с антителом (или слит с последовательностью антитела), например, таким антителом, которое является специфичным для дендритных клеток.

Настоящее изобретение далее относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей пептиды в соответствии с изобретением, при условии, что пептид не является полностью (целиком) человеческим белком.

Настоящее изобретение далее относится к нуклеиновой кислоте в соответствии с изобретением, которая является ДНК, кДНК, ПНК, РНК или их комбинациями.

Настоящее изобретение далее относится к вектору экспрессии, способному экспрессировать нуклеиновую кислоту в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к пептиду в соответствии с настоящим изобретением, к нуклеиновой кислоте в соответствии с настоящим изобретением

или к вектору экспрессии в соответствии с настоящим изобретением для применения в медицине, в частности, в лечении рака поджелудочной железы.

Настоящее изобретение далее относится к клетке-хозяину, включающей нуклеиновую кислоту в соответствии с изобретением или вектор экспрессии в соответствии с изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к клетке-хозяину в соответствии с настоящим изобретением, которая является антигенпрезентирующей клеткой, предпочтительно – дендритной клеткой.

Настоящее изобретение далее относится к способу получения пептида в соответствии с настоящим изобретением, причем указанный способ включает культивацию клетки-хозяина в соответствии с настоящим изобретением и выделение пептида из указанной клетки-хозяина или его культуральной среды.

Настоящее изобретение далее относится к способу в соответствии с настоящим изобретением, где антиген нагружен на молекулы МНС I или II класса, экспрессированные на поверхности подходящей антигенпрезентирующей клетки, при контактировании достаточного количества антигена с антигенпрезентирующей клеткой.

Настоящее изобретение далее относится к способу в соответствии с изобретением, где антигенпрезентирующая клетка включает вектор экспрессии, способный экспрессировать указанный пептид, содержащий последовательность с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161 или указанную вариантную аминокислотную последовательность.

Настоящее изобретение далее относится к активированным Т-клеткам, полученным способом в соответствии с настоящим изобретением, где указанные Т-клетки селективно распознают клетку, которая аберрантно экспрессирует полипептид, включающий аминокислотную последовательность в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к способу уничтожения клеток-мишеней у пациента, чьи клетки-мишени аберрантно экспрессируют полипептид, включающий любую аминокислотную последовательность в соответствии с настоящим изобретением, причем способ включает введение пациенту эффективного числа Т-клеток в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение далее относится к применению любого описанного пептида, нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим изобретением, вектора экспрессии в соответствии с настоящим изобретением, клетки в соответствии с настоящим изобретением или активированного цитотоксического Т-лимфоцита в соответствии с настоящим изобретением в качестве лекарственного средства или в производстве лекарственного средства. Настоящее изобретение далее относится к способу применения в соответствии с настоящим изобретением, где лекарственное средство проявляет противораковую активность.

Настоящее изобретение далее относится к способу применения в соответствии с изобретением, где лекарственное средство является вакциной. Настоящее изобретение далее относится к способу применения в соответствии с изобретением, где лекарственное средство проявляет противораковую активность.

Настоящее изобретение относится далее к применению пептидов в соответствии с настоящим изобретением, где указанные раковые клетки являются клетками рака поджелудочной железы или клетками других солидных или гематологических опухолей, таких как рак легких, рак почек, рак головного мозга, рак желудка, рак толстой или прямой кишки, рак печени, рак предстательной железы, лейкоз, рак молочной железы, карцинома клеток Меркеля (ККМ), меланома, рак яичника, рак пищевода, рак мочевого пузыря, рак эндометрия, рак желчного пузыря и рак желчных протоков.

Настоящее изобретение далее относится к конкретным белкам-маркерам и биомаркерам, основанным на пептидах в соответствии с настоящим изобретением, в контексте изобретения называемые «мишенями», которые могут быть использованы при постановке диагноза и/или составлении прогноза течения рака поджелудочной железы. Настоящее изобретение относится также к применению этих новых мишеней для лечения рака.

Понятие «антитело» или «антитела» используется в контексте данного изобретения в широком смысле и включает как поликлональные, так и моноклональные антитела. В дополнение к интактным или «полным» молекулам иммуноглобулина в понятие «антитела» включены также фрагменты (например, участки CDR, фрагменты Fv, Fab и Fc) или полимеры таких молекул иммуноглобулина и гуманизированные версии молекул иммуноглобулина, при условии, что они проявляют любое из желаемых свойств (например, специфически связываются с (поли)пептидным маркером рака поджелудочной железы, доставляют токсин к клетке рака поджелудочной железы, экспрессирующей раковый ген-маркер на повышенном уровне и/или ингибируют активность полипептида-маркера рака поджелудочной железы) в соответствии с изобретением.

Если возможно, антитела по изобретению могут быть куплены в коммерческих источниках. Антитела по изобретению могут быть также получены при использовании хорошо известных способов. Опытному специалисту будет понятно, что для получения антител по изобретению могут использоваться как полипептидные маркеры рака поджелудочной железы полной длины, так и их фрагменты. Полипептид, необходимый для получения антитела по изобретению, может быть частично или полностью очищенным из природного источника или же может быть получен с использованием методики рекомбинантной ДНК.

Например, кДНК, кодирующая пептид в соответствии с настоящим изобретением, такой как пептид с последовательностью с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161, полипептид или вариант или его фрагмент может быть экспрессирована в прокариотических клетках (например, бактерий) или эукариотических клетках (например, дрожжей, насекомых или клетках млекопитающих), после чего рекомбинантный белок может быть очищен и использован в получении препарата из моноклональных или поликлональных антител, которые специфически связываются с полипептидным маркером рака поджелудочной железы, использованным для получения антитела по изобретению.

Специалисту данной области будет понятно, что получение двух или более различных наборов моноклональных или поликлональных антител увеличивает

вероятность получения антитела со специфичностью и аффинностью, необходимыми для предназначенного для него использования (например, для ELISA, иммуногистохимии, визуализации *in vivo*, терапии на основе иммунотоксина). Антитела испытывают на желаемую для них активность с помощью известных методов в соответствии с целью применения антител (например, ELISA, иммуногистохимия, иммунотерапия и т. д.; для получения дальнейшей информации по генерированию и испытанию антител см., например, Greenfield, 2014 (Greenfield, 2014)). Например, антитела могут быть исследованы с помощью ELISA или метода иммунного блоттинга (Western-blot), иммуногистохимического окрашивания зафиксированных формалином образцов раковых тканей или замороженных тканевых срезов. После первоначального определения их характеристик *in vitro* антитела, предназначенные для терапевтического или диагностического применения *in vivo* исследуют в соответствии с известными клиническими методами анализа.

Понятие «моноклональное антитело» в контексте настоящего изобретения обозначает антитело, полученное из, по существу, гомогенной популяции антител, т. е. отдельные антитела внутри популяции идентичны за исключением возможных естественных мутаций, которые могут быть представлены в небольших количествах. Моноклональные антитела в контексте настоящего изобретения специфически включают «химерные» антитела, в которых участок тяжелой и/или легкой цепи идентичен или гомологичен соответствующим последовательностям антител, полученных из конкретного вида или относящихся к конкретному классу или подклассу антител, в то время как остальная(ые) часть(и) цепи идентична(ы) или гомологична(ы) соответствующим последовательностям антител, полученных из другого вида или относящихся к другому классу или подклассу антител, в равной степени как и фрагментов таких антител, пока они проявляют желаемую антагонистическую активность (Патент США № 4 816 567, который включен в настоящее описание в полном объеме).

Моноклональные антитела по изобретению могут быть получены при использовании гибридного метода. В рамках гибридного метода мышь или другое подходящее животное-хозяин обычно иммунизируется иммунизирующим веществом, чтобы инициировать лимфоциты, которые вырабатывают или способны вырабатывать антитела, которые будут специфически связываться с

иммунизирующим веществом. Альтернативно лимфоциты могут быть иммунизированы *in vitro*.

Моноклональные антитела могут быть также получены с помощью технологий рекомбинантных ДНК, таких как описываемые в патенте США № 4 816 567. ДНК, кодирующая моноклональные антитела по изобретению, может быть легко выделена и секвенирована с помощью стандартных методик (например, при использовании олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи мышиных антител).

*In vitro*-методы также подходят для получения моновалентных антител. Расщепление антител для получения их фрагментов, в особенности Fab-фрагментов, может быть произведено при использовании стандартных методик, известных из уровня техники. К примеру, расщепление может производиться при использовании папаина. Примеры расщепления под воздействием папаина описываются в заявке WO 94/29348 и в патенте США № 4 342 566. Расщепление антител под воздействием папаина обычно приводит к двум идентичным фрагментам, связывающимся с антигеном и называемым Fab-фрагментами, каждый из которых имеет отдельный антиген-связывающий сайт и остаточный Fc-фрагмент. В результате обработки пепсином получается фрагмент F(ab')<sub>2</sub> и фрагмент pFc'.

Фрагменты антител, как связанные с другими последовательностями, так и не связанные, могут также включать вставки, делеции, замещения или другие выбранные модификации конкретных участков или аминокислотных остатков при условии, что активность фрагмента незначительно изменена или повреждена по сравнению с немодифицированным антителом или фрагментом антитела. Данные модификации могут внести некоторые дополнительные свойства, такие как добавление/удаление аминокислот, способных к дисульфидному связыванию, увеличение их биологической стойкости, изменение их секреторных характеристик и т. д. В любом случае, фрагмент антитела должен обладать свойством биологической активности, таким как активностью связывания, регуляцией связывания на связывающем домене и т. д. Функциональные или активные участки антитела могут быть идентифицированы при мутагенезе конкретного участка белка с последующей экспрессией и исследованием экспрессированного полипептида.

Такие способы полностью очевидны для опытного специалиста данной области и могут включать сайт-специфический мутагенез нуклеиновой кислоты, кодирующей фрагмент антитела.

Антитела по изобретению могут далее включать гуманизированные антитела или человеческие антитела. Гуманизированные формы нечеловеческих (например, мышинных) антител - это химерные иммуноглобулины, иммуноглобулиновые цепи или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab' или другие антиген-связывающие субпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела включают человеческие иммуноглобулины (антитело-реципиент), в которых остатки из определяющего комплементарность участка (CDR) реципиента замещены остатками из CDR биологических видов, не являющихся человеком (донорское антитело), таких как мыши, крысы или кролики, имеющими желаемую специфичность, аффинность и связывающая способность. В некоторых случаях остатки Fv-каркаса (FR) человеческого иммуноглобулина замещены соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Гуманизированные антитела могут также включать остатки, которые не встречаются ни в антитело-реципиенте, ни в импортированном CDR или каркасных последовательностях. Как правило, гуманизированное антитело будет включать по сути все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все участки CDR соответствуют таковым нечеловеческого иммуноглобулина, и все или по сути все из участков FR являются таковыми консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Оптимально, чтобы гуманизированное антитело содержало также по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина.

Способы гуманизации нечеловеческих антител хорошо известны из уровня техники. В целом, гуманизированное антитело имеет один или более аминокислотный остаток, введенный в него из источника, не являющегося человеческим. Такие аминокислотные остатки нечеловеческого происхождения часто называются «импортированными» остатками, которые обычно берутся из «импортированного» переменного домена. Гуманизация может быть по существу произведена посредством замены участков CDR или последовательностей CDR

грызунов на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие «гуманизированные» антитела являются химерными антителами (патент США № 4 816 567), где существенно меньшая часть, чем один интактный человеческий переменный домен была заменена соответствующей последовательностью нечеловеческого вида. На практике гуманизированные антитела являются обычно человеческими антителами, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, остатки FR заменены на остатки аналогичных сайтов антител грызунов.

Использоваться могут трансгенные животные (например, мыши), которые способны при иммунизации вырабатывать полный спектр человеческих антител при отсутствии выработки эндогенного иммуноглобулина. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена, кодирующего участок присоединения тяжелой цепи антитела у химерных и мутантных мышей зародышевой линии, приводит к полному ингибированию выработки эндогенных антител. Перенос генной матрицы иммуноглобулина клеток зародышевой линии человека в таких мутантных мышей зародышевой линии будет приводить к выработке человеческих антител после антигенной стимуляции. Человеческие антитела могут быть также получены в библиотеках фагового отображения.

Антитела по изобретению предпочтительно вводятся субъекту в фармацевтически приемлемом носителе. Подходящее количество фармацевтически приемлемой соли обычно используется в составе для придания композиции изотоничности. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают физиологический раствор, раствор Рингера и раствор глюкозы. Уровень pH раствора составляет, предпочтительно, от около 5 до около 8 и, более предпочтительно, от около 7 до около 7,5. Кроме того, предлагаются носители, включающие препараты пролонгированного высвобождения, такие как полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, матрицы которых имеют вид профилированных объектов, к примеру, пленки, липосомы или микрочастицы. Для специалиста данной области будет очевидно, что определенные носители могут быть более предпочтительными в зависимости от, например, способа введения и концентрации вводимого антитела.

Антитела могут вводиться субъекту, пациенту или в клетку посредством инъекции (например, внутривенно, внутривенно, подкожно, внутримышечно) или другими способами, такими как вливание, которое гарантирует доставку к кровотоку эффективным образом. Антитела также могут вводиться интратуморальными или перитуморальными способами, чтобы вызвать местные, а также и системные терапевтические эффекты. Предпочтительными являются местное или внутривенное введение.

Эффективная дозировка и режим введения антител могут быть определены эмпирически, а принятие таковых решений под силу специалисту данной области. Специалистам данной области будет понятно, что дозировка антител, которые должны быть введены, будет варьироваться в зависимости от, например, субъекта, которому будет вводиться антитело, способа введения, конкретного типа используемого антитела и других вводимых медикаментов. Типичная дневная дозировка антитела, используемого отдельно, может варьироваться от около 1 мкг/кг вплоть до 100 мг/кг массы тела или более в день, в зависимости от факторов, упоминаемых выше. После введения антитела, предпочтительно для лечения рака поджелудочной железы, эффективность терапевтического антитела может быть оценена различными способами, известными компетентному специалисту данной области. Например, размер, количество и/или распределение рака у субъекта, проходящего лечение, может контролироваться с помощью стандартных методов визуализации опухоли. Введенное в терапевтических целях антитело, которое блокирует рост опухоли, приводит к уменьшению размера и/или предотвращает развитие новых опухолей в сравнении с течением болезни, которое бы имело место без введения антитела, и является эффективным антителом для лечения рака.

В другом аспекте изобретения предложен способ получения растворимого Т-клеточного рецептора (ТКР), распознающего конкретный комплекс пептида и МНС. Такие растворимые Т-клеточные рецепторы могут быть получены из специфических Т-клеточных клонов, и их аффинность может быть повышена за счет мутагенеза, направленного на определяющие комплементарность участки. Для выбора Т-клеточного рецептора может использоваться фаговое отображение (заявка США 2010/0113300, (Liddy et al., 2012)). В целях стабилизации Т-клеточных рецепторов в процессе фагового отображения и в случае практического применения в качестве лекарственного средства альфа- и бета-цепи могут быть

связаны, например, посредством не встречающихся в природе дисульфидных связей, других ковалентных связей (одноцепочечный Т-клеточный рецептор) или с помощью доменов димеризации (Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999). В целях выполнения определенных функций на клетках-мишенях Т-клеточный рецептор может быть связан с токсинами, лекарственными средствами, цитокинами (см., например, заявку США 2013/0115191) и доменами, рекрутирующими эффекторные клетки, такими как анти-CD3 домен, и т. д. Более того, он может быть экспрессирован на Т-клетках, используемых для адоптивного переноса. Дополнительную информацию можно найти в патентных заявках WO 2004/033685A1 и WO 2004/074322A1. Комбинация растворимых ТКР описывается в патентной заявке WO 2012/056407A1. Другие способы получения описаны в патентной заявке WO 2013/057586A1.

Помимо того, пептиды и/или ТКР или антитела или другие связывающиеся молекулы настоящего изобретения могут быть использованы для подтверждения диагноза рака, поставленного патоморфологом на основании исследования биоптата.

Антитела или ТКР могут также применяться для диагностики *in vivo*. Как правило, антитело помечают радионуклеотидом (таким как  $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{Tc}}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$  или  $^{35}\text{S}$ ), так что опухоль может быть локализована с помощью иммуносцинтиграфии. В одном варианте осуществления антитела или их фрагменты связываются с внеклеточными доменами двух или более мишеней белка, выбранного из группы, состоящей из указанных выше белков, при показателе аффинности (Kd) ниже чем  $1 \times 10^{-6}$  М.

Антитела для диагностических целей могут помечаться зондами, подходящими для обнаружения различными способами визуализации. Способы обнаружения зондов включают, но без ограничения, флуоресценцию, световую, конфокальную и электронную микроскопию; магнитно-резонансную томографию и спектроскопию; флюороскопию, компьютерную томографию и позитронно-эмиссионную томографию. Подходящие зонды включают, но без ограничения, флуоресцеин, родамин, эозин и другие флюорофоры, радиоизотопы, золото, гадолиний и другие лантаноиды, парамагнитное железо, фтор-18 и другие позитронно-активные радионуклиды. Более того, зонды могут быть би- или мультифункциональными и

обнаруживаться более чем одним из приведенных способов. Данные антитела могут быть помечены напрямую или опосредованно указанными зондами. Присоединение зондов к антителам включает ковалентное присоединение зонда, внедрение зонда в антитело и ковалентное присоединение хелатирующего соединения для присоединения зонда, среди других широко признанных методов в данной области. Для иммуногистохимических исследований образец пораженной ткани может быть свежим или замороженным или может быть залит парафином и зафиксирован таким консервантом как формалин. Зафиксированный или залитый срез приводят в контакт с помеченным первичным антителом и вторичным антителом, где антитело используется для обнаружения экспрессии белков *in situ*.

Другой аспект настоящего изобретения включает способ получения активированных Т-клеток *in vitro*, причем способ включает контактирование Т-клеток *in vitro* с нагруженными антигеном молекулами МНС человека, экспрессированными на поверхности подходящей антигенпрезентирующей клетки на период времени, достаточного для активации антиген-специфическим образом Т-клетки, где антиген является пептидом в соответствии с изобретением. Предпочтительно, если с антигенпрезентирующей клеткой применяется достаточное количество антигена.

Предпочтительно, если в клетке млекопитающих не имеется пептидного транспортера TAP или имеется его пониженный уровень или пониженная функциональная активность. Подходящие клетки с дефицитом пептидного транспортера TAP, включают T2, RMA-S и клетки дрозодилы. TAP - это транспортер, связанный с процессингом антигена.

Линия человеческих клеток с недостаточностью T2, на которые загружаются пептиды, имеется в наличии в Американской коллекции типовых культур, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, США под каталожным номером CRL 1992; клеточная линия дрозодилы, линия Schneider 2 имеется в наличии в ATCC под каталожным номером CRL 19863; клеточная линия мыши RMA-S описывается в работе Ljunggren и соавт. (Ljunggren and Karre, 1985).

Предпочтительно, если до трансфекции указанная клетка-хозяин, по существу, не экспрессирует молекулы МНС I класса. Также предпочтительно, если клетка-

стимулятор экспрессирует молекулу, важную для обеспечения сигнала костимуляции для Т-клеток, такую как любая из B7.1, B7.2, ICAM-1 и LFA 3. Последовательности нуклеиновых кислот многочисленных молекул МНС I класса и костимуляторных молекул общедоступны в банках данных GenBank и EMBL.

В случае использования эпитопа МНС I класса в качестве антигена, Т-клетки являются CD8-положительными Т-клетками.

Если антигенпрезентирующая клетка трансфицирована для экспрессии такого эпитопа, то предпочтительно, чтобы клетка включала вектор экспрессии, способный экспрессировать пептид, содержащий SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO: 161 или вариант такой аминокислотной последовательности.

Для получения Т-клеток *in vitro* могут быть использованы многие другие способы. Например, для получения ЦТЛ используются аутологичные опухоль-инфильтрующие лимфоциты. Plebanski и соавт. (Plebanski et al., 1995) для получения Т-клеток использовали аутологичные лимфоциты периферической крови (ЛПК). Кроме того, возможно получение аутологичных Т-клеток посредством нагрузки дендритных клеток пептидом или полипептидом или посредством инфицирования рекомбинантным вирусом. Для получения аутологичных Т-клеток также можно использовать В-клетки. Кроме того, для получения аутологичных Т-клеток могут быть использованы макрофаги, нагруженные пептидом или полипептидом или инфицированные рекомбинантным вирусом. S. Walter и соавт. (Walter et al., 2003) описывают прайминг Т-клеток *in vitro* с использованием искусственных антигенпрезентирующих клеток (иАПК), что является также подходящим способом получения Т-клеток против выбранного пептида. В настоящем изобретении иАПК были получены прикреплением предварительно образованных комплексов МНС-пептид к поверхности полистироловых частиц (микросфер) с помощью биохимического способа с биотином-стрептавидином. Данная система допускает точный контроль плотности МНС на иАПК, который позволяет селективно вызвать высоко- или низкоавидные антигенспецифические Т-клеточные ответы с высокой эффективностью в образцах крови. Кроме комплексов МНС-пептид, иАПК должны нести другие белки с костимуляторной активностью, такие как антитела к CD28, прикрепленные к их поверхности. Кроме того, такая основанная на иАПК система часто требует добавления

соответствующих растворимых факторов, к примеру, цитокинов, таких как интерлейкин-12.

При получении Т-клеток могут быть также использованы аллогенные клетки, и этот способ подробно описывается в патентной заявке WO 97/26328, включенной сюда путем ссылки. Например, кроме клеток дрозифилы и Т2-клеток, для презентации антигенов могут использоваться другие клетки, такие как клетки яичника китайского хомяка (СНО), бакуловирус-инфицированные клетки насекомых, бактерии, дрожжи и инфицированные осповакциной клетки-мишени. Кроме того, могут быть использованы растительные вирусы (см., например, работу Porta и соавт. (Porta et al., 1994), в которой описывается разработка мозаичного вируса китайской вигны как высокопродуктивной системы презентации чужеродных пептидов.

Активированные Т-клетки, которые направлены против пептидов по изобретению, пригодны для терапии. Таким образом, в другом аспекте изобретения предложены активированные Т-клетки, получаемые вышеупомянутыми способами по изобретению.

Активированные Т-клетки, полученные с помощью приведенного выше способа, будут селективно распознавать клетку, которая aberrантно экспрессирует полипептид, включающий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 1 по SEQ ID NO 161.

Предпочтительно, чтобы Т-клетка распознавала клетку при взаимодействии посредством ее ТКР с комплексом HLA/пептид (например, при связывании). Т-клетки пригодны для способа уничтожения клеток-мишеней у пациента, клетки-мишени которого aberrантно экспрессируют полипептид, включающий аминокислотную последовательность по изобретению, где пациенту вводится эффективное число активированных Т-клеток. Т-клетки, которые введены пациенту, могут быть получены от пациента и активироваться, как описывалось выше (т.е. они являются аутологичными Т-клетками). Альтернативно Т-клетки получают не от пациента, а от другого индивида. Разумеется, предпочтительно, если индивид является здоровым индивидом. Под «здоровым индивидом» авторы изобретения имеют в виду, что индивид имеет хорошее общее состояние здоровья, предпочтительно, чтобы он имел компетентную иммунную систему и, более

предпочтительно, не страдал ни одним заболеванием, которое можно легко проконтролировать и выявить.

Клетками-мишенями *in vivo* для CD8-положительных Т-клеток в соответствии с настоящим изобретением могут быть клетки опухоли (которые иногда экспрессируют молекулы МНС II класса) и/или стромальные клетки, окружающие опухоль (опухолевые клетки) (которые иногда также экспрессируют молекулы МНС II класса; (Dengjel et al., 2006)).

Т-клетки по настоящему изобретению могут быть использованы в качестве активных ингредиентов в терапевтической композиции. Таким образом, в изобретении предложен также способ уничтожения клеток-мишеней у пациента, чьи клетки-мишени аберрантно экспрессируют полипептид, включающий аминокислотную последовательность по изобретению, причем способ включает введение пациенту эффективного числа Т-клеток, как определено выше.

Под понятием «аберрантно экспрессированный» авторы изобретения подразумевают также, что полипептид экспрессирован в избытке по сравнению с нормальными уровнями экспрессии, или что ген является «молчащим» в ткани, из которой образовалась опухоль, однако он экспрессирован в опухоли. Под понятием «экспрессирован в избытке» авторы изобретения понимают, что полипептид представлен на уровне, который, по меньшей мере, в 1,2 раза выше уровня, представленного в нормальной ткани; предпочтительно, по меньшей мере, в 2 раза и, более предпочтительно, по меньшей мере, в 5 или 10 раз выше уровня, представленного в нормальной ткани.

Т-клетки могут быть получены способами, известными из уровня техники, к примеру, теми, что описаны выше.

Протоколы для этого так называемого адоптивного переноса Т-клеток хорошо известны из уровня техники. С обзорами можно ознакомиться в работах Gattinoni и соавт. и Morgan и соавт. (Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006).

Другой аспект настоящего изобретения включает применение пептидов в комплексе с МНС для получения Т-клеточного рецептора, нуклеиновая кислота

которого клонирована и введена в клетку-хозяин, предпочтительно Т-клетку. Данная сконструированная Т-клетка может быть затем введена пациенту для лечения рака.

Любая молекула по изобретению, т. е. пептид, нуклеиновая кислота, антитело, вектор экспрессии, клетка, активированная Т-клетка, Т-клеточный рецептор или нуклеиновая кислота, кодирующая его, пригодна для лечения нарушений, характеризующихся клетками, ускользающими от иммунного ответа. Поэтому любая молекула по настоящему изобретению может применяться в качестве лекарственного средства или в производстве лекарственного средства. Молекула может быть использована сама по себе или в комбинации с другой(ими) молекулой(ами) по изобретению или известной(ыми) молекулой(ами).

В настоящем изобретении также предложен набор, включающий:

- (а) контейнер, который содержит фармацевтическую композицию, как описанная выше, в виде раствора или в лиофилизированной форме;
- (б) необязательно – второй контейнер, содержащий разбавитель или восстанавливающий раствор для лиофилизированного состава; и
- (в) необязательно – инструкции по (i) применению раствора или (ii) восстановлению раствора и/или по применению лиофилизированного состава.

Кроме того, набор может также включать один или более (iii) буферов, (iv) разбавителей, (v) фильтров, (vi) игл или (vii) шприцев. Контейнер является, предпочтительно, бутылью, флаконом, шприцем или пробиркой; и он может быть контейнером многоразового применения. Фармацевтическая композиция предпочтительно является лиофилизированной.

Набор согласно настоящему изобретению предпочтительно включает лиофилизированный состав по настоящему изобретению в подходящем контейнере и инструкции для его восстановления и/или по его применению. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, (например, двухкамерные флаконы), шприцы (такие как двухкамерные шприцы) и пробирки. Контейнер может быть изготовлен из разных материалов, таких как стекло или пластмасса. Предпочтительно, если набор и/или контейнер содержит(ат) инструкции по применению контейнера или связанные с ним инструкции, которые

дают указания по восстановлению и/или применению. Например, на этикетке может быть указано, что лиофилизированный состав должен быть восстановлен до таких концентраций пептидов, как описано выше. На этикетке далее может быть указано, что состав применяется или предназначается для подкожного введения.

Контейнер с составом может быть флаконом многоразового использования, который позволяет повторное введение (например, от 2 до 6 введений) восстановленного состава. Набор может дополнительно включать второй контейнер, включающий подходящий разбавитель (например, раствор бикарбоната натрия).

После смешивания разбавителя и лиофилизованного состава окончательная концентрация пептида в восстановленном составе составляет предпочтительно по меньшей мере 0,15 мг/мл/пептида (=75 мкг) и, предпочтительно, не более чем 3 мг/мл/пептида (=1500 мкг). Набор может дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой и с точки зрения пользователя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и вкладыши в упаковку с инструкциями по применению.

Наборы по настоящему изобретению могут включать один контейнер, который содержит лекарственную форму фармацевтических композиций в соответствии с настоящим изобретением с другими компонентами или без них (например, другие соединения или фармацевтические композиции этих других соединений) или может иметь отдельные контейнеры для каждого компонента.

Набор по изобретению предпочтительно включает состав по изобретению, упакованный для применения в комбинации с совместным введением второго соединения (такого как адъюванты (например, ГМ-КСФ), химиотерапевтического средства, природного продукта, гормона или антагониста, средства против ангиогенеза или ингибитора ангиогенеза; апоптоз-индуцирующего средства или хелатора) или их фармацевтической композиции. Компоненты набора до введения пациенту могут быть предварительно смешаны, или же каждый компонент может находиться в отдельном контейнере. Компоненты набора могут быть предоставлены в виде одного или нескольких жидких растворов, предпочтительно, водного раствора, более предпочтительно, стерильного водного раствора.

Компоненты набора также могут быть предоставлены в виде твердой формы, которая может быть превращена в жидкость при добавлении подходящих растворителей, которые, предпочтительно, предоставляются в другом, отдельном, контейнере.

Контейнер терапевтического набора может быть флаконом, пробиркой, колбой, бутылкой, шприцем или любыми другими средствами, заключающими в себе твердое вещество или жидкость. Обычно, если имеется более одного компонента, набор содержит второй флакон или другой контейнер, что позволяет произвести отдельное введение. Набор может также содержать другой контейнер для фармацевтически приемлемой жидкости. Лечебный набор будет предпочтительно содержать аппарат (например, одну или более игл, шприцы, глазные пипетки, пипетки и т. д.), который обеспечивает введение веществ по изобретению, которые являются компонентами настоящего набора.

Настоящий состав подходит для введения пептидов любым приемлемым способом, таким как оральный (энтеральный), назальный, глазной, подкожный, внутрикожный, внутримышечный, внутривенный или чрескожный способ. Предпочтительно, чтобы введение было п/к и, наиболее предпочтительно, введение в/к с помощью инфузионного насоса.

Так как пептиды по изобретению были выделены из клеток рака поджелудочной железы, лекарственное средство по изобретению предпочтительно используется для лечения рака поджелудочной железы.

Кроме того, настоящее изобретение далее относится к способу получения персонализированного фармацевтического препарата для отдельного пациента, включающий производство фармацевтической композиции, включающей по меньшей мере один пептид, выбранный из хранилища предварительно прошедших скрининг пептидов TUMAP, где по меньшей мере один пептид, используемый в фармацевтической композиции, выбран по его пригодности для отдельного пациента. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция является вакциной. Способ может быть адаптирован для получения Т-клеточных клонов для дальнейшего применения, например, при выделении ТКР или растворимых антител или других методов лечения.

«Персонализированный фармацевтический препарат» подразумевает разработанные специально для отдельного пациента терапевтические средства, которые будут применяться исключительно для лечения такого пациента, включая активно персонализированные противораковые вакцины и средства адоптивной клеточной терапии с использованием аутологичной ткани пациента.

В контексте настоящего изобретения термин «хранилище» относится к группе или набору пептидов, которые предварительно прошли скрининг на иммуногенность и/или избыточную презентацию в конкретном виде опухоли. Понятие «хранилище» не подразумевает, что конкретные пептиды, включенные в вакцину, были изготовлены заблаговременно и хранились в реальном помещении, хотя эта возможность также принимается во внимание. Во внимание определено принимается тот факт, что пептиды могут быть изготовлены *de novo* для каждой производимой индивидуализированной вакцины, или могут быть получены заранее и находиться на хранении. Хранилище (например, в форме банка данных) состоит из опухолиассоциированных пептидов, которые в высокой степени избыточно экспрессировались в опухолевой ткани пациентов с раком поджелудочной железы с различными HLA-A, HLA-B и HLA-C-аллелями. Оно может содержать пептиды, связанные с молекулами MHC I класса и MHC II класса или удлиненные пептиды, связанные с молекулами MHC I класса. Помимо опухолиассоциированных пептидов, собранных из нескольких образцов рака поджелудочной железы, хранилище может содержать маркерные пептиды, связанные с HLA-A\*02 и HLA-A\*24. Эти пептиды позволяют произвести количественное сравнение интенсивности Т-клеточного иммунного ответа, индуцированного пептидами TUMAP, и, следовательно, позволяют сделать важный вывод о способности вакцины вызывать противоопухолевые ответы. Во-вторых, они выполняют функцию важных пептидов положительного контроля, полученных «не из собственного» антигена в случае, если у пациента не наблюдаются вызванные вакциной Т-клеточные ответы на пептиды TUMAP, полученные из «собственных» антигенов. И в-третьих, оно может позволить сделать заключения относительно статуса иммунокомпетентности пациента.

Пептиды TUMAP для хранилища были идентифицированы с помощью интегрированного подхода функциональной геномики, комбинирующего анализ

экспрессии генов, масс-спектрометрию и Т-клеточную иммунологию (XPresident®). Этот подход гарантирует, что только те пептиды TUMAP, которые действительно присутствуют в большом проценте опухолей, но не экспрессируются или экспрессируются лишь минимально на нормальной ткани, были выбраны для последующего анализа. В целях первоначального отбора пептидов образцы ткани рака поджелудочной железы и кровь здоровых доноров были проанализированы поэтапно:

1. HLA-лиганды из злокачественного материала идентифицировали с помощью масс-спектрометрии.
2. Для идентификации экспрессированных в избытке генов в злокачественной ткани (рак поджелудочной железы) по сравнению с рядом нормальных органов и тканей применяли анализ экспрессии информационной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) всего генома.
3. Идентифицированные HLA-лиганды сравнивали с данными по экспрессии генов. Пептиды, презентруемые в избытке или селективно презентруемые на опухолевой ткани, предпочтительно кодируемые селективно экспрессированными или экспрессированными в избытке генами, выявленными на этапе 2, считали подходящими TUMAP-кандидатами для мультипептидной вакцины.
4. Было произведено изучение литературы для выявления дополнительных свидетельств, подтверждающих релевантность идентифицированных в качестве TUMAP пептидов.
5. Релевантность избыточной экспрессии на уровне мРНК подтверждали повторным обнаружением выбранных на этапе 3 пептидов TUMAP на опухолевой ткани и отсутствием (или нечастым обнаружением) на здоровых тканях.
6. В целях оценки того, может ли быть осуществима индукция *in vivo* Т-клеточных ответов выбранными пептидами, были проведены анализы иммуногенности *in vitro* при использовании человеческих Т-клеток здоровых доноров, а также пациентов, больных раком поджелудочной железы.

В одном из аспектов пептиды предварительно прошли скрининг на иммуногенность до их включения в хранилище. В качестве примера, но не для ограничения изобретения, иммуногенность пептидов, включенных в хранилище, определяется способом, включающим прайминг Т-клеток *in vitro* посредством повторных стимуляций CD8<sup>+</sup> Т-клеток здоровых доноров клетками, презентрующими

искусственный антиген, нагруженными комплексами пептид-MHC и антителами к CD28.

Этот способ является предпочтительным для редких видов рака и пациентов с редким профилем экспрессии. В отличие от мультипептидных коктейлей с постоянным составом, уже разработанных на данное время, «хранилище» позволяет достигнуть существенно более высокого соответствия фактической экспрессии антигенов в опухоли составу вакцины. Выбранные отдельные пептиды или комбинации из нескольких «готовых к применению» пептидов будут использоваться для каждого пациента в рамках мультитаргетного подхода. Теоретически, подход, основанный на выборе, например, 5 различных антигенных пептидов из библиотеки из 50 экземпляров, уже приведет приблизительно к 17 миллионам возможных составов лекарственного препарата (ЛП).

В одном аспекте для включения в вакцину пептиды выбирают по их пригодности для отдельного пациента на основе способа в соответствии с настоящим изобретением, как описано в настоящем документе или как изложено ниже.

Фенотип HLA, данные транскриптомики и протеомики собирают с опухолевого материала и образцов крови пациентов для идентификации наиболее подходящих пептидов для каждого пациента, в состав которых входят пептиды TUMAP как из хранилища, так и уникальные для пациента (т. е. мутированные). Выбирать будут те пептиды, которые селективно или избыточно экспрессируются в опухолях пациентов и, где это возможно, проявляют сильную иммуногенность *in vitro* при анализе с индивидуальными МКПК пациента.

Предпочтительно, чтобы пептиды, включенные в вакцину, были идентифицированы способом, включающим: (а) идентификацию опухолеассоциированных пептидов (TUMAP), презентруемых опухолевым образцом отдельного пациента; (б) сравнение идентифицированных на этапе (а) пептидов с хранилищем (банком данных) пептидов, как описано выше; и (в) выбор по меньшей мере одного пептида из хранилища (банка данных), который коррелирует с опухолеассоциированным пептидом, идентифицированным у пациента. Например, пептиды TUMAP, презентруемые опухолевым образцом, идентифицируют с помощью: (а1) сравнения данных по экспрессии в опухолевом

образце с данными нормальной ткани, соответствующей типу ткани опухолевого образца, для идентификации белков, которые в опухолевом образце экспрессируются в избытке или абберрантно; и (a2) установления корреляции между данными экспрессии и последовательностями лигандов МНС, связанных с молекулами МНС I и/или II класса в опухолевом образце, в целях идентификации лигандов МНС, которые получены из белков, избыточно или абберрантно экспрессируемых опухолью. Предпочтительно, если последовательности лигандов МНС идентифицируются с помощью элюирования связанных пептидов из молекул МНС, выделенных из опухолевого образца, и секвенирования элюированных лигандов. Предпочтительно, если опухолевый образец и нормальная ткань получены от одного и того же пациента.

Помимо этого, или в качестве альтернативы этому, при выборе пептидов с использованием модели хранилища (банка данных) пептиды TUMAP могут быть идентифицированы у пациента *de novo* и затем быть включены в вакцину. В качестве одного примера: пептиды-кандидаты TUMAP могут быть идентифицированы у пациента с помощью (a1) сравнения данных по экспрессии в опухолевом образце с данными нормальной ткани, соответствующей типу ткани опухолевого образца, для идентификации белков, которые в опухолевом образце экспрессируются в избытке или абберрантно; и (a2) установления корреляции между данными экспрессии и последовательностями лигандов МНС, связанных с молекулами МНС I и/или II класса в опухолевом образце, в целях идентификации лигандов МНС, которые получены из белков, избыточно или абберрантно экспрессируемых опухолью. В качестве другого примера: могут быть идентифицированы белки, имеющие мутации, являющиеся уникальными для опухолевого образца, соотносимого с соответствующей нормальной тканью отдельного пациента, и могут быть идентифицированы пептиды TUMAP, специфической мишенью которых является мутация. Например, геном опухоли и соответствующей нормальной ткани могут быть секвенированы методом полногеномного секвенирования: для обнаружения несинонимичных мутаций на кодирующих белок участках генов геномную ДНК и РНК экстрагируют из опухолевых тканей, а нормальную, не имеющую мутаций геномную ДНК зародышевой линии экстрагируют из мононуклеарных клеток периферической крови (МПК). Применяемый подход секвенирования нового поколения (NGS) заключается в повторном секвенировании кодирующих белок участков (повторное

секвенирование экзома). В этих целях экзонную ДНК из человеческих образцов фиксируют с помощью поставляемых изготовителем наборов для обогащения целевыми фрагментами, за чем следует секвенирование, например, с помощью системы HiSeq2000 (Illumina). В дополнение к этому опухолевую мРНК секвенируют для прямого количественного определения генной экспрессии и подтверждения того, что мутировавшие гены экспрессированы в опухолях пациентов. Считывание полученных в результате миллионов последовательностей осуществляется алгоритмами программного обеспечения. Получаемый список содержит мутации и экспрессию генов. Опухолеспецифические соматические мутации определяют сравнением с вариантами зародышевой линии из МПК и устанавливают приоритетность. Идентифицированные *de novo* пептиды могут быть затем испытаны на иммуногенность, как описывается выше в случае хранилища, и пептиды-кандидаты TUMAP, обладающие подходящей иммуногенностью, выбирают для включения в вакцину.

В отдельном варианте осуществления изобретения пептиды, включенные в вакцину, идентифицируют с помощью: (а) идентификации опухолеассоциированных пептидов (TUMAP), презентуемых опухолевым образцом отдельного пациента способами, описанными выше; (б) сравнения пептидов, идентифицированных на этапе (а) с хранилищем пептидов, как описано выше, которые предварительно прошли скрининг на иммуногенность и избыточную презентацию в опухолях по сравнению с соответствующими нормальными тканями; (в) выбора по меньшей мере одного пептида из хранилища, который коррелирует с опухолеассоциированным пептидом, идентифицированным у пациента; и (г) факультативно, выбора по меньшей мере одного пептида, идентифицированного *de novo* на этапе (а) с подтверждением его иммуногенности.

В отдельном варианте осуществления изобретения пептиды, включенные в вакцину, идентифицируют с помощью: (а) идентификации опухолеассоциированных пептидов (TUMAP), презентуемых опухолевым образцом отдельного пациента; и (б) выбора по меньшей мере одного пептида, идентифицированного *de novo* на этапе (а) и подтверждения его иммуногенности.

После того, как отобраны пептиды для персонализированной вакцины на основе пептидов, изготавливают вакцину. Вакцина – это предпочтительно жидкая

лекарственная форма, состоящая из отдельных пептидов, растворенных в ДМСО в концентрации 20-40%, предпочтительно около 30-35%, такой как около 33% ДМСО.

Каждый пептид, включаемый в продукт, растворяют в ДМСО. Концентрация отдельных пептидных растворов должна выбираться в зависимости от числа пептидов, предназначенных для включения в продукт. Растворы отдельных пептидов в ДМСО смешивают в равном соотношении для получения раствора, содержащего все пептиды, предназначенные для включения в продукт, с концентрацией ~2,5 мг/мл на пептид. Смешанный раствор затем разбавляют водой для инъекций в соотношении 1:3 для достижения концентрации 0,826 мг/мл на пептид в 33% ДМСО. Разбавленный раствор фильтруют через стерильный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Получают конечный нерасфасованный раствор.

Конечный нерасфасованный раствор разливают во флаконы и хранят при -20°C до использования. Один флакон содержит 700 мкл раствора, содержащего 0,578 мг каждого пептида. Из них 500 мкл (прибл. 400 мкг на пептид) будут вводить с помощью внутривенной инъекции.

Кроме того, пептиды по настоящему изобретению пригодны не только для лечения рака, но и также в качестве диагностических средств. Так как пептиды были получены из образцов рака поджелудочной железы, и так как было определено, что данные пептиды не присутствуют или присутствуют в небольшом количестве в нормальных тканях, то эти пептиды могут быть использованы для диагностики наличия рака.

Присутствие заявленных пептидов на тканевых биоптатах и в образцах крови может помочь патоморфологу в постановке диагноза рака. Выявление конкретных пептидов с помощью антител, масс-спектрометрии или других методов, известных из уровня техники, могут дать патоморфологу свидетельства того, что образец ткани является злокачественной или воспаленной или пораженной заболеванием вообще, или же может использоваться в качестве биомаркера рака поджелудочной железы. Присутствие групп пептидов может позволить классифицировать или выделить подклассы пораженных тканей.

Обнаружение пептидов на образцах пораженной заболеванием ткани может позволить принять решение о пользе от терапии, воздействующей на иммунную систему, в особенности, если Т-лимфоциты, как известно или ожидается, задействованы в механизме действия. Отсутствие экспрессии МНС является хорошо описанным механизмом, при котором инфицированные или злокачественные клетки уклоняются от иммунного контроля. Таким образом, присутствие пептидов показывает, что этот механизм не используется проанализированными клетками.

Пептиды по настоящему изобретению могут использоваться в анализе ответов лимфоцитов на действие этих пептидов, таких как Т-клеточные ответы или ответы в виде антител к пептиду или пептиду в комплексе с молекулами МНС. Данные ответы лимфоцитов могут использоваться в качестве прогностических маркеров для принятия решения о дальнейших этапах терапии. Данные ответы могут также использоваться в качестве суррогатных маркеров ответов в иммунотерапевтических подходах, направленных на индуцирование ответов лимфоцитов с помощью различных средств, например, вакцинации белком, нуклеиновыми кислотами, аутологичными материалами, адаптивным переносом лимфоцитов. В условиях, когда проводится генная терапия, в целях оценки побочных эффектов могут быть проанализированы ответы лимфоцитов на пептиды. Мониторинг реакций лимфоцитов может также быть ценным инструментом для обследований в рамках последующего наблюдения после трансплантации, к примеру, для выявления реакций «хозяин против трансплантата» и «трансплантат против хозяина».

Настоящее изобретение будет описано ниже с помощью примеров, которые описывают его предпочтительные варианты осуществления, со ссылкой на сопровождающие фигуры, тем не менее, не ограничивая объема изобретения. В соответствии с целями настоящего изобретения все цитируемые источники включены в данное описание во всей полноте путем ссылки.

## **ФИГУРЫ**

На Фигурах 1A-AF представлена избыточная презентация различных пептидов в нормальных тканях (белые столбцы) и тканях рака поджелудочной железы (черные столбцы). Фигура 1A) символ(ы) гена(ов): PTGS1, PTGS2, пептид: ILIGETIKI (SEQ

ID NO.: 3), ткани слева направо: 1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевого пузыря, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 4/91 раков легких, 1/20 раков яичника, 1/24 колоректальных раков, 1/18 раков почек и 1/4 раков мочевого пузыря (не показано). Фигура 1B) символ(ы) гена(ов): COL1A2, пептид: FVDTRTLL (SEQ ID NO.: 1), ткани слева направо: 1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевого пузыря, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 3/91 раков легких и 1/17 раков пищевода. Фигура 1C) символ(ы) гена(ов): RPTN14, пептид: AQYKFVYQV (SEQ ID NO.: 12), ткани слева направо: 1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевого пузыря, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/20 раков яичника, 2/17 раков пищевода, 1/46 раков желудка, 1/91 раков легких и 1/18 раков почек. Фигура 1D)

символ(ы) гена(ов): UBR1, пептид: SLMDPNKFLLL (SEQ ID NO.: 115), ткани слева направо: 13 клеточных линий поджелудочной железы, 2 культуры МКПК, 1 культура клеток предстательной железы, 3 клеточные линии кожи, 7 нормальных тканей (1 печень, 2 легких, 2 селезенки, 1 желудок, 1 трахея), 62 раковые ткани (8 раков головного мозга, 2 рака молочной железы, 2 рака толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 5 раков почек, 3 лейкоза, 6 раков печени, 19 раков легких, 5 раков яичника, 1 рак поджелудочной железы, 3 рака предстательной железы, 3 рака прямой кишки, 1 рак кожи, 2 рака мочевого пузыря). Проанализированная панель нормальных тканей (без заболевания) и клеточные линии рака и ксенотрансплантаты были теми же, что и на Фигуре 1А-С, и состояли из следующих образцов: 1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевых пузырей, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/6 раков молочной железы, 5/24 колоректальных раков, 1/2 раков желчного пузыря/желчных протоков, 6/16 раков печени, 1/2 меланоме, 5/20 раков яичника, 1/17 раков пищевода, 3/12 лейкозов, 7/29 раков головного мозга, 16/91 немелкоклеточной карциномы легких, 3/33 раков предстательной железы, 3/18 раков почек, 3/14 мелкоклеточных карцином легких и 1/4 раков мочевого пузыря. Несоответствия относительно списка видов опухолей между фигурой 1D и таблицей 4 обусловлены более строгими критериями отбора, применявшимся в случае таблицы 4 (более подробная информация представлена в таблице 4). На Фигуре 1D представлены все образцы с поддающейся обнаружению презентацией пептида Y, вне зависимости от параметров избыточной презентации и технического испытания качества образца. Фигура 1E) символ(ы) гена(ов): NUP205, пептид: ALLTGIISKA (SEQ ID NO.: 5), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов,

2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/34 раков головного мозга, 1/18 раков молочной железы, 2/29 раков толстой или прямой кишки, 1/18 раков пищевода, 1/8 раков головы и шеи, 1/21 рака печени, 8/107 раков легких, 1/20 раков лимфатических узлов, 1/20 раков яичника, 1/18 раков кожи, 2/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1F) символ(ы) гена(ов): NUP160, пептид: ALWHDAENQTVV (SEQ ID NO.: 19), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/17 раков желчного пузыря или желчных протоков, 2/34 раков головного мозга, 1/18 раков молочной железы, 1/18 раков пищевода, 1/21 рака печени, 8/107 раков легких, 2/18 раков кожи, 2/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1G) символ(ы) гена(ов): C11orf80, пептид: ILSTEIFGV (SEQ ID NO.: 22), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 3/18 раков молочной железы, 1/17 раков желчного пузыря, 1/8 раков головы и шеи, 5/17

лейкоцитарных лейкозов, 6/107 раков легких, 4/20 раков лимфатических узлов, 1/20 раков яичника, 1/19 раков поджелудочной железы, 1/18 раков кожи, 1/21 рака желудка. Фигура 1H) символ(ы) гена(ов): FAM83D, пептид: FLNPDEVHAI (SEQ ID NO.: 37), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/17 раков желчного пузыря или желчных протоков, 2/34 раков головного мозга, 3/18 раков молочной железы, 6/29 раков толстой кишки или прямой кишки, 2/18 раков пищевода, 2/8 раков головы и шеи, 1/23 раков почки, 5/21 рака печени, 25/107 раков легких, 4/20 раков лимфатических узлов, 7/20 раков яичника, 1/87 раков предстательной железы, 2/18 раков кожи, 2/45 раков желудка, 6/15 раков мочевого пузыря, 3/16 раков матки. Фигура 1I) символ(ы) гена(ов): DCBLD2, пептид: TMVENNYVV (SEQ ID NO.: 46), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/18 раков пищевода, 1/17 раков желчного пузыря, 1/8 раков головы и шеи, 3/23 раков почки, 9/107 раков легких, 7/20 раков яичника, 1/19 раков поджелудочной железы, 1/18 раков кожи, 1/45 раков желудка, 2/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1J) символ(ы) гена(ов): SHCBP1, пептид: RLSELGITQA (SEQ ID NO.: 57), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных

мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/34 раков головного мозга, 1/18 раков молочной железы, 2/18 раков пищевода, 2/8 раков головы и шеи, 1/21 рака печени, 8/107 раков легких, 4/20 раков лимфатических узлов, 1/18 раков миелоидных клеток, 4/20 раков яичника, 4/18 раков кожи, 2/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1K) символ(ы) гена(ов): CTHRC1, пептид: VLFSGSLRL (SEQ ID NO.: 69), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/18 раков молочной железы, 1/18 раков пищевода, 1/17 раков желчного пузыря, 9/107 раков легких, 1/20 раков яичника. Фигура 1L) символ(ы) гена(ов): CDC27, пептид: KISTITPQI (SEQ ID NO.: 123), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/34 раков головного мозга, 2/8 раков

головы и шеи, 1/23 раков почек, 1/17 лейкоцитарных лейкозов, 2/21 рака печени, 7/107 раков легких, 2/20 раков лимфатических узлов, 1/18 раков миелоидных клеток, 1/18 раков кожи, 1/45 раков желудка, 2/15 раков мочевого пузыря, 3/16 раков матки. Фигура 1M) символ(ы) гена(ов): UBE2C, пептид: ALYDVRTILL (SEQ ID NO.: 128), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/18 раков молочной железы, 3/29 раков толстой или прямой кишки, 1/17 лейкоцитарных лейкозов, 8/107 раков легких, 1/20 раков лимфатических узлов, 1/20 раков яичника, 1/15 раков мочевого пузыря. Фигура 1N) символ(ы) гена(ов): MBTPS2, пептид: VLISGVVHEI (SEQ ID NO.: 146), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 7/34 раков головного мозга, 1/18 раков молочной железы, 2/29 раков толстой или прямой кишки, 1/18 раков пищевода, 1/23 раков почек, 3/21 рака печени, 5/107 раков легких, 1/20 раков лимфатических узлов, 2/20 раков яичника, 1/87 раков предстательной железы, 3/18 раков кожи, 1/16 раков матки. Фигура 1O) символ(ы) гена(ов): PFDN1, пептид: KLADIQIEQL (SEQ ID NO.: 89), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23

толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парацитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 2/29 раков толстой или прямой кишки, 1/17 лейкоцитарных лейкозов, 4/107 раков легких, 4/20 раков яичника, 4/16 раков мочевого пузыря. Фигура 1P) символ(ы) гена(ов): PKP3, пептид: ALVEENGIFEL (SEQ ID NO.: 101), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парацитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/17 раков желчных протоков, 2/18 раков молочной железы, 2/29 раков толстой или прямой кишки, 2/18 раков пищевода, 2/8 раков головы и шеи, 1/21 рака печени, 7/107 раков легких, 6/20 раков яичника, 3/87 раков предстательной железы, 4/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1Q) символ(ы) гена(ов): GFPT2, пептид: LMMSEDRISL (SEQ ID NO.: 113), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парацитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 3/17 раков желчного пузыря или желчных протоков, 5/34 раков головного мозга, 3/18 раков молочной железы, 2/29

раков толстой кишки или прямой кишки, 2/18 раков пищевода, 1/8 раков головы и шеи, 1/21 рака печени, 18/107 раков легких, 3/20 раков лимфатических узлов, 1/19 раков поджелудочной железы, 1/87 раков предстательной железы, 2/18 раков кожи, 2/15 раков мочевого пузыря, 1/16 раков матки. Фигура 1R) символ(ы) гена(ов): CCT4, пептид: ALSDLALHFL (SEQ ID NO.: 127), ткани слева направо: 6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез, 20 клеточных линий рака поджелудочной железы и образцов ксенотрансплантатов. Кроме того, пептид был выявлен на клетках 1/34 раков головного мозга, 2/18 раков молочной железы, 2/8 раков головы и шеи, 3/17 лейкоцитарных лейкозов, 1/21 рака печени, 3/107 раков легких, 4/20 раков лимфатических узлов, 2/18 раков миелоидных клеток, 1/20 раков яичника, 3/18 раков кожи, 4/15 раков мочевого пузыря. Фигура 1S) символ(ы) гена(ов): NUP205, пептид: ALLTGIISKA (SEQ ID NO.: 5), ткани слева направо: 12 клеточных линий рака, 1 нормальная ткань (1 селезенка), 22 раковые ткани (2 рака головного мозга, 1 рак молочной железы, 1 рак толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак головы и шеи, 1 рак печени, 8 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак прямой кишки, 1 рак кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E-R. Фигура 1T) символ(ы) гена(ов): NUP160, пептид: ALWHDAENQTVV (SEQ ID NO.: 19), ткани слева направо: 13 клеточных линий рака, 1 первичная культура, 1 нормальная ткань (1 селезенка), 20 раковых тканей (1 рак желчных протоков, 2 рака головного мозга, 1 рак молочная железа, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 1 рак печени, 8 раков легких, 2 рака кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E-R. Фигура 1U) символ(ы) гена(ов): C11orf80, пептид: ILSTEIFGV (SEQ ID NO.: 22), ткани слева направо: 1 клеточная линия рака, 3 первичные культуры, 1 нормальная ткань (1 лимфатический узел), 24 раковые ткани (3 рака молочной железы, 1 рак желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 5 лейкоцитарных лейкозов, 6 раков легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак

поджелудочной железы, 1 рак кожи, 1 рак желудка). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1V) символ(ы) гена(ов): FAM83D, пептид: FLNPDEVHAI (SEQ ID NO.: 37), ткани слева направо: 16 клеточных линий рака, 3 первичных культуры, 1 нормальная ткань (1 трахея), 73 раковые ткани (1 рак желчных протоков, 2 рака головного мозга, 3 рака молочной железы, 4 рака толстой кишки, 2 рака пищевода, 1 рак желчного пузыря, 2 рака головы и шеи, 1 рак почек, 5 раков печени, 25 раков легких, 4 рака лимфатических узлов, 7 раков яичника, 1 рак предстательной железы, 2 рака прямой кишки, 2 рака желудка, 6 раков мочевого пузыря, 3 рака матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1W) символ(ы) гена(ов): DCBLD2, пептид: TMVENHYYV (SEQ ID NO.: 46), ткани слева направо: 4 клеточных линий рака, 1 первичная культура, 28 раковых тканей (1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 3 рака почек, 9 раков легких, 7 раков яичника, 1 рак поджелудочной железы, 1 рак кожи, 1 рак желудка, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1X) символ(ы) гена(ов): SHCBP1, пептид: RLSELGITQA (SEQ ID NO.: 57), ткани слева направо: 20 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 2 нормальные ткани (1 костный мозг, 1 плацента), 31 раковая ткань (1 рак головного мозга, 1 рак молочной железы, 2 рака пищевода, 2 рака головы и шеи, 1 рак печени, 8 раков легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 4 рака яичника, 4 рака кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1Y) символ(ы) гена(ов): CTHRC1, пептид: VLFSGSLRL (SEQ ID NO.: 69), ткани слева направо: 5 клеточных линий рака, 14 раковых тканей (2 рака молочной железы, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 9 раков легких, 1 рак яичника). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1Z) символ(ы) гена(ов): CDC27, пептид: KISTITPQI (SEQ ID NO.: 123), ткани слева направо: 19 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 3 нормальные ткани (1 надпочечная железа, 1 печень, 1 плацента), 25 раковых тканей (2 рака головного мозга, 2 рака головы и шеи, 1 рак почек, 2 лейкоцитарных лейкоза, 2 рака печени, 7 раков легких, 2 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 1 рак кожи, 1 рак желудка, 2 рака мочевого пузыря, 3 рака матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AA) символ(ы) гена(ов): UBE2C, пептид: ALYDVRTILL (SEQ ID NO.: 128), ткани слева направо: 10 клеточных линий рака, 17 раковых тканей (2

рака молочной железы, 1 рак слепой кишки, 2 рака толстой кишки, 1 лейкоцитарный лейкоз, 8 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак мочевого пузыря). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AB) символ(ы) гена(ов): MBTPS2, пептид: VLISGWWHEI (SEQ ID NO.: 146), ткани слева направо: 16 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 2 нормальные ткани (1 селезенка, 1 матка), 28 раковых тканей (7 раков головного мозга, 1 рак молочной железы, 2 рака толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак почек, 3 рака печени, 5 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 2 рака яичника, 1 рак предстательной железы, 3 рака кожи, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AC) символ(ы) гена(ов): PFDN1, пептид: KLADIQIEQL (SEQ ID NO.: 89), ткани слева направо: 11 клеточных линий рака, 2 нормальные ткани (2 надпочечные железы), 15 раковых тканей (2 рака толстой кишки, 1 лейкоцитарный лейкоз, 4 рака легких, 4 рака яичника, 4 рака мочевого пузыря). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AD) символ(ы) гена(ов): PKP3, пептид: ALVEENGIFEL (SEQ ID NO.: 101), ткани слева направо: 3 клеточные линии рака, 3 первичные культуры, 2 нормальные ткани (2 толстые кишки), 31 раковая ткань (1 рак желчных протоков, 2 рака молочной железы, 1 рак слепой кишки, 1 рак толстой кишки, 2 рака пищевода, 2 рака головы и шеи, 1 рак печени, 7 раков легких, 6 раков яичника, 3 рака предстательной железы, 4 рака мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AE) символ(ы) гена(ов): GFPT2, пептид: LMMSEDRISL (SEQ ID NO.: 113), ткани слева направо: 8 клеточных линий рака, 1 нормальная ткань (1 глаз), 45 раковых тканей (1 рак желчных протоков, 5 раков головного мозга, 3 рака молочной железы, 1 рак толстой кишки, 2 рака пищевода, 2 рака желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 1 рак печени, 18 раков легких, 3 рака лимфатических узлов, 1 рак поджелудочной железы, 1 рак предстательной железы, 1 рак прямой кишки, 2 рака кожи, 2 рак мочевого пузыря, 1 рак матки). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E–R. Фигура 1AF) символ(ы) гена(ов): CCT4, пептид: ALSDLALHFL (SEQ ID NO.: 127), ткани слева направо: 9 клеточных линий рака, 26 раковых тканей (1 рак костного мозга, 1 рак головного мозга, 2 рака молочной железы, 2 рака головы и шеи, 3 лейкоцитарных лейкоза, 1 рак печени, 3 рака легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 1 рак яичника, 3 рака кожи, 4 рака мочевого

пузыря). Панель проанализированных нормальных тканей была такой же, как и на Фигурах 1E-R.

На Фигурах 2A–C представлены примеры профилей экспрессии (относительная экспрессия в сравнении с нормальной поджелудочной железой) исходных генов настоящего изобретения, которые в высокой степени экспрессированы в избытке или исключительно экспрессированы в клетках рака поджелудочной железы, для панели нормальных тканей (белые столбцы) и 9 образцов рака поджелудочной железы (черные столбцы). Ткани слева направо: надпочечная железа, артерия, костный мозг, головной мозг (целиком), молочная железа, толстая кишка, пищевод, сердце, почка (три повторных измерения), лейкоциты, печень, легкие, лимфатический узел, яичник, поджелудочная железа, плацента, предстательная железа, слюнная железа, скелетная мышца, кожа, тонкая кишка, селезенка, желудок, семенник, вилочковая железа, щитовидная железа, мочевого пузыря, шейка матки, матка, вена, 9 образцов рака поджелудочной железы. Фигура 2A) SHCBP1; Фигура 2B) FN1; и Фигура 2C) PLEC.

На Фигуре 3A–D показаны типичные данные по иммуногенности: результаты проточного цитометрического анализа после пептид-специфического окрашивания мультимеров. CD8<sup>+</sup> Т-клетки примировали с помощью искусственных АПК, стимулированных моноклональными антителами к CD28 и HLA-A\*02 в комплексе с пептидом с последовательностью SeqID No 125 (A, левая секция), пептидом SeqID No 148 (B, левая секция), пептидом SeqID No 156 (C, левая секция), пептидом SeqID No 178 (D, левая секция, сверху) и пептидом SeqID No 177 (D, левая секция, внизу), соответственно. После трех циклов стимуляции обнаружение клеток, реагирующих с пептидом, производилось с помощью двойного окрашивания мультимеров, используя A\*02/SeqID No 125 (A), A\*02/SeqID No 148 (B) or A\*02/SeqID No 156 (C). Правые секции (A, B, C и D) представляют собой контрольное окрашивание клеток, простимулированных нерелевантными комплексами пептида и A\*02. Из числа отдельных жизнеспособных клеток путем гейтирования выделяли CD8<sup>+</sup> лимфоциты. Гейты Буля помогали исключить ложно-положительные ответы, обнаруженные с помощью мультимеров, специфических в отношении различных пептидов. Указывается частота выявления специфических мультимер<sup>+</sup> клеток среди CD8<sup>+</sup> лимфоцитов.

## ПРИМЕРЫ

### ПРИМЕР 1:

#### Идентификация и количественное определение опухолеассоциированных пептидов, презентруемых на поверхности клетки

##### Образцы тканей

Опухолевые ткани пациентов были получены из Университетской клиники г. Тюбинген, Германия, Университетской клиники г. Гейдельберг, Германия, NMI (Естественно-научный и медицинский институт) г. Ройтлинген, Германия, Онкологический центр им. М. Д. Андерсона, Техас, США. Нормальные ткани были получены из компаний Asterand, Детройт, США и Ройстон, Хартфордшир, Великобритания; Bio-Options Inc., Калифорния, США; BioServe, Белтсвилль, Мэриленд, США; Geneticist Inc., Глендейл, Калифорния, США; Tissue Solutions Ltd, Глазго, Шотландия, Великобритания; Университетской клиники г. Женевы; Университетской клиники г. Гейдельберг; Медицинского университета префектуры Киото (KPUK); Университетской клиники г. Мюнхена; компании ProteoGenex Inc., Кальвер-Сити, Калифорния, США; Университетской клиники г. Тюбинген, Германия. Перед проведением хирургической операции или аутопсии было получено информированное согласие всех доноров в письменной форме. Сразу же после удаления ткани были подвергнуты шоковой заморозке и хранились до выделения TUMAP-пептидов при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  или ниже.

##### Выделение пептидов HLA из образцов тканей

Пулы пептидов HLA из подвергнутых заморозке образцов тканей были получены методом иммунопреципитации в соответствии с незначительно измененным протоколом (Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999) при использовании HLA-A\*02-специфического антитела BB7.2 или HLA-A, -B, -C-специфического антитела W6/32, CNBr-активированной сефарозы, кислотной обработки и ультрафильтрации.

##### Масс-спектрометрический анализ

Полученные пулы комплексов пептид-HLA были разделены в соответствии с их гидрофобностью обратнофазовой хроматографией (nanoAcquity UPLC system, Waters), и элюированные пептиды анализировали на гибридных масс-спектрометрах LTQ-velos и -fusion (ThermoElectron), снабженном источником ESI.

Пулы пептидов наносили непосредственно на аналитическую микрокапиллярную колонку из плавленного кварца (75 мкм в/д x 250 мм) с обращеннофазовым сорбентом 1,7 мкм C18 (Waters) с применением скорости потока в 400 нл в минуту. Затем пептиды разделяли с использованием двухэтапного 180-минутного бинарного градиента от 10% до 33% растворителя В при скорости потока 300 нл в минуту. Для создания градиента использовали растворитель А (0,1% муравьиной кислоты в воде) и растворитель В (0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле). Позолоченный стеклянный капилляр (PicoTip, New Objective) использовали для введения в источник наноESI. Масс-спектрометры LTQ-Orbitrap работали в информационно-зависимом режиме с применением стратегии TOP5. Вкратце, цикл сканирования начинался с полного сканирования с высокой точностью масс на спектрометре Orbitrap ( $R = 30\ 000$ ), за чем следовало сканирование MS/MS также на Orbitrap ( $R = 7500$ ) на 5 особенно многочисленных ионах-предшественниках с динамическим исключением отобранных ранее ионов. Тандемные масс-спектры интерпретировали при помощи программы SEQUEST с дополнительным контролем вручную. Идентифицированную пептидную последовательность подтверждали сравнением полученной картины фрагментации природного пептида с картиной фрагментации синтетического контрольного пептида с идентичной последовательностью.

Относительное количественное определение методом ЖХ/МС без изотопных меток проводили путем подсчета ионов, т. е. с помощью экстракции и анализа результатов ЖХ/МС (Mueller et al., 2007). Этот метод основан на предположении, что площадь пика ЖХ/МС сигнала пептида коррелирует с его концентрацией в образце. Извлеченные характеристики обрабатывали с помощью деконволюционного анализа состояния заряда и путем выравнивания времени удерживания (Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008). Наконец, все результаты спектров ЖХ/МС были сопоставлены методом перекрестных ссылок с результатами по идентификации последовательности, чтобы объединить количественные данные различных образцов и тканей в профили презентации пептидов. Количественные данные были нормализованы с применением двухуровневой системы в соответствии с центральной тенденцией с целью учета вариабельности внутри технических и биологических повторных измерений. Таким образом, каждый идентифицированный пептид может быть ассоциирован с количественными данными, позволяющими провести относительную

количественную оценку образцов и тканей. Кроме того, все количественные данные, полученные для пептидов-кандидатов, были проконтролированы вручную в целях обеспечения взаимосогласованности данных и для проверки точности автоматического метода анализа. Для каждого пептида был рассчитан профиль презентации, показывающий средний уровень презентации в образце, а также вариабельность репликатов. В профиле сравниваются образцы раковой ткани поджелудочной железы с фоновым уровнем образцов нормальной ткани. Профили презентации типичных пептидов, презентуемых в избытке, показаны на Фигуре 1. Показатели презентации отдельных пептидов показаны в Таблице 8.

Таблица 8: Показатели презентации. В таблице представлены пептиды, которые в очень высокой степени избыточно презентуются на опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (+++), в высокой степени избыточно презентуются на опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (++) или избыточно презентуются на опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (+).

SEQ ID No.	Последовательность	Презентация пептида
1	FVDTRTLL	+++
3	ILIGETIKI	+++
4	ALDPAAQAFLL	+++
5	ALLTGIISKA	+++
6	ALTGIPLPLI	+++
7	ALVDIVRSL	+++
8	ALYTGSALDFV	+++
10	VLLDKIKNL	+
11	ALYYNPHLL	+++
12	AQYKFVYQV	+++
14	FIIDNPQDLKV	+++
15	FILANEHNV	+++
16	GLIDYDTGI	+++
17	GLIDYDTGIRL	++
18	ALFVRLAL	+++
19	ALWHDAENQTVV	+++
21	GLVDGRDLVIV	+++
22	ILSTEIFGV	+++
23	KLDSSGGAVQL	++
24	KLSENAGIQSL	+++
25	LINPNIATV	+++
27	TLLAHPVTL	+
29	YILPFSEVL	+++

SEQ ID No.	Последовательность	Презентация пептида
30	YIYKDTIQV	+++
31	YLDSMYIML	++
34	FLEDDDIAAV	+++
35	FLFPSQYVDV	+++
37	FLNPDEVHAI	+
39	FLTPSIFII	+++
40	GLAPQIHDL	+++
41	GLLAGNEKLTM	++
42	ILSDMRSQYEV	+++
43	HLGVKVFVS	+++
44	ILAQVGFSV	+++
45	ILYSDDGQKWTV	+++
46	TMVEHNYYV	+++
47	LIYKDLVSV	+
48	LLDENGVLKL	+++
49	LLDGFPRTV	+++
50	LLFGSDGYV	+++
51	LLGPAGARA	+++
52	LLSDPIPEV	++
53	LLWDPSTGKQV	+++
54	LTQPGPIASA	+++
55	NLAPAPLNA	+++
56	NLIGVTAEL	+++
57	RLSELGITQA	++
58	RQYPWGVVQV	+++
59	SLSEFFMV	+
60	SLWEDYPHV	++
61	SMYDGLLQA	++
62	SVFPGARLL	+++
63	SVTGIIVGV	+++
64	TLFSEPKFAQV	++
67	VIWGTDVNV	++
68	VLFDVTGQV	+++
69	VLFSGSLRL	+++
70	VLGVIWGV	+++
71	VLLPEGGITAI	+++
72	VMASPGGLSAV	+++
73	VMVDGKPVNL	+
74	YIDKDLEYV	+++
75	FSFVDLRL	+++
77	RLFPGSSFL	+++
79	VYEGQLISI	+
80	LLPGTEYVSV	+
81	VYDDSTGLIRL	+++

SEQ ID No.	Последовательность	Презентация пептида
82	ALIAEGIAL	++
83	ALSKEIYVI	+++
85	FLSDGTIISV	++
86	GLGDFIFYSV	+
88	IIDDTIFNL	++
90	KLLTPITTL	+
91	LLFNDVQTL	+
92	YLTNEGIAHL	+
93	SIDSEPALV	+++
94	VMMEEFVQL	+
95	ALADDDFLTV	++
96	ALAPATGGGSLLL	+
98	ALDQKVRSV	+
99	ALESFLKQV	+
100	ALFGAGPASI	+++
102	ALYPGTDYTV	+
104	FLQPDLDSL	+++
105	FLSEVFHQA	+
106	FWWSGTAEA	+++
107	FVYGGPQVQL	+
108	IADGGFTEL	+++
109	ILASVILNV	++
111	LLLAAARLAAA	+
114	SLFPHNPQFI	+++
115	SLMDPNKFLLL	++
116	SMMDPNHFL	++
118	TLWYRPPPEL	++
119	VLGDDPQLMKV	+
120	VLVNDFFLV	++
122	MQAPRAALVFA	+
123	KISTITPQI	+++
124	ALFEESGLIRI	+++
125	ALLGKLDAINV	+++
126	ALLSLDPAAV	+++
128	ALYDVRTILL	+++
130	FLFGEEPSKL	+
131	FLIEEQKIVV	+++
132	FLWAGGRASYGV	+++
133	ILDDVSLTHL	+++
134	ILLAEGRLVNL	+++
135	KLDDTYIKA	+++
136	KLFPGFETV	+++
137	KLGPEGELL	+++
138	NIFPNPEATFV	++

SEQ ID No.	Последовательность	Презентация пептида
140	SLLNPPETLNL	+++
142	SLYGYLRGA	+++
143	TADPLDYRL	++
144	TAVALLRLL	+++
145	TTFPRPVTV	+++
146	VLISGVVHEI	+++
147	YAFPKAVSV	+++
148	YLHNQGIGV	+
149	ILGTEDLIVEV	+
150	ALFQPHLINV	++
151	ALLDIIRSL	+++
153	ALPKEDPTAV	+
154	KVADLVML	+
155	LLLDPDTAVLKL	++
156	LLLPPPPCPA	+
157	MLLEIPYMAA	++
158	SLIEKYFSV	+
159	SLLDLHTKV	+
160	VLLPDERTISL	+++
162	NADPQAVTM	+++
163	VMAPRTLVL	++
164	YLGRLAHEV	++
165	YLLSYIQSI	++
166	SLFPGQVVI	+++
167	MLFGHPLLVS	+++
169	FMLPDPQNI	+++
171	LLLDVTPLSL	++
172	TMMSRPPVL	++
173	SLAGDVALQQL	+++
174	TLDPRSFLL	++
175	ALLESSLRQA	++
176	YLMPGFIHL	+++

**ПРИМЕР 2:**

Определение профиля экспрессии генов, кодирующих пептиды по изобретению  
Избыточной презентации или специфической презентации пептида на опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками достаточно для его пригодности в иммунотерапии, и некоторые пептиды являются опухолеспецифическими, несмотря на присутствие их исходных белков также и в нормальных тканях. Тем не менее, выявление профилей экспрессии мРНК привносит дополнительный уровень безопасности при отборе пептидных мишеней для иммунотерапии. В особенности

в случае терапевтических методов с высокой степенью риска для безопасности, таких как ТКР с созревшей аффинностью, идеальный целевой пептид будет получен из белка, являющегося уникальным для опухоли и не встречающегося на нормальных тканях.

#### Источники и приготовление РНК

Хирургически удаленные тканевые препараты были предоставлены различными организациями, которые перечислены выше (см. Пример 1) после получения письменной формы информированного согласия от каждого пациента. Препараты опухолевой ткани были мгновенно заморожены после операции и впоследствии гомогенизированы с помощью ступки и пестика в жидком азоте. Суммарная РНК была приготовлена из данных образцов с использованием реагента TRI (Ambion, Дармштадт, Германия) с последующей очисткой на RNeasy (QIAGEN, Хильден, Германия); оба метода осуществлялись в соответствии с указаниями производителей.

Суммарная РНК здоровых человеческих тканей была куплена (Ambion, Хантингтон, Великобритания; Clontech, Гейдельберг, Германия; Stratagene, Амстердам, Нидерланды; BioChain, Хейард, Калифорния, США). РНК нескольких индивидов (от 2 до 123 индивидов) была смешана таким образом, что РНК каждого индивида имела равный вес.

Качество и количество всех образцов РНК оценивали на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent, Вальдбронн, Германия) с использованием набора RNA 6000 Pico LabChip Kit (Agilent).

#### Эксперименты с микрочипами

Анализ экспрессии генов всех образцов РНК из опухолевой и нормальной ткани был произведен с помощью олигонуклеотидных микрочипов Affymetrix Human Genome (HG) U133A или HG-U133 Plus 2.0 (Affymetrix, Санта Клара, Калифорния, США). Все этапы были выполнены в соответствии с руководством Affymetrix. Вкратце, двухнитевую кДНК синтезировали из 5–8 мкг суммарной РНК с использованием SuperScript RTII (Invitrogen) и олиго-dT-T7 праймера (MWG Biotech, Эберсберг, Германия), как описывается в руководстве. Транскрипцию *in vitro* производили с использованием набора для мечения РНК-транскриптов BioArray

High Yield RNA Transcript Labelling Kit (ENZO Diagnostics, Inc., Фармингейл, Нью-Йорк, США) для чипов U133A или набора GeneChip IVT Labelling Kit (Affymetrix) для чипов U133 Plus 2.0 с последующей фрагментацией, гибридизацией кРНК и окрашиванием стрептавидин-фикоэритрином и биотинилированным антистрептавидиновым антителом (Molecular Probes, Лейден, Нидерланды). Изображения сканировали на Agilent 2500A GeneArray Scanner (U133A) или Affymetrix Gene-Chip Scanner 3000 (U133 Plus 2.0), а данные анализировали в программе GCOS (Affymetrix) с использованием настроек по умолчанию для всех параметров. Для нормализации использовались 100 служебных генов, предоставленных Affymetrix. Относительные значения экспрессии были подсчитаны из отношений логарифмов зарегистрированных сигналов, полученных компьютерной программой, а значение для образца нормальной почки было произвольно задано значением 1,0. Типичные профили экспрессии исходных генов, предложенных в настоящем изобретении, которые в высокой степени экспрессированы в избытке или исключительно экспрессированы в клетках рака поджелудочной железы, представлены на Фигуре 2. Показатели экспрессии других отдельных генов показаны в Таблице 9.

**Таблица 9: Показатели экспрессии.**

В таблице представлены пептиды, полученные из генов, которые в очень высокой степени избыточно экспрессируются в опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (+++), в высокой степени избыточно экспрессируются в опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (++) или избыточно экспрессируются в опухолях в сравнении с панелью нормальных тканей (+).

SEQ ID No	Название гена	Последовательность	Экспрессия гена
1	COL1A2	FVDTRTLL	++
2	COL1A2	FGYDGDYRA	++
3	PTGS1, PTGS2	ILIGETIKI	+++
6	CDK2	ALTGIPLPLI	+
7	FADS3	ALVDIVRSL	++
8	COL6A3	ALYTGSALDFV	+
9	COL6A3	QIIDAINKV	+
10	COL6A3	VLLDKIKNL	+
11	IPO7	ALYYNPHLL	+
12	PTPN14	AQYKFVYQV	+
18	TGFBI	ALFVRLAL	+++
24	RAI14	KLSEAGIQSL	+

SEQ ID No	Название гена	Последовательность	Экспрессия гена
26	MAN2A1	SLYTALTEA	+
31	ADAM9	YLDSMYIML	+
34	GFPT2	FLEDDDIAAV	++
38	TFPI2	FLTEAALGDA	+
43	COL6A1	HLGVKVFSV	+++
44	SLC6A15	ILAQVGFSV	++
45	DCBLD2	ILYSDDGQKWTV	++
46	DCBLD2	TMVEHNYV	++
53	NLE1	LLWDPSTGKQV	+
54	CXCL5	LTQPGPIASA	+
56	ARMC9	NLIGVTAEL	++
57	SHCBP1	RLSELGITQA	+++
58	SEPT10, SEPT8, SEPT11	RQYPWGVVQV	++
60	TRAM2	SLWEDYPHV	++
61	TRPV2	SMYDGLLQA	++
67	MCM4	VIWGTDVNV	+++
75	COL1A1	FSFVDLRL	+++
77	CREB3L1	RLFPGSSFL	++
79	FN1	VVYEGQLISI	+++
80	FN1	LLPGTEYVVS	+++
84	SLC1A4, SLC1A5	FILPIGATV	+
90	COL6A3	KLLTPITTL	+
91	PLEC	LLFNDVQTL	+++
92	PLEC	YLTNEGIAHL	+++
95	MCM4	ALADDDFLTV	+++
99	PRKDC	ALESFLKQV	+
105	SERPINB2	FLSEVFHQA	+
113	GFPT2	LMMSEDRISL	++
119	TAF6L	VLGDDPQLMKV	+
123	CDC27	KISTITPQI	+
124	CELSR3, SLC26A6	ALFEESGLIRI	+
126	PRKDC	ALLSLDPAAV	+
128	UBE2C	ALYDVRTILL	+
132	HNRNPU	FLWAGGRASYGV	+
136	ASNS	KLFPGFIEITV	+++
137	SLC1A5	KLGPEGELL	+
139	STAT2	SIDRNPPQL	+
140	CCNA2	SLLNPPETLNL	++
145	NONO	TTFPRPVTV	+
146	MBTPS2	VLISGVVHEI	+
151	FADS2	ALLDIIRSL	++
153	COPG1	ALPKEDPTAV	+
165	NCAPG	YLLSYIQSI	+++
166	POLA2	SLFPGQVVI	+

SEQ ID No	Название гена	Последовательность	Экспрессия гена
173	NCAPD2	SLAGDVALQQL	+
175	CCND1	ALLESSLRQA	+

### ПРИМЕР 3:

#### Иммуногенность *in vitro* для пептидов, презентруемых МНС I класса

Для получения информации об иммуногенности пептидов TUMAP по настоящему изобретению заявители провели исследования с использованием прайминга Т-клеток *in vitro* на основе повторных стимуляций CD8+ Т-клеток искусственными антигенпрезентирующими клетками (иАПК), нагруженными комплексами пептид-МНС и антителом к CD28. Таким образом заявители могли показать иммуногенность для пока что 22 рестриктированных по HLA-A\*0201 пептидов TUMAP по изобретению, демонстрируя, что эти пептиды являются Т-клеточными эпитопами, против которых у человека имеются CD8+ Т-клетки-предшественники (Таблица 10).

#### Прайминг CD8+ Т-клеток *in vitro*

В целях проведения стимуляций *in vitro* искусственными антигенпрезентирующими клетками, нагруженными комплексом пептид-МНС (рМНС) и антителом к CD28, заявители сначала выделили CD8+ Т-клетки из свежего продукта лейкофереза HLA-A\*02 методом позитивной селекции с помощью микросфер CD8 (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия). Кровь была получена от здоровых доноров (после подписания формы информированного согласия) из Университетской клиники г. Мангейм, Германия.

МКПК и выделенные CD8+ лимфоциты инкубировали до использования в Т-клеточной среде (TCM), состоящей из RPMI-Glutamax (Invitrogen, Карлсруэ, Германия) с добавлением 10% инактивированной нагреванием человеческой сыворотки АВ (PAN-Biotech, Эйденбах, Германия), 100 Ед/мл пенициллина / 100 мкг/мл стрептомицина (Cambrex, Кёльн, Германия), 1 мМ пирувата натрия (CC Pro, Обердорла, Германия) и 20 мкг/мл гентамицина (Cambrex). 2,5 нг/мл ИЛ-7 (PromoCell, Гейдельберг, Германия) и 10 Ед/мл ИЛ-2 (Novartis Pharma, Нюрнберг, Германия) также добавляли на этом этапе в среду TCM.

Получение микросфер, покрытых рМНС и антителами к CD28, стимуляции Т-клеток и считывание производили на хорошо исследованной системе *in vitro*, используя четыре различные молекулы рМНС для каждого цикла стимуляций и 8 различных молекул рМНС для каждого цикла считывания.

Очищенный костимуляторный IgG2a мыши к антителам человека CD28 Ab 9.3 (Jung et al., 1987) был химически биотинилирован с использованием сульфо-N-гидроксисукцинимидобиотина, как рекомендуется изготовителем (Perbio, Бонн, Германия). Использованные микросферы представляли собой полистирольные частицы размером 5,6 мкм, покрытые стрептавидином (Bangs Laboratories, Иллинойс, США).

рМНС, использованные для положительных и отрицательных контрольных стимуляций, были A\*0201/MLA-001 (пептид ELAGIGILTV (SEQ ID NO. 179) из модифицированного Melan-A/MART-1) и A\*0201/DDX5-001 (YLLPAIVHI из DDX5, SEQ ID NO. 180), соответственно.

800 000 микросфер / 200 мкл вносили в лунки 96-луночного планшета в присутствии 4 x 12,5 нг другого биотинилированного комплекса рМНС, промывали и затем добавляли 600 нг биотинилированных антител к CD28 в объеме 200 мкл. Стимуляцию проводили в 96-луночных планшетах путем совместной инкубации  $1 \times 10^6$  CD8+ Т-клеток с  $2 \times 10^5$  промытых покрытых микросфер в 200 мкл среды TCM с добавлением 5 нг/мл ИЛ-12 (PromoCell) в течение 3 дней при 37°C. Половина среды была затем заменена на свежую среду TCM с добавлением 80 Ед/мл ИЛ-2, и инкубация была продолжена в течение 4 дней при 37°C. Данный цикл стимуляций производили в общей сложности три раза. Для считывания с рМНС-мультимеров использовали 8 различных молекул рМНС на цикл. Использовался двумерный комбинаторный подход к кодировке, как было описано ранее (Andersen et al., 2012) с незначительными изменениями, относящимися к мечению с 5 различными флуорохромами. Наконец, проводили анализ мультимеров посредством окрашивания клеток набором для определения жизнеспособности клеток при воздействии ближнего ИК-излучения с красителем Live/dead (Invitrogen, Карлсруэ, Германия), клоном SK1 антител CD8-FITC (BD, Гейдельберг, Германия) и мультимерами рМНС с флуоресцентными метками. Для анализа использовали цитометр BD LSRII SORP, снабженный подходящими лазерами и фильтрами.

Пептид-специфические клетки были подсчитаны как процентная доля от всех CD8+ клеток. Оценку результатов анализа мультимеров проводили с помощью программы FlowJo (Tree Star, Орегон, США). Прайминг *in vitro* специфических мультимер-положительных CD8+ лимфоцитов оценивали сравнением со стимуляциями отрицательного контроля. Иммуногенность для заданного антигена была определена, если было обнаружено, что по меньшей мере в одной подлежащей оценке простимулированной *in vitro* лунке одного здорового донора содержалась специфическая CD8+ Т-клеточная линия после стимуляции *in vitro* (т. е. когда данная лунка содержала по меньшей мере 1% специфичных мультимер-положительных среди CD8-положительных Т-клеток и процентная доля специфичных мультимер-положительных клеток была по меньшей мере в 10 раз выше медианного значения стимуляций отрицательного контроля).

Иммуногенность *in vitro* для пептидов рака поджелудочной железы

Для проанализированных пептидов, связанных с молекулами HLA I класса, иммуногенность *in vitro* могла быть продемонстрирована генерированием пептид-специфических Т-клеточных линий. Типичные результаты проточного цитометрического анализа после TUMAP-специфического окрашивания мультимеров для 2 пептидов по изобретению показаны на Фиг. 3 вместе с соответствующими отрицательными контролями. Результаты для 4 пептидов по изобретению обобщаются в Таблице 10.

**Таблица 10: Иммуногенность пептидов по изобретению HLA I класса *in vitro***

Отдельные результаты экспериментов по иммуногенности *in vitro*, проведенных заявителем для рестриктированных по HLA-A\*02 пептидов по изобретению. Указаны результаты экспериментов по иммуногенности *in vitro*. Процентные доли положительных лунок и доноров (среди подлежащих оценке) обобщены согласно следующему критерию: <20 % = +; 20 %-49 % = ++; 50 %-69 % = +++; >= 70 % = ++++

SEQ ID No	Последовательность	Положительные лунки [%]
17	GLIDYDTGIRL	"+"
81	VVYDDSTGLIRL	"+"
122	MQAPRAALVFA	"++"
165	YLLSYIQSI	"++"
167	MLFGHPLLVSV	"++"
172	TMMSRPPVL	"+"
173	SLAGDVALQQL	"+"

SEQ ID No	Последовательность	Положительные лунки [%]
174	TLDPRSFLL	"++"
119	VLGDDPQLMKV	"+"
125	ALLGKLDAINV	"+"
135	KLDDTYIKA	"+++"
137	KLGPEGELL	"+"
147	YAFPKAVSV	"+"
148	YLHNQGIGV	"+++"
149	ILGTEDLIVEV	"++"
156	LLLPPPPCPA	"++"

**ПРИМЕР 4:**

**Синтез пептидов**

Все пептиды были синтезированы стандартным и общепринятым методом твердофазного синтеза пептидов с использованием Fmoc-методики. Идентичность и чистоту каждого отдельного пептида определяли с помощью масс-спектрометрии и аналитической ОФ ВЭЖХ. Были получены пептиды в виде белого или грязно-белого лиофилизата (соль трифторацетата) со степенью чистоты >50%. Все пептиды TUMAP предпочтительно вводят в виде солей трифторацетатов или ацетатов, возможны также другие солевые формы.

**ПРИМЕР 5:**

**Анализ связывания МНС**

Пептиды-кандидаты для Т-клеточной терапии в соответствии с настоящим изобретением далее были испытаны на их способность связываться с МНС (аффинность). Отдельные комплексы пептида и молекулы МНС были получены с помощью реакции обмена лигандами под воздействием УФ-излучения, при которой УФ-чувствительный пептид расщепляется под воздействием УФ-излучения, и получается продукт обмена с исследуемым пептидом. Только пептиды-кандидаты, которые могут эффективно связываться и стабилизировать восприимчивые к пептиду молекулы МНС, предотвращают диссоциацию комплексов с МНС. Для определения выхода продукта реакции обмена проводили анализ методом ELISA на основе обнаружения легкой цепи ( $\beta 2m$ ) стабилизированных комплексов с МНС. Этот анализ производили, в основном, как описано у Rodenko и соавт. (Rodenko et al., 2006).

В 96-луночные планшеты MAXISorp (NUNC) на ночь вносили 2 мкг/мл стрептавидина в PBS при комнатной температуре, промывали 4 раза и блокировали в течение 1 часа при 37°C в 2% БСА, содержащем блокирующий буфер. Полученные в результате рефолдинга мономеры HLA-A\*02:01/MLA-001 служили в качестве стандарта, покрывающего диапазон 15-500 нг/мл. Мономерные комплексы пептид-МНС после реакции обмена под воздействием УФ-излучения 100-кратно разводили в блокирующем буфере. Образцы инкубировали в течение 1 ч при 37°C, промывали четыре раза, инкубировали в течение 1 ч при 37°C с 2 мкг/мл пероксидазы хрена, конъюгированной с антителом к  $\beta 2m$ , снова промывали и проводили обнаружение с помощью раствора ТМБ; реакцию останавливали  $NH_2SO_4$ . Величину поглощения измеряли при длине волны 450 нм. Пептиды-кандидаты, которые демонстрировали высокий выход реакции обмена (предпочтительно более 50%, наиболее предпочтительно, более 75 %) обычно являются предпочтительными для генерирования и получения антител или их фрагментов и/или Т-клеточных рецепторов или их фрагментов, поскольку они проявляют достаточную avidность по отношению к молекулам МНС и предотвращают диссоциацию комплексов МНС.

Показатели связывания с молекулами МНС I класса. Связывание рестриктированных по молекулам HLA I класса пептидов с HLA-A\*02:01 распределено по выходу пептидного обмена:  $\geq 10\%$  = +;  $\geq 20\%$  = ++;  $\geq 50$  = +++;  $\geq 75\%$  = ++++

SEQ ID No	Последовательность	Пептидный обмен
1	FVDTRTLL	"++"
2	FGYDGDIFYRA	"+++"
3	ILIGETIKI	"+++"
4	ALDPAAQAFLL	"+++"
5	ALLTGIISKA	"+++"
6	ALTGIPLPLI	"+++"
7	ALVDIVRSL	"+++"
8	ALYTGSAIDFV	"+++"
9	QIIDAINKV	"++"
10	VLLDKIKNL	"++"
11	ALYYNPHLL	"++"
12	AQYKFVYQV	"+++"
13	FIDSSNPGL	"++"
14	FIIDNPQDLKV	"+++"
15	FILANEHNV	"+++"
16	GLIDYDTGI	"+++"

SEQ ID No	Последовательность	Пептидный обмен
17	GLIDYDTGIRL	"+++"
18	ALFVRLAL	"++"
19	ALWHDAENQTVV	"+++"
20	GLIDIENPNRV	"+++"
21	GLVDGRDLVIV	"+++"
22	ILSTEIFGV	"+++"
23	KLDSSGGAVQL	"++"
24	KLSENAGIQSL	"++"
25	LINPNIATV	"++"
26	SLYTALTEA	"+++"
27	TLLAHPVTL	"+++"
28	VLDEFYSSL	"+++"
29	YILPFSEVL	"++++"
30	YIYKDTIQV	"++"
31	YLDSMYIML	"+++"
32	YVDDGLISL	"++"
34	FLEDDDIAAV	"++"
35	FLFPSQYVDV	"+++"
36	FLGDLSHLL	"++"
37	FLNPDEVHAI	"++"
38	FLTEAALGDA	"+++"
39	FLTPSIFII	"++"
40	GLAPQIHDL	"++"
41	GLLAGNEKLTM	"++"
42	ILSDMRSQYEV	"+++"
43	HLGVKVFVS	"++"
44	ILAQVGFSV	"+++"
45	ILYSDDGQKWTV	"+++"
46	TMVEHNYVV	"+++"
47	LIYKDLVSV	"+++"
48	LLDENGVLKL	"+++"
49	LLDGFPRTV	"++"
50	LLFGSDGYVV	"+++"
51	LLGPAGARA	"++"
52	LLSDPIPEV	"+++"
53	LLWDPSTGKQV	"+++"
54	LTQPGPIASA	"+++"
55	NLAPAPLNA	"++"
56	NLIGVTAEL	"++"
57	RLSELGITQA	"+++"
58	RQYPWGWVQV	"++"
59	SLSEFFMV	"+++"
60	SLWEDYPHV	"++++"
61	SMYDGLLQA	"++"
62	SVFPGARLL	"+"
63	SVTGIIVGV	"++++"
64	TLFSEPKFAQV	"++++"
65	TLNEKLTAL	"+++"

SEQ ID No	Последовательность	Пептидный обмен
67	VIWGTDVNV	"++++"
68	VLFDVTGQV	"+++"
69	VLFSGSLRL	"+++"
70	VLGVIWGV	"++++"
71	VLLPEGGITAI	"+++"
72	VMASPGGLSAV	"+++"
73	VMVDGKPVNL	"++++"
74	YIDKDLEYV	"+++"
77	RLFPGSSFL	"++++"
78	SLQDTEEKSR	"+++"
79	VVYEGQLISI	"+++"
80	LLPGTEYVVS	"+++"
81	VVYDDSTGLRL	"+++"
82	ALIAEGIAL	"+++"
83	ALSKEIYVI	"+++"
84	FILPIGATV	"++++"
85	FLSDGTIISV	"++++"
86	GLGDFIFYSV	"++++"
87	GLLPALVAL	"+++"
88	IIDDTIFNL	"+++"
89	KLADIQIEQL	"+++"
90	KLLTPITTL	"+++"
91	LLFNDVQTL	"+++"
92	YLTNEGIAHL	"++++"
93	SIDSEPALV	"+++"
94	VMMEEFVQL	"+++"
95	ALADDDFLT	"+++"
96	ALAPATGGGSLLL	"+++"
97	ALDDMISTL	"+++"
98	ALDQKVRVSV	"++"
99	ALESFLKQV	"+++"
100	ALFGAGPASI	"+++"
101	ALVEENGIFEL	"+++"
102	ALYPGTDYTV	"+++"
103	AVAAVLTQV	"+++"
104	FLQPDLDSL	"+++"
105	FLSEVFHQA	"+++"
106	FWWSGTAEA	"+++"
107	FVYGGPQVQL	"+++"
109	ILASVILNV	"++++"
110	ILLTGTPAL	"+++"
111	LLLAAARLAAA	"+++"
112	LLSDVRFVL	"+++"
113	LMMSEDRISL	"+++"
114	SLFPHNPQFI	"+++"
115	SLMDPNKFLLL	"+++"
116	SMMDPNHFL	"++++"
117	SVDGVIKEV	"+++"

SEQ ID No	Последовательность	Пептидный обмен
118	TLWYRPPPEL	"+++"
119	VLGDDPQLMKV	"+++"
121	YLDEDTIYHL	"++"
122	MQAPRAALVFA	"++++"
123	KISTITPQI	"++"
124	ALFEESGLIRI	"+++"
125	ALLGKLDAINV	"+++"
126	ALLSLDPAAV	"++++"
127	ALSDLALHFL	"++++"
128	ALYDVRTILL	"+++"
129	ALYEKDNTYL	"+++"
130	FLFGEEPSKL	"+++"
131	FLIEEQKIV	"+++"
132	FLWAGGRASYGV	"+++"
133	ILDDVSLTHL	"++"
134	ILLAEGRLVNL	"+++"
135	KLDDTYIKA	"+++"
136	KLFPGFETV	"++++"
137	KLGPEGELL	"+++"
138	NIFPNPEATFV	"+++"
139	SIDRNPPQL	"+++"
140	SLLNPPETLNL	"+++"
141	SLTEQVHSL	"+++"
142	SLYGYLRGA	"+++"
144	TAVALLRLL	"++"
145	TTFPRPVTV	"+++"
146	VLISGVWHEI	"+++"
147	YAFPKAVSV	"++"
148	YLHNQGIGV	"++"
149	ILGTEDLIVEV	"+++"
150	ALFQPHLINV	"++++"
151	ALLDIIRSL	"++++"
152	ALLEPEFILKA	"++++"
153	ALPKEDPTAV	"+++"
154	KVADLVML	"+++"
155	LLDPDTAVLKL	"+++"
156	LLLPPPPCPA	"+++"
157	MLLEIPYMAA	"+++"
158	SLIEKYFSV	"++++"
159	SLLDLHTKV	"+++"
160	VLLPDERTISL	"++++"
161	YLPDIIKDQKA	"+++"

Список цитируемой литературы

Abele, R. et al., *Essays Biochem.* **50** (2011): 249-264

Abramovich, C. et al., *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **1044** (2005): 109-116

- Acuna Sanhueza, G. A. et al., *BMC.Cancer* **12** (2012): 72
- Adams, G. N. et al., *Cancer Res* **75** (2015): 4235-4243
- Agarwal, R., *Biochem.Pharmacol.* **60** (2000): 1051-1059
- Ahn, J. W. et al., *Genome Med.* **6** (2014): 18
- Aili, A. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e79937
- Aisa, Y. et al., *Int.J Hematol.* **82** (2005): 266-269
- Akaogi, K. et al., *BMC.Cancer* **13** (2013): 65
- Akiyama, Y. et al., *Oncol.Rep.* **31** (2014): 1683-1690
- Alagaratnam, S. et al., *Mol.Cell Endocrinol.* **306** (2009): 75-80
- Alan, J. K. et al., *Small GTPases.* **4** (2013): 159-163
- Ali-Rahmani, F. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e88724
- Allam, H. et al., *J Proteome.Res* **14** (2015): 434-446
- Allison, J. P. et al., *Science* **270** (1995): 932-933
- Alshareeda, A. T. et al., *Br.J Cancer* **112** (2015): 1929-1937
- Ambrosini, G. et al., *Mol.Cancer Ther.* **13** (2014): 2073-2080
- Amirkhosravi, A. et al., *Semin.Thromb.Hemost.* **33** (2007): 643-652
- Andersen, R. S. et al., *Nat.Protoc.* **7** (2012): 891-902
- Andersen, V. et al., *Aliment.Pharmacol.Ther.* **37** (2013): 383-391
- Ando, K. et al., *Gastric.Cancer* **17** (2014): 255-262
- Ansari, D. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* **141** (2015): 369-380
- Ansari, D. et al., *J Transl.Med.* **12** (2014): 87
- Aoki, T. et al., *Science* **212** (1981): 463-465
- Appay, V. et al., *Eur.J Immunol.* **36** (2006): 1805-1814
- Arai, M. et al., *Chembiochem.* **17** (2016): 181-189
- Argiropoulos, B. et al., *Oncogene* **26** (2007): 6766-6776
- Asad, M. et al., *Cell Death.Dis.* **5** (2014): e1346
- Asano, E. et al., *Cell Cycle* **13** (2014): 2744-2751
- Atcheson, E. et al., *Biosci.Rep.* **31** (2011): 371-379

- Atkins, R. J. et al., *J Clin Neurosci*. **20** (2013): 1185-1192
- Avery-Kiejda, K. A. et al., *BMC.Cancer* **14** (2014): 253
- Avruch, J. et al., *Curr.Opin.Clin Nutr.Metab Care* **8** (2005): 67-72
- Aydar, E. et al., *Cancer Lett.* **242** (2006): 245-257
- Aydar, E. et al., *Cancer Res* **64** (2004): 5029-5035
- Aylon, Y. et al., *Mol.Oncol* **5** (2011): 315-323
- Aziz, F. et al., *Curr.Drug Targets.* **15** (2014): 469-476
- Baek, G. et al., *Cell Rep.* **9** (2014): 2233-2249
- Balasubramanian, S. et al., *Genome Biol* **10** (2009): R2
- Baldwin, R. M. et al., *World J Biol Chem* **5** (2014): 115-129
- Ball, A. R., Jr. et al., *Mol.Cell Biol* **22** (2002): 5769-5781
- Balmer, N. N. et al., *Mod.Pathol.* **19** (2006): 1593-1605
- Ban, Y. et al., *J Thyroid Res* **2012** (2012): 815079
- Banchereau, J. et al., *Cell* **106** (2001): 271-274
- Banziger, C. et al., *Cell* **125** (2006): 509-522
- Baptista, J. A. et al., *Clin Chem* **40** (1994): 426-430
- Barboro, P. et al., *Cell Oncol* **30** (2008): 13-26
- Barrow-McGee, R. et al., *Int.J Biochem.Cell Biol* **49** (2014): 69-74
- Basu, S. et al., *PLoS.One.* **10** (2015a): e0138443
- Basu, S. et al., *PLoS.One.* **10** (2015b): e0123979
- Bausch, D. et al., *Clin Cancer Res* **17** (2011): 302-309
- Beatty, G. et al., *J Immunol* **166** (2001): 2276-2282
- Beck-Cormier, S. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e98507
- Beggs, J. D., *Nature* **275** (1978): 104-109
- Bell, J. L. et al., *Cell Mol Life Sci.* **70** (2013): 2657-2675
- Belle, L. et al., *Sci.Signal.* **8** (2015): ra18
- Bem, W. T. et al., *Cancer Res* **51** (1991): 6558-6562

- Benjamini, Y. et al., *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, **Vol.57** (1995): 289-300
- Bhat, M. et al., *BMC.Gastroenterol.* **15** (2015): 176
- Bhatnagar, R. et al., *Oral Oncol* **48** (2012): 831-835
- Bhutia, Y. D. et al., *Cancer Res* **75** (2015): 1782-1788
- Bidkhorji, G. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e67552
- Blanco, I. et al., *PLoS.One.* **10** (2015): e0120020
- Blanco, M. A. et al., *Cell Res* **22** (2012): 1339-1355
- Boige, V. et al., *JAMA Oncol* (2016)
- Booth, L. et al., *J Cell Physiol* **230** (2015): 1661-1676
- Bouameur, J. E. et al., *J Invest Dermatol.* **134** (2014): 885-894
- Boulter, J. M. et al., *Protein Eng* **16** (2003): 707-711
- Braumuller, H. et al., *Nature* (2013)
- Breuninger, S. et al., *Am.J Pathol.* **176** (2010): 2509-2519
- Brocke, K. S. et al., *Cancer Biol Ther.* **9** (2010): 455-468
- Brossart, P. et al., *Blood* **90** (1997): 1594-1599
- Bruckdorfer, T. et al., *Curr.Pharm.Biotechnol.* **5** (2004): 29-43
- Burkhart, R. A. et al., *Mol.Cancer Res* **11** (2013): 901-911
- Burns, K. E. et al., *Biochem.J* **472** (2015): 287-295
- Busch, T. et al., *J Cell Sci.* **125** (2012): 2148-2159
- Cacciola, N. A. et al., *Mol.Carcinog* (2015)
- Cai, X. et al., *Lung Cancer* **65** (2009): 299-305
- Cai, Y. et al., *Oncogene* **33** (2014): 2157-2168
- Caldarelli, A. et al., *Leukemia* **27** (2013): 2301-2310
- Camos, M. et al., *Cancer Res* **66** (2006): 6947-6954
- Campione, E. et al., *Drug Des Devel.Ther.* **9** (2015): 5843-5850
- Cance, W. G. et al., *Breast Cancer Res Treat.* **35** (1995): 105-114
- Capurso, G. et al., *J Mol.Endocrinol.* **49** (2012): R37-R50

- Card, K. F. et al., *Cancer Immunol Immunother.* **53** (2004): 345-357
- Carvalho, B. et al., *Gut* **58** (2009): 79-89
- Cascon, A. et al., *Hum.Mutat.* **28** (2007): 613-621
- Cavalcante, G. C. et al., *Anticancer Res* **35** (2015): 6971-6977
- Cerveira, N. et al., *Biol Chem* **392** (2011): 713-724
- Chandramouli, A. et al., *Carcinogenesis* **28** (2007): 2028-2035
- Chaneton, B. et al., *Trends Biochem.Sci.* **37** (2012): 309-316
- Chanock, S. J. et al., *Hum.Immunol.* **65** (2004): 1211-1223
- Chatterjee, M. et al., *Haematologica* **98** (2013): 1132-1141
- Chaudhary, N. et al., *Mol.Cell Biol* **34** (2014): 3754-3764
- Chaudhuri, S. et al., *RNA.* **13** (2007): 2224-2237
- Chen, C. et al., *PLoS.One.* **10** (2015a): e0135074
- Chen, E. et al., *Oncogene* **25** (2006): 5752-5763
- Chen, F. et al., *Oncol Lett.* **10** (2015): 1704-1708
- Chen, J. et al., *Int.J Oncol* **44** (2014a): 247-255
- Chen, J. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol.* **8** (2015b): 2026-2032
- Chen, L. et al., *Int.J Mol.Sci.* **15** (2014b): 11435-11445
- Chen, P. C. et al., *Int.J Radiat.Oncol Biol Phys.* **82** (2012): 1996-2003
- Chen, Q. et al., *Zhongguo Shi Yan.Xue.Ye.Xue.Za Zhi.* **19** (2011a): 1171-1175
- Chen, R. et al., *J Int.Med.Res* **39** (2011b): 533-540
- Chen, S. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* **136** (2010): 419-426
- Chen, S. T. et al., *Cancer Sci.* **102** (2011c): 2191-2198
- Chen, Y. et al., *J Cell Biochem.* **100** (2007): 1337-1345
- Chen, Y. L. et al., *Int J Surg.* **11** (2013): 85-91
- Chen, Z. T. et al., *Int.J Mol.Sci.* **16** (2015c): 15497-15530
- Chiou, S. S. et al., *Carcinogenesis* **35** (2014): 2357-2364
- Chohan, T. A. et al., *Curr.Med.Chem* **22** (2015): 237-263
- Choi, S. Y. et al., *Clin Exp.Med.* **11** (2011): 219-226

- Chu, X. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol.* **8** (2015): 328-336
- Chudnovsky, Y. et al., *Cell Rep.* **6** (2014): 313-324
- Ciccia, A. et al., *Mol.Cell* **47** (2012): 396-409
- Coe, H. et al., *Int.J Biochem.Cell Biol* **42** (2010): 796-799
- 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
- Colak, D. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e63204
- Coligan, J. E. et al., *Current Protocols in Protein Science* (1995)
- Collins, K. L. et al., *EMBO J* **12** (1993): 4555-4566
- Colombetti, S. et al., *J Immunol.* **176** (2006): 2730-2738
- Coppola, D. et al., *J Geriatr.Oncol* **5** (2014): 389-399
- Crottes, D. et al., *Cancer Res* **76** (2016): 607-618
- Cui, H. et al., *Cancer Res* **67** (2007): 3345-3355
- Dadkhah, E. et al., *Arch.Iran Med.* **16** (2013): 463-470
- Dai, W. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e87148
- Davies, G. F. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e84611
- De, Braekeleer E. et al., *Future.Oncol* **10** (2014): 475-495
- De, Falco G. et al., *Cancer Biol Ther.* **1** (2002): 342-347
- De, P. et al., *Cancer Treat.Rev* **39** (2013): 403-412
- Deighton, R. F. et al., *Brain Pathol.* **20** (2010): 691-703
- Deisenroth, C. et al., *Oncogene* **29** (2010): 4253-4260
- DeLaBarre, B. et al., *Chem Biol* **21** (2014): 1143-1161
- Delas, A. et al., *Pathol.Res Pract.* **209** (2013): 115-119
- Demeure, K. et al., *Mol.Cell Proteomics.* **15** (2016): 481-492
- Demidyuk, I. V. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e55752
- Demirag, G. G. et al., *Med.Oncol* **29** (2012): 1518-1522

- Deng, H. et al., *Biochim.Biophys.Acta* **1852** (2015a): 520-528
- Deng, W. et al., *Cell Physiol Biochem.* **35** (2015b): 1677-1688
- Dengjel, J. et al., *Clin Cancer Res* **12** (2006): 4163-4170
- Denkberg, G. et al., *J Immunol* **171** (2003): 2197-2207
- Dennis, J. W. et al., *Cancer Metastasis Rev* **5** (1987): 185-204
- DePrimo, S. E. et al., *Genome Biol* **3** (2002): RESEARCH0032
- Derivery, E. et al., *PLoS.One.* **3** (2008): e2462
- Dhup, S. et al., *Curr.Pharm.Des* **18** (2012): 1319-1330
- Ding, Z. et al., *Mol.Cell Biol* **23** (2003): 250-258
- Dinicola, S. et al., *Life Sci.* **145** (2016): 174-183
- Diniz, M. G. et al., *Tumour.Biol* (2015)
- Diotti, R. et al., *Mol.Cancer Res* **13** (2015): 402-410
- Dong, S. et al., *Mol.Cancer* **13** (2014): 76
- Donnard, E. et al., *Oncotarget.* **5** (2014): 9199-9213
- Doppler, H. et al., *J Biol Chem* **288** (2013): 455-465
- Dormeyer, W. et al., *J Proteome.Res* **7** (2008): 2936-2951
- Draoui, N. et al., *Dis.Model.Mech.* **4** (2011): 727-732
- Du, X. et al., *Biochem.J* **471** (2015): 243-253
- Duan, F. et al., *Sci.Rep.* **5** (2015): 11961
- Duensing, S. et al., *Oncogene* **21** (2002): 6241-6248
- Dworakowska, D., *Pneumonol.Alergol.Pol.* **73** (2005): 297-300
- Ebrahimi, F. et al., *Exp.Mol.Pathol.* **96** (2014): 98-107
- Efthimiou, E. et al., *Pancreatology.* **1** (2001): 571-575
- Elakoum, R. et al., *Biochimie* **97** (2014): 210-218
- Eli, M. et al., *World J Gastroenterol.* **18** (2012): 3112-3118
- Emmanuel, C. et al., *PLoS.One.* **6** (2011): e17617
- Er, T. K. et al., *J Mol.Med.(Berl)* (2016)
- Erkan, M. et al., *Mol.Cancer* **9** (2010): 88

- Escobar, B. et al., *Cancer Res* **70** (2010): 9349-9359
- Fagin, J. A., *Mol.Endocrinol.* **16** (2002): 903-911
- Falk, K. et al., *Nature* **351** (1991): 290-296
- Fan, C. W. et al., *Scand.J Gastroenterol.* **39** (2004): 464-469
- Fan, H. X. et al., *Onco.Targets.Ther.* **8** (2015): 1619-1626
- Fan, J. et al., *Clin Cancer Res* **17** (2011): 2908-2918
- Fang, W. Y. et al., *Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai)* **37** (2005): 541-546
- Fang, X. et al., *Proteomics.* **11** (2011): 921-934
- Feldner, J. C. et al., *Exp.Cell Res* **272** (2002): 93-108
- Feng, H. et al., *J Clin Invest* **124** (2014): 3741-3756
- Fernandez-Cuesta, L. et al., *Genome Biol* **16** (2015): 7
- Ferrer-Ferrer, M. et al., *Arch.Med.Res* **44** (2013): 467-474
- Findeis-Hosey, J. J. et al., *Biotech.Histochem.* **87** (2012): 24-29
- Fischer, E. G. et al., *J Clin Invest* **104** (1999): 1213-1221
- Flachbartova, Z. et al., *Acta Virol.* **57** (2013): 3-15
- Folsom, A. R. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **16** (2007): 2455-2458
- Fong, L. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **98** (2001): 8809-8814
- Foster, J. S. et al., *Trends Endocrinol.Metab* **12** (2001): 320-327
- FrancaVilla, C. et al., *Mol.Cell* **51** (2013): 707-722
- Frau, M. et al., *J Hepatol.* **59** (2013): 830-841
- Frau, M. et al., *Hepatology* **56** (2012): 165-175
- Fredericks, W. J. et al., *DNA Cell Biol* **30** (2011): 851-864
- Fredericks, W. J. et al., *Int.J Oncol* **43** (2013): 638-652
- Frugtniet, B. et al., *Breast Cancer (Dove.Med.Press)* **7** (2015): 99-109
- Frulloni, L. et al., *N.Engl.J Med.* **361** (2009): 2135-2142
- Fuchs, B. C. et al., *Am.J Physiol Gastrointest.Liver Physiol* **286** (2004): G467-G478
- Fujieda, S. et al., *Arch.Otolaryngol.Head Neck Surg.* **120** (1994): 389-394
- Fujita, A. et al., *Genet.Mol.Res* **7** (2008): 371-378

- Fujita, T. et al., *Cancer Sci.* **100** (2009): 238-248
- Fujitomo, T. et al., *Cancer Res* **72** (2012): 4110-4118
- Fujiwara, K. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e107247
- Fukunaga, Y. et al., *Lung Cancer* **38** (2002): 31-38
- Furukawa, C. et al., *Cancer Res* **65** (2005): 7102-7110
- Gabrilovich, D. I. et al., *Nat Med.* **2** (1996): 1096-1103
- Gabrovska, P. N. et al., *Gene* **489** (2011): 63-69
- Gallo, S. et al., *Clin Sci.(Lond)* **129** (2015): 1173-1193
- Ganapathy, V. et al., *Pharmacol.Ther.* **121** (2009): 29-40
- Gao, H. J. et al., *J Cancer Res.Clin Oncol* **141** (2015): 1151-1162
- Gao, J. et al., *PLoS.One.* **9** (2014a): e101979
- Gao, S. et al., *Arch.Immunol.Ther.Exp.(Warsz.)* **62** (2014b): 131-144
- Garcia-Lorenzo, A. et al., *Int.J Mol.Sci.* **13** (2012): 14401-14420
- Garg, M. et al., *Cancer* **116** (2010a): 3785-3796
- Garg, M. et al., *Eur.J Cancer* **46** (2010b): 207-215
- Garrido, F. et al., *Semin.Cancer Biol* **2** (1991): 3-10
- Gattinoni, L. et al., *Nat Rev.Immunol* **6** (2006): 383-393
- Gautschi, O. et al., *Lung Cancer* **55** (2007): 1-14
- George, B. et al., *Cancer Lett.* **358** (2015): 191-199
- Georgitsi, M., *Best.Pract.Res Clin Endocrinol.Metab* **24** (2010): 425-437
- Gerber-Lemaire, S. et al., *Chimia (Aarau.)* **64** (2010): 634-639
- Ghilardi, C. et al., *Oncotarget.* **6** (2015): 28389-28400
- Ghosh, N. et al., *Pharmacol.Rep.* **62** (2010): 233-244
- Gillis, L. D. et al., *Oncogene* **32** (2013): 3598-3605
- Gius, D. et al., *Cancer Res* **67** (2007): 7113-7123
- 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
- Golomb, L. et al., *Mol.Cell* **45** (2012): 222-232

- Gong, Y. et al., *Adv.Anat.Pathol.* **21** (2014): 191-200
- Gonias, S. L. et al., *Front Biosci.* **6** (2001): D1403-D1411
- Gonzalez-Exposito, R. et al., *Clin Transl.Oncol* (2015)
- Goodison, S. et al., *BMC.Genomics* **4** (2003): 39
- Goss, P. E. et al., *Clin Cancer Res* **1** (1995): 935-944
- Goss, P. E. et al., *Cancer Res* **54** (1994): 1450-1457
- Goss, P. E. et al., *Clin Cancer Res* **3** (1997): 1077-1086
- Gough, S. M. et al., *Blood* **118** (2011): 6247-6257
- Grady, W. M., *Cancer Metastasis Rev* **23** (2004): 11-27
- Graves, L. M. et al., *Nature* **403** (2000): 328-332
- Green, M. R. et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* **4th** (2012)
- Greenfield, E. A., *Antibodies: A Laboratory Manual* **2nd** (2014)
- Grier, D. G. et al., *J Pathol.* **205** (2005): 154-171
- Grzmil, M. et al., *Oncogene* **29** (2010): 4080-4089
- Gudey, S. K. et al., *Sci.Signal.* **7** (2014): ra2
- Guillemette, S. et al., *Genes Dev.* **29** (2015): 489-494
- Guo, H. et al., *Tumour.Biol* **36** (2015): 5299-5304
- Guo, S. et al., *Drug Des Devel.Ther.* **7** (2013): 1259-1271
- Guo, Y. et al., *Acta Pharmacol.Sin.* **31** (2010): 1487-1494
- Han, B. et al., *Mol.Cancer* **14** (2015): 64
- Han, S. et al., *Leuk.Res* **34** (2010): 1271-1274
- Hansen-Petrik, M. B. et al., *Cancer Lett.* **175** (2002): 157-163
- Hao, J. et al., *Oncol Lett.* **9** (2015): 2525-2533
- Hao, Z. et al., *Tumour.Biol* **33** (2012): 723-730
- Harder, M. N. et al., *PLoS.One.* **10** (2015): e0120890
- Harris, R. E., *Inflammopharmacology.* **17** (2009): 55-67
- Hart, P. A. et al., *Pancreatology.* **15** (2015): 162-166
- Hassanein, M. et al., *Mol.Imaging Biol* **18** (2016): 18-23

- Hassanein, M. et al., *Int.J Cancer* **137** (2015): 1587-1597
- Havelange, V. et al., *Cancer* **117** (2011): 4696-4706
- Havens, M. A. et al., *PLoS.Genet.* **10** (2014): e1004312
- Haymerle, G. et al., *Eur.Arch.Otorhinolaryngol.* (2015)
- He, L. et al., *Toxicology* **312** (2013): 36-47
- He, Y. et al., *Transl.Res* **165** (2015): 407-416
- Hiramoto, T. et al., *Oncogene* **18** (1999): 3422-3426
- Hoang-Vu, C. et al., *Int.J Oncol* **21** (2002): 265-272
- Hoffmann, N. E. et al., *Cancer* **112** (2008): 1471-1479
- Hou, J. et al., *Mol.Oncol* **9** (2015): 1312-1323
- Hsu, Y. C. et al., *BMC.Med.* **11** (2013): 106
- Hu, J. et al., *Lung Cancer* **88** (2015): 239-245
- Hu, S. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* **140** (2014a): 883-893
- Hu, X. T. et al., *Cell Prolif.* **47** (2014): 200-210
- Hu, Z. Y. et al., *J Exp.Clin Cancer Res* **33** (2014b): 61
- Huang, G. L. et al., *World J Gastroenterol.* **16** (2010): 2046-2054
- Huang, J. M. et al., *Oncogene* **32** (2013a): 2220-2229
- Huang, Q. C. et al., *Cancer Lett.* **354** (2014): 28-32
- Huang, Y. et al., *Cell Biosci.* **3** (2013b): 16
- Hubalewska-Dydejczyk, A. et al., *Q.J Nucl.Med.Mol.Imaging* **59** (2015): 152-160
- Huber, A. R. et al., *BMC.Gastroenterol.* **15** (2015): 80
- Huegel, J. et al., *Dev.Dyn.* **242** (2013): 1021-1032
- Hwang, M. L. et al., *J Immunol.* **179** (2007): 5829-5838
- Ikenberg, K. et al., *J Pathol.* **234** (2014): 239-252
- Ilm, K. et al., *Mol.Cancer* **14** (2015): 38
- Imianitov, E. N., *Arkh.Patol.* **75** (2013): 63-72
- Ip, W. et al., *J Cutan.Med.Surg.* **15** (2011): 103-110
- Ishimi, Y. et al., *J Biochem.* **157** (2015): 561-569

- Israelsen, W. J. et al., *Semin.Cell Dev.Biol* **43** (2015): 43-51
- Jager, D. et al., *Cancer Res* **60** (2000): 3584-3591
- Jain, R. et al., *Appl.Immunohistochem.Mol Morphol.* **18** (2010): 9-15
- Jeng, Y. M. et al., *Br.J Surg.* **96** (2009): 66-73
- Jeon, Y. J. et al., *Cancer Cell* **27** (2015): 354-369
- Ji, M. et al., *Oncol Rep.* **33** (2015): 133-140
- Jia, A. Y. et al., *Br.J Cancer* **110** (2014): 2945-2954
- Jiang, L. et al., *J Cancer Res Clin Oncol* **136** (2010): 211-217
- Jiang, L. et al., *Tumour.Biol* **35** (2014a): 12645-12654
- Jiang, X. R. et al., *Cancer Lett.* **353** (2014b): 78-86
- Jiang, Y. X. et al., *J Int.Med.Res* **40** (2012): 887-898
- Jochmann, K. et al., *Matrix Biol* **34** (2014): 55-63
- Jose-Eneriz, E. S. et al., *Br.J Haematol.* **142** (2008): 571-582
- Joy, R. M. et al., *Neurotoxicology* **9** (1988): 637-643
- Ju, J. H. et al., *Clin Cancer Res* **19** (2013): 4335-4346
- Jung, G. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **84** (1987): 4611-4615
- Jung, J. H. et al., *Evid.Based.Complement Alternat.Med.* **2013** (2013): 879746
- Kaira, K. et al., *Am.J Transl.Res* **7** (2015): 356-363
- Kancharla, A. et al., *Nat Commun.* **6** (2015): 8853
- Kang, C. Y. et al., *J Gastrointest.Surg.* **18** (2014): 7-15
- Kang, G. et al., *Oncotarget.* (2015)
- Kannen, V. et al., *Pharmacol.Ther.* **139** (2013): 87-94
- Karess, R. E. et al., *Int.Rev Cell Mol.Biol* **306** (2013): 223-273
- Kari, V. et al., *Cell Cycle* **10** (2011): 3495-3504
- Kasai, H. et al., *J Histochem.Cytochem.* **51** (2003): 567-574
- Katada, K. et al., *J Proteomics.* **75** (2012): 1803-1815
- Katkoori, V. R. et al., *PLoS.One.* **7** (2012): e30020
- Katoh, M. et al., *Int.J Mol.Med.* **20** (2007): 405-409

- Ke, J. Y. et al., *J Zhejiang Univ Sci B* **15** (2014a): 1032-1038
- Ke, Z. et al., *Oncotarget*. **5** (2014b): 9410-9424
- Keller, D. M. et al., *Mol. Cell* **7** (2001): 283-292
- Khanobdee, K. et al., *Mol. Vis.* **10** (2004): 933-942
- Khapare, N. et al., *PLoS. One.* **7** (2012): e38561
- Khor, G. H. et al., *Asian Pac. J Cancer Prev.* **15** (2014): 8957-8961
- Khoronenkova, S. V. et al., *Mol. Cell* **45** (2012): 801-813
- Kibbe, A. H., *Handbook of Pharmaceutical Excipients rd* (2000)
- Kienle, D. et al., *Haematologica* **95** (2010): 102-109
- Kim, D. S. et al., *J Proteome. Res* **9** (2010a): 3710-3719
- Kim, F. J. et al., *Biochem. Biophys. Res Commun.* **426** (2012a): 177-182
- Kim, H. et al., *PLoS. One.* **8** (2013a): e63468
- Kim, H. E. et al., *PLoS. One.* **7** (2012b): e43223
- Kim, H. J. et al., *J Proteome. Res* **8** (2009): 1368-1379
- Kim, J. H. et al., *Pathol. Oncol Res* **19** (2013b): 731-737
- Kim, M. et al., *Mol Cancer Res* **6** (2008): 222-230
- Kim, M. S. et al., *Histopathology* **58** (2011a): 660-668
- Kim, Y. et al., *Oncotarget*. (2016)
- Kim, Y. et al., *J Biol Chem* **288** (2013c): 36502-36518
- Kim, Y. et al., *J Biol Chem* **285** (2010b): 25957-25968
- Kim, Y. H. et al., *Ann. Surg. Oncol* **18** (2011b): 2338-2347
- Kiniwa, Y. et al., *Cancer Res* **61** (2001): 7900-7907
- Kirkbride, K. C. et al., *Cell Adh. Migr.* **5** (2011): 187-198
- Kittang, A. O. et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **341** (2010): 149-172
- Kleist, B. et al., *J Clin Pathol.* (2015)
- Knab, L. M. et al., *World J Gastroenterol.* **20** (2014): 10729-10739
- Koga, Y. et al., *Rinsho Byori* **63** (2015): 361-368
- Koike, K., *Recent Results Cancer Res* **193** (2014): 97-111

- Koldehoff, M. et al., *Int.J Hematol.* **87** (2008): 39-47
- Kolla, V. et al., *Cancer Res* **74** (2014): 652-658
- Koo, J. S. et al., *Am.J Clin Pathol.* **143** (2015): 584-592
- Korczak, B. et al., *Int.J Cancer* **53** (1993): 634-639
- Koshikawa, K. et al., *Oncogene* **21** (2002): 2822-2828
- Krieg, A. M., *Nat Rev.Drug Discov.* **5** (2006): 471-484
- Kuang, S. Q. et al., *Leukemia* **22** (2008): 1529-1538
- Kuang, Y. et al., *Mol.Imaging Biol* **16** (2014): 459-468
- Kubo, N. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **430** (2013): 1034-1039
- Kubota, H. et al., *Cell Stress.Chaperones.* **15** (2010): 1003-1011
- Kuchma, M. H. et al., *Protein J* **31** (2012): 195-205
- Kunimoto, K. et al., *J Cell Physiol* **220** (2009): 621-631
- Kunzmann, A. T. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **22** (2013): 1490-1497
- Kuramitsu, Y. et al., *Expert.Rev Proteomics.* **2** (2005): 589-601
- Kurer, M. A., *Mol.Biol Rep.* **34** (2007): 221-224
- Kurusu, S. et al., *Cancer Sci.* **101** (2010): 2093-2104
- Kutty, R. K. et al., *J Biol Chem* **276** (2001): 2831-2840
- Kwiatkowski, D. J. et al., *Hum.Mol.Genet.* **14 Spec No. 2** (2005): R251-R258
- Kwok, H. F. et al., *Am.J Cancer Res* **5** (2015): 52-71
- Laczmanska, I. et al., *Acta Biochim.Pol.* **58** (2011): 467-470
- Lambros, M. B. et al., *Hum.Pathol.* **38** (2007): 1105-1122
- Lane, J. et al., *Int.J Mol.Med.* **12** (2003): 253-257
- Lange, A. et al., *Exp.Dermatol.* **18** (2009): 527-535
- Langnaese, K. et al., *Cytogenet.Cell Genet.* **94** (2001): 233-240
- Lara, P. C. et al., *Radiat.Oncol* **6** (2011): 148
- Lau, L. F., *Cell Mol.Life Sci.* **68** (2011): 3149-3163
- Lawrence, M. S. et al., *Nature* **505** (2014): 495-501
- Le, Tourneau C. et al., *Br.J Cancer* **99** (2008): 1197-1203

- Leal, J. F. et al., *Carcinogenesis* **29** (2008): 2089-2095
- Lebdaj, S. et al., *Urol.Oncol* **33** (2015): 69-8
- Lee, A. M. et al., *Pharmacogenet.Genomics* **26** (2016): 133-137
- Lee, C. F. et al., *World J Gastroenterol.* **14** (2008a): 6072-6077
- Lee, C. W. et al., *World J Surg.Oncol* **11** (2013): 136
- Lee, H. J. et al., *Nat Cell Biol* **9** (2007): 1303-1310
- Lee, J. I. et al., *Physiol Genomics* **33** (2008b): 218-229
- Lee, K. Y. et al., *J Med.* **35** (2004): 141-149
- Lei, Y. et al., *Oncogene* **34** (2015): 485-495
- Leng, S. et al., *Cancer Res* **75** (2015): 3108-3117
- Li, H. et al., *Biotechnol.Appl.Biochem.* (2015a)
- Li, J. et al., *J Invest Surg.* (2013)
- Li, J. et al., *Tumour.Biol* (2015b)
- Li, J. F. et al., *Zhonghua Wei Chang Wai Ke.Za Zhi.* **15** (2012): 388-391
- Li, J. P. et al., *Drug Des Devel.Ther.* **9** (2015c): 1027-1062
- Li, M. et al., *Int.J Oncol.* **24** (2004): 305-312
- Li, M. et al., *Gene* **542** (2014a): 134-140
- Li, Q. et al., *Mol.Biol Rep.* **41** (2014b): 2409-2417
- Li, S. R. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **271** (2000): 537-543
- Li, Y. et al., *J Cell Physiol* **212** (2007): 675-681
- Li, Z. et al., *Biochim.Biophys.Acta* **1846** (2014c): 285-296
- Liang, J. et al., *Med.Oncol* **31** (2014a): 899
- Liang, J. X. et al., *Oncol Rep.* **32** (2014b): 2726-2734
- Liao, W. et al., *Oncotarget.* **6** (2015): 24132-24147
- Liao, Y. J. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e77586
- Liberati, S. et al., *Cells* **3** (2014a): 112-128
- Liberati, S. et al., *Curr.Protein Pept.Sci.* **15** (2014b): 732-737
- Liddy, N. et al., *Nat Med.* **18** (2012): 980-987

- Lidfeldt, J. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0134932
- Liggins, A. P. et al., Cancer Immun. **10** (2010): 8
- Limm, K. et al., Eur.J Cancer **49** (2013): 1305-1313
- Lin, C. Y. et al., Cancer Res **74** (2014a): 5229-5243
- Lin, H. S. et al., Arch.Otolaryngol.Head Neck Surg. **130** (2004): 311-316
- Lin, J. et al., Leuk.Res **38** (2014b): 601-607
- Lin, J. et al., Oncotarget. **6** (2015): 23793-23806
- Lin, J. I. et al., Sci.Signal. **6** (2013a): e4
- Lin, L. et al., Oncol Lett. **6** (2013b): 740-744
- Lin, S. T. et al., J Proteomics. **75** (2012): 5822-5847
- Lindahl, A. K. et al., Thromb.Res **64** (1991): 155-168
- Lindberg, J. et al., Eur.Urol. **63** (2013): 702-708
- Linderoth, J. et al., Br.J Haematol. **141** (2008): 423-432
- Liu, G. et al., Cancer Genet.Cytogenet. **197** (2010a): 54-59
- Liu, H. et al., Oncol Rep. **34** (2015a): 2267-2272
- Liu, M. et al., Mol.Endocrinol. **28** (2014): 1740-1751
- Liu, M. et al., Reprod.Sci. **20** (2013a): 605-615
- Liu, M. et al., Mol.Biol Rep. **37** (2010b): 3601-3608
- Liu, Q. et al., Exp.Ther.Med. **6** (2013): 1277-1282
- Liu, R. et al., Clin Cancer Res **21** (2015b): 854-863
- Liu, T. Q. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **16** (2015c): 3061-3065
- Liu, T. W. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **106** (2009): 14581-14586
- Liu, X. et al., Oncogene **32** (2013b): 1266-1273
- Liu, Y. et al., Sci.Rep. **5** (2015d): 16954
- Liu, Z. et al., Mol.Cancer Res **3** (2005): 21-31
- Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. **162** (1985): 1745-1759
- Lo, T. F. et al., PLoS.One. **8** (2013): e75628
- Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. **690** (1993): 276-291

- Lopez-Nieva, P. et al., *Carcinogenesis* **33** (2012): 452-458
- Lorenzen, J. A. et al., *Gene Expr.Patterns.* **6** (2005): 45-56
- Lorenzi, P. L. et al., *Mol.Cancer Ther.* **7** (2008): 3123-3128
- Lorenzi, P. L. et al., *Mol.Cancer Ther.* **5** (2006): 2613-2623
- Lorenzi, P. L. et al., *Drug News Perspect.* **22** (2009): 61-64
- Lossie, A. C. et al., *BMC.Genet.* **13** (2012): 106
- Lu, C. et al., *Mol.Cell Biochem.* **312** (2008): 71-80
- Lu, D. et al., *Med.Oncol* **32** (2015): 140
- Lukas, T. J. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **78** (1981): 2791-2795
- Lund, R. R. et al., *Mol.Cell Proteomics.* **14** (2015): 2988-2999
- Lundblad, R. L., *Chemical Reagents for Protein Modification* **3rd** (2004)
- Luo, W. et al., *Trends Endocrinol.Metab* **23** (2012): 560-566
- Ma, J. et al., *Pathol.Oncol Res* **19** (2013): 821-832
- Mac, S. M. et al., *Mol.Carcinog.* **27** (2000): 84-96
- Macher-Goeppinger, S. et al., *Mod.Pathol.* **25** (2012): 308-315
- Maekawa, R. et al., *J Reprod.Dev.* **57** (2011): 604-612
- Mah, T. L. et al., *BMC.Genomics* **15 Suppl 9** (2014): S20
- Mak, G. W. et al., *Cancer Res* **71** (2011): 2949-2958
- Mak, G. W. et al., *PLoS.One.* **7** (2012): e42210
- Malta-Vacas, J. et al., *Clin Chem Lab Med.* **47** (2009): 427-431
- Malumbres, M. et al., *Curr.Opin.Genet.Dev.* **17** (2007): 60-65
- Marchetti, A. et al., *Int.J Oncol* **18** (2001): 175-179
- Marimuthu, A. et al., *Proteomics.Clin Appl.* **7** (2013): 355-366
- Marquardt, J. U. et al., *Int.J Cancer* **128** (2011): 2353-2363
- Mascarenhas, Cdo C. et al., *Leuk.Lymphoma* **55** (2014): 1861-1869
- Mason, J. M. et al., *Nucleic Acids Res.* **43** (2015): 3180-3196
- Matnuri, M. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol.* **8** (2015): 13339-13345
- Matsuno, A. et al., *Br.J Neurosurg.* **18** (2004): 343-346

- McCarthy, P. L. et al., *Br.J Cancer* **99** (2008): 639-646
- McClung, J. K. et al., *Exp.Gerontol.* **30** (1995): 99-124
- McDonald, S. L. et al., *Cancer Biol Ther.* **3** (2004): 110-120
- McGarvey, T. W. et al., *Prostate* **54** (2003): 144-155
- McGarvey, T. W. et al., *Oncogene* **20** (2001): 1042-1051
- McGarvey, T. W. et al., *J Cell Biochem.* **95** (2005): 419-428
- Medcalf, R. L. et al., *FEBS J* **272** (2005): 4858-4867
- Meierjohann, S., *Eur.J Cell Biol* **93** (2014): 36-41
- Mellor, P. et al., *Mol.Cell Biol* **33** (2013): 4985-4995
- Mesri, E. A. et al., *Immunol.Res* **57** (2013): 159-165
- Meziere, C. et al., *J Immunol* **159** (1997): 3230-3237
- Midorikawa, Y. et al., *Jpn.J Cancer Res* **93** (2002): 636-643
- Mimura, K. et al., *J Immunol.* **191** (2013): 6261-6272
- Mirmalek-Sani, S. H. et al., *J Cell Mol.Med.* **13** (2009): 3541-3555
- Mishra, S. et al., *FEBS J* **277** (2010): 3937-3946
- Mishra, S. et al., *Trends Mol.Med.* **11** (2005): 192-197
- Misra, S. et al., *Curr.Drug Targets.* **15** (2014): 347-359
- Mitchell, S. M. et al., *BMC.Cancer* **14** (2014): 54
- Miyashita, K. et al., *Anticancer Agents Med.Chem* **9** (2009): 1114-1122
- Mizukoshi, E. et al., *Hepatology* **53** (2011): 1206-1216
- Morelli, M. B. et al., *Curr.Mol.Pharmacol.* **6** (2013): 137-148
- Morgan, R. A. et al., *Science* **314** (2006): 126-129
- Mori, M. et al., *Transplantation* **64** (1997): 1017-1027
- Mori, S. et al., *PLoS.One.* **7** (2012): e39723
- Morin, A. et al., *FASEB J* **26** (2012): 460-467
- Mortara, L. et al., *Clin Cancer Res.* **12** (2006): 3435-3443
- Mossink, M. H. et al., *Oncogene* **22** (2003): 7458-7467
- Moussay, E. et al., *Autophagy.* **7** (2011): 760-770

- Mueller, L. N. et al., *J Proteome.Res* **7** (2008): 51-61
- Mueller, L. N. et al., *Proteomics*. **7** (2007): 3470-3480
- Muir, K. et al., *Cancer Res* **73** (2013): 4722-4731
- Mukhopadhyay, T. et al., *Anticancer Res* **16** (1996): 105-112
- Mullapudi, N. et al., *PLoS.One*. **10** (2015): e0143826
- Mumberg, D. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **96** (1999): 8633-8638
- Nabissi, M. et al., *Carcinogenesis* **31** (2010): 794-803
- Nagel, S. et al., *Genes Chromosomes.Cancer* **53** (2014): 917-933
- Nakamura, T., *Int.J Hematol*. **82** (2005): 21-27
- Nakao, K. et al., *J Gastroenterol*. **49** (2014): 589-593
- Nalesnik, M. A. et al., *Am.J Pathol*. **180** (2012): 1495-1508
- Navarro, A. et al., *Semin.Hematol*. **48** (2011): 155-165
- Nelson, L. D. et al., *Mol.Cancer* **11** (2012): 38
- Nelson, M. A. et al., *Cancer Genet.Cytogenet*. **108** (1999): 91-99
- Neri, P. et al., *Curr.Cancer Drug Targets*. **12** (2012): 776-796
- Newman, S. et al., *PLoS.One*. **8** (2013): e64991
- Ng, S. K. et al., *Clin Experiment.Ophthalmol*. **43** (2015): 367-376
- Nguyen, H. N. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun*. **357** (2007): 174-180
- Nikkuni, O. et al., *Pathol.Oncol Res* **21** (2015): 1175-1181
- Nio, K. et al., *J Hepatol*. **63** (2015): 1164-1172
- Nitta, M. et al., *Nucleic Acids Res* **28** (2000): 4212-4218
- Noorlag, R. et al., *Virchows Arch*. **466** (2015): 363-373
- Nurnberg, A. et al., *Nat Rev Cancer* **11** (2011): 177-187
- O'Shea, C. et al., *Int.J Cancer* **105** (2003): 754-761
- Oeffner, F. et al., *Am J Hum.Genet*. **84** (2009): 459-467
- Ohl, F. et al., *J Mol.Med.(Berl)* **83** (2005): 1014-1024
- Okamoto, Y. et al., *Cancer Res* **63** (2003): 4167-4173
- Olakowski, M. et al., *Folia Histochem.Cytobiol*. **47** (2009): 249-255

- Ono, W. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **434** (2013): 659-663
- Osada, S. et al., *Oncol Rep.* **30** (2013): 1669-1674
- Oskarsson, T., *Breast* **22 Suppl 2** (2013): S66-S72
- Otani, S. et al., *Br.J Ophthalmol.* **90** (2006): 773-777
- Ozawa, D. et al., *Ann.Surg.Oncol* (2014)
- Pandi, N. S. et al., *Gene* **545** (2014): 23-29
- Panosyan, E. H. et al., *Mol.Cancer Res* **12** (2014): 694-702
- Papageorgio, C. et al., *Int.J Oncol.* **31** (2007): 1205-1211
- Parihar, J. S. et al., *Rev Urol.* **16** (2014): 118-121
- Park, H. J. et al., *J Proteome.Res* **7** (2008): 1138-1150
- Park, J. H. et al., *Cancer Res* **65** (2005): 2804-2814
- Parker, L. P. et al., *Cancer Genomics Proteomics.* **6** (2009): 189-194
- Paryan, M. et al., *Mol.Biol Rep.* **40** (2013): 5531-5540
- Pavithra, L. et al., *Int.J Biochem.Cell Biol* **41** (2009): 862-871
- Pavrides, S. et al., *Cell Cycle* **9** (2010): 3485-3505
- Pawar, S. A. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **107** (2010): 9210-9215
- Peltonen, H. M. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e79249
- Pender-Cudlip, M. C. et al., *Cancer Sci.* **104** (2013): 760-764
- Perez-Escuredo, J. et al., *Cell Cycle* **15** (2016): 72-83
- Perez-Fernandez, J. et al., *Nucleic Acids Res* **39** (2011): 8105-8121
- Perez-Tomas, R., *Curr.Med.Chem* **13** (2006): 1859-1876
- Peters, D. G. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **14** (2005): 1717-1723
- Phuong, N. T. et al., *Oncotarget.* (2015)
- Pierce, J. M. et al., *Proteomics.* **9** (2009): 1738-1741
- Pinheiro, J. et al., *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models* (2015)
- Plebanski, M. et al., *Eur.J Immunol* **25** (1995): 1783-1787
- Pohler, E. et al., *Nat Genet.* **44** (2012): 1272-1276
- Pollok, S. et al., *Biochem.Soc.Trans.* **31** (2003): 266-269

- Polotskaia, A. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **112** (2015): E1220-E1229
- Ponnurangam, S. et al., Oncotarget. (2015)
- Porta, C. et al., Virology **202** (1994): 949-955
- Pradhan, M. P. et al., BMC.Syst.Biol **7** (2013): 141
- Pregizer, S. et al., J Cell Biochem. **102** (2007): 1458-1471
- Prieto-Granada, C. et al., Genes Chromosomes.Cancer **54** (2015): 28-38
- Przybylo, M. et al., Biochimie **87** (2005): 133-142
- Pucci, S. et al., Oncotarget. (2016)
- Pylypenko, O. et al., Mol Cell **11** (2003): 483-494
- Qin, Q. et al., PLoS.One. **5** (2010): e9999
- Rajalingam, K. et al., Cell Cycle **4** (2005): 1503-1505
- Rajkumar, T. et al., Indian J Biochem.Biophys. **42** (2005): 271-278
- Ramachandran, C., Curr.Pharm.Biotechnol. **8** (2007): 99-104
- Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics **50** (1999): 213-219
- Rana, S. et al., Expert.Rev Anticancer Ther. **8** (2008): 1461-1470
- Rao, C. V. et al., Carcinogenesis **30** (2009): 1469-1474
- Rappa, G. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 1840-1850
- Raso, E. et al., Magy.Onkol. **57** (2013): 79-83
- Rauch, T. A. et al., Tumour.Biol **33** (2012): 287-296
- RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>
- Ren, Y. Q. et al., Med.Sci.Monit. **21** (2015): 1297-1303
- Resende, C. et al., Helicobacter. **15 Suppl 1** (2010): 34-39
- Resende, C. et al., Helicobacter. **16 Suppl 1** (2011): 38-44
- Reubi, J. C. et al., J Nucl.Med. **49** (2008): 1735-1738
- Rini, B. I. et al., Cancer **107** (2006): 67-74
- Roberts, J. D. et al., Cancer Detect.Prev. **22** (1998): 455-462
- Rock, K. L. et al., Science **249** (1990): 918-921

- Roignot, J. et al., *Cell Adh.Migr.* **3** (2009): 167-170
- Romes, E. M. et al., *J Biol Chem* **291** (2016): 882-893
- Ronkainen, H. et al., *Oncol Rep.* **25** (2011): 129-133
- Rosado, I. V. et al., *RNA.* **10** (2004): 1073-1083
- Rose, M. et al., *Epigenetics.* **9** (2014): 1626-1640
- Rothe, M. et al., *Am.J Pathol.* **157** (2000): 1597-1604
- Rouzer, C. A. et al., *J Lipid Res* **50 Suppl** (2009): S29-S34
- Roy, D. et al., *Oncol Rep.* **23** (2010): 1383-1391
- Rozenberg, P. et al., *Int.J Cancer* **133** (2013): 514-518
- Rucki, A. A. et al., *World J Gastroenterol.* **20** (2014): 2237-2246
- Rummel, M. J. et al., *Leuk.Lymphoma* **45** (2004): 49-54
- Ryu, B. et al., *PLoS.One.* **2** (2007): e594
- Ryu, S. J. et al., *Expert.Opin.Ther.Targets.* **13** (2009): 479-484
- S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, **032-010OL**, (2013)
- Saiki, R. K. et al., *Science* **239** (1988): 487-491
- Saksena, S. et al., *Am.J Physiol Gastrointest.Liver Physiol* **298** (2010): G159-G166
- Salerno, C. et al., *Ric.Clin Lab* **20** (1990): 85-93
- Salman, B. et al., *Oncoimmunology.* **2** (2013): e26662
- Samuel, A. M. et al., *Cell Oncol (Dordr.)* **37** (2014): 95-105
- Sanchez, G. et al., *Cell Cycle* **7** (2008): 2299-2305
- Sander, B., *Semin.Diagn.Pathol.* **28** (2011): 245-255
- Sandset, P. M. et al., *Haemostasis* **21** (1991): 219-239
- Santos, F. M. et al., *Phytomedicine.* **18** (2011): 1096-1101
- Sasatomi, T. et al., *Cancer* **94** (2002): 1636-1641
- Savitskaya, T. V. et al., *Pediatr.Hematol.Oncol* **29** (2012): 28-37
- Scagliotti, G. V. et al., *Ann.Oncol* **10 Suppl 5** (1999): S83-S86
- Scanlon, C. S. et al., *J Dent.Res* **92** (2013): 114-121
- Scheffer, G. L. et al., *Curr.Opin.Oncol* **12** (2000): 550-556

- Schiffner, S. et al., *Carcinogenesis* **32** (2011): 1176-1182
- Schmid, R. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e82166
- Schramm, A. et al., *Nat Genet.* **47** (2015): 872-877
- Schrier, S. A. et al., *Curr.Opin.Ophthalmol.* **22** (2011): 325-331
- Schroder, W. A. et al., *Cancer Med.* **3** (2014): 500-513
- Schwirzke, M. et al., *Anticancer Res* **18** (1998): 1409-1421
- Seeger, F. H. et al., *Immunogenetics* **49** (1999): 571-576
- Seftor, R. E. et al., *Melanoma Res* **1** (1991): 43-54
- Sehrawat, A. et al., *Breast Cancer Res Treat.* **146** (2014): 543-555
- Sekine, I. et al., *Jpn.J Clin Oncol* **37** (2007): 329-336
- Serra, K. P. et al., *Acta Histochem.* (2016)
- Sesen, J. et al., *Int.J Mol.Sci.* **15** (2014): 2172-2190
- Sethi, M. K. et al., *J Proteomics.* **126** (2015): 54-67
- Setoodeh, R. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol.* **6** (2013): 155-167
- Shahmoradgoli, M. et al., *Int.J Cancer* **132** (2013): 2714-2719
- Shaker, M. et al., *Pathobiology* **78** (2011): 149-161
- Shakhova, O., *Curr.Opin.Oncol* **26** (2014): 215-221
- Shao, N. et al., *Mol.Biol Rep.* **39** (2012): 10997-11004
- Sharma, A. et al., *Mol.Cancer Res* **12** (2014): 1205-1215
- Sharpe, L. J. et al., *Traffic.* **12** (2011): 19-27
- Sher, Y. P. et al., *PLoS.One.* **9** (2014): e94065
- Sherman, F. et al., *Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics* (1986)
- Shi, B. et al., *BMC.Cancer* **15** (2015): 380
- Shimada, H. et al., *Br.J Haematol.* **110** (2000): 210-213
- Shimizu, S. et al., *Oncol Rep.* **18** (2007): 1489-1497
- Shimozono, N. et al., *Cancer Res* **75** (2015): 4458-4465
- Shintani, Y. et al., *Cancer Res* **64** (2004): 4190-4196
- Shishkin, S. S. et al., *Biochemistry (Mosc.)* **78** (2013): 1415-1430

- Shodeinde, A. et al., *J Mol Biochem.* **2** (2013): 18-26
- Shostak, K. et al., *Nat Commun.* **5** (2014): 5232
- Sierko, E. et al., *Semin.Thromb.Hemost.* **33** (2007): 653-659
- Silveira, S. M. et al., *Head Neck* **34** (2012): 485-492
- Simpson, N. E. et al., *Breast Cancer Res Treat.* **133** (2012): 959-968
- Singh, S. et al., *Tumour.Biol.* (2014)
- Singh, V. et al., *OMICS.* **19** (2015): 688-699
- Singh-Jasuja, H. et al., *Cancer Immunol.Immunother.* **53** (2004): 187-195
- Skawran, B. et al., *Mod.Pathol.* **21** (2008): 505-516
- Skene-Arnold, T. D. et al., *Biochem.J* **449** (2013): 649-659
- Skondra, M. et al., *Anticancer Res* **34** (2014): 6691-6699
- Skrzycki, M. et al., *J Recept.Signal.Transduct.Res* **33** (2013): 313-318
- Slape, C. et al., *Leuk.Lymphoma* **45** (2004): 1341-1350
- Small, E. J. et al., *J Clin Oncol.* **24** (2006): 3089-3094
- Smith, K. A. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **94** (1997): 1816-1821
- Smith, K. A. et al., *Cell* **63** (1990): 1219-1227
- Sollini, M. et al., *Q.J Nucl.Med.Mol.Imaging* **59** (2015): 168-183
- Solomon, D. A. et al., *Cancer Res* **68** (2008): 8657-8660
- Song, N. et al., *J Zhejiang.Univ Sci.B* **14** (2013): 451-459
- Song, Z. et al., *PLoS.One.* **10** (2015): e0128943
- Sperlazza, J. et al., *Blood* **126** (2015): 1462-1472
- Steen, H. C. et al., *J Interferon Cytokine Res* **32** (2012): 103-110
- Stefansson, O. A. et al., *Breast Cancer Res* **16** (2014): 307
- Stein, U., *Expert.Opin.Ther.Targets.* **17** (2013): 1039-1052
- Stewart, J. et al., *Mod.Pathol.* **28** (2015): 428-436
- Strekalova, E. et al., *Clin.Cancer Res.* (2015)
- Stremenova, J. et al., *Int.J Oncol* **36** (2010): 351-358
- Stubbs, A. P. et al., *Am.J Pathol.* **154** (1999): 1335-1343

- Sturm, M. et al., *BMC.Bioinformatics*. **9** (2008): 163
- Sugimoto, T. et al., *Genes Chromosomes.Cancer* **48** (2009): 132-142
- Sun, B. C. et al., *Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi*. **86** (2006): 1808-1812
- Sun, F. K. et al., *J Gastroenterol.Hepatol*. **31** (2016a): 484-492
- Sun, S. et al., *Gene* **584** (2016b): 90-96
- Sun, S. Y., *Cancer Lett*. **340** (2013): 1-8
- Sun, X. et al., *Neoplasia*. **14** (2012): 1122-1131
- Sundar, R. et al., *Cell Cycle* **14** (2015): 554-565
- Szaflarski, W. et al., *Postepy Biochem*. **57** (2011): 266-273
- Szarvas, T. et al., *Int J Cancer* **135** (2014): 1596-1604
- Szczyrba, J. et al., *Int.J Cancer* **132** (2013): 775-784
- Taintor, A. R. et al., *J Am.Acad.Dermatol*. **56** (2007): S73-S76
- Takahashi, H. et al., *Urology* **79** (2012): 240-248
- Takeda, A. et al., *Semin.Cancer Biol* **27** (2014): 3-10
- Takeji, H. et al., *Anticancer Res* **15** (1995): 1101-1105
- Tamada, M. et al., *Clin Cancer Res* **18** (2012): 5554-5561
- Tameda, M. et al., *Int.J Oncol* **45** (2014): 541-548
- Tamura, K. et al., *Cancer Res* **67** (2007): 5117-5125
- Tan, X. et al., *Tumour.Biol* **35** (2014): 12189-12200
- Tang, B. et al., *Int.J Oncol* **47** (2015): 2208-2216
- Tang, W. et al., *Genet.Epidemiol*. **37** (2013): 512-521
- Tano, K. et al., *FEBS Lett*. **584** (2010): 4575-4580
- Tao, H. C. et al., *Asian Pac.J Cancer Prev*. **14** (2013): 5645-5650
- Tavner, F. J. et al., *Mol.Cell Biol* **18** (1998): 989-1002
- Taylor, K. H. et al., *Cancer Res* **67** (2007): 2617-2625
- Tech, K. et al., *Cancer Lett*. **356** (2015): 268-272
- Teufel, R. et al., *Cell Mol Life Sci*. **62** (2005): 1755-1762
- Theiss, A. L. et al., *Biochim.Biophys.Acta* **1813** (2011): 1137-1143

- Thill, M. et al., *Eur.J Gynaecol.Oncol* **35** (2014): 341-358
- Thorsen, K. et al., *Mol Cell Proteomics*. **7** (2008): 1214-1224
- Tian, T. V. et al., *Oncogene* **33** (2014): 2204-2214
- Tietz, O. et al., *Curr.Med.Chem* **20** (2013): 4350-4369
- Timme, S. et al., *Oncogene* **33** (2014): 3256-3266
- Tiwari, R. V. et al., *Exp.Biol Med.(Maywood.)* **239** (2014): 33-44
- To, M. D. et al., *Oncogene* **25** (2006): 3557-3564
- Tomasi, M. L. et al., *Oncotarget*. **6** (2015): 37706-37723
- Tomasi, M. L. et al., *Exp.Cell Res* **319** (2013): 1902-1911
- Tran, E. et al., *Science* **344** (2014): 641-645
- Trotta, C. R. et al., *Nature* **441** (2006): 375-377
- Tsofack, S. P. et al., *Mol.Cancer* **10** (2011): 145
- Tsuchiya, M. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **407** (2011): 378-382
- Tucci, M. et al., *Curr.Top.Med.Chem* **9** (2009): 218-224
- Vaillant, A. R. et al., *Biochem.Cell Biol* **73** (1995): 695-702
- Valladares-Ayerbes, M. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **19** (2010): 1432-1440
- van den Heuvel-Eibrink MM et al., *Int.J Clin Pharmacol.Ther.* **38** (2000): 94-110
- Van Ginkel, P. R. et al., *Biochim.Biophys.Acta* **1448** (1998): 290-297
- van't Veer, M. B. et al., *Haematologica* **91** (2006): 56-63
- Vasseur, S. et al., *Mol.Cancer* **4** (2005): 4
- Vellanki, R. N. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e54060
- Verbeke, H. et al., *Biochim.Biophys.Acta* **1825** (2012): 117-129
- Vilner, B. J. et al., *Cancer Res* **55** (1995): 408-413
- Vinayak, S. et al., *Oncology (Williston.Park)* **27** (2013): 38-44, 46, 48
- Vincent, M. et al., *PLoS.One.* **5** (2010): e12941
- Vincent-Chong, V. K. et al., *PLoS.One.* **8** (2013): e54705
- Vogt, P. K. et al., *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* **347** (2010): 79-104
- Voloshanenko, O. et al., *Nat Commun.* **4** (2013): 2610

- von Eyben, F. E., *Cancer Genet.Cytogenet.* **151** (2004): 93-138
- Von Hoff, D. D. et al., *N.Engl.J Med.* **369** (2013): 1691-1703
- Vrabel, D. et al., *Klin.Onkol.* **27** (2014): 340-346
- Wagner, K. W. et al., *Oncogene* **23** (2004): 6621-6629
- Walker, E. J. et al., *World J Gastroenterol.* **20** (2014): 2224-2236
- Walter, S. et al., *J Immunol* **171** (2003): 4974-4978
- Walter, S. et al., *Nat Med.* **18** (2012): 1254-1261
- Wan, Y. Y. et al., *Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi.* **38** (2016): 28-34
- Wang, B. S. et al., *Cell Stress.Chaperones.* **18** (2013a): 359-366
- Wang, D. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun.* **458** (2015a): 313-320
- Wang, G. et al., *Tumour.Biol* **36** (2015b): 1055-1065
- Wang, H. et al., *Tumour.Biol* **34** (2013b): 1635-1639
- Wang, J. et al., *J Clin Invest* **112** (2003): 535-543
- Wang, J. L. et al., *Gene* **529** (2013c): 7-15
- Wang, L. et al., *World J Gastroenterol.* **17** (2011): 1434-1441
- Wang, L. et al., *Xi.Bao.Yu Fen.Zi.Mian.Yi.Xue.Za Zhi.* **31** (2015c): 1251-1254
- Wang, L. et al., *Cancer Cell* **25** (2014a): 21-36
- Wang, L. J. et al., *Oncotarget.* **6** (2015d): 5932-5946
- Wang, P. et al., *Med.Oncol* **32** (2015e): 264
- Wang, Q. et al., *J Pathol.* **236** (2015f): 278-289
- Wang, S. et al., *J Cell Sci.* **120** (2007): 567-577
- Wang, S. Y. et al., *Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci.* **19** (2015g): 1191-1197
- Wang, T. et al., *Neurobiol.Aging* **36** (2015h): 527-535
- Wang, X. et al., *BMC.Cancer* **14** (2014b): 196
- Wang, X. et al., *J Biol Chem* **290** (2015i): 3925-3935
- Wang, X. et al., *PLoS.One.* **8** (2013d): e72015
- Wang, Y. et al., *Cancer Lett.* **360** (2015j): 171-176
- Wang, Y. F. et al., *Phytother.Res* **29** (2015k): 674-679

- Wang, Z. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015l): 1353-1361
- Wang, Z. et al., Gastroenterol.Res Pract. **2014** (2014c): 132320
- Wang, Z. et al., Oncotarget. **4** (2013e): 2476-2486
- Wang, Z. et al., Science **304** (2004): 1164-1166
- Wang, Z. et al., J Cell Physiol **224** (2010): 559-565
- Wang, Z. et al., Med.Oncol **30** (2013f): 577
- Wang, Z. et al., Hum.Pathol. **46** (2015m): 1006-1014
- Warner, S. L. et al., Future.Med.Chem **6** (2014): 1167-1178
- Wasa, M. et al., Am.J Physiol Cell Physiol **282** (2002): C1246-C1253
- Watanabe, M. et al., Proteomics.Clin Appl. **2** (2008): 925-935
- Waters, M. G. et al., Nature **349** (1991): 248-251
- Watson, P. J. et al., Traffic. **5** (2004): 79-88
- Wehner, K. A. et al., Mol.Cell **9** (2002): 329-339
- Westin, G. et al., World J Surg. **33** (2009): 2224-2233
- Weston, R. et al., Genes Dev. **26** (2012): 1558-1572
- Wheler, J. J. et al., BMC.Cancer **15** (2015): 442
- Wiese, M. et al., Expert.Opin.Ther.Pat **24** (2014): 723-725
- Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423
- Wilson, C. H. et al., Int.J Oncol **41** (2012): 919-932
- Wojtukiewicz, M. Z. et al., Cancer Metastasis Rev **34** (2015): 775-796
- Woodburn, K. W. et al., Drug Metab Dispos. **41** (2013): 774-784
- World Cancer Report, (2014)
- Wu, H. C. et al., Nat Commun. **5** (2014): 3214
- Wu, S. et al., Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai) **45** (2013): 27-35
- Wyatt, L. et al., Cell Cycle **7** (2008): 2290-2295
- Wysocki, P. J., Expert.Rev Mol.Diagn. **9** (2009): 231-241
- Xiao, H. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **460** (2015): 703-708
- Xie, H. et al., PLoS.One. **7** (2012): e46990

- Xie, X. et al., *Oncol Lett.* **7** (2014): 1537-1543
- Xing, X. et al., *Gene* **344** (2005): 161-169
- Xu, F. P. et al., *Cancer Lett.* **245** (2007): 69-74
- Xu, L. et al., *Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao.* **26** (2006): 231-233
- Xu, Z. et al., *Biomed.Res Int.* **2015** (2015): 459170
- Xue, J. et al., *J Biol Chem* **290** (2015): 18662-18670
- Yagel, S. et al., *Clin Exp.Metastasis* **8** (1990): 305-317
- Yan, L. et al., *Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao.* **35** (2015a): 767-71, 776
- Yan, L. et al., *Am.J Cancer Res* **5** (2015b): 1447-1459
- Yang, H. et al., *Chem Biol Drug Des* **84** (2014a): 578-584
- Yang, J. et al., *Am.J Pathol.* **185** (2015): 2194-2205
- Yang, J. et al., *Cancer* **113** (2008): 1532-1543
- Yang, J. et al., *Neurosurg.Clin N.Am.* **23** (2012a): 451-458
- Yang, L. et al., *Cancer Lett.* **336** (2013): 213-221
- Yang, S. et al., *Gene* **576** (2016): 421-428
- Yang, Y. et al., *PLoS.One.* **7** (2012b): e36813
- Yang, Y. et al., *PLoS.One.* **9** (2014b): e97578
- Yao, T. W. et al., *Mol.Cancer Res* **9** (2011): 948-959
- Yao, Y. et al., *Cell Physiol Biochem.* **35** (2015): 983-996
- Yasui, W. et al., *Gastric.Cancer* **8** (2005): 86-94
- Yasui, W. et al., *Cancer Sci.* **95** (2004): 385-392
- Yi, C. H. et al., *Cancer Lett.* **284** (2009): 149-156
- Yong, Z. W. et al., *Sci.Rep.* **4** (2014): 6073
- Yoo, K. Y. et al., *Breast Cancer* **10** (2003): 289-293
- Yoon, S. Y. et al., *Int.J Oncol* **29** (2006): 315-327
- Yoshihara, N. et al., *J Dermatol.* **41** (2014): 311-315
- Younes, M. et al., *Anticancer Res* **20** (2000): 3775-3779
- Yu, B. et al., *Exp.Cell Res* **315** (2009): 3086-3098

- Yu, D. M. et al., FEBS J **277** (2010): 1126-1144
- Yu, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 3221-3229
- Yu, R. et al., Brain Pathol. **11** (2001): 328-341
- Yu, Y. P. et al., Am.J Pathol. **184** (2014): 2840-2849
- Yuan, R. H. et al., Ann Surg.Oncol **16** (2009): 1711-1719
- Yuan, W. et al., Asian J Androl **7** (2005): 277-288
- Yue, C. et al., Int.J Cancer **136** (2015): 117-126
- Yun, H. M. et al., Oncogene **33** (2014): 5193-5200
- Zajac-Kaye, M., Lung Cancer **34 Suppl 2** (2001): S43-S46
- Zanfardino, M. et al., Int.J Oncol **43** (2013): 1763-1770
- Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577
- Zekri, A. R. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **16** (2015): 3543-3549
- Zhai, L. L. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **8** (2015a): 682-691
- Zhai, L. L. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015b): 2827-2834
- Zhai, L. L. et al., Am.J Transl.Res **7** (2015c): 2412-2422
- Zhang, B. et al., Br.J Cancer **109** (2013a): 14-23
- Zhang, G. et al., FASEB J **27** (2013b): 2893-2901
- Zhang, H. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015a): 2291-2301
- Zhang, J. et al., J Cancer Res Clin Oncol **140** (2014a): 1441-1449
- Zhang, J. et al., BMC.Dev.Biol **8** (2008): 115
- Zhang, J. et al., Zhonghua Bing.Li Xue.Za Zhi. **42** (2013c): 810-814
- Zhang, L. et al., Carcinogenesis **34** (2013d): 577-586
- Zhang, P. et al., Genome **57** (2014b): 253-257
- Zhang, R. et al., Mol.Carcinog **54** (2015b): 1554-1566
- Zhang, T. et al., Acta Histochem. **115** (2013e): 48-55
- Zhang, Y. et al., J Cancer Res Clin Oncol **137** (2011): 1245-1253
- Zhao, G. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **408** (2011): 154-159
- Zhao, H. et al., Mol.Biol Cell **15** (2004): 506-519

- Zhao, Z. et al., *RNA.Biol* **12** (2015): 538-554
- Zhen, T. et al., *Oncotarget*. **5** (2014): 3756-3769
- Zheng, L. H. et al., *Climacteric*. **17** (2014): 522-528
- Zhou, J. et al., *Oncol Rep*. **30** (2013): 2229-2237
- Zhou, J. et al., *Carcinogenesis* **36** (2015a): 441-451
- Zhou, K. et al., *Med.Oncol* **31** (2014): 17
- Zhou, T. B. et al., *J Recept.Signal.Transduct.Res* **33** (2013): 28-36
- Zhou, W. et al., *Mol.Cell Biochem*. **398** (2015b): 11-19
- Zhu, J. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol*. **8** (2015a): 702-710
- Zhu, J. et al., *Oncotarget*. **6** (2015b): 16757-16765
- Zhu, Y. P. et al., *Oncotarget*. **6** (2015c): 14488-14496
- Zhuang, Y. J. et al., *Cancer Biol Ther*. **16** (2015): 88-96
- Zubel, A. et al., *Gynecol.Oncol* **114** (2009): 332-336

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пептид, который связывается с молекулой(ами) главного комплекса гистосовместимости (МНС), длиной до 30 аминокислот, включающий последовательность SEQ ID No. 37; или его фармацевтически приемлемая соль.
2. Пептид по п.1, имеющий длину до 16 аминокислот, и состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID No. 37.
3. Пептид по любому из пп. 1–2, являющийся частью слитого белка, включающего N-терминальные аминокислоты антиген-ассоциированной инвариантной цепи (Ii) HLA-DR.
4. Т-клеточный рецептор, реагирующий с HLA-лигандом, идентичным по меньшей мере на 88% аминокислотной последовательности SEQ ID No. 37.
5. Антитело, растворимое или связанное с мембраной, которое специфически распознает пептид по любому из пп. 1–3.
6. Нуклеиновая кислота, кодирующая пептид по любому из пп. 1–3, связанная с гетерологичной последовательностью промотора или вектор экспрессии, экспрессирующий указанную нуклеиновую кислоту.
7. Рекомбинантная клетка-хозяин, включающая пептид по пп. 1–3, или нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии по п. 6, где указанная клетка-хозяин является антигенпрезентирующей клеткой, дендритной клеткой, либо является Т-клеткой или НК-клеткой.
8. Способ получения пептида по любому из пп. 1–3, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 7, которая презентует пептид по п. 1–3 или экспрессирует нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии по п. 6, и выделение указанного пептида из клетки-хозяина или его культуральной среды.
9. Способ получения активированных Т-лимфоцитов *in vitro*, включающий контактирование Т-лимфоцитов *in vitro* с нагруженными антигеном молекулами МНС человека I класса, экспрессированными на поверхности подходящей

антигенпрезентирующей клетки, или искусственной конструкцией, имитирующей антигенпрезентирующую клетку, в течение периода времени, достаточного для активации указанных Т-лимфоцитов антиген-специфическим образом, где указанный антиген является пептидом по любому из пп. 1 или 2.

10. Активированный Т-лимфоцит, полученный способом по п. 9, который селективно распознает клетку, презентирующую полипептид по любому из пп. 1 или 2.

11. Фармацевтическая композиция для лечения рака, включающая по меньшей мере один активный ингредиент, выбранный из пептида по любому из пп. 1–3, Т-клеточного рецептора по п.4, антитела по п.5, нуклеиновой кислоты или вектора экспрессии по п. 6, клетки по п. 7, или активированного Т-лимфоцита по п. 10, и фармацевтически приемлемый носитель и дополнительные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества и/или стабилизаторы.

12. Применение пептида по любому из пп. 1–3, в диагностике и/или лечении рака, или в производстве лекарственного средства против рака.

13. Применение по п. 12, где указанный рак выбран из рака легких, рака почек, рака толстой или прямой кишки, лейкоза, рака мочевого пузыря, рака желчного пузыря и рака желчных протоков и других опухолей, которые демонстрируют избыточную экспрессию пептида SEQ ID No. 37.

14. Набор для лечения рака, включающий:

(а) контейнер, включающий фармацевтическую композицию, содержащую пептид по любому из пп. 1–3, Т-клеточный рецептор по п. 4, антитело по п.5, нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии по п. 6, клетку по п. 7 или активированный Т-лимфоцит по п.10, в виде раствора или в лиофилизированной форме;

(б) второй контейнер, содержащий разбавитель или восстанавливающий раствор для лиофилизированного состава.

Фигура 1А

Пептид: ILIGETIKI (A\*02), SEQ ID No. 3

Относительная презентация [условные единицы]



**236 нормальных тканей**

1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевых пузырей, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1В

Пептид: FVDTRTLL (A\*02) SEQ ID No. 1

Относительная презентация [условные единицы]



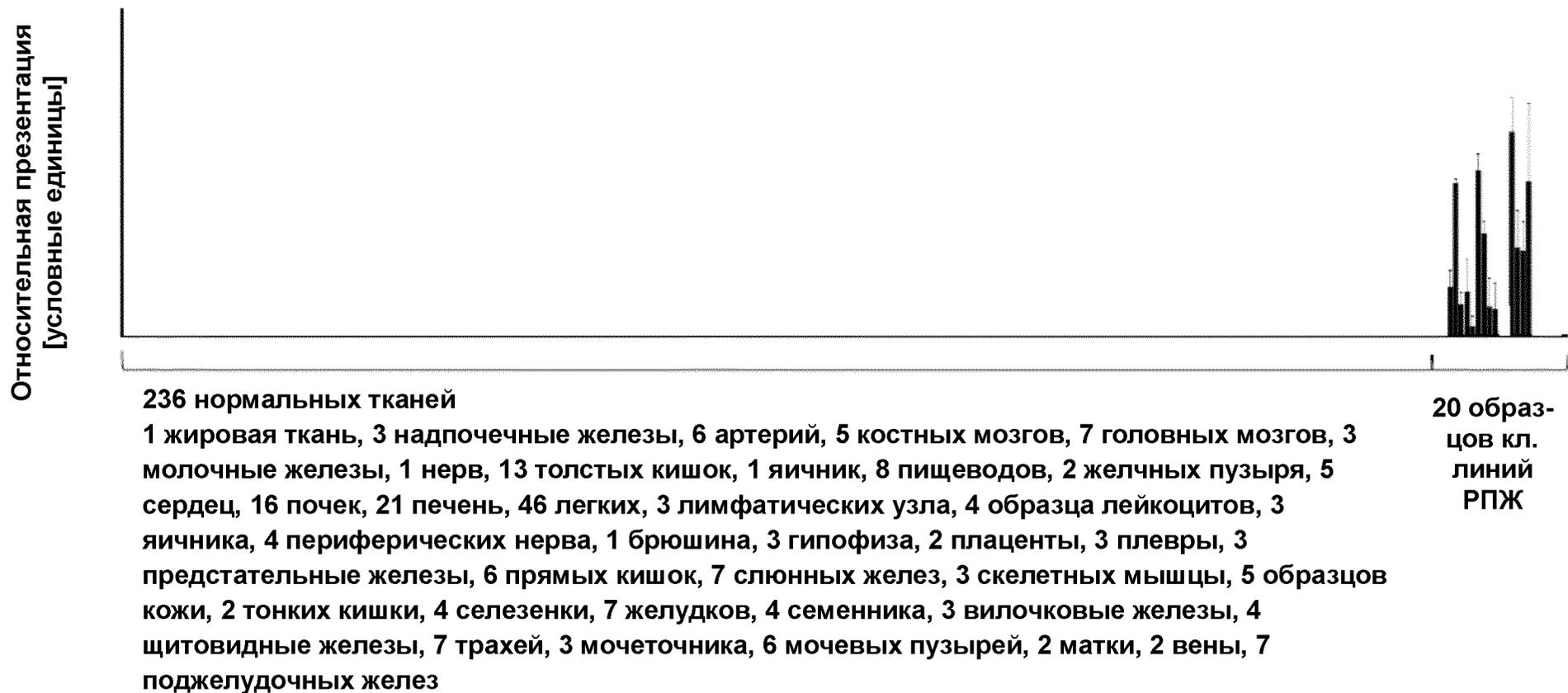
**236 нормальных тканей**

1 жировая ткань, 3 надпочечные железы, 6 артерий, 5 костных мозгов, 7 головных мозгов, 3 молочные железы, 1 нерв, 13 толстых кишок, 1 яичник, 8 пищеводов, 2 желчных пузыря, 5 сердец, 16 почек, 21 печень, 46 легких, 3 лимфатических узла, 4 образца лейкоцитов, 3 яичника, 4 периферических нерва, 1 брюшина, 3 гипофиза, 2 плаценты, 3 плевры, 3 предстательные железы, 6 прямых кишок, 7 слюнных желез, 3 скелетных мышцы, 5 образцов кожи, 2 тонких кишки, 4 селезенки, 7 желудков, 4 семенника, 3 вилочковые железы, 4 щитовидные железы, 7 трахей, 3 мочеточника, 6 мочевого пузыря, 2 матки, 2 вены, 7 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

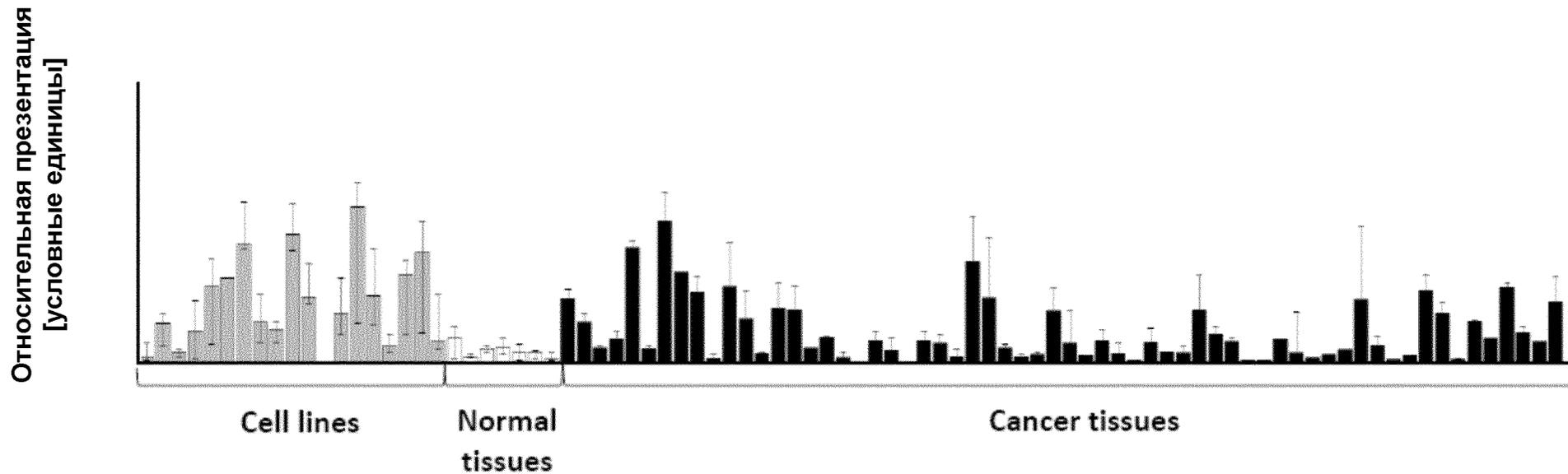
Фигура 1С

Пептид: AQYKFVVQV (A\*02) SEQ ID No. 12



Фигура 1D

Пептид: SLMDPNKFLLL (A\*02) SEQ ID No. 115



Пептид, выявленный на:

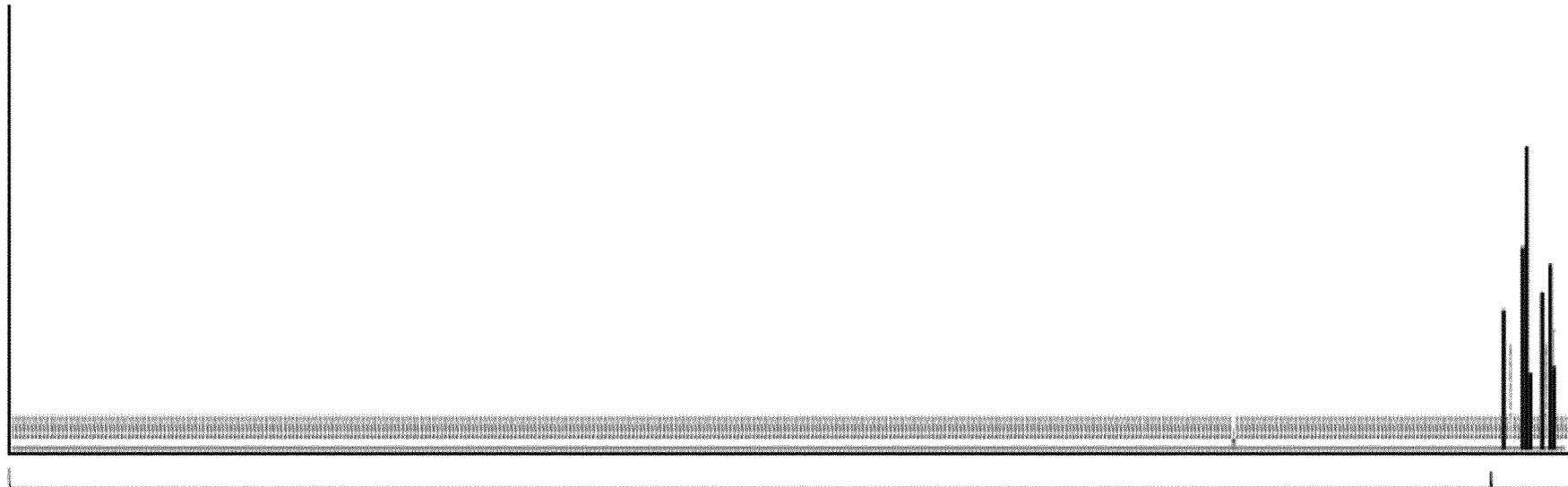
13 клеточных линий поджелудочной железы, 2 культуры МКПК, 1 культура клеток предстательной железы, 3 клеточные линии кожи, 7 нормальных тканей (1 печень, 2 легких, 2 селезенки, 1 желудок, 1 трахея), 62 раковые ткани (8 раков головного мозга, 2 рака молочной железы, 2 рака толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 5 раков почек, 3 лейкоза, 6 раков печени, 19 раков легких, 5 раков яичника, 1 рак поджелудочной железы, 3 рака предстательной железы, 3 рака прямой кишки, 1 рак кожи, 2 рака мочевого пузыря) (слева направо)

Фигура 1E

Пептид: ALLTGIISKA (A\*02)

Seq ID NO: 5

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

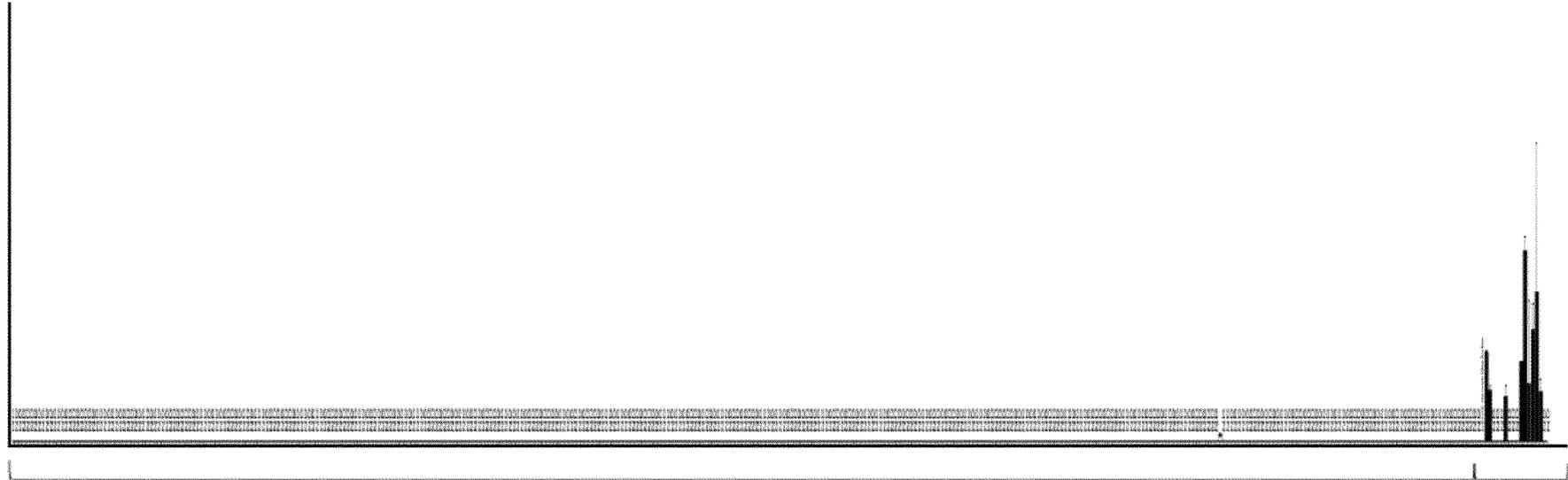
6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1F

Пептид: ALWHDAENQTVV (A\*02)  
Seq ID NO: 19

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

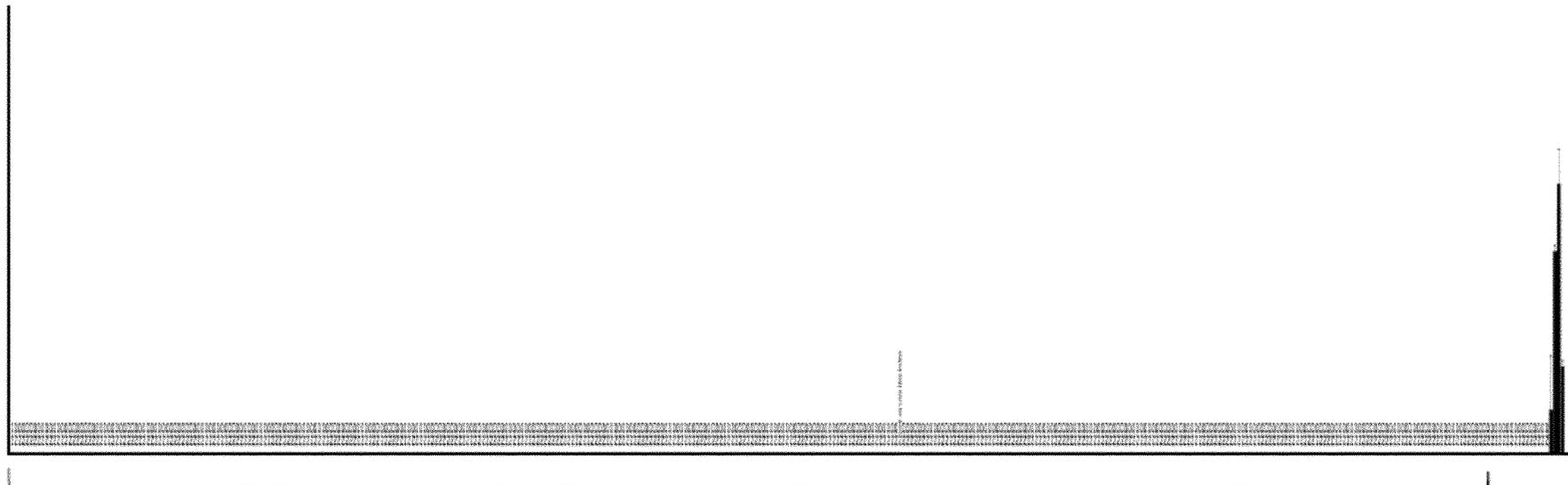
6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1G

Пептид: ILSTEIFGV (A\*02)  
Seq ID NO: 22

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

**6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез**

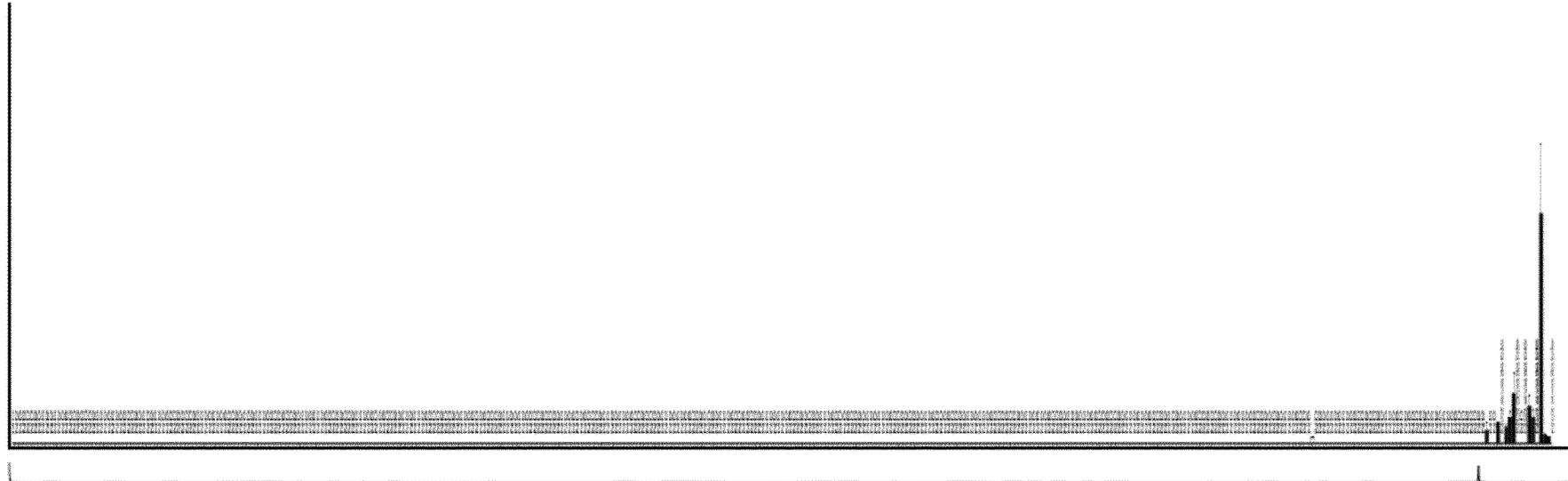
**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1H

Пептид: FLNPDEVHAI (A\*02)

Seq ID NO: 37

Относительная презентация [условные единицы]



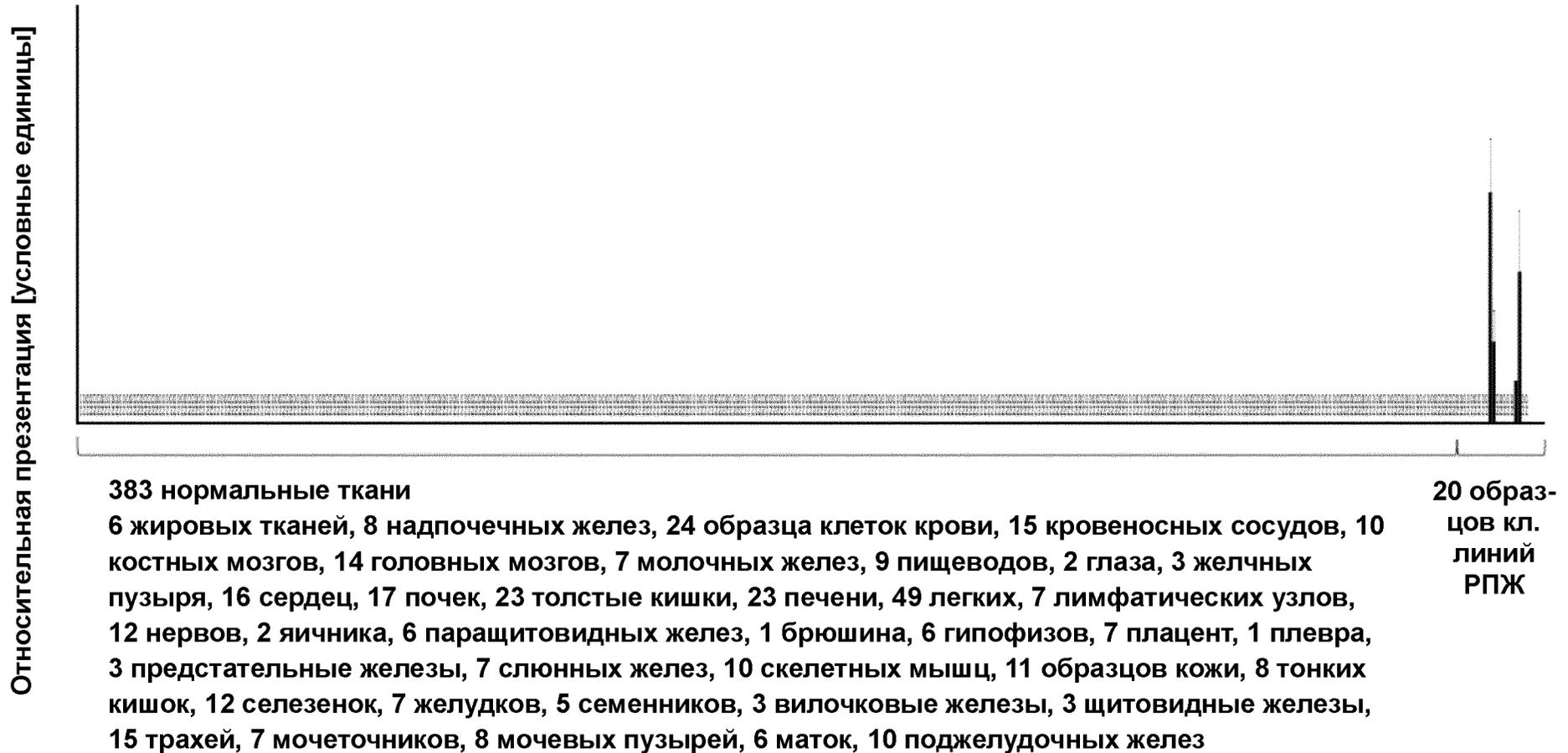
**383 нормальные ткани**

6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1I

Пептид: TMVENHYYV (A\*02)  
Seq ID NO: 46

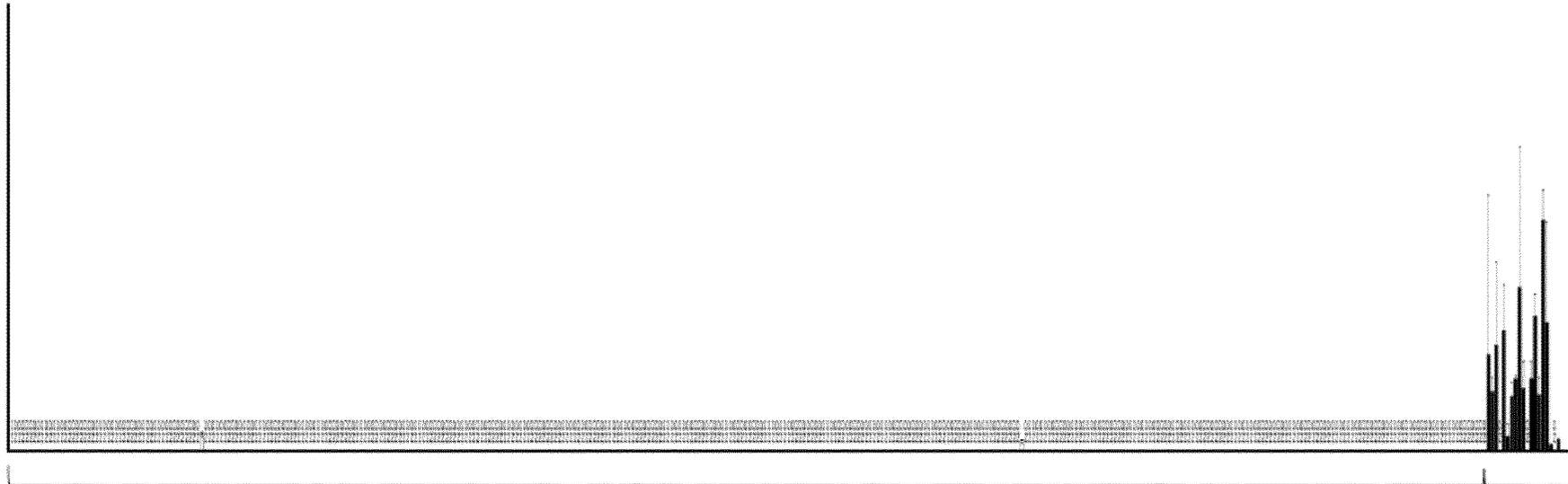


Фигура 1J

Пептид: RLSELGITQA (A\*02)

Seq ID NO : 57

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез

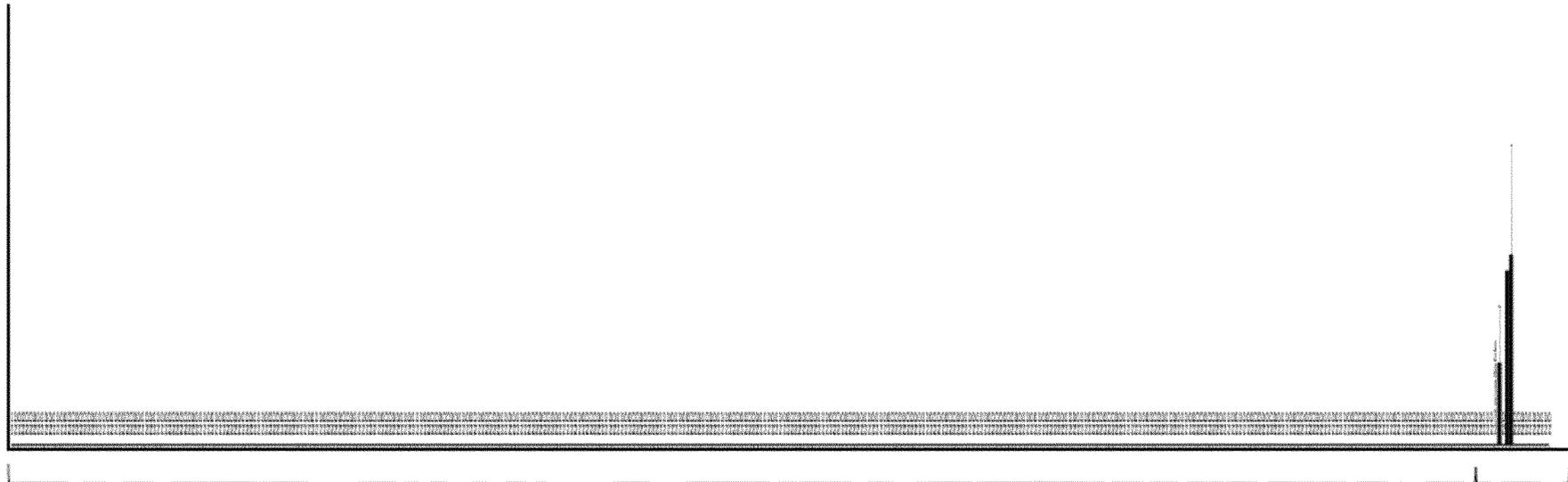
**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1K

Пептид: VLFSGSLRL (A\*02)

Seq ID NO: 69

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

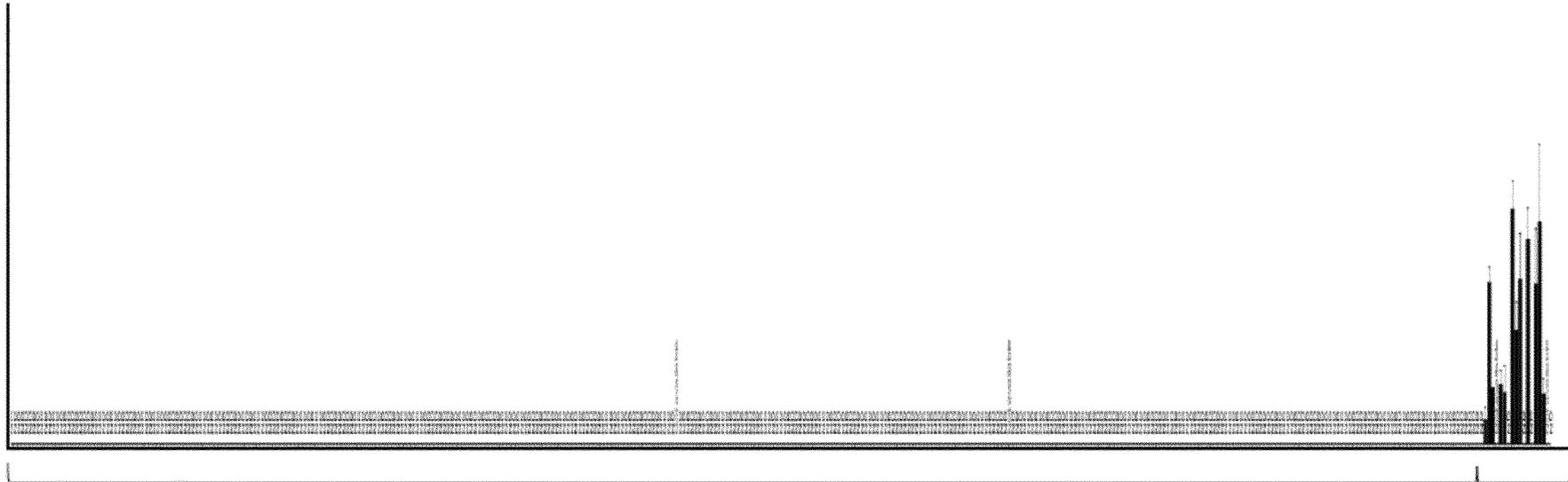
6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1L

Пептид: KISTITPQI (A\*02)  
Seq ID NO: 123

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1М

Пептид: ALYDVRTILL (A\*02)

Seq ID NO: 128

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

**6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевых пузырей, 6 маток, 10 поджелудочных желез**

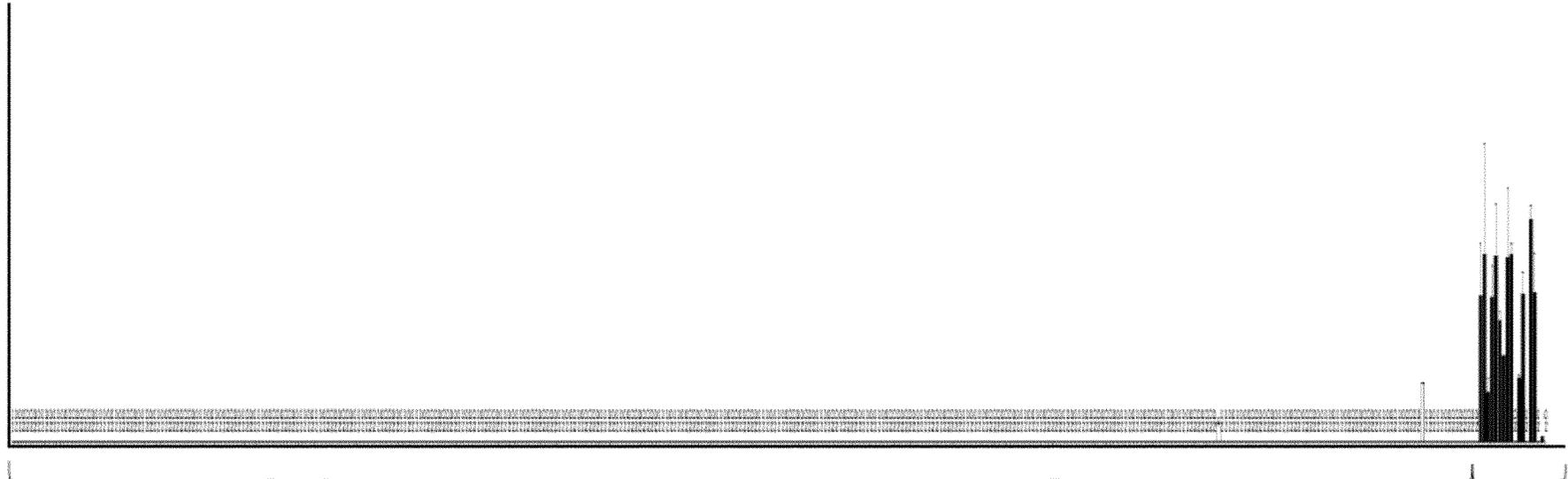
**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1N

Пептид: VLISGVVHEI (A\*02)

Seq ID NO: 146

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

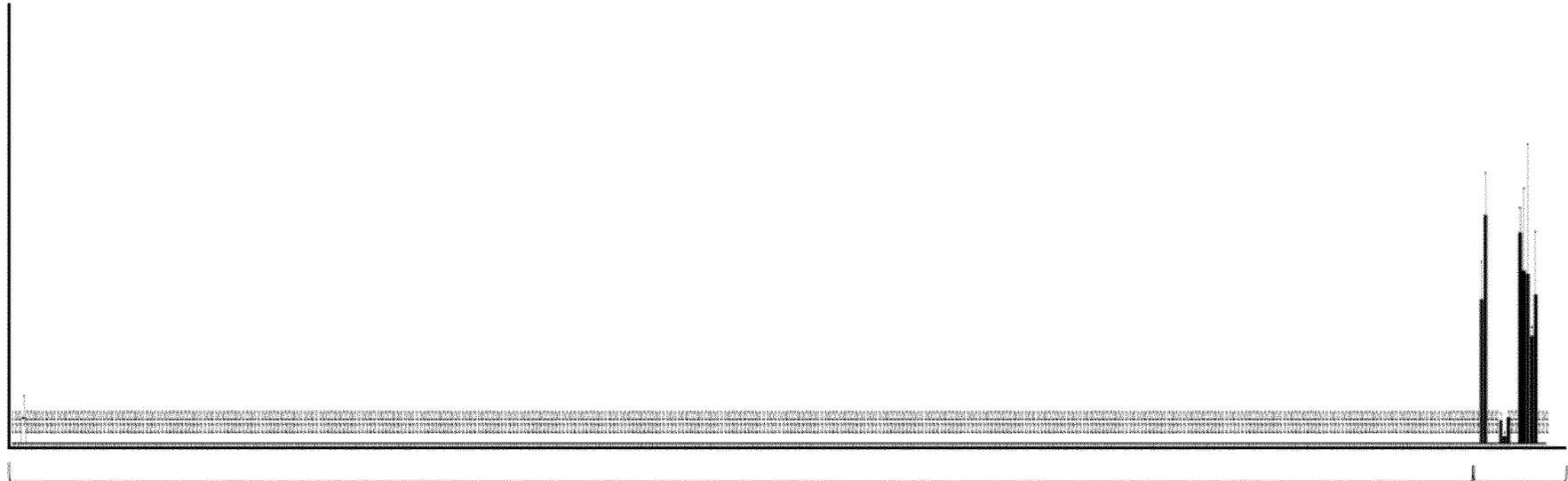
6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 паращитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 10

Пептид: KLADIQIEQL (A\*02)  
Seq ID NO: 89

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

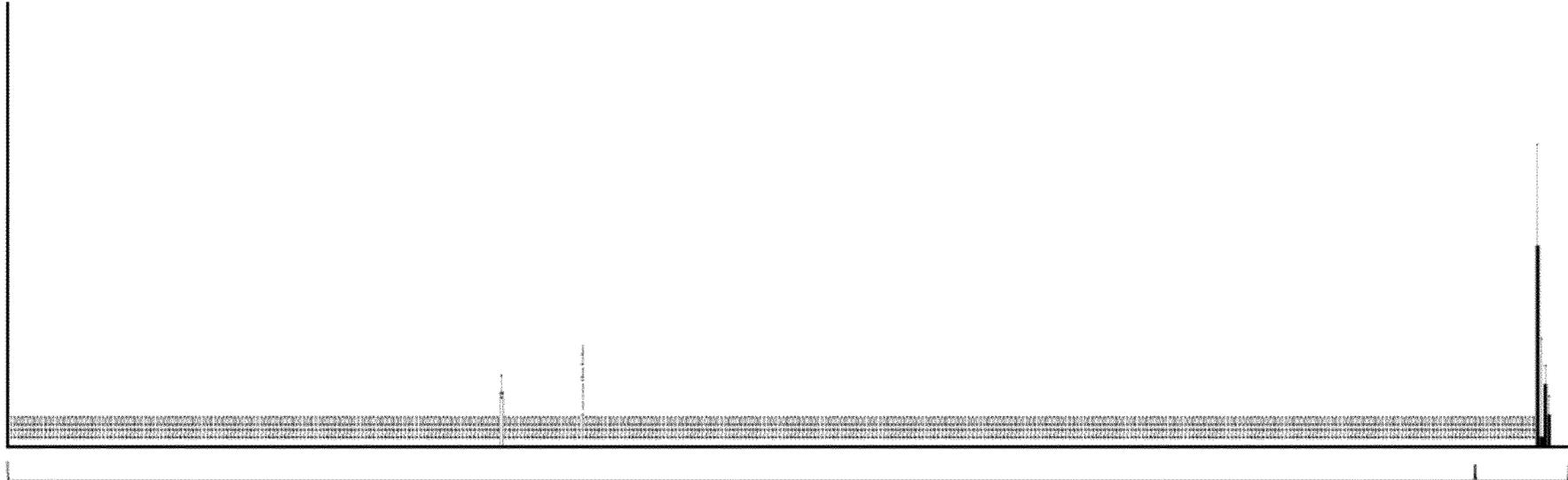
6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1Р

Пептид: ALVEENGIFEL (A\*02)  
Seq ID NO: 101

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

**6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез**

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1Q

Пептид: LMMSEDRISL (A\*02)

Seq ID NO: 113

Относительная презентация [условные единицы]



**383 нормальные ткани**

6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

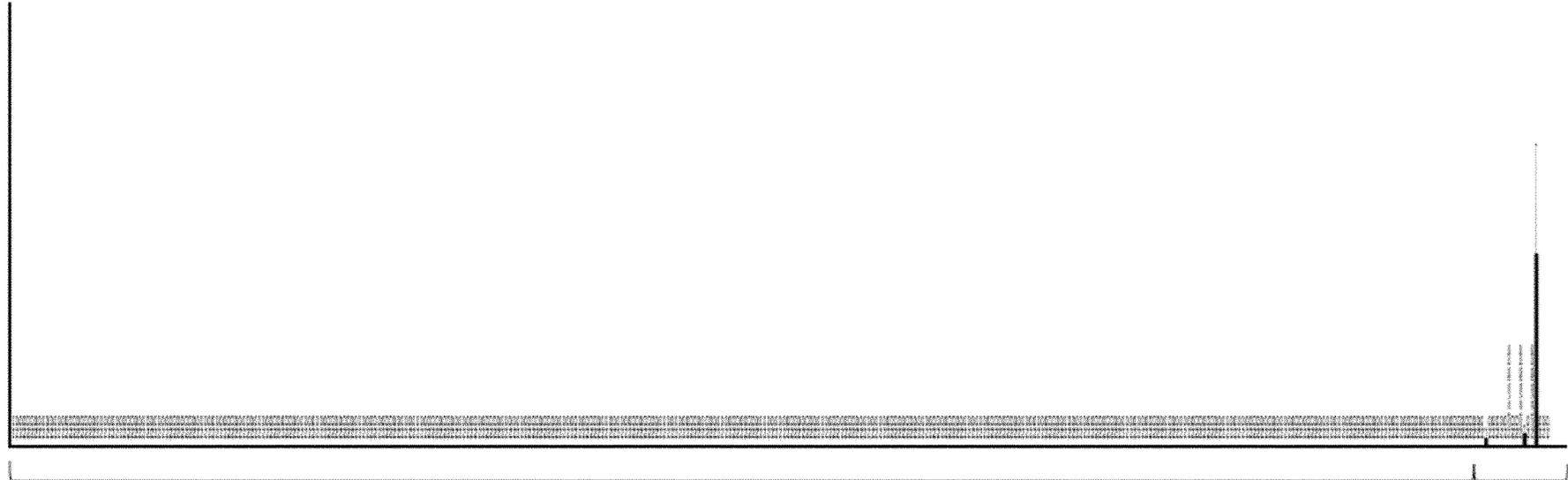
**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1R

Пептид: ALSDLALHFL (A\*02)

Seq ID NO: 127

Относительная презентация [условные единицы]



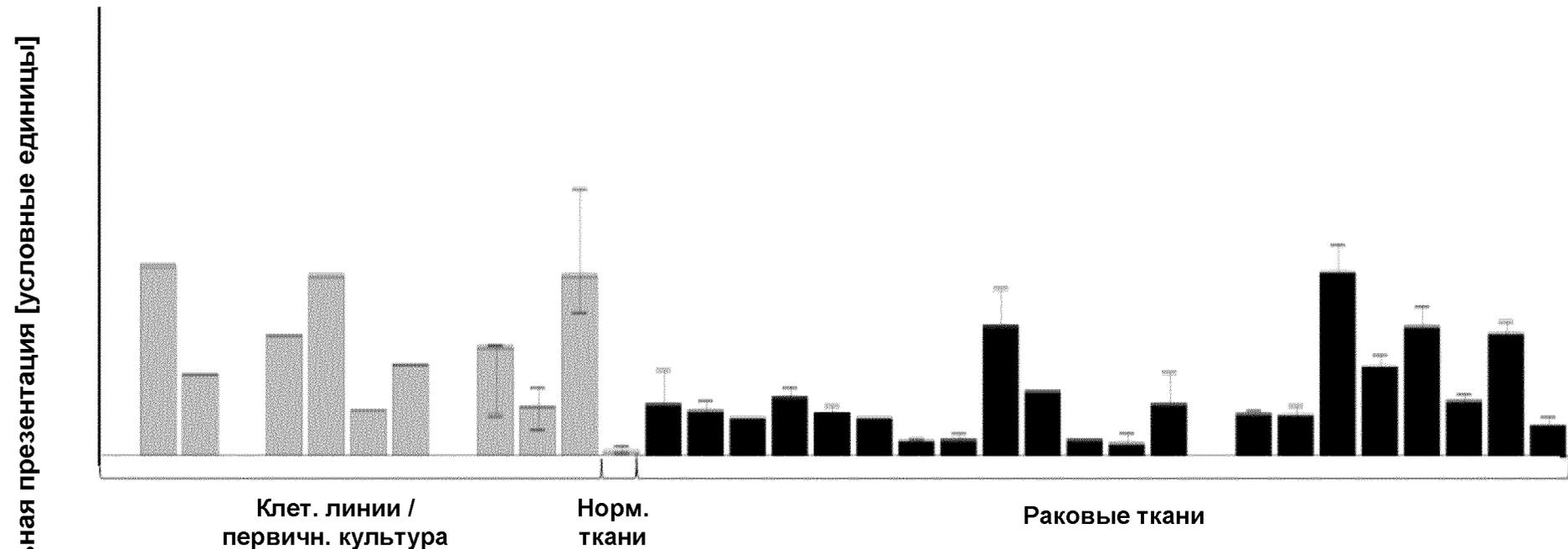
**383 нормальные ткани**

6 жировых тканей, 8 надпочечных желез, 24 образца клеток крови, 15 кровеносных сосудов, 10 костных мозгов, 14 головных мозгов, 7 молочных желез, 9 пищеводов, 2 глаза, 3 желчных пузыря, 16 сердец, 17 почек, 23 толстые кишки, 23 печени, 49 легких, 7 лимфатических узлов, 12 нервов, 2 яичника, 6 парашитовидных желез, 1 брюшина, 6 гипофизов, 7 плацент, 1 плевра, 3 предстательные железы, 7 слюнных желез, 10 скелетных мышц, 11 образцов кожи, 8 тонких кишок, 12 селезенки, 7 желудков, 5 семенников, 3 вилочковые железы, 3 щитовидные железы, 15 трахей, 7 мочеточников, 8 мочевого пузыря, 6 маток, 10 поджелудочных желез

**20 образ-  
цов кл.  
линий  
РПЖ**

Фигура 1S

Пептид: ALLTGIISKA (A\*02)  
SEQ ID NO: 5

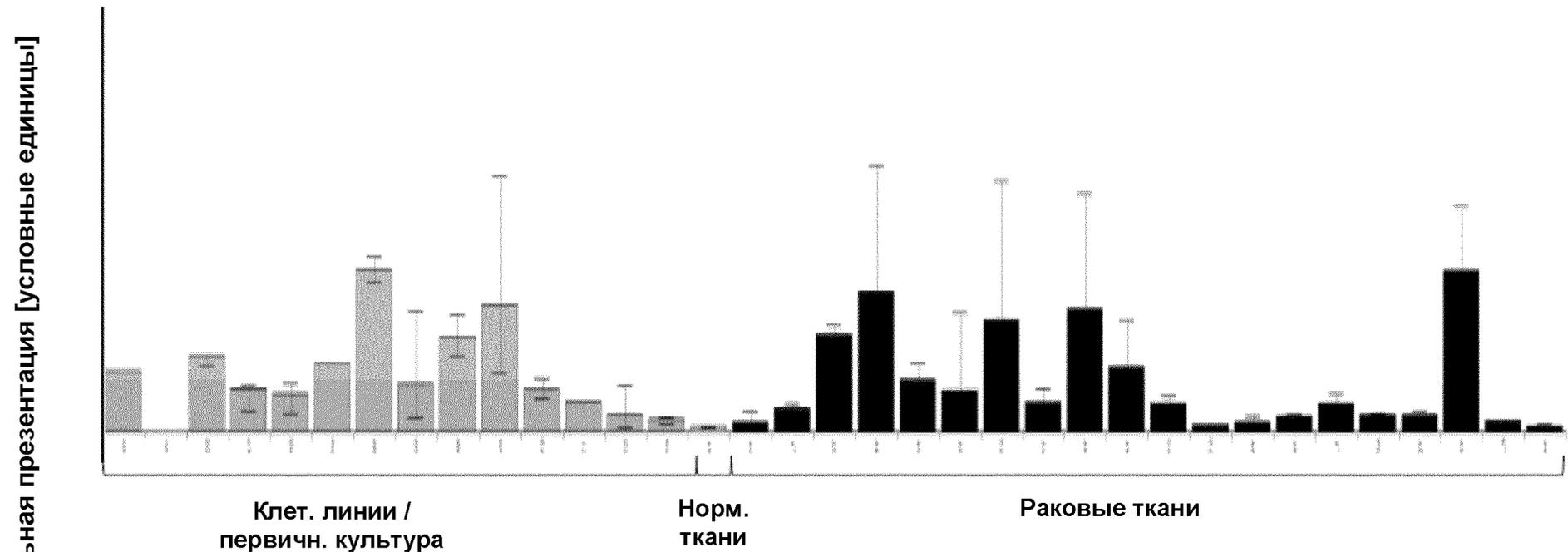


Пептид, выявленный на 12 клеточных линий рака, 1 нормальной ткани (1 селезенка), 22 раковых тканях (2 рака головного мозга, 1 рак молочной железы, 1 рак толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак головы и шеи, 1 рак печени, 8 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак прямой кишки, 1 рак кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Фигура 1Т

Пептид: ALWHDAENQTVV (A\*02)

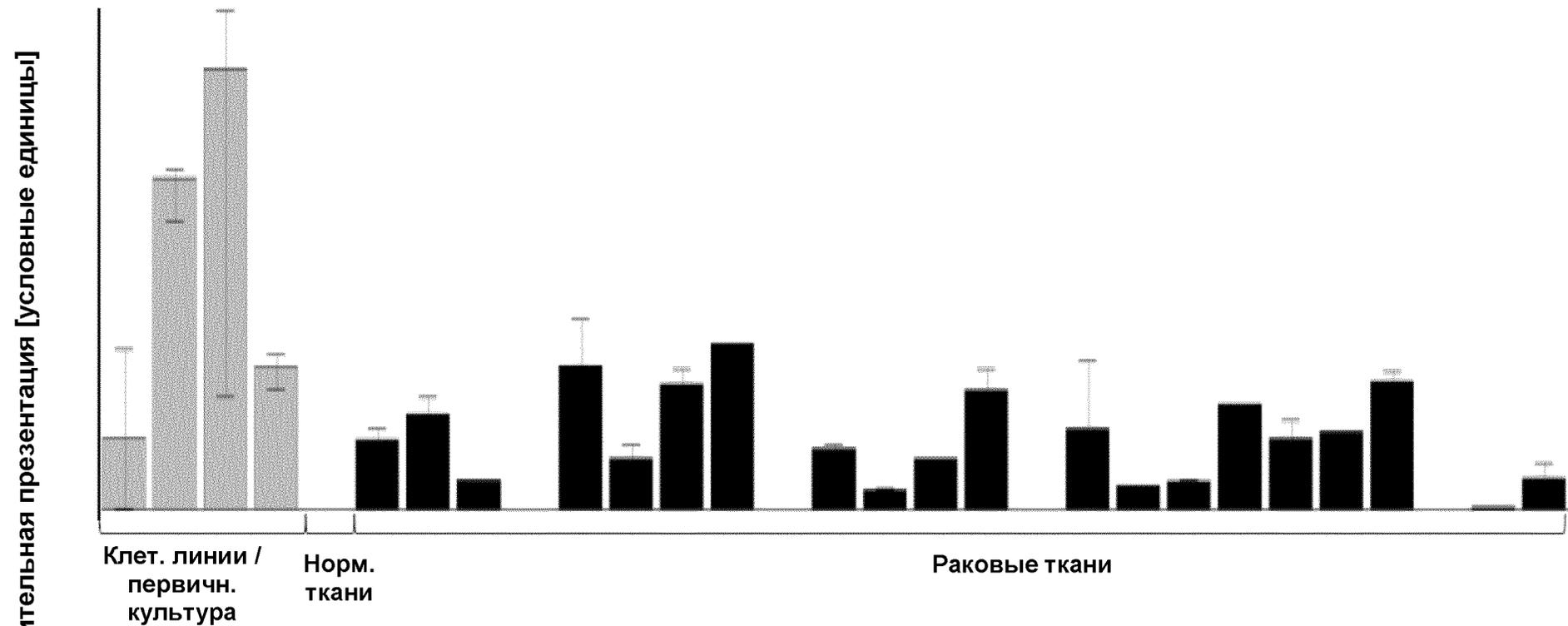
SEQ ID NO: 19



Пептид, выявленный на 13 клеточных линий рака, 1 первичная культура, 1 нормальная ткань (1 селезенка), 20 раковых тканей (1 рак желчных протоков, 2 рака головного мозга, 1 рак молочной железы, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 1 рак печени, 8 раков легких, 2 рака кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Фигура 1U

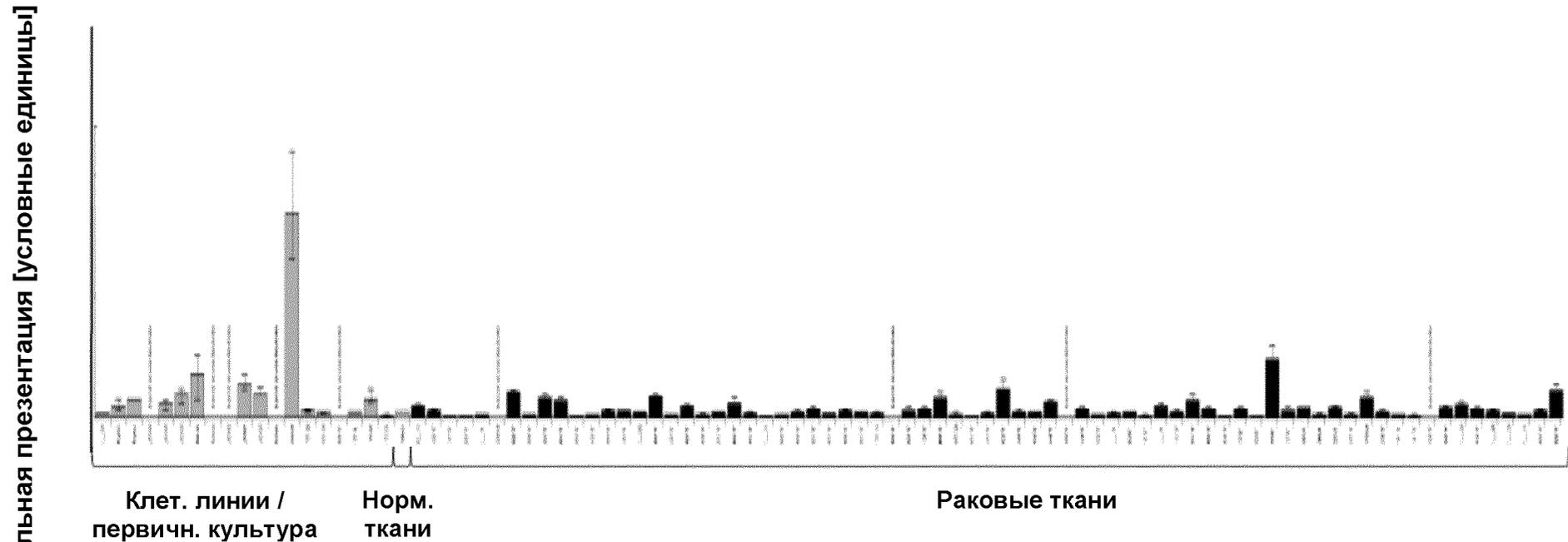
Пептид: ILSTEIFGV (A\*02)  
SEQ ID NO: 22



Пептид, выявленный на  
1 клеточная линия рака, 3 первичные культуры, 1 нормальная ткань (1 лимфатический узел), 24 раковые  
ткани (3 рака молочной железы, 1 рак желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 5 лейкоцитарных лейкозов, 6  
раков легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак поджелудочной железы, 1 рак кожи, 1 рак  
желудка) (слева направо)

Фигура 1V

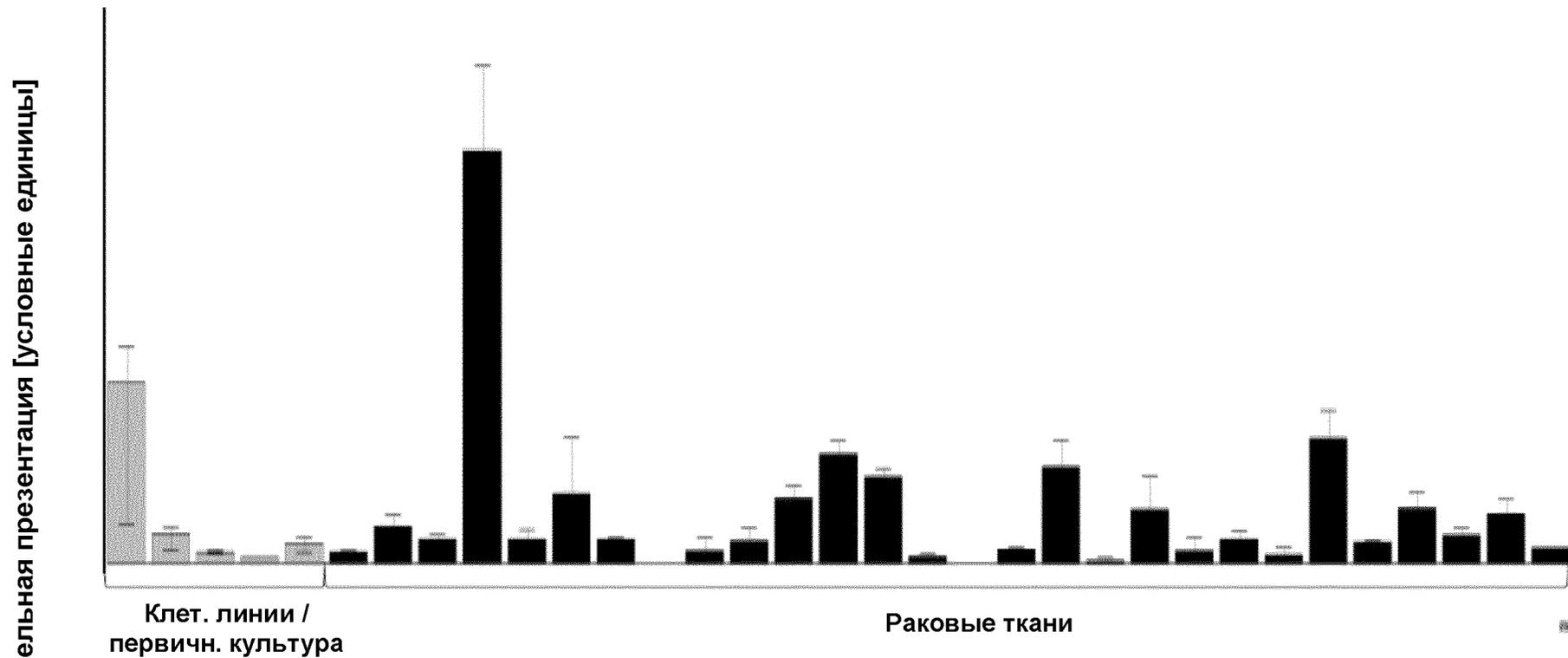
Пептид: FLNPDEVHAI (A\*02)  
SEQ ID NO: 37



Пептид, выявленный на  
16 клеточных линий рака, 3 первичных культуры, 1 нормальная ткань (1 трахея), 73 раковые ткани (1 рак :  
желчных протоков, 2 рака головного мозга, 3 рака молочной железы, 4 рака толстой кишки, 2 рака :  
пищевода, 1 рак желчного пузыря, 2 рака головы и шеи, 1 рак почек, 5 раков печени, 25 раков легких, 4 рака  
лимфатических узлов, 7 раков яичника, 1 рак предстательной железы, 2 рака прямой кишки, 2 рака желудка,  
6 раков мочевого пузыря, 3 рака матки) (слева направо)

Фигура 1W

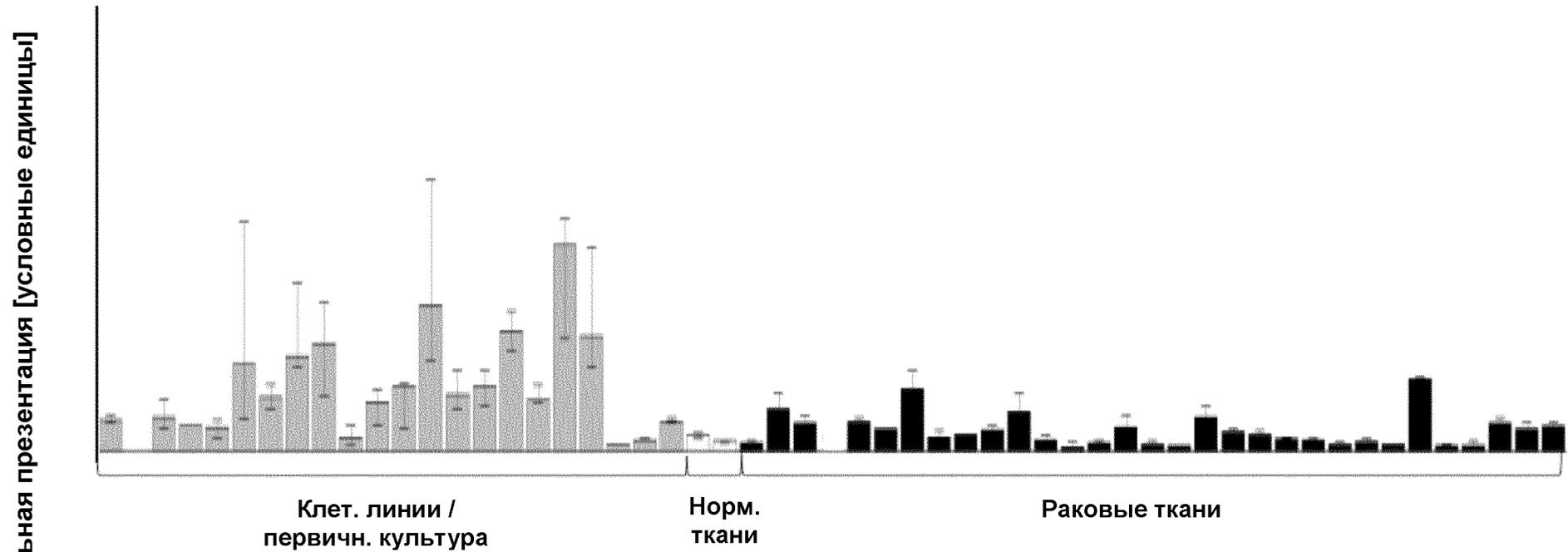
Пептид: TMVEHNYV (A\*02)  
SEQ ID NO: 46



Пептид, выявленный на  
4 клеточных линиях рака, 1 первичная культура, 28 раковых тканях (1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 3 рака почек, 9 раков легких, 7 раков яичника, 1 рак поджелудочной железы, 1 рак кожи, 1 рак желудка, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Фигура 1X

Пептид: RLSELGITQA (A\*02)  
SEQ ID NO: 57



Пептид, выявленный на

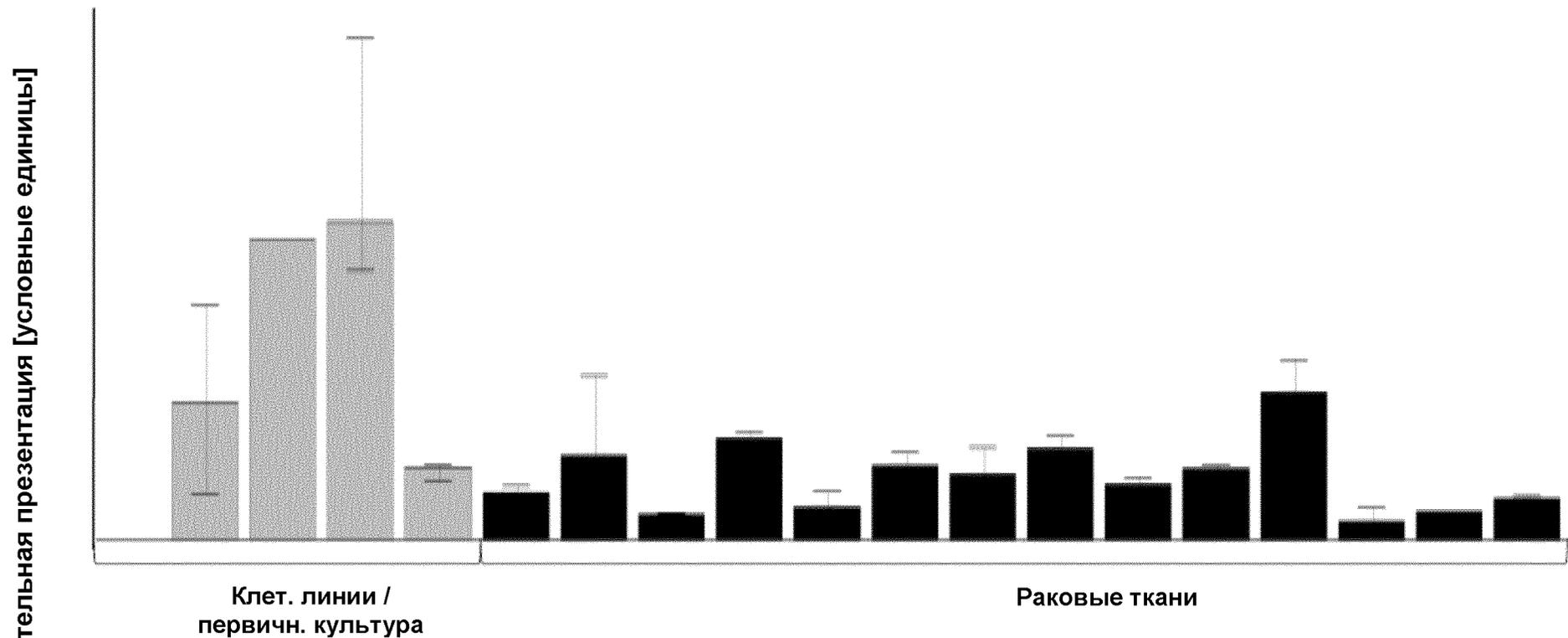
20 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 2 нормальные ткани (1 костный мозг, 1 плацента), 31 раковая ткань (1 рак головного мозга, 1 рак молочной железы, 2 рака пищевода, 2 рака головы и шеи, 1 рак печени, 8 раков легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 4 рака яичника, 4 рака кожи, 2 рака мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Относительная презентация [условные единицы]

Фигура 1Y

Пептид: VLFSGSLRL (A\*02)

SEQ ID NO: 69

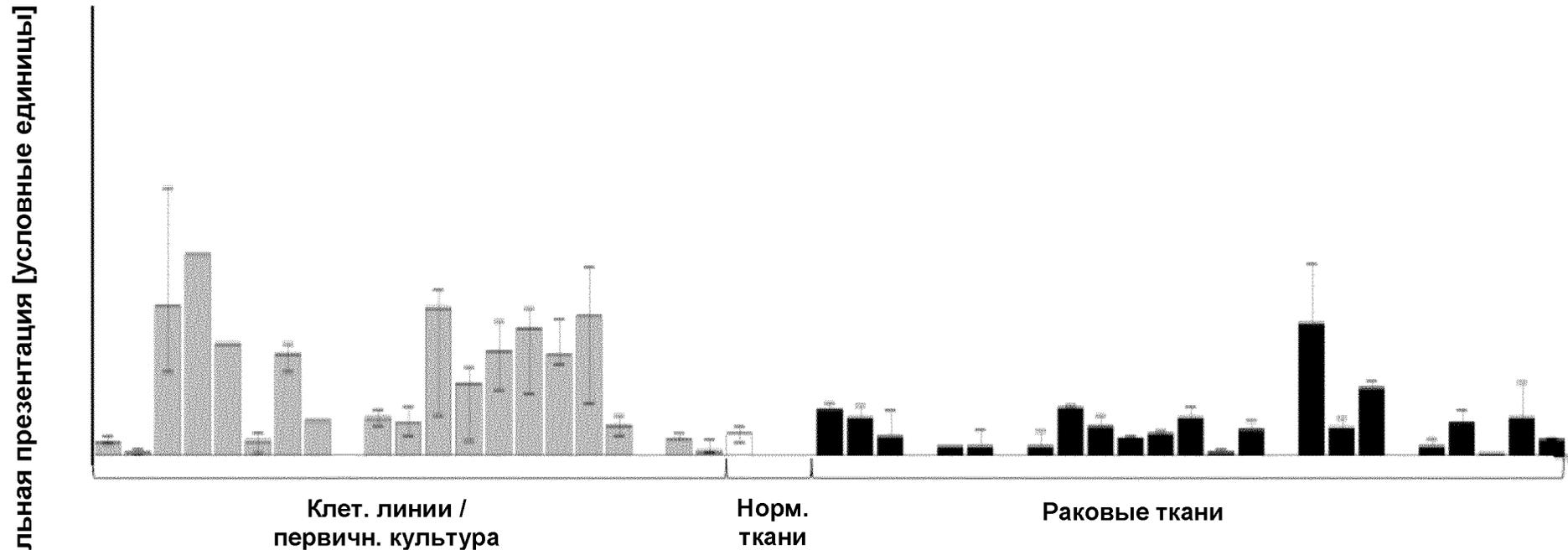


Пептид, выявленный на 5 клеточных линий рака, 14 раковых тканях (2 рака молочной железы, 1 рак пищевода, 1 рак желчного пузыря, 9 раков легких, 1 рак яичника) (слева направо)

Фигура 1Z

Пептид: KISTITPQI (A\*02)

SEQ ID NO: 123

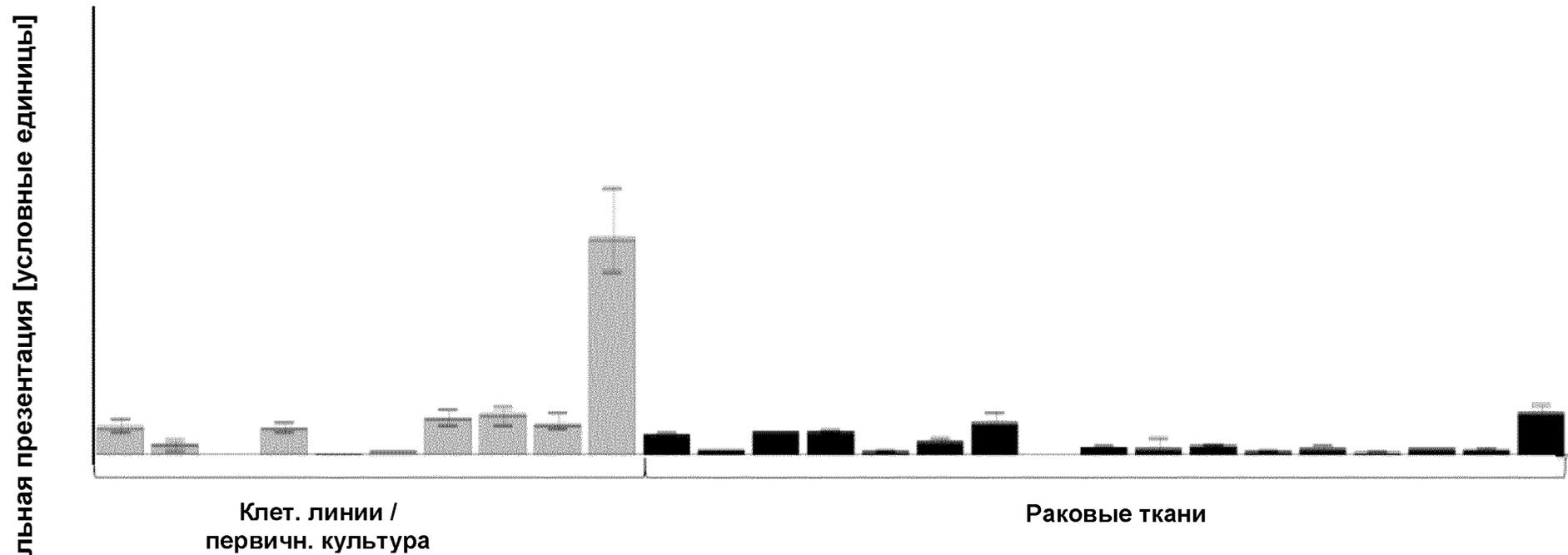


Пептид, выявленный на

19 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 3 нормальные ткани (1 надпочечная железа, 1 печень, 1 плацента), 25 раковых тканей (2 рака головного мозга, 2 рака головы и шеи, 1 рак почек, 2 лейкоцитарных лейкоза, 2 рака печени, 7 раков легких, 2 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 1 рак кожи, 1 рак желудка, 2 рака мочевого пузыря, 3 рака матки) (слева направо)

Фигура 1AA

Пептид: ALYDVRTILL (A\*02)  
SEQ ID NO: 128

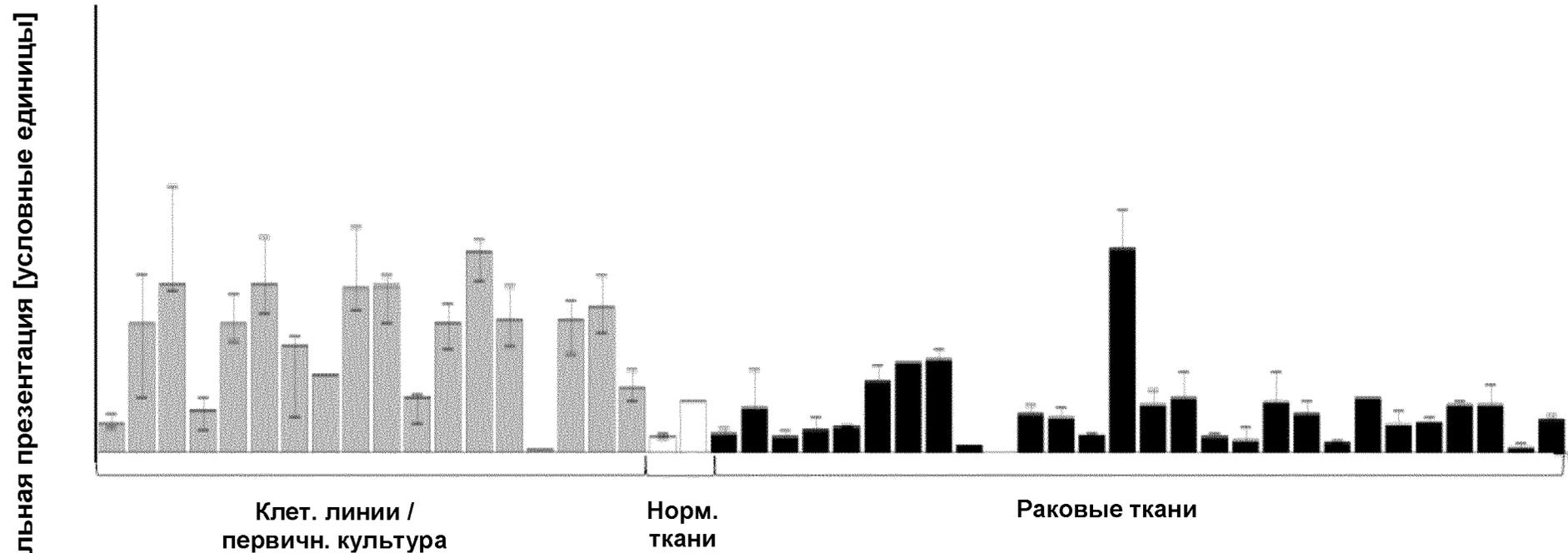


Пептид, выявленный на  
10 клеточных линий рака, 17 раковых тканей (2 рака молочной железы, 1 рак слепой кишки, 2 рака толстой кишки, 1 лейкоцитарный лейкоз, 8 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 1 рак яичника, 1 рак мочевого пузыря) (слева направо)

Фигура 1AB

Пептид: VLISGVVHEI (A\*02)

SEQ ID NO: 146



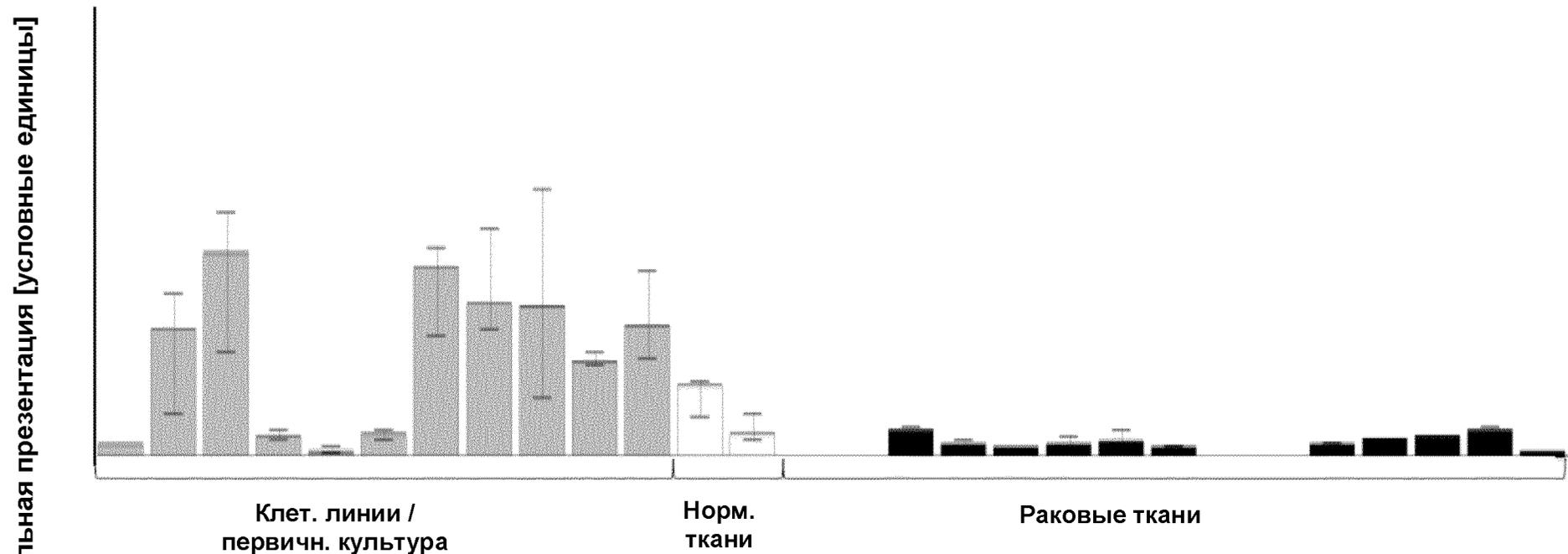
**Пептид, выявленный на**

**16 клеточных линий рака, 2 первичные культуры, 2 нормальные ткани (1 селезенка, 1 матка), 28 раковых тканей (7 раков головного мозга, 1 рак молочной железы, 2 рака толстой кишки, 1 рак пищевода, 1 рак почек, 3 рака печени, 5 раков легких, 1 рак лимфатических узлов, 2 рака яичника, 1 рак предстательной железы, 3 рака кожи, 1 рак матки) (слева направо)**

Фигура 1AC

Пептид: KLADIQIEQL (A\*02)

SEQ ID NO: 89

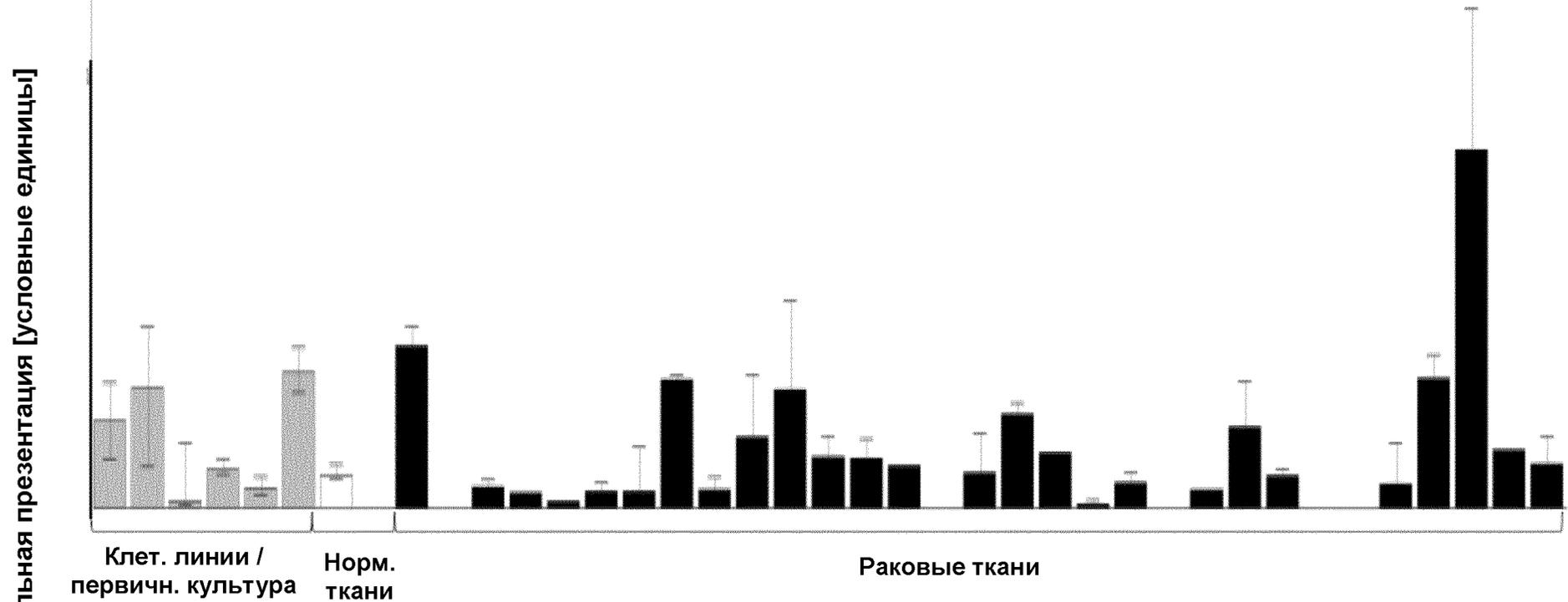


Пептид, выявленный на  
 11 клеточных линий рака, 2 нормальные ткани (2 надпочечные железы), 15 раковых тканей (2 рака толстой кишки, 1 лейкоцитарный лейкоз, 4 рака легких, 4 рака яичника, 4 рака мочевого пузыря) (слева направо)

Фигура 1AD

Пептид: ALVEENGIFEL (A\*02)

SEQ ID NO: 101



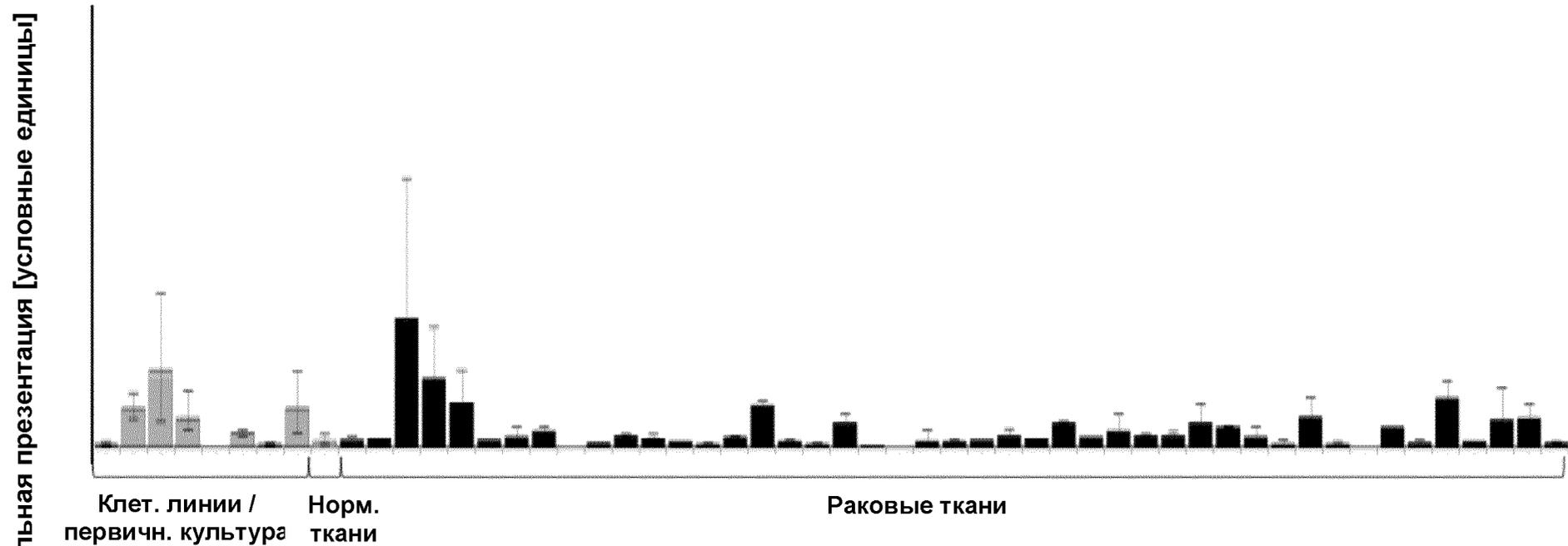
Пептид, выявленный на

3 клеточные линии рака, 3 первичные культуры, 2 нормальные ткани (2 толстые кишки), 31 раковая ткань (1 рак желчных протоков, 2 рака молочной железы, 1 рак слепой кишки, 1 рак толстой кишки, 2 рака пищевода, 2 рака головы и шеи, 1 рак печени, 7 раков легких, 6 раков яичника, 3 рака предстательной железы, 4 рака мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Фигура 1AE

Пептид: LMMSEDRISL (A\*02)

SEQ ID NO: 113

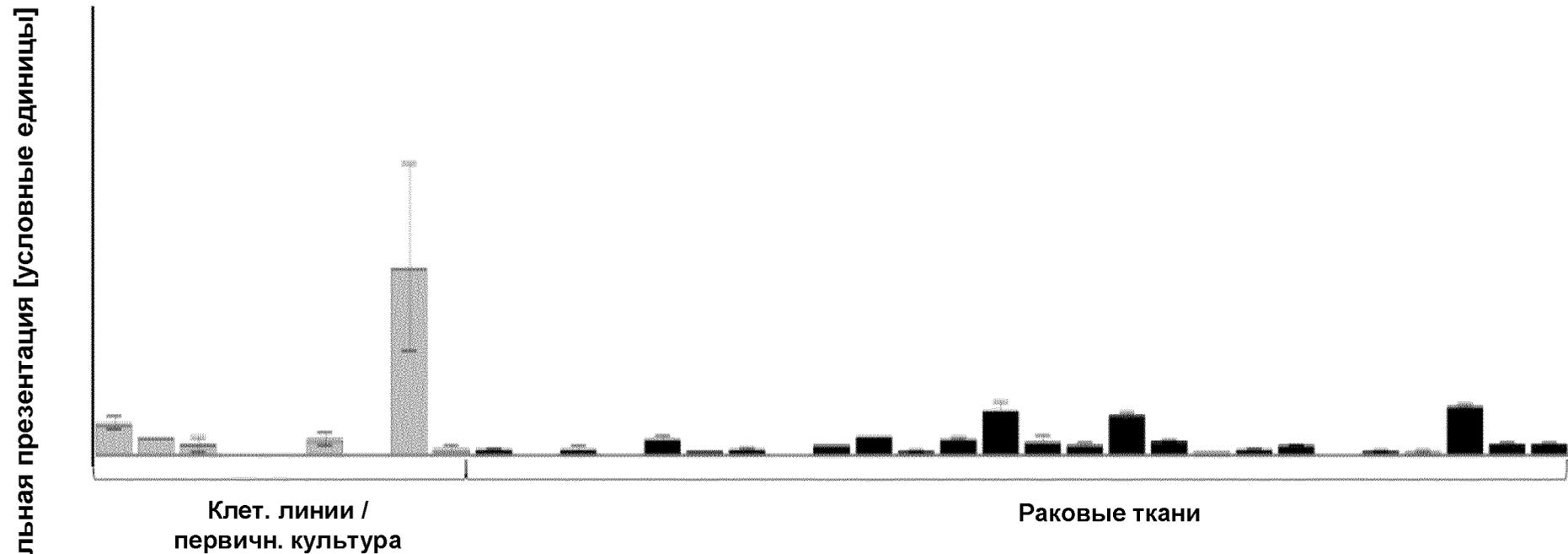


Пептид, выявленный на

8 клеточных линий рака, 1 нормальная ткань (1 глаз), 45 раковых тканей (1 рак желчных протоков, 5 раков головного мозга, 3 рака молочной железы, 1 рак толстой кишки, 2 рака пищевода, 2 рака желчного пузыря, 1 рак головы и шеи, 1 рак печени, 18 раков легких, 3 рака лимфатических узлов, 1 рак поджелудочной железы, 1 рак предстательной железы, 1 рак прямой кишки, 2 рака кожи, 2 рак мочевого пузыря, 1 рак матки) (слева направо)

Фигура 1AF

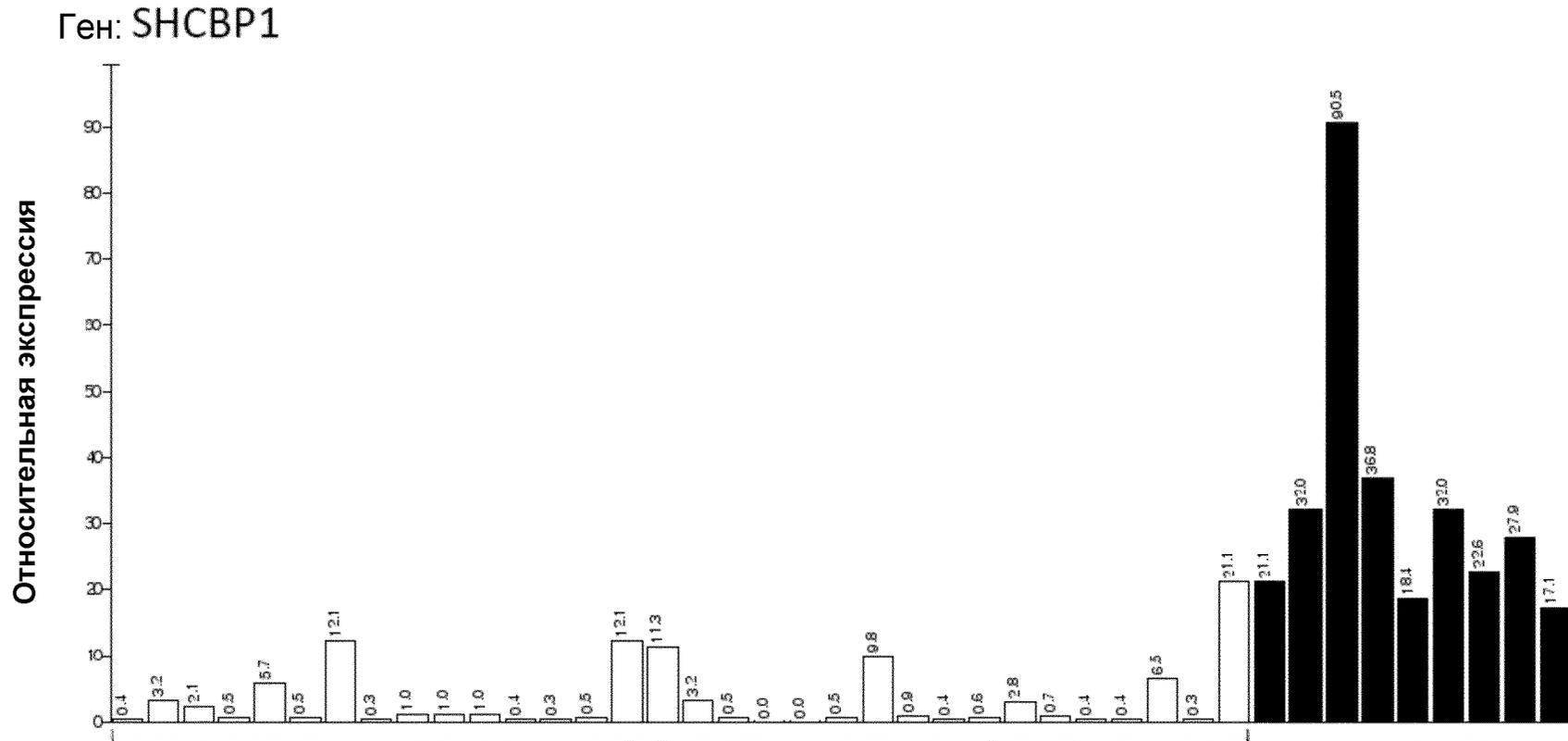
Пептид: ALSDLALHFL (A\*02)  
SEQ ID NO: 127



Относительная презентация [условные единицы]

Пептид, выявленный на  
9 клеточных линий рака, 26 раковых тканей (1 рак костного мозга, 1 рак головного мозга, 2 рака молочной железы, 2 рака головы и шеи, 3 лейкоцитарных лейкоза, 1 рак печени, 3 рака легких, 4 рака лимфатических узлов, 1 рак миелоидных клеток, 1 рак яичника, 3 рака кожи, 4 рака мочевого пузыря) (слева направо)

Фигура 2А

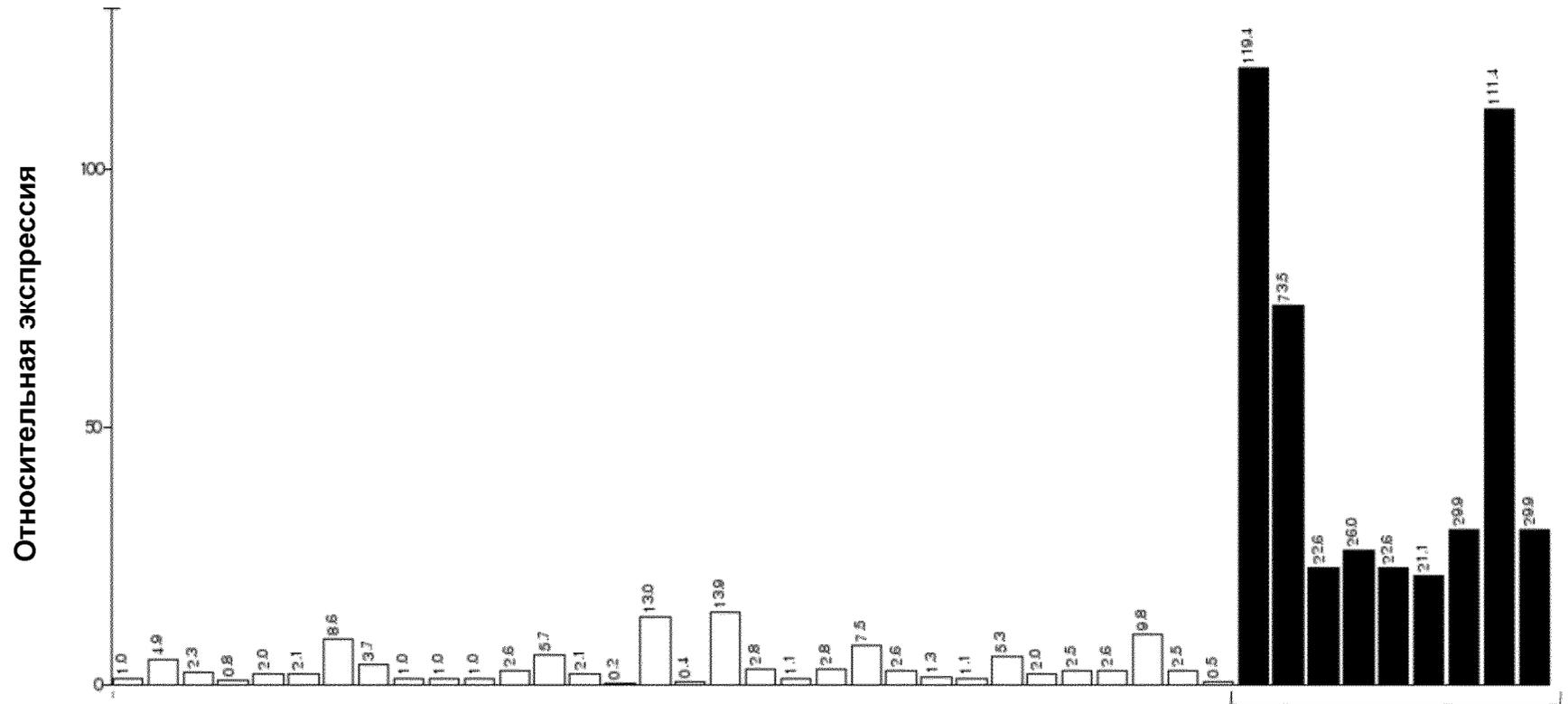


Образцы нормальной ткани (каждый образец представляет собой совокупность образцов нескольких доноров):  
 надпочечная железа, артерия, костный мозг, головной мозг (целиком),  
 молочная железа, толстая кишка, пищевод, сердце, почка (три повторных измерения), лейкоциты, печень, легкие, лимфатический узел, яичник,  
 поджелудочная железа, плацента, предстательная железа, слюнная железа,  
 скелетная мышца, кожа, тонкая кишка, селезенка, желудок, семенник,  
 вилочковая железа, щитовидная железа, мочевого пузыря, шейка матки,  
 матка, вена, 23 образца нормальных почек (слева направо)

9 образцов РПЖ

Фигура 2В

Ген: FN1

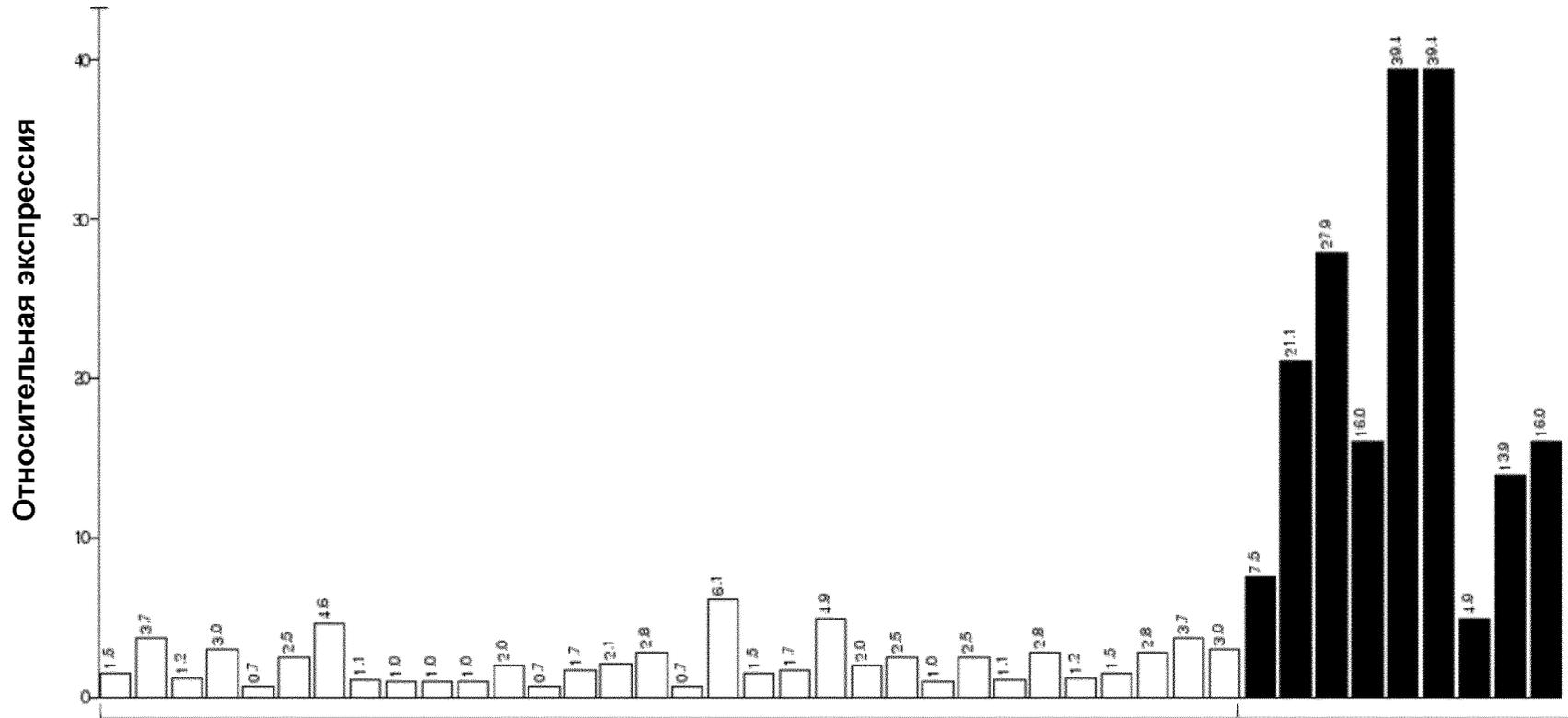


Образцы нормальной ткани (каждый образец представляет собой совокупность образцов нескольких доноров):  
 надпочечная железа, артерия, костный мозг, головной мозг (целиком),  
 молочная железа, толстая кишка, пищевод, сердце, почка (три повторных  
 измерения), лейкоциты, печень, легкое, лимфатический узел, яичник,  
 поджелудочная железа, плацента, предстательная железа, слюнная железа,  
 скелетная мышца, кожа, тонкая кишка, селезенка, желудок, семенник,  
 вилочковая железа, щитовидная железа, мочевой пузырь, шейка матки,  
 матка, вена, 23 образца нормальных почек (слева направо)

9 образцов РПЖ

Фигура 2С

Ген: PLEC

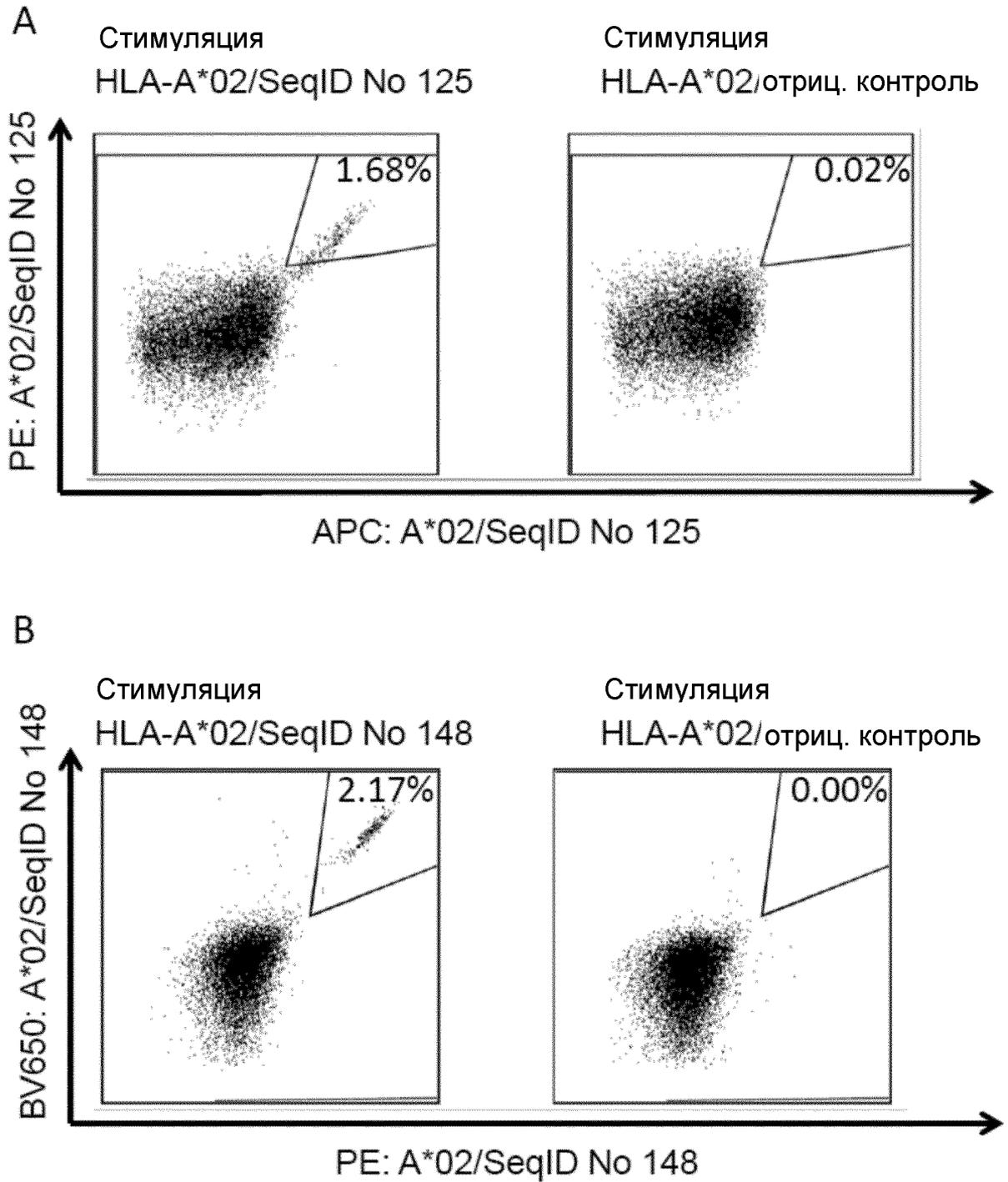


Образцы нормальной ткани (каждый образец представляет собой совокупность образцов нескольких доноров):

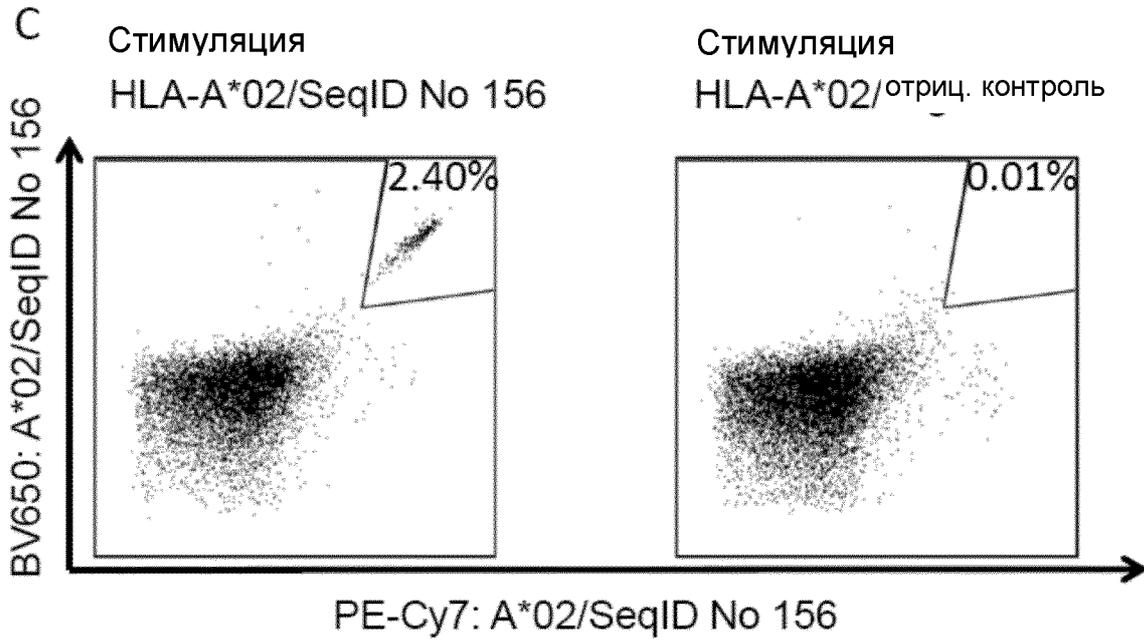
надпочечная железа, артерия, костный мозг, головной мозг (целиком), молочная железа, толстая кишка, пищевод, сердце, почка (три повторных измерения), лейкоциты, печень, легкое, лимфатический узел, яичник, поджелудочная железа, плацента, предстательная железа, слюнная железа, скелетная мышца, кожа, тонкая кишка, селезенка, желудок, семенник, вилочковая железа, щитовидная железа, мочевого пузыря, шейка матки, матка, вена, 23 образца нормальных почек (слева направо)

9 образцов РПЖ

Фигура 3



Фигура 3 (продолжение)



D

