



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(11) BR 112015025460-8 B1

(22) Data do Depósito: 07/04/2014

(45) Data de Concessão: 02/01/2024

(54) Título: MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DE UMA VACINA PERSONALIZADA CONTRA A NEOPLASIA PARA UM INDIVÍDUO DIAGNOSTICADO COMO TENDO UMA NEOPLASIA, VACINA PERSONALIZADA E USO DA MESMA

(51) Int.Cl.: A61K 39/00; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 07/04/2013 US 61/809,406; 25/08/2013 US 61/869,721.

(73) Titular(es): THE BROAD INSTITUTE, INC.; THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION; DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC..

(72) Inventor(es): NIR HACOHEN; CATHERINE J. WU; EDWARD, F. FRITSCH.

(86) Pedido PCT: PCT US2014033185 de 07/04/2014

(87) Publicação PCT: WO 2014/168874 de 16/10/2014

(85) Data do Início da Fase Nacional: 05/10/2015

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA VACINAS PARA NEOPLASIA PERSONALIZADAS. A invenção fornece um método de produção de uma vacina para neoplasia personalizada para um indivíduo diagnosticado como tendo neoplasia, o qual inclui identificar uma pluralidade de mutações na neoplasia, analisar a pluralidade de mutações para identificar um subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigénicas previstas para codificar peptídeos neo-antigénicos, as mutações neo-antigénicas selecionadas a partir do grupo que consiste em mutações missense, mutações neoORF, e qualquer combinação das mesmas, e produzir, baseado no subconjunto identificado, uma vacina para neoplasia personalizada.

Relatório descritivo da patente de invenção para: **"MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DE UMA VACINA PERSONALIZADA CONTRA A NEOPLASIA PARA UM INDIVÍDUO DIAGNOSTICADO COMO TENDO UMA NEOPLASIA, VACINA PERSONALIZADA E USO DA MESMA"**

DECLARAÇÃO DE DIREITOS SOBRE INVENTOS REALIZADOS AO ABRIGO DE INVESTIGAÇÃO PROMOVIDA FEDERALMENTE

[001]Este trabalho foi apoiado pelos seguintes financiamentos do National Institutes of Health, Financiamentos N°s: NIH/NCI-1R01CA155010-02 e NHLBI-5R01HL103532-03. O governo detém certos direitos sobre a invenção.

PEDIDOS RELACIONADOS

[002]Este pedido reivindica o benefício e prioridade ao Pedido de Patente Provisório U.S. No. 61/809,406, depositado a 7 de abril de 2013 e Pedido de Patente Provisório U.S. No. 61/869,721, depositado a 25 de agosto de 2013, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência.

ÁREA DA INVENÇÃO

[003]A presente invenção se relaciona com estratégias personalizadas para o tratamento da neoplasia. Mais particularmente, a presente invenção se relaciona com a identificação e uso de um conjunto específico ao paciente de neo-antígenos específicos do tumor em uma vacina personalizada contra tumor para tratamento do paciente.

ANTECEDENTES

[004]Aproximadamente 1,6 milhões de americanos são diagnosticados com neoplasia todos os anos, e estima-se que aproximadamente 580.000 de pessoas nos Estados Unidos morram da doença em 2013. Ao longo das últimas décadas houve melhorias significativas na detecção, diagnóstico e tratamento da neoplasia que aumentaram significativamente a taxa de sobrevivência para muitos tipos de neoplasia. Contudo, apenas cerca de 60% das pessoas diagnosticadas com neoplasia continuam vivas 5 anos após o início do tratamento, o que torna a neoplasia a segunda principal causa de morte nos Estados Unidos.

[005]Atualmente, há várias terias terapias oncológicas diferentes, incluindo técnicas de ablação (por exemplo, intervenções cirúrgicas, tratamento criogênico/térmico, ultrassons, radiofrequência, e radiação) e técnicas químicas (por exemplo, agentes farmacêuticos, agentes citotóxicos/terapêuticos, anticorpos monoclonais e várias combinações destes). Infelizmente, tais terapias são frequentemente associadas a graves riscos, efeitos secundários tóxicos, e custos extremamente elevados, bem como a uma certa ineficácia.

[006]Há um interesse crescente em terapias oncológicas que procuram tratar células cancerígenas através do sistema

imunitário próprio do paciente (por exemplo, vacinas contra o cancro) porque tais terapias podem mitigar/ eliminar algumas das desvantagens acima descritas. As vacinas contra o câncer são tipicamente compostas de antigênios de tumores e moléculas imunoestimulantes (por exemplo citocinas ou ligandos TLR) que trabalham em conjunto para induzir células T citotóxicas específicas de antigênio que alvejam e destroem células tumorais. As atuais vacinas contra o câncer contêm tipicamente antigênios tumorais partilhados que são proteínas nativas (ou seja, - proteínas codificadas pelo DNA de todas as células normais no indivíduo) que são seletivamente expressas ou sobreexpressas em tumores encontrados em muitos indivíduos. Apesar de antigênios tumorais partilhados serem úteis na identificação de tipos particulares de tumores, eles não são ideais como imunogênios direcionados a uma resposta de célula T para um tipo de tumor particular porque estão sujeitos a efeitos atenuantes imunitários de auto-tolerância. Em conformidade, há a necessidade de métodos de identificar antigênios tumorais mais eficazes que possam ser usados para vacinas contra neoplasias.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[007]A presente invenção se relaciona com uma estratégia para o tratamento personalizado da neoplasia e

mais particularmente a identificação e uso de uma vacina personalizada contra o câncer consistindo essencialmente de um conjunto de neo-antigênicos específicos de tumor e específicos de paciente para o tratamento de tumores em um paciente. Como descrito em baixo, a presente invenção se baseia, pelo menos em parte, na descoberta de que a sequenciação genoma/exoma pode ser usada para identificar todos, ou quase todos, os neo-antigênicos mutados que estão unicamente presentes em uma neoplasia/tumor de um paciente individual, e que esta coleção de neo-antigênicos mutados pode ser analisada para identificar um subconjunto específico otimizado de neo-antigênicos para uso como uma vacina personalizada contra a neoplasia para o tratamento da neoplasia/tumor do paciente.

[008] Em um aspeto, a invenção providencia um método de produzir uma vacina personalizada contra a neoplasia para um paciente diagnosticado como tendo uma neoplasia, que inclui identificar uma pluralidade de mutações na neoplasia, analisar a pluralidade de mutações para identificar um subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas que se prevê codificarem peptídeos neo-antigênicos, as mutações neo-antigênicas selecionadas do grupo consistindo de mutações de sentido trocado, mutações neoORF e uma qualquer sua combinação, e produzir, com base no subconjunto

identificado, uma vacina personalizada contra a neoplasia.

[009] Em uma forma de realização, a invenção providencia que a etapa de identificação inclui ainda sequenciação do genoma, transcritoma ou proteoma da neoplasia.

[0010] Em outra forma de realização, a etapa de análise pode ainda incluir determinar uma ou mais características associadas ao subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas previstas como codificando peptídeo neo-antigênicos, as características selecionadas do grupo consistindo de peso molecular, teor de cisteína, hidrofiliabilidade, hidrofobicidade, carga, e afinidade de ligação; e classificar, com base nas características determinadas, cada uma das mutações neo-antigênicas dentro do subconjunto identificado de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas. Em uma forma de realização, as mutações neo-antigênicas classificadas entre as primeiras 5-30 são incluídas na vacina personalizada contra a neoplasia. Em outra forma de realização, as mutações neo-antigênicas são classificadas na ordem mostrada na Fig. 8.

[0011] Em uma forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

[0012] Em outra forma de realização, a vacina

personalizada contra a neoplasia compreende uma ou mais moléculas de DNA capazes de expressar pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas. Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende uma ou mais moléculas de RNA capazes de expressar pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

[0013] Em formas de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende mutações neoORF que se prevê codificarem um polipeptídeo neoORF possuindo um Kd de ≤ 500 nM.

[0014] Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende mutações de sentido trocado que se prevê codificarem um polipeptídeo possuindo um Kd de ≤ 150 nM, em que a proteína cognata nativa possui um Kd de ≥ 1000 nM ou ≤ 150 nM.

[0015] Em outra forma de realização, os pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 5 a cerca de 50 aminoácidos. Em outra forma de realização, os pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 15 a cerca de 35 aminoácidos. Em outra forma de realização, os pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 18 a cerca de 30 aminoácidos. Em

outra forma de realização, os pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 6 a cerca de 15 aminoácidos. Ainda em outra forma de realização, os pelo menos cerca de 20 peptídeos neo-antigênicos possuem um comprimento de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ou 25 aminoácidos.

[0016] Em uma forma de realização, a vacina contra a neoplasia personalizada inclui ainda um adjuvante. Em outras formas de realização, o adjuvante é selecionado do grupo consistindo de poli-ICLC, 1018 ISS, sais de alumínio, Amplivax, AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, GM-CSF, IC30, IC31, Imiquimod, ImuFact IMP321, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, Juvlmmune, LipoVac, MF59, lípido monofosforila A, Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, PepTel.RTM, sistema vetor, micropartículas PLGA, resiquimod, SRL172, virossomas e outras partículas tipo vírus, YF-17D, armadilha VEGF, R848, betaglucano, Pam3Cys, stimulon QS21 da companhia Aquila, vadimezan e/ou AsA404 (DMXAA). Em uma forma de realização preferencial, o adjuvante é poli-ICLC.

[0017] Em outro aspeto, a invenção inclui um método de tratar um paciente diagnosticado como tendo uma neoplasia com uma vacina personalizada contra a neoplasia, que inclui identificar uma pluralidade de mutações na neoplasia;

analisar a pluralidade de mutações para identificar um subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas que se prevê codificarem peptídeos neo-antigênicos expressos, as mutações neo-antigênicas selecionadas do grupo consistindo de mutações de sentido trocado, mutações neoORF e uma qualquer sua combinação; produzir, com base no subconjunto identificado, uma vacina personalizada contra a neoplasia; e administrar a vacina personalizada contra a neoplasia ao paciente, tratando assim a neoplasia.

[0018] Em outra forma de realização, a etapa de identificação pode ainda incluir sequenciação do genoma, transcritoma ou proteoma da neoplasia.

[0019] Em ainda outra forma de realização, a etapa de análise pode ainda incluir determinar uma ou mais características associadas ao subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas previstas como codificando peptídeos neo-antigênicos expressos, as características selecionadas do grupo consistindo de peso molecular, teor de cisteína, hidrofiliabilidade, hidrofobicidade, carga, e afinidade de ligação; e classificar, com base nas características determinadas, cada uma das mutações neo-antigênicas dentro do subconjunto identificado de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas.

[0020] Em uma forma de realização, as mutações neo-

antigênicas classificadas entre as primeiras 5-30 são incluídas na vacina personalizada contra a neoplasia. Em outra forma de realização, as mutações neo-antigênicas são classificadas na ordem mostrada na Fig. 8.

[0021] Em uma forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

[0022] Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende uma ou mais moléculas de DNA capazes de expressar pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

[0023] Em uma forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende uma ou mais moléculas de RNA capazes de expressar pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

[0024] Em uma forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende mutações neoORF que se prevê codificarem um polipeptídeo neoORF possuindo um Kd de ≤ 500 nM.

[0025] Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia compreende mutações de sentido trocado que se prevê codificarem um polipeptídeo possuindo um Kd de ≤ 150 nM, em que a proteína cognata nativa

possui um Kd de ≥ 1000 nM ou ≤ 150 nM.

[0026] Em uma forma de realização, os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 5 a cerca de 50 aminoácidos. Em uma forma de realização, os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 15 a cerca de 35 aminoácidos. Em uma forma de realização, os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 18 a cerca de 30 aminoácidos. Em uma forma de realização, os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam em comprimento entre cerca de 6 a cerca de 15 aminoácidos. Em uma forma de realização, os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos possuem um comprimento de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ou 25 aminoácidos.

[0027] Em uma forma de realização, a administração inclui ainda dividir a vacina produzida em dois ou mais subconjuntos; e injetar cada um dos subconjuntos em um diferente ponto do paciente. Em uma forma de realização, cada um dos subconjuntos injetados em uma localização diferente compreende peptídeos neo-antigênicos de forma que o número de peptídeos individuais no subconjunto direcionado a qualquer HLA de paciente individual é um, ou um número o menos acima de um possível.

[0028] Em uma forma de realização, a etapa de

administração inclui ainda dividir a vacina produzida em dois ou mais subconjuntos, em que cada subconjunto compreende pelo menos cinco peptídeos neo-antigênicos selecionados para otimizar interações intra-conjunto.

[0029] Em uma forma de realização, otimizar compreende reduzir a interação negativa entre os peptídeos neo-antigênicos no mesmo conjunto.

[0030] Em outro aspeto, a invenção inclui uma vacina personalizada contra a neoplasia de acordo com os métodos acima descritos.

Definições

[0031] Para facilitar a compreensão da presente invenção, um número de termos e frases são definidos como se segue:

[0032] Salvo indicação em contrário ou que decorra obviamente do contexto, como aqui usado, o termo "cerca de" é entendido como dentro de um intervalo de tolerância normal na técnica, por exemplo dentro de 2 desvios padrão da média. Também pode ser entendido como dentro de 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, ou 0,01% do valor indicado. Exceto indicação clara em contrário pelo contexto, todos os valores numéricos aqui providenciados são modificados pelo termo cerca de.

[0033] Por "agente" entende-se qualquer composto químico de molécula pequena, anticorpo, molécula de ácido nucleico ou polipeptídeo ou seus fragmentos.

[0034] Por "melhorar" entende-se reduzir, suprimir, atenuar, diminuir, parar ou estabilizar o desenvolvimento ou progressão de uma doença (por exemplo, uma neoplasia, tumor, etc.).

[0035] Por "alteração" entende-se uma alteração (aumento ou redução) nos níveis de expressão ou atividade de um gene ou polipeptídeo como detectados por métodos de técnica padrão conhecidos tais como os aqui descritos. Como aqui usado, uma alteração inclui uma alteração de 10% em níveis de expressão, de preferência uma alteração de 25%, mais preferencialmente uma alteração de 40% e muito preferencialmente uma alteração de 50% ou mais em níveis de expressão.

[0036] Por "análogo" entende-se uma molécula que não é idêntica, mas tem propriedades funcionais ou estruturais análogas. Por exemplo, um análogo de polipeptídeo de neo-antigênio específico de tumor retém a atividade biológica de um polipeptídeo de neo-antigênio específico de tumor correspondente ocorrendo naturalmente, ao mesmo tempo que tem certas modificações bioquímicas que potenciam a função análoga relativa a um polipeptídeo ocorrendo naturalmente.

Tais modificações bioquímicas poderiam aumentar a resistência de protease do análogo, permeabilidade da membrana, ou semi-vida, sem alterar, por exemplo, a ligação do ligando. Um análogo pode incluir um aminoácido não natural.

[0037] A frase "terapia de combinação" compreende a administração de uma amostra combinada de neo-antígenos específicos de neoplasia/tumor e um ou mais agentes terapêuticos adicionais como parte de um regime de tratamento específico destinado a providenciar um efeito benéfico (aditivo ou sinérgico) pela co-ação destes agentes terapêuticos. O efeito benéfico da combinação inclui, mas não se limita a, co-ação farmacocinética ou farmacodinâmica resultante da combinação de agentes terapêuticos. A administração destes agentes terapêuticos em combinação é realizada tipicamente ao longo de um período de tempo definido (normalmente, minutos, horas, dias ou semanas, dependendo da combinação selecionada). "Terapia de combinação" pretende compreender a administração destes agentes terapêuticos de maneira sequencial, ou seja, em que cada agente terapêutico é administrado em um momento diferente, bem como a administração destes agentes terapêuticos ou pelo menos dois dos agentes terapêuticos, de uma maneira substancialmente simultânea. Administração

substancialmente simultânea pode ser alcançada, por exemplo, administrando ao paciente uma cápsula única possuindo uma proporção fixa de cada agente terapêutico ou em múltiplas cápsulas únicas para cada um dos agentes terapêuticos. Por exemplo, uma combinação da presente invenção pode compreender uma amostra combinada de neo-antigênicos específicos de tumor e pelo menos um agente terapêutico adicional (por exemplo, um agente quimioterapêutico, um agente anti-angiogênese, um agente imunossupressor, um agente anti-inflamatório e semelhantes) ao mesmo tempo ou em momentos diferentes ou eles podem ser formulados como uma composição farmacêutica única co-formulada compreendendo os dois compostos. Como outro exemplo, podem ser formuladas uma combinação da presente invenção (por exemplo, uma amostra combinada de neo-antigênicos específicos de tumor e pelo menos um agente terapêutico adicional) como composições farmacêuticas separadas que podem ser administradas ao mesmo tempo ou em momentos diferentes. A administração sequencial ou substancialmente simultânea de cada agente terapêutico pode ser efetuada por qualquer via apropriada, incluindo, mas não se limitando a, via oral, intravenosa, subcutânea, intramuscular, absorção direta através de tecidos da membrana mucosa (por exemplo, nasal, bucal, vaginal e retal), e via ocular (por exemplo, intravitreal, intraocular, etc.).

Os agentes terapêuticos podem ser administrados pela mesma via ou por vias diferentes. Por exemplo, um componente de uma combinação particular pode ser administrado por injeção intravenosa enquanto o ou os outros componentes da combinação podem ser administrados oralmente. Os componentes podem ser administrados em qualquer sequência terapeuticamente eficaz.

[0038] A frase "combinação" compreende grupos de compostos ou terapias sem fármacos úteis como parte de uma terapia de combinação.

[0039] Em esta revelação, "compreende", "compreendendo", "contendo" e "possuindo" e semelhantes podem ter o significado atribuído na Lei de Patentes U.S. e podem significar "inclui", "incluindo" e semelhantes; "consistindo essencialmente de" ou "consiste essencialmente de" têm igualmente o mesmo significado atribuído pela Lei de Patente U.S. e o termo é aberto, permitindo a presença de mais do que é citado desde que características básicas ou novas do que é citado não sejam alteradas pela presença de mais do que aquilo que é citado, mas exclui formas de realização da técnica anterior.

[0040] Por "controle" entende-se uma condição padrão ou de referência.

[0041] Por "doença" entende-se qualquer condição ou distúrbio que danifique ou interfira com a função normal de

uma célula, tecido ou órgão.

[0042] Por "quantidade efetiva" entende-se uma quantidade necessária para melhorar os sintomas de uma doença (por exemplo, uma neoplasia/tumor) relativamente a um paciente não tratado. A quantidade eficaz de composto(s) ativo(s) usada para pôr em prática a presente invenção para tratamento terapêutico de uma doença varia dependendo da forma de administração, idade, peso corporal e saúde geral do paciente. Em última análise, será o médico ou veterinário que seguem o doente a decidir a quantidade apropriada e regime de dosagem. Tal quantidade é referida como uma quantidade "eficaz".

[0043] Por "fragmento" entende-se uma porção de um polipeptídeo ou molécula de ácido nucleico. Esta porção contém, de preferência, pelo menos, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, ou 90% de todo o comprimento do polipeptídeo ou molécula de ácido nucleico de referência. Um fragmento pode conter 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, ou 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, ou mais nucleotídeos ou aminoácidos.

[0044] "Hibridação" significa ligação de hidrogênio, que pode ser ligação de hidrogênio de Watson-Crick, Hoogsten ou Hoogsten reversa, entre nucleobases complementares. Por exemplo, adenina e timina são nucleobases complementares que

emparelham através da formação de ligações de hidrogênio.

[0045] Por "ácido nucleico inibitório" entende-se um RNA de fita dupla, siRNA, shRNA ou RNA antissentido, ou uma sua porção, ou um seu mimético, que quando administrados a uma célula de mamífero resulta em uma redução (por exemplo, em 10%, 25%, 50%, 75%, ou mesmo 90-100%) na expressão de um gene alvo. Tipicamente, um inibidor de ácido nucleico compreende pelo menos uma porção de uma molécula de ácido nucleico alvo, ou um seu ortólogo, ou compreende pelo menos uma porção da cadeia complementar de uma molécula de ácido nucleico alvo. Por exemplo, uma molécula de ácido nucleico inibitória compreende pelo menos uma porção de qualquer um dos ácidos nucléicos aqui delineados.

[0046] Por "polinucleotídeo isolado" entende-se um ácido nucleico (por exemplo, um DNA) livre de genes dos quais, no genoma ocorrendo naturalmente do organismo - ou no DNA genômico de uma neoplasia/tumor derivado do organismo - a molécula de ácido nucleico da invenção deriva. O termo inclui assim, por exemplo, um DNA recombinantes (por exemplo, DNA codificando um polipeptídeo neoORF, read-through, ou derivado de InDel identificado em um tumor de um paciente) que é incorporado em um vetor; em um plasmídeo ou vírus autonomamente replicante; ou em um DNA genômico de um procariota ou eucariota; ou que existe como uma molécula

separada (por exemplo, um cDNA ou um fragmento genômico ou fragmento cDNA produzido por PCR ou digestão de endonuclease de restrição) independente de outras sequências. Além disso, o termo inclui uma molécula RNA que é transcrita de uma molécula DNA, bem como um DNA recombinante que é parte de um gene híbrido codificando sequência de polipeptídeo adicional.

[0047] Por um "polipeptídeo isolado" entende-se um polipeptídeo da invenção que foi separado de componentes que naturalmente o acompanham. Tipicamente, o polipeptídeo é isolado quando é pelo menos 60% em peso, livre de proteínas e de moléculas orgânicas ocorrendo naturalmente às quais está naturalmente associado. De preferência, a preparação é pelo menos 75%, mais preferencialmente pelo menos 90%, e muito preferencialmente pelo menos 99% em peso de um polipeptídeo da invenção. Um polipeptídeo isolado da invenção pode ser obtido, por exemplo, por extração de uma fonte natural, por expressão de um ácido nucléico recombinante tal como um polipeptídeo; ou por síntese química da proteína. A pureza pode ser medida por qualquer método apropriado, por exemplo, cromatografia em coluna, eletroforese de gel poliacrilamida, ou por análise HPLC.

[0048] Um "ligante" deve ser entendido como significando uma molécula que tem uma estrutura complementar

à de um receptor e que é capaz de formar um complexo com o receptor. De acordo com a invenção, um ligando deve ser entendido como significando um peptídeo ou fragmento de peptídeo com um comprimento adequado e motivos de ligação adequados na sua sequência de aminoácidos, de forma que o peptídeo ou fragmento de peptídeo seja capaz de formar um complexo com proteínas da classe MHC I ou classe MHC II.

[0049] "Mutação" para os propósitos deste documento significa uma sequência de DNA encontrada na amostra de DNA tumoral de um paciente que não é encontrada na amostra de DNA normal correspondente do mesmo paciente. "Mutação" também se refere a padrões na sequência de RNA de um paciente que não são atribuíveis a variações esperadas com base em informação conhecida de um gene individual e são razoavelmente considerados como sendo variações novas, por exemplo, o padrão de união de um ou mais genes que foi especificamente alterado nas células tumorais do paciente.

[0050] "Neo-antigênio" ou "neo-antigênico" significa uma classe de antigênios tumorais que surge de uma ou mais mutações específicas de tumor que alteram a sequência de aminoácidos das proteínas codificadas no genoma.

[0051] Por "neoplasia" entende-se qualquer doença provocada, por ou resultando em, níveis inapropriadamente elevados de divisão celular, níveis inapropriadamente baixos

de apoptose ou ambos. Por exemplo, o câncer é um exemplo de uma neoplasia. Exemplos de cânceres incluem, sem limitação, leucemia (por exemplo, leucemia aguda, leucemia linfóide aguda, leucemia mielóide aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, eritroleucemia aguda, leucemia crônica, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide crônica), policitemia vera, linfoma (por exemplo, doença de Hodgkin, doença de não Hodgkin), macroglobulinemia de Waldenstrom, doença da cadeia pesada, e tumores sólidos como sarcomas e carcinomas (por exemplo, fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, condrossarcoma, osteossarcoma, cordoma, angiossarcoma, endoteliossarcoma, linfangiossarcoma, linfangioendoteliossarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiossarcoma, rabdomiossarcoma, carcinoma do cólon, câncer do pâncreas, câncer de mama, câncer dos ovários, câncer da próstata, carcinoma das células escamosas, carcinoma basocelular, adenocarcinoma, carcinomas das glândulas sudoríparas, carcinoma das glândulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogênico, carcinoma das células renais, hepatoma, carcinoma do canal biliar, coriocarcinoma, seminoma,

carcinoma embrional, tumor de Wilm, câncer cervical, câncer do útero, câncer dos testículos, carcinoma pulmonar, carcinoma das células pequenas do pulmão, carcinoma da bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, schwannoma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, e retinoblastoma). Distúrbios linfoproliferativos são também considerados como doenças proliferativas.

[0052] Salvo indicação específica em contrário ou que resulte óbvio do contexto, como aqui usado, o termo "ou" entende-se como inclusivo. Salvo indicação específica em contrário ou que resulte óbvio do contexto, como aqui usado, os termos "um", "uma" e "o", "a" são entendidos como singular ou plural.

[0053] O termo "paciente" ou "sujeito" refere-se a um animal que é objeto de tratamento, observação ou experimentação. A título de exemplo apenas, um sujeito inclui, mas não se limita a, um mamífero, incluindo, mas não se limitando a, um humano ou mamífero não humano, tal como um primata não humano, bovino, equino, canino, ovino ou felino.

[0054] "Farmaceuticamente aceitável" refere-se a aprovado ou aprovável por uma agência regulatória do governo

federal ou estatal ou listado na Farmacopeia Americana ou outra farmacopeia globalmente reconhecida para utilização em animais, incluindo humanos.

[0055] "Excipiente, transportador ou diluente farmacêuticamente aceitável" refere-se a um excipiente, transportador ou diluente que pode ser administrado a um paciente, juntamente com um agente, e que não destrói a sua atividade farmacológica e não é tóxico quando administrado em doses suficientes para aplicar uma quantidade terapêutica do agente.

[0056] Um "sal farmacêuticamente aceitável" de neo-antígenos específicos de tumor agrupados como aqui referido pode ser um ácido ou sal básico geralmente considerado na técnica como adequado para uso em contato com os tecidos de seres humanos ou animais sem excessiva toxicidade, irritação, resposta alérgica ou outro problema ou complicação. Tais sais incluem sais ácidos minerais e orgânicos de resíduos básicos tais como aminas, bem como sais alcalinos ou orgânicos de resíduos acídicos tais como ácidos carboxílicos. Sais farmacêuticos específicos incluem, mas não se limitam a, sais de ácidos como ácido clorídrico, fosfórico, hidrobromico, málico, glicólico, fumárico, sulfúrico, sulfâmico, sulfanílico, fórmico, toluenossulfônico, metanossulfônico, benzenossulfônico,

etanodisulfônico, 2-hidroxiethylsulfônico, nítrico, benzóico, 2-acetoxibenzóico, cítrico, tartárico, láctico, esteárico, salicílico, glutâmico, ascórbico, pamóico, succínico, fumárico, maléico, propiônico, hidroximaléico, hidroiódico, fenilacético, alcanóico como acético, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ onde n é 0-4 e semelhantes. De forma semelhante, cátions farmacologicamente aceitáveis incluem, mas não se limitam a, sódio, potássio, cálcio, alumínio, lítio e amônio. Os entendidos na arte reconhecerão outros sais farmacologicamente aceitáveis para os neo-antígenos específicos de tumor agrupados aqui providenciados, incluindo os listados por *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985). Em geral, um ácido ou sal básico farmacologicamente aceitável pode ser sintetizado a partir de um composto principal que contém uma fração básica ou ácida por meio de qualquer método químico convencional. Resumidamente, tais sais podem ser preparados por reação das formas livre de ácido ou base destes compostos com uma quantidade estequiométrica da base ou ácido apropriado em um solvente apropriado.

[0057] Como aqui usados, os termos "previnem", "prevenindo", "prevenção", "tratamento profilático" e semelhantes, referem-se a reduzir a probabilidade de

desenvolvimento de uma doença ou condição em um sujeito que não tem, mas está em risco de ou é suscetível de, desenvolver uma doença ou condição.

[0058] "Conjunto iniciador" significa um conjunto de oligonucleotídeos que podem ser usados, por exemplo, para PCR. Um conjunto iniciador consistiria de pelo menos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600 ou mais iniciadores.

[0059] "Proteínas ou moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC)", "moléculas MHC", "proteínas MHC" ou "proteínas HLA" devem ser entendidos como significando, em particular, proteínas capazes de ligar peptídeos resultantes da clivagem proteolítica de antigênios de proteína e representando epítomos de célula T potenciais, transportando-os para a superfície da célula e apresentando-os aí a células específicas, em particular a células T ingênuas, linfócitos T citotóxicos ou células adjuvantes T. O complexo principal de histocompatibilidade no genoma compreende a região genética cujos produtos genéticos são expressos na superfície da célula e são importantes para ligar e apresentar antigênios endógenos e/ou estranhos e, assim, para regular processos imunológicos. O complexo principal de histocompatibilidade é classificado em dois grupos genéticos codificando diferentes proteínas: moléculas

da classe MHC I e classe MHC II. As moléculas das duas classes MHC são especializadas para diferentes fontes de antígeno. As moléculas da classe MHC I apresentam tipicamente, mas não se restringem a, antígenos sintetizados endogenamente, por exemplo proteínas virais e antígenos tumorais. As moléculas da classe MHC II apresentam antígenos de proteínas originários de fontes exógenas, por exemplo produtos bacterianos. A biologia celular e padrões de expressão das duas classes MHC são adaptadas a estes diferentes papéis.

[0060] Moléculas MHC da classe I consistem de uma cadeia pesada e de uma cadeia leve, e são capazes de ligar um peptídeo de cerca de 8 a 11 aminoácidos, mas normalmente 9 ou 10 aminoácidos, se este peptídeo tiver motivos de ligação adequados, e apresentando-o a linfócitos T citotóxicos. O peptídeo ligado pelas moléculas MHC de classe I tipicamente, mas não exclusivamente, é originário de um antígeno de proteína endógena. A cadeia pesada das moléculas MHC de classe I é preferencialmente um monômero HLA-A, HLA-B ou HLA-C, e a cadeia leve é β -2-microglobulina.

[0061] As moléculas MHC da classe II consistem de uma cadeia α e de uma cadeia β , e são capazes de ligar um peptídeo de cerca de 15 a 24 aminoácidos se este peptídeo tiver motivos de ligação adequados, e apresentando-o a

células adjuvantes T. O peptídeo ligado pelas moléculas MHC de classe II normalmente origina de um antigênio de proteína exógena ou extracelular. A cadeia α e a cadeia β são em particular monômeros HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP.

[0062] As gamas providenciadas aqui são entendidas como abrangendo todos os valores dentro da gama. Por exemplo, uma gama de 1 a 50 é entendida como incluindo qualquer número, combinação de números ou sub-gama do grupo consistindo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, ou 50, bem como todos os valores decimais intervenientes entre os números inteiros anteriormente mencionados como, por exemplo, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, e 1,9. Em relação às sub-gamas, são especificamente contempladas "sub-gamas agrupadas" que se prolongam desde qualquer um dos pontos extremos da gama. Por exemplo, uma sub-gama agrupada de uma gama exemplar de 1 a 50 pode compreender 1 a 10, 1 a 20, 1 a 30, e 1 a 40 em uma direção, ou 50 a 40, 50 a 30, 50 a 20, e 50 a 10 na outra direção.

[0063] Um "receptor" deve ser entendido como significando uma molécula biológica ou um agrupamento de molécula capaz de ligar um ligando. Um receptor pode servir

para transmitir informação em uma célula, uma formação de célula ou um organismo. O receptor compreende pelo menos uma unidade de receptor e contém frequentemente duas ou mais unidades receptoras, onde cada unidade receptora pode consistir de uma molécula de proteína, em particular uma molécula de glicoproteína. O receptor tem um estrutura que complementa a estrutura de um ligando e pode complexificar o ligando como um parceiro de ligação. Pode ser transmitida informação de sinalização por alterações conformacionais do receptor a seguir a ligação com o ligando na superfície de uma célula. De acordo com a invenção, um receptor pode referir-se a proteínas particular das classes MHC I e II capazes de formar um complexo de receptor/ligando com um ligando, em particular um peptídeo ou fragmento de peptídeo de comprimento adequado.

[0064] Um "complexo de receptor/ligando" deve ser igualmente entendido como significando um "complexo de receptor/ligando" ou "complexo de receptor/fragmento de peptídeo", em particular uma molécula MHC apresentando um peptídeo ou fragmento de peptídeo da classe I ou classe II.

[0065] Por "reduz" entende-se uma alteração negativa de pelo menos 10%, 25%, 50%, 75%, ou 100%.

[0066] Por "referência" entende-se uma condição padrão ou de controle.

[0067] Uma "sequência de referência" é uma sequência definida usada como uma base para comparação de sequências. Uma sequência de referência pode ser um subconjunto de, ou a totalidade de, uma sequência especificada; por exemplo, um segmento de uma sequência cDNA de comprimento total ou sequência genômica; ou a sequência cDNA ou genômica completa. Para polipeptídeos, o comprimento da sequência de polipeptídeo de referência será geralmente de pelo menos cerca de 10-2000 aminoácidos, 10-1500, 10-1000, 10-500, ou 10-100. De preferência, o comprimento da sequência de polipeptídeo de referência pode ser pelo menos cerca de 10-50 aminoácidos, mais preferencialmente pelo menos 10-40 aminoácidos e ainda mais preferencialmente cerca de 10-30 aminoácidos, cerca de 10-20 aminoácidos, cerca de 15-25 aminoácidos ou cerca de 20 aminoácidos. Para ácidos nucleicos, o comprimento da sequência de ácido nucleico de referência será geralmente de pelo menos cerca de 50 nucleotídeos, de preferência pelo menos cerca de 60 nucleotídeos, mais preferencialmente pelo menos cerca de 75 nucleotídeos, e ainda mais preferencialmente cerca de 100 nucleotídeos ou cerca de 300 nucleotídeos ou qualquer número inteiro próximo ou entre eles.

[0068] Por "liga especificamente" entende-se um composto ou anticorpo que reconhece e liga um polipeptídeo

da invenção, mas que não reconhece nem liga substancialmente outras moléculas em uma amostra, por exemplo, uma amostra biológica.

[0069] Moléculas de ácido nucleico úteis nos métodos da invenção incluem qualquer molécula de ácido nucleico que codifique um polipeptídeo da invenção ou um seu fragmento. Tais moléculas de ácido nucleico não necessitam de ser 100 % idênticas a uma sequência de ácido nucleico endógena, mas exibirão tipicamente identidade substancial. Polinucleotídeos tendo "identidade substancial" a uma sequência endógena são tipicamente capazes de hibridar com pelo menos uma cadeia de uma molécula de ácido nucleico de fita dupla. Por "hibridar" entende-se emparelhar para formar uma molécula de fita dupla entre sequências de polinucleotídeo complementares (por exemplo, um gene descrito aqui), ou suas porções, sob várias condições de estringência. (Ver, por exemplo, Wahl, G. M. e S. L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399; Kimmel, A. R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507).

[0070] Por exemplo, a concentração de sal estrigente será normalmente inferior a cerca de 750 mM de NaCl e 75 mM de citrato trissódico, de preferência inferior a cerca de 500 mM de NaCl e 50 mM de citrato trissódico e mais preferencialmente inferior a cerca de 250 mM de NaCl e

25 mM de citrato trissódico. Pode ser obtida hibridação de baixa estringência na ausência de um solvente orgânico, por exemplo formamida, enquanto a hibridação de alta estringência pode ser obtida na presença de pelo menos cerca de 35% de formamida, e mais preferencialmente pelo menos cerca de 50% de formamida. Condições de temperatura estridentes incluirão normalmente temperaturas de pelo menos cerca de 30 °C, mais preferencialmente pelo menos cerca de 37 °C, e muito preferencialmente pelo menos cerca de 42 °C. Parâmetros variáveis adicionais, como o tempo de hibridação, a concentração de detergente, por exemplo, dodecil sulfato de sódio (SDS), e a inclusão ou exclusão de DNA transportador, são bem conhecidos dos entendidos na técnica. São alcançados vários níveis de estringência ao combinar estas várias condições conforme necessário. Em uma forma de realização preferencial, a hibridação ocorrerá a 30 °C em 750 mM de NaCl, 75 mM citrato trissódico e 1% de SDS. Em uma forma de realização mais preferencial, a hibridação ocorrerá a 37 °C em 500 mM de NaCl, 50 mM de citrato trissódico, 1% de SDS, 35% formamida, e 100 µg/ml de DNA de esperma de salmão desnaturado (ssDNA). Em uma forma de realização muito preferencial, a hibridação ocorrerá a 42 °C em 250 mM de NaCl, 25 mM de citrato trissódico, 1% de SDS, 50% formamida, e 200 µg/ml de ssDNA. Variações úteis destas

condições serão facilmente aparentes aos entendidos na técnica.

[0071] Para a maior parte das aplicações, as etapas de lavagem que se seguem à hibridação também variarão em estringência. As condições de estringência de lavagem podem ser definidas por concentração de sal e por temperatura. Como acima, a estringência de lavagem pode ser aumentada diminuindo a concentração de sal ou aumentando a temperatura. Por exemplo, a concentração de sal estringente para as etapas de lavagem será de preferência inferior a cerca de 30 mM de NaCl e 3 mM de citrato trissódico e mais preferencialmente inferior a cerca de 15 mM de NaCl e 1,5 mM de citrato trissódico. Condições de temperatura estringentes para as etapas de lavagem incluirão normalmente uma temperatura de pelo menos cerca de 25 °C, mais preferencialmente de pelo menos cerca de 42 °C, e ainda mais preferencialmente de pelo menos cerca de 68 °C. Em uma forma de realização preferencial, as etapas de lavagem ocorrerão a 25 °C em 30 mM de NaCl, 3 mM de citrato trissódico e 0,1% de SDS. Em uma forma de realização mais preferencial, as etapas de lavagem ocorrerão a 42 °C em 15 mM de NaCl, 1,5 mM de citrato trissódico e 0,1% de SDS. Em uma forma de realização mais preferencial, as etapas de lavagem ocorrerão a 68 °C em 15 mM de NaCl, 1,5 mM de citrato trissódico e 0,1% de SDS.

Variações adicionais destas condições serão facilmente aparentes aos entendidos na técnica. As técnicas de hibridação são bem conhecidas dos entendidos na técnica e são descritas, por exemplo, em Benton e Davis (*Science* 196:180, 1977); Grunstein e Hogness (*Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 72:3961, 1975); Ausubel *et al.* (*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience, Nova Iorque, 2001); Berger e Kimmel (*Guide to Molecular Cloning Techniques*, 1987, Academic Press, Nova Iorque); e Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nova Iorque.

[0072] Por "substancialmente idêntico" entende-se um polipeptídeo ou molécula de ácido nucleico exibindo pelo menos 50% de identidade com uma sequência de aminoácidos de referência (por exemplo, qualquer umas das sequência de aminoácidos aqui descritas) ou sequência de ácido nucleico (por exemplo, qualquer uma das sequências de ácido nucleico aqui descritas). De preferência, uma tal sequência é pelo menos 60%, mais preferencialmente 80% ou 85% e mais preferencialmente 90%, 95% ou mesmo 99% idêntica, ao nível de aminoácidos ou de ácido nucleico, com a sequência usada para comparação.

[0073] A identidade de sequência é tipicamente medida usando software de análise de sequência (por exemplo,

Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, BLAST, BESTFIT, GAP, ou programas PILEUP/PRETTYBOX). Tal software faz corresponder sequências idênticas ou semelhantes atribuindo graus de homologia a várias substituições, deleções e/ou outras modificações. Substituições conservadoras incluem tipicamente substituições dentro dos seguintes grupos: glicina, alanina; valina, isoleucina, leucina; ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, glutamina; serina, treonina; lisina, arginina; e fenilalanina, tirosina. Em uma abordagem exemplar para determinar o grau de identidade, pode ser usado um programa BLAST com uma pontuação de probabilidade entre e^{-3} e e^{-100} indicando uma sequência intimamente relacionada.

[0074] Um "epítipo de célula T" deve ser entendido como significando uma sequência de peptídeo que pode ser ligada por moléculas MHC da classe I ou II sob a forma de uma molécula MHC ou complexa MHC apresentando peptídeo e depois, em esta forma, ser reconhecido e ligado por células T ingênuas, linfócitos T citotóxicos ou células T adjuvantes.

[0075] Como aqui usados, os termos "tratar", "tratado", "tratamento" e semelhantes referem-se a reduzir ou melhorar um distúrbio e/ou sintomas associados a ele (por

exemplo, uma neoplasia ou tumor). Será apreciado que, apesar de não excluído, tratar um distúrbio ou problema de saúde não exige que o distúrbio, problema de saúde ou sintomas associados a eles sejam completamente eliminados.

[0076] O termo "efeito terapêutico" refere-se a alguma medida de alívio de um ou mais sintomas de um distúrbio (por exemplo, uma neoplasia ou tumor) ou da sua patologia associada. "Quantidade terapeuticamente eficaz" como aqui usado refere-se a uma quantidade de um agente que é eficaz, após administração única ou em doses múltiplas à célula ou paciente, no prolongamento da sobrevivência do paciente com um tal distúrbio, reduzindo um ou mais sinais ou sintomas do distúrbio, prevenindo ou atrasando a doença e semelhantes para lá do esperado na ausência de um tal tratamento. "Quantidade terapeuticamente eficaz" destina-se a qualificar a quantidade necessária para alcançar um efeito terapêutico. Um médico ou veterinário com perícia ordinária na técnica pode prontamente determinar e prescrever a "quantidade terapeuticamente eficaz" (por exemplo, ED50) da composição farmacêutica necessária. Por exemplo, o médico ou veterinário pode iniciar as doses dos compostos da invenção usados em uma composição farmacêutica a níveis inferiores aos necessários por forma a alcançar o desejado efeito terapêutico e gradualmente aumentar a dosagem até o efeito

desejado ser alcançado.

[0077] As composições farmacêuticas tipicamente devem providenciar uma dosagem desde cerca de 0,0001 mg a cerca de 200 mg do composto por quilograma de peso corporal por dia. Por exemplo, doses para administração sistêmica a um paciente humano podem ir desde 0,01-10 µg/kg, 20-80 µg/kg, 5-50 µg/kg, 75-150 µg/kg, 100-500 µg/kg, 250-750 µg/kg, 500-1000 µg/kg, 1-10 mg/kg, 5-50 mg/kg, 25-75 mg/kg, 50-100 mg/kg, 100-250 mg/kg, 50-100 mg/kg, 250-500 mg/kg, 500-750 mg/kg, 750-1000 mg/kg, 1000-1500 mg/kg, 1500-2000 mg/kg, 5 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, ou 200 mg/kg. Formas de unidade de dosagem farmacêutica são preparadas para providenciar desde cerca de 0,001 mg a cerca de 5000 mg, por exemplo desde cerca de 100 a cerca de 2500 mg do composto ou uma combinação de ingredientes essenciais por forma de unidade de dosagem.

[0078] Uma "vacina" deve ser entendida como significando uma composição para gerar imunidade para a profilaxia e/ou tratamento de doenças (por exemplo, neoplasia/tumor). Em conformidade, as vacinas são medicamentos que compreendem antigênios e destinam-se a ser usadas em humanos ou animais para gerar defesa específica e substância protetora por vacinação.

[0079] A recitação de uma listagem de grupos

químicos em qualquer definição de uma variável aqui inclui definições dessa variável como qualquer grupo único ou combinação de grupos listados. A recitação de uma forma de realização para uma variável ou aspecto aqui inclui essa forma de realização como qualquer forma de realização única ou em combinação com quaisquer outras formas de realização ou suas porções.

[0080] Quaisquer composições ou métodos aqui providenciados podem ser combinados com um ou mais de qualquer das outras composições e métodos aqui providenciados.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0081] O acima mencionado e outras características e vantagens da presente revelação serão melhor entendidos ao ler a descrição detalhada que se segue tomada em conjunto com as seguintes figuras, nas quais:

[0082] A Figura 1 representa um fluxograma para fazer uma vacina personalizada contra o câncer de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção.

[0083] A Figura 2 mostra um fluxograma para etapas de pré-tratamento para gerar uma vacina contra o câncer para um paciente com melanoma de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção.

[0084] A Figura 3 é um fluxograma representando uma

abordagem para abordar um estudo inicial de população de pacientes de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção. Cinco pacientes podem ser tratados no primeiro grupo com um nível de dose seguro antecipado. Se menos do que dois destes cinco pacientes desenvolverem uma toxicidade limitativa de dose no, ou antes do, primeiro ponto final de segurança primário, então podem ser recrutados mais 10 pacientes a esse nível de dose para expandir a análise da população de pacientes (por exemplo, para avaliar a eficácia, segurança, etc.). Se foram observadas duas ou mais toxicidades limitativas (DLTs), então a dose de poli-ICLC pode ser reduzida em 50% e os cinco pacientes adicionais podem ser tratados. Se menos do que dois destes pacientes desenvolverem uma toxicidade limitativa de dose então podem ser recrutados mais 10 pacientes a esse nível de dose. Contudo, se dois ou mais pacientes no nível reduzido de poli-ICLC desenvolverem uma DLT, então o estudo será interrompido.

[0085] As Figuras 4A e 4B mostram exemplos de diferentes tipos de mutações discretas e neoORFs, respectivamente.

[0086] A Figura 5 ilustra um calendário de imunização com base em uma estratégia de reforço inicial de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção. Podem ocorrer múltiplas imunizações ao longo das primeiras

~3 semanas para manter uma exposição a antigênio elevada inicial durante a fase de iniciação da resposta imunitária. Os pacientes podem então descansar por oito semanas para permitir que as células T de memória se desenvolvam e estas células T serão então reforçadas para manter uma forte resposta contínua.

[0087] A Figura 6 mostra uma linha temporal indicando o ponto final imunológico primário de acordo com um aspeto exemplar da invenção.

[0088] A Figura 7 ilustra uma linha temporal para administrar uma co-terapia com anticorpos de bloqueio de ponto de verificação para avaliar a combinação de alívio de supressão imunitária local acoplada com a estimulação de nova imunidade de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção. Como mostrado no esquema, os pacientes que entram como candidatos apropriados para terapia de bloqueio de ponto de verificação, por exemplo, anti-PDL1 como aqui mostrado, podem entrar e ser imediatamente tratados com anticorpos, enquanto a vacina está a ser preparada. Os pacientes podem então ser vacinados. A dosagem de anticorpos de bloqueio de ponto de verificação pode ser continuada ou possivelmente adiada enquanto a fase de iniciação da vacinação ocorre.

[0089] A Figura 8 é uma tabela que mostra as

atribuições de classificação para diferentes mutações neo-antigênicas de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção.

[0090] A Figura 9 mostra um esquema representando processamento de produto farmacêutico de peptídeos neo-antigênicos individuais em conjuntos de 4 subgrupos de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção.

[0091] A Figura 10 mostra uma representação esquemática de uma estratégia para descobrir sistematicamente neo-antigênicos tumorais de acordo com uma forma de realização exemplar da invenção. Mutações específicas de tumor em amostras de câncer podem ser detectadas usando sequenciação de exoma total (WES) ou de genoma total (WGS) e identificadas através da aplicação de algoritmos propiciadores de mutação (por exemplo, Mutect). Subsequentemente, neoepítomos candidatos podem ser previstos usando algoritmos bem validados (por exemplo, NetMHCpan) e sua identificação pode ser refinada por validação experimental para ligação HLA de peptídeo e por confirmação de expressão de gene no nível RNA. Estes neo-antigênicos candidatos podem ser subsequentemente testados quanto à sua capacidade de estimular respostas de célula T específicas de tumor.

[0092] As Figuras 11A-C mostram a frequência de

classes de mutações pontuais que têm o potencial de gerar neo-antígenos em leucemia linfóide crônica (CLL). A análise de dados WES e WGS gerados a partir de 91 casos de CLL revela que **(A)** mutações de sentido trocado são a classe mais frequente de alterações somáticas com o potencial de gerar neo-epítomos, enquanto **(B)** inserções e deleções de deslocamento de quadro de leitura e **(C)** mutações de local de união constituem eventos menos comuns.

[0093] As Figuras 12A-D representam a aplicação do algoritmo de previsão NetMHCpan para neoepítomos definidos funcionalmente e casos de CLL. A FIG. 12A mostra a ligação prevista (IC50) aos seus alelos HLA restritivos conhecidos de 33 neoepítomos de câncer funcionalmente identificados reportados na literatura testados por NetMHCpan, ordenados com base na afinidade de ligação prevista. A FIG. 12B mostra a distribuição do número de peptídeos previstos com afinidade de ligação HLA < 150 nM (negro) e 150-500 nM (cinzento) em 31 pacientes de CLL com informação de tipagem de HLA. A FIG. 12C mostra um gráfico comparando a ligação prevista (IC50 < 500 nM por NetMHCpan) de peptídeos de 4 pacientes com a afinidade de ligação determinada experimentalmente para ligação de alelos HLA-A e -B usando um ensaio de ligação de alelos MHC I competitivo com peptídeos sintetizados. É indicada a porcentagem de peptídeos previstos com evidência

de ligação experimental ($IC_{50} < 500$ nM). A FIG. 12D mostra que de 26 pacientes de CLL para os quais estiveram disponíveis tipagem de HLA e dados de expressão de gene Affymetrix U133 2.0+ a distribuição da expressão de gene foi examinada para todos os genes mutados somaticamente ($n=347$), e para o subconjunto de neoepítomos codificando mutações de gene com pontuações de ligação de HLA previstas de $IC_{50} < 500$ nM ($n=180$). No-baixo: genes dentro da expressão de quartil mais baixo; médio: genes dentro dos 2 quartis médios de expressão; e elevado: genes dentro do quartil de expressão mais elevado.

[0094] As Figuras 13A-B mostram os mesmo dados da Figura 12D mas separadamente para peptídeos 9-mer (Fig. 13A) e 10-mer (Fig. 13B). Em cada caso, são indicadas as porcentagens de peptídeos com $IC_{50} < 150$ nM e 150-500 nM previsto, com evidência de ligação experimental.

[0095] As Figuras 14A-C mostram que as mutações *ALMS1* e *C6ORF89* em Pt 1 geram peptídeos imunogênicos. A FIG. 14A mostra que 25 mutações de sentido trocado foram identificadas em células de CLL do Pt 1, das quais 30 peptídeos de 13 mutações foram previstos para ligar a alelos de classe MHC I do Pt 1. Foram confirmados experimentalmente um total de 14 peptídeos de 9 mutações como de ligação HLA. Células T pós-transplante (7 anos) de Pt 1 foram estimuladas

semanalmente *ex vivo* por 4 semanas com 5 grupos de 6 peptídeos mutados com ligação HLA prevista semelhante, por grupo, e subsequentemente testadas por ensaio IFN- γ ELISPOT. A FIG. 14B mostra que secreção aumentada de IFN- γ por células T foi detectada contra peptídeos do Grupo 2. Controle negativo - peptídeo de taxa irrelevante: controle positivo - PHA. A FIG. 14C mostra que dos peptídeos do Grupo 2, as células T do Pt 1 foram reativas a peptídeos mutados *ALMS1* e *C6ORF89* (painel direito; são apresentados resultados médios de poços duplicados) Painel esquerdo - os resultados IC50 previstos e experimentais (nM) de peptídeos mutados *ALMS1* e *C6ORF89*.

[0096] A Figura 15 ilustra que no contexto de sequência em volta dos locais de mutações e *FNDC3B*, *C6orf89* e *ALMS1* falta conservação evolucionária. Os neoepítomos gerados de cada um dos genes encontram-se dentro de caixas. Vermelho - aminoácidos conservados (aa) em todas as 4 espécies; azul- aa conservados em pelo menos 2 de 4 espécies; negro- conservação ausente em todas as espécies.

[0097] A Figura 16 mostra localização de mutações somáticas reportadas em genes *FNDC3B*, *C6orf89* e *ALMS1*. Mutações de sentido trocado identificadas em *FNDC3B*, *C6orf89* e *ALMS1* em Pts 1 e 2 com CLL em comparação com as mutações somáticas anteriormente reportadas em estes genes (base de

dados COSMIC) em todos os cânceres.

[0098] A Figura 17 mostra que FNDC3B mutado gera um neoepítipo imunogênico no Pt 2. A FIG. 17A mostra que 26 mutações de sentido trocado foram identificadas em células de CLL do Pt 2 das quais 37 peptídeos de 16 mutações foram previstos para ligar a alelos de classe MHC I do Pt 2. Foi confirmada experimentalmente a ligação de um total de 18 peptídeos de 12 mutações. Células T pós-transplante (~3 anos) do Pt 2 foram estimuladas com DCs autólogas ou células B pulsadas com 3 grupos de peptídeos mutados de ligação validados experimentalmente (total de 18 peptídeos) por 2 semanas *ex vivo* (ver a tabela S6). A FIG. 17B mostra secreção aumentada de IFN- γ detectada por ensaio ELISPOT em células T estimuladas com peptídeos do Grupo 1. A FIG. 17C mostra que dos peptídeos do Grupo 1, foi detectada secreção IFN- γ aumentada contra o peptídeo mut-*FNDC3B* (painel inferior; são apresentados resultados médios de poços duplicados). Painel superior- resultados previstos e experimentais de IC50 de peptídeos FNDC3B *mut-* e *wt*. A FIG. 17D ilustra que as células T reativas a FNDC3B-*mut* demonstram especificidade ao epítipo mutado mas não ao peptídeo de tipo selvagem correspondente (concentrações: 0,1-10 $\mu\text{g/ml}$), e são polifuncionais e secretoras de IFN- γ , GM-CSF e IL-2 (testes de Tukey *post-hoc* de modelação ANOVA de duas vias para comparações entre

reatividade de célula T contra peptídeo mu vs wt). A FIG. 17E mostra que células T específicas de *FNDC3B*-Mut são reativas em uma maneira restringida por classe I (esquerda) e reconhecem uma forma endogenamente processada e apresentada de *FNDC3B* mutado, uma vez que reconhecem APCs de HLA-A2 transfectados com um plasmídeo codificando um minigene de 300bp abrangendo a mutação *FNDC3B* (direita) (teste *t* de dois lados). Em cima, à direita - expressão confirmada por análise western blot de minigenes codificando mut- e wt- *FNDC3B*. A FIG. 17F mostra que células T reconhecendo o epítopo mut-*FNDC3B* como detectado por tetrâmeros HLA-A2⁺/mut *FNDC3B* são mais frequentemente detectadas em células T no Pt 2 em comparação com células T de um dador normal. A FIG. 17G mostra expressão de *FNDC3B* (com base em dados de matriz Affymetrix U133Plus2) no Pt 2 (triângulo), células B de CLL (n=182) e células B CD19⁺ normais de adultos voluntários saudáveis (n=24).

[0099] A Figura 18 ilustra a cinética da resposta de célula T específica de mut-*FNDC3B* em relação ao curso do transplante. A FIG. 18 mostra a carga tumoral molecular medida no Pt 2 usando um ensaio Taqman PCR específico de tumor do paciente com base na sequência IgH clonotípica em pontos temporais em série antes e após HSCT (painel superior). Painel intermédio - Detecção de células T reativas

a mut-*FNDC3B* em comparação com wt-*FNDC3B* ou peptídeos irrelevantes de sangue periférico antes e após alo-HSCT por IFN- γ ELISPOT a seguir a estimulação com células B autólogas pulsadas com peptídeos. O número de pontos secretores IFN- γ por células a cada ponto temporal foi medido em triplicado (teste *t* Welch; mut vs. wt). Inseto - secreção IFN- γ de células T a partir de 6 meses após HSCT (roxo) em comparação com 32 meses após HSCT (vermelho) a seguir a exposição a APCs pulsados com 0,1-10 $\mu\text{g/ml}$ (escala logarítmica) de peptídeo mut-*FNDC3B*. Painel inferior - Detecção de células TCR V β 11 específicas de mut-*FNDC3B* por CDR3 PCR agrupado específico de clone antes e após HSCT em sangue periférico do Pt 2 (ver métodos suplementares). Triângulos - ponto temporais nos quais uma amostra é testada; NA- sem amplificação; negro: detectada amplificação, onde '+' indica amplificação detectável até 2 vezes e '++' indica mais do que 2 vezes maior amplificação do que o nível mediano de todas as amostras com expressão detectável da sequência V β 11 específica do clone.

[00100] As Figuras 19A-D mostram o desenho de iniciadores específicos de TCR V β específicos de mut-*FNDC3B* em Pt 2. A FIG. 19A mostra células T específicas de mut-*FNDC3B* detectadas e isoladas de PBMCs do Pt 2 6 meses após HSCT usando um ensaio de captura IFN- γ . A FIG. 19B mostra

que RNA de células T *FNDC3B*-reativas expressou TCR V β 11, gerando um amplicon de 350bp de comprimento. A FIG. 19C mostra iniciadores de tempo real específicos de V β 11 concebidos com base na sequência do rearranjo de CDR3 específico de clone de mut-*FNDC3B* de forma que a sonda PCR quantitativa foi posicionada na região de diversidade juncional (laranja). A FIG. 19D mostra que as células T *FNDC3B*-reativas foram monoclonais para V β 11, como detectadas por espectrotipagem.

[00101] As Figuras 20A-G ilustram a aplicação do pipeline de descobertas de neo-antigênicos em todos os cânceres. A FIG. 20A mostra a comparação da taxa de mutação somática global detectada em todos os cânceres por sequenciação paralela massiva. Vermelho-Cl1; azul- carcinoma das células renais claras (RCC) e verde- melanoma. LSCC: Carcinoma das células escamosas do pulmão, AdCa pulmonar Adenocarcinoma pulmonar, ESO AdCa: Adenocarcinoma do esófago, DLBCL: Linfoma difuso de grandes células B, GBM: Glioblastoma, RCC papilar: Carcinoma papilar das células renais, RCC de Células Claras: Carcinoma das células renais claras, CLL: Leucemia linfóide crônica, AML: Leucemia mielóide aguda. A distribuição da Fig. 20B mostra o número de mutações de sentido trocado, de deslocamento de quadro de leitura e local de união por caso em melanoma, RCC de células

clara e CLL, a Fig. 20C mostra o comprimento médio de neoORF gerado por amostra e a Fig. 20D mostra os neopeptídeos previstos com $IC_{50} < 150$ nM (linhas tracejadas) e < 500 nM (linhas sólidas) gerados a partir de mutações de sentido trocado e de deslocamento de quadro de leitura. A FIG. 20E mostra as distribuições (mostradas por box plot (parcela de caixa)) do número de mutações de sentido trocado, de deslocamento de quadro de leitura e local de união, por caso, em 13 cânceres. A FIG. 20F mostra o comprimento somado de neoORF gerado por amostra. A FIG. 20G mostra os neopeptídeos previstos com $IC_{50} < 150$ nM e com < 500 nM gerados a partir de mutações de sentido trocado e de deslocamento de quadro de leitura. Para todas as parcelas de caixa, a extremidades esquerda e direita das caixas representam os valores de percentil 25 e 75, respectivamente, enquanto o segmento do meio é a mediana. Os extremos esquerdo e direito das barras prolongam-se para os valores mínimo e máximo.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[00102] A presente invenção se relaciona com estratégias personalizadas de tratamento da neoplasia, e mais particularmente tumores, administrando uma quantidade terapêuticamente eficaz de uma composição farmacêutica (por exemplo, uma vacina contra o câncer) compreendendo uma pluralidade de neo-antígenos específicos de neoplasia/tumor

a um sujeito (por exemplo, um mamífero como um humano). Como descrito em maior detalhe em baixo, a presente invenção se baseia, pelo menos em parte, na descoberta de que a sequenciação genoma/exoma pode ser usada para identificar todos, ou quase todos, os neo-antigênios mutados que estão singularmente presentes em uma neoplasia/tumor de um paciente individual, e que esta coleção de neo-antigênios mutados pode ser analisada para identificar um subconjunto específico otimizado de neo-antigênios para uso como uma vacina personalizada contra o câncer para o tratamento da neoplasia/tumor do paciente. Por exemplo, como mostrado na FIG. 1, uma população de neo-antigênios específicos de neoplasia/tumor pode ser identificada sequenciando a neoplasia/tumor e DNA normal de cada paciente para identificar mutações específicas do tumor, e determinar o alótipo de HLA do paciente. A população de neo-antigênios específicos de neoplasia/tumor e os seus antigênios nativos cognatos pode então ser submetida a análise bioinformática usando algoritmos validados para prever quais as mutações específicas de tumor que criam epítomos que se poderiam ligar ao alótipo de HLA do paciente, e em particular quais as mutações específicas de tumor que criam epítomos que se poderiam ligar ao alótipo HLA do paciente mais eficazmente do que o o antigênio nativo cognato. Com base em esta

análise, pode ser concebida e sintetizada para cada paciente uma pluralidade de peptídeos correspondendo a um subconjunto dessas mutações, e agrupadas para utilização como uma vacina contra o câncer na imunização do paciente. Os peptídeos de neo-antigênicos podem ser combinados com um adjuvante (por exemplo, poli-ICLC) ou outro agente anti-neoplásico. Sem estar limitado pela teoria, espera-se que estes neo-antigênicos contornem a tolerância central tímica (permitindo assim uma resposta anti-tumoral da célula T mais forte), ao mesmo tempo que reduzem o potencial de autoimunidade (por exemplo, evitando o direcionamento a auto-antigênicos normais).

[00103] O sistema imunitário pode ser classificado em dois subsistemas funcionais: o sistema imunitário inato e o adquirido. O sistema imunitário inato é a primeira linha de defesa contra infecções e a maior parte dos potenciais patógenos são rapidamente neutralizados por esse sistema antes que possam causar, por exemplo, uma infecção visível. O sistema imunitário adquirido reage a estruturas moleculares, referidas como antigênicos, do organismo intruso. Há dois tipos de reações imunitárias adquiridas que incluem a reação imunitária humoral e a reação imunitária mediada por células. Na reação imunitária humoral, os anticorpos segregados por células B para os fluidos corporais

ligam-se a antigênios derivados de patógenos, conduzindo à eliminação do patógeno através de vários mecanismos, por exemplo lise mediada por complemento. Na reação imunitária mediada por células, são ativadas células T capazes de destruir outras células. Por exemplo, se proteínas associadas a uma doença estiverem presentes em uma célula, elas são fragmentadas proteoliticamente em peptídeos dentro da célula. Proteínas celulares específicas ligam-se então ao antigênio ou peptídeo formado desta forma e transportam-nos para a superfície da célula, onde são apresentados aos mecanismos de defesa molecular, em particular as células T, do corpo. As células T citotóxicas reconhecem estes antigênios e matam as células que acolhem os antigênios.

[00104] As moléculas que transportam e apresentam peptídeos na superfície da célula são referidas como proteínas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Proteínas MHC são classificadas em dois tipos, referidas como classe MHC I e classe MHC II. As estruturas das proteínas das duas classes MHC são muito semelhantes; contudo, elas têm funções muito diferentes. As proteínas da classe MHC I estão presentes na superfície de quase todas as células do corpo, incluindo células tumorais. As proteínas da classe MHC I são carregadas com antigênios que normalmente originam de proteínas endógenas ou de patógenos presentes no

interior das células, e são então apresentadas a linfócitos T ingênuos ou citotóxicos (CTLs). As proteínas de classe MHC II estão presentes em células dendríticas, linfócitos B, macrófagos e outras células apresentando antigênios. Elas apresentam sobretudo peptídeos, que são processados a partir de fontes de antigênio externas, ou seja, exteriores às células, a células T adjuvantes (Th). A maior parte dos peptídeos ligados pelas proteínas da classe MHC I são originários de proteínas citoplásmicas produzidas nas células hospedeiras saudáveis de um organismo em si, e normalmente não estimulam uma reação imunitária. Em conformidade, linfócitos T citotóxicos que reconhecem tais moléculas MHC de classe I apresentando auto-peptídeos são deletados no timo (tolerância central) ou, após a sua liberação do timo, são deletados ou inativados, ou seja tolerizados (tolerância periférica). As moléculas MHC são capazes de estimular uma reação imunitária quando apresentam peptídeos a linfócitos T não tolerizados. Os linfócitos T citotóxicos possuem receptores de célula T (TCR) e moléculas CD8 na sua superfície. Os receptores de célula T são capazes de reconhecer e ligar peptídeos complexados com as moléculas da classe MHC I. Cada linfócito T citotóxico expressa um receptor de célula T único que é capaz de ligar complexos MHC/peptídeo específicos.

[00105] Os antigênios de peptídeo ligam-se às moléculas da classe MHC I por ligação de afinidade competitiva dentro do retículo endoplasmático, antes de serem apresentados à superfície da célula. Aqui, a afinidade de um antigênio de peptídeo individual está diretamente ligada à sua sequência de aminoácidos e à presença de motivos de ligação específicos em posições definidas dentro da sequência de aminoácidos. Se a sequência de um tal peptídeo for conhecida, é possível manipular o sistema imunitário contra células doentes usando, por exemplo, vacinas de peptídeos.

[00106] Uma das barreiras críticas ao desenvolvimento de imunoterapias curativas e específicas de tumor é a identificação e seleção de antigênios tumorais limitados e altamente específicos para evitar a autoimunidade. Neo-antigênios tumorais, que surgem como resultado de alteração genética (por exemplo, inversões, translocações, deleções, mutações de sentido trocado, mutações de local de união, etc.) dentro de células malignas, representam a classe de antigênios mais específica de tumor. Os neo-antigênios raramente foram usados em vacinas contra o câncer devido a dificuldades técnicas na sua identificação, na seleção de neo-antigênio otimizados e na produção de neo-antigênios para utilização em uma vacina. De acordo com a presente

invenção, estes problemas podem ser resolvidos da seguinte forma:

[00107] • identificar todas, ou quase todas, as mutações na neoplasia/tumor ao nível do DNA usando o genoma completo, exoma completo (por exemplo, apenas éxons capturados) ou sequenciação de RNA de tumor versus amostras de linha germinal correspondidas;

[00108] • analisar as mutações identificadas com um ou mais algoritmos de previsão de ligação peptídeo-MHC para gerar uma pluralidade de epítomos candidatos de célula T de neo-antigênicos que são expressos dentro da neoplasia/tumor e se podem ligar a alelos HLA do paciente; e

[00109] • sintetizar a pluralidade de peptídeos candidatos de neo-antigênicos selecionados dos conjuntos de todos os peptídeos neoORF e peptídeos de ligação previstos para utilização em uma vacina contra o câncer.

[00110] Por exemplo, traduzir informação de sequenciação para uma vacina terapêutica pode incluir:

[00111] (1) *Previsão de peptídeos mutados pessoais que se podem ligar a moléculas HLA do indivíduo.* Escolher com eficiência quais as mutações particulares a utilizar como imunogênio requer a identificação do tipo de HLA do paciente e a capacidade de prever que peptídeos mutados se ligariam com eficiência aos alelos HLA do paciente.

Recentemente, abordagens de aprendizagem de base em rede neural com peptídeos de ligação e de não ligação validados promoveram avanços na precisão de algoritmos de previsão para os principais alelos HLA-A e -B.

[00112] (2) *Formular o fármaco como uma vacina multi-epítipo de peptídeos longos.* Tomar como alvo o máximo de epítomos mutados possível aproveita a enorme capacidade do sistema imunitário, evita a oportunidade de escape imunológico por modulação por baixo de um produto genético imunodirecionado em particular e compensa a conhecida imprecisão de abordagens de previsão de epítomos. Peptídeos sintéticos providenciam um meio particularmente útil de preparar eficientemente múltiplos imunogênios e de traduzir rapidamente a identificação de epítomos mutantes em uma vacina eficaz. Os peptídeos podem ser prontamente sintetizados quimicamente e facilmente purificados usando reagentes livres de bactérias contaminantes ou substâncias animais. O tamanho pequeno permite um foco claro na região mutada da proteína e também reduz competição antigênica irrelevante de outros componentes (proteína não mutada ou antigênios de vetor viral).

[00113] (3) *Combinação com um adjuvante de vacina forte.* As vacinas eficazes requerem um adjuvante forte para iniciar uma resposta imunitária. Como descrito em baixo,

poli-ICLC, um agonista de TLR3 e os domínios de helicase de RNA de MDA5 e RIG3 mostraram várias propriedades desejáveis para um adjuvante de vacina. Estas propriedades incluem a indução de ativação local e sistêmica de células imunes *in vivo*, produção de quimiocinas e citocinas estimulantes e estimulação de apresentação de antígeno por DCs. Além disso, poli-ICLC pode induzir respostas CD4⁺ e CD8⁺ duráveis em humanos. De forma importante, foram observadas semelhanças notáveis na regulação para cima de vias transcricionais e de transdução de sinal em sujeitos vacinados com poli-ICLC e em voluntários que tinham recebido a vacina da febre amarela altamente eficaz capaz de replicação. Além disso, >90% dos pacientes com carcinoma dos ovários imunizados com poli-ICLC em combinação com uma vacina de peptídeos NY-ESO-1 (para além de Montanide) mostraram indução de célula T CD4⁺ e CD8⁺, bem como respostas de anticorpos ao peptídeo em um recente estudo da fase 1. Ao mesmo tempo, poli-ICLC tem sido amplamente testada em mais de 25 ensaios clínicos realizados até à data e exibiram um perfil de toxicidade relativamente benigno.

[00114] As vantagens acima descritas da invenção são descritas em maior detalhe de seguida.

Identificação de Mutações de Neo-Antígenos Específicos de Tumor

[00115] A presente invenção baseia-se, pelo menos em parte, na capacidade de identificar todas, ou quase todas, as mutações dentro de uma neoplasia/tumor (por exemplo, translocações, inversões, deleções e inserções grandes e pequenas, mutações de sentido trocado, mutações de local de união, etc.). Em particular, estas mutações estão presentes no genoma de células de neoplasia/tumor de um sujeito, mas não no tecido normal do sujeito. Tais mutações são de particular interesse se conduzirem a alterações que resultem em uma proteína com uma sequência de aminoácidos alterada que é única da neoplasia/tumor do paciente (por exemplo, um neo-antigênio). Por exemplo, mutações úteis podem incluir: (1) mutações não sinônimas conduzindo a diferentes aminoácidos na proteína; (2) mutações read-through nas quais um códon de paragem é modificado ou deletado, conduzindo a tradução de uma proteína mais longa com uma nova sequência específica de tumor no terminal C; (3) mutações de local de união que conduzem à inclusão de um íntron no mRNA maduro e assim a uma sequência de proteína específica de tumor única; (4) rearranjos cromossomais que dão azo a uma proteína quimérica com sequências específicas de tumor na junção de 2 proteínas (ou seja, fusão de gene); (5) mutações ou deleções de deslocamento de quadro de leitura que conduzem a um novo quadro de leitura aberta com uma nova sequência de

proteína específica de tumor; e semelhantes. Peptídeos com mutações ou polipeptídeos mutados surgindo de, por exemplo, mutações de local de união, de deslocamento de quadro de leitura, read-through ou de fusão de gene em células tumorais podem ser identificados por sequenciação de DNA, RNA ou proteína em células de tumor versus células normais.

[00116] Também dentro do escopo das invenções encontram-se peptídeos neo-antigênicos pessoais derivados de genes atuadores de tumor comuns e podem ainda incluir mutações específicas de tumor previamente identificadas. Por exemplo, genes atuadores de tumor comuns conhecidos e mutações de tumor em genes atuadores de tumor comuns podem ser encontrados na world wide web em (www)sanger.ac.uk/cosmic.

[00117] Várias iniciativas estão atualmente a decorrer para obter informação de sequência diretamente de milhões de moléculas individuais de DNA e RNA em paralelo. Tecnologias de sequenciação por síntese de moléculas simples em tempo real assentam na detecção de nucleotídeos fluorescentes à medida que são incorporados em uma cadeia nascente de DNA que é complementar ao modelo a ser sequenciado. Em um método, oligonucleótidos de 30-50 bases de comprimento são covalentemente ancorados na extremidade 5' a lamelas de cobertura de vidro. Estas cadeias ancoradas

realizam duas funções. Primeiro, atuam como locais de captura para as cadeias modelo alvo se os modelos estão configurados com caudas de captura complementares aos oligonucleótidos ligados à superfície. Também atuam como iniciadores para a extensão de iniciador dirigida ao modelo que forma a base da leitura da sequência. Os iniciadores de captura funcionam como um local de posição fixa para determinação da sequência usando múltiplos ciclos de síntese, detecção e clivagem química do ligador do corante para remover o corante. Cada ciclo consiste de adicionar a mistura de nucleotídeo polimerase/marcada, enxaguamento, imagiologia e clivagem do corante. Em um método alternativo, a polimerase é modificada com uma molécula dadora fluorescente e immobilizada em uma lamela de vidro, enquanto cada nucleotídeo é codificado por cores com uma fração fluorescente aceitadora ligada a um gama-fosfato. O sistema detecta a interação entre uma polimerase marcada com fluorescente e um nucleotídeo modificado por fluorescência à medida que o nucleotídeo se incorpora na cadeia *de novo*. Também existem outras tecnologias de sequenciação por síntese.

[00118] De preferência, pode ser usada qualquer plataforma de sequenciação por síntese para identificar mutações. Estão atualmente disponíveis quatro grandes plataformas de sequenciação por síntese: a Genome Sequencers

da Roche/454 Life Sciences, a HiSeq Analyzer da Illumina/Solexa, o sistema SOLiD da Applied BioSystems, e o sistema Heliscope da Helicos Biosciences. Plataformas de sequenciação por síntese também foram descritas pela Pacific Biosciences e VisiGen Biotechnologies. Cada uma destas plataformas pode ser usada nos métodos da invenção. Em algumas formas de realização, uma pluralidade de moléculas de ácido nucleico sendo sequenciadas é ligada a um suporte (por exemplo, suporte sólido). Para imobilizar o ácido nucleico em um suporte, uma sequência de captura/ local de iniciação universal podem ser adicionados na extremidade 3' e/ou 5' do modelo. Os ácidos nucléicos podem estar ligados ao suporte hibridando a sequência de captura a uma sequência complementar ligada covalentemente ao suporte. A sequência de captura (também referida como uma sequência de captura universal) é uma sequência de ácido nucleico complementar a uma sequência ligada a um suporte que pode servir dualmente como um iniciador universal.

[00119] Como uma alternativa a uma sequência de captura, um membro de um par de acoplamento (tal como, por exemplo, anticorpo/antigênio, receptor/ligando, ou o par avidina-biotina como descrito, por exemplo, no pedido de Patente U.S. No. 2006/0252077) pode ser ligado a cada fragmento a ser capturado em uma superfície revestida com um

respectivo segundo membro desse par de acoplamento. A seguir à captura, a sequência pode ser analisada, por exemplo, por detecção/ sequenciação de molécula simples, por exemplo como descrito nos Exemplos e na Patente U.S. No. 7,283,337, incluindo sequenciação por síntese dependente de modelo. Na sequenciação por síntese, a molécula ligada à superfície é exposta a uma pluralidade de trifosfatos de nucleotídeo marcados na presença de polimerase. A sequência do modelo é determinada pela ordem de nucleotídeos etiquetados incorporados na extremidade 3' da cadeia em crescimento. Isto pode ser feito em tempo real ou em um modo etapa-e-repetição. Para análise em tempo real, podem ser incorporadas diferentes etiquetas para cada nucleotídeo e podem ser usados múltiplos lasers para estimulação de nucleotídeos incorporados.

[00120] Qualquer tipo de célula pode ser usado para obter amostras de ácido nucleico para utilização nos métodos de sequenciação aqui descritos. Em uma forma de realização preferencial, a amostra de DNA ou RNA é obtida a partir de uma neoplasia/tumor ou de um fluido corporal, por exemplo sangue, obtido por meio de técnicas conhecidas (por exemplo, punção venosa) ou saliva. Em alternativa, podem ser realizados testes de ácido nucleico em amostras secas (por exemplo, cabelo ou pele).

[00121] Estão disponíveis vários métodos para detectar a presença de uma mutação particular ou alelo no DNA ou RNA de um indivíduo. Os avanços neste campo providenciaram genotipagem SNP em larga escala econômica, fácil e precisa. Mais recentemente, por exemplo, várias novas técnicas foram descritas incluindo hibridação dinâmica específica de alelo (DASH), eletroforese de gel diagonal de matriz de microplacas (MADGE), pirosequenciação, ligação específica de oligonucleotídeos, o sistema TaqMan, bem como várias tecnologias "chip" de DNA tais como os *chips* SNP da Affymetrix. Estes métodos requerem amplificação da região genética alvo, tipicamente por PCR. Ainda outros métodos recentemente desenvolvidos, com base na geração de moléculas de sinal pequenas por clivagem invasiva seguida de espectrometria de massa ou sondas cadeado immobilizadas e amplificação de círculo rolante, podem eventualmente eliminar a necessidade de PCR. Muitos dos métodos conhecidos na técnica para detectar polimorfismos de nucleotídeo único específicos são resumidos em baixo. O método da presente invenção é entendido como incluindo todos os métodos disponíveis.

[00122] Meios de detecção de base PCR podem incluir amplificação de uma pluralidade de marcadores simultaneamente. Por exemplo, é bem conhecido na técnica

selecionar iniciadores de PCR para gerar produtos PCR que não se sobrepõem em tamanho e podem ser analisados simultaneamente

[00123] Em alternativa, é possível amplificar diferentes marcadores com iniciadores que são marcados diferencialmente e que podem assim ser cada um detectado diferencialmente. Claro, meios de detecção de base hibridação permitem a detecção diferencial de múltiplos produtos PCR em uma amostra. Outras técnicas são conhecidas na técnica para permitir análises multiplex de uma pluralidade de marcadores.

[00124] Foram desenvolvidos vários métodos para facilitar a análise de polimorfismos de nucleotídeos únicos em DNA genômico ou RNA celular. Em uma forma de realização, o polimorfismo de base única pode ser detectado usando um nucleotídeo resistente a exonuclease especializado, como revelado, por exemplo, na Patente U.S. No. 4,656,127. De acordo com o método, um iniciador complementar à sequência alélica imediatamente 3' ao local polimórfico é permitido hibridar com uma molécula alvo obtida de um particular animal ou humano. Se o local polimórfico na molécula alvo contiver um nucleotídeo que seja complementar ao derivado de nucleótido resistente a exonuclease particular presente, então o derivado será incorporado na extremidade do iniciador

hibridado. Tal incorporação dá origem ao iniciador resistente a exonuclease, permitindo assim a sua detecção. Uma vez que a identidade do derivado resistente a exonuclease da amostra é conhecida, uma descoberta que o iniciador se tornou resistente a exonucleases revela que o nucleotídeo presente no local polimórfico da molécula alvo foi complementar ao do derivado de nucleotídeo usado na reação. Este método tem a vantagem de não requerer a determinação de grandes quantidades de dados de sequência externos.

[00125] Em outra forma de realização da invenção, é usado um método de base solução para determinar a identidade do nucleotídeo de um local polimórfico. Cohen et al. (Patente francesa No. 2,650,840; Pedido PCT No. WO1991/02087). Tal como no método da Patente U.S. No. 4,656,127, pode ser empregue um iniciador que é complementar a sequências alélicas imediatamente 3' a um local polimórfico. O método determina a identidade do nucleotídeo desse local usando derivados dideoxynucleotídeos marcados que, se complementares ao nucleotídeo do local polimórfico, se incorporarão no terminal do iniciador.

[00126] Um método alternativo conhecido como Genetic Bit Analysis ou GBA® é descrito no Pedido PCT No. WO1992/15712). GBA® usa misturas de terminadores marcados e um iniciador que é complementar à sequência 3' a um local

polimórfico. O terminador marcado que é incorporado é assim determinado por, e complementarmente ao, nucleotídeo presente no local polimórfico da molécula alvo sendo avaliada. Em contraste com o método de Cohen et al. (Patente francesa 2,650,840; pedido PCT No. W01991/02087) o método GBA® é de preferência um ensaio de fase heterogênea no qual o iniciador ou a molécula alvo é imobilizado em uma fase sólida.

[00127] Recentemente, foram descritos vários procedimentos de incorporação de nucleotídeo guiados por iniciador para analisar locais polimórficos em DNA (Komher, J. S. et al., Nucl. Acids. Res. 17:7779- 7784 (1989); Sokolov, B. P., Nucl. Acids Res. 18:3671 (1990); Syvanen, A.-C, et al., Genomics 8:684-692 (1990); Kuppuswamy, M. N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88: 1143- 1147 (1991); Prezant, T. R. et al., Hum. Mutat. 1: 159-164 (1992); Ugozzoli, L. et al., GATA 9: 107- 112 (1992); Nyren, P. et al., Anal. Biochem. 208: 171-175 (1993)). Estes métodos diferem de GBA® na medida em que todos assentam na incorporação de deoxinucleotídeos marcados para discriminar entre as bases em um local polimórfico. Em um tal formato, uma vez que o sinal é proporcional ao número de deoxinucleotídeos incorporado, os polimorfismos que ocorrem nos testes do mesmo nucleotídeo podem resultar em sinais que

são proporcionais ao comprimento do teste (Syvanen, A.-C, et al., Amer. J. Hum. Genet. 52:46-59 (1993)).

[00128] Um método alternativo para identificar neo-antigênios específicos de tumor é sequenciação de proteína direta. A sequenciação de proteína de digestões enzimáticas usando técnicas MS multidimensionais (MSn), incluindo espectrometria de massa em tandem (MS/MS), pode também ser usada para identificar neo-antigênios da invenção. Tais abordagens proteômicas permitem análise rápida e altamente automatizada (ver, por exemplo, K. Gevaert e J. Vandekerckhove, Electrophoresis 21:1145-1154 (2000)). É ainda contemplado dentro do escopo da invenção que métodos de elevado rendimento para sequenciação *de novo* de proteínas desconhecidas possam ser usados para analisar o proteoma de um tumor de um paciente para identificar neo-antigênios expressos. Por exemplo, pode ser usada sequenciação de proteína meta shotgun (aleatória) para identificar neo-antigênios expressos (ver, por exemplo, Guthals et al. (2012) Shotgun Protein Sequencing with Meta-contig Assembly, Molecular and Cellular Proteomics 11(10):1084-96).

[00129] Neo-antigênios específicos de tumor podem também ser identificados usando multímeros MHC para identificar respostas de célula T específicas de neo-antigênios. Por exemplo, podem ser realizadas análises de

alto rendimento de respostas de célula T específicas de neo-antigênicos em amostras de pacientes usando técnicas de rastreio MHC com base em tetrâmeros (ver, por exemplo, Hombrink et al. (2011) High-Throughput Identification of Potential Minor Histocompatibility Antigens by MHC Tetramer-Based Screening: Feasibility and Limitations 6(8):1-11; Hadrup et al. (2009) Parallel detection of antigen-specific T-cell responses by multidimensional encoding of MHC multimers, Nature Methods, 6(7):520-26; van Rooij et al. (2013) Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an Ipilimumab-responsive melanoma, Journal of Clinical Oncology, 31:1-4; e Heemskerk et al. (2013) The cancer antigenome, EMBO Journal, 32(2):194-203). É contemplado dentro do escopo da invenção que tais técnicas de rastreio com base em tetrâmeros podem ser usadas para a identificação inicial de neo-antigênicos específicos de tumor ou, em alternativa, como um protocolo de rastreio secundário para avaliar a que neo-antigênicos pode um paciente já ter estado exposto, facilitando assim a seleção de neo-antigênicos candidatos às vacinas da invenção.

Desenho de Neo-Antigênicos Específicos de Tumor

[00130] A invenção inclui ainda peptídeos isolados (por exemplo, peptídeos neo-antigênicos contendo as mutações específicas de tumor identificadas pelos métodos da

invenção, peptídeos que compreendem mutações específicas de tumor conhecidas e polipeptídeos mutantes ou seus fragmentos identificados pelo método da invenção). Estes peptídeos e polipeptídeos são aqui referidos como "peptídeos neo-antigênicos" ou "polipeptídeos neo-antigênicos". O termo "peptídeo" é usado indistintamente como "peptídeo mutante" e "peptídeo neo-antigênico" e "peptídeo de tipo selvagem" na presente especificação para designar uma série de resíduos, tipicamente aminoácidos L, ligados uns aos outros, tipicamente por ligações peptídicas entre os grupos alfa-amino e alfa-carboxila de aminoácidos adjacentes. Os polipeptídeos ou peptídeos podem ter uma variedade de comprimentos e incluirão minimamente a pequena região que se prevê ligar à molécula HLA do paciente (o "epítopo"), bem como aminoácidos adjacentes adicionais que se prolongam em ambas as direções de terminal N e C. Os polipeptídeos ou peptídeos podem estar nas suas formas neutras (não carregadas) ou em formas que são sais, e ou livres de modificações como glicosilação, oxidação de cadeia lateral ou fosforilação ou contendo estas modificações, na condição de que a modificação não destrua a atividade biológica dos polipeptídeos como aqui descrito.

[00131] Em certas formas de realização, o tamanho da pelo menos uma molécula de peptídeo neo-antigênico pode

compreender, mas não se limita a, cerca de 8, cerca de 9, cerca de 10, cerca de 11, cerca de 12, cerca de 13, cerca de 14, cerca de 15, cerca de 16, cerca de 17, cerca de 18, cerca de 19, cerca de 20, cerca de 21, cerca de 22, cerca de 23, cerca de 24, cerca de 25, cerca de 26, cerca de 27, cerca de 28, cerca de 29, cerca de 30, cerca de 31, cerca de 32, cerca de 33, cerca de 34, cerca de 35, cerca de 36, cerca de 37, cerca de 38, cerca de 39, cerca de 40, cerca de 41, cerca de 42, cerca de 43, cerca de 44, cerca de 45, cerca de 46, cerca de 47, cerca de 48, cerca de 49, cerca de 50, cerca de 60, cerca de 70, cerca de 80, cerca de 90, cerca de 100, cerca de 110, cerca de 120 ou mais resíduos aminoácidos e qualquer gama dali derivável. Em formas de realização específicas, as moléculas de peptídeos neo-antigênicos são iguais a ou inferiores a 50 aminoácidos. Em uma forma de realização preferencial, as moléculas de peptídeos neo-antigênicos são iguais a cerca de 20 a cerca de 30 aminoácidos.

[00132] Pode ser concebido um peptídeo mais longo de várias formas. Por exemplo, quando as regiões de ligação de HLA (por exemplo, os "epítomos") são previstas ou conhecidas, um peptídeo mais longo pode consistir de: peptídeos de ligação individuais com uma extensão de 0-10 aminoácidos para o terminal N e C de cada produto genético correspondente. Um peptídeo mais longo pode também consistir

de uma concatenação de alguns ou todos os peptídeos de ligação com sequências prolongadas para cada. Em outro caso, quando a sequenciação revela uma sequência de neo-epítipo longa (> 10 resíduos) presente no tumor (por exemplo, devido a deslocamento de quadro de leitura, read through ou inclusão de íntrons que conduzem a uma nova sequência de peptídeos), um peptídeo mais longo pode consistir de toda a gama de novos aminoácidos específicos de tumor. Em ambos os casos, a utilização de um peptídeo mais longo requer processamento endógeno por células profissionais apresentando antígenos tais como células dendríticas e podem conduzir a maior eficácia na apresentação de antígeno e na indução de respostas de célula T. Em alguns casos, é desejável ou preferível alterar a sequência prolongada para melhorar as propriedades bioquímicas do polipeptídeo (propriedades como a solubilidade ou estabilidade) ou para melhorar a probabilidade de processamento proteossomal eficiente do peptídeo (Zhang et al (2012) Aminopeptidase substrate preference affects HIV epitope presentation and predicts immune escape patterns in HIV-infected individuals. J. Immunol 188:5924-34; Hearn et al (2010) Characterizing the specificity and co-operation of aminopeptidases in the cytosol and ER during MHC Class I antigen presentation. J. Immunol 184(9):4725-32; Wiemerhaus et al (2012) Peptidases

trimming MHC Class I ligands. Curr Opin Immunol 25:1-7).

[00133] Os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos podem ligar uma proteína HLA. Em aspectos preferenciais, os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos podem ligar uma proteína HLA com maior afinidade do que peptídeos nativos/de tipo selvagem correspondentes. O peptídeo ou polipeptídeo neo-antigênico pode ter um IC50 de cerca de menos de 1000 nM, cerca de menos de 500 nM, cerca de menos de 250 nM, cerca de menos de 200 nM, cerca de menos de 150 nM, cerca de menos de 100 nM, ou cerca de menos de 50 nM.

[00134] Em uma forma de realização preferencial, os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos da invenção não induzem uma resposta auto-imunitária e ou invocam tolerância imunológica quando administrados a um paciente.

[00135] A invenção também providencia composições compreendendo vários peptídeos neo-antigênicos. Em algumas formas de realização, a composição compreende pelo menos 5 ou mais peptídeos neo-antigênicos. Em algumas formas de realização, a composição contém pelo menos cerca de 6, cerca de 8, cerca de 10, cerca de 12, cerca de 14, cerca de 16, cerca de 18 ou cerca de 20 diferentes peptídeos. Em algumas formas de realização, a composição compreende pelo menos 20 diferentes peptídeos. De acordo com a invenção, 2 ou mais dos peptídeos diferentes podem ser derivados do mesmo

polipeptídeo. Por exemplo, se uma mutação neo-antigênica preferencial codificar um polipeptídeo neoORF, dois ou mais dos peptídeos neo-antigênicos podem ser derivados do polipeptídeo neoORF. Em uma forma de realização, os dois ou mais peptídeos neo-antigênicos derivados do polipeptídeo neoORF podem compreender uma matriz em mosaico que cobre o polipeptídeo (por exemplo, os peptídeos neo-antigênicos podem compreender uma série de peptídeos neo-antigênicos sobrepostos que cobrem uma porção, ou todo, o polipeptídeo neoORF). Sem ficar limitado pela teoria, acredita-se que cada peptídeo tem o seu próprio epítipo; em conformidade, uma matriz em mosaico que cobre um peptídeo neoORF pode dar origem a polipeptídeos que se dirigem a diferentes moléculas HLA. Peptídeos neo-antigênicos podem ser derivados de qualquer gene codificador de proteína. Polipeptídeos exemplares de onde os peptídeos neo-antigênicos podem ser derivados podem ser encontrados por exemplo no banco de dados COSMIC (na worldwide web em www.sanger.ac.uk/cosmic). COSMIC apresenta uma seleção de informação abrangente sobre mutações somáticas no câncer humano. O peptídeo pode conter a mutação específica de tumor. Em alguns aspectos, a mutação específica de tumor está em um gene atuador comum ou é uma mutação atuadora comum para um tipo de câncer particular. Por exemplo, peptídeos de mutação atuadores comuns podem

incluir, mas não se limitam a, os seguintes: um polipeptídeo SF3B1, um polipeptídeo MYD88, um polipeptídeo TP53, um polipeptídeo ATM, um polipeptídeo Abl, um polipeptídeo FBXW7, um polipeptídeo DDX3X, um polipeptídeo MAPK1, ou um polipeptídeo GNB1.

[00136] Os peptídeos neo-antigênicos, polipeptídeos e análogos podem ser adicionalmente modificados para conter frações químicas adicionais que não fazem normalmente parte da proteína. Essas frações derivadas podem melhorar a solubilidade, a semi-vida biológica, absorção da proteína ou afinidade de ligação. As frações podem também reduzir ou eliminar quaisquer efeitos secundários desejáveis das proteínas e semelhantes. Uma visão global dessas frações pode ser encontrada em Remington's Pharmaceutical Sciences, 20^a ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000).

[00137] Por exemplo, peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos possuindo a atividade desejada podem ser modificados conforme necessário para providenciar certos atributos desejados, por exemplo características farmacológicas melhoradas, ao mesmo tempo que aumentam ou pelo menos retêm substancialmente toda a atividade biológica do peptídeo não modificado para ligar a molécula MHC desejada e ativar a célula T apropriada. Por exemplo, os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos podem ser submetidos a várias

alterações, tais como substituições, quer conservadoras ou não conservadoras, onde tais alterações podem providenciar certas vantagens na sua utilização, tal como ligação MHC melhorada. Tais substituições conservadoras podem compreender substituir um resíduo aminoácido por outro resíduo aminoácido que seja biologicamente e/ou quimicamente semelhante, por exemplo um resíduo hidrofóbico por outro, ou um resíduo polar por outro. O efeito de substituições de aminoácidos únicos pode também ser analisado usando aminoácidos D. Tais modificações podem ser feitas usando procedimentos de síntese de peptídeos bem conhecidos, como descrito por exemplo em, Merrifield, Science 232:341-347 (1986), Barany & Merrifield, The Peptides, Gross & Meienhofer, eds. (N.I., Academic Press), págs. 1-284 (1979); e Stewart & Young, Solid Phase Peptide Synthesis, (Rockford, III., Pierce), 2^a Ed. (1984).

[00138] Os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos podem também ser modificados prolongando ou diminuindo a sequência de aminoácidos do composto, por exemplo por adição ou deleção de aminoácidos. Os peptídeos neo-antigênicos, polipeptídeos ou análogos também podem ser modificados alterando a ordem ou composição de certos resíduos. Será apreciado pelos entendidos na técnica que certos resíduos aminoácidos essenciais para a atividade biológica, por

exemplo aqueles em locais de contato críticos ou resíduos conservados, não podem geralmente ser alterados sem um efeito adverso na atividade biológica. Os aminoácidos não críticos não precisam de ser limitados aos ocorrendo naturalmente em proteína, tais como aminoácidos L- ou seus isômeros D, mas podem incluir também aminoácidos não naturais, tais como aminoácidos β - γ - δ , bem como muitos derivados de aminoácidos L-a.

[00139] Tipicamente, um polipeptídeo ou peptídeo neo-antigênico pode ser otimizado usando uma série de peptídeos com substituições de aminoácidos únicas para determinar o efeito de carga eletrostática, hidrofobicidade, etc. na ligação MHC. Por exemplo, uma série de substituições de aminoácidos positivamente carregados (por exemplo, Lys ou Arg) ou negativamente carregados (por exemplo, Glu) podem ser feitas ao longo do comprimento do peptídeo revelando diferentes padrões de sensibilidade em relação a várias moléculas MHC e receptores de células T. Além disso, podem ser empregues múltiplas substituições usando pequenas frações relativamente neutras como Ala, Gly, Pro ou resíduos semelhantes. As substituições podem ser homo-oligômeros ou hetero-oligômeros. O número e tipos de resíduos que são substituídos ou adicionados depende do espaçamento necessário entre pontos de contato essenciais e certos

atributos funcionais que são procurados (por exemplo, hidrofobicidade versus hidrofiliabilidade). Afinidade de ligação aumentada para uma molécula MHC ou receptor de célula T pode também ser alcançada por tais substituições, em comparação com a afinidade do peptídeo principal. Em qualquer caso, tais substituições devem empregar resíduos aminoácidos ou outros fragmentos moleculares escolhidos para evitar, por exemplo, interferência estérica e de carga que poderia interromper a ligação.

[00140] Substituições aminoácidas são tipicamente resíduos únicos. Substituições, deleções, inserções ou qualquer sua combinação podem ser combinadas para chegar a um peptídeo final. Variantes substitucionais são aquelas nas quais pelo menos um resíduo de um peptídeo foi removido e um resíduo diferente foi inserido no seu lugar.

[00141] Os peptídeos e polipeptídeos neo-antigênicos podem ser modificados para providenciar os atributos desejados. Por exemplo, a capacidade dos peptídeos de induzir atividade CTL pode ser potenciada por ligação a uma sequência que contém pelo menos um epítopo capaz de induzir uma resposta de células T adjuvantes. Conjugados particularmente preferenciais de peptídeos imunogênicos/adjuvantes T são ligados por uma molécula espaçadora. O espaçador é tipicamente constituído de moléculas neutras relativamente

pequenas, tais como aminoácidos ou miméticos de aminoácidos, que são substancialmente não carregados sob condições fisiológicas. Os espaçadores são tipicamente selecionados de, por exemplo, Ala, Gly, ou outros espaçadores de aminoácidos não polares ou aminoácidos polares neutros. Será entendido que o espaçador opcionalmente presente não necessita de ser constituído dos mesmos resíduos e assim pode ser um hetero- ou homo-oligômero. Quando presente, o espaçador será normalmente pelo menos um ou dois resíduos, mais normalmente três a seis resíduos. Em alternativa, o peptídeo pode estar ligado ao peptídeo de adjuvante T sem um espaçador.

[00142] O peptídeo neo-antigênico pode estar ligado ao peptídeo de adjuvante T ou diretamente ou por meio de um espaçador no terminal amino ou carboxi do peptídeo. O terminal amino do peptídeo neo-antigênico ou do peptídeo de adjuvante T pode ser acilado. Peptídeos de adjuvante T exemplares incluem toxóide tetânico 830-843, gripe 307-319, malária circumsporozoite 382-398 e 378- 389.

Produção de Neo-Antigênios Específicos de Tumor

[00143] A presente invenção baseia-se, pelo menos em parte, na capacidade de apresentar ao sistema imunitário do paciente um grupo de neo-antigênios específicos de tumor. Um entendido na técnica apreciará que há várias maneiras de

produzir tais neo-antigênios específicos de tumor. Em geral, tais neo-antigênios específicos de tumor podem ser produzidos *in vitro* ou *in vivo*. Neo-antigênios específicos de tumor podem ser produzidos *in vitro* como peptídeos ou polipeptídeos, que podem então ser formulados em uma vacina personalizada contra a neoplasia e administrados a um paciente. Como descrito em maior detalhe em baixo, uma tal produção *in vitro* pode ocorrer através de vários métodos conhecidos dos entendidos na técnica tal como, por exemplo, síntese de peptídeos ou expressão de um peptídeo/polipeptídeo de uma molécula de DNA ou RNA em qualquer um de uma variedade de sistemas de expressão recombinantes bacterianos, eucarióticos ou virais, seguido de purificação do peptídeo/polipeptídeo expresso. Em alternativa, neo-antigênios específicos de tumor podem ser produzidos *in vivo* introduzindo moléculas (por exemplo, DNA, RNA, sistemas de expressão virais e semelhantes) que codificam neo-antigênios específicos de tumor em um paciente, pelo que neo-antigênios específicos de tumor codificados são expressos.

Síntese de Peptídeos/Polipeptídeos *In Vitro*

[00144] Proteínas ou peptídeos podem ser feitos através de qualquer técnica conhecida dos entendidos na técnica, incluindo expressão de proteínas, polipeptídeos ou

peptídeos através de técnicas biológicas moleculares padrão, do isolamento de proteínas ou peptídeos de fontes naturais, ou da síntese química de proteínas ou peptídeos. O nucleotídeo e sequências de proteína, polipeptídeo e peptídeo correspondendo a vários genes foram previamente revelados e podem ser encontrados em bancos de dados computadorizados conhecidos dos entendidos na técnica. Um tal banco de dados é o Genbank do National Center for Biotechnology Information e os bancos de dados GenPept localizados no site do National Institutes of Health. As regiões codificantes para genes conhecidos podem ser amplificadas e/ou expressas usando as técnicas reveladas aqui ou como seria conhecido dos entendidos na técnica. Em alternativa, são conhecidas pelos entendidos na técnica várias preparações comerciais de proteínas, polipeptídeos e peptídeos.

[00145] Os peptídeos podem ser prontamente sintetizados quimicamente usando reagentes livres de bactérias contaminantes ou substâncias animais (Merrifield RB: Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54, 1963).

[00146] Um outro aspeto da invenção providencia um ácido nucleico (por exemplo, um polinucleotídeo) codificando um peptídeo neo-antigênico da invenção, que pode ser usado

para produzir o peptídeo neo-antigênico in vitro. O polinucleotídeo pode ser, por exemplo, DNA, cDNA, PNA, CNA, RNA, quer de cadeia única ou dupla, ou formas nativas ou estabilizadas de polinucleotídeos, tais como polinucleotídeos com uma estrutura de fosforotiato ou suas combinações e pode ou não conter íntrons desde que codifique o peptídeo. Um outro aspeto adicional da invenção providencia um vetor de expressão capaz de expressar um polipeptídeo de acordo com a invenção. Os vetores de expressão para diferentes tipos de células são bem conhecidos na técnica e podem ser selecionados sem experimentação desnecessária. Geralmente, o DNA é inserido em um vetor de expressão, tal como um plasmídeo, em orientação adequada e quadro de leitura correto para expressão. Se necessário, o DNA pode ser ligado às sequências de nucleotídeo de controle regulatório transcricional e translacional apropriadas reconhecidas pelo hospedeiro desejado (por exemplo, bactérias), apesar de tais controles estarem geralmente disponíveis no vetor de expressão. O vetor é então introduzido na bactéria hospedeira para clonagem usando técnicas padronizadas (ver, por exemplo, Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.I.).

[00147] A invenção compreende ainda variantes e

equivalentes que são substancialmente homólogos aos neo-antigênicos específicos de tumor aqui descritos. Estes podem conter, por exemplo, mutações de substituição conservadoras, ou seja, a substituição de um ou mais aminoácidos por aminoácidos semelhantes. Por exemplo, a substituição conservadora refere-se à substituição de um aminoácido por outro dentro da mesma classe geral tal como, por exemplo, um aminoácido ácido por outro aminoácido ácido, um aminoácido básico por outro aminoácido básico ou um aminoácido neutro por outro aminoácido neutro. O que se entende por uma substituição de aminoácido conservadora é bem conhecido na técnica.

[00148] A invenção também inclui vetores de expressão compreendendo os polinucleotídeos isolados, bem como células hospedeiras contendo os vetores de expressão. Também é contemplado dentro do escopo da invenção que os peptídeos neo-antigênicos podem ser providenciados sob a forma de moléculas de RNA ou cDNA codificando os peptídeos neo-antigênicos desejados. A invenção também providencia que o um ou mais peptídeos neo-antigênicos da invenção podem ser codificados por um vetor de expressão único. A invenção também providencia que o um ou mais peptídeos neo-antigênicos da invenção podem ser codificados e expressos *in vivo* usando um sistema de base viral (por exemplo, sistema adenovírus).

[00149] O termo "polinucleotídeo codificando um polipeptídeo" abrange um polinucleotídeo que inclui apenas sequência de codificação para o polipeptídeo bem como um polinucleotídeo que inclui sequências codificantes e/ou não codificantes adicionais. Os polinucleotídeos da invenção podem ser na forma de RNA ou na forma de DNA. O DNA inclui cDNA, DNA genômico e DNA sintético; e pode ser de fita dupla ou fita única, e se de fita única pode ser a fita de codificação ou fita de não codificação (anti-sentido).

[00150] Em formas de realização, os polinucleotídeos podem compreender a sequência de codificação para o peptídeo neo-antigênico específico de tumor fundido no mesmo quadro de leitura a um polinucleotídeo que ajuda, por exemplo, na expressão e/ou secreção de um polipeptídeo de uma célula hospedeira (por exemplo, uma sequência líder que funciona como uma sequência secretória para controlar o transporte de um polipeptídeo da célula). O polipeptídeo tendo uma sequência líder é uma pré-proteína e pode ter a sequência líder clivada pela célula hospedeira para formar a forma madura do polipeptídeo.

[00151] Em formas de realização, os polinucleotídeos podem compreender a sequência de codificação para o peptídeo neo-antigênico específico de tumor fundido no mesmo quadro de leitura com uma sequência de marcador que permite, por

exemplo, a purificação do polipeptídeo codificado, que pode então ser incorporado na vacina personalizada contra a neoplasia. Por exemplo, a sequência marcadora pode ser um marcador de hexa-histidina fornecido por um vetor pQE-9 para providenciar a purificação do polipeptídeo maduro fundido com o marcador no caso de um hospedeiro bacteriano ou a sequência de marcador pode ser um marcador de hemaglutinina (HA) derivado da proteína hemaglutinina da gripe quando é usado um hospedeiro mamífero (por exemplo, células COS-7). Marcadores adicionais incluem, mas não se limitam a, marcadores Calmodulin, marcadores FLAG, marcadores Myc, marcadores S, marcadores SBP, Softag 1, Softag 3, marcador V5, marcador Xpress, Isopeptag, SpyTag, marcadores Proteína Transportadora de Carboxila Biotina (BCCP), marcadores GST, marcadores de proteína fluorescente (por exemplo, marcadores de proteína fluorescente verde), marcadores de proteína de ligação de maltose, marcadores Nus, marcador Strep, marcador tioredoxina, marcador TC, marcador Ty, e semelhantes.

[00152] Em formas de realização, os polinucleotídeos pode compreender a sequência de codificação para um ou mais peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor fundidos no mesmo quadro de leitura para criar um único constructo de peptídeo neo-antigênico concatamerizado capaz de produzir múltiplos peptídeos neo-antigênicos.

[00153] Em formas de realização, a presente invenção providencia moléculas de ácido nucleico isolado com uma sequência de nucleotídeo pelo menos 60% idêntica, pelo menos 65% idêntica, pelo menos 70% idêntica, pelo menos 75% idêntica, pelo menos 80% idêntica, pelo menos 85% idêntica, pelo menos 90% idêntica, pelo menos 95% idêntica, ou pelo menos 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica a um polinucleotídeo codificando um peptídeo neo-antigênico específico de tumor da presente invenção.

[00154] Por um polinucleotídeo com uma sequência de nucleotídeo pelo menos, por exemplo, 95% idêntica a uma sequência de nucleotídeo de referência entende-se que a sequência de nucleotídeo do polinucleotídeo é idêntica à sequência de referência exceto que a sequência de polinucleotídeo pode incluir até cinco mutações de ponto por cada 100 nucleotídeos da sequência de nucleotídeo de referência. Por outras palavras, para obter um polinucleotídeo com uma sequência de nucleotídeo pelo menos 95% idêntica a uma sequência de nucleotídeo de referência, até 5% dos nucleotídeos na sequência de referência podem ser deletados ou substituídos por outro nucleotídeo, ou um número de nucleotídeos até 5% dos nucleotídeos totais na sequência de referência podem ser inseridos na sequência de referência. Estas mutações da sequência de referência podem ocorrer nas

posições de terminal amino ou carboxi da sequência de nucleotídeo de referência ou em qualquer lugar entre essas posições terminais, intercaladas individualmente entre nucleotídeos na sequência de referência ou em um ou mais grupos contíguos dentro da sequência de referência.

[00155] Como matéria prática, se qualquer molécula de ácido nucleico particular é pelo menos 80% idêntica, pelo menos 85% idêntica, pelo menos 90% idêntica, e em algumas formas de realização, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% idêntica a uma sequência de referência pode ser determinado convencionalmente usando programas de computador conhecidos como o programa Bestfit (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versão 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711). Bestfit usa o algoritmo de homologia local de Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981), para encontrar o melhor segmento de homologia entre duas sequências. Ao usar Bestfit ou qualquer outro programa de alinhamento de sequência para determinar se uma sequência particular é, por exemplo, 95% idêntica a uma sequência de referência de acordo com a presente invenção, os parâmetros são definidos de forma a que a porcentagem de identidade seja calculada ao longo de todo o comprimento da sequência de nucleotídeo de referência e a serem permitidos intervalos

em homologia até 5% de número total de nucleotídeos na sequência de referência.

[00156] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor isolados aqui descritos podem ser produzidos *in vitro* (por exemplo, no laboratório) por qualquer método adequado conhecido na técnica. Tais métodos variam desde métodos sintéticos de proteína diretos até construção de uma sequência de DNA codificando sequências de polipeptídeo isolado e expressando essas sequências em um hospedeiro transformado adequado. Em algumas formas de realização, uma sequência de DNA é construída usando tecnologia recombinante isolando ou sintetizando uma sequência de DNA codificando uma proteína de tipo selvagem de interesse. Opcionalmente, a sequência pode ser mutagenizada por mutagênese específica de local para providenciar seus análogos funcionais. Ver, por exemplo, Zoeller et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 81:5662-5066 (1984) e Patente U.S. No. 4,588,585.

[00157] Em formas de realização, uma sequência de DNA codificando um polipeptídeo de interesse seria construído por síntese química usando um sintetizador de oligonucleotídeos. Tais oligonucleotídios podem ser concebidos com base na sequência de aminoácidos do polipeptídeo desejado e selecionando os códons que são favorecidos na célula hospedeira nos quais o polipeptídeo

recombinante de interesse será produzido. Podem ser aplicados métodos padronizados para sintetizar uma sequência de polinucleotídeo isolado codificando um polipeptídeo isolado de interesse. Por exemplo, pode ser usada uma sequência de aminoácidos completa para construir um gene retro-traduzido. Além disso, pode ser sintetizado um oligômero de DNA contendo uma sequência de nucleotídeo codificando o polipeptídeo isolado particular. Por exemplo, vários pequenos oligonucleótidos codificando porções do polipeptídeo desejado podem ser sintetizados e depois ligados. Os oligonucleótidos individuais tipicamente contêm saliências 5' ou 3' para montagem complementar.

[00158] Uma vez montadas (por exemplo, por síntese, mutagênese direcionada ao local ou outro método), as sequências de polinucleotídeo codificando um polipeptídeo isolado particular de interesse serão inseridas em um vetor de expressão e opcionalmente operativamente ligadas a uma sequência de controle de expressão apropriada para expressão da proteína em um hospedeiro desejado. A montagem adequada pode ser confirmada por sequenciação de nucleotídeo, mapeamento de restrição, e expressão de um polipeptídeo biologicamente ativo em um hospedeiro adequado. Como é bem conhecido na técnica, de forma a obter elevados níveis de expressão de um gene transfectado em um hospedeiro, o gene

pode ser operativamente ligado a sequência de controle de expressão transcricional e translacional que são funcionais no hospedeiro de expressão escolhido.

[00159] Vetores de expressão recombinantes podem ser usados para amplificar e expressar DNA codificando os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor. Vetores de expressão recombinantes são constructos de DNA replicáveis que possuem fragmentos de DNA sintéticos ou derivados de cDNA codificando um peptídeo neo-antigênico específico de tumor ou um análogo bioequivalente operativamente ligado a elementos transcricionais ou translacionais adequados derivados de genes de mamíferos, microbianos, virais ou de insetos. Uma unidade transcricional compreende geralmente uma montagem de (1) um elemento ou elementos genéticos possuindo um papel regulador na expressão de genes, por exemplo, promotores ou potencializadores transcricionais, (2) uma sequência estrutural ou de codificação que é transcrita para mRNA e traduzida em proteína, e (3) iniciação de transcrição e tradução apropriadas e sequências de terminação, como descrito em detalhe de seguida. Tais elementos regulatórios podem incluir uma sequência de operador para controlar a transcrição. A capacidade de replicar em um hospedeiro, normalmente conferida por uma origem de replicação, e um gene de seleção para facilitar o

reconhecimento de transformantes podem ser adicionalmente incorporados. Regiões de DNA são operativamente ligadas quando estão funcionalmente relacionadas umas às outras. Por exemplo, DNA para um peptídeo de sinal (líder secretor) está operativamente ligado a DNA para um polipeptídeo se for expresso como um precursor que participa na secreção do polipeptídeo; um promotor está operativamente ligado a uma sequência de codificação se controlar a transcrição da sequência; ou um local de ligação de ribossoma está operativamente ligado a uma sequência de codificação se estiver posicionado de forma a permitir tradução. Geralmente, operativamente ligado significa contíguo, e no caso de líderes secretores, significa contíguo e em quadro de leitura. Elementos estruturais destinados a uso em sistemas de expressão de levedura incluem uma sequência líder permitindo secreção extracelular de proteína traduzida por uma célula hospedeira. Em alternativa, quando a proteína recombinante é expressa sem uma sequência líder ou de transporte, pode incluir um resíduo de metionina de terminal N. Este resíduo pode opcionalmente ser subsequentemente clivado da proteína recombinante expressa para providenciar um produto final.

[00160] A escolha da sequência de controle de expressão e do vetor de expressão dependerá da escolha do

hospedeiro. Pode ser empregue uma grande variedade de combinações de expressão hospedeiro/vetor. Vetores de expressão úteis para hospedeiros eucarióticos incluem, por exemplo, vetores compreendendo sequência de controle de expressão de SV40, vírus do papiloma bovino, adenovírus e citomegalovírus. Vetores de expressão úteis para hospedeiros bacterianos incluem plasmídeos bacterianos conhecidos, tais como plasmídeos de *Escherichia coli*, incluindo pCR 1, pBR322, pMB9 e seus derivados, plasmídeos com maior gama de hospedeiros, tais como M13 e fagos DNA de cadeia única filamentosa.

[00161] Células hospedeiras adequadas para expressão de um polipeptídeo incluem células de procariotas, levedura, insectos ou eucarióticas superiores sob o controle de promotores apropriados. Procariotas incluem organismos gram negativos ou gram positivos, por exemplo *E. coli* ou *bacilli*. Células eucarióticas superiores incluem linhas celulares estabelecidas originando de mamífero. Podem também ser empregues sistemas de tradução sem células. Vetores de clonagem e de expressão adequados para uso com hospedeiros celulares bacterianos, fúngicos, de levedura e de mamíferos são bem conhecidos na técnica (ver Pouwels *et al.*, *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.I., 1985).

[00162] Vários sistemas de cultura celular de

mamíferos ou insetos são também vantajosamente empregues para expressar proteína recombinante. A expressão de proteínas recombinantes em células de mamíferos pode ser realizada porque tais proteínas são geralmente corretamente dobradas, apropriadamente modificadas e completamente funcionais. Exemplos de linhas celulares de hospedeiro mamífero incluem as linhas COS-7 de células de rins de macaco, descritas por Gluzman (*Cell* 23:175, 1981), e outras linhas celulares capazes de expressar um vetor apropriado incluindo, por exemplo, células L, C127, 3T3, linhas celulares de ovários de hamster chinês (CHO), HeLa e BHK. Vetores de expressão de mamíferos podem compreender elementos não transcritos tais como uma origem de replicação, um promotor e potencializador adequados ligados ao gene a ser expresso, e outras sequências não transcritas flangeadoras 5' ou 3', e sequências não traduzidas 5' ou 3', tais como locais de ligação de ribossomas necessários, um local de poliadenilação, locais de união de dador e de aceitador e sequências de terminação transcricional. Sistemas de baculovirus para produção de proteínas heterólogas em células de insetos são revistas por Luckow and Summers, *Bio/Technology* 6:47 (1988).

[00163] As proteínas produzidas por um hospedeiro transformado podem ser purificadas de acordo com qualquer

método adequado. Tais métodos padronizados incluem cromatografia (por exemplo, troca iônica, cromatografia em coluna de afinidade e dimensionamento e semelhantes), centrifugação, solubilidade diferencial ou por qualquer outra técnica padrão para purificação de proteína. Marcadores de afinidade como hexahistidina, domínios de ligação de maltose, sequência de revestimento de gripe, glutathione-S-transferase e semelhantes podem ser ligados à proteína para permitir purificação fácil pela passagem por uma coluna de afinidade apropriada. Proteínas isoladas podem também ser fisicamente caracterizadas usando técnicas como proteólise, ressonância magnética nuclear e cristalografia por raios X.

[00164] Por exemplo, sobrenadantes de sistemas que segregam proteína recombinante em meios de cultura podem ser primeiro concentrados usando um filtro de concentração de proteínas disponível comercialmente, por exemplo, uma unidade de ultrafiltração Amicon ou Millipore Pellico. A seguir à etapa de concentração, o concentrado pode ser aplicado a uma matriz de purificação adequada. Em alternativa, pode ser empregue uma resina de troca de aniões, por exemplo, uma matriz ou substrato com grupos dietilaminoetila (DEAE) pendentos. As matrizes podem ser acrilamida, agarose, dextrano, celulose ou outros tipos

comummente empregues na purificação de proteínas. Em alternativa, pode ser empregue uma etapa de troca catiônica. Permutadores de cátions adequados incluem várias matrizes insolúveis compreendendo grupos sulfopropila ou carboximetila. Finalmente, uma ou mais etapas de cromatografia líquida de alto desempenho de fase reversa (RP-HPLC) empregando meios RP-HPLC hidrofóbicos, por exemplo sílica gel com grupos metila pendentes ou outros grupos alifáticos, podem ser empregues para purificar adicionalmente uma composição de proteína-Fc de células estaminais de câncer. Algumas ou todas as etapas de purificação anteriores, em várias combinações, podem também ser empregues para providenciar uma proteína recombinante homogênea.

[00165] Uma proteína recombinante produzida em cultura bacteriana pode ser isolada, por exemplo, por extração inicial de agregadas de células, seguido de uma ou mais etapas de concentração, precipitação por salificação, troca iônica aquosa ou cromatografia de exclusão por tamanho. Pode ser empregue cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para as etapas de purificação finais. Células microbianas empregues na expressão de uma proteína recombinante podem ser interrompidas por qualquer método conveniente, incluindo ciclos de congelamento e

descongelamento, sonicação, disrupção mecânica ou utilização de agentes de lise celular.

[00166] Síntese de Peptídeo/Polipeptídeo In Vivo

[00167] A presente invenção também contempla a utilização de moléculas de ácido nucleico como veículos para aplicação de peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos ao paciente *in vivo* na forma de, por exemplo, vacinas DNA/RNA (ver, por exemplo, WO2012/159643, e WO2012/159754, aqui incorporadas por referência na sua totalidade).

[00168] Em uma forma de realização, a vacina contra a neoplasia personalizada pode incluir plasmídeos de DNA separados codificando, por exemplo, um ou mais peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos como identificado de acordo com a invenção. Como discutido acima, a escolha exata dos vetores de expressão dependerá dos peptídeos/polipeptídeos a serem expressos, e está bem dentro da perícia do perito comum. Espera-se que a persistência esperada dos constructos de DNA (por exemplo, em uma forma episomal, não replicante, não integrada nas células musculares) providencie uma maior duração da proteção.

[00169] Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia pode incluir moléculas separadas de RNA ou cDNA codificando os peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos da invenção.

[00170] Em outra forma de realização, a vacina personalizada contra a neoplasia pode incluir um vetor de base viral para utilização em um paciente humano tal como, por exemplo, um sistema de adenovírus (ver, por exemplo, Baden et al. First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine (IPCAVD 001). J Infect Dis. 2013 Jan 15;207(2):240-7, aqui incorporado por referência na sua totalidade).

[00171] **Composições Farmacêuticas/Métodos de Aplicação**

[00172] A presente invenção também se dirige a composições farmacêuticas compreendendo uma quantidade eficaz de um ou mais compostos de acordo com a presente invenção (incluindo um seu sal farmacêuticamente aceitável), opcionalmente em combinação com um transportador, excipiente ou aditivo farmacêuticamente aceitável.

[00173] "Um "derivado ou pró-fármaco farmacêuticamente aceitável" significa qualquer sal, éster, sal de um éster farmacêuticamente aceitável ou outro derivado de um composto desta invenção que, após administração a um recipiente, seja capaz de providenciar (direta ou indiretamente) um composto desta invenção. Derivados e pró-fármacos particularmente preferidos são os que aumentam a

biodisponibilidade dos compostos desta invenção quando tais compostos são administrados a um mamífero (por exemplo, permitindo que um composto administrado oralmente ou ocularmente seja mais prontamente absorvido pelo sangue) ou que potenciam a aplicação do composto principal a um compartimento biológico (por exemplo, a retina) em relação à espécie principal.

[00174] Apesar dos peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor da invenção poderem ser administrados como o único agente farmacêutico ativo, eles também podem ser usados em combinação com um ou mais agentes e/ou adjuvantes. Quando administrados como uma combinação, os agentes terapêuticos podem ser formulados como composições separadas que são dadas ao mesmo tempo ou em tempos diferentes, ou os agentes terapêuticos podem ser dados como uma composição única.

[00175] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor da presente invenção podem ser administrados por injeção, parenteralmente, por pulverização por inalação, retalmente, vaginalmente ou topicamente em formulações de unidade de dosagem contendo transportadores, adjuvantes e veículos convencionais farmacêuticamente aceitáveis. O termo parenteral como aqui usado inclui administração, em um linfonodo ou linfonodos, subcutânea, intravenosa,

intramuscular, intraesternal, técnicas de infusão, intraperitonealmente, no olho ou ocular, intravitreal, intrabucal, transdérmica, intranasal, no cérebro, incluindo intracranial e intradural, nas articulações, incluindo tornozelos, joelhos, ancas, ombros, cotovelos, pulsos, diretamente nos tumores e semelhante, e em forma de supositório.

[00176] Os compostos farmacologicamente ativos desta invenção podem ser processados de acordo com métodos convencionais da farmácia para produzir agentes medicinais para administração a pacientes, incluindo humanos e outros mamíferos.

[00177] Modificações do compostos ativos podem afetar a solubilidade, biodisponibilidade e taxa de metabolismo das espécies ativas, providenciando assim controle sobre a aplicação das espécies ativas. Isto pode facilmente ser avaliado preparando o derivado e testando a sua atividade de acordo com métodos conhecidos bem dentro do perito rotinado na técnica.

[00178] Composições farmacêuticas baseadas em estes compostos químicos compreendem os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor acima descritos em uma quantidade terapêuticamente eficaz para tratamento de doenças e problemas de saúde (por exemplo, uma neoplasia/tumor), que

foram aqui descritos, opcionalmente em combinação com um aditivo, transportador e/ou excipiente farmacêuticamente aceitável. Um perito na técnica reconhecerá que uma quantidade terapêuticamente eficaz de um ou mais compostos de acordo com a presente invenção variará com a infeção ou problema de saúde a ser tratado, a sua gravidade, o regime de tratamento a ser empregue, a farmacocinética do agente usado, bem como do paciente (animal ou humano) a ser tratado.

[00179] Para preparar as composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um ou mais compostos de acordo com a presente invenção é de preferência intimamente misturada com um transportador farmacêuticamente aceitável de acordo com técnicas de composição farmacêutica convencionais para produzir a dose. Um transportador pode assumir uma ampla variedade de formas dependendo da forma de preparação desejada para administração, por exemplo ocular, oral, tópica ou parenteral, incluindo géis, cremes, pomadas, loções e preparações implantáveis liberadas ao longo do tempo, entre muitas outras. Na preparação de composições farmacêuticas na forma de dosagem oral, pode ser usado qualquer um dos meios farmacêuticos usuais. Assim, para preparações orais líquidas, tais como suspensões, elixires e soluções, podem ser usados transportadores e aditivos

adequados incluindo água, glicóis, óleos, alcoóis, agentes aromatizantes, conservantes, agentes corantes e semelhantes. Para preparações orais sólidas como pós, comprimidos, cápsulas, e para preparações sólidas como supositórios, podem ser usados transportadores e aditivos adequados incluindo amidos, transportadores de açúcar, como dextrose, manitol, lactose e transportadores relacionados, diluentes, agentes de granulação, lubrificantes, aglutinantes, agentes de desintegração e semelhantes. Se desejado, os comprimidos ou cápsulas podem ser revestidos entericamente ou sustentadamente liberados por técnicas padronizadas.

[00180] O composto ativo é incluído no transportador ou diluente farmacologicamente aceitável em uma quantidade terapêuticamente eficaz para aplicar a um paciente uma quantidade terapêuticamente eficaz para a indicação desejada, sem provocar efeitos tóxicos graves no paciente tratado.

[00181] Composições orais incluirão geralmente um diluente inerte ou um transportador comestível. Podem estar inclusas em cápsulas de gelatina ou comprimidos em comprimidos. Para o propósito de administração terapêutica oral, o composto ativo ou o seu derivado pró-fármaco pode ser incorporado com excipientes e usado sob a forma de comprimidos, pastilhas ou cápsulas. Aglutinantes

farmaceuticamente compatíveis e/ou materiais adjuvantes podem ser incluídos como parte da composição.

[00182] Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas e semelhantes podem conter qualquer um dos seguintes ingredientes ou compostos de uma natureza semelhante: um aglutinante como celulose microcristalina, goma adragante ou gelatina; um excipiente como amido ou lactose, um agente dispersante como ácido algínico ou amido de milho; um lubrificante como estearato de magnésio; um glidante como dióxido de silício coloidal; um agente adoçante como sacarose ou sacarina; ou um agente aromatizante como menta, salicilato de metila ou aroma de laranja. Quando a forma de unidade de dosagem é uma cápsula pode conter, para além de material do tipo acima, um transportador líquido como um óleo graxo. Além disso, formas de unidade de dosagem podem conter vários outros materiais que modificam a forma física da unidade de dosagem, por exemplo, revestimentos de açúcar, goma-laca ou agentes entéricos.

[00183] Formulações da presente invenção adequadas para administração oral podem ser apresentadas como unidades discretas tais como cápsulas, hóstias ou comprimidos cada um contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo; como um pó ou grânulos; como uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou um líquido não aquoso; ou como uma

emulsão líquida óleo-na-água ou uma emulsão água-em-óleo e como um bólus, etc.

[00184] Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Comprimidos compressos podem ser preparados comprimindo em uma máquina adequada o ingrediente ativo de escoamento livre tal como um pó ou grânulo, opcionalmente misturado com um aglutinante, lubrificante, diluente inerte, conservante, tensoativo ou agente dispersante. Comprimidos moldados podem ser feitos moldando em uma máquina adequada uma mistura de composto em pó umidificado com um diluente líquido inerte. Os comprimidos podem ser opcionalmente revestidos ou com ranhura e podem ser formulados de forma a providenciar a liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo nele contido.

[00185] Métodos de formulação de tais composições de liberação lenta ou controlada de ingredientes farmacêuticamente ativos são conhecidos na técnica e descritos em várias patentes americanas publicadas, algumas das quais incluem, mas não se limitam a, Patente U.S. Nos. 3,870,790; 4,226,859; 4,369,172; 4,842,866 e 5,705,190, cujas revelações são incorporadas aqui por referência na sua totalidade. Podem ser usados revestimentos para aplicação de compostos ao intestino (ver, por exemplo, as Patentes U.S.

Nos. 6,638,534, 5,541,171, 5,217,720, e 6,569,457 e referências ali citadas).

[00186] O composto ativo ou seu sal farmacologicamente aceitável podem também ser administrados como um componente de um elixir, suspensão, xarope, pastilha, chiclete ou semelhante. Um xarope pode conter, para além dos compostos ativos, sacarose ou frutose como um agente adoçante e certos conservantes, corantes e aromatizantes.

[00187] Soluções ou suspensões usadas para aplicação ocular, parenteral, intradérmica, subcutânea ou tópica podem incluir os seguintes componentes: um diluente esterilizado como água para injeção, solução salina, óleos fixos, polietilenoglicóis, glicerina, propilenoglicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos como álcool benzílico ou metilparabenos; antioxidantes como ácido ascórbico ou bissulfito de sódio; agentes quelantes como ácido etilenodiaminotetracético; tampões como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para o ajuste de tonicidade como cloreto de sódio ou dextrose.

[00188] Em uma forma de realização, os compostos ativos são preparados com transportadores que protegerão o composto contra a eliminação rápida do corpo, como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes e sistemas de aplicação microencapsulada. Podem ser usados

polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, tal como etileno acetato de vinilo, polianidridos, ácido poliglicólico, colagênio, poliortoésteres, ácido poliláctico e ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA). Métodos para a preparação de tais formulações serão aparentes aos entendidos na técnica.

[00189] Um perito na área reconhecerá que para além de comprimidos, outras formulações de dosagem podem ser formuladas para providenciar liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo. Tais formas de dosagem incluem, mas não se limitam a, cápsulas, granulações e cápsulas de gel.

[00190] Suspensões lipossomais podem também ser transportadores farmacêuticamente aceitáveis. Estes podem ser preparados de acordo com os métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, formulações lipossomais podem ser preparadas pela dissolução de lípido(s) apropriados em um solvente inorgânico que é então evaporado, deixando atrás uma película fina de lípido seco na superfície do contentor. Uma solução aquosa do composto ativo é então introduzida no contentor. O contentor é então rodado manualmente para liberar material lípido dos lados do contentor e para dispersar agregados lípidos, formando assim a suspensão lipossomal. Outros métodos de preparação bem conhecidos dos ordinariamente entendidos na técnica podem também ser usados

em este aspeto da presente invenção.

[00191] As formulações podem convenientemente ser apresentadas em forma de dosagem unitária e podem ser preparadas por técnicas farmacêuticas convencionais. Tais técnicas incluem a etapa de associar o ingrediente ativo ao(s) transportador(es) farmacêutico(s) ou excipiente(s). Em geral, as formulações são preparadas ao associar uniformemente e intimamente o ingrediente ativo com transportadores líquidos ou transportadores sólidos divididos finamente ou ambos, e depois, se necessário, dar forma ao produto.

[00192] Formulações e composições adequadas para administração tópica na boca incluem pastilhas compreendendo os ingredientes em uma base aromatizada, normalmente sacarose e acácia ou adragante; pastilhas compreendendo o ingrediente ativo em uma base inerte como gelatina e glicerina ou sacarose e acácia; e colutórios compreendendo o ingrediente a ser administrado em um transportador líquido adequado.

[00193] Formulações adequadas para administração tópica na pele podem ser apresentadas como pomadas, cremes, géis e pastas compreendendo o ingrediente a ser administrado em um transportador farmacêuticamente aceitável. Um sistema de aplicação tópica preferencial é um penso transdérmico

contendo o ingrediente a ser administrado.

[00194] Formulações para administração retal podem ser apresentadas como um supositório com uma base adequada compreendendo, por exemplo, manteiga de cacau ou um salicilato.

[00195] Formulações adequadas para administração nasal, em que o transportador é um sólido, incluem um pó grosso com um tamanho de partículas, por exemplo, compreendido entre 20 a 500 microns que é administrado da maneira em que o rapé é administrado, ou seja por inalação rápida através da passagem nasal a partir de um contentor de pó mantido perto do nariz. Formulações adequadas, em que o transportador é um líquido, para administração, como por exemplo, uma pulverização nasal ou como gotas nasais, incluem soluções aquosas ou oleosas do ingrediente ativo.

[00196] Formulações adequadas para administração vaginal podem ser apresentadas como pessários, tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou formulações de pulverização contendo para além do ingrediente ativo transportadores conhecidos na técnica como sendo apropriados.

[00197] A preparação parenteral pode ser encerrada em ampolas, seringas descartáveis ou frascos de dose múltipla feitos de vidro ou plástico. Se administrados intravenosamente, transportadores preferidos incluem, por

exemplo, soro fisiológico ou solução salina tamponada com fosfato (PBS).

[00198] Para formulações parenterais, o transportador compreenderá normalmente água esterilizada ou solução aquosa de cloreto de sódio, apesar de poderem ser incluídos outros ingredientes incluindo os que ajudam a dispersão. Claro, quando for usada água esterilizada e mantida esterilizada, as composições e transportadores serão também esterilizados. Suspensões injetáveis podem também ser preparadas, caso no qual também podem ser empregues transportadores líquidos apropriados, agentes de suspensão e semelhantes.

[00199] Formulações adequadas para administração parenteral incluem soluções de injeção esterilizadas aquosas e não aquosas que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos e solutos que tornam a formulação isotônica com o sangue do recipiente pretendido; e suspensões esterilizadas aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão e agentes espessantes. As formulações podem ser apresentadas em contentores de dose unitária ou multi-dose, por exemplo, ampolas e frascos selados e podem ser armazenadas em uma condição seca a frio (liofilizado) requerendo apenas a adição do transportador líquido esterilizado, por exemplo, água para injeções, imediatamente antes da utilização. Podem ser preparadas soluções e

suspensões de injeção extemporâneas a partir de pós esterilizados, grânulos e comprimidos do gênero previamente descritos.

[00200] A administração do composto ativo pode variar entre contínua (gotejamento intravenoso) a várias administrações orais por dia (por exemplo, Q.I.D.) e pode incluir administrações oral, tópica, no olho ou ocular, parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutânea, transdérmica (que pode incluir um agente de potenciamento da penetração), bucal e por supositório, entre outras vias de administração, incluindo através de um olho ou via ocular.

[00201] A aplicação da terapêutica em causa pode ser local, de forma a ser administrada no local de interesse. Várias técnicas podem ser usadas para providenciar as composições em causa no local de interesse, tal como injeção, utilização de catéteres, trocartes, projéteis, gel plutônico, *stents*, polímeros de liberação de fármacos contínua ou outro dispositivo que providencie acesso interno. Quando um órgão ou tecido é acessível por causa de remoção do paciente, tal órgão ou tecido pode ser banhado em um meio contendo as composições em causa, as composições em causa podem ser aplicadas no órgão, ou podem ser aplicadas de forma conveniente.

[00202] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de

tumor podem ser administrados através de um dispositivo adequado para a liberação controlada e sustentada de uma composição eficaz na obtenção de um efeito local ou fisiologicamente sistêmico ou farmacológico desejados. O método inclui posicionar o sistema de aplicação sustentada de fármaco liberado em uma área em que a liberação do agente é desejada e permitir que o agente passe através do dispositivo para a área de tratamento desejada.

[00203] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor podem ser utilizados em combinação com pelo menos um agente terapêutico conhecido, ou um sal farmacologicamente aceitável do referido agente. Exemplos de agentes terapêuticos conhecidos que podem ser usados para terapia de combinação incluem, mas não se limitam a, corticóides (por exemplo, cortisona, prednisona, dexametasona), fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (NSAIDS) (por exemplo, ibuprofeno, celecoxib, aspirina, indometicina, naproxeno), agentes alquilantes como bussulfano, cis-platina, mitomicina C, e carboplatina; agentes antimitóticos como colchicina, vimblastina, paclitaxel, e docetaxel; inibidores de topo I como camptotecina e topotecano; inibidores de topo II como doxorubicina e etopósido; e/ou antimetabólitos de RNA/DNA como 5-azacitidina, 5-fluorouracil e metotrexato; antimetabólitos de DNA como 5-fluoro-2'-deoxi-uridina, ara-

C, hidroxíureia e ttioguanina; anticorpos como Herceptin® e Rituxan®.

[00204] Deve ser entendido que para além dos ingredientes particularmente mencionados em cima, as formulações da presente invenção podem incluir outros agentes convencionais na técnica em relação ao tipo de formulação em questão, por exemplo, os adequados para administração oral podem incluir agentes aromatizantes.

[00205] Em certas formas de dosagem farmacêutica, pode ser preferencial a forma de pró-fármaco dos compostos. Um ordinariamente entendido na técnica reconhecerá como modificar prontamente os presentes compostos para formas de pró-fármaco para facilitar a aplicação de compostos ativos a um local alvejado dentro do organismo hospedeiro ou paciente. O técnico rotinado também retirará vantagem de parâmetros farmacocinéticos favoráveis das formas de pró-fármacos, onde aplicável, na aplicação dos presentes compostos a um local alvejado dentro do organismo hospedeiro ou paciente para maximizar o efeito desejado do composto.

[00206] Pró-fármacos preferenciais incluem derivados onde um grupo que potencia a solubilidade aquosa ou transporte ativo através da membrana do intestino é anexado à estrutura de fórmulas aqui descritas. Ver, por exemplo, Alexander, J. et al. *Journal of Medicinal Chemistry* **1988**,

31, 318-322; Bundgaard, H. Design of Prodrugs; Elsevier: Amsterdão, 1985; págs. 1-92; Bundgaard, H.; Nielsen, N. M. Journal of Medicinal Chemistry 1987, 30, 451-454; Bundgaard, H. A Textbook of Drug Design and Development; Harwood Academic Publ.: Suíça, 1991; págs. 113-191; Digenis, G. A. et al. Handbook of Experimental Pharmacology 1975, 28, 86-112; Friis, G. J.; Bundgaard, H. A Textbook of Drug Design and Development; 2ª ed.; Overseas Publ.: Amsterdão, 1996; págs. 351-385; Pitman, I. H. Medicinal Research Reviews 1981, 1, 189-214. As formas de pró-fármacos podem ser elas próprias ativas, ou podem ser do tipo que quando metabolizadas após administração providenciam o agente terapêutico ativo *in vivo*.

[00207] Formas de sal farmacologicamente aceitáveis podem ser a forma química preferida de compostos de acordo com a presente invenção para inclusão em composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção.

[00208] Os presentes compostos ou seus derivados, incluindo formas de pró-fármacos destes agentes, podem ser providenciados sob a forma de sais farmacologicamente aceitáveis. Como aqui usado, o termo sais ou complexos farmacologicamente aceitáveis refere-se a sais ou complexos apropriados de compostos ativos de acordo com a presente invenção que retêm a atividade biológica desejada do composto

principal e apresentam efeitos toxicológicos limitados sobre células normais. Exemplos não limitativos de tais sais são (a) sais de adição de ácido formados com ácidos inorgânicos (por exemplo, ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico e semelhantes), e sais formados com ácidos orgânicos como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzóico, ácido tânico, ácido pamóico, ácido algínico, e ácido poliglutâmico, entre outros; (b) sais de adição base formados com cátions de metal como zinco, cálcio, sódio, potássio e semelhantes, entre vários outros.

[00209] Os compostos aqui referidos encontram-se disponíveis comercialmente ou podem ser sintetizados. Como pode ser apreciado pelo entendido na matéria, outros métodos de sintetizar os compostos das fórmulas aqui referidas serão evidentes aos ordinariamente entendidos na técnica. Adicionalmente, as várias etapas sintéticas podem ser realizadas em uma sequência ou ordem alternada para prover os compostos desejados. Transformações químicas sintéticas e metodologias de grupo de proteção (proteção e desproteção) úteis na sintetização dos compostos aqui descritos são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, as descritas em R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, 2^a.

Ed., Wiley-VCH Publishers (1999); T.W. Greene e P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3^a. Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser e M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1999); e L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), e suas edições subsequentes.

[00210] Os agentes adicionais que podem ser incluídos com os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor desta invenção podem conter um ou mais centros assimétricos e ocorrem assim como racêmicos e misturas racêmicas, enantiômeros únicos, diastereômeros individuais e misturas diastereoméricas. Todas as formas isoméricas destes compostos são expressamente incluídas na presente invenção. Os compostos desta invenção podem também ser representados em múltiplas formas tautoméricas, onde a invenção em tais casos inclui expressamente todas as formas tautoméricas dos compostos aqui descritos (por exemplo, a alquilação de um sistema de anel pode resultar em alquilação de múltiplos locais, a invenção expressamente inclui todos esses produtos de reação). Todas as formas isoméricas de tais compostos são expressamente incluídas na presente invenção. Todas as formas dos compostos aqui descritos são expressamente incluídas na presente invenção.

[00211] As formulações de dosagem unitária preferidas são as contendo uma dose diária ou unitária, sub-dose diária, como acima referido, ou uma sua fração apropriada, do ingrediente administrado.

[00212] O regime de dosagem para tratar um distúrbio ou uma doença com os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor desta invenção e/ou composições desta invenção baseia-se em uma variedade de fatores, incluindo o tipo de doença, a idade, peso, sexo, estado de saúde do paciente, a gravidade do problema de saúde, a via de administração e o composto particular empregue. Assim, o regime de dosagem pode variar muito, mas pode ser determinado rotineiramente usando métodos padronizados.

[00213] As quantidades e regimes de dosagem administrados a um paciente dependerão de vários fatores, como o modo de administração, a natureza do problema de saúde a ser tratado, o peso corporal do paciente a ser tratado e a avaliação do médico que faz a prescrição.

[00214] A quantidade do composto incluído dentro de formulações terapeuticamente ativas de acordo com a presente invenção é uma quantidade eficaz para tratar a doença ou problema de saúde. Em geral, uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto presentemente referido em forma de dosagem normalmente fica compreendida entre ligeiramente menos de

cerca de 0,025 mg/kg/dia a cerca de 2,5 g/kg/dia, de preferência cerca de 0,1 mg/kg/dia a cerca de 100 mg/kg/dia do paciente ou consideravelmente mais, dependendo do composto usado, o problema de saúde ou infecção tratados e a via de administração, apesar de poderem ser contempladas pela presente invenção exceções a este intervalo de dosagem. Na sua forma mais preferencial, são administrados compostos de acordo com a presente invenção em quantidades entre cerca de 1 mg/kg/dia a cerca de 100 mg/kg/dia. A dosagem do composto dependerá do problema de saúde a ser tratado, o composto particular e outros fatores clínicos como peso e problema de saúde do paciente e via de administração do composto. Deve ser entendido que a presente invenção tem aplicação para uso humano e veterinário.

[00215] Para administração oral a humanos, é geralmente suficiente uma dosagem entre aproximadamente 0,1 a 100 mg/kg/dia, de preferência entre aproximadamente 1 e 100 mg/kg/dia.

[00216] Quando a aplicação do fármaco for sistêmica em vez de tópica, este intervalo de dosagem geralmente produz concentrações de nível de sangue eficazes de composto ativo que oscilam entre menos de cerca de 0,04 a cerca de 400 microgramas/cc ou mais de sangue no paciente.

[00217] O composto é administrado convenientemente em

qualquer forma de dosagem de unidade adequada, incluindo mas não se limitando, a uma contendo 0,001 a 3000 mg, de preferência 0,05 a 500 mg de ingrediente ativo por forma de dosagem unitária. Uma dosagem oral de 10-250 mg é normalmente conveniente.

[00218] A concentração de composto ativo na composição de fármaco dependerá das taxas de absorção, distribuição, inativação e excreção do fármaco bem como de outros fatores conhecidos dos entendidos na técnica. Deve ser notado que os valores de dosagem também variarão com a gravidade do problema de saúde a ser aliviado. Deve ser ainda entendido que para qualquer paciente particular, devem ser ajustados regimes de dosagem específicos ao longo do tempo de acordo com a necessidade individual e a avaliação profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das composições, e que os intervalos de concentração aqui avançados são apenas exemplares e não se destinam a limitar o escopo ou prática da composição reivindicada. O ingrediente ativo pode ser administrado de uma só vez, ou pode ser dividido em várias doses menores a serem administradas em intervalos de tempo variados.

[00219] Em certas formas de realização, o composto é administrado uma vez ao dia; em outras formas de realização, o composto é administrado duas vezes ao dia; em ainda outras

formas de realização, o composto é administrado uma vez a cada dois dias, uma vez a cada três dias, uma vez a cada quatro dias, uma vez a cada cinco dias, uma vez a cada seis dias, uma vez a cada sete dias, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez a cada dois meses, uma vez a cada seis meses ou uma vez por ano. O intervalo de doseamento pode ser ajustado de acordo com as necessidades dos pacientes individuais. Para intervalos de administração mais longos, pode ser usada liberação prolongada ou formulações de depósito.

[00220] Os compostos da invenção podem ser usados para tratar doenças e problemas de saúde que são graves e podem também ser usados para tratamento de problemas de saúde crônicos. Em certas formas de realização, os compostos da invenção são administrados por períodos de tempo superiores a duas semanas, três semanas, um mês, dois meses, três meses, quatro meses, cinco meses, seis meses, um ano, dois anos, três anos, quatro anos, ou cinco anos, dez anos, ou quinze anos; ou, por exemplo, qualquer intervalo de período de tempo em dias, meses ou anos no qual a extremidade mais baixa do intervalo é qualquer período de tempo entre 14 dias e 15 anos e a extremidade superior do intervalo é entre 15 dias e 20 anos (por exemplo, 4 semanas e 15 anos, 6 meses e 20 anos). Em alguns casos, poderá ser vantajoso para os

compostos da invenção ser administrados pelo resto da vida do paciente. Em formas de realização preferenciais, o paciente é monitorizado para verificar a progressão da doença ou distúrbio e a dose é ajustada em conformidade. Em formas de realização preferenciais, o tratamento de acordo com a invenção é eficaz por pelo menos duas semanas, três semanas, um mês, dois meses, três meses, quatro meses, cinco meses, seis meses, um ano, dois anos, três anos, quatro anos, ou cinco anos, dez anos, quinze anos, vinte anos ou para o resto da vida do paciente.

[00221] A invenção providencia composições farmacêuticas contendo pelo menos um neo-antigênio específico de tumor aqui descrito. Em formas de realização, as composições farmacêuticas contêm um transportador, excipiente ou diluente farmacêuticamente aceitável que inclui qualquer agente farmacêutico que não induz ele próprio a produção de uma resposta imunitária prejudicial a um paciente recebendo a composição e que pode ser administrado sem toxicidade indevida. Como aqui usado, o termo "farmacêuticamente aceitável" significa ser aprovado por uma agência regulatória do governo federal ou estatal ou listado na Farmacopeia Americana, Farmacopeia Europeia ou outra farmacopeia geralmente reconhecida para utilização em mamíferos, e mais particularmente em humanos. Estas

composições podem ser úteis para tratar e/ou prevenir infecção viral e/ou doença autoimune.

[00222] Uma discussão completa de transportadores, diluentes e outros excipientes farmacologicamente aceitáveis é apresentada em *Remington's Pharmaceutical Sciences* (17^a ed., Mack Publishing Company) e *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (21^a ed., Lippincott Williams & Wilkins), que são aqui incorporados por referência. A formulação da composição farmacêutica deve ser adequada ao modo de administração. Em formas de realização, a composição farmacêutica é adequada para administração a humanos e pode ser esterilizada, não particulada e/ou não pirogênica.

[00223] Transportadores, excipientes ou diluentes farmacologicamente aceitáveis incluem, mas não se limitam a, solução salina, solução salina tamponada, dextrose, água, glicerol, etanol, tampão aquoso isotônico esterilizado e suas combinações.

[00224] Agentes umectantes, emulsificadores e lubrificantes, tais como laurilsulfato de sódio e estearato de magnésio, bem como agentes corantes, agentes de liberação, agentes de revestimento, agentes adoçantes, aromatizantes e odoríferos, conservantes e antioxidantes podem também estar presentes nas composições.

[00225] Exemplos de antioxidantes farmacologicamente

aceitáveis incluem, mas não se limitam a: (1) antioxidantes solúveis em água, tais como ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfito de sódio, metabissulfito de sódio, sulfito de sódio e semelhantes; (2) antioxidantes solúveis em água tais como palmitato de ascorbila, hidroxianisolo butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propil galato, alfa-tocoferol, e semelhantes; e (3) agentes quelantes de metal, como ácido cítrico, ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico e semelhantes.

[00226] Em formas de realização, a composição farmacêutica é providenciada em uma forma sólida, tal como pó liofilizado adequado para reconstituição, uma solução líquida, suspensão, emulsão, comprimido, pílula, cápsula, formulação de liberação sustentada ou pó.

[00227] Em formas de realização, a composição farmacêutica é fornecida em forma líquida, por exemplo, em um contentor selado indicando a quantidade e concentração do ingrediente ativo na composição farmacêutica. Em formas de realização, a forma líquida da composição farmacêutica é fornecida em um contentor hermeticamente selado.

[00228] Métodos de formular as composições farmacêuticas da presente invenção são convencionais e bem conhecidos na técnica (ver Remington and Remington's). Um

entendido na técnica pode prontamente formular uma composição farmacêutica possuindo as características desejadas (por exemplo, via de administração, biossegurança, e perfil de liberação).

[00229] Métodos para preparar as composições farmacêuticas incluem a etapa de associar o ingrediente ativo a um transportador farmacêuticamente aceitável e, opcionalmente, um ou mais ingredientes acessórios. As composições farmacêuticas podem ser preparadas associando uniformemente e intimamente o ingrediente ativo com transportadores líquidos ou transportadores sólidos divididos finamente ou ambos, e depois, se necessário, dar forma ao produto. Metodologia adicional para preparar as composições farmacêuticas, incluindo a preparação de formas de dosagem multicamada, são descritas em *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* (9ª ed., Lippincott Williams & Wilkins), que é aqui incorporada por referência.

[00230] Composições farmacêuticas adequadas para administração oral podem ser na forma de cápsulas, pílulas, comprimidos, pastilhas (usando uma base aromatizada, normalmente sacarose e acácia ou adragante), pós, grânulos ou como uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou não aquoso, ou como uma emulsão líquida óleo-em-água ou água-

em-óleo, ou como um elixir ou xarope, ou como pastilhas (usando uma base inerte, tal como gelatina e glicerina, ou sacarose e acácia) e/ou como colutórios e semelhantes, cada um contendo uma quantidade predeterminada de um ou mais compostos aqui descritos, um seu derivado ou um seu sal farmacologicamente aceitável ou pró-fármaco como o ou os ingredientes ativos. O ingrediente ativo também pode ser administrado como um bólus, electuário ou pasta.

[00231] Em formas de dosagem sólida para administração oral (por exemplo, cápsulas, comprimidos, pílulas, drageias, pós, grânulos e semelhantes), o ingrediente ativo é misturado com um ou mais transportadores, excipientes ou diluentes farmacologicamente aceitáveis como citrato de sódio ou fosfato dicálcico e/ou qualquer um dos seguintes: (1) agente de carga ou de extensão, tais como amidos, lactose, sacarose glicose, manitol e/ou ácido silícico; (2) aglutinante como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, pirrolidona polivinílica, sacarose e/ou acácia; (3) umectantes, como glicerol; (4) agentes desintegrantes, como ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, certos silicatos e carbonato de sódio; (5) agentes de retardamento de solução, como parafina; (6) aceleradores de absorção como compostos de amônio quaternário; (7) agentes

umectantes como, por exemplo, álcool acetílico e monoestearato de glicerina; (8) absorventes, como caulim e argila bentonítica; (9) lubrificantes, como um talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, glicóis de polietileno sólidos, laurilsulfato de sódio, e suas misturas; e (10) agentes corantes. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as composições farmacêuticas podem também compreender agentes de tamponamento. Composições sólidas de um tipo semelhante podem também ser preparadas usando agente de carga em cápsulas de gelatina moles e duras, e excipientes tais como lactose ou açúcares lácteos, bem como glicóis de polietileno de elevado peso molecular e semelhantes.

[00232] Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Comprimidos compressos podem ser preparados usando aglutinantes (por exemplo, gelatina ou hidroxipropilmetil celulose), lubrificantes, diluentes inertes, conservantes, desintegrantes (por exemplo, glicolato de amido de sódio ou carboximetil celulose de sódio reticulado), tensoativos e/ou agentes dispersantes. Comprimidos moldados podem ser feitos moldando em uma máquina adequada uma mistura de ingrediente ativo em pó umidificado com um diluente líquido inerte.

[00233] Os comprimidos e outras formas de dosagem sólida, como drageias, cápsulas, pílulas e grânulos, podem opcionalmente ser estriados ou preparados com revestimentos e escudos, como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos na técnica.

[00234] Em algumas formas de realização, por forma a prolongar o efeito de um ingrediente ativo, é desejável abrandar a absorção do composto de injeção subcutânea ou intramuscular. Isto pode ser alcançado pela utilização de uma suspensão líquida de material cristalino ou amorfo com fraca solubilidade em água. A taxa de absorção do ingrediente ativo depende então da sua taxa de dissolução que, por sua vez, pode depender do tamanho do cristal e forma cristalina. Em alternativa, absorção retardada de um ingrediente ativo administrado parenteralmente é alcançada dissolvendo ou suspendendo o composto em um veículo de óleo. Além disso, a absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode ser provocada pela inclusão de agentes que retardam a absorção como monoestearato de alumínio e gelatina.

[00235] Composições parenterais de liberação controlada podem ser na forma de suspensões aquosas, microsferas, microcápsulas, microsferas magnéticas, soluções oleosas, emulsões ou o ingrediente ativo pode ser incorporado em um transportador ou transportadores biocompatíveis,

lipossomas, nanopartículas, implantes ou dispositivos de infusão.

[00236] Materiais para utilização na preparação de microsferas e/ou microcápsulas incluem polímeros biodegradáveis/bioerudíveis como poliglactina, poli(isobutil cianoacrilato), poli(2-hidroxiethyl-L-glutamina) e poli(ácido láctico).

[00237] Transportadores biocompatíveis que podem ser usados ao formular uma formulação parenteral de liberação controlada incluem carboidratos como dextrans, proteínas como albumina, lipoproteínas ou anticorpos.

[00238] Materiais para utilização em implantes podem ser não biodegradáveis, por exemplo, polidimetilsiloxano, ou biodegradáveis como, por exemplo, poli(caprolactona), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) ou poli(ortoésteres).

[00239] Em formas de realização, o ou os ingredientes ativos são administrados por aerossol. Isto é alcançado preparando um aerossol aquoso, preparação lipossomal ou partículas sólidas contendo o composto. Pode ser usada uma suspensão não aquosa (por exemplo, propulsor de fluorocarbono). A composição farmacêutica pode também ser administrada usando um nebulizador sônico, que minimizaria exposição do agente a cisalhamento, que pode resultar na

degradação do composto.

[00240] Ordinariamente, um aerossol é feito formulando uma solução ou suspensão aquosa do ou dos ingredientes ativos juntamente com transportadores e estabilizadores farmacêuticamente aceitáveis convencionais. Os transportadores e estabilizadores variam conforme os requisitos do composto particular, mas tipicamente incluem surfactantes não iônicos (Tweens, Pluronic, ou polietileno glicol), proteínas inócuas como soro-albumina, ésteres de sorbitano, ácido oléico, lecitina, aminoácidos como glicina, tampões, sais, açúcares ou alcoóis de açúcar. Aerossóis são geralmente preparados a partir de soluções isotônicas.

[00241] Formas de dosagem para administração tópica ou transdérmica de um ou mais ingrediente ativo incluem pós, pulverizações, unguentos, pastas, cremes, loções, géis, soluções, pensos e inalantes. O ou os ingredientes ativos podem ser misturados sob condições de esterilização com um transportador farmacêuticamente aceitável e com os conservantes, tampões ou propulsores, conforme apropriado.

[00242] Pensos transdérmicos adequados para utilização na presente invenção são revelados em *Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives* (Marcel Dekker Inc., 1989) e Patentes U.S. Nos. 4,743,249, 4,906,169, 5,198,223, 4,816,540, 5,422,119, 5,023,084, que

são aqui incorporadas por referência. O penso transdérmico pode ser também qualquer penso transdérmico bem conhecido na técnica, incluindo pensos transescrotais. Composições farmacêuticas em tais pensos transdérmicos podem conter um ou mais potencializadores de absorção ou potencializadores de permeação da pele bem conhecidos na técnica (ver, por exemplo, Patentes U.S. Nos. 4,379,454 e 4,973,468, que são aqui incorporadas por referência). Sistemas terapêuticos transdérmicos para utilização na presente invenção podem ser baseados em iontoforese, difusão ou uma combinação destes dois efeitos.

[00243] Os pensos transdérmicos têm a vantagem adicional de providenciar aplicação controlada de ingrediente(s) ativo(s) ao corpo. Tais formas de dosagem podem ser feitas dissolvendo ou dispersando o ou os ingredientes ativos em um meio adequado. Potencializadores de absorção podem também ser usados para aumentar o fluxo de ingrediente ativo ao longo da pele. A taxa de tal fluxo pode ser controlada providenciando uma membrana de controle de taxa ou dispersando o ou os ingredientes ativos em uma matriz polimérica ou gel.

[00244] Tais composições farmacêuticas podem ser na forma de cremes, unguentos, loções, linimentos, géis, hidrogéis, soluções, suspensões, bastões, pulverizações,

pastas, emplastos e outros tipos de sistemas de aplicação de fármacos transdérmicos. As composições podem também incluir transportadores ou excipientes farmacologicamente aceitáveis como agentes emulsificantes, antioxidantes, agentes de tamponamento, conservantes, umectantes, potencializadores de penetração, agentes quelantes, agentes formadores de gel, bases de unguentos, perfumes, e agentes protetores de pele.

[00245] Exemplos de agentes emulsificantes incluem, mas não se limitam a, gomas ocorrendo naturalmente, por exemplo, goma acácia ou goma adragante, fosfatídeos ocorrendo naturalmente, por exemplo, lecitina de soja e derivados de monooleato de sorbitano.

[00246] Exemplos de antioxidantes incluem, mas não se limitam a, anisol hidroxilado (BHA), ácido ascórbico e seus derivados, tocoferol e seus derivados e cisteína.

[00247] Exemplos de conservantes incluem, mas não se limitam a, parabenos, tais como metil ou propil p-hidroxibenzoato e cloreto de benzalcônio.

[00248] Exemplos de umectantes incluem, mas não se limitam a, glicerina, propileno, glicol, sorbitol e ureia.

[00249] Exemplos de potencializadores de penetração incluem, mas não se limitam a, propileno glicol, DMSO, trietanolamina, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida,

2-pirrolidona e seus derivados, álcool tetrahidrofurfurílico, propileno glicol, dietileno glicol éter monoetílico ou monometílico com propileno glicol monolaurato ou metil laurato, eucaliptol, lecitina, Transcutol®, e Azone®.

[00250] Exemplos de agentes quelantes incluem, mas não se limitam a, EDTA de sódio, ácido cítrico e ácido fosfórico.

[00251] Exemplos de agentes de formação de gel incluem, mas não se limitam a, Carbopol, derivados de celulose, bentonita, alginatos, gelatina e polivinilpirrolidona.

[00252] Para além do ou dos ingredientes ativos, os unguentos, pastas, cremes e géis da presente invenção podem conter excipientes como gorduras animais e vegetais, óleos, ceras, parafinas, amido, adragante, derivados de celulose, polietilenoglicóis, silicones, bentonitas, ácido silícico, talco e óxido de zinco ou suas misturas.

[00253] Pós e pulverizações podem conter excipientes como lactose, talco, ácido silícico, hidróxido de alumínio, silicatos de cálcio e pó de poliamida ou misturas destas substâncias. As pulverizações podem adicionalmente conter propulsores habituais, como clorofluorohidrocarbonetos e hidrocarbonetos voláteis não substituídos, como butano e

propano.

[00254] Formas de depósito injetáveis são feitas formando matrizes microencapsuladas de composto(s) da invenção em polímeros biodegradáveis como polilactida-poliglicolida. Dependendo do rácio de composto para polímero e a natureza do polímero particular empregue, a taxa de liberação de composto pode ser controlada. Exemplos de outros polímeros biodegradáveis incluem poli(ortoésteres) e poli(anidridos). Formulações injetáveis de depósito são também preparadas capturando o fármaco em lipossomas ou microemulsões que são compatíveis com tecido corporal.

[00255] Implantes subcutâneos são bem conhecidos na técnica e são adequados para utilização na presente invenção. Métodos de implantação subcutânea são preferencialmente não irritantes e mecanicamente resilientes. Os implantes podem ser de tipo matriz, de tipo reservatório ou seus híbridos. Em dispositivos de tipo matriz, o material transportador pode ser poroso ou não poroso, sólido ou semi-sólido e permeável ou impermeável ao composto ou compostos ativos. O material transportador pode ser biodegradável ou pode lentamente erodir após administração. Em alguns casos, a matriz é não degradável, assentando em vez disso na difusão do composto ativo através da matriz para o material transportador se degradar. Métodos de implante subcutâneo

alternativos utilizam dispositivos de reservatório onde o ou os compostos ativos são rodeados por uma membrana de controle de taxa, por exemplo uma membrana independente da concentração de componente (possuindo cinética de ordem zero). Dispositivos consistindo de uma matriz rodeada por uma membrana de controle de taxa são também adequados para utilização.

[00256] Tanto os dispositivos de tipo reservatório como matriz podem conter materiais como polidimetilsiloxano, como Silastic™, ou outras borrachas de silicone. Materiais de matriz podem ser polipropileno, polietileno, cloreto polivinílico, acetato etilvinílico, poliestireno e polimetacrilato insolúveis, bem como ésteres de glicerol do tipo palmitoestearato de glicerol, estearato de glicerol e behenato de glicerol. Materiais podem ser polímeros hidrofóbicos ou hidrofílicos e opcionalmente conter agentes solubilizantes.

[00257] Dispositivos de implante subcutâneo podem ser cápsulas de liberação lenta feitas com qualquer polímero adequado, por exemplo, como descrito nas Patentes U.S. Nos. 5,035,891 e 4,210,644, que são aqui incorporadas por referência.

[00258] Em geral, pelo menos quatro diferentes abordagens são aplicáveis para providenciar controle de taxa

sobre a liberação e permeação transdérmica de um composto fármaco. Estas abordagens são: sistemas moderados por membrana, sistemas controlados por difusão adesiva, sistemas de tipo dispersão de matriz e sistemas de microrreservatório. É apreciado que uma composição percutânea e/ou tópica de liberação controlada pode ser obtida usando uma mistura adequada dessas abordagens.

[00259] Em um sistema moderado por membrana, o ingrediente ativo está presente em um reservatório que está totalmente encapsulado em um compartimento raso moldado a partir de um laminado impermeável a fármacos, tal como um laminado plástico metálico, e uma membrana polimérica controlando a taxa como uma membrana polimérica microporosa ou não porosa, por exemplo, copolímero de etileno acetato de vinilo. O ingrediente ativo é liberado através da membrana polimérica de controle da taxa. No reservatório de fármaco, o ingrediente ativo pode ser disperso em uma matriz polimérica sólida ou suspenso em um meio líquido viscoso não lixiviável como fluido de silicone. Na superfície externa da membrana polimérica, é aplicada uma camada fina de um polímero adesivo para alcançar um contato íntimo do sistema transdérmico com a superfície da pele. O polímero adesivo é preferencialmente um polímero que é hipoalergênico e compatível com a substância de fármaco ativo.

[00260] Em um sistema controlado por difusão adesiva, um reservatório do ingrediente ativo é formado por dispersão direta do ingrediente ativo em um polímero adesivo e depois, por exemplo, por fusão do solvente, espalhando o adesivo contendo o ingrediente ativo em um suporte de folha plana de plástico metálico substancialmente impermeável ao fármaco para formar uma camada de reservatório de fármaco fina.

[00261] Um sistema de tipo dispersão de matriz é caracterizado por um reservatório do ingrediente ativo ser formado dispersando de forma substancialmente homogênea o ingrediente ativo em uma matriz polimérica hidrofílica ou lipofílica. O polímero contendo fármaco é então moldado em um disco com uma área de superfície substancialmente bem definida e espessura controlada. O polímero adesivo é espalhado ao longo da circunferência para formar uma tira de adesivo em volta do disco.

[00262] Um sistema de microrreservatório pode ser considerado como uma combinação dos sistemas de tipo reservatório e dispersão de matriz. Em este caso, o reservatório da substância ativa é formado suspendendo primeiro os sólidos de fármaco em uma solução aquosa de polímero solúvel em água e depois dispersando a suspensão do fármaco em um polímero lipofílico para formar uma multiplicidade de esferas microscópicas não lixiviáveis de

reservatórios de fármaco.

[00263] Qualquer uma das acima descritas composições de liberação controlada, liberação prolongada e liberação sustentada podem ser formuladas para liberar o ingrediente ativo em cerca de 30 minutos a cerca de 1 semana, em cerca de 30 minutos a cerca de 72 horas, em cerca de 30 minutos a cerca de 24 horas, em cerca de 30 minutos a 12 horas, em cerca de 30 minutos a 6 horas, em cerca de 30 minutos a 4 horas e em cerca de 3 horas a 10 horas. Em formas de realização, uma concentração eficaz do ou dos ingredientes ativos é mantida em um paciente por 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, ou mais após administração das composições farmacêuticas ao paciente.

Dosagens

[00264] Quando os agentes aqui descritos são administrados como fármacos a humanos ou animais, eles podem ser dados *per se* ou como composição farmacêutica contendo o ingrediente ativo em combinação com um transportador, excipiente ou diluente farmacêuticamente aceitável.

[00265] Os níveis de dosagem atuais e o curso de tempo de administração dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas da invenção podem variar de forma a obter uma quantidade do ingrediente ativo que é eficaz para alcançar

a resposta terapêutica desejada para um paciente, composição e modo de administração particulares, sem serem tóxicos para o paciente. Geralmente, agentes ou composições farmacêuticas da invenção são administrados em uma quantidade suficiente para reduzir ou eliminar sintomas associados a infecção viral e/ou doença autoimune.

[00266] Intervalos de doses exemplares incluem 0,01 mg a 250 mg por dia, 0,01 mg a 100 mg por dia, 1 mg a 100 mg por dia, 10 mg a 100 mg por dia, 1 mg a 10 mg por dia, e 0,01 mg a 10 mg por dia. Uma dose preferencial de um agente é o máximo que um paciente pode tolerar sem desenvolver efeitos secundários graves ou inaceitáveis. Em formas de realização, o agente é administrado em uma concentração de cerca 10 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal por dia, cerca de 0,1 a cerca de 10 mg/kg por dia, ou cerca de 1,0 mg a cerca de 10 mg/kg de peso corporal por dia.

[00267] Em formas de realização, a composição farmacêutica compreende um agente em uma quantidade oscilando entre 1 e 10 mg, como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ou 10 mg.

[00268] Em formas de realização, a dosagem terapêuticamente eficaz produz uma concentração sérica de um agente de cerca de 0,1 ng/ml a cerca de 50-100 µg/ml. As composições farmacêuticas tipicamente devem providenciar uma

dosagem desde cerca de 0,001 mg a cerca de 2000 mg do composto por quilograma de peso corporal por dia. Por exemplo, doses para administração sistêmica a um paciente humano podem ir desde 1-10 µg/kg, 20-80 µg/kg, 5-50 µg/kg, 75-150 µg/kg, 100-500 µg/kg, 250-750 µg/kg, 500-1000 µg/kg, 1-10 mg/kg, 5-50 mg/kg, 25-75 mg/kg, 50-100 mg/kg, 100-250 mg/kg, 50-100 mg/kg, 250-500 mg/kg, 500-750 mg/kg, 750-1000 mg/kg, 1000-1500 mg/kg, 1500-2000 mg/kg, 5 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg, 1500 mg/kg, ou 2000 mg/kg. Formas de unidade de dosagem farmacêutica são preparadas para providenciar desde cerca de 1 mg a cerca de 5000 mg, por exemplo desde cerca de 100 a cerca de 2500 mg do composto ou uma combinação de ingredientes essenciais por forma de unidade de dosagem.

[00269] Em formas de realização, cerca de 50 nM a cerca de 1µM de um agente são administrados a um paciente. Em formas de realização relacionadas, cerca de 50-100 nM, 50-250 nM, 100-500 nM, 250-500 nM, 250-750 nM, 500-750 nM, 500 nM a 1 µM, ou 750 nM a 1µM de um agente são administrados a um paciente.

[00270] A determinação de uma quantidade eficaz está bem dentro da capacidade dos entendidos na técnica, especialmente à luz da revelação detalhada aqui providenciada. Geralmente, uma quantidade efetiva ou eficaz

de um agente é determinada administrando primeiro uma dose baixa do ou dos agentes e depois aumentando gradualmente a dose ou dosagens administradas até ser observado um efeito desejado (por exemplo, reduzir ou eliminar sintomas associados a infecção viral ou doença autoimune) no paciente tratado, com efeitos secundários tóxicos mínimos ou aceitáveis. Métodos aplicáveis para determinar uma dose apropriada e calendário de doseamento para administração de uma composição farmacêutica da presente invenção são descritos por exemplo, em *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Goodman et al., eds., 11ª edição, McGraw-Hill 2005, e *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª e 21ª edições, Gennaro and University of the Sciences in Philadelphia, Eds., Lippencott Williams & Wilkins (2003 e 2005), cada um dos quais é aqui incorporado por referência.

Terapias de Combinação

[00271] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor e composições farmacêuticas aqui descritas podem também ser administrados em combinação com outra molécula terapêutica. A molécula terapêutica pode ser qualquer composto usado para mitigar neoplasia ou seus sintomas. Exemplos de tais compostos incluem, mas não se limitam a, agentes quimioterapêuticos, agentes anti-angiogênese,

anticorpos de bloqueio de ponto de verificação ou outras moléculas que reduzem imunossupressão e semelhantes.

[00272] Os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor podem ser administrados antes, durante ou após administração do agente terapêutico adicional. Em formas de realização, os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor são administrados antes da primeira administração do agente terapêutico adicional. Em formas de realização, os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor são administrados após a primeira administração do agente terapêutico adicional (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 dias ou mais). Em formas de realização, os peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor são administrados simultaneamente com a primeira administração do agente terapêutico adicional.

Vacinas

[00273] Em uma forma de realização exemplar, a presente invenção é dirigida a uma composição imunogênica, por exemplo uma composição de vacina capaz de suscitar uma resposta específica de célula T. A composição de vacina compreende peptídeos neo-antigênicos mutantes e polipeptídeos neo-antigênicos mutantes correspondendo a neo-antigênicos específicos de tumor identificados pelos métodos aqui descritos.

[00274] Uma vacina adequada conterà de preferência vários peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor. Em uma forma de realização, a vacina incluirá entre 1 e 100 conjuntos de peptídeos, mais preferencialmente entre 1 e 50 de tais peptídeos, ainda mais preferencialmente entre 10 e 30 conjuntos de peptídeos, ainda mais preferencialmente entre 15 e 25 peptídeos. De acordo com outra forma de realização preferencial, a vacina incluirá aproximadamente 20 peptídeos, mais preferencialmente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, ou 30 diferentes peptídeos, mais preferencial 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, ou 25 diferentes peptídeos e mais preferencialmente 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, ou 25 diferentes peptídeos.

[00275] Em uma forma de realização da presente invenção, os peptídeos e/ou polipeptídeos neo-antigênicos específicos de tumor são selecionados para utilização na vacina contra a neoplasia de forma a maximizar a probabilidade de gerar um ataque imunitário contra a neoplasia/tumor do paciente. Sem estar preso à teoria, acredita-se que a inclusão de uma diversidade de peptídeos neo-antigênicos específicos de tumor gerará um ataque imunitário de larga escala contra uma neoplasia/tumor. Em uma forma de realização, os peptídeos/polipeptídeos neo-

antigênicos específicos de tumor selecionados são codificados por mutações de sentido trocado. Em uma segunda forma de realização, os peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos específicos de tumor selecionados são codificados por uma combinação de mutações de sentido trocado e mutações neoORF. Em uma terceira forma de realização, os peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos específicos de tumor selecionados são codificados por mutações neoORF.

[00276] Em uma forma de realização na qual os peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos específicos de tumor selecionados são codificados por mutações de sentido trocado, os peptídeos/polipeptídeos são escolhidos com base na sua capacidade de se associar com as moléculas MHC particulares do paciente. Peptídeos/polipeptídeos derivados de mutações neoORF podem também ser selecionados com base na sua capacidade de se associarem com as moléculas MHC particulares do paciente, mas podem também ser selecionadas mesmo se não forem previstas como passíveis de se associarem com moléculas MHC particulares do paciente.

[00277] A composição de vacina é capaz de suscitar uma resposta de células T citotóxicas específica e/ou uma resposta de célula T adjuvante específica.

[00278] A composição de vacina pode ainda compreender um adjuvante e/ou um transportador. Exemplos de adjuvantes

e transportadores úteis são dados em baixo. Os peptídeos e/ou polipeptídeos na composição podem ser associados com um transportador como, por exemplo, uma proteína ou uma célula apresentando antigênio como, por exemplo, uma célula dendrítica (DC) capaz de apresentar o peptídeo a uma célula T.

[00279] Adjuvantes são qualquer substância cuja mistura na composição de vacina aumenta ou de outro modo modifica a resposta imunitária ao peptídeo mutante. Os transportadores são estruturas em plataforma, por exemplo, um polipeptídeo ou um polissacarídeo, às quais os peptídeos neo-antigênicos são capazes de serem associados. Opcionalmente, adjuvantes são conjugados covalentemente ou não covalentemente aos peptídeos ou polipeptídeos da invenção.

[00280] A capacidade de um adjuvante para aumentar a resposta imunitária a um antigênio é tipicamente manifestada por um aumento significativo em reação imunomediada, ou redução em sintomas de doenças. Por exemplo, um aumento da imunidade humoral é tipicamente manifestado por um aumento significativo no título de anticorpos subidos ao antigênio, e um aumento na atividade de célula T é tipicamente manifestado em proliferação celular aumentada, ou citotoxicidade celular ou secreção de citocinas. Um

adjuvante pode também alterar uma resposta imunitária, por exemplo, alterando uma resposta primariamente humoral ou Th2 em uma resposta primariamente celular ou Th1.

[00281] Adjuvantes adequados incluem, mas não se limitam a, 1018 ISS, sais de alumínio, Amplivax, AS15, BCG, CP-870,893, CpG7909, CyaA, dSLIM, GM-CSF, IC30, IC31, Imiquimod, ImuFact IMP321, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, Juvlmmune, LipoVac, MF59, lípido monofosforila A, Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, PepTel.RTM, sistema vetor, micropartículas PLG, resiquimod, SRL172, virossomas e outras partículas tipo vírus, YF-17D, armadilha VEGF, R848, betaglucano, Pam3Cys, stimulon QS21 da Aquila (Aquila Biotech, Worcester, Mass., USA) que é derivado de saponina, extratos micobacterianos e análogos de parede da célula bacteriana sintética, e outros adjuvantes proprietários como Ribis Detox. Quil ou Superfos. Vários adjuvantes imunológicos (por exemplo, MF59) específicos para células dendríticas e a sua preparação foram descritos previamente (Dupuis M, et al., Cell Immunol. 1998; 186(1): 18-27; Allison A C; Dev Biol Stand. 1998; 92:3-11). Também podem ser usadas citocinas. Várias citocinas foram diretamente associadas à influência sobre a migração de células dendríticas para tecidos linfóides (por exemplo,

TNF-alfa), acelerando a maturação de células dendríticas em células apresentando antigênio eficientes para linfócitos T (por exemplo, GM-CSF, IL-1 e IL-4) (Patente U.S. No. 5,849,589, especificamente aqui incorporada por referência na sua totalidade) e atuando como imunoadjuvantes (por exemplo, IL-12) (Gabrilovich D I, et al., J Immunother Emphasis Tumor Immunol. 1996 (6):414-418).

[00282] Receptores tipo Toll (TLRs) também podem ser usados como adjuvantes e são membros importantes da família de receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) que reconhecem motivos conservados partilhados por muitos microrganismos, denominados "padrões moleculares associados a patógeno" (PAMPS). O reconhecimento destes "sinais de perigo" ativa múltiplos elementos do sistema imunitário inato e adaptativo. TLRs são expressos por células dos sistema imunitário inato e adaptativo tais como células dendríticas (DCs), macrófagos, células T e B, mastócitos e granulócitos e localizam-se em diferentes compartimentos celulares, tais como a membrana plasmática, lisossomas, endossomas e endolisossomas. Diferentes TLRs reconhecem distintos PAMPS. Por exemplo, TLR4 é ativado por LPS contido em paredes de células bacterianas, TLR9 é ativado por CpG DNA bacteriano ou viral não metilado e TLR3 é ativado por RNA de fita dupla. A ligação de ligando TLR conduz à ativação

de uma ou mais vias de sinalização intracelular, resultando por fim na produção de muitas moléculas-chave associadas a inflamação e imunidade (particularmente o fator de transcrição NF- κ B e interferões de tipo I). Ativação mediada por TLR conduz a ativação de DC aumentada, fagocitose, regulação para cima de marcadores de ativação e co-estimulação como CD80, CD83, e CD86, expressão de CCR7 permitindo migração de DC para drenar nodos linfáticos e facilitando a apresentação de antígeno a células T, bem como secreção aumentada de citosinas como interferões de tipo I, IL-12, e IL-6. Todos estes eventos a jusante são críticos para a indução de uma resposta imunitária adaptativa.

[00283] Entre os adjuvantes de vacina contra o câncer mais promissores atualmente em desenvolvimento clínico encontram-se o agonista de TLR9 CpG e o poli-ICLC ligando de TLR3 de RNA de fita dupla (dsRNA) sintético. Em estudos pré-clínicos, poli-ICLC parece ser o adjuvante de TLR mais potente quando comparado com LPS e CpG devido à sua indução de citocinas pro-inflamatórias e falta de estimulação de IL-10, bem como manutenção de elevados níveis de moléculas co-estimulatórias em DCs. Além disso, poli-ICLC foi recentemente comparado diretamente com CpG em primatas não humanos (macacos Rhesus) como adjuvante de uma vacina de

proteína consistindo de capsômeros do vírus do papiloma humano (HPV)16 (Stahl-Hennig C, Eisenblatter M, Jasny E, et al. Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques. PLoS pathogens. Abril de 2009;5(4)).

[00284] Oligonucleótidos imunoestimulantes de CpG também foram reportados como potencializadores dos efeitos de adjuvantes em um cenário de vacina. Sem estar preso à teoria, oligonucleótidos de CpG atuam ativando o sistema imunitário inato (não adaptativo) através de receptores tipo Tol (TLR), principalmente TLR9. A ativação de TLR9 despoletado por CpG potencia respostas humorais e celulares específicas de antígeno para vários antígenos, incluindo antígenos de peptídeos e proteínas, vírus vivos ou mortos, vacinas de células dendríticas, vacinas celulares autólogas e conjugados polissacarídeos em vacinas profiláticas e terapêuticas. Mais importantemente, potencia a maturação e diferenciação de células dendríticas, resultando em ativação potenciada de células Th1 e forte geração de linfócitos T citotóxicos (CTL), mesmo na ausência de adjuvante de célula T CD4. A tendência para Th1 induzida por estimulação TLR9 é mantida mesmo na presença de adjuvantes de vacina como alúmen ou adjuvante de Freund incompleto (IFA) que normalmente

promovem uma tendência Th2. Oligonucleótidos de CpG mostram ainda maior atividade adjuvante quando formulados ou co-administrados com outros adjuvantes ou em formulações como micropartículas, nanopartículas, emulsões lipídicas ou formulações semelhantes, que são especialmente necessárias para induzir uma resposta forte quando o antigênio é relativamente fraco. Eles também aceleram a resposta imunitária e permitem que as doses de antigênio fossem reduzidas em aproximadamente duas ordens de magnitude, com respostas imunitárias de anticorpos comparáveis à vacina de dose total sem CpG em algumas experiências (Arthur M. Krieg, *Nature Reviews, Drug Discovery*, 5, Jun. 2006, 471-484). A Patente U.S. No. 6,406,705 B1 descreve a utilização combinada de oligonucleótidos CpG, adjuvantes de ácido não nucleico e um antigênio para induzir uma resposta imunitária específica de antigênio. Um antagonista de TLR9 CpG disponível comercialmente é dSLIM (double Stem Loop Immunomodulator) da Mologen (Berlim, ALEMANHA), que é um componente preferencial da composição farmacêutica da presente invenção. Outras moléculas de ligação de TLR como TLR 7, TLR 8 e/ou TLR 9 de ligação de RNA podem também ser usadas.

[00285] Derivados de xantenona como, por exemplo, Vadimezan ou AsA404 (também conhecido como ácido 5,6-dimetilaxantenona-4-acético (DMXAA)), podem também ser

usados como adjuvantes de acordo com formas de realização da invenção. Em alternativa, tais derivados podem também ser administrados em paralelo com a vacina da invenção, por exemplo através de aplicação sistêmica ou intra-tumoral, para estimular imunidade no local do tumor. Sem estar preso à teoria, acredita-se que tais derivados de xantenona atuam estimulando a produção de interferon (IFN) através do estimulador do receptor do gene de IFN ISTING (ver, por exemplo, Conlon et al. (2013) Mouse, but not Human STING, Binds and Signals in Response to the Vascular Disrupting Agent 5,6-Dimethylxanthenone-4-Acetic Acid, Journal of Immunology, 190:5216-25 e Kim et al. (2013) Anticancer Flavonoids are Mouse-Selective STING Agonists, 8:1396-1401).

[00286] Outros exemplos de adjuvantes úteis incluem, mas não se limitam a, CpGs quimicamente modificado (por exemplo, CpR, Idera), Poli(I:C) (por exemplo, polii:CI2U), DNA ou RNA bacteriano não-CpG bem como pequenas moléculas imunoativas e anticorpos como ciclofosfamida, sunitinib, bevacizumab, celebrex, NCX-4016, sildenafil, tadalafil, vardenafil, sorafinib, XL-999, CP- 547632, pazopanib, ZD2171, AZD2171, ipilimumab, tremelimumab, e SC58175, que podem atuar terapêuticamente e/ou como um adjuvante. As quantidades e concentrações de adjuvantes e aditivos úteis no contexto da presente invenção podem prontamente ser

determinadas pelo técnico da área sem experimentação desnecessária. Adjuvantes adicionais incluem fatores de estimulação de colônia, como Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos-Granulócitos (GM-CSF, sargramostim).

[00287] Poli-ICLC é um RNA de fita dupla preparado sinteticamente consistindo de fitas poliI e poliC de comprimento médio de cerca de 5000 nucleotídeos, que foi estabilizado para desnaturação térmica e hidrólise por nucleases séricas por adição de polilisina e carboximetilcelulose. O composto ativa TLR3 e o domínio de helicase de RNA de MDA5, ambos membros da família PAMP, conduzindo a ativação de DC e de células assassinas naturais (NK) e produção de uma "mistura natural" de interferons de tipo I, citocinas e quimiocinas. Além disso, poli-ICLC exerce um efeito mais direto anti-infeccioso amplo direcionado ao hospedeiro e possivelmente antitumor mediado pelos dois sistemas de enzimas nucleares induzíveis por IFN, o 2'5'-OAS e a quinase P1/eIF2a, também conhecida como PKR (4-6), bem como helicase RIG-I e MDA5.

[00288] Em roedores e primatas não humanos, foi mostrado que poli-ICLC potencia respostas de célula T a antígenos virais, iniciação transversal, e a indução de células T CD8⁺ específicas de tumor, vírus e auto-antigênicas. Em um estudo recente em primatas não humanos,

foi descoberto que poli-ICLC é essencial para a geração de respostas de anticorpos e imunidade de célula T para proteína p24 Gag de HIV direcionada ou não direcionada a DC, enfatizando a sua eficácia como adjuvante de vacina.

[00289] Em participantes humanos, a análise transcricional de amostras de sangue total em série revelou perfis de expressão de genes semelhantes entre os 8 voluntários humanos saudáveis recebendo uma administração subcutânea única de poli-ICLC e expressão diferencial de até 212 genes entre estes 8 participantes versus 4 participantes recebendo placebo. De forma notável, a comparação dos dados de expressão de gene poli-ICLC com dados prévios de voluntários imunizados com a vacina da febre amarela altamente eficaz YF17D mostrou que um grande número de vias canônicas de transdução transcricional e de sinal, incluindo as do sistema imunitário inato, foram reguladas para cima de forma semelhantes em pontos de tempo de pico.

[00290] Mais recentemente, uma análise imunológica foi reportada em pacientes com câncer dos ovários, das trompas de Falópio e peritoneal primário em segunda ou terceira remissão clínica completa que foram tratadas em um estudo de fase 1 de vacinação subcutânea com peptídeos longos sobrepostos sintéticos (OLP) do antigênio NY-ESO-1 de câncer dos testículos sozinho ou com Montanide-ISA-51, ou com 1,4

mg de poli-ICLC e Montanide. A geração de células T CD4⁺ e CD8⁺ específicas de NY-ESO-1 e respostas de anticorpos foram acentuadamente potenciadas com a adição de poli-ICLC e Montanide em comparação com OLP isolado ou OLP com Montanide.

[00291] Uma composição de vacina de acordo com a presente invenção pode compreender mais do que um adjuvante diferente. Além disso, a invenção abrange uma composição terapêutica compreendendo qualquer substância adjuvante incluindo qualquer uma das indicadas acima ou suas combinações. Também é contemplado que o peptídeo ou polipeptídeo, e o adjuvante podem ser administrados separadamente em qualquer sequência apropriada.

[00292] Um transportador pode estar presente independentemente de um adjuvante. A função de um transportador pode, por exemplo, conferir estabilidade, para aumentar a atividade biológica ou para aumentar a semi-vida sérica. Além disso, um transportador pode ajudar a apresentar peptídeos a células T. O transportador pode ser qualquer transportador adequado conhecido dos entendidos na técnica, por exemplo uma proteína ou uma célula apresentado antigênio. Uma proteína transportadora pode ser, mas não se limita a, hemocianina de lapa californiana, proteínas séricas como transferrina, albumina sérica de bovino, albumina sérica humana, tiroglobulina ou ovalbumina, imunoglobulinas, ou

hormonas como insulina ou ácido palmítico. Para imunização de humanos, o transportador pode ser um transportador fisiologicamente aceitável aceitável por humanos e seguro. Contudo, toxóide tetânico e/ou toxóide diftérico são transportadores adequados em uma forma de realização da invenção. Em alternativa, o transportador podem ser dextranos, por exemplo sefarose.

[00293] Células T citotóxicas (CTLs) reconhecem um antigênio sob a forma de um peptídeo ligado a uma molécula MHC em vez do antigênio estranho intacto ele próprio. A molécula MHC em si encontra-se localizada na superfície da célula de uma célula apresentando antigênio. Assim, uma ativação de CTLs apenas é possível se estiver presente um complexo trimérico de antigênio de peptídeo, molécula MHC e APC. Correspondentemente, poder-se-á potenciar a resposta imunitária se não for usado apenas o peptídeo para ativação de CTLs, mas se forem acrescentados adicionalmente APCs com a respectiva molécula MHC. Como tal, em algumas formas de realização, a composição de vacina de acordo com a presente invenção contém adicionalmente pelo menos uma célula apresentando antigênio.

[00294] A célula apresentando antigênio (ou célula estimuladora) tipicamente tem uma molécula MHC de classe I ou II na sua superfície, e em uma forma de realização é

substancialmente incapaz de carregar ela própria a molécula MHC de classe I ou II com o antigênio selecionado. Como é descrito em maior detalhe em baixo, a molécula MHC de classe I ou II pode prontamente ser carregada com o antigênio selecionado *in vitro*.

[00295] De preferência, as células apresentando antigênio são células dendríticas. De forma adequada, as células dendríticas são células dendríticas autólogas que são pulsadas com o peptídeo neo-antigênico. O peptídeo pode ser qualquer peptídeo adequado que suscite uma resposta de célula T apropriada. A terapia de célula T usando células dendríticas autólogas pulsadas com peptídeos de um antigênio associado a um tumor é revelada em Murphy et al. (1996) *The Prostate* 29, 371-380 e Tjua et al. (1997) *The Prostate* 32, 272-278.

[00296] Assim, em uma forma de realização da presente invenção, a composição de vacina contendo pelo menos uma célula apresentando antigênio é pulsada ou carregada com um ou mais peptídeos da presente invenção. Em alternativa, células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) isoladas de um paciente podem ser carregadas com peptídeos *ex vivo* e injetadas novamente no paciente. Como alternativa, a célula apresentando antigênio compreende um constructo de expressão codificando um peptídeo da presente invenção. O

polinucleotídeo pode ser qualquer polinucleotídeo adequado e é preferencial que seja capaz de transduzir a célula dendrítica, resultando assim na apresentação de um peptídeo e indução de imunidade.

Métodos Terapêuticos

[00297] A invenção providencia ainda um método de induzir uma resposta imunitária específica de neoplasia/tumor em um paciente, vacinando contra uma neoplasia/tumor, tratando e/ou aliviando um sintoma de câncer em um paciente administrando ao paciente um peptídeo neo-antigênico ou composição de vacina da invenção.

[00298] De acordo com a invenção, a vacina contra o câncer acima descrita pode ser usada para um paciente que foi diagnosticado como tendo câncer, ou em risco de desenvolver câncer. Em uma forma de realização, o paciente pode ter um tumor sólido tal como um tumor dos ovários, próstata, pulmão, rim, gástrico, cólon, testicular, da cabeça e pescoço, pâncreas, cérebro, melanoma e outros tumores de órgãos de tecidos e tumores hematológicos, tais como linfomas e leucemias, incluindo leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide crônica, leucemia linfóide de célula T e linfomas de célula B.

[00299] O peptídeo ou composição da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para induzir uma

resposta CTL.

[00300] O peptídeo neo-antigênico, polipeptídeo ou composição de vacina da invenção podem ser administrados isoladamente ou em combinação com outros agentes terapêuticos. O agente terapêutico é, por exemplo, um agente quimioterapêutico ou bioterapêutico, radiação ou imunoterapia. Pode ser administrado qualquer tratamento terapêutico adequado para um câncer particular. Exemplos de agentes quimioterapêuticos e bioterapêuticos incluem, mas não se limitam a, aldesleuquina, altretamina, amifostina, asparaginase, bleomicina, capecitabina, carboplatina, carmustina, cladribina, cisaprida, cisplatina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina (DTIC), dactinomicina, docetaxel, doxorubicina, dronabinol, epoetina alfa, etopósido, filgrastima, fludarabina, fluorouracil, gemcitabina, granisetrona, hidroxíureia, idarubicina, ifosfamida, interferon alfa, irinotecano, lansoprazole, levamisole, leucovorina, megestrol, mesna, metotrexato, metoclopramida, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, omeprazole, ondansetrona, paclitaxel (Taxol®), pilocarpina, procloroperazina, rituximab, tamoxifeno, taxol, hidrocloreto de topotecano, trastuzumab, vimblastina, vincristina e tartrato de vinorelbina. Para tratamento do câncer da próstata, um agente quimioterapêutico preferencial com o

qual pode ser combinado anti- CTLA-4 é paclitaxel (Taxol®).

[00301] Além disso, pode ser ainda administrado ao paciente um agente imunossupressor ou imunoestimulante. Por exemplo, é ainda administrado ao paciente um anticorpo anti-CTLA ou anti-PD-1 ou anti-PD-L1. O bloqueio de CTLA-4 ou PD-1/PD-L1 por anticorpos pode potencializar a resposta imunitária a células cancerígenas no paciente. Em particular, o bloqueio de CTLA-4 demonstrou ser eficaz quando é seguido um protocolo de vacinação (Hodi et al 2005).

[00302] A quantidade ótima de cada peptídeo a ser incluído na composição de vacina e o regime de dosagem ótimo podem ser determinados por um entendimento na técnica sem experimentação desnecessária. Por exemplo, o peptídeo ou sua variante podem ser preparados por injeção intravenosa (i.v.), injeção subcutânea (s.c.), injeção intradérmica (i.d.), injeção intraperitoneal (i.p.), injeção intramuscular (i.m.). Métodos preferenciais de injeção de peptídeos incluem s.c, i.d., i.p., i.m., e i.v. Métodos preferenciais de injeção de DNA incluem i.d., i.m., s.c, i.p. e i.v. Por exemplo, podem ser dados entre 1 e 500 mg, 50 µg e 1,5 mg, de preferência 10 µg a 500 µg, de peptídeo ou DNA e dependerão do respectivo peptídeo ou DNA. Doses desta gama foram sucessivamente usadas em ensaios anteriores (Brunsvig P F, et al., Cancer Immunol Immunother. 2006;

55(12): 1553- 1564; M. Staehler, et al., Convenção ASCO de 2007; Abstract No 3017). Outros métodos de administração da composição de vacina são conhecidos dos entendidos na técnica.

[00303] A composição farmacêutica inventiva pode ser compilada de forma que a seleção, número e/ou quantidade de peptídeos presentes na composição seja/sejam específicas do tecido, câncer e/ou do paciente. Por exemplo, a seleção exata de peptídeos pode ser guiada por padrões de expressão das proteínas principais em um dado tecido para evitar efeitos secundários. A seleção pode estar dependente do tipo específico de câncer, o estado da doença, anteriores regimes de tratamento, o estado de imunidade do paciente, e, claro, do halótipo HLA do paciente. Além disso, a vacina de acordo com a invenção pode conter componentes individualizados, de acordo com necessidades pessoais do paciente particular. Exemplos incluem variar as quantidades de peptídeos de acordo com a expressão do neo-antigênio relacionado no paciente particular, efeitos secundários indesejados devido a alergias pessoais ou outros tratamentos, e ajustes para tratamentos secundários a seguir a uma primeira ronda ou esquema de tratamento.

[00304] Composições farmacêuticas compreendendo o peptídeo da invenção podem ser administradas a um indivíduo

já sofrendo de câncer. Em aplicações terapêuticas, são administradas composições a um paciente em uma quantidade suficiente para obter uma resposta CTL eficaz ao antigênios tumorais e a curar ou pelo menos parcialmente deter sintomas e/ou complicações. Uma quantidade adequada para alcançar isto é definida como "dose terapeuticamente eficaz". Quantidades eficazes para esta utilização dependerão, por exemplo, da composição peptídica, da forma de administração, estágio e gravidade da doença a ser tratada, o peso e estado geral do paciente, e avaliação do médico que faz a prescrição, mas geralmente variam para a imunização inicial (ou seja, para administração terapêutica ou profilática) entre cerca de 1,0 µg a cerca de 50.000 µg de peptídeo para um paciente de 70 kg, seguido de dosagens de reforço ou de cerca de 1,0 µg a cerca de 10.000 µg de peptídeo no seguimento de um regime de reforço ao longo de semanas ou meses dependendo da resposta e estado de saúde do paciente e possivelmente medindo a atividade CTL específica no sangue do paciente. Deve ser tido em mente que o peptídeo e composições da presente invenção podem geralmente ser empregues em estados de doença grave, ou seja, situações nas quais se corre perigo de vida ou nas quais se poderá correr perigo de vida, especialmente quando o câncer tem metástases. Para utilização terapêutica, a administração deve começar o

mais cedo possível após a detecção ou remoção cirúrgica de tumores. A isto seguem-se de doses de reforço até pelo menos os sintomas serem substancialmente reduzidos e por um período subsequente.

[00305] As composições farmacêuticas (por exemplo, composições de vacina) para tratamento terapêutico destinam-se a administração parenteral, tópica, nasal, oral ou local. De preferência, as composições farmacêuticas são administradas parenteralmente, por exemplo, de forma intravenosa, subcutânea, intradérmica ou intramuscular. As composições podem ser administradas no local da excisão cirúrgica para induzir uma resposta imunitária local ao tumor. A invenção providencia composições para administração parenteral que compreendem que uma solução de peptídeos e composições de vacina sejam dissolvidas ou suspensas em um transportador aceitável, de preferência um transportador aquoso. Pode ser usada uma variedade de transportadores aquosos, por exemplo água, água tamponada, 0,9% de solução salina, 0,3% de glicina, ácido hialurônico e semelhantes. Estas composições podem ser esterilizadas por técnicas de esterilização convencionais bem conhecidas, ou podem ser esterilizadas por filtração. As soluções aquosas resultante podem ser embaladas para utilização como estão, ou liofilizadas, a preparação liofilizada sendo combinada com

uma solução esterilizada antes da administração. As composições podem conter substâncias auxiliares farmacologicamente aceitáveis como requerido para aproximar as condições fisiológicas, tais como ajuste de pH e agentes de tamponamento, agentes de ajuste de tonicidade, agentes umectantes e semelhantes, por exemplo, acetato de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, monolaurato de sorbitano, oleato de trietanolamina, etc.

[00306] A concentração de peptídeos da invenção nas formulações farmacêuticas pode variar amplamente, ou seja, de normalmente menos de cerca de 0,1% a pelo menos cerca de 2% até 20% a 50% ou mais em peso, e será selecionada primariamente por volumes de fluido, viscosidade, etc., de acordo com o modo particular de administração selecionado.

[00307] Uma suspensão de lipossomas contendo um peptídeo pode ser administrada de forma intravenosa, local, tópica, etc. em uma dose que varia de acordo com, entre outros, a forma de administração, o peptídeo a aplicar, e o estágio da doença a ser tratada. Para alvejar células imunitárias, pode ser incorporado no lipossoma um ligando, tal como, por exemplo, anticorpos ou seus fragmentos específicos para determinantes de superfície da célula das desejadas células do sistema imunitário.

[00308] Para composições sólidas, podem ser usados transportadores sólidos não tóxicos convencionais ou de nanopartículas que incluem, por exemplo, graus farmacêuticos de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, sacarina de sódio, talco, celulose, glicose, sacarose, carbonato de magnésio e semelhantes. Para administração oral, uma composição não tóxica farmacêuticamente aceitável é formada incorporando qualquer um dos excipientes normalmente empregues, tais como os transportadores previamente listados, e geralmente 10-95% de ingrediente ativo, ou seja, um ou mais peptídeos da invenção, e mais preferencialmente em uma concentração de 25%-75%.

[00309] Para administração por aerossol, os peptídeos imunogênicos são preferencialmente fornecidos em forma dividida finamente juntamente com um surfactante e propulsor. Porcentagens de peptídeos típicas são 0,01 %-20% em peso, de preferência 1%-10%. O surfactante será, claro, não tóxico e preferencialmente solúvel no propulsor. Representativos de tais agentes são os ésteres de ou ésteres parciais de ácidos graxos contendo de 6 a 22 átomos de carbono, como ácidos capríco, octanóico, láurico, palmítico, esteárico, linoleico, linolênico, olestérico e oleico com um álcool poli-hídrico alifático ou o seu anidrido cíclico. Podem ser empregues ésteres misturados, como

glicerídeos misturados ou naturais. O surfactante pode constituir 0,1%-20% em peso da composição, de preferência 0,25-5%. O equilíbrio da composição é ordinariamente propulsor. Também pode ser incluído um transportador como desejado, por exemplo com lecitina para aplicação intranasal.

[00310] Os peptídeos e polipeptídeos da invenção podem ser prontamente sintetizados quimicamente usando reagentes livres de bactérias contaminantes ou substâncias animais (Merrifield RB: Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54, 1963).

[00311] Para propósitos terapêuticos ou de imunização, também podem ser administrados ao paciente ácidos nucleicos codificando o peptídeo da invenção e opcionalmente um ou mais dos peptídeos aqui descritos. Vários métodos são convenientemente usados para entregar os ácidos nucleicos ao paciente. Por exemplo, o ácido nucleico pode ser entregue diretamente, como "DNA nu". Esta abordagem é descrita, por exemplo, em Wolff et al., Science 247: 1465-1468 (1990) bem como nas Patentes U.S. Nos. 5,580,859 e 5,589,466. Os ácidos nucleicos também podem ser administrados usando entrega balística como descrito por exemplo, na Patente U.S. No. 5,204,253. Podem ser

administradas partículas consistindo apenas de DNA. Em alternativa, pode ser aderido DNA às partículas, tais como partículas de ouro.

[00312] Os ácidos nucleicos também podem ser fornecidos complexados a compostos catiônicos, tais como lipídeos catiônicos. Métodos de fornecimento de genes mediado por lipídeos são descritos, por exemplo, em WO1996/18372; WO 1993/24640; Mannino & Gould-Fogerite, *BioTechniques* 6(7): 682-691 (1988); Patente U.S. No. 5,279,833; WO 1991/06309; e Feigner et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 7413-7414 (1987).

[00313] RNA codificando o peptídeo de interesse também pode ser usado para fornecimento (ver, por exemplo, Kiken et al, 2011; Su et al, 2011).

[00314] Os peptídeos e polipeptídeos da invenção também podem ser expressos por hospedeiros virais atenuados, tais como *vaccinia* ou boubá aviária. Esta abordagem envolve a utilização do vírus *vaccinia* como um vetor para expressar sequências de nucleotídeo que codificam o peptídeo da invenção. Após introdução em um hospedeiro infetado de forma aguda ou crônica ou em um hospedeiro não infetado, o vírus *vaccinia* recombinante expressa o peptídeo imunogênico e obtém assim uma resposta CTL do hospedeiro. Vetores *vaccinia* e métodos úteis em protocolos de imunização são descritos

por exemplo, na Patente U.S. No. 4,722,848,. Outro vetor é BCG (Bacilos Calmette Guerin). Vetores BCG são descritos em Stover et al. (Nature 351:456-460 (1991)). Uma grande variedade de outros vetores úteis para administração terapêutica ou imunização dos peptídeos da invenção, por exemplo vetores de Salmonella typhi e semelhantes, serão aparentes aos entendidos na técnica a partir desta descrição.

[00315] Um meio preferencial de administrar ácidos nucleicos codificando o peptídeo da invenção usa constructos de minigene codificando múltiplos epítomos. Para criar uma sequência de DNA codificando os epítomos CTL selecionados (minigene) para expressão em células humanas, as sequências de aminoácidos dos epítomos são traduzidas reversamente. Uma tabela de utilização de códons humanos é usada para guiar a escolha de códons para cada aminoácido. Estas sequências de DNA codificando epítomos são diretamente unidas, criando uma sequência de polipeptídeos contínua. Para otimizar expressão e/ou imunogenicidade, podem ser incorporados elementos adicionais no desenho do minigene. Exemplos de sequência de aminoácidos que poderiam ser traduzidos reversamente e incluídos na sequência de minigene incluem: linfócito T adjuvante, epítomos, uma sequência líder (sinal) e um sinal de retenção de retículo endoplasmático. Além disso, a apresentação MHC de epítomos CTL pode ser melhorada pela

inclusão de sequências flanqueadoras sintéticas (por exemplo, poli-alanina) ou ocorrendo naturalmente adjacentes aos epítopos CTL.

[00316] A sequência de minigene é convertida para DNA montando oligonucleótidos que codificam as cadeias mais e menos do minigene. Oligonucleótidos sobrepostos (30-100 bases de comprimento) são sintetizados, fosforilados, purificados e anelados sob condições apropriadas usando técnicas bem conhecidas. As extremidades dos oligonucleótidos são unidas usando ligase de DNA T4. Este minigene sintético, codificando o polipeptídeo de epítipo CTL, pode então ser clonado em um vetor de expressão desejado.

[00317] Sequências reguladoras padrão bem conhecidas dos entendidos na técnica são incluídas no vetor para assegurar expressão nas células alvo. São requeridos vários elementos de vetor: um promotor com um local de clonagem a jusante para inserção de minigene; um sinal de poliadenilação para terminação de transcrição eficiente; uma origem de replicação E. coli; e um marcador selecionável E. coli (por exemplo, resistência à ampicilina ou canamicina). Podem ser usados numerosos promotores para este propósito, por exemplo, o promotor de citomegalovírus (hCMV). Ver as Patentes U.S. Nos. 5,580,859 e 5,589,466 para outras

sequências de promotores adequados.

[00318] Podem ser desejadas modificações de vetor adicionais para otimizar a expressão de minigene e a imunogenicidade. Em alguns casos, são necessários íntrons para expressão de gene eficiente, e podem ser incorporados um ou mais íntrons sintéticos ou ocorrendo naturalmente na região transcrita do minigene. A inclusão de sequências de estabilização de mRNA também pode ser considerada para aumentar a expressão de minigene. Foi recentemente proposto que sequências imunoestimulantes (ISSs ou CpGs) desempenham um papel na imunogenicidade das vacinas de DNA. Estas sequências poderiam ser incluídas no vetor, fora da sequência de codificação do minigene, se determinadas como potencializadoras da imunogenicidade.

[00319] Em algumas formas de realização, podem ser usados um vetor de expressão bicistrônico para permitir a produção dos epítopos codificados por minigene e uma segunda proteína incluída para potenciar ou reduzir a imunogenicidade. Exemplos de proteínas ou polipeptídeos que poderiam potenciar beneficemente a resposta imunitária se co-expressos incluem citocinas (por exemplo, IL2, IL12, GM-CSF), moléculas indutoras de citocina (por exemplo, LeIF) ou moléculas co-estimulantes. Epítopos adjuvantes (HTL) poderiam ser unidos a sinais de direcionamento intracelular

e expressos separadamente dos epítomos CTL. Isto permitiria direcionamento dos epítomos HTL para um compartimento celular diferente dos epítomos CTL. Se desejado, isto poderia facilitar a entrada mais eficiente de epítomos HTL na via de classe MHC II, melhorando assim a indução CTL. Em contraste com a indução CTL, diminuir especificamente a resposta imunitária por co-expressão de moléculas imunossupressoras (por exemplo, TGF- β) pode ser benéfico em certas doenças.

[00320] Uma vez selecionado um vetor de expressão, o minigene é clonado na região poliligadora a jusante do promotor. O plasmídeo é transformado em uma estirpe E-coli apropriada e é preparado DNA usando técnicas padronizadas. A orientação e sequência de DNA do minigene, bem como todos os outros elementos incluídos no vetor são confirmados usando mapeamento de restrição e análise de sequência de DNA. Células bacterianas abrigando o plasmídeo correto podem ser armazenadas como um banco de células principal e um banco de células de trabalho.

[00321] Pode ser preparado DNA plasmídico purificado para injeção usando várias formulações. A mais simples destas é reconstituição de DNA liofilizado em solução salina tamponada com fosfato (PBS) esterilizada. Vários métodos foram descritos, e novas técnicas podem ficar disponíveis. Como indicado em cima, ácidos nucleicos são convenientemente

formulados com lipídeos catiônicos. Além disso, glicolipídeos, lipossomas fusogênicos, peptídeos e compostos referidos coletivamente como protetores, interativos, não condensadores (PINC) poderiam também ser complexados para DNA plasmídico purificado para influenciar variáveis como a estabilidade, dispersão intramuscular ou tráfego para órgãos ou tipos de células específicos.

[00322] Pode ser usada sensibilização de célula alvo como ensaio funcional para expressão e apresentação de classe MHC I de epítomos CTL codificados por minigene. O DNA plasmídico é introduzido em uma linha celular de mamífero adequada como alvo para ensaios de liberação de crômio CTL padrão. O método de transfecção usado será dependente da formulação final. Pode ser usada eletroporação para DNA "nu", enquanto lipídeos catiônicos permitem direcionar a transfecção *in vitro*. Uma proteína verde fluorescente expressando plasmídeo (GFP) pode ser transfectada para permitir enriquecimento de células transfectadas usando separação de células ativada por fluorescência (FACS). Estas células são então marcadas com crômio-51 e usadas como células alvo para linhas CTL específicas de epítomo. Citólise, detectada por liberação de 51 Cr, indica produção de apresentação MHC de epítomos CTL codificados por minigene.

[00323] A imunogenicidade *in vivo* é uma segunda

abordagem para teste funcional de formulações de DNA de minigene. Camundongos transgênicos expressando moléculas MHC humanas apropriadas são imunizados com o produto de DNA. A dose e via de administração são dependentes da formulação (por exemplo, IM para DNA em PBS, IP para DNA complexado por lípido). Vinte e um dias após imunização, são colhidos esplenócitos e re-estimulados durante 1 semana na presença de peptídeos codificando cada epítipo sendo testado. Estas células efectoras (CTLs) são testadas quanto a citólise de células alvo marcadas com crômio-51 carregadas com peptídeos usando técnicas padronizadas. A lise de células alvo sensibilizadas por carga MHC de peptídeos correspondendo a epítipos codificados por minigene demonstra função de vacina de DNA para a indução in vivo de CTLs.

[00324] Podem também ser usados peptídeos para obter CTL *ex vivo*. O CTL resultante pode ser usado para tratar tumores crônicos em pacientes que não respondem a outras formas convencionais de terapia, ou que não respondam a uma abordagem de terapia de vacina de peptídeos. As respostas CTL *ex vivo* a um antigênio tumoral particular são induzidas incubando em cultura de tecido as células precursoras de CTL do paciente (CTLp) juntamente com uma fonte de células apresentando antigênio (APC) e o peptídeo apropriado. Após um tempo de incubação apropriado (tipicamente 1-4 semanas),

no qual as CTLp são ativadas e maturam e expandem para CTL efectoras, as células são infundidas de volta no paciente, onde destruirão a sua célula alvo específica (ou seja, uma célula tumoral). De forma a otimizar as condições *in vitro* para a geração de células T citotóxicas específicas, a cultura de células estimulantes é mantida em um meio sem soro apropriado.

[00325] Antes da incubação das células estimulantes com as células a serem ativadas, por exemplo, células CD8+ precursoras, uma quantidade de peptídeo antigênico é adicionada à cultura de células estimulantes, em uma quantidade suficiente para se tornar carregado nas moléculas humanas de classe I a serem expressas na superfície das células estimulantes. Na presente invenção, uma quantidade de peptídeo suficiente é uma quantidade que permitirá que 200, e preferencialmente 200 ou mais moléculas MHC humanas de classe I carregadas com o peptídeo sejam expressas na superfície de cada célula estimulante. De preferência, as células estimulantes são incubadas com >2µg/ml de peptídeo. Por exemplo, as células estimulantes são incubadas com > 3, 4, 5, 10, 15, ou mais µg/ml de peptídeo.

[00326] Células CD8+ de repouso ou precursoras são então incubadas em cultura com as células estimulantes apropriadas por um período de tempo suficiente para ativar

as células CD8+. De preferência, as células CD8+ são ativadas de forma específica ao antigênio. O rácio de células CD8+ (efetoras) de repouso ou precursoras para células estimulantes pode variar de indivíduo para indivíduo e pode ainda depender de variáveis como a receptividade dos linfócitos de um indivíduo a condições de cultura e a natureza e gravidade da doença ou outro problema de saúde para o qual a modalidade de tratamento nela descrita seja usada. De preferência, contudo, o rácio linfócitos:células estimulantes fica compreendido no intervalo de cerca de 30:1 a 300:1. A cultura efetor/estimulante pode ser mantida durante o tempo necessário para estimular um número terapêuticamente utilizável ou eficaz de células CD8+.

[00327] A indução de CTL *in vitro* requer o reconhecimento específico de peptídeos que estão ligados a moléculas MHC de classe I específicas de alelos em APC. O número de complexos específicos de MHC/peptídeo por APC é crucial para a estimulação de CTL, particularmente em respostas imunitárias primárias. Apesar de pequenas quantidades de complexos de peptídeo/MHC por célula serem suficientes para tornar uma célula suscetível a lise por CTL, ou para estimular uma resposta CTL secundária, a ativação bem-sucedida de um precursor de CTL (pCTL) durante resposta primária exige um número de complexos MHC/peptídeo

significativamente superior. A carga de peptídeos de moléculas vazias de complexo principal de histocompatibilidade em células permite a indução de respostas primárias de linfócitos T citotóxicos.

[00328] Uma vez que não existem linhas celulares mutantes para cada alelo MHC humano, é vantajoso usar uma técnica para remover peptídeos associados a MHC endógenos da superfície de APC, seguido de carga das moléculas MHC vazias resultantes com peptídeos imunogênicos de interesse. A utilização de células não infectadas, não transformadas (não tumorigênicas) e de preferência, células autólogas de paciente como APC é desejável para o desenho de protocolos de indução de CTL dirigido para o desenvolvimento de terapias de CTL *ex vivo*. Este pedido revela métodos para remover os peptídeos associados a MHC endógenos da superfície de APC seguido de carga dos peptídeos desejados.

[00329] Uma molécula MHC de classe I estável é um complexo trimérico formado pelos seguintes elementos: 1) um peptídeo normalmente de 8-10 resíduos, 2) uma cadeia de proteína polimórfica pesada transmembrana que suporta o local de ligação de peptídeo nos seus domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$, e 3) uma cadeia leve não polimórfica não covalentemente associada, $\beta 2$ microglobulina. Remover os peptídeos ligados e/ou dissociar a $\beta 2$ microglobulina do complexo torna as

moléculas MHC de classe I não funcionais e instáveis, resultando em degradação rápida. Todas as moléculas MHC de classe I isoladas de PBMCs possuem peptídeos endógenos ligados a elas. Como tal, a primeira etapa é remover todos os peptídeos endógenos ligados a moléculas MHC de classe I no APC sem provocar a sua degradação antes de peptídeos exógenos poderem ser adicionados a eles.

[00330] Duas possíveis formas de liberar moléculas MHC de classe I de peptídeos ligados incluem baixar a temperatura de cultura de 37 °C para 26 °C durante a noite para desestabilizar a p2microglobulina e remover peptídeos endógenos da célula usando um tratamento ácido suave. Os métodos liberam peptídeos anteriormente ligados para o ambiente extracelular, permitindo que novos peptídeos exógenos se liguem às moléculas de classe I vazias. O método de incubação de temperatura fria permite que peptídeos exógenos se liguem eficazmente ao complexo MHC, mas exige uma incubação durante a noite a 26 °C, o que poderá tornar mais lenta a taxa metabólica da célula. Também é provável que células que não sintetizem ativamente moléculas MHC (por exemplo, PBMC de repouso) não produzam elevadas quantidades de moléculas MHC de superfície vazia pelo procedimento de temperatura fria.

[00331] A remoção de ácido duro envolve a extração de

peptídeos com ácido trifluoracético, pH 2 ou desnaturação acídica dos complexos de peptídeos de classe I purificados por imunoafinidade. Estes métodos não são exequíveis para indução CTL, uma vez que é importante remover os peptídeos endógenos ao mesmo tempo que se preserva a viabilidade APC e um estado metabólico ótimo que é crítico para apresentação de antigênios. Soluções de ácido suave de pH 3 como glicina ou tampões de citrato-fosfato têm sido usadas para identificar peptídeos endógenos e para identificar epítomos de célula T associados a tumor. O tratamento é especialmente eficaz na medida em que apenas as moléculas MHC de classe I são desestabilizadas (e os peptídeos associadas liberados), enquanto outros antigênios de superfície permanecem intactos, incluindo moléculas MHC de classe II. Mais importante ainda, o tratamento de células com soluções de ácido suave não afetam a viabilidade da célula ou o estado metabólico. O tratamento de ácido suave é rápido, uma vez que a remoção dos peptídeos endógenos ocorre em dois minutos a 4°C e o APC está pronto a realizar a sua função após os peptídeos apropriados serem carregados. A técnica é utilizada aqui para fazer APCs específicos de peptídeos para geração de CTL primário específico de antigênio. O APC resultante é eficiente na indução de CTL CD8+ específico de peptídeo.

[00332] Células CD8+ ativadas podem ser eficazmente separadas das células estimulantes usando um de vários métodos conhecidos. Por exemplo, anticorpos monoclonais específicos para as células estimulantes, para os peptídeos carregados nas células estimulantes, ou para as células CD8+ (ou um seu segmento) podem ser utilizados para ligar o seu ligando complementar. Moléculas marcadas com anticorpos podem então ser extraídas da mistura de células estimulantes-efetoras através dos meios apropriados, por exemplo através de métodos de imunoprecipitação ou imunoenaios bem conhecidos.

[00333] Quantidades citotóxicas eficazes das células CD8+ ativadas podem variar entre utilizações *in vitro* e *in vivo*, bem como com a quantidade e tipo de células que são o alvo final destas células assassinas. A quantidade também variará dependendo do problema de saúde do paciente e deve ser determinada através da consideração de todos os fatores apropriados pelo médico. Preferencialmente, contudo, cerca de 1×10^6 a cerca de 1×10^{12} , mais preferencialmente cerca de 1×10^8 a cerca de 1×10^{11} , e ainda mais preferencialmente, cerca de 1×10^9 a cerca de 1×10^{10} de células CD8+ ativadas foram utilizadas para humanos adultos em comparação com cerca de 5×10^6 - 5×10^7 células usadas em camundongos.

[00334] De preferência, como acima discutido, as

células CD8+ ativadas são colhidas da cultura celular antes de administração das células CD8+ ao indivíduo a ser tratado. É importante notar, contudo, que ao contrário de outras modalidades de tratamento presentes e propostas, o presente método usa um sistema de cultura celular que é não tumorigênico. Como tal, se não for alcançada separação completa de células estimulantes e células CD8+ ativadas, não se conhece qualquer perigo inerente associado à administração de um pequeno número de células estimulantes, enquanto a administração de células promotoras de tumor de mamíferos pode ser extremamente perigosa.

[00335] Métodos de reintroduzir componentes celulares são conhecidos na técnica e incluem procedimentos como os exemplificados na Patente U.S. No. 4,844,893 de Honsik, et al. e Patente U.S. No. 4,690,915 de Rosenberg. Por exemplo, é apropriada a administração de células CD8+ por meio de infusão intravenosa.

[00336] A atividade de células CD8+ pode ser aumentada através da utilização de células CD4+. A identificação de epítomos de célula CD4 T+ para antigênios tumorais atraiu o interesse porque muitas terapias de base imunitária contra o câncer podem ser ser mais eficazes se forem usados linfócitos T CD8+ e CD4+ para tratar um tumor de um paciente. As células CD4+ são capazes de potenciar

respostas de célula T CD8. Muitos estudos em modelos animais demonstraram claramente melhores resultados quando ambas as células T CD4+ e CD8+ participam em respostas anti-tumorais (ver, por exemplo, Nishimura et al. (1999) Distinct role of antigen-specific T helper type 1 (TH1) and Th2 cells in tumor eradication in vivo. J Ex Med 190:617-27). Foram identificados epítomos de células T CD4+ universais que são aplicáveis a terapias em desenvolvimento contra diferentes tipos de câncer (ver, por exemplo, Kobayashi et al. (2008) Current Opinion in Immunology 20:221-27). Por exemplo, um peptídeo adjuvante limitado em HLA-DR de toxóide tetânico foi usado em vacinas contra melanoma para ativar células T CD4+ não especificamente (ver, por exemplo, Slingluff et al. (2007) Immunologic and Clinical Outcomes of a Randomized Phase II Trial of Two Multipeptide Vaccines for Melanoma in the Adjuvant Setting, Clinical Cancer Research 13(21):6386-95). É contemplado dentro do escopo da invenção que tais células CD4+ possam ser aplicáveis a três níveis que variam na sua especificidade tumoral: 1) um nível amplo no qual podem ser usados epítomos CD4+ (por exemplo, toxóide tetânico) para aumentar células CD8+; 2) um nível intermediário no qual epítomos CD4+ nativos associados a tumor podem ser usados para aumentar células CD8+; e 3) um nível específico do paciente no qual epítomos CD4+ podem ser

usados para aumentar células CD8+ de forma específica do paciente.

[00337] Também pode ser gerada imunidade de células CD8+ com vacina de célula dendrítica (DC) carregada com neo-antigênio. As DCs são células apresentando antigênio que iniciam imunidade de célula T e podem ser usadas como vacinas contra o câncer quando carregadas com um ou mais peptídeos de interesse, por exemplo, por injeção direta de peptídeo. Por exemplo, pacientes que foram recém-diagnosticados com melanoma metastático mostraram ficar imunizados contra peptídeos derivados de antigênio gp 100 limitados por 3 HLA-A*0201 com DCs maduras ativadas por CD40L/IFN- γ pulsadas com peptídeo autólogo através de uma vacina DC de paciente produtora de IL-12p70 (ver, por exemplo, Carreno et al (2013) L-12p70-producing patient DC vaccine elicits Tc1-polarized immunity, *Journal of Clinical Investigation*, 123(8):3383-94 e Ali et al. (2009) In situ regulation of DC subsets and T cells mediates tumor regression in mice, *Cancer Immunotherapy*, 1(8):1-10). É contemplado dentro do escopo da invenção que DCs carregadas com neo-antigênios podem ser preparadas usando o agonista de TLR3 sintético ácido poliinosinic-policitidílico-poli-L-lisina Carboximetilcelulose (Poli-ICLC) para estimular as DCs. Poli-ICLC é um estímulo de maturação individual potente para

DCs humanas como avaliado por uma regulação para cima de CD83 e CD86, indução de produção de interleucina-12 (IL-12), fator de necrose tumoral (TNF), proteína interferon gama-induzida 10 (IP-10), interleucina 1 (IL-1), e interferons de tipo I (IFN), e interleucina minimal 10 (IL-10) As DCs podem ser diferenciadas de células mononucleares do sangue periférico congelado (PBMCs) obtidas por leucaferese, enquanto PBMCs podem ser isoladas por centrifugação gradiente de Ficoll e congeladas em alíquotas.

[00338] Ilustrativamente, pode ser usado o seguinte protocolo de ativação de 7 dias. Dia 1 - PBMCs são descongeladas e plaqueadas em balões de cultura de tecido para selecionar monócitos que aderem à superfície de plástico após incubação de 1-2 horas a 37 °C na incubadora de cultura de tecido. Após incubação, os linfócitos são lavados e os monócitos aderentes são cultivados por 5 dias na presença de interleucina-4 (IL-4) e fator de estimulação de colônia de macrófagos-granulócitos (GM-CSF) para diferenciar de DCs imaturas. No Dia 6, as DCs imaturas são pulsadas com a proteína de hemocianina de lapa californiana (KLH) que serve como controle de qualidade da vacina e que pode reforçar a imunogenicidade da vacina. As DCs são estimuladas com antigênios maduros carregados com peptídeos e incubadas de um dia para o outro. No Dia 7, as células são lavadas e

congeladas em alíquotas de 1 ml contendo células $4-20 \times 10^6$ usando um congelador de taxa controlada. Podem ser realizados teste de liberação de lote para os lotes de DCs para cumprir as especificações mínimas antes das DCs serem injetadas em pacientes (ver, por exemplo, Sabado et al. (2013) Preparation of tumor antigen-loaded mature dendritic cells for immunotherapy, J. Vis Exp. 1 de agosto; (78). doi: 10.3791/50085).

[00339] Pode ser incorporada uma vacina DC em um sistema de molde para facilitar a aplicação a um paciente. O tratamento terapêutico de uma neoplasia de paciente com uma vacina DC pode utilizar um sistema biomaterial que libera fatores que recrutam células dendríticas hospedeiras para o dispositivo, diferencia as DCs residentes imaturas ao apresentar localmente adjuvantes (por exemplo, sinais de perigo) ao mesmo tempo que libera antigênio, e promove a liberação de DCs ativas carregadas com antigênio para os linfonodos (ou local de ação desejado) onde as DCs podem interagir com células T para gerar uma resposta de linfócitos T citotóxicos aos neo-antigênios do câncer. Biomateriais implantáveis podem ser usados para gerar uma resposta potente de linfócitos T citotóxicos contra uma neoplasia em uma forma específica ao paciente. As células dendríticas residentes no biomaterial podem então ser ativadas, expondo-as a sinais de

perigo imitando infecção, em conjugação com liberação de antígeno do biomaterial. As células dendríticas ativadas migram então dos biomateriais para os linfonodos para induzir uma resposta efetora T citotóxica. Foi previamente demonstrado, em estudos pré-clínicos usando um lisado preparado a partir de biopsias de tumor, que esta abordagem conduz a regressão de melanoma estabelecido (ver, por exemplo, Ali et al. (2009) In situ regulation of DC subsets and T cells mediates tumor regression in mice, *Cancer Immunotherapy* 1(8):1-10; Ali et al. (2009) Infection-mimicking materials to program dendritic cells in situ. *Nat Mater* 8:151-8), e uma tal vacina está atualmente a ser testada em um ensaio clínico de Fase I recentemente iniciado no Dana-Farber Cancer Institute. Também foi demonstrado que esta abordagem conduz a regressão de glioblastoma, bem como a indução de uma resposta de memória potente para evitar recaídas, usando o modelo²⁴ de glioma de rato C6 Na atual proposta. A capacidade de um tal molde implantável de aplicação de vacina em biomatriz para amplificar e manter ativação de célula dendrítica específica de tumor pode conduzir a uma imunossensibilização anti-tumoral mais robusta que pode ser alcançada por administrações tradicionais de vacina subcutânea ou intra-nodal.

[00340] A prática da presente invenção emprega, salvo

indicação em contrário, técnicas convencionais de biologia molecular (incluindo técnicas recombinantes), microbiologia, biologia celular, bioquímica e imunologia, que estão bem dentro da competência do perito na área. Tais técnicas são explicadas totalmente na literatura, tais como "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", segunda edição (Sambrook, 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (Gait, 1984); "Animal Cell Culture" (Freshney, 1987); "Methods in Enzymology" "Handbook of Experimental Immunology" (Wei, 1996); "Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells" (Miller e Calos, 1987); "Current Protocols in Molecular Biology" (Ausubel, 1987); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis, 1994); "Current Protocols in Immunology" (Coligan, 1991). Estas técnicas são aplicáveis à produção dos polinucleotídeos e polipeptídeos da invenção e, como tal, podem ser consideradas na efetivação e prática desta invenção. Técnicas particularmente úteis para formas de realização particulares serão discutidas nas seções que se seguem.

EXEMPLOS

[00341] Os exemplos que se seguem são avançados de forma a providenciar os ordinariamente entendidos na técnica com uma revelação e descrição completas de como fazer e usar os métodos de ensaio, rastreio e de terapia da invenção e não se destinam a limitar o escopo daquilo que os inventores

encaram como a sua invenção.

Exemplo 1: Protocolo de Testes de Vacina Contra o Câncer

[00342] As composições e métodos acima descritos podem ser testados em 15 pacientes com melanoma de risco elevado (estágios totalmente ressectados IIIB, IIIC e IVM1a,b) de acordo com o processo de fluxo geral mostrado na FIG. 2. Os pacientes podem receber uma série de vacinações de iniciação com uma mistura de peptídeos e poli-ICLC específicos de tumor personalizados ao longo de um período de 4 semanas seguido de dois reforços durante a fase de manutenção. Todas as vacinações serão administradas subcutaneamente. A vacina será avaliada quanto a segurança, tolerabilidade, resposta imunitária e efeito clínico nos pacientes e quanto a exequibilidade de produzir a vacina e iniciar vacinação com sucesso dentro de um período de tempo apropriado. O grupo consistirá de 5 pacientes e após ser demonstrada adequadamente a segurança, pode ser integrado um grupo adicional de 10 pacientes (ver, por exemplo, a FIG. 3 representando uma abordagem para um estudo de população inicial). O sangue periférico será amplamente monitorizado quanto a respostas de célula T específicas de peptídeos e os pacientes serão seguidos durante até dois anos para avaliar a recorrência da doença.

[00343] Como acima descrito, há um grande conjunto de

evidências em animais e humanos que apontam para os epítomos serem eficazes na indução de uma resposta imunitária e que casos de regressão de tumor espontânea ou sobrevivência de longo prazo se correlacionam com respostas de célula T CD8⁺ a epítomos mutados (Buckwalter e Srivastava PK. "It is the antigen(s), stupid" and other lessons from over a decade of vaccitherapy of human cancer. *Seminars in immunology* 20:296-300 (2008); Karanikas et al, High frequency of cytolytic T lymphocytes directed against a tumor-specific mutated antigen detectable with HLA tetramers in the blood of a lung carcinoma patient with long survival. *Cancer Res.* 61:3718-3724 (2001); Lennerz et al, The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neo-antigens. *Proc Natl Acad Sci U S A.*102:16013 (2005)) e que a "imunoedição" pode ser atribuída a alterações na expressão de antigênios mutados dominantes em camundongos e homens (Matsushita et al, Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting *Nature* 482:400 (2012); DuPage et al, Expression of tumor-specific antigens underlies cancer immunoediting *Nature* 482:405 (2012); e Sampson et al, Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma *J Clin Oncol.* 28:4722-4729

(2010)).

[00344] A sequenciação de próxima geração pode agora rapidamente revelar a presença de mutações discretas tais como mutações de codificação em tumores individuais, mais comumente alterações de aminoácidos únicas (por exemplo, mutações de sentido trocado; FIG. 4A) e menos frequentemente novos trechos de aminoácidos gerados por inserções de deslocamento de quadro de leitura/deleções/fusões de genes, mutações read-through em códons de paragem e tradução de introns impropriamente unidos (por exemplo, neoORFs; FIG. 4B). NeoORFs são particularmente valiosos como imunogênios porque toda a sua sequência é completamente nova para o sistema imunitário sendo assim análogos para um antigênio estranho viral ou bacteriano. Assim, os neoORFs: (1) são altamente específicos ao tumor (ou seja, não há expressão em células normais); (2) podem contornar a tolerância central, aumentando assim a frequência de precursor de CTLs específicos de neoantigênios. Por exemplo, o poder de utilizar sequências estranhas análogas em uma vacina anticancerígena terapêutica foi recentemente demonstrado com peptídeos derivados do vírus do papiloma humano (HPV). ~50% dos 19 pacientes com doença pré-neoplásica viralmente induzida que receberam 3 - 4 vacinação de uma mistura de peptídeos HPV derivados dos oncogenes virais E6 e E7

mantiveram uma resposta completa por ≥ 24 meses (Kenter et al, Vaccination against HPV-16 Oncoproteins for Vulvar Intraepithelial Neoplasia NEJM 361:1838 (2009)).

[00345] A tecnologia de sequenciação revelou que cada tumor contém múltiplas mutações específicas do paciente que alteram o teor de codificação de proteína de um gene. Tais mutações criam proteínas alteradas, que vão desde alterações de aminoácidos únicos (provocadas por mutações de sentido trocado) até adição de regiões longas de nova sequência de aminoácidos devido a deslocamentos de quadro de leitura, read-through de códons de terminação ou tradução de regiões de íntrons (novas mutações de quadro de leitura aberta; neoORFs). Estas proteínas mutadas são alvos valiosos para a resposta imunitária do hospedeiro ao tumor, uma vez que, ao contrário de proteínas nativas, elas não estão sujeitas a efeitos atenuantes imunitários de auto-tolerância. Assim, é mais provável que proteínas mutadas sejam imunogênicas e são também mais específicas para as células tumorais em comparação com as células normais do paciente.

[00346] Utilizando algoritmos recentemente melhorados para prever que mutações de sentido trocado criam peptídeos de ligação fortes para as moléculas MHC cognatas do paciente, será identificado e priorizado um conjunto de peptídeos representativos de epítomos otimamente mutados

(tanto neoORF como de sentido trocado) para cada paciente e serão preparados até 20 ou mais peptídeos para imunização (Zhang et al, Machine learning competition in immunology - Prediction of HLA class I binding peptides J Immunol Methods 374:1 (2011); Lundegaard et al Prediction of epitopes using neural network based methods J Immunol Methods 374:26 (2011)). Peptídeos com ~20-35 aminoácidos de comprimento serão sintetizados porque tais peptídeos "longos" sofrem internalização, processamento e apresentação cruzada eficazes em células profissionais apresentando antigênicos tais como células dendríticas, tendo sido demonstrado que induzem CTLs em humanos (Melief e van der Burg, Immunotherapy of established (pre) malignant disease by synthetic long peptide vaccines Nature Rev Cancer 8:351 (2008)).

[00347] Além de um imunogênio potente e específico, uma resposta imunitária eficaz requer um adjuvante forte para ativar o sistema imunitário (Speiser e Romero, Molecularly defined vaccines for cancer immunotherapy, and protective T cell immunity Seminars in Immunol 22:144 (2010)). Por exemplo, receptores tipo Tol (TLRs) provaram ser sensores potentes de "sinais de perigo" de patógenos microbianos e virais, induzindo eficazmente o sistema imunitário inato, e, por sua vez, o sistema imunitário adaptativo (Bhardwaj e Gnjatic, TLR AGONISTS: Are They Good

Adjuvants? Cancer J. 16:382-391 (2010)). Entre os agonistas de TLR, poli-ICLC (um análogo de RNA de fita dupla sintético) é um dos ativadores mais potentes de células dendríticas derivadas de mielóide. Em um estudo com voluntários humanos, foi demonstrado que poli-ICLC é seguro e que induz um perfil de expressão de genes em células de sangue periférico comparável ao induzido por uma das mais potentes vacinas virais atenuadas vivas, a vacina da febre amarela YF-17D (Caskey et al, Synthetic double-stranded RNA induces innate immune responses similar to a live viral vaccine in humans J Exp Med 208:2357 (2011)). Hiltonol®, uma preparação GMP de poli-ICLC preparada por Oncovir, Inc, será utilizada como o adjuvante.

Exemplo 2: População de Pacientes Alvo

[00348] Pacientes com melanoma de estágio IIIIB, IIIC and IVM1a,b, possuem um risco significativo de recorrência de doença e morte, mesmo com ressecção cirúrgica completa da doença (Balch et al, Final Version of 2009 AJCC Melanoma Staging and Classification J Clin Oncol 27:6199 - 6206 (2009)). Uma terapia de adjuvante sistêmico disponível para esta população de pacientes é interferon- α (IFN α) que providencia um benefício mensurável, mas marginal, e está associado a toxicidade significativa frequentemente limitativa de dose (Kirkwood et al, Interferon alfa-2b

Adjuvant Therapy of High-Risk Resected Cutaneous Melanoma: The Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684 J Clin Oncol 14:7-17 (1996); Kirkwood et al, High- and Low-dose Interferon Alpha-2b in High-Risk Melanoma: First Analysis of Intergroup Trial E1690/S9111/C9190 J Clin Oncol 18:2444 - 2458 (2000)). Estes pacientes não estão imunocomprometidos por anterior terapia direcionada a câncer ou por câncer ativo e representam assim um excelente população de pacientes na qual avaliar a segurança e impacto imunológico da vacina. Por fim, o atual padrão de cuidados para estes pacientes não impõe qualquer tratamento a seguir à cirurgia, permitindo assim a janela de 8 - 10 semanas para a preparação da vacina.

[00349] A população alvo serão pacientes de melanoma cutâneo com metástases nodais (locais ou distantes) ou em trânsito histologicamente confirmadas e clinicamente detectáveis que foram totalmente ressectados e estão livres de doença (a maior parte de estágio IIIB (por causa da necessidade de ter tecido tumoral adequado para sequenciação e desenvolvimento de linha celular, os pacientes com tumor primário ulcerado, mas linfonodos micrometastáticos (T1-4b, N1a ou N2a). serão excluídos.), todos de estágio IIIC, e estágio IVM1a, b. Estes poderão ser pacientes com primeiro diagnóstico ou em recorrência de doenças após diagnóstico prévio de um melanoma de estágio mais precoce.

[00350] Colheita do tumor: Os pacientes serão submetidos a ressecção completa do seu melanoma primário (se já não tiver sido removido) e de toda a doença metastática regional com a intenção de os tornar livres de melanoma. Após o tumor adequado para avaliação patológica ter sido colhido, o restante tecido tumoral será colocado em meio esterilizado em um recipiente esterilizado e preparado para desagregação. Porções do tecido tumoral serão usadas para sequenciação de exoma completo e transcriptoma e geração de linhas celulares e o restante tumor será congelado.

[00351] Colheita de tecido normal: Será recolhida uma amostra de tecido normal (amostra de sangue ou expetoração) para sequenciação de exoma completo.

[00352] Pacientes com doença metastática locorregional evidente ou doença metastática nodal, cutânea ou pulmonar distante totalmente ressectável (mas ausência de doença metastática distante ou visceral não ressectável) serão identificados e integrados no estudo. A entrada de pacientes antes da cirurgia é necessária de forma a adquirir tecido tumoral fresco para desenvolvimento de linhas celulares de melanoma (para gerar células alvo para ensaios de citotoxicidade *in vitro* como parte do plano de monitorização imunitária).

Exemplo 3: Dose e Calendário

[00353] Para pacientes que satisfazem todos os critérios de pré-tratamento, a administração da vacina começará assim que possível após o fármaco de estudo ter chegado e ter cumprido as especificações recebidas. Para cada paciente, haverá quatro fármacos de estudo separados, cada um contendo 5 a 20 peptídeos específicos de paciente. As imunizações irão desenvolver-se geralmente de acordo com o calendário mostrado na FIG. 5.

[00354] Os pacientes serão tratados em um serviço de ambulatório. A imunização em cada dia de tratamento consistirá de quatro injeções subcutâneas de 1 ml, cada uma em uma extremidade separada por forma a ter como alvo diferentes regiões do sistema linfático para reduzir a competição antigênica. Se o paciente tiver sido submetido a dissecação total dos linfonodos axilares e inguinais, as vacinas serão administradas em alternativa na zona direita ou esquerda do ventre. Cada injeção consistirá de 1 a 4 fármacos de estudo para cada paciente e o mesmo fármaco de estudo será injetado na mesma extremidade para cada ciclo. A composição de cada injeção de 1 ml é:

[00355] 0,75 ml de fármaco de estudo contendo 300 µg cada de 5 peptídeos específicos do paciente

[00356] 0,25 ml (0,5 mg) de 2 mg/ml de poli-ICLC (Hiltonol®)

[00357] Durante a fase de indução/iniciação, os pacientes serão imunizados nos dias 1, 4, 8, 15 e 22. Na fase de manutenção, os pacientes receberão doses de reforço nas semanas 12 e 24.

[00358] Amostras de sangue podem ser obtidas em múltiplos pontos temporais: pré- (linha de base; duas amostras em diferentes dias); dia 15 durante a vacinação de iniciação; quatro semanas após a vacinação de indução/iniciação (semana 8); pré- (semana 12) e pós- (semana 16) primeiro reforço; pré- (semana 24) e pós- (semana 28) segundo reforço 50 - 150 ml de sangue serão colhidos para cada amostra (exceto semana 16). O ponto final imunológico primário será na semana 16, e como tal os pacientes serão submetidos a leucaférese (salvo indicação em contrário com base na avaliação do paciente e do médico).

Exemplo 4: Monitorização Imunitária

[00359] A estratégia de imunização é uma abordagem de "reforço inicial", envolvendo uma série inicial de imunizações pouco espaçadas para induzir uma resposta imunitária seguida de um período de repouso para permitir que sejam estabelecidas células T de memória. A isto seguir-se-á uma imunização de reforço, e espera-se que a resposta de célula T 4 semanas após este reforço gere a resposta mais forte e será o ponto final imunológico primário. A resposta

imunológica global será inicialmente monitorizada usando células mononucleares de sangue periférico deste ponto temporal em um ensaio ELISPOT *ex vivo* de 18 horas, estimulando com um grupo de peptídeos 15 mer sobrepostos (sobreposição de 11 aa) compreendendo todos os epítomos imunizantes. Amostras pré-vacinação serão avaliadas para estabelecer a resposta de linha de base a este conjunto de peptídeos. Caso se justifique, serão avaliadas amostras de PBMC adicionais para examinar a cinética da resposta imunitária à mistura de peptídeos total. Em pacientes que demonstrem respostas significativamente acima da linha de base, o conjunto de todos os 15mers será desconvolucionado para determinar que peptídeo(s) imunizante(s) particular(es) foi/foram imunogênico(s). Além disso, serão conduzido vários ensaios adicionais em uma base caso-a-caso para amostras apropriadas:

- Todos o conjunto ou subconjuntos 15 mer serão usados como peptídeos estimulantes para ensaios de coloração de citocina intracelular para identificar e quantificar populações CD4+, CD8+ específicos de antigênio, de memória central e de memória efetora.

- Igualmente, estes conjuntos serão usados para avaliar o padrão de citocinas segregadas por estas células para determinar o fenótipo T_{H1} vs T_{H2}

- Coloração de citocinas extracelulares e citometria de fluxo de células não estimuladas serão usadas para quantificar células supressoras Treg e derivadas de mielóide (MDSC).

- Se uma linha celular de melanoma for estabelecida com sucesso de um paciente respondedor e o epítipo ativador puder ser identificado, os ensaios de citotoxicidade de célula T serão conduzidos usando o peptídeo de tipo selvagem mutante e correspondente

- PBMC do ponto final imunológico primário será avaliado quanto a "distribuição de epítipos" usando antigênios tumorais associados a melanoma como estimulantes e usando vários epítipos mutados identificados adicionais que não foram selecionados como estando entre os imunogênios, como mostrado na FIG. 6.

[00360] Será conduzida imuno-histoquímica da amostra tumoral para quantificar populações infiltrantes CD4+, CD8+, MDSC, e Treg.

Exemplo 5: Eficácia Clínica em Pacientes com Doença Metastática

[00361] O tratamento com vacina de pacientes com doença metastática é complicado pela sua necessidade de uma terapia eficaz para o câncer ativo e a consequente ausência de uma janela temporal fora do tratamento para a preparação

da vacina. Além disso, estes tratamentos de câncer podem comprometer o sistema imunitário do paciente, possivelmente impedindo a indução de uma resposta imunitária. Com estas considerações em mente, podem ser escolhidos parâmetros onde o momento da preparação da vacina se enquadre temporalmente com outras abordagens de cuidados padrão para a população de pacientes em particular e/ou onde tais cuidados padronizados são comprovadamente compatíveis com uma abordagem imunoterapêutica. Há dois tipos de parâmetros que podem ser seguidos:

[00362] 1. Combinação com bloqueio de ponto de verificação: Anticorpos de bloqueio de ponto de verificação surgiram como uma imunoterapia eficaz para melanoma metastático (Hodi et al, Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma NEJM 363:711 - 723 (2010)) e estão a ser ativamente seguidos em outras configurações de doença, incluindo câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) e carcinoma de células renais (Topalian et al, Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer NEJM 366:2443-2454 (2012); Brahmer et al, Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer NEJM 366:2455-2465(2012)). Apesar do mecanismo de ação não estar provado, tanto reversão de alívio de imunossupressão local como potencialização de

uma resposta imunitária são possíveis explicações. Integrar uma vacina potente para iniciar uma resposta imunitária com anticorpos de bloqueio de ponto de verificação pode providenciar sinergias, como observado em múltiplos estudos com animais (van Elsas et al Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation J Exp Med 190:35- 366 (1999); Li et al, Anti-programmed death-1 synergizes with granulocyte macrophage colony-stimulating factor -secreting tumor cell immunotherapy providing therapeutic benefit to mice with established tumors Clin Cancer Res 15:1623 - 1634 (2009); Pardoll, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy Nature Reviews Cancer 12:252 - 264 (2012); Curran et al. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. Proc Natl Acad Sci USA. 2 de março de 2010;107(9):4275-80; Curran et al. Tumor vaccines expressing flt3 ligand synergize with ctla-4 blockade to reject preimplanted tumors. Cancer Res. 1 de outubro de 2009;69(19):7747-55). Os pacientes podem ser imediatamente iniciados em terapia de bloqueio de ponto de

verificação enquanto a vacina está a ser preparada e uma vez preparada, o doseamento da vacina pode ser integrado com terapia de anticorpos, como ilustrado na FIG. 7; e

[00363] 2. Combinação com regimes de tratamento padronizados exibindo propriedades imunitárias benéficas.

[00364] a) Pacientes com carcinoma de células renais (RCC) que apresentam doença metastática tipicamente são submetidos a citoredução seguida de tratamento sistêmico, que acontece comumente com um dos inibidores de quinase tirosina aprovados (TKI) tais como sunitinib, pazopanib e sorafenib. Dos TKIs aprovados, foi demonstrado que sunitinib aumenta a responsividade de T_H1 e reduz células supressoras de Treg e derivadas de mielóide (Finke et al, Sunitinib reverses Type-1 immune suppression and decreases T-regulatory cells in renal cell carcinoma patients Clin Can Res 14:6674 - 6682 (2008); Terme et al, VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T cell proliferation in colorectal cancer (Manuscrito de Autor de Investigação sobre o Câncer publicado em linha (2102)). A capacidade de tratar imediatamente pacientes com uma terapia aprovada que não compromete o sistema imunitário providencia a janela necessária para preparar a vacina e poderia providenciar sinergia com uma terapia de vacina. Além disso, ciclofosfamida (CTX) foi referenciada em múltiplos estudos

com animais e humanos como tendo um efeito inibidor em células Treg e foi recentemente demonstrado que uma dose única de CTX antes de uma vacina melhora a sobrevivência em pacientes RCC que responderam à vacina (Walter et al, Multipeptide immune response to a cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival Nature Medicine 18:1254-1260 (2012)). Ambas estas abordagens imuno-sinergísticas foram utilizadas em um estudo de fase 3 recentemente concluído de uma vacina de peptídeos nativos em RCC (ClinicalTrials.gov, NCT01265901 IMA901 in Patients Receiving Sunitinib for Advanced/Metastatic Renal Cell Carcinoma);

[00365] b) Em alternativa, tratamento padronizado de glioblastoma (GBM) envolve cirurgia, recuperação e radiação de seguimento e dose baixa de temozolomida (TMZ) seguido de um período de descanso de quatro semanas ante de iniciar dose padrão de TMZ. Este tratamento padronizado providencia uma janela para preparação de vacina seguido de iniciação de vacinação antes de iniciar dose padrão de TMZ. Interessantemente, em um estudo de melanoma metastático, a vacinação de peptídeos durante tratamento de dose padrão de TMZ aumentou a responsividade imunitária medida em comparação com vacinação isolada, sugerindo benefícios sinérgicos adicionais (Kyte et al, Telomerase peptide

vaccination combined with temozolomide: a clinical trial in stage IV melanoma patients Clin Cancer Res 17:4568 (2011)).

Exemplo 6: Preparação da Vacina

[00366] Tecido tumoral do paciente será ressectado cirurgicamente e tecido tumoral será desagregado e porções separadas usadas para extração de DNA e RNA e para desenvolvimento de linha celular de melanoma específico de paciente. O DNA e/ou RNA extraído do tecido tumoral será usado para sequenciação de exoma completo (por exemplo, usando plataforma Illumina HiSeq) e para determinar informação de tipagem de HLA. É contemplado dentro do escopo da invenção que peptídeos neo-antigênicos de sentido trocado ou neoORF podem ser diretamente identificados por técnicas de base proteína (por exemplo, espectrometria de massa).

[00367] Pode ser conduzida análise bioinformática da seguinte forma: Análise de sequência dos ficheiros fastQ de Exoma e RNA - SEQ alavancará pipelines bioinformáticos existentes que foram usados e amplamente validados em projetos de larga escala como o TCGA para muitas amostras de pacientes (por exemplo, Chapman et al, 2011, Stransky et al, 2011, Berger et al, 2012). Há duas categorias sequenciais de análises: processamento de dados e análise de genoma de câncer.

[00368] Pipeline de processamento de dados: O

pipeline de processamento de dados Picard (picard.sourceforge.net/) foi desenvolvido pela Plataforma de Sequenciação. Dados brutos extraídos de sequenciadores (por exemplo, Illumina) para cada tumor e amostra normal são submetidos aos seguintes processos usando vários módulos no pipeline Picard:

[00369] (i). Recalibragem de qualidade: Os resultados de qualidade de base original reportados pelo pipeline Illumina serão recalibrados com base no ciclo de leitura, a banda, o mosaico de célula de fluxo, a base em questão e a base precedente.

[00370] (ii). Alinhamento: BWA (Li e Durbin, 2009) será usado para alinhar pares de leitura com o genoma humano (hg19).

[00371] (iii). Duplicados de marca: PCR e duplicados óticos serão identificados com base nas posições de mapeamento de par de leitura e marcados no ficheiro bam final.

[00372] O produto final de Picard é um ficheiro bam (Li et al, 2009) (samtools.sourceforge.net/SAM1.pdf) que armazena as sequências de base, classificações de qualidade e detalhes de alinhamento pra todas as leituras para a amostra em causa.

[00373] Pipeline de Detecção de Mutação de Câncer: O

tumor e ficheiros bam normais correspondidos do pipeline de Picard serão analisados como descrito em baixo:

1. Controle de Qualidade

[00374] (i). A mistura de amostra durante a sequenciação será feita por comparação de impressão digital SNP inicial feita em uma amostra em uma dúzia de locais com *pileups* de sequenciação de exoma em esses locais.

[00375] (ii). Mistura intra-amostra tumor/normal será verificada comparando primeiro a distribuição de tamanho de inserto de bandas que correspondem à mesma biblioteca para amostras tumorais e normais, e descartar as bandas que têm uma distribuição diferente. Será aplicada análise bioinformática a tumor e amostras de exoma normal correspondido para obter os perfis de número de cópia de DNA. Amostras de tumor também deveriam ter mais variações de número de cópia do que os normais correspondentes. As bandas correspondendo a amostras normais que não têm perfis planos serão descartadas, tal como bandas de tumor que não têm perfis consistentes com outras bandas da mesma amostra de tumor serão descartadas.

[00376] (iii). A pureza e ploidia do tumor serão estimadas com base nos perfis de número de cópia geradas bioinformaticamente.

[00377] (iv). ContEst (Cibulskis et al, 2011) será

usado para determinar o nível de contaminação transversalmente às amostras nas amostras.

2. Realinhamento local em volta de indels putativos

[00378] Pequenos indels verdadeiros somáticos e de linha germinal em relação ao genoma de referência muitas vezes resultam em desalinhamento e previsão errônea de mutações de sentido trocado e indels. Isto será corrigido fazendo um realinhamento local usando o módulo GATK IndelRealigner (na worldwide web em www.broadinstitute.org/gatk) (McKenna et al, 2010, Depristo et al, 2011) de todas as leituras que mapeiam na proximidade de indels putativos e avaliando-os de forma abrangente para assegurar a consistência e correção das previsões indel.

3. Identificação de variações de nucleotídeos únicos (SSNVs)

[00379] Substituições de par de base somáticas serão identificadas analisando amostras de tumor e amostras normais correspondidas de um paciente usando um enquadramento estatístico Bayesiano denominado muTect (Cibulskis et al, 2013). Na etapa de pré-processamento, as leituras com uma preponderância de bases ou não correspondências de baixa qualidade com o genoma são removidas por filtração. Mutect computa então dois resultados log odds (LOD) que encapsulam confiança na

presença e ausência da variante nas amostras de tumor e amostras normais, respectivamente. Na etapa de pós-processamento, as mutações candidatas são empiricamente filtradas por vários critérios para explicar artefatos de captura, sequenciação e alinhamento. Um tal filtro, por exemplo, testa a inconsistência entre distribuições de orientações de leituras que abrigam a mutação e a distribuição de orientação geral de leituras que mapeiam para o local para assegurar que não há tendência de fita. O conjunto final de mutações será então anotado com a ferramenta Oncotator em vários campos incluindo alterações de região genômica, códon, cDNA e de proteína.

4. Identificação de pequenas inserções e deleções somáticas

[00380] O produto de saída de realinhamento local da seção 2.2 será usado para prever indel somáticos e de linha germinal candidatos com base na avaliação de leituras suportando a variante exclusivamente no tumor ou em bams de tumor e normais, respectivamente. Será feita subsequente filtragem com base no número e distribuição de não correspondências e resultados de qualidade de base (McKenna et al, 2010, DePristo et al, 2011). Todos os indels serão manualmente inspecionados usando Integrated Genomics Viewer (Robinson et al, 2011) (na worldwide web em

(www.broadinstitute.org/igv) para assegurar previsões de elevada fidelidade.

5. Detecção de fusão de genes

[00381] A primeira etapa no pipeline de detecção de fusão de genes é o alinhamento de leituras tumorais RNA-Seq com uma biblioteca de sequências genéticas conhecidas seguida de mapeamento deste alinhamento para coordenadas genômicas. O mapeamento genômico ajuda a colapsar pares de leitura múltiplos que mapeiam para diferentes variantes de transcritos que partilham éxons para localizações genômicas comuns. O ficheiro bam de DNA alinhado será interrogado quanto a pares de leitura onde as duas conjugações mapeiam para diferentes regiões de codificação que ou estão em diferentes cromossomas ou pelo menos 1 MB separadas se estiverem no mesmo cromossoma. Também será requerido que as extremidades do par alinhadas nos seus genes respectivos estejam na direção consistente com a direção codificação-->codificação 5'-> 3' do transcrito de mRNA de fusão (putativo). Será enumerada uma lista de pares de genes onde pelo menos dois tais pares de leitura 'quiméricos' como a lista de eventos putativa inicial sujeito a posterior refinamento. A seguir, todas as leituras não alinhadas serão extraídas do ficheiro bam original, com o constrangimento adicional de que as suas conjugações estavam originalmente

alinhas e mapeiam para um dos genes nos pares de genes obtidos como acima descrito. Uma tentativa será então feita para alinhar todas as leituras originalmente não alinhadas para a "referência" personalizada feita de todas as possíveis junções éxon-éxon (comprimento total, limite-a-limite, direção de codificação 5'→ 3') entre os pares de genes descobertos. Se uma tal leitura originalmente não alinhada mapeia (unicamente) para uma junção entre um éxon de gene X e um éxon de gene Y, e a sua conjugação foi efetivamente mapeada para um dos genes X ou Y, então uma tal leitura será marcada como uma leitura de "fusão". Os eventos de fusão de genes serão chamados em casos onde há pelo menos uma leitura e fusão em orientação relativa correta com a sua conjugação, sem número excessivo de não correspondências em volta da junção éxon:éxon e com uma cobertura de pelo menos 10 bp em cada gene. Fusões de genes entre genes altamente homólogos (ex. família HLA) são provavelmente falsas e serão eliminadas por filtração.

6. Estimativa de clonalidade

[00382] Pode ser usada análise bioinformática para estimar a clonalidade de mutações. Por exemplo, o algoritmo ABSOLUTE (Carter et al, 2012, Landau et al, 2013) pode ser usado para estimar pureza de tumor, ploidia, números de cópia absolutos e clonalidade de mutações. Distribuições da

densidade da probabilidade de frações alélicas de cada mutação serão geradas seguidas de conversão para frações de células de câncer (CCFs) das mutações. As mutações serão classificadas como clonais ou subclonais com base em se a probabilidade posterior do seu CCF excede 0,95 é maior ou menos do que 0,5 respectivamente.

7. Quantificação da expressão

[00383] A TopHat suite (Langmead et al, 2009) será usada para alinhar leituras RNA-Seq dos bam de tumor e normal correspondido para o genoma hg19. A qualidade dos dados RNA-Seq será avaliada pelo pacote RNA-SeQC (DeLuca et al, 2012). A ferramenta RSEM (Li et al, 2011) será então usada para estimar níveis de expressão de genes e isoformas. As leituras geradas por quilobase por milhão e estimativas tau serão usadas para priorizar neo-antígenos identificados em cada paciente como descrito em outros lugares.

8. Validações de mutações em RNA-Seq

[00384] As mutações que serão identificadas por análise de dados de exoma total (seção 2.3) serão avaliadas quanto à presença no correspondente ficheiro bam de tumor RNA-Seq do paciente. Para cada local variante, será realizado um cálculo de potência com base na distribuição beta-binomial para assegurar que há pelo menos 80% de potência para o detectar nos dados RNA-Seq. Uma mutação identificada de

captura será considerada validada se houver pelo menos 2 leituras abrigando a mutação para locais adequadamente potenciados.

[00385] Seleção de Epítomos Contendo Mutação Específicos de Tumor: Todas as mutações de sentido trocado e neoORFs serão analisadas quanto à presença de epítomos contendo mutação usando o algoritmo netMHC de base rede neural e mantidos pelo Center for Biological Sequence Analysis, Technical University of Denmark, Países Baixos. Esta família de algoritmos foi classificada como algoritmos de previsão de epítomos de topo com base em uma competição recentemente concluída entre uma série de abordagens relacionadas (ref). Os algoritmos foram treinados usando uma abordagem de base rede neural artificial em múltiplos diferentes alelos HLA A e B humanos utilizando mais de 100.000 interações medidas de ligação e não ligação.

[00386] A precisão dos algoritmos foi avaliada realizando previsões de mutações encontradas em pacientes CLL para os quais eram conhecidos os alótipos HLA. Os alótipos incluídos foram A0101, A0201, A0310, A1101, A2402, A6801, B0702, B0801, B1501. Foram feitas previsões para todos os peptídeos 9 mer e 10 mer cobrindo cada mutação usando netMHCpan em meados de 2011. Com base em estas previsões, foram sintetizados setenta e quatro (74) peptídeos 9 mer e

sessenta e três (63) peptídeos 10 mer, a maior parte com afinidades previstas abaixo de 500 nM, e a afinidade de ligação foi medida usando um ensaio de ligação competitivo (Sette).

[00387] As previsões para estes peptídeos foram repetidas em março de 2013 usando cada uma das versões mais atualizadas dos servidores netMHC (netMHCpan, netMHC e netMHCcons). Estes três algoritmos foram os algoritmos melhor classificados entre um grupo de 20 usado em uma competição em 2012 (Zhang et al). As afinidades de ligação observadas foram então avaliadas em relação a cada uma das novas previsões. Para cada conjunto de valores previstos e observados, é dada a % de previsões corretas para cada gama, bem como o número de amostras. A definição para cada gama é a seguinte:

0 - 150 Previsto como tendo uma afinidade igual ou inferior a 150 nM e medido como tendo uma afinidade igual ou inferior a 150 nM.

0 - 150*: Previsto como tendo uma afinidade igual ou inferior a 150 nM e medido como tendo uma afinidade igual ou inferior a 500 nM.

151 - 500 nM: Previsto como tendo uma afinidade superior a 150 nM mas igual ou inferior a 500 nM e medido como tendo uma afinidade igual ou inferior a 500 nM.

FN (> 500 nM): Falsos Negativos - Previsto ter uma afinidade superior a 500 nM mas medido como tendo uma afinidade igual ou inferior a 500 nM.

[00388] Para os peptídeos 9 mer (Tabela 1), houve pouca diferença entre os algoritmos, com o valor ligeiramente superior para a gama 151-500 nM para netMHCcons avaliado como não sendo significativo por causa do baixo número de amostras.

Tabela 1

Range (nM)	9mer PAN	9mer netMHC	9mer CONS
0-150	76% (33)	78% (37)	76% (34)
0-150*	91% (33)	89% (37)	88% (34)
151-500	50% (28)	50% (14)	62% (13)
FN (>500)	38% (13)	39% (23)	41% (27)

[00389] Para peptídeos 10 mer (Tabela 2), houve novamente pouca diferença entre os algoritmos exceto que netMHC produziu significativamente mais falsos positivos do que netMHCpan ou netMMHCcons. Contudo, a precisão das previsões 10 mer é ligeiramente inferior nas gamas 0 - 150 nM e 0 - 150* nM e significativamente inferior na gama 151-500 nM em comparação com os 9mers.

Tabela 2

Range (nM)	10mer PAN	10mer netMHC	10mer CONS
0-150	53% (19)	50% (16)	59% (17)
0-150*	68% (19)	69% (16)	76% (17)
151-500	35% (26)	42% (12)	35% (23)
FN (>500)	11% (18)	23% (35)	13% (23)

[00390] Para 10mers, apenas serão utilizadas as previsões na gama 0 - 150 nM devido à precisão inferior a 50% para aglutinantes na gama 151-500 nM.

[00391] O número de amostras para qualquer alelo HLA individual foi demasiado pequeno para retirar quaisquer conclusões em relação à precisão do algoritmo de previsão para diferentes alelos. Dados do maior subconjunto disponível (0 - 150* nM; 9mer) são mostrados na Tabela 3 como exemplo.

Tabela 3

Alelos	Fração correta
A0101	2/2
A0201	9/11
A0301	5/5
A1101	4/4
A2402	0/0

A6801	3/4
B0702	4/4
B0801	1/2
B1501	2/2

[00392] Apenas serão utilizadas as previsões para os alelos HLA a e B, uma vez que há poucos dados disponíveis sobre os quais julgar a precisão das previsões dos alelos HLA C (Zhang et al).

[00393] Uma avaliação da informação de sequência de melanoma e previsões de ligação de peptídeos foi realizada usando informação do banco de dados TCGA. Informação de 220 melanomas de diferentes pacientes revelou que em média houve aproximadamente 450 de sentido trocado e 5 neoORFs por paciente. Foram selecionados aleatoriamente 20 pacientes e as afinidades de ligação previstas foram calculadas para todas as mutações de sentido trocado usando netMHC (Lundegaard et al *Prediction of epitopes using neural network based methods* J Immunol Methods 374:26 (2011)). Como os alótipos HLA eram desconhecidos para estes pacientes, o número de peptídeos de ligação previstas por alótipo foi ajustado com base na frequência desse alótipo (conjunto de dados Bone Marrow Registry [Registro de Medula Óssea] para a população dominante afetada esperada na área geográfica

[caucasiana para melanoma] para gerar um número previsto de epítomos mutantes ativáveis por paciente. Também foi prevista, para cada um destes epítomos mutantes (MUT), a correspondente ligação de epítopo nativo (WT). Utilizando um peptídeo único para aglutinantes de sentido trocado previstos com $K_d \leq 500$ nM e um rácio WT/MUT K_d de $>5X$ e peptídeos sobrepostos cobrindo o comprimento total de cada neoORF, 80% (16 de 20) dos pacientes foram previstos como tendo pelo menos 20 peptídeos apropriados para vacinação. Para um quarto dos pacientes, peptídeos neoORF puderam constituir quase metade à totalidade dos 20 peptídeos. Assim, há uma carga mutacional adequada no melanoma para esperar uma proporção elevada de pacientes para gerar um número adequado de peptídeos imunogênicos.

Exemplo 7: Priorização de Peptídeos Imunizantes

[00394] Peptídeos para imunização podem ser priorizados com base em vários critérios: neoORF vs de sentido trocado, K_d previsto para o peptídeo mutado, a comparabilidade de afinidade prevista para o peptídeo nativo comparado com o peptídeo mutada, se a mutação ocorre em um gene atuador oncogênico ou via relacionada, e # de leituras RNA-Seq (ver, por exemplo, a FIG. 8).

[00395] Como mostrado na FIG. 8, aos peptídeos derivados de segmentos de mutações neoORF que se prevê irão

ligar-se ($K_d < 500$ nM) poderá ser dada a maior prioridade com base na ausência de tolerância para estas sequências inteiramente novas e a sua especificidade tumoral refinada.

[00396] À classe similar de mutações de sentido trocado na qual o peptídeo nativo não se prevê ligar ($K_d > 1000$ nM) e o peptídeo mutado se prevê ligar com afinidade forte/moderada ($K_d < 150$ nM) pode ser dada a próxima prioridade mais elevada. Esta classe (grupo I discutido acima) representa aproximadamente 20% das respostas de célula T observadas naturalmente.

[00397] A terceira prioridade mais elevada pode ser dada ao subconjunto de ligação mais estreita (< 150 nM) da classe do Grupo II acima discutido. Esta classe é responsável por aproximadamente quase 2/3 das respostas de célula T observadas naturalmente.

[00398] A todos os restantes peptídeos restantes derivado de mutações neoORF podem ser dada a quarta prioridade. Apesar de não se prever que se liguem, estes são incluídos com base na taxa de falsos negativos, ligação potencial a HLA-C, potencial para presença de epítomos de Classe II e elevado valor de utilização de antigênicos estranhos.

[00399] A quinta prioridade pode ser dada ao subconjunto do Grupo II com afinidades de ligação previstas

menores (150 - 500 nM). Esta classe é responsável por aproximadamente 10% das respostas de célula T observadas naturalmente.

[00400] À medida que a afinidade prevista diminui, pode ser aplicada estringência mais elevada a níveis de expressão. Dentro de cada agrupamento, os peptídeos podem ser classificados com base na afinidade de ligação (por exemplo, o Kd mais baixo pode ter a prioridade mais elevada). Dentro de um determinado agrupamento de mutações de sentido trocado, pode ser dada prioridade mais elevada a mutações de atuador oncogênico. Foi criada uma biblioteca de peptidomas humanos normais de ~12,6 milhões de 9 e 10 mers únicos curados de todas as sequências de proteína humana conhecidas (HG19). Antes da seleção final, quaisquer potenciais epítomos previstos derivados de uma mutação de sentido trocado e todas as regiões neoORF podem ser rastreadas contra esta biblioteca e podem ser excluídas correspondências perfeitas. Como discutido em baixo, peptídeos particulares previstos como tendo propriedades bioquímicas prejudiciais podem ser eliminados ou modificados.

[00401] De acordo com as técnicas aqui expostas, os níveis de RNA podem ser analisados para avaliar a expressão de neoantigênios. Por exemplo, a contagem de leitura de RAN-Seq pode ser usada como aproximação para estimar expressão

de neoantigênicos. Contudo, não há informação atualmente disponível para avaliar o nível de expressão de RNA mínimo requerido em uma célula tumoral necessário para iniciar citólise. Mesmo o nível de expressão de tradução "pioneira" de mensagens destinadas a degradação mediada por não sentido pode ser suficiente para geração de alvos. Em conformidade, as técnicas aqui definem inicialmente limites de aceitação amplos para níveis de RNA que podem variar inversamente com o grupo de prioridade. À medida que a afinidade prevista diminui, pode ser aplicada estringência mais elevada a níveis de expressão. Um entendido na técnica irá apreciar que à medida que informação adicional é disponibilizada tais limites poderão ser ajustados.

[00402] Por causa do elevado valor de neoORFs como alvos devido à sua novidade e especificidade tumoral refinada, os neoORFs com epítomos de ligação previstos ($K_d \leq 500$ nM) podem ser utilizados mesmo se não houver moléculas de mRNA detectáveis por RNA-Seq (Classe 1). Regiões de neoORFs sem epítomos de ligação previstos (> 500 nM), podem geralmente ser utilizadas apenas se for detectada algum nível de expressão de RNA (Classe 4). Todas as mutações de sentido trocado com afinidade de ligação MHC prevista forte a intermédia (≤ 150 nM) podem geralmente ser utilizadas a menos que não houvessem leituras RNA-Seq (Classes 2 e 3). Para

mutações de sentido trocado com menor afinidade de ligação prevista ($150 - \leq 500$ nM), estas serão provavelmente utilizadas apenas se for detectado um nível ligeiramente superior de expressão de RNA (Classe 5).

[00403] Atuadores oncogênicos podem representar um grupo de prioridade elevada. Por exemplo, dentro de um determinado agrupamento de mutações de sentido trocado, mutações de atuadores oncogênicos podem ser de prioridade mais elevada. Esta abordagem baseia-se na regulação para baixo observada em genes que são alvo de pressão imunitária (por exemplo, imunoedição). Em contraste com outros alvos imunes onde a regulação para baixo pode não ter um efeito prejudicial no crescimento de células cancerígenas, a expressão continuada de genes atuadores oncogênicos pode ser crucial para a sobrevivência de células cancerígenas, encerrando assim uma via de escape imunitário. Atuadores oncogênicos exemplares são listados na Tabela 3-1 (ver, por exemplo, Vogelstein et al; GOTERM_BP Assignment of genes to Gene Ontology Term - Biological Function na worldwide web em (www)geneontology.org; BIOCARTA Assignment of genes to signaling pathways, na worldwide web em (www)biocarta.com; KEGG Assignment of genes to pathways according to KEGG pathway database, na worldwide web em (www)genome.jp/krhg/pathway.html; REACTOME Assignment of

genes to pathways according to REACTOME pathways and gene interactions, na worldwide web em (www.reactome.org).

Tabela 3-1 genes Atuadores Oncogênicos Exemplares

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumores Mutadas **</u>	<u>Classificação Oncogenética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
ABL1	oncogene c-abl1, receptor da quinase tirosina	851	93%	0%	Oncogene	Ciclo Celular/Apoptose	Sobrevivência Celular
AKT1	homólogo 1 de oncogene viral de timoma murino v-akt	155	93%	1%	Oncogene	PI3K	Sobrevivência Celular
ALK	quinase tirosina receptora de linfoma anaplástico	189	72%	1%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivência Celular
AR	receptor de androgênio	23	54%	0%	Oncogene	Regulação Transcricional	Destino Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
BCL2	CLL/linfoma 2 de célula B	45	27%	1%	Oncogene	Ciclo Celular/Apop tose	Sobrevivênc ia Celular
BRAF	homólogo B1 de oncogene viral de sarcoma murino v-raf	24288	100%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivênc ia Celular
CARD1 1	família de domínio de recrutamento de caspase, membro 11	74	30%	1%	Oncogene	Ciclo Celular/Apop tose	Sobrevivênc ia Celular
CBL	sequência transformante de retroviral ecotrópico Cas-Br-M (murino)	168	57%	9%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivênc ia Celular
CRLF2	fator 2 tipo receptor de citocina	10	100%	0%	Oncogene	STAT	Sobrevivênc ia Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
CSF1R	receptor de fator 1 estimulante de colônia	48	50%	15%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivênc ia Celular
CTNNB 1	catenina (proteína associada a caderina), beta 1, 88kDa	3262	92%	1%	Oncogene	APC	Destino Celular
DNMT1	DNA (citosina-5-)- metiltransfer ase 1	22	36%	5%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular
DNMT3 A	DNA (citosina-5-)- metiltransfer ase 3 alfa	788	74%	12%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumores Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
EGFR	receptor de fator de crescimento epidérmico (homólogo de oncogene viral de leucemia eritroblástica (v-erb-b), aviário)	10628	97%	0%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivência Celular
ERBB2	homólogo 2 de oncogene viral de leucemia eritroblástica v-erb-b2, homólogo de oncogene derivado de neuro/glioblastoma (aviário)	164	67%	3%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivência Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
EZH2	potencializad or de homólogo 2 de zeste (Drosófila)	276	67%	12%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular
FGFR2	receptor 2 de fator de crescimento do fibroblasto	121	49%	6%	Oncogene	PI3K; RAS ; STAT	Sobrevivênc ia Celular
FGFR3	receptor 3 de fator de crescimento do fibroblasto	2948	99%	0%	Oncogene	PI3K; RAS ; STAT	Sobrevivênc ia Celular
FLT3	quinase tirosina 3 fms- relacionada	11520	98%	0%	Oncogene	RAS; PI3K; STAT	Sobrevivênc ia Celular
FOXL2	forkhead box L2	330	100%	0%	Oncogene	TGF-β	Destino Celular
GATA2	proteína de ligação 2 GATA	45	53%	4%	Oncogene	NOTCH, TGF-β	Destino Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumor Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
GNA11	proteína de ligação de nucleotídeo guanina (proteína G), alfa 11 (classe Gq)	110	92%	1%	Oncogene	PI3K; RAS; MAPK	Sobrevivência Celular
GNAQ	proteína de ligação de nucleotídeo guanina (proteína G), polipeptídeo q	245	95%	1%	Oncogene	PI3K; RAS; MAPK	Sobrevivência Celular
GNAS	local de complexo GNAS	422	93%	2%	Oncogene	APC; PI3K; TGF- β , RAS	Sobrevivência Celular/Destino Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumor Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
H3F3A	histona H3, família 3B (H3.3B); histona H3, pseudogene d família 3A; histona H3, família 3A; semelhante a histona H3, família 3B; semelhante a histona H3.3B	122	93%	0%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
HIST1 H3B	grupo histona 1, H3j; grupo histona 1, H3i; grupo histona 1, H3h; grupo histona 1, H3g; grupo histona 1, H3f; grupo histona 1, H3e; grupo histona 1, H3d; grupo histona 1,	25	60%	0%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
	H3c; grupo histona 1, H3b; grupo histona 1, H3a; grupo histona 1, H2ad; grupo histona 2, H3a; grupo histona 2, H3c; grupo histona 2, H3d						
HRAS	homólogo de oncogene viral de sarcoma de rato Harvey v-Ha-ras	812	96%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivência Celular
IDH1	desidrogenase de isocitrato 1, (NADP+), solúvel	4509	100%	0%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumores Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
IDH2	desidrogenase de isocitrato 2, (NADP+), mitocondrial	1029	99%	0%	Oncogene	Modificação de Cromatina	Destino Celular
JAK1	quinase de Janus 1	61	26%	18%	Oncogene	STAT	Sobrevivência Celular
JAK2	quinase de Janus 2	32692	100%	0%	Oncogene	STAT	Sobrevivência Celular
JAK3	quinase de Janus 3	89	60%	6%	Oncogene	STAT	Sobrevivência Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
KIT	semelhante a precursor de receptor de fator de crescimento de mastócitos/células-tronco (SCFR) (kit de quinase de proteína tirosina de proto-oncogene) (c-kit) (antigênio CD117); homólogo de oncogene viral de sarcoma de felino v-kit Hardy-Zuckerman	4720	90%	0%	Oncogene	PI3K; RAS; STAT	Sobrevivência Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
KLF4	fator 4 tipo Kruppel	61	80%	4%	Oncogene	Regulação Transcricion al; WNT	Destino Celular
KRAS	homólogo de oncogene viral de sarcoma de rato Kirsten v-Ki-ras2	23261	100%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivênc ia Celular
MAP2K 1	quinase 1 quinase proteína ativada por mitogênio	13	67%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivênc ia Celular
MED12	subunidade de complexo mediador 12	337	84%	0%	Oncogene	Ciclo Celular/Apop tose; TGF- β	Sobrevivênc ia Celular
MET	proto- oncogene met (receptor de fator de crescimento de hepatócito)	159	61%	4%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivênc ia Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumor Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
MPL	oncogene do vírus de leucemia mieloproliferativa	531	96%	0%	Oncogene	STAT	Sobrevivência Celular
MYD88	gene de resposta primária de diferenciação mielóide (88)	134	92%	1%	Oncogene	Ciclo Celular/Apoptose	Sobrevivência Celular
NFE2L2	fator nuclear tipo 2 (derivado de eritróide 2)	102	74%	1%	Oncogene	Ciclo Celular/Apoptose	Sobrevivência Celular
NRAS	homólogo de oncogene viral de neuroblastoma RAS viral (v-ras)	2738	99%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivência Celular

<u>Símbolo do Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u># Amostras de Tumor Mutadas **</u>	<u>Classificação Onco-Genética*</u>	<u>Classificação do Gene Supressor de Tumor*</u>	<u>Classificação*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
PDGFR A	receptor de fator de crescimento derivado de plaquetas, polipeptídeo alfa	653	84%	1%	Oncogene	PI3K; RAS	Sobrevivência Celular
PIK3CA	fosfoinositídeo 3-quinase, catalítico, polipeptídeo alfa	4560	95%	1%	Oncogene	PI3K	Sobrevivência Celular
PPP2R1A	proteína fosfatase 2 (anteriormente 2A), subunidade regulatória A, isoforma alfa	86	85%	2%	Oncogene	Ciclo Celular/Apoptose	Sobrevivência Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
PTPN11	proteína tirosina fosfatase, não receptor tipo 11; semelhante a proteína tirosina fosfatase, não receptor tipo 11	410	90%	0%	Oncogene	RAS	Sobrevivênc ia Celular
RET	proto- oncogene ret	500	86%	1%	Oncogene	RAS; PI3K	Sobrevivênc ia Celular
SETBP1	proteína de ligação 1 SET	95	25%	4%	Oncogene	Modificação de Cromatina; Replicação	Destino Celular
SF3B1	fator de união 3b; subunidade 1, 155kDa	516	91%	0%	Oncogene	Regulação Transcricion al	Destino Celular
SMO	homólogo suavizado (Drosófila)	34	51%	3%	Oncogene	HH	Destino Celular

<u>Símbo</u> <u>lo do</u> <u>Gene</u>	<u>Nome do Gene</u>	<u>#</u> <u>Amost</u> <u>ras</u> <u>de</u> <u>Tumor</u> <u>Mutad</u> <u>as **</u>	<u>Classific</u> <u>ação</u> <u>Onco-</u> <u>Genética*</u>	<u>Classific</u> <u>ação do</u> <u>Gene</u> <u>Supressor</u> <u>de Tumor*</u>	<u>Classifica</u> <u>ção*</u>	<u>Via nuclear</u>	<u>Processo</u>
SPOP	proteína POZ tipo mancha	35	66%	3%	Oncogene	Modificação de Cromatina; HH	Destino Celular
SRSF2	fator 2 de união rico em serina/argini na SRSF	273	95%	2%	Oncogene	Regulação Transcricion al	Destino Celular
TSHR	receptor de hormona estimulante da tiróide	301	86%	0%	Oncogene	PI3K; MAPK	Sobrevivênc ia Celular
U2AF1	fator 1 de pequeno auxiliar de RNA nuclear U2	96	92%	1%	Oncogene	Regulação Transcricion al	Destino Celular

Exemplo 8: Produção e Formulação de Peptídeos

[00404] Serão preparados peptídeos neo-antigênicos GMP para imunização por meio de síntese química de Merrifield RB: Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54, 1963) de acordo com as normas da FDA. Foram conduzidos três testes de

desenvolvimento com 20 ~20-30 mer peptídeos cada. Cada teste foi conduzido na mesma instalação e utilizado o mesmo equipamento como será usado para os testes GMP, utilizando registros de lote GMP preliminares. Cada teste produziu com sucesso > 50 mg de cada peptídeo, que foram testados por todos os testes de liberação atualmente planejados (por exemplo, Aparência, Identificação por MS; Pureza por RP-HPLC, Teor por Nitrogênio Elementar e teor TFA por RP-HPLC) e cumpriram a especificação almejada onde apropriado. Os produtos foram também produzidos dentro do espaço de tempo antecipado para esta parte do processo (aproximadamente 4 semanas). Os peptídeos a granel liofilizados foram colocados em um estudo de estabilidade de longo prazo e serão avaliados em vários pontos do tempo até 12 meses.

[00405] O material destes testes foi usado para testar a abordagem planejada de dissolução e mistura. Resumidamente, cada peptídeo será dissolvido em uma concentração elevada (50 mg/ml) em 100 % de DMSO e diluído para 2 mg/ml em um solvente aquoso. Inicialmente, foi antecipado que PBS deveria ser usado como um diluente, contudo, uma dessalinização de um pequeno número de peptídeos provocou uma turvação visível. Foi demonstrado que D5W (5 % de dextrose em água) é muito mais eficaz; 37 de 40 peptídeos foram diluídos com sucesso em uma solução clara. Os únicos

peptídeos problemáticos são peptídeos muito hidrofóbicos. As propriedades bioquímicas previstas de peptídeos imunizantes planejados serão avaliadas e os planos de síntese poderão ser alterados em conformidade (usando um peptídeo mais curto, deslocando a região a ser sintetizada na direção do terminal N ou C em volta do epítipo previsto, ou potencialmente utilizando um peptídeo alternativo). Dez peptídeos separados em DMSO/D5W foram submetidos a ciclos de congelação/descongelação e mostraram recuperação completa. Dois peptídeos individuais foram dissolvidos em DMSO/D5W e colocados em estabilidade a duas temperaturas (-20 °C e -80 °C). Estes peptídeos serão avaliados (RP-HPLC, MS e pH) durante até 6 meses. Até à data, ambos os peptídeos são estáveis no ponto temporal das 12 semanas com pontos temporais adicionais nas 24 semanas a serem avaliados.

[00406] Como mostrado na FIG. 9, a configuração do processo da forma de doseamento é preparar 4 conjuntos de peptídeos específicos do paciente consistindo de 5 peptídeos cada. Foi preparado um ensaio RP-HPLC e qualificado para avaliar estas misturas de peptídeos. Este ensaio alcança boa resolução de múltiplos peptídeos dentro de uma mistura única e pode também ser usado para quantificar peptídeos individuais.

[00407] Filtração de membrana (0,2 µm de tamanho de

poro) será usada para reduzir a biocarga e conduzir esterilização de filtro final. Quatro diferentes tipos de filtro apropriadamente dimensionados foram inicialmente avaliados e o filtro Pall, PES (# 4612) foi selecionado. Até à data, foram preparadas 4 diferentes mistura de 5 diferentes peptídeos e individualmente filtradas sequencialmente através de dos filtros PES. A recuperação de cada peptídeo individual foi avaliada utilizando o ensaio RP-HPLC. Para 18 dos 20 peptídeos, a recuperação após as duas filtrações foi >90%. Para dois peptídeos altamente hidrofóbicos, a recuperação foi inferior a 60% quando avaliados a pequena escala mas foram quase totalmente recuperados (87 e 97%) à escala. Como referido acima, serão desenvolvidas abordagens para limitar a natureza hidrofóbica das sequências selecionadas.

[00408] Serão preparados peptídeos neo-antigênicos GMP para imunização por meio de síntese química de Merrifield RB: Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54, 1963) de acordo com as normas da FDA.

Exemplo 9: Avaliação de Ponto Final

[00409] O ponto final imunológico primário deste estudo será a avaliação da resposta de célula T medida por IFN- γ ELISPOT *ex vivo*. A secreção de IFN- γ ocorre em

resultado do reconhecimento de peptídeos cognatos ou estímulos mitogênicos por células T CD4+ e/ou CD8+. São provavelmente apresentados vários diferentes determinantes CD4+ e CD8+ às células T *in vivo*, uma vez que os peptídeos 20-30 mer usados para vacinação deviam ser submetidos a processamento para se tornarem peptídeos mais pequenos por meio de células apresentando antigênio. Sem estar limitado pela teoria, acredita-se que a combinação de peptídeos de neo-antígenos personalizados que são novos para o sistema imunitário e assim não estão sujeitos aos efeitos atenuantes imunitários de auto-tolerância e o potente adjuvante imunitário poli-ICLC induzirá fortes respostas CD4+ e/ou CD8+. A expectativa é, como tal, que as respostas de células T sejam detetáveis *ex vivo*, ou seja, sem a necessidade de expansão *in vitro* de células específicas de epítipo através de cultura de curto prazo. Os pacientes serão inicialmente avaliados usando o conjunto total de imunogênios de peptídeo como estimulante no ensaio ELISPOT. Para pacientes demonstrando uma resposta positiva robusta, o ou os peptídeos imunogênicos exatos serão determinados em uma análise de seguimento. O IFN- γ ELISPOT é geralmente aceite como um ensaio robusto e reproduzível para detectar atividade de células T *ex vivo* e determinar a especificidade. Para além da análise da magnitude e mapeamento determinante da resposta

de células T em monócitos de sangue periférico, outros aspectos da resposta imunitária induzida pela vacina são críticos e serão avaliados. Estas avaliações serão realizadas em pacientes que exibem uma resposta IFN- γ ELISPOT *ex vivo* no ensaio de rastreio. Elas incluirão a avaliação de subconjuntos de células T (células Th 1 versus Th2, efectoras versus memória), análise da presença e abundância de células regulatórias como células regulatórias T ou células supressoras derivadas de mielóide, e ensaios de citotoxicidade se foram estabelecidas com sucesso linhas celulares de melanoma específicas do paciente.

Exemplo 10: Síntese de peptídeos

[00410] Os peptídeos GMP serão sintetizados por química padrão de peptídeos sintéticos de fase sólida e purificados por RP-HPLC. Cada peptídeo individual será analisado por uma variedade de ensaios qualificados para avaliar aparência (visual), pureza (RP-HPLC), identidade (por espectrometria de massa), quantidade (nitrogênio Elementar) e contraíon de trifluoroacetato (RP-HPLC) e liberado.

[00411] Os peptídeos de neoantigênio personalizados podem ser consistir de até 20 distintos peptídeos únicos para cada paciente. Cada peptídeo pode ser um polímero linear de ~20 - ~30 aminoácidos L unidos por ligações peptídicas

padronizadas. O terminal amino pode ser uma amina primária (NH₂-) e o terminal carboxi é um grupo carbonila (-COOH). São utilizados os 20 aminoácidos padrão comumente encontrados em células de mamíferos (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutâmico, glicine, histidina, isoleucina, leucina lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina). O peso molecular de cada peptídeo varia com base no seu comprimento e sequência e é calculado para cada peptídeo.

[00412] Peptídeos de neoantigênio personalizados podem ser fornecidos como uma caixa contendo frascos criogênicos de 2 ml da Nunc com tampas codificadas por cores, cada frasco contendo aproximadamente 1,5 ml de uma solução congelada de DMSO/D5W contendo até 5 peptídeos a uma concentração de 400 ug/ml. Poderá haver 10 - 15 frascos para cada um dos quatro grupos de peptídeos. Os frascos devem ser armazenados a -80 °C até utilização. Estudos de estabilidade em curso confirmam a temperatura e tempo de armazenamento.

[00413] Armazenamento e Estabilidade: Os peptídeos de neoantigênios personalizados são armazenados congelados a -80 °C. Os intermediários de processo descongelados e filtrados por esterilização e a mistura final de peptídeos de neoantigênios personalizados e poli-ICLC podem ser

mantidos à temperatura ambiente, mas devem ser usados no espaço de 4 horas.

[00414] Compatibilidade: Os peptídeos de neoantigênicos personalizados serão misturados com 1/3 de volume de poli-ICLC imediatamente antes da utilização.

Exemplo 11: Administração

[00415] A seguir à mistura com os peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos personalizados, a vacina (por exemplo, peptídeos + poli-ICLC) deve ser administrada subcutaneamente.

[00416] Preparação de conjuntos de peptídeos/polipeptídeos neo-antigênicos personalizados: peptídeos serão misturados uns com os outros em 4 conjuntos de até 5 peptídeos cada. Os critérios de seleção para cada conjunto serão baseados no alelo MHC particular ao qual o peptídeo se prevê ligar.

[00417] Composição de Conjunto: A composição dos conjuntos será selecionada com base no alelo HLA particular ao qual o peptídeo se prevê ligar. Os quatros conjuntos serão injetados em locais anatômicos que drenam para tinas de linfonodos separadas. Esta abordagem foi escolhida de forma a potencialmente reduzir o mais possível a competição antigênica entre peptídeos que se ligam ao mesmo alelo HLA e envolver um amplo subconjunto do sistema imunitário do

paciente no desenvolvimento de uma resposta imunitária. Para cada paciente, serão identificados os peptídeos que se prevê ligarem-se a até quatro diferentes alelos HLA A e B. Alguns peptídeos neoORF não serão associados a qualquer alelo HLA particular. A abordagem da distribuição de peptídeos a diferentes conjuntos será espalhar cada conjunto de peptídeos associados a um alelo HLA particular por o maior número possível dos quatro conjuntos. É altamente provável que haja situações onde haverá mais do que 4 peptídeos previstos para um dado alelo, e em esses casos será necessário alocar mais do que um peptídeo associado a um alelo particular ao mesmo conjunto. Esses peptídeos neoORF não associados com nenhum alelo em particular serão aleatoriamente atribuídos aos restantes compartimentos. De seguida é mostrado um exemplo:

A1	HLA A0101	3 peptides
A2	HLA A1101	5 peptides
B1	HLA B0702	2 peptides
B2	HLA B6801	7 peptides
X	NONE(neoORF)	3 peptides

Pool#	1	2	3	4
	B2	B2	B2	B2
	B2	B2	B2	A2
	A2	A2	A2	A2
	A1	A1	A1	B1
	B1	X	X	X

[00418] Sempre que possível, peptídeos que se prevê

ligarem ao mesmo alelo MHC serão colocados em conjuntos separados. Alguns dos peptídeos neoORF podem não ser previstos como ligando-se a nenhum alelo MHC do paciente. Estes peptídeos continuarão contudo a ser utilizados, principalmente porque são completamente novos e como tal não estão sujeitos a efeitos imuno-atenuantes de tolerância central e como tal têm uma elevada probabilidade de ser imunogênicos. Os peptídeos neoORF podem também conter um potencial de autoimunidade dramaticamente reduzido, uma vez que não há qualquer molécula equivalente em qualquer célula normal. Além disso, poderão surgir falsos negativos do algoritmo de previsão e é possível que o peptídeo contenha um epítopo de classe HLA II (os epítopos de classe HLA II não são fiavelmente previstos com base nos atuais algoritmos). Todos os peptídeos não identificados com um alelo HLA em particular serão aleatoriamente atribuídos aos conjuntos individuais. As quantidades de cada peptídeo são baseadas em uma dose final de 300 µg de cada peptídeo por injeção.

[00419] Para cada paciente, quatro conjuntos distintos (marcados "A", "B", "C" e "D") de 5 peptídeos sintéticos cada serão preparados, fabricados e armazenados a -80 °C. No dia de imunização, a vacina completa consistindo do ou dos componentes de peptídeos e poli-ICLC será preparada

em uma câmara de biossegurança de escoamento laminar na farmácia de investigação. Um frasco de cada (A, B, C e D) será descongelado à temperatura ambiente em colocado e uma câmara de biossegurança para as restantes etapas. 0,75 ml de cada conjunto de peptídeos serão retirados do frasco para seringas separadas. Separadamente, quatro alíquotas de 0,25 ml (0,5 mg) de poli-ICLC serão retiradas para seringas separadas. O conteúdo da cada seringa contendo conjunto de peptídeos será então cuidadosamente misturado com uma alíquota de 0,25 ml de poli-ICLC por transferência seringa-a-seringa. Todo o 1 ml da mistura será usado para injeção. Estas 4 preparações serão marcadas "fármaco de estudo A", "fármaco de estudo B", "fármaco de estudo C", e "fármaco de estudo D".

[00420] Injeções: A cada imunização, cada um dos 4 fármacos de estudo será injetado subcutaneamente em uma extremidade. Cada fármaco de estudo individual será administrado à mesma extremidade a cada imunização durante toda a duração do tratamento (ou seja, o fármaco de estudo A será injetado no braço esquerdo nos dias 1, 4, 8, etc, o fármaco de estudo B será injetado no braço direito nos dias 1, 4, 8, etc.). Localizações anatômicas alternativas para paciente de estado pós- dissecação completa de linfonodos axilares ou inguinais são as zonas esquerda e direita do

ventre, respectivamente.

[00421] A vacina será administrada seguindo a um calendário iniciador/reforço. As doses iniciais de vacina serão administradas nos dias 1, 4, 8, 15, e 22 como mostrado acima. Na fase de reforço, a vacina será administrada nos dias 85 (semana 13) e 169 (semana 25).

[00422] Todos os pacientes recebendo pelo menos uma dose da vacina serão avaliados quanto a toxicidade. Os pacientes serão avaliáveis quanto a atividade imunológica se tiverem recebido todas as vacinações durante a fase de indução e a primeira vacinação (reforço) durante a fase de manutenção.

Exemplo 12: Estudos Farmacodinâmicos

[00423] A estratégia de imunização é uma abordagem de "reforço inicial", envolvendo uma série inicial de imunizações pouco espaçadas para induzir uma resposta imunitária seguida de um período de repouso para permitir que sejam estabelecidas células T de memória. A isto seguir-se-á uma imunização de reforço, e espera-se que a resposta de célula T 4 semanas após este reforço (16 semanas após a primeira vacinação) gere a resposta mais forte e será o ponto final imunológico primário. Será realizada monitorização imunitária de forma gradual como definido de seguida para caracterizar a intensidade e qualidade das respostas

imunitárias obtidas. Sangue periférico será colhido e PBMC será congelado em dois pontos temporais separados antes da primeira vacinação (linha de base) e em diferentes pontos temporais após isso, como ilustrado no Esquema B e especificado no calendário de estudo. Monitorização imunitária em um determinado paciente será realizada após ter sido colhido todo o conjunto de amostras da fase de indução e da fase de manutenção, respectivamente. Se estiver disponível suficiente tecido tumoral, uma porção de tumor será usado para desenvolver linhas celulares de melanoma autólogo para utilização em ensaios de célula T citotóxica.

Exemplo 13: Rastreo IFN- γ ELISPOT *ex vivo*

[00424] Para cada paciente, será sintetizado um conjunto de peptídeos de rastreo. Os peptídeos de rastreo terão 15 aminoácidos de comprimento (ocasionalmente será usado um 16 mer ou 17 mer), sobreposição por 11 aminoácidos e cobrindo todo o comprimento de cada peptídeo ou todo o comprimento do neoORF para peptídeos derivados de neoORF. Todo o conjunto de peptídeos de rastreo específicos do paciente serão agrupados em uma concentração aproximadamente igual e será também armazenada individualmente uma porção de cada peptídeo. A pureza do conjunto de peptídeos será determinada testando o PBMC de 5 doadores saudáveis que estabeleceram um fundo baixo em IFN- γ ELISPOTs *ex vivo*.

Inicialmente, o PBMC obtido na linha de base e na semana 16 (o ponto final imunológico primário) será estimulado por 18 horas com o conjunto completo de peptídeos 15 mer sobrepostos (sobreposição de 11 aminoácidos) para examinar a resposta global à vacina de peptídeos. Ensaio subseqüentes podem utilizar PBMC colhido em outros pontos temporais como indicado. Se não for identificada qualquer resposta no ponto final imunológico primário usando o ensaio IFN- γ ELISPOT *ex vivo*, o PBMC será estimulado com o conjunto de peptídeos por um período de tempo mais longo (até 10 dias) e re-analisado.

Exemplo 14: Desconvolução de epítomos em ensaios de seguimento IFN- γ ELISPOT *ex vivo*.

[00425] Assim que for observada uma resposta IFN- γ ELISPOT *ex vivo* obtida por um conjunto de peptídeos sobrepostos (definida como pelo menos 55 unidades formadores de mancha / 10^6 PBMC ou aumentada em pelo menos 3 vezes em relação à linha de base), o peptídeo imunogênico que obtém esta resposta será identificado por desconvolução do conjunto de peptídeos com base em subconjuntos baseados nos peptídeos imunizantes e repetindo os ensaios IFN- γ ELISPOT *ex vivo*. Para algumas respostas, será feita uma tentativa de caracterizar com precisão o epítopo estimulante utilizando peptídeos 8-10 mer sobrepostos derivados de peptídeos estimulantes confirmado em ensaios IFN- γ ELISPOT. Serão

conduzidos ensaios adicionais em uma base caso-a-caso para amostras apropriadas: Por exemplo,

- Todos o conjunto ou subconjuntos 15 mer serão usados como peptídeos estimulantes para ensaios de coloração de citocina intracelular para identificar e quantificar populações CD4+, CD8+ específicos de antigênio, de memória central e de memória efetora.

- Igualmente, estes conjuntos serão usados para avaliar o padrão de citocinas segregadas por estas células para determinar o fenótipo T_H1 vs T_H2

- Coloração de citocinas extracelulares e citometria de fluxo de células não estimuladas serão usadas para quantificar células supressoras Treg e derivadas de mielóide (MDSC).

- Se uma linha celular de melanoma for estabelecida com sucesso de um paciente respondedor e o epítipo ativador puder ser identificado, os ensaios de citotoxicidade de célula T serão conduzidos usando o peptídeo de tipo selvagem mutante e correspondente

- PBMC do ponto final imunológico primário será avaliado quanto a "distribuição de epítipos" usando antigênios tumorais associados a melanoma como estimulantes e usando vários epítipos mutados identificados adicionais que não foram selecionados como estando entre os imunogênios

[00426] Será conduzida imuno-histoquímica de amostras tumorais para quantificar populações infiltrantes CD4+, CD8+, MDSC, e Treg.

Exemplo 15: Pipeline para a identificação sistemática de neoantigênios de tumor

[00427] Recentes avanços nas tecnologias de sequenciação e previsões de epítipo de peptídeos foram alavancadas para gerar um pipeline de duas etapas para descobrir sistematicamente neoantigênios candidatos ligados a HLA específicos de tumor. Como representado na FIG. 10, esta abordagem começa com a sequenciação de DNA de tumores (por exemplo, por sequenciação de exoma completo (WES) ou sequenciação de genoma completo (WGS)) em paralelo com DNA normal correspondido para identificar de forma abrangente mutações somáticas não sinônimas (ver, por exemplo, Lawrence et al. 2013; Cibulski et al. 2012). A seguir, peptídeos candidatos mutados específicos de tumor gerados por mutações tumorais com o potencial de se ligarem a proteínas pessoais HLA de classe I, e portanto apresentados a células T CD8+, podem ser previstos usando algoritmos de previsão como, por exemplo, NetMHCpan (ver, por exemplo, Lin 2008; Zhang 2011). Antígenios de peptídeos candidatos foram adicionalmente avaliados com base em validação experimental da sua ligação a HLA e mRNAs cognatos de expressão em células de leucemia

autólogas.

[00428] Este pipeline foi aplicado a um grande conjunto de dados de amostras de CLL sequenciadas (ver, por exemplo, Wang et al. 2011). De 91 casos que foram sequenciados por WES ou WGS, foram descobertos um total de 1838 mutações não sinônimas em regiões codificadoras de proteína, correspondendo a uma taxa de mutação somática média de 0,72 ($\pm 0,36$ s.d.) por megabase (gama, 0,08 a 2,70), e uma média de 20 mutações não sinônimas por paciente (gama, 2 a 76) (ver, por exemplo, Wang et al. 2011). Foram identificadas três classes gerais de mutações que se esperariam ser geradoras de regiões de alterações de aminoácidos e desta forma potencialmente ser imunologicamente reconhecidas. A classe mais abundante incluía mutação de sentido trocado que provoca alterações de aminoácidos únicos (aa), representando 90% de mutações somáticas por CLL. De 91 amostras, 99% abrigaram mutações de sentido trocado e 69% tinham entre 10 e 25 mutações de sentido trocado (ver, por exemplo, a FIG. 2A). As outras duas classes de mutações, deslocamentos de quadro de leitura e mutações de local de união (mutações em junções éxon-íntron) têm o potencial de gerar trechos mais longos de sequências de aminoácidos novas inteiramente específicas do tumor (novos quadros de leitura aberta, ou neoORF), com um número superior de peptídeos de neoantigênios

por alteração indicada (em comparação com mutações de sentido trocado). Contudo, consistentemente com dados de outros tipos de câncer, as mutações geradoras de neoORF foram aproximadamente 10 vezes menos abundantes do que as mutações de sentido trocado em CLL (ver, por exemplo as FIGs. 2B-C). Dada a prevalência de mutações de sentido trocado, os estudos experimentais subsequentes focaram-se na análise de neoepítomos gerados por mutações de sentido trocado.

Exemplo 16: Mutações de sentido trocado somáticas geram neoepítomos que se prevê ligarem-se a alelos de classe HLA I pessoais

[00429] O reconhecimento de célula T de epítomos de peptídeos pelo receptor de células T (TCR) exige a apresentação de peptídeos ligados dentro da fenda de ligação de moléculas HLA na superfície das células apresentando antígeno. Recente estudos comparativos em todos os >30 algoritmos de previsão de classe I disponíveis mostraram que NetMHCpan têm um desempenho consistente com elevada sensibilidade e especificidade em todos os alelos HLA (ver, por exemplo, Zhang et al. 2011).

[00430] O algoritmo NetMHCpan foi testado contra um conjunto de 33 epítomos mutados conhecido que foram originalmente identificados na literatura com base na sua atividade funcional (ou seja, capacidade de estimular

respostas de célula T citolíticas anti-tumorais) ou foram caracterizadas como antigênicos de histocompatibilidade menor imunogênicos para determinar se o algoritmo preveria corretamente a ligação dos 33 epítomos mutados conhecidos (ver, por exemplo, as Tabelas 4 e 5). As Tabelas 4 e 5 mostram afinidades de ligação de peptídeo HLA de epítomos mutados imunogênicos derivados funcionalmente em cânceres humanos usando NetMHCpan. A Tabela 4 mostra epítomos de mutações de sentido trocado (NSCLC: câncer do pulmão de células não pequenas; MEL: melanoma; CLL: leucemia linfóide crônica; RCC: carcinoma das células renais claras; BLD: câncer da bexiga; NR: não reportado;). Amarelo: IC50 < 150 nM, verde: IC50 150-500 nM e cinzento IC50 > 500 nM.

Tabela 4

Grupo	Gene	Doença	Resposta Clínica	Resposta da Célula T	Alelo HLA	Mutado		Tipo Selvagem		W/MUTIC50	Referência
						MUT>>WT	Epítopo observado	IC50 Previsto (nM)	Epítopo observado		
1	ME-1	NSC	Sim	Sim	A*02	FLDEFM	3	FLDEFM	2	0,7	(50)
		LC			:01	EGV		EAV			
	PLEKHM2	MEL	Sim	Sim	A*01	LTDDRL	3	LTDDRL	97	32	(36)
					:01	FTCY		FTCH			
	PRDX5	MEL	NR	Sim	A*02	LLLDDL	5	LLLDDS	7	1,4	(51)
					:01	LVSI		LVSI			
MATN2	MEL	Sim	Sim	A*11	KTLTSV	5	ETLTSV	20	4	(36)	
				:01	FQK		FQK				
DDX21	MEL	Sim	Sim	A*68	EAFIQP	10	EASIQP	29	3	(52)	
				:01	ITR		ITR				
RBAF	MEL	Sim	Sim	B*07	RPHVPE	10	GPHVPE	68	7	(13)	
				:02	SAF		SAF				

	GAS7	MEL	Sim	Sim	A*02	SLADEA	12	SLADEA	39	3	(14)
					:01	EVYL		EVHL			
	SIRT	MEL	Sim	Sim	A*03	KIFSEV	14	KIFSEV	16	1,	(13)
	2				:01	TLK		TPK		1	
	EF2	NSC	NR	Sim	A*68	ETVSEQ	16	ETVSEE	27	2	(53)
		LC			:02	SNV		SNV			
	GAPD	MEL	Sim	Sim	A*02	GIVEGL	21	GIVEGL	27	1,	(14)
	H				:01	ITTV		MTTV		3	
	HSP	RCC	NR	Sim	A*02	SLFEGI	23	SLFEGI	7	0,	(54)
	70				:01	DIYT		DFYT		3	
	ACT1	NSC	Sim	Sim	A*02	FIASNG	29	FIASKG	44	2	(55)
	NIN	LC			:01	VKLV		VKLV			
	CDK1	MEL	Sim	Sim	A*11	CILGKL	33	CILGEL	42	1,	(36)
	2				:01	FTK		FTK		3	
	KIAA	RCC	Sim	Sim	A*01	QTACEV	33	QTTCEV	78	2	(14)
	1440				:01	LDY		LDY			
	HAUS	MEL	Sim	Sim	A*02	ILNAMI	34	ILNAMI	36	1,	(36)
	3				:01	AKI		TKI		1	
	PPP1	MEL	Sim	Sim	A*01	YTDFHC	49	YTDFPC	72	1,	(36)
	R3B				:01	QYV		QYV		5	
	MUM-	MEL	Sim	Sim	B*44	SELFRS	184	SELFRS	182	1	(56)
	2				:02	GLDSY		RLDSY			
2	KIAA	BLD	NR	Sim	B*44	AEPIDI	258	AEPINI	288	1,	(57)

	0205				:03	QTW		QTW		1	
	GPNM	MEL	Sim	Sim	A*03	TLDWLL	282	TLGWLL	179	0,	(13)
	B				:01	QTPK		QTPK		6	
	CSNK	MEL	Sim	Sim	A*02	GLFGDI	6	GSFGDI	1312	21	(36)
	1A1				:01	YLAI		YLAI		9	
3	CLPP	MEL	Sim	Sim	A*02	ILDKVL	32	ILDKVL	7566	23	(58)
					:01	VHL		VHP		6	
	CTNN	MEL	Sim	Sim	A*24	SYLDSG	41	SYLDSG	1874	45	(59)
	B1				:02	IHF		IHS	6	7	
	SNRP	MEL	Sim	Sim	A*03	KILDAV	48	KILDAV	1497	31	(13)
					:01	VAQK		VAQE	6	2	
	OS9	MEL	NR	Sim	B*44	KELEGI	60	KELEGI	1161	19	(60)
					:03	LLL		LLP			
	MYH2	MEL	Sim	Sim	A*03	KINKNP	141	EINKNP	4960	35	(61)
					:01	KYK		KYK			
	MART	MEL	Sim	Sim	A*01	FLEGNE	1115	FLGGNE	4504	4	(62)
	-2				:01	VGKTY		VGKTY			
4	NFYC	NSC	NR	Sim	B*52	AQQITK	7314	AQQITQ	5701	0,	(63)
		LC			:01	TEV		TEV		8	
	CDK4	MEL	NR	Sim	A*02	ACDPHS	1119	ARDPHS	2522	2	(64)
					:01	GHFV	2	GHFV	2		

[00431] A Tabela 5 mostra epítomos de antígenos de

histocompatibilidade menor (MM: mieloma múltiplo; HM: malignidade hematológica; B-ALL: leucemia linfóide aguda de célula B).

Tabela 5

Gr up o	Gene	Doença	Resposta Clínica Re	Resposta Celular T	Alelos	Mutado		Epítipo	IC50	WT/MUT	Referência
						Epítipo observado	IC50 Previsto (nM)				
1	<i>ECGF-1</i>	MM	Sim	Sim	B*07:02	RPHAIR	3	RPRAIR	2	0,7	(65)
						RPLAL		RPLAL			
1	<i>KIAA0223</i> (HA-1)	HM	Sim	NR	A*02:01	VLHDDL	17	VLRDDL	140	8	(66)
						LEA		LEA			
1	<i>BCL2A1</i>	HM	NR	Sim	A*24:0	DYLQYV	22	DYLQCV	34	2	(67)
						LQI		LQI			

					2						
1	<i>BCL2</i> <i>A1</i>	HM	NR	Sim	A*2 4:0 2	KEFEDD IINW	36	KEFEDG IINW	27	0,8	(67)
1	<i>HB-1</i>	B- ALL	NR	Sim	B*4 4:0 3	EEKRGS LHVW	81	EEKRGS LYVW	67	1	(68)

[00432] Entre todas as possibilidades 9 mer e 10 mer apresentadas em mosaico, NetMHCpan identificou todos os 33 epítomos mutados validados funcionalmente como o melhor peptídeo de ligação entre as escolhas possíveis para a mutação em causa. A afinidade de ligação prevista média (IC50) para os elementos restritivos de HLA reportados conhecidos de cada um dos 33 epítomos mutados foi 32 nM (gama, 3-11, 192 nM). Ao definir os cortes IC50 para 150 e 500 nM, foram capturados, respectivamente, 82 e 91% dos peptídeos validados funcionalmente (ver, por exemplo, as Tabelas 4 e 5 e a FIG. 12A).

[00433] Na base do seu elevado grau de sensibilidade e especificidade, NetMHCpan foi então aplicado aos 31 de 91 casos de CLL para os quais estava disponível informação de tipagem HLA. Por convenção, peptídeos com IC50 < 150 nM foram considerados como aglutinantes fortes a intermédios, IC50 150-500 nM como aglutinantes fracos, e IC50 > 500 nM como

não aglutinantes, respectivamente (ver, por exemplo, Cai et al. 2012). Para todos os 91 casos de CLL, foi encontrada uma mediana de 10 peptídeos de ligação fortes (gama, 2-40) e 12 peptídeos de ligação intermédios a fracos (gama, 2-41). No total, foi prevista uma mediana de 22 (gama, 6-81) peptídeos por caso com $IC_{50} < 500$ nM (ver, por exemplo, FIG. 12B e Tabela 6). Em particular, a Tabela 6 mostra os números e distribuições de afinidade de peptídeos previstos para os 31 casos de CLL com tipagem HLA disponível. Os pacientes expressando os 8 alelos HLA -A, -B mais comuns na população caucasiana encontram-se marcados a cinzento.

Tabela 6

Pts (f)	alelos HLA-A				alelos HLA-B				alelos incomuns	# de neopeptídeos previstos	
	*01:01	*02:01	*24:02	*03:01	*07:02	*08:01	*15:01	*38:01		<150 (nM)	150-500 (nM)
P46										10	12
P91										17	20
P32									B*44:02	13	6
P60									A*68:01	14	19
P5									A*32:01; B*44:02	6	15
P88									A*29:02; B*44:03	17	25
P7									B*35:01; *57:01	8	12
P8									A*31:01; B*14:02	6	8
P14									B*51:01; *62:01	5	4
P28									A*26:01; B*48:01	10	6
P34									B*18:01; *39:06	5	7
P35									B*51:01	11	13
P37									A*03:02; B*44:03	2	4
P49									A*11:01; B*35:03	25	29
P42									A*26:01; B*35:02	10	18
P66									A*23:01; B*49:01	4	8
P82									A*26:01; B*35:08	13	29
P83									B*06:01; *04:01	5	2
P87									A*26:01; *31:01	24	29
P47									A*11:01; B*51:01	10	9
P48									A*11:01; B*51:01	13	17
P16									A*11:01; B*44:02; *51:01	13	12
P36									A*68:01; B*14:02	3	5
P39									A*32:01; B*35:01; *44:01	40	41
P53									A*26:01; B*35:01	13	11
P73									A*31:01; *68:01; B*49:01	18	13
P90									A*29:02; B*45:01; *55:01	3	7
P45									A*68:02; B*44:02; *15:03	5	5
P1									A*11:01; *23:01; B*35:01; *51:01	7	17
P40									A*11:01; *32:01; B*40:01; *44:03	14	18
P41									A*29:03; *32:01; B*44:03	10	8

Exemplo 17: Mais do que metade dos neopeptídeos de ligação HLA previstos mostrou ligação direta a proteínas HLA *in vitro*

[00434] Como mostrado na Tabela 7, os resultados de

IC50 nM gerados por previsões de ligação de peptídeo HLA foram validados usando um ensaio de ligação competitivo de alelos MHC I e focaram-se nos alelos de classe I A e B. Para esta finalidade, foram sintetizados 112 peptídeos mutados (peptídeos mutados 9 ou 10-mer) com resultados IC50 inferiores a 500 nM que foram identificados de 4 casos de CLL (Pt 1-4). Os resultados experimentais correlacionaram-se com as previsões de ligação. Ligação experimental (definida como IC 50 < 500 NM) foi confirmada em 76,5% e 36% de peptídeos previstos com IC50 de < 150 nM ou 150-500 nM, respectivamente (ver, por exemplo, FIG. 12C). No total, ~54,5% (61/112) de peptídeos previstos foram experimentalmente validados como aglutinantes com alelos HLA pessoais. No geral, as previsões para peptídeos 9-mer foram mais sensíveis do que para peptídeos 10-mer, dado que 60% vs 44,5% de peptídeos previstos (IC50 < 500 nM) puderam ser experimentalmente validados, respectivamente, como mostrado (FIG. 13).

Tabela 7: Resultados de ligação HLA previstos e experimentais de neoepítomos candidatos gerados de 4 casos CLL.

Pt	Gene	Sequência	Comprimento	Alelo HLA	Neoepítomos IC50 candidatos (nM)
----	------	-----------	-------------	-----------	----------------------------------

					Previstos	Experimentais
1	<i>THOC6</i>	ELWCRQPPY R	10	A*33:0 1	10	18
1	<i>THOC6</i>	ELWCRQPPY R	10	A*68:1 2	59	5.1
1	<i>CDC25A</i>	QSYCEPSSY R	10	A*68:1 2	23	1.5
1	<i>ALMS1</i>	TVPSSSFH R	10	A*68:1 2	25	11
1	<i>WHSC1L1</i>	EVQASKHTK	9	A*68:1 2	33	58
1	<i>CRYBA1</i>	WVCYQYSGY R	10	A*33:0 1	44	972
1	<i>CDC25A</i>	SYCEPSSYR	9	A*33:0 1	70	14
1	<i>THNSL2</i>	ATIESVQGA K	10	A*68:1 2	71	42
1	<i>ALMS1</i>	TPTVPSSSF	9	B*35:0 1	75	91
1	<i>RALGAPB</i>	WIMVLVLPK	9	A*68:1 2	95	218

1	<i>THOC6</i>	ELWCRQPPY	9	B*35:0 1	112	13776
1	<i>RALGAPB</i>	DWIMVLVLP K	10	A*33:0 1	117	37826
1	<i>C6orf89</i>	MPIEPGDIG C	10	B*35:0 1	132	131
1	<i>STRAP</i>	LISACKDGK R	10	A*68:1 2	163	15845
1	<i>CRYBA1</i>	YQYSGYRGY	9	B*35:0 1	170	9851
1	<i>WHSC1L1</i>	LLNEVQASK	9	A*68:1 2	197	7440
1	<i>RALGAPB</i>	DWIMVLVLP K	10	A*68:1 2	222	2956
1	<i>STRAP</i>	ISACKDGKR	9	A*68:1 2	224	6671
1	<i>XPO1</i>	KTVVNKLFK	9	A*68:1 2	253	25393
1	<i>HMG2</i>	NSAENGDAK	9	A*68:1 2	258	141
1	<i>THOC6</i>	LWCRQPPYR	9	A*33:0 1	297	915

1	<i>POLR2A</i>	VQKIFHINP R	10	A*33:0 1	308	17699
1	<i>CDC25A</i>	QSYCEPSSY R	10	A*33:0 1	309	53
1	<i>ALMS1</i>	SSFSHREK	9	A*68:1 2	314	1496
1	<i>CDC25A</i>	SYCEPSSYR	9	A*68:1 2	314	812
1	<i>ALMS1</i>	TVPSSSFH R	10	A*33:0 1	335	237
1	<i>THNSL2</i>	TIESVQGAK	9	A*68:1 2	338	953
1	<i>POLR2A</i>	MIWNVQKIF	9	B*35:0 1	393	541
1	<i>CDC25A</i>	QSYCEPSSY	9	B*35:0 1	478	50000
1	<i>DSCAML1</i>	SSIRSFVLQ Y	10	B*35:0 1	480	9195
2	<i>NIN</i>	FLQEETLTQ M	10	A*02:0 1	10.63	1.1
2	<i>FNDC3B</i>	VVMSWAPPV	9	A*02:0 1	4.21	6.4

2	SLC46A1	CSDSKLIGY	9	A*01:0 1	8.13	8.5
2	SYT15	EMLIKPKEL	9	B*08:0 1	414.37	8.9
2	F2R	ILLMTVTSI	9	A*02:0 1	41.91	11
2	ACSM2A	SLMEHWALG	9	A*02:0 1	413.95	17
2	C16orf5 7	LLRVHTEHV	9	B*08:0 1	443.97	28
2	ACSM2A	SLMEHWALG A	10	A*02:0 1	5.67	40
2	TBC1D9B	KMTFLFPNL	9	A*02:0 1	63.7	62
2	SF3B1	GLVDEQQEV	9	A*02:0 1	22.26	94
2	LRRC41	ALPDPILQS I	10	A*02:0 1	28.18	107
2	LRRC41	GVWALPDPI	9	A*02:0 1	382.07	122
2	FNDC3B	AVVMSWAPP V	10	A*02:0 1	98.15	123

2	<i>F2R</i>	TSIDRFLAV	9	B*08:0 1	245.43	130
2	<i>KIAA046</i> 7	GPSWGLSLM	9	B*07:0 2	179.31	137
2	<i>C16orf5</i> 7	LLRVHTEHV	9	A*02:0 1	454.23	175
2	<i>C22orf2</i> 8	WVNCSSMTF L	10	A*02:0 1	302.94	274
2	<i>FNDC3B</i>	VMSWAPPVG L	10	A*02:0 1	37.77	378
2	<i>GDF2</i>	ILYKDDMGV	9	A*02:0 1	13.74	567
2	<i>FNDC3B</i>	NIQARAVVM	9	B*08:0 1	145.51	743
2	<i>C16orf5</i> 7	HVRCKSGNK F	10	B*08:0 1	340.37	803
2	<i>LRRC41</i>	LPDPILQSI L	10	B*07:0 2	243.46	855
2	<i>F2R</i>	SILLMTVTS I	10	A*02:0 1	301.24	929
2	<i>ACSM2A</i>	LMEHWALGA	9	A*02:0 1	314.16	968

2	<i>LRRC41</i>	LPDPILQSI	9	B*07:0 2	471.62	1056
2	<i>C16orf5</i> 7	VLLRVHTEH V	10	A*02:0 1	23.04	1252
2	<i>TBC1D9B</i>	FPNLKDRDF L	10	B*07:0 2	107.39	1423
2	<i>SYT15</i>	MLIKPKELV	9	A*02:0 1	162.61	1442
2	<i>ACSM2A</i>	IILCSLMEHW A	10	A*02:0 1	424.59	1651
2	<i>TBC1D9B</i>	FPNLKDRDF	9	B*07:0 2	280.32	1687
2	<i>GDF2</i>	SILYKDDMG V	10	A*02:0 1	140.39	1775
2	<i>TP53</i>	NTRFRHRVVV	9	B*08:0 1	285.7	1789
2	<i>SF3B1</i>	EVRTISALA I	10	B*08:0 1	327.97	2322
2	<i>GDF2</i>	VPTKLSPIS I	10	B*07:0 2	132.77	3416
2	<i>ELK3</i>	LLLQDSECK A	10	A*02:0 1	437.05	5074

2	<i>KIAA046</i> 7	SQPGPSWGL	9	A*02:0 1	128.72	6511
2	<i>RNF150</i>	KPAVSSDSD I	10	B*07:0 2	228.47	8085
3	<i>ZNF182</i>	ITHTGEKPY	9	B*15:0 1	205.26	92
3	<i>ZNF182</i>	ITHTGEKPY K	10	A*03:0 1	443.32	40
3	<i>ZNF253</i>	KFSNSNIYK	9	A*03:0 1	116.69	273
3	<i>IREB2</i>	LTRGTFANI K	10	A*01:0 1	343.52	739
3	<i>TLK2</i>	LTDFGLSKI M	10	A*03:0 1	164.9	1897
3	<i>TLK2</i>	LTDFGLSKI	10	A*01:0 1	227	10452
3	<i>TLK2</i>	KLTDFGLSK	9	A*03:0 1	26	41
3	<i>MYD88</i>	SLSLGAHQK	9	A*03:0 1	122.42	30
3	<i>PATE2</i>	FLKHKQSCA V	10	B*08:0 1	17	21

3	<i>PATE2</i>	GVMTSCFLK	9	A*03:0 1	25	29
3	<i>PATE2</i>	FLKHKQSCA	9	B*08:0 1	19	51
3	<i>JTB</i>	GLLCAFTLK	9	A*03:0 1	12	62
3	<i>JTB</i>	HLCGLLCAF	9	B*15:0 1	117	125
3	<i>OR13C5</i>	LSIFKISSL	9	B*08:0 1	151	158
3	<i>PATE2</i>	VMTSCFLKH K	10	A*03:0 1	140	174
3	<i>PATE2</i>	MTSCFLKHK	9	A*03:0 1	147	218

3	OR13C5	KISSLEGRS K	10	A*03:0 1	185	257
3	OR13C5	LSIFKISSL	9	B*15:0 1	152	368
4	MAPK14	RPTFYRQGL	9	B*07:0 2	6.7	76
4	SCYL2	EVAGFVFDK	9	A*68:0 1	7.3	14
4	SCYL2	EVAGFVFDK K	10	A*68:0 1	7.4	8.8
4	COL5A3	FTAGGEPCL Y	10	A*01:0 1	14	153
4	MPDZ	FSIVGGYGR	9	A*68:0 1	20	2.6

4	<i>CUL1</i>	YMKKAEAPL	9	B*08:0 1	36	34841
4	<i>MUC2</i>	APITTTTTV	9	B*07:0 2	53	13
4	<i>KDM5D</i>	HSIPLRQSV K	10	A*68:0 1	55	45
4	<i>TBC1D25</i>	ISYLGRDRL R	10	A*68:0 1	106	556
4	<i>NUP98</i>	APGFNTTPA	9	B*07:0 2	107	13
4	<i>ZNF330</i>	KAFFCDDHT R	10	A*68:0 1	137	102
4	<i>MPDZ</i>	RPHGDLPIY V	10	B*07:0 2	155	1321

4	<i>TBC1D25</i>	RLRQEVYLS L	10	B*08:0 1	165	1084
4	<i>CUL1</i>	YMKKAEAPL L	10	B*08:0 1	168	138
4	<i>TBC1D25</i>	RLRQEVYLS L	10	B*07:0 2	183	114
4	<i>LANCL1</i>	CLTKRSIAF	9	B*08:0 1	205	47
4	<i>COL5A3</i>	FTAGGEPCL Y	10	A*68:0 1	230	11
4	<i>SF3B1</i>	EYVLNNTAR	9	A*68:0 1	301	651
4	<i>CNN1</i>	DPKLGTAQP L	10	B*07:0 2	369	3974

4	<i>PPP2R2C</i>	QTHEPEFDY	9	A*01:0 1	435	26184
4	<i>MUC2</i>	APITTTTTV T	10	B*07:0 2	436	3731
4	<i>CUL1</i>	EAPLLEEQR	9	A*68:0 1	454	36
4	<i>LANCL1</i>	CLTKRSIAF L	10	B*08:0 1	467	640
4	<i>NUP98</i>	APGFNTTPA T	10	B*07:0 2	475	5744
4	<i>MUC2</i>	TTAPITTTT	9	A*68:0 1	479	118
4	<i>CUL1</i>	YMKKAEAPL	9	B*07:0 2	480	7927

4	LOXL2	IPGFKFDNL	9		487	809
				B*07:0		
				2		

** Não estava disponível um ensaio de ligação experimental para A*68:12. Uma vez que A*68:12 e A*68:01 possuem estruturas primárias idênticas nas bolsas de ligação de peptídeo principal B e F e foram previstos como tendo especificidade de ligação semelhante (Sidney e Sette, 2007), ligação experimental para peptídeos previstos como ligando A*68:12 foi testada contra A*68:01.

Exemplo 18: Neoantigênicos são expressos em tumores CLL

[00435] As respostas CTL contra um epítipo apenas seriam úteis se o gene codificando o epítipo for expresso nas células alvo. Das 31 amostras de pacientes sequenciadas e tipadas quanto a HLA, 26 foram submetidas a perfilação de expressão pangênômica (ver, por exemplo, Brown et al. 2012). O nível de expressão de 347 genes com mutações em amostras de CLL foi classificado como possuindo expressão baixa/ausente (quartil inferior); média (dois quartis médios) ou elevada (quartil superior). Como mostrado na FIG. 12D, 80% dos 347 genes mutados (ou 79% das 180 mutações com ligação HLA prevista) foram expressos em níveis de expressão média ou elevada. Foi observada uma frequência de expressão elevada semelhante entre o subconjunto de 221 genes mutados (88,6%) com epítopos de ligação de classe I previstos.

[00436] Os níveis de RNA podem ser determinado com base no número de leituras por produto genético e classificados por quartis. "H" - Quartil superior; "M" - Dois quartis intermédios; "L" - Quartil inferior (excluindo genes sem leituras; "-" - leituras não detectáveis. À medida que a afinidade prevista diminui, pode ser aplicada estringência mais elevada a níveis de expressão. Foram utilizados neoORFs com aglutinantes previstos, mesmo que não houvesse moléculas de mRNA detectáveis por RNA-Seq. Não há dados presentemente disponíveis para avaliar qual seria, se é que existe, o nível de expressão mínimo exigido em uma célula tumoral para um neoORF ser útil como um alvo para células T ativadas. Mesmo o nível de expressão de tradução "pioneira" de mensagens destinadas a degradação mediada por não sentido pode ser suficiente para geração de alvos ((Chang YF, Imam JS, Wilkinson MF: The nonsense-mediated decay RNA surveillance pathway. Annu Rev Biochem 76:51-74, 2007)). Como tal, por via do elevado valor de neoORFs como alvos devido à sua novidade e especificidade tumoral refinada, neoORFs podem ser utilizados como imunogênios mesmo se a expressão ao nível RNA for baixa ou indetectável.

Exemplo 19: Foram detectados neoepítomos candidatos direcionados a células T no Paciente de CLL 1 após HSCT

[00437] A configuração de transplante pós-alogênico de células-tronco hematopoiéticas (HCT) em CLL foi analisada

para determinar se uma resposta imunitária contra os peptídeos mutados previstos se poderia desenvolver em pacientes. Reconstituição de células T de de um dador saudável após HSCT pode ultrapassar defeitos imunitários endógenos do hospedeiro, e também permitir iniciação contra células de leucemia no hospedeiro *in vivo*. A análise focou-se em dois pacientes que tinham ambos sido submetidos a condicionamento alo-HSCT não relacionado de intensidade reduzida para CLL avançado e que tinham alcançado remissão contínua por mais de 4 anos após HSCT (ver, por exemplo, a Tabela 8). Células T pós-transplante foram colhidas 7 anos (Paciente 1) e 4 anos (Paciente 2) após o transplante.

[00438] A Tabela 8 mostra as características clínicas de pacientes (Pts) de CLL 1 e 2. Ambos os pacientes alcançaram remissão contínua em curso após HSCT superior a 7 (PT 1) e 4 anos (Pt 2). M: macho; HSCT: transplante de células tronco hematopoiéticas; RIC: condicionamento de intensidade reduzida; Flu/Bu: Fludarabina/Bussulfano; GvHD: doença do enxerto vs hospedeiro; URD: dador não relacionado; Mis: de sentido trocado; FS: deslocamento de quadro de leitura.

Tabela 8

Pt	Tipo de gem	Idade/	HSCT alogênico	Número de Mutações	Neoepítomos (IC50 > 500

de	Sex								nM)		
HLA	o	Regime	Fon	Dia	Medica	To	M	F	Atuad	Prev	Experi
		de	te	s	mentos	ta	i	S	ores	isto	mental
		Condicio	de	par	GvHD	l	s	putat	ivos		
		namento	cél	a o							
			ula	Iní							
			-	cio							
			tro	de							
			nco	cGv							
				HD							
1	A*33 :01/ *68: 12 B*35 :01/ *14: 01	51/ M RIC Flu/Bu	URD PBS C	448	Imatin ib/ Predni sona	33	2 5	8	XPO1	30	14
2	A*01 :01/ *02: 01 B*07 :02/	72/ M RIC Fu/Bu	URD PBS C	208	Imatin ib	27	2 6	1	TP53, SF3B1	37	18

previstos são incluídos nas colunas da extrema direita.

Tabela 9

Conjunt	Gene	Comprimento	Alelo HLA	Peptídeo MUT			Peptídeo WT	
				Sequência	IC50 Previsto (nM)	IC50 Experimental (nM)	Sequência	IC50 Previsto (nM)
1	<i>THOC6</i>	10	A*33:01	ELWCRQ PPYR	10	18	ELWRRQ PPYR	11
	<i>THOC6</i>	10	A*68:12	ELWCRQ PPYR	59	5.1	ELWRRQ PPYR	61
	<i>CDC25A</i>	10	A*68:12	QSYCEP SSYR	23	1.5	QSYCEP PSYR	37
	<i>ALMS1</i>	10	A*68:12	TVPSSS FSHR	25	11	TVPSSS FSHR	35
	<i>WHSC1L1</i>	9	A*68:12	EVQASK HTK	33	58	EVQASE HTK	34
	<i>CRYBA1</i>	10	A*33:01	WVCYQY SGYR	44	972	WVCYQY PGYR	50
	<i>CDC25A</i>	9	A*33:01	SYCEPS SYR	70	14	SYCEPP SYR	61
2	<i>THNSL2</i>	10	A*68:12	ATIESV QGAK	71	42	AAIESV QGAK	470

	<i>ALMS</i>	9	B*35	TPTVPS	75	91	TPTVPS	89
	<i>1</i>		:01	SSF			GSF	
	<i>RALG</i>	9	A*68	WIMVLV	95	218	WIMALV	46
	<i>APB</i>		:12	LPK			LPK	
	<i>THOC</i>	9	B*35	ELWCRQ	112	13776	ELWRRQ	126
	<i>6</i>		:01	PPY			PPY	
	<i>RALG</i>	10	A*33	DWIMVL	117	37826	DWIMAL	171
	<i>APB</i>		:01	VLPK			VLPK	
	<i>C6or</i>	10	B*35	MPIEPG	132	131	MPIEPG	3
	<i>f89</i>		:01	DIGC			DIGY	
3	<i>STRA</i>	10	A*68	LISACK	163	15845	LISACK	38499
	<i>P</i>		:12	DGKR			DGKP	
	<i>CRYB</i>	9	B*35	YQYSGY	170	9851	YQYPGY	171
	<i>A1</i>		:01	RGY			RGY	
	<i>WHSC</i>	9	A*68	LLNEVQ	197	7440	LLNEVQ	21454
	<i>1L1</i>		:12	ASK			ASE	
	<i>RALG</i>	10	A*68	DWIMVL	222	2956	DWIMAL	299
	<i>APB</i>		:12	VLPK			VLPK	
	<i>STRA</i>	9	A*68	ISACKD	224	6671	ISACKD	39393
	<i>P</i>		:12	GKR			GKP	
4	<i>XPO1</i>	9	A*68	KTVVNK	253	25393	KTVVNK	18346
			:12	LFK			LFE	
	<i>HMGN</i>	9	A*68	NSAENG	258	141	NPAENG	3679

	2		:12	DAK			DAK	
	THOC	9	A*33	LWCRQP	297	915	LWRRQP	222
	6		:01	PYR			PYR	
	POLR	10	A*33	VQKIFH	308	17699	AQKIFH	738
	2A		:01	INPR			INPR	
	CDC2	10	A*33	QSYCEP	309	53	QSYCEP	398
	5A		:01	SSYR			PSYR	
	ALMS	9	A*68	SSSFSH	314	1496	SGSFSH	3554
	1		:12	REK			REK	
5	CDC2	9	A*68	SYCEPS	314	812	SYCEPP	597
	5A		:12	SYR			SYR	
	ALMS	10	A*33	TVPSSS	335	237	TVPSSS	378
	1		:01	FSHR			FSHR	
	THNS	9	A*68	TIESVQ	338	953	AIESVQ	3861
	L2		:12	GAK			GAK	
	POLR	9	B*35	MIWNVQ	393	541	MIWNAQ	294
	2A		:01	KIF			KIF	
	CDC2	9	B*35	QSYCEP	478	50000	QSYCEP	472
	5A		:01	SSY			PSY	
	DSCA	10	B*35	SSIRSF	480	9195	SSIRGF	391
	ML1		:01	VLQY			VLQY	

[00441] Foram testadas células T quanto a reatividade de neoantigênios expandindo-os usando células apresentando

antigênio autólogas (APCs) pulsadas com conjuntos de peptídeos de neoantigênios candidatos (uma vez por semana X 4 semanas). Como mostrado na FIG. 14B, foi detectada reatividade em um ensaio IFN- γ ELISPOT contra o Conjunto 2, mas não contra um peptídeo irrelevante (peptídeo de taxa). Desconvolução do conjunto revelou que os peptídeos mutados (mut) *ALMS1* e *C6orf89* dentro do Conjunto 2 eram imunogênicos. *ALMS1* desempenha um papel na função ciliar, quiescência celular e transporte intracelular, e mutações em este gene foram associadas com diabetes de tipo II. *C6orf89* codifica uma proteína que interage com receptor de bombesina subtipo-3 que está envolvida na progressão de ciclo celular e reparação de feridas de células do epitélio brônquico. Ambos os locais mutados não estavam em regiões conservadas do gene, e não estavam dentro de genes previamente reportados como sendo mutados em câncer. Ambos os peptídeos alvo estavam entre o subconjunto de 14 peptídeos previstos que podiam ser experimentalmente confirmadas como ligando alelos HLA do PT1. Os resultados de ligação experimental de mut e tipo selvagem (wt) *ALMS1* foram 91 e 666 nM, respectivamente; e de mut- e wt-*C6ORF89*, 131 e 1,7 nM, respectivamente (ver, por exemplo, FIG. 14C e Tabela 9). Ambos os genes mutados localizaram-se em regiões mal conservadas e não se localizaram em locais de mutação reportados anteriormente em cânceres (ver, por exemplo, FIGS. 15-16).

Exemplo 20: Paciente de CLL 2 exibiu imunidade contra um peptídeo FNDC3B mutado que é naturalmente processado

[00442] No Paciente 2, foi testada a capacidade de neoantigênicos pessoais de contribuir para respostas T de memória na definição de remissão de longa duração. Em este indivíduo, foram identificadas 26 mutações de sentido trocado não sinônimas. No total, foram previstos 37 peptídeos de 16 mutações como ligando-se a alelos HLA pessoais, dos quais 18 peptídeos de 12 mutações poderiam ser experimentalmente validados (15 com IC50 < 150; 3 com IC50 150-500 nM) (ver, por exemplo, a FIG. 17A). No Pt 2, foram estudados todos os 18 peptídeos de ligação HLA experimentalmente validados. Foram realizadas estimulações de célula T usando 3 conjuntos de 6 peptídeos/conjunto (ver, por exemplo, a Tabela 10). A Tabela 10 mostra um resumo de peptídeos de mutações de sentido trocado do Pt 2 que foram incluídos em conjuntos de peptídeos para estudos de estimulação de célula T. No Pt 2, foram usados todos os peptídeos que foram experimentalmente confirmados como ligando-se a alelos HLA -A e -B. 3 conjuntos de peptídeos com 6 peptídeos/conjunto listados em ordem decrescente de afinidade de ligação experimental de peptídeos mutados. Os peptídeos de tipo selvagem correspondentes e os seus resultados IC50 previstos são incluídos nas colunas da extrema direita.

Tabela 10

Conjunt	Gene	Comprimento	Alelo HLA	Peptídeo MUT			Peptídeo WT	
				Sequência	IC50 Previsão (nM)	IC50 Experimental (nM)	Sequência	IC50 Previsão (nM)
1	<i>NIN</i>	10	A*02:01	FLQEETL TQM	10.63	1.1	FLQEERL TQM	45
	<i>FNDC3B</i>	9	A*02:01	VVMSWAP PV	4.21	6.2	VVLSWAP PV	9
	<i>SLC46A1</i>	9	A*01:01	CSDSKLI GY	8.13	8.5	CWDSKLI GY	1778
	<i>SYT15</i>	9	B*08:01	EMLIKPK EL	414.37	8.9	EMLSKPK EL	785
	<i>F2R</i>	9	A*02:01	ILLMTVT SI	41.91	11	ILLMTVI SI	53
	<i>ACSM2A</i>	9	A*02:01	SLMEHWA LG	413.95	17	SLMEPWA LG	1313
2	<i>C16orf57</i>	9	B*08:01	LLRVHTE HV	443.97	28	LLRVHTE QV	498.35
	<i>ACSM2A</i>	10	A*02:01	SLMEHWA LGA	5.67	40	SLMEPWA LGA	9.8

	<i>TBC1D</i>	9	A*02	KMTFLFP	63.7	62	KMTFLFA	93
	<i>9B</i>		:01	NL			NL	
	<i>SF3B1</i>	9	A*02	GLVDEQQ	22.26	94	GLVDEQQ	51
			:01	EV			KV	
	<i>LRRC4</i>	10	A*02	ALPDPIL	28.18	107	ALPGPIL	99
	<i>1</i>		:01	QSI			QSI	
	<i>LRRC4</i>	9	A*02	GVWALPD	382.0	122	GVWALPG	963
	<i>1</i>		:01	PI	7		PI	
3	<i>FNDC3</i>	10	A*02	AVVMSWA	98.15	123	AVVLSWA	89
	<i>B</i>		:01	PPV			PPV	
	<i>F2R</i>	9	B*08	TSIDRFL	245.4	130	ISIDRFL	252
			0:1	AV	3		AV	
	<i>KIAA0</i>	9	B*07	GPSWGLS	179.3	137	GPSRGLS	39
	<i>467</i>		:02	LM	1		LM	
	<i>C16or</i>	9	A*02	LLRVHTE	454.2	175	LLRVHTE	433.0
	<i>f57</i>		:01	HV	3		QV	2
	<i>C22or</i>	10	A*02	WVNCSSM	302.9	274	WVNRSSM	835
	<i>f28</i>		:01	TFL	4		TFL	
	<i>FNDC3</i>	10	A*02	VMSWAPP	37.77	378	VLSWAPP	48
	<i>B</i>		:01	VGL			VGL	

[00443] Peptídeos com resultados de ligação experimentais semelhantes foram combinados dentro do mesmo conjunto. As respostas foram avaliadas após 2 rondas de

estímulos semanais de células T contra APCs autólogos pulsados por conjunto de peptídeos mutados e descobriu-se que as células T são reativas contra o Conjunto 1, como mostrado na FIG. 17B. Desconvolução do conjunto revelou mut-*FNDC3B* como sendo o peptídeo imunogênico dominante entre outros dentro deste conjunto (IC50 experimental de mut- e wt-*FNDC3B* foram 6,2 e 2,7 nM, respectivamente; ver, por exemplo, a FIG. 17C). A função de *FNDC3B* em malignidades do sangue não é clara, apesar da regulação para baixo da expressão de *FNDC3B* ser conhecida como regulando para cima a expressão de *miR-143*, o que foi demonstrado que diferencia células-tronco do câncer da próstata e promove a metástase do câncer da próstata. De forma semelhante a *ALMS1* e *C6orf89*, a mutação em *FNDC3B* nem se localizou em regiões conservadas evolucionárias nem foi previamente reportada em outros cânceres (ver, por exemplo, as FIGS. 15 e 16).

[00444] A reatividade de célula T contra mut-*FNDC3B* foi polifuncional (segregando GM-CSF, IFN- γ e IL-2), e específica do peptídeo mut-*FNDC3B* mas não do seu homólogo de tipo selvagem. Testar a reatividade de célula T contra diferentes concentrações de peptídeos mut- e wt-*FNDC3B* revelou uma elevada avidéz e especificidade de células T reativas a mut-*FNDC3B*. A reatividade de célula T foi anulada pela presença de anticorpos de bloqueio de classe I (W6/32), indicando que a reatividade de célula T foi limitada a classe

I (ver, por exemplo, FIGS. 17D-E). Além disso, o peptídeo mut-*FNDC3B* pareceu ser um peptídeo naturalmente processado e apresentado uma vez que a reatividade de célula T foi detectada contra APCs expressando HLA-A2 que foram transfectadas com um minigene de 300 pares de base abrangendo a região de mutação de genes, mas não o minigene de tipo selvagem, como mostrado na FIG. 17E, painel direito.

[00445] Usando um tetrâmero específico de mut-*FNDC3B*/A2⁺, foi detectada uma população discreta de células T CD8⁺ reativas a mut-*FNDC3B* dentro de células T estimuladas pelo Conjunto 1 (2,42% da população) em comparação com PBMCs de controle de um voluntário adulto saudável com HLA-A2⁺ (0,38%), como mostrado na FIG. 17F. Análise de expressão de genes de *FNDC3B* em um grande conjunto de dados de 182 casos de CLL (incluindo Pt 2) e 24 células B CD19⁺ colhidas de voluntários normais revelou que este gene é relativamente sobreexpressado no Paciente 2 em comparação com outros CLLs e células B normais, como mostrado na FIG. 17G. Em conformidade, é claro que células T específicas de neoantigênio de longa vida puderam ser rastreadas no Paciente 2 com CLL.

[00446] Para definir a cinética de células T específicas de mut-*FNDC3B* em relação ao curso pós-HSCT, as células T do Pt2 isoladas de diferentes pontos temporais antes e após HSCT foram estimuladas por 2 semanas e depois

testadas quanto a reatividade de IFN- γ em ELISPOT. O surgimento de células T específicas de mut-*FNDC3B* coincidiu com remissão molecular e foi mantido ao longo do tempo com remissão contínua. Como mostrado na FIG. 18 (painel superior e intermédio), não foram detectadas respostas de células T mut-*FNDC3B* antes ou até 3 meses após HSCT. Remissão molecular foi primeiro alcançada 4 meses a seguir a HSCT, e células T específicas de mut-*FNDC3B* foram então detectadas primeiro 6 meses após HSCT. A reatividade específica de antígeno diminuiu subsequentemente (entre 12 e 20 meses após HSCT), mas foi novamente fortemente detectada 32 meses após HSCT. Com base na análise molecular do TCR das células T específicas de mut-*FNDC3B*, V β 11 foi identificado como a subfamília CDR3 V β predominante usada pelas células T reativas, como mostrado na FIG. 19 e Tabela 11). A Tabela 11 mostra iniciadores usados para amplificação da subfamília de TCR V β .

Tabela 11

Nome	Sequência iniciadora direta (5' - 3')	Tamanho do amplicon (bp)
V β 1	GCACAACAGTTCCTGACTTGCAC	346
V β 2	TCATCAACCATGCAAGCCTGACCT	349

Vβ3	GTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGC	346
Vβ4	ACATATGAGAGTGGATTTGTCATT	378
Vβ5.1	ATACTTCAGTGAGACACAGAGAAAC	396
Vβ5.2	TTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTG	343
Vβ6	AGGCCTGAGGGATCCGTCTC	340
Vβ7	CCTGAATGCCCAACAGCTCTC	347
Vβ8	ATTTACTTTAACAACAACGTTCCG	404
Vβ9	CCTAAATCTCCAGACAAAGCTCAC	348
Vβ10	CCACGGAGTCAGGGGACACAGCAC	313
Vβ11	TCCAACCTGCAAAGCTTGAGGACT	312
Vβ12	CATGGGCTGAGGCTGATC	417
Vβ13.1	CAAGGAGAAGTCCCAAT	372
Vβ13.2	GGTGAGGGTACAACCTGCC	390
Vβ14	GTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAAT	349
Vβ15	AGTGTCTCTCGACAGGCACAGGCT	352
Vβ16	AAAGAGTCTAAACAGGATGAGTCC	395
Vβ17	GGAGATATAGCTGAAGGGTA	372
Vβ18	GATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA	380
Vβ19	TCCTCTCACTGTGACATCGGCCCA	322
Vβ20	AGCTCTGAGGTGCCCCAGAATCTC	370
Vβ22	AAGTGATCTTGCGCTGTGTCCCA	490
Vβ23	AGGACCCCCAGTTCCTCATTTTC	435

Vβ24	CCCAGTTTGGAAAGCCAGTGACCC	509
Vβ25	TCAACAGTCTCCAGAATAAGGACG	352
Nome	Sequência iniciadora reversa (5'-3')	
Cβ externo	GACAGCGGAAGTGGTTGCGGGGT	
Cβ interno	FAM-CGGGCTGCTCCTTGAGGGGCTGCG	

[00447] Esta informação molecular foi usada para desenvolver um ensaio PCR agrupado específico de clone. Ao aplicar este ensaio, foi observado que células T com a mesma especificidade para mut-*FNDC3B* não foram detectadas em PBMCs (n=3) e células T CD8⁺ de voluntários saudáveis normais (ver, por exemplo, a Tabela 12), mas puderam ser detectadas com cinética semelhante como detecção de secreção de IFN-γ após HSCT no paciente, como mostrado na FIG. 18, painel inferior. Apesar dos números relativos de células T específicas de clone terem declinado ao longo do tempo, concentrações inferiores de antigênio de peptídeo puderam estimular reatividade de célula T aos 32 meses em comparação com 6 meses pós HSCT, indicando o surgimento de células T de memória potencialmente mais sensíveis a antigênio ao longo do tempo (ver, por exemplo, FIG. 18, inserto).

[00448] A Tabela 12 mostra detecção de TCR $V\beta 11$ específico de mut-*FNDC3B*, usando iniciadores específicos de receptor de célula T no Pt 2. Um ensaio PCR de tempo real foi concebido para detectar o clone TCR $V\beta 11$ específico de mut-*FNDC3B*. Este clone não foi detectado em PBMCs (n=3) ou células T CD8 de dador saudável, mas foi claramente detectável em cDNA de células T reativas a mut-*FNDC3B* de Pt 2 (6 meses após HSCT). Os produtos PCR foram normalizados por RNA ribossômico 18S. -, negativo: sem amplificação; +, positivo: amplificação detectada; ++, duplo positivo: amplificação detectada e nível de amplificação é mais do que o nível mediano de todas as amostras positivas.

Tabela 12

<i>cDNA</i>	<i>PCR específico de clone $V\beta 11$</i>	<i>RNA ribossômico 18s</i>
Clone de Célula T	++	+
PBMCs de dador saudável (n=3)	-	+
Células T CD8 dador saudável	-	+

Exemplo 21: Foi previsto um grande número de neoantígenos candidatos em diversos cânceres

[00449] A taxa de mutação somática global de CLL é

semelhante a outras malignidades do sangue, mas baixa em comparação com malignidades tumorais sólidas (ver, por exemplo, a FIG. 20A). Para examinar como o tipo de tumor e taxa de mutação impacta a abundância e qualidade de neoantigênios candidatos, o pipeline foi aplicado a dados WES disponíveis publicamente de 13 malignidades - incluindo cânceres elevados (melanoma (MEL)), carcinoma das células escamosas (LUSC) e adenocarcinoma (LUAD), câncer da cabeça e pescoço (HNC), câncer da bexiga, adenocarcinoma do cólon e reto, médios (glioblastoma (GBM), dos ovários, carcinoma das células renais claras (RCC de células claras), e câncer da mama) e baixos (CLL e leucemia mielóide aguda (AML)). Para realizar esta análise, um algoritmo recentemente descrito que permite inferência de tipagem de HLA dos dados WES foi também implementado (Liu et al. 2013).

[00450] A taxa de mutação global em estas malignidades sólidas foi de uma ordem de magnitude maior do que CLL e foi associada com um número mediano aumentado de mutações de sentido trocado. Por exemplo, o melanoma apresentou uma mediana de 300 (gama, 34-4276) mutações de sentido trocado por caso, enquanto RCC teve 41 (gama, 10-101), respectivamente. Mutações de deslocamento de quadro de leitura e de local de união em RCC e melanoma foram aumentadas em apenas 2-3 vezes em frequência em comparação com CLL e o comprimento somado de neoORF por amostra foi

aumentado apenas moderadamente (em 5-13 vezes). No global, o número mediano de neopeptídeos previstos com IC50 < 500 nM gerados de eventos de sentido trocado e de deslocamento de quadro de leitura por amostra foi proporcional à taxa de mutação; esta foi aproximadamente 20- e 4- vezes superior para melanoma (488; gama, 18-5811) e RCC (80; gama, 6-407)), respectivamente, em comparação com CLL (24; gama 2-124). Com um limiar mais estrigente de IC50 < 150 nM, os números correspondentes de neopeptídeos previstos foram 212, 35 e 10 para o melanoma, RCC e CLL, respectivamente, como mostrado na FIG. 20B e Tabela 13).

[00451] A Tabela 13 mostra a distribuição de classes de mutação, tamanhos somados de neoORF e número de peptídeos de ligação previstos em 13 cânceres. MEL:melanoma, LUSC: carcinoma das células escamosas do pulmão, LUAD: adenocarcinoma pulmonar, BLCA: câncer da bexiga, HNSC: câncer da cabeça e pescoço, COAD: adenocarcinoma do cólon, READ: adenocarcinoma renal, GBM: glioblastoma, OV: ovários, RCC: carcinoma das células renais claras, BRCA: mama, CLL: leucemia linfóide crônica, AML: leucemia mielóide aguda. *- número previsto de peptídeos com base em mutações de sentido trocado e por deslocamento de quadro de leitura.

Tabela 13

Tipo de	# de mutações/amostra	Comprimento	# de mediana de
---------	-----------------------	-------------	-----------------

câncer	mediana (gama)			somado de neoORF/amostras a	peptídeos previstos (gama) *	
	De sentido trocado	Desloc amento de quadro de leitura	Local de união		IC50 < 150 (nM)	IC50 150-500 (nM)
MEL	300 (34- 4276)	2 (0- 16)	4 (0- 101)	48 (0-425)	212 (10- 2566)	488 (18- 5811)
LUSC	212 (0- 2397)	3 (0- 28)	5 (0- 37)	86.5 (0-975)	149.5 (0-1320)	351.5 (0- 2946)
LUAD	172.5 (0- 8971)	7 (0- 61)	5 (0- 127)	173.5 (0- 2137)	122 (0- 6999)	269.5 (1- 16360)
BLCA	161.5 (28-1194)	6 (0- 22)	4 (0- 22)	152 (0-780)	97 19- 1073)	232.5 (59- 2337)
HNSC	95 (2- 1194)	5 (0- 22)	2 (0- 22)	124.5 (0- 780)	66.5 (2- 1073)	159.5 (59- 2337)

	1400)	106)	29)	2585)	1139)	(3- 2916)
COAD	93 (32- 5902)	4 (1- 182)	0 (0- 96)	121 (9-4794)	68 (15- 2155)	172 (40- 5199)
READ	72.5 (37- 1837)	2 (0- 31)	0 (0- 2)	51 (0-929)	52 (14- 1215)	114 (38- 2750)
GBM	47 (0- 169)	2 (0- 16)	1 (0- 5)	47 (0-539)	39 (0- 166)	90 (0- 332)
OV	42 (9- 149)	1 (0- 7)	1 (0- 6)	7.5 (0-328)	30 (3- 181)	70 (13- 420)
RCC	41 (10- 101)	6 (0- 22)	1 (0-8)	143 (0-813)	35 (2- 223)	80 (6- 407)
BRCA	25 (1- 300)	2 (0- 54)	1 (0- 8)	37 (0-1415)	21 (0- 346)	47 (0- 781)
CLL	16 (0- 75)	1 (0- 9)	1 (0- 6)	11 (0-427)	10 (0- 50)	24 (2- 124)
AML	7 (0-20)	1 (0- 2)	0 (0- 3)	6 (0-160)	4 (0-19)	8 (0- 41)

* Refere-se apenas a epítomos previstos surgindo de mutações de sentido trocado.

Exemplo 22: Estratégias clínicas para tratar mutações

clonais

[00452] Mutações "clonais" são aquelas encontradas em todas as células cancerígenas dentro de um tumor, enquanto mutações "subclonais" são aquelas que estatisticamente não estão em todas as células cancerígenas e como tal derivam de uma subpopulação dentro do tumor.

[00453] De acordo com as técnicas aqui apresentadas, pode ser usada análise bioinformática para estimar a clonalidade de mutações. Por exemplo, o algoritmo ABSOLUTE (Carter et al, 2012, Landau et al, 2013) pode ser usado para estimar pureza de tumor, ploidia, números de cópia absolutos e clonalidade de mutações. Distribuições da densidade da probabilidade de frações alélicas de cada mutação poderão ser geradas seguidas de conversão para frações de células de câncer (CCFs) das mutações. As mutações poderão ser classificadas como clonais ou subclonais com base em se a probabilidade posterior do seu CCF exceder 0,95 é maior ou menor do que 0,5, respectivamente.

[00454] É contemplado dentro do escopo da revelação que uma vacina de neoantigênios pode incluir peptídeos para mutações clonais, subclonais ou ambos os tipos de mutações. A decisão pode depender do estágio da doença do paciente e da ou das amostras de tumor sequenciadas. Para um estudo clínico inicial na configuração de adjuvante, poderá não ser necessário distinguir entre os dois tipos de mutações durante

a seleção de peptídeos; contudo, um perito na técnica apreciará que tal informação poderá ser útil na orientação de futuros estudos por várias razões.

[00455] Primeiro, células tumorais do paciente podem ser geneticamente heterogêneas. Múltiplos estudos foram publicados nos quais tumores representando diferentes estágios da progressão da doença foram avaliados quanto a heterogeneidade. Estes incluem examinar a evolução de uma doença pré-maligna (síndrome mielodisplásico) para leucemia (leucemia mielóide aguda secundária [AML]) (Walter et al 2012), recaída após remissão induzida por terapia de AML (Ding et al 2012), evolução de câncer de mama e meduloblastomas de primários a metastáticos (Ding et al 2012; Wu et al Nature 2012), e evolução de cânceres do pâncreas e dos rins de primários a altamente metastáticos (Yachida et al 2012; Gerlinger et al 2012). A maior parte dos estudos utilizou sequenciação de genoma ou exoma, mas um estudo também avaliou variações do número de cópias e variações de padrão de metilação CpG. Estes estudos mostraram que os eventos genéticos são adquiridos durante crescimento celular do câncer que altera o perfil de mutações. Muitas, e normalmente a maior parte (40% - 90%) das mutações mais precocemente detectáveis ("mutações fundadoras") persistem em todas as variantes evoluídas, mas surgem novas mutações únicas para clones evoluídos e estas podem ser distintas

entre diferentes clones evoluídos. Estas alterações podem ser motivadas por pressões "ambientais" de célula hospedeiro/câncer e/ou intervenção terapêutica e assim, doença metastática mais elevada ou intervenção terapêutica anterior geralmente conduzem a heterogeneidade mais significativa.

[00456] Segundo, é contemplado que um tumor único para cada paciente pode ser inicialmente sequenciado, o que pode providenciar um retrato do perfil de variação genética para esse ponto temporal particular. O tumor sequenciado pode ser derivado de um linfonodo clinicamente evidente, metástase em trânsito/satélite ou metástase visceral ressectável. Nenhum dos pacientes inicialmente testados terá doença que tenha progredido clinicamente para locais múltiplos; contudo, é contemplado que as técnicas aqui descritas serão amplamente aplicáveis a pacientes com câncer que progrediu para locais múltiplos. Dentro desta população de células tumorais, "mutações clonais" podem consistir de mutações fundadoras e quaisquer novas mutações presentes na célula que semeou o tumor ressectado e mutações subclonais representam as que evoluíram durante o crescimento do tumor ressectado.

[00457] Terceiro, as células tumorais clinicamente importantes para as células T induzidas por vacina selecionarem como alvo são frequentemente não as células de

tumor ressectadas mas sim outras células de tumor indetectáveis dentro de um determinado paciente. Estas células podem ter-se disseminado diretamente desde o tumor primário ou desde o tumor ressectado, podem ter derivado de uma população dominante ou subdominante dentro do tumor de inoculação e podem ter evoluído geneticamente adicionalmente no local ressectado cirurgicamente. Estes eventos são atualmente imprevisíveis.

[00458] Assim, para a configuração do adjuvante ressectado cirurgicamente não há maneira *a priori* para decidir se as mutações encontradas no tumor ressectado que são clonais ou subclonais representam a escolha ótima para tratar outras células cancerígenas não ressectadas. Por exemplo, mutações que são subclonais dentro do tumor ressectado podem ser clonais em outros locais se esses outros locais foram semeados de uma subpopulação de células contendo a mutação subclonal dentro do tumor ressectado.

[00459] Em outras configurações de doenças, contudo, tais como configurações nas quais pacientes possuem lesões múltiplas e metastáticas, sequenciação de mais do que uma lesão (ou partes de lesão) ou lesões de diferentes pontos temporais podem providenciar mais informação relativa a seleção de peptídeos eficaz. Mutações clonais podem tipicamente ser priorizadas no desenho de epítomos de neo-antígenos para a vacina. Em alguns casos, especialmente à

medida que o tumor evolui e detalhes de sequenciação de lesões metastáticas são avaliados para um paciente individual, certas mutações subclonais podem ser priorizadas para consideração como parte da seleção de peptídeo.

Exemplo 23: Vacinas personalizadas contra câncer estimulam imunidade contra neoantígenos tumorais

[00460] A integração detalhada acima descrita de bioinformática abrangente com dados funcionais em CLL e outros cânceres providencia várias novas percepções biológicas. Primeiro, apesar de CLL ser um câncer de taxa de mutação relativamente baixa, foi não obstante possível identificar epítomos gerados por mutações somáticas que obtêm respostas de células T de longo prazo. Dados de sequenciação de exoma completo de 31 amostras de CLL revelou que, por caso, uma mediana de 22 peptídeos (gama, 6-81) foram previstos ligarem-se a alelos pessoais HLA A e B com $IC_{50} < 500$ nM originando de uma mediana de 16 (gama, 2-75) mutações de sentido trocado. Aproximadamente 75% e metade (54,5%) de peptídeos previstos com $IC_{50} < 150$ nM e 500 nM, respectivamente, foram experimentalmente validados para ligar aos alelos HLA do paciente. Análise de expressão RNA mostrou que aproximadamente 90% dos genes cognatos correspondendo aos peptídeos mutados previstos foram confirmados como sendo expressos em células CLL e expressão de um transcrito dos alelos mutados foi detectada em cada um

dos três exemplos testados (dados não apresentados). Apenas uma fração de todos os neoepítomos geraram uma resposta de célula T espontânea, apesar de esta resposta ainda ter sido detectável anos após o transplante; ~6% (3/48) de todos os peptídeos mutados previstos e testados ou 9% (3/32) de peptídeos mutados experimentalmente validados e testados estimularam respostas de secreção de IFN- γ em células T de pacientes. Esta taxa de descoberta de neoepítomo em CLL, um tumor de baixa taxa de mutação, é notavelmente semelhante às taxas recentemente reportadas no melanoma (4,5%, ou 11/247 peptídeos; Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, et al: Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. Nat Med, 2013), um câncer de alta taxa de mutação. Como tal, neoepítomos funcionais podem ser sistematicamente descobertos em todas a ampla gama de cânceres, incluindo tumores de baixa taxa de mutação.

[00461] Uma segunda descoberta-chave é que as respostas de célula t contra neoepítomos CLL foram de vida longa (na ordem de vários anos), associadas a remissão contínua de doença e foram geradas durante estimulação *in vitro* em um espaço de tempo consistente com respostas de célula T de memória. Estes estudos reforçam a ideia crescente na literatura de que as respostas contra neoantigênios tumorais contribuem para respostas imunitárias eficazes.

Assim, apesar de aproximadamente 5% de peptídeos previstos gerados de mutações de sentido trocado originarem respostas de célula T detectáveis, a cinética da resposta sugere um possível papel em funções continuadas de vigilância anti-leucemia. O impacto funcional de respostas de célula T direcionadas a neoantígenos é suportado por um recente estudo de Castle et al. (Castle JC, Kreiter S, Diekmann J, et al: Exploiting the mutanome for tumor vaccination. Cancer Res 72:1081-1091, 2012) que identificou neoepítomos candidatos por WES de melanoma de murino B16 e previsão de aglutinantes de alelo peptídeo-HLA. Um subconjunto destes epítomos previstos não apenas obteve respostas imunitárias que eram específicas do peptídeo mutado e não do homólogo de tipo selvagem, como também conseguiu controlar a doença terapêutica e profilaticamente. Apesar de ter sido difícil comparar diretamente as contribuições relativas de neoantígenos tumorais versus outros tipos de antígenos CLL como antígenos nativos sobreexpressos partilhados (em contraste com o melanoma, os antígenos tumorais de CLL não estão bem caracterizados) ou com a resposta GvL, uma caracterização anterior de repostas de célula T específicas de antígeno de um paciente com melanoma com sobrevivência prolongada sugere que a imunidade anti-neoantigênica é mais prolongada e sustentada ao longo do tempo do que a de antígenos tumorais sobreexpressos partilhados.

[00462] Terceiro, estes resultados destacam o conceito de que tomar como alvo mutações "trunk" específicas de tumor pode ter impacto do ponto de vista imunológico. Todos os três neoantigênios imunogênicos (*FND3CB*, *ALMS1*, *C6orf89* mutados) nos dois pacientes pareceram ser mutações passageiras, não diretamente contribuindo para o processo oncogênico, e foram clonais, afetando grande parte da massa cancerígena. Várias características destas mutações imunogênicas sugerem que são mutações passageiras: falta de conservação de sequência em volta da mutação e falta de mutações reportadas anteriormente em outros cânceres nos locais observados. Uma vez que a evolução clonal é uma característica fundamental do câncer, foi postulado que o direcionamento imunológico de atuadores de câncer teria a vantagem de uma deriva antigênica mínima, dada a sua essencialidade na função tumoral que exigiria que fossem mantidos face a pressão seletiva. Apesar de uma tal vantagem ser possível, não é aparentemente um requisito. Adicionalmente, as mutações de atuador podem não gerar necessariamente peptídeos imunogênicos. Por exemplo, a mutação *TP53-S83R* no Paciente 2 não gerou um epítipo previsto de < 500 nM contra qualquer um dos seus alelos HLA-A ou -B de classe I.

[00463] Por fim, a análise das características de ligação dos dados de neoantigênios da literatura (Tabela 4),

bem como dos neoepítomos candidatos dos dados em CLL revelou percepções conceptuais quanto aos tipos de mutação pontual mais prováveis de criar eficazmente uma resposta de célula T. Foi descoberto que uma característica consistente de neoepítomos imunogênicos foi uma afinidade de ligação prevista < 500 nM (3 de 3 de peptídeos CLL imunogênicos e 30 de 33 [91%] dos neoepítomos funcionais históricos) e a maioria destes (92%) apresentou afinidades previstas < 150 nM. Contudo, inesperadamente, na maior parte dos casos (3 de 3 peptídeos CLL imunogênicos e 27 de 33 [82%] epítomos funcionais históricos), os epítomos de tipo selvagem correspondentes foram também previstos ligarem-se com afinidade comparável forte/intermédia (< 150 nM, Grupo 1 na Tabela 4) ou fraca (150 - 500 nM, Grupo 2 na Tabela 4). Os dados corroboram a ideia de que dois tipos de mutações são comumente observados entre respostas de célula T ocorrendo naturalmente a neoantigênicos: (1) mutações nas posições que conduzem a ligação substancialmente melhor ao alelo MHC (*ALMS1* mutado bem como 6 de 33 (18%) dos neoepítomos históricos identificados funcionalmente ['Grupo 3', Tabela 4]), presumivelmente devido a interação melhorada com MHC, ou (2) mutação em posições que não interagem significativamente com MHC mas em vez disso presumivelmente alteram a ligação do receptor de célula T ((2 de 3 epítomos CLL [*FNDC3B* e *C6orf89*] e 24 de 33 (73%) neoepítomos

naturalmente imunogênicos ['Grupo 1' e 'Grupo 2', Tabela 4]). A distinção entre estes dois tipos de mutações enquadra-se no conceito de que o peptídeo pode ser considerado uma "chave" que deve encaixar tanto nos "cadeados" MHC como TCR de forma a estimular citólise, permitindo que as mutações variem independentemente a ligação a MHC ou a TCR. Excetuando a contribuição de antigênios de histocompatibilidade menor para doença do enxerto vs hospedeiro, não há relatos de sequelas auto-imunitárias ligadas a neoantigênios em estes pacientes, mesmo nos pacientes onde ocorre uma reação a um peptídeo mutado e o peptídeo nativo cognato é previsto como sendo um aglutinante firme. Este resultado é consistente com a ideia de que peptídeos de ligação MHC estão normalmente envolvidos no processo de seleção negativa no qual TCRs possuindo células T reativas a estes peptídeos nativos são timicamente deletados ou tornados anérgicos, e contudo o repertório de célula T pode acomodar o desenvolvimento de uma resposta imunitária específica a um peptídeo de neoepítipo devido a uma apresentação alterada do peptídeo mutado ao receptor de célula T. É claro que cada tumor individual em um paciente pode abrigar um amplo espectro de alterações genéticas partilhadas e pessoais que podem continuar a evoluir em resposta ao ambiente, e que esta progressão pode frequentemente conduzir a resistência à terapia. Dada a

singularidade e plasticidade dos tumores, uma terapia ideal pode ter de ser personalizada com base nas mutações exatas presentes em cada tumor e pode ter de ter como alvo múltiplos nodos para evitar resistência. O vasto repertório de CTLs humanos tem o potencial de criar uma tal terapia que toma como alvo múltiplos antigênios tumorais personalizados. Como discutido acima, a presente revelação mostra que é possível identificar sistematicamente antigênio alvo CTL abrigando mutações específicas de tumor através da utilização de sequenciação paralela em massa em combinação com algoritmos que prevêm eficazmente peptídeos de ligação HLA. De forma vantajosa, a presente revelação permite que neoantigênios tumorais de uma variedade de cânceres de taxas de mutação alta e baixa sejam previstos e identifica experimentalmente CTLs de vida longa que tomam como alvo neoantigênios de leucemia em pacientes com CLL. A presente revelação corrobora a existência de neoantigênios tumorais direcionados a imunidade protetora e providencia um método para selecionar neoantigênios para vacinas personalizadas contra tumor.

[00464] Como discutido em detalhe em cima, as técnicas aqui descritas foram aplicadas a um grupo único de pacientes CLL que desenvolveram remissão durável clinicamente evidente associada a respostas imunitárias anti-tumorais após HSCT alogênico. Estas respostas enxerto versus leucemia têm sido tipicamente atribuídas a respostas

imunitárias alo-reativas direcionadas a células hematopoiéticas. Contudo, os resultados acima descritos indicam que a resposta GvL também está associada a CTLs que reconhecem neoantigênios de leucemia pessoais. Estes resultados são consistentes com dados indicando a existência de CTLs associados a GvL com especificidade para tumor, em vez de alo-antigênios. Foi postulado que CTLs reativos a neoantigênios são importantes na vigilância de câncer dado que o estudo de um sobrevivente de melanoma de longo prazo descobriu que neoantigênicos direcionados a CTLs são significativamente mais abundantes e sustentados do que os contra antigênios tumorais sobreexpressos não mutados (Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, et al: The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. Proc Natl Acad Sci USA 102, 16013-8 (2005). Os dados apresentados acima são consistentes com este estudo de melanoma porque se descobriu que as respostas de célula T específicas de neoantigênios em pacientes com CLL são células de memória de vida longa (na ordem de vários anos) (com base na sua cinética de estimulação rápida *in vitro*) e associadas a remissão contínua de doença. Em conformidade, CTLs reativos a neoantigênios desempenham potencialmente um papel ativo no controle de leucemia em pacientes de CLL transplantados.

[00465] Mais geralmente, a abundância de

neoantigênios em muitos tumores foi estimada e descoberta como sendo ~1,5 peptídeos de ligação HLA com $IC_{50} < 500$ nM por mutação pontual e ~4 peptídeos de ligação por mutação por deslocamento de quadro de leitura. Como esperado, a taxa de peptídeos de ligação HLA previstos espelhou a taxa de mutação somática por tipo de tumor (ver, por exemplo, a FIG. 20). Foram usadas duas abordagens para estudar a relação entre afinidade de ligação prevista e neoantigênios imunogênicos que induzem CTLs. As técnicas acima descritas foram aplicadas a neoantigênios tumorais imunogênicos publicados (ou seja, nos quais CTLs reativos foram observados em pacientes) e demonstraram que a vasta maioria (91%) de neoantigênios funcionais são previstos como ligando HLA com $IC_{50} < 500$ nM (com ~70% de epítomos homólogos de tipo selvagem previstos como ligando a uma afinidade semelhante) (ver, por exemplo, Tabela 4). Este teste usou um conjunto de neoantigênios de padrão de ouro e confirmou que as técnicas aqui descritas classificam corretamente positivos verdadeiros. Uma previsão prospectiva de neoepítomos seguida de validação funcional mostrou que 6% (3/48) de epítomos previstos foram associados com respostas de células T específicas de neoantigênios em pacientes -- comparável à taxa de 4,8% descoberta recentemente para melanoma. A baixa proporção não implica necessariamente baixa precisão de previsão para o algoritmo. Em vez disso, o número de verdadeiros neoantigênios é

grandemente subestimado porque: (i) alo-HSCT é uma terapia celular geral que provavelmente induz apenas um pequeno número de clones de memória de células T específicas de neoantigênio; e (ii) métodos de expansão celular de célula T padronizados não são suficientemente sensíveis para detectar células T ingênuas que representam uma parte muito maior do repertório mas com frequências de precursor muito inferiores. Apesar da frequência de CTLs que têm como alvo neoORFs ainda ter de ser medida, é especificamente contemplado dentro do escopo da invenção que esta classe de neoantigênios pode ser um excelente neoepítipo candidato porque é provável que seja mais específico (por falta de um homólogo de tipo selvagem) e imunogênico (em virtude de ultrapassar a tolerância tímica).

[00466] Com o desenvolvimento contínuo de reagentes de vacinação altamente potente, a presente revelação providencia técnicas que tornam possível a geração de vacinas personalizadas contra o câncer que efetivamente estimulam imunidade contra neoantigênios tumorais.

MATERIAIS E MÉTODOS

[00467] **Amostras de paciente:** Sangue heparinizado foi obtido de pacientes envolvidos em protocolos de investigação clínica no Dana-Farber Cancer Institute (DFCI). Todos os protocolos clínicos foram aprovados pelo Human Subjects Protection Committee da DFCI (Comité de Proteção de

Participantes Humanos). Células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de amostras de doentes foram isoladas por centrifugação de gradiente de densidade Ficoll/Hypaque, criopreservadas com 10% de DMSO e armazenadas em nitrogênio líquido de fase vapor até ao momento de análise. Para um subconjunto de pacientes, foi realizada tipagem HLA por tipagem molecular ou serológica (Tissue Typing Laboratory, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA).

[00468] **Dados de sequenciação de exoma total para CLL e outros cânceres:** A lista para melanoma foi obtida de um banco de dados dbGaP (phs000452.v1.p1) e para os outros 11 cânceres, através de TCGA (disponível através de recursos Sage Bionetworks' Synapse (na worldwide web em (www)synapse.org/#!Synapse:syn1729383)). As amostras de locais HLA-A, HLA-B e HLA-C em 2488 amostras em estes 13 tipos de tumor foram sequenciadas usando uma abordagem com base na probabilidade de duas etapas e os primeiros dados são resumidos na Tabela 14. Resumidamente, foi construída uma biblioteca de sequências dedicada consistindo de todos os alelos HLA conhecidos (6597 entradas únicas), com base na base de dados IMGT. A partir deste recurso, foi gerada uma segunda biblioteca de 38-mers, e foram extraídas leituras putativas emanando do local HLA das leituras de sequências totais com base em correspondências perfeitas contra elas. As leituras extraídas foram então alinhadas com a biblioteca

de sequências HLA de base IMT usando o software Novoalign (na worldwide web em (www)novocraft.com), e alelos HLA foram inferidos através de um cálculo de probabilidade de duas etapas. Na primeira etapa, foram usadas frequências com base na população como *a priori* para cada alelo e as probabilidades posteriores foram calculadas com base na qualidade e distribuições de tamanho de inserto de leituras alinhadas. Alelos com as maiores probabilidades para cada um dos genes HLA-A, B e C foram identificados como o primeiro conjunto de alelos. Uma estratégia de ponderação heurística das probabilidades computadas em conjunto com primeiro conjunto de vencedores foram então usados para identificar o segundo conjunto de alelos.

[00469] A Tabela 14 mostra IDs de paciente de TCGA para estimativas de carga neoantigênica em cânceres. LUSC (carcinoma das células escamosas do pulmão), LUAD (adenocarcinoma pulmonar), BLCA (bexiga), HNSC (cabeça e pescoço), COAD (côlon) e READ (reto), GBM (glioblastoma), OV (ovários), RCC (carcinoma das células renais claras), AML (leucemia mielóide aguda) e BRCA (mama),

Tabela 14

Códigos de barra TCGA	Doença	UUID
TCGA-BL-A0C8-01A-11D-A10S-08	BLCA	134b0a5e-a0ba-444d-bc4b-bdceb02d5b04

TCGA-BL-A13I-01A-11D-A13W-08	BLCA	aa490522-7bb9-4f82-8f19-eaf63f719bfe
TCGA-BL-A13J-01A-11D-A10S-08	BLCA	0c7aca3f-e006-4de3-afc2-20b4f727d4fd
TCGA-BL-A3JM-01A-12D-A21A-08	BLCA	b181ba68-f50f-4faf-b7b5-356e119b5f04
TCGA-BT-A0S7-01A-11D-A10S-08	BLCA	b2e5d244-94c1-4dbf-8d33-34b595903310
TCGA-BT-A0YX-01A-11D-A10S-08	BLCA	d61ccd8c-b798-46e0-aeed-f95b4f3ba4ff
TCGA-BT-A20J-01A-11D-A14W-08	BLCA	1d3c0ff9-d149-4d21-8955-5fb849fc5462
TCGA-BT-A20N-01A-11D-A14W-08	BLCA	341bbffe-7587-4ad0-b3b4-68e64080e216
TCGA-BT-A20O-01A-21D-A14W-08	BLCA	7df63263-de4e-4ed8-804f-9e8fee3be2d5
TCGA-BT-A20P-01A-11D-A14W-08	BLCA	e6c78a98-f45b-482b-a551-4f11b8c1ff8b
TCGA-BT-A20Q-01A-11D-A14W-08	BLCA	8c619cbc-9e91-4716-9711-5236e55d8f46
TCGA-BT-A20R-01A-12D-A16O-08	BLCA	e9bbbfc3-0beb-4f91-92a1-081bff7c4a07
TCGA-BT-A20T-01A-11D-A14W-08	BLCA	301d6ce3-4099-4c1d-8e50-c04b7ce91450
TCGA-BT-A20U-01A-11D-A14W-08	BLCA	4576527b-b288-4f50-a9ea-5d5dede22561
TCGA-BT-A20V-01A-11D-A14W-08	BLCA	973d0577-8ca4-44a1-817f-1d3c1bada151

TCGA-BT-A20W-01A-21D-A14W-08	BLCA	85ccdf9b-f787-4701-822f-ae0fce5b4fc5
TCGA-BT-A20X-01A-11D-A160-08	BLCA	9b4586ee-4091-484f-8be8-5a5196fe7b6f
TCGA-BT-A2LB-01A-11D-A18F-08	BLCA	e7aea186-f13b-43b1-8693-f90f51e005dd
TCGA-BT-A2LD-01A-12D-A20D-08	BLCA	cc95719c-7fcc-4ed7-837e-1840c0a6bc27
TCGA-BT-A3PH-01A-11D-A21Z-08	BLCA	cdala403-16b6-487c-a82a-c377d1d0f89d
TCGA-BT-A3PJ-01A-21D-A21Z-08	BLCA	b73523d7-f5a5-4140-8537-4df4d1ecf465
TCGA-BT-A3PK-01A-21D-A21Z-08	BLCA	4ad38e8e-e63e-41d9-9216-617be7fa1d75
TCGA-C4-A0EZ-01A-21D-A10S-08	BLCA	b01a7081-8eb5-4728-a517-52156cdfe7ed
TCGA-C4-A0F0-01A-12D-A10S-08	BLCA	612fd956-9a41-4201-9d74-6ab50f6ae987
TCGA-C4-A0F1-01A-11D-A10S-08	BLCA	9377460a-8497-41b8-b2c2-5f50cfeda1fe
TCGA-C4-A0F6-01A-11D-A10S-08	BLCA	608f8c75-40e4-44f2-bdde-5f07aa6b4bee
TCGA-C4-A0F7-01A-11D-A10S-08	BLCA	f389176f-d8f3-45c2-aae4-7378a3d6fc7f
TCGA-CF-A1HR-01A-11D-A13W-08	BLCA	69acf4f1-063f-453d-b148-681518c0bc39
TCGA-CF-A1HS-01A-11D-A13W-08	BLCA	b36e672b-c5d8-4481-bbb3-7be805215212

TCGA-CF-A27C-01A-11D-A160-08	BLCA	acc629cb-ad03-4cec-9b21-922e4932ef3e
TCGA-CF-A3MF-01A-12D-A21A-08	BLCA	c66c92d5-df65-46e6-861d-d8a98808e6a3
TCGA-CF-A3MG-01A-11D-A20D-08	BLCA	4c89ce08-ed24-4179-8884-4706660b7da8
TCGA-CF-A3MH-01A-11D-A20D-08	BLCA	8867b16f-cd05-41e9-b3ca-4c72a1ebeb70
TCGA-CF-A3MI-01A-11D-A20D-08	BLCA	0afabd62-8454-41b4-9b02-386681589688
TCGA-CU-A0YN-01A-21D-A10S-08	BLCA	803ab221-b813-4bcc-95a9-1f686d172d3c
TCGA-CU-A0YO-01A-11D-A10S-08	BLCA	e80278f9-2059-4e98-92b2-3e9868fc5818
TCGA-CU-A0YR-01A-12D-A10S-08	BLCA	31382822-3792-47bc-99e8-8a1ee1e4e58b
TCGA-CU-A3KJ-01A-11D-A21A-08	BLCA	e22c6a44-4f8e-44eb-8ca8-dff0f2fc5575
TCGA-DK-A1A3-01A-11D-A13W-08	BLCA	2322f7cd-7d55-4a9f-b7f3-da3068089383
TCGA-DK-A1A5-01A-11D-A13W-08	BLCA	448fe471-3f4e-4dc8-a4e0-6f147dc93abe
TCGA-DK-A1A6-01A-11D-A13W-08	BLCA	df8a913c-5160-4fc5-950d-7c890e24e820
TCGA-DK-A1A7-01A-11D-A13W-08	BLCA	91f458e6-64b7-454d-a542-b0aa23638fd8
TCGA-DK-A1AA-01A-11D-A13W-08	BLCA	804ffa2e-158b-447d-945c-707684134c87

TCGA-DK-A1AB-01A-11D-A13W-08	BLCA	5f0fb2ba-0351-4ce0-8b74-31aa3deecae1
TCGA-DK-A1AC-01A-11D-A13W-08	BLCA	a5dc17f5-abda-4534-b0f8-34b59ed4faa3
TCGA-DK-A1AD-01A-11D-A13W-08	BLCA	32398d56-8668-41b1-9c0b-c6aea6e3e787
TCGA-DK-A1AE-01A-11D-A13W-08	BLCA	abd2d959-d5ed-4eb3-9759-67eb1aa23325
TCGA-DK-A1AF-01A-11D-A13W-08	BLCA	fbdc7f9-1901-4e90-8e3c-71b05dc96da1
TCGA-DK-A1AG-01A-11D-A13W-08	BLCA	7d2a22eb-7344-4cba-ad7d-94c3f9ef3d7c
TCGA-DK-A2HX-01A-12D-A18F-08	BLCA	a8f0d416-2102-43ea-9cf1-465c37f9642a
TCGA-DK-A2I1-01A-11D-A17V-08	BLCA	f350676a-e308-42fe-8297-9d18ba7027b1
TCGA-DK-A2I2-01A-11D-A17V-08	BLCA	537e0d59-dd1c-479e-877f-eb9523c0967e
TCGA-DK-A2I4-01A-11D-A21A-08	BLCA	d68074b8-ce96-4dc5-b14c-3bbc7ba92ad9
TCGA-DK-A2I6-01A-12D-A18F-08	BLCA	97a755af-ca00-4116-8a32-0984dbfb1585
TCGA-DK-A3IK-01A-32D-A21A-08	BLCA	f730e341-8102-4405-95e2-46a3455a35cc
TCGA-DK-A3IL-01A-11D-A20D-08	BLCA	4838b5a9-968c-4178-bffb-3fafef1f6dc09
TCGA-DK-A3IM-01A-11D-A20D-08	BLCA	780f4201-4e59-47b8-b3b7-d322a6162b2d

TCGA-DK-A3IN-01A-11D-A20D-08	BLCA	173c1518-6bcb-4e25-a119-de32dab91286
TCGA-DK-A3IQ-01A-31D-A20D-08	BLCA	c3da3cc2-2299-4a3e-9de8-7a1d0a10345d
TCGA-DK-A3IS-01A-21D-A21A-08	BLCA	92a59313-da12-4896-b164-fd2d50684638
TCGA-DK-A3IT-01A-31D-A20D-08	BLCA	07db4596-cb49-4a32-bc99-3b202ffe61a2
TCGA-DK-A3IU-01A-11D-A20D-08	BLCA	52de410f-3ce3-4ee6-87f3-8ec2e829962f
TCGA-DK-A3IV-01A-22D-A21A-08	BLCA	7cecfbbc-5fe4-4413-95fd-07533aacbb73
TCGA-E5-A2PC-01A-11D-A202-08	BLCA	62b9f71c-2dab-455a-a454-579e8843f712
TCGA-FD-A3B3-01A-12D-A202-08	BLCA	8e9fb61d-c90d-440b-857a-12e1048435ea
TCGA-FD-A3B4-01A-12D-A202-08	BLCA	df922c85-5a10-487f-a9d5-220d5090e2e4
TCGA-FD-A3B5-01A-11D-A20D-08	BLCA	d05f9b81-7ba9-4231-aae6-1d2c14df22d7
TCGA-FD-A3B6-01A-21D-A20D-08	BLCA	36524c53-ac54-4a42-a982-bed2e4354268
TCGA-FD-A3B7-01A-31D-A20D-08	BLCA	fc76c5bd-315d-4981-ae53-705f40d2c078
TCGA-FD-A3B8-01A-31D-A20D-08	BLCA	7957bb77-8329-43a0-b1a8-140f2cb6b91b
TCGA-FD-A3N5-01A-11D-A21A-08	BLCA	418a3dec-96ff-4719-becb-e1a8260cce2f

TCGA-FD-A3N6-01A-11D-A21A-08	BLCA	d4615ca0-b5c7-4a5c-8593-bd50034a78ae
TCGA-FD-A3NA-01A-11D-A21A-08	BLCA	d079a32c-270b-4c43-8372-884e8d0c48ed
TCGA-G2-A2EC-01A-11D-A17V-08	BLCA	1376c881-cea5-4470-8dc1-63c69f201570
TCGA-G2-A2EF-01A-12D-A18F-08	BLCA	4e5917bd-2cb1-438c-a46c-5d8ca5b2fd0e
TCGA-G2-A2EJ-01A-11D-A17V-08	BLCA	82f98ff9-7161-45c3-8107-033b47e25f21
TCGA-G2-A2EK-01A-22D-A18F-08	BLCA	eb73bb35-af99-47b8-8bbb-33b5374e5c74
TCGA-G2-A2EL-01A-12D-A18F-08	BLCA	56924619-0724-4b3e-9c53-27c27d3789d6
TCGA-G2-A2EO-01A-11D-A17V-08	BLCA	ebb5cdb6-df4a-436d-b4a6-1655d263e3dd
TCGA-G2-A2ES-01A-11D-A17V-08	BLCA	5c628df6-a848-4177-87b8-714788118980
TCGA-G2-A3IE-01A-11D-A20D-08	BLCA	ebacd09f-c204-4cd2-a087-07bc4f2c5b74
TCGA-GC-A3I6-01A-11D-A20D-08	BLCA	372feefe-ee84-4833-8651-8f023f38a56a
TCGA-GC-A3RB-01A-12D-A21Z-08	BLCA	eaf54383-4286-4416-9b18-be1081797df2
TCGA-GD-A2C5-01A-12D-A17V-08	BLCA	2b142863-b963-4cc9-8f8f-c72503c93390
TCGA-GD-A3OP-01A-21D-A21Z-08	BLCA	3e02d723-691a-448c-85e2-4e39a3696ba5

TCGA-GD-A3OQ-01A-32D-A21Z-08	BLCA	fb985b3d-b0f7-42a0-bc3c-f71d9c5f78d8
TCGA-GD-A3OS-01A-12D-A21Z-08	BLCA	9b3e164d-aaa0-4bb5-b7b8-6264b2746a47
TCGA-GV-A3JV-01A-11D-A21Z-08	BLCA	5fed4b8a-4b59-4424-bbf1-bc73ce041361
TCGA-GV-A3JW-01A-11D-A20D-08	BLCA	4534413b-d0d0-4b34-a3d4-f821705485ae
TCGA-GV-A3JX-01A-11D-A20D-08	BLCA	21525d6f-4222-4e0a-9f07-8adbbd55c54f
TCGA-GV-A3JZ-01A-11D-A21A-08	BLCA	074fc904-0a0e-4114-b569-89d51e7a89db
TCGA-GV-A3QG-01A-11D-A21Z-08	BLCA	90534196-b1d8-4054-b4d5-1d29943b52bc
TCGA-GV-A3QI-01A-11D-A21Z-08	BLCA	33a9da52-5471-456f-84cb-13c5de5b0994
TCGA-H4-A2HO-01A-11D-A17V-08	BLCA	2e327841-eef0-42dd-883e-7d5b5a0d3a93
TCGA-H4-A2HQ-01A-11D-A17V-08	BLCA	94108975-b7a0-40ba-ad39-e44cc62e8cc0
TCGA-HQ-A2OE-01A-11D-A202-08	BLCA	61324839-e90a-49f2-a9c9-629d7b125fe9
TCGA-A1-A0SB-01A-11D-A142-09	BRCA	db9d40fb-bfce-4c3b-a6c2-41c5c88982f1
TCGA-A1-A0SD-01A-11D-A10Y-09	BRCA	1847727f-ea57-4e2e-84e5-a10e764c9096
TCGA-A1-A0SE-01A-11D-A099-09	BRCA	0539776c-3943-41d0-972c-8dc833a603e5

TCGA-A1-A0SF-01A-11D-A142-09	BRCA	b291200e-3c22-411a-85d0-fbe1570acda2
TCGA-A1-A0SG-01A-11D-A142-09	BRCA	39642c6d-9191-4746-8a9d-62d437bfdce8
TCGA-A1-A0SH-01A-11D-A099-09	BRCA	473d6ae4-162a-4136-b44f-fad42529a31a
TCGA-A1-A0SI-01A-11D-A142-09	BRCA	e218c272-a7e1-4bc9-b8c5-d2d1c903550f
TCGA-A1-A0SJ-01A-11D-A099-09	BRCA	a55c6a44-c0f5-4300-8df4-4a70befe2d3b
TCGA-A1-A0SK-01A-12D-A099-09	BRCA	d1b43161-cbc1-4bf6-b8bb-a72a2e5e1150
TCGA-A1-A0SM-01A-11D-A099-09	BRCA	2057b341-ff5c-45ef-83bb-005e29b2e740
TCGA-A1-A0SN-01A-11D-A142-09	BRCA	1b8d93f4-acc2-48ee-9ca8-a327eb0463c2
TCGA-A1-A0SO-01A-22D-A099-09	BRCA	b3568259-c63c-4eb1-bbc7-af711ddd33db
TCGA-A1-A0SP-01A-11D-A099-09	BRCA	d3ae9617-b6cd-4d98-b631-39bd4afd3c4e
TCGA-A1-A0SQ-01A-21D-A142-09	BRCA	9055ddce-a0ff-4980-af86-c07f949acbc3
TCGA-A2-A04N-01A-11D-A10Y-09	BRCA	389dd52b-a7b7-46f0-83ae-308e485466a8
TCGA-A2-A04P-01A-31D-A128-09	BRCA	a85cf239-ff51-46e7-9b88-4c2cb49c66b9
TCGA-A2-A04Q-01A-21W-A050-09	BRCA	02eb17d4-9e9e-4e32-96b0-90ccdda3f167

TCGA-A2-A04R-01A-41D-A117-09	BRCA	1f8e4326-dfc7-4635-a9b7-a9207a392748
TCGA-A2-A04U-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f819433a-44db-4022-abdb-d6123cfa30b2
TCGA-A2-A04V-01A-21W-A050-09	BRCA	89501861-2778-4b88-9a44-939fed99850d
TCGA-A2-A04W-01A-31D-A10Y-09	BRCA	7822a6b1-68c8-4675-993c-c4b54a510c09
TCGA-A2-A04X-01A-21W-A050-09	BRCA	66a73891-2fea-450c-8224-0865d98b4346
TCGA-A2-A04Y-01A-21W-A050-09	BRCA	3669bbbd-2e75-4b57-a5a8-8eebc25a97c2
TCGA-A2-A0CL-01A-11D-A10Y-09	BRCA	a630ed59-dd23-45e1-aa16-4f7a98e32728
TCGA-A2-A0CM-01A-31W-A050-09	BRCA	fe8023d4-5476-4c58-bf70-cbf65cdd4327
TCGA-A2-A0CP-01A-11W-A050-09	BRCA	a776e274-fe9f-49a9-83ab-95ca6819c96b
TCGA-A2-A0CQ-01A-21W-A050-09	BRCA	fa0d7183-8757-4f95-87b2-2366a1dbd508
TCGA-A2-A0CS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	fe96b832-cb86-4499-948a-5124a43d5c95
TCGA-A2-A0CT-01A-31W-A071-09	BRCA	2b412ad8-abda-4cf8-8f68-59dbce80031e
TCGA-A2-A0CU-01A-12W-A050-09	BRCA	a9aa68af-f5fe-4ac0-987f-8af49b85c231
TCGA-A2-A0CV-01A-31D-A10Y-09	BRCA	5d1dead5-d9a5-42d3-a703-4c38ad6e8f57

TCGA-A2-A0CW-01A-21D-A10Y-09	BRCA	da4f0f85-b16f-40fa-95c6-524d70d7ac4d
TCGA-A2-A0CX-01A-21W-A019-09	BRCA	975adb76-3561-41a0-959a-68da470816c7
TCGA-A2-A0CZ-01A-11W-A050-09	BRCA	95d5c606-367a-46b5-b663-dcea3f42e2a2
TCGA-A2-A0D0-01A-11W-A019-09	BRCA	3f20d0fe-aaa1-40f1-b2c1-7f070f93aef5
TCGA-A2-A0D1-01A-11W-A050-09	BRCA	a762809c-15c9-485e-ad7a-ef28427750e9
TCGA-A2-A0D2-01A-21W-A050-09	BRCA	05656575-69e7-4745-a89d-ca0568eb5559
TCGA-A2-A0D3-01A-11D-A10Y-09	BRCA	8183420e-7f44-4024-b3db-6b53ad293988
TCGA-A2-A0D4-01A-11W-A019-09	BRCA	f3accede-1716-4d44-bad4-5427a9ebd675
TCGA-A2-A0EM-01A-11W-A050-09	BRCA	0e01c6b8-9edd-4965-b247-ee7e68124f48
TCGA-A2-A0EN-01A-13D-A099-09	BRCA	12362ad7-6866-4e7a-9ec6-8a0a68df8896
TCGA-A2-A0EO-01A-11W-A050-09	BRCA	8e2f9eb7-0660-47ae-b86e-652e99fa69ca
TCGA-A2-A0EQ-01A-11W-A050-09	BRCA	2c449ea9-c3ff-4726-8566-5933e2b7056d
TCGA-A2-A0ER-01A-21W-A050-09	BRCA	31ed187e-9bfe-4ca3-8cbb-10c1e0184331
TCGA-A2-A0ES-01A-11D-A10Y-09	BRCA	64d42c62-5c2d-49f5-856e-72beef88044d

TCGA-A2-A0ET-01A-31D-A045-09	BRCA	f7b40023-4adc-4c7d-ae73-5c10ddcbc0fb
TCGA-A2-A0EU-01A-22W-A071-09	BRCA	de30da8f-903f-428e-a63d-59625fc858a9
TCGA-A2-A0EV-01A-11W-A050-09	BRCA	9433bf4f-23ba-4fe7-9503-1ad243d74225
TCGA-A2-A0EW-01A-21D-A10Y-09	BRCA	a045a04e-4f7b-4f9a-a733-47ad24475496
TCGA-A2-A0EX-01A-21W-A050-09	BRCA	9308f50c-1320-4c45-acc7-38f43b6f9a36
TCGA-A2-A0EY-01A-11W-A050-09	BRCA	a8cde596-e3f5-4b20-9e7f-45d079893176
TCGA-A2-A0ST-01A-12D-A099-09	BRCA	dd669f44-f64d-4afc-a5ac-5f7769d1db43
TCGA-A2-A0SU-01A-11D-A099-09	BRCA	6ceaf20f-1458-4f7f-954a-e2f58ed163bf
TCGA-A2-A0SV-01A-11D-A099-09	BRCA	6d3206c6-0ca8-4b2b-a160-b1719217f9c7
TCGA-A2-A0SW-01A-11D-A099-09	BRCA	7fbd2807-a5bb-4030-a299-524ec3ab4543
TCGA-A2-A0SX-01A-12D-A099-09	BRCA	b54bc31e-bdcc-4ad5-998e-5a9c542f83bb
TCGA-A2-A0SY-01A-31D-A099-09	BRCA	efaa9c0b-c14b-4141-b48c-cc2c6b89ab73
TCGA-A2-A0T0-01A-22D-A099-09	BRCA	3c107ce4-a6ac-469b-b1c0-cd86674b5766
TCGA-A2-A0T1-01A-21D-A099-09	BRCA	9515373a-d982-45fa-b8f9-363f9ba8649f

TCGA-A2-A0T2-01A-11W-A097-09	BRCA	c7918143-dbce-45b3-8d24-2993a9e2b7f4
TCGA-A2-A0T3-01A-21D-A10Y-09	BRCA	0ca029bb-3b3a-48ec-8ade-5591e8e8629f
TCGA-A2-A0T4-01A-31D-A099-09	BRCA	0f1b1fda-4956-498a-b8ff-e98b5d64e509
TCGA-A2-A0T6-01A-11D-A099-09	BRCA	e4dcb280-c309-4ebb-a58d-e6389a0306ee
TCGA-A2-A0T7-01A-21D-A099-09	BRCA	3ea4d98d-f8d9-433e-94f1-b0199bfdb198
TCGA-A2-A0YC-01A-11D-A117-09	BRCA	4cccf7dc-7c53-409f-a6b1-f86e0f07250b
TCGA-A2-A0YD-01A-11D-A10G-09	BRCA	30c9f9e5-90b2-4c73-bce5-eb6a3d31f496
TCGA-A2-A0YF-01A-21D-A10G-09	BRCA	11571107-fe70-4140-afff-f4792a4fd473
TCGA-A2-A0YG-01A-21D-A10G-09	BRCA	bf82035c-9cd1-4355-acdd-8a007708e976
TCGA-A2-A0YH-01A-11D-A10G-09	BRCA	e5558a39-eab2-4216-ba88-b63c2de48b01
TCGA-A2-A0YI-01A-31D-A10M-09	BRCA	6d2ae968-c977-4b65-869a-5e96ff3216e9
TCGA-A2-A0YJ-01A-11D-A10G-09	BRCA	3fe8e99f-dce5-4df9-983e-efe63d56bdd5
TCGA-A2-A0YK-01A-22D-A117-09	BRCA	7c27f81e-62fb-478c-9cee-8e20db9300f2
TCGA-A2-A0YL-01A-21D-A10G-09	BRCA	3cc80b41-603d-4735-85c7-71f540dc6e5c

TCGA-A2-A0YM-01A-11D-A10G-09	BRCA	1125ec93-6d24-4537-9c89-526f2d6b2299
TCGA-A2-A0YT-01A-11D-A10G-09	BRCA	827c6a2f-fb1b-4845-9cb1-11013a16da3f
TCGA-A2-A1FV-01A-11D-A13L-09	BRCA	51b7064c-d9fc-4312-ad25-b014ef81c821
TCGA-A2-A1FW-01A-11D-A13L-09	BRCA	6ccdb42e-1ad1-4175-b83a-a24b019dc640
TCGA-A2-A1FX-01A-11D-A13L-09	BRCA	0d3dd7a0-ad8d-46cc-86c4-c1994a7b4b74
TCGA-A2-A1FZ-01A-51D-A17G-09	BRCA	0f7038bb-fd25-468e-8bd9-dcd4312d13cb
TCGA-A2-A1G0-01A-11D-A13L-09	BRCA	f7eacf95-478d-4d81-a5e3-f5a8938c83ec
TCGA-A2-A1G1-01A-21D-A13L-09	BRCA	afe70076-1044-4fdd-bebc-14a97b1a8363
TCGA-A2-A1G4-01A-11D-A13L-09	BRCA	420a4771-6376-4b52-a2e3-e62aaf4d4ed6
TCGA-A2-A1G6-01A-11D-A13L-09	BRCA	c012bce9-de13-4e32-a29e-8ab64e16ea96
TCGA-A2-A259-01A-11D-A16D-09	BRCA	93febb0a-587c-47f2-9a59-117f7aa475c5
TCGA-A2-A25A-01A-12D-A16D-09	BRCA	5739a7e1-7fa3-434c-b1c3-c0a9e570c858
TCGA-A2-A25B-01A-11D-A167-09	BRCA	6e839eaf-1dbb-43f5-8846-c980e05540c7
TCGA-A2-A25C-01A-11D-A167-09	BRCA	2411fc4a-c0d7-4a60-a861-f4d954ef1ed5

TCGA-A2-A25D-01A-12D-A16D-09	BRCA	56b152c3-9de5-4b1c-b6b4-0116cb7ce097
TCGA-A2-A25E-01A-11D-A167-09	BRCA	8dce6a9d-ecb7-4699-9fda-1b09b1b1de43
TCGA-A2-A25F-01A-11D-A167-09	BRCA	1ed40576-4f1c-4cf6-8eea-e816c5d73d90
TCGA-A7-A0CD-01A-11W-A019-09	BRCA	d29ba065-28ca-4dfb-9588-06be857f67b2
TCGA-A7-A0CG-01A-11W-A019-09	BRCA	351275c7-70ca-4ddc-be76-a6ff4dc7655e
TCGA-A7-A0CJ-01A-21W-A019-09	BRCA	c9f6a65e-ae20-410d-a397-34aef0818ff3
TCGA-A7-A0DA-01A-31D-A10Y-09	BRCA	878337fe-9f41-44f5-9760-3977e7d75308
TCGA-A7-A13D-01A-13D-A12Q-09	BRCA	418e916b-7a4e-4fab-8616-15dcec4d79f8
TCGA-A7-A13G-01A-11D-A13L-09	BRCA	ef847b83-eb88-435b-bcfd-4b51d4dfa5fe
TCGA-A7-A26E-01A-11D-A167-09	BRCA	73651880-cfbd-4f8d-8031-a14b3ac65454
TCGA-A7-A26F-01A-21D-A167-09	BRCA	fc73db72-d0ac-48d0-b809-2f7540482ec5
TCGA-A7-A26G-01A-21D-A167-09	BRCA	36d1a85e-a09b-4537-86e0-eaf1eb03aed8
TCGA-A7-A26H-01A-11D-A167-09	BRCA	fbeade79-28ef-4e85-8282-67e691630ca3
TCGA-A7-A26I-01A-11D-A167-09	BRCA	81fff2d1-d6ed-4963-a5f6-5899cde6b359

TCGA-A7-A26J-01A-11D-A167-09	BRCA	be2ca34f-5c15-4b38-a207-52df296a98ee
TCGA-A8-A06N-01A-11W-A019-09	BRCA	03d266a3-eb3e-4893-af6b-cb70d197d98f
TCGA-A8-A06O-01A-11W-A019-09	BRCA	29cd408e-a04b-418a-85e2-6ef95840ddbc
TCGA-A8-A06P-01A-11W-A019-09	BRCA	239b3d55-c5d6-4478-9b7b-1cbad3c03c81
TCGA-A8-A06Q-01A-11W-A050-09	BRCA	473d5422-978a-48be-be32-2b7516d6d2d5
TCGA-A8-A06R-01A-11D-A015-09	BRCA	c6b00eff-6c4e-4d79-a9b1-8fb1f3090816
TCGA-A8-A06T-01A-11W-A019-09	BRCA	11ec4a6f-f2dc-4b0b-9ba5-6fea8222e2d7
TCGA-A8-A06U-01A-11W-A019-09	BRCA	277c2e8a-dd28-4b8f-96d3-ea790a1986b6
TCGA-A8-A06X-01A-21W-A019-09	BRCA	dc306402-3a55-4996-b786-f3f738f13dd3
TCGA-A8-A06Y-01A-21W-A019-09	BRCA	3bede568-d8b6-44c0-99e0-a9b6c7d4ce80
TCGA-A8-A06Z-01A-11W-A019-09	BRCA	f540c4f8-75b3-47d7-a7cf-53cbf7a2c814
TCGA-A8-A075-01A-11D-A099-09	BRCA	085dd125-1f95-46aa-a480-2965090e8591
TCGA-A8-A076-01A-21W-A019-09	BRCA	dfa06058-320b-4cc6-ac18-a42e59019b1c
TCGA-A8-A079-01A-21W-A019-09	BRCA	06221ce8-ab65-4694-945b-059b9c15ede4

TCGA-A8-A07B-01A-11W-A019-09	BRCA	734421b9-ed55-45b0-9ad5-51bc754ebe90
TCGA-A8-A07C-01A-11D-A045-09	BRCA	6ab33f67-b69d-4a2d-a424-841f5fbf1ee7
TCGA-A8-A07E-01A-11W-A050-09	BRCA	fa018a20-2c26-4d47-831f-75280b6464df
TCGA-A8-A07F-01A-11W-A019-09	BRCA	73d907e6-4ba0-431f-a009-8366644ffaf0
TCGA-A8-A07G-01A-11W-A050-09	BRCA	49f77aa5-446b-49f6-bd1b-02d3ff7b9dfc
TCGA-A8-A07I-01A-11W-A019-09	BRCA	7718c3f0-1c90-4940-bc30-ea4f417851bb
TCGA-A8-A07J-01A-11W-A019-09	BRCA	c8eac36c-c3a7-4c88-b928-832ab279045b
TCGA-A8-A07L-01A-11W-A019-09	BRCA	4cc86f29-061e-4058-8e8f-4c48191f52aa
TCGA-A8-A07O-01A-11W-A019-09	BRCA	4574b64d-8848-46e4-913e-5d318c1f6162
TCGA-A8-A07P-01A-11W-A019-09	BRCA	2b88ff64-bf43-43e8-9ea9-0de571520d72
TCGA-A8-A07R-01A-21W-A050-09	BRCA	f377217c-399f-4b3f-9090-fa5189b2bfc6
TCGA-A8-A07U-01A-11W-A050-09	BRCA	e6409415-8453-489d-a731-49257cade2a3
TCGA-A8-A07W-01A-11W-A019-09	BRCA	9bc8dbab-c700-498c-8ff7-ccc62c911349
TCGA-A8-A07Z-01A-11W-A019-09	BRCA	e4af33f9-f5fe-4e52-8ca0-991bbce2270d

TCGA-A8-A081-01A-11W-A019-09	BRCA	d29c3a5b-aab5-4d1b-bdaf-eb6fa405bc80
TCGA-A8-A082-01A-11W-A019-09	BRCA	575d25ea-eae7-423a-9464-d3b2806bf9eb
TCGA-A8-A083-01A-21W-A019-09	BRCA	1904e458-1a6c-4e91-88cc-10ee154ded5b
TCGA-A8-A084-01A-21W-A019-09	BRCA	6f6f7048-5b7a-4827-af2b-cfecc4a60025
TCGA-A8-A085-01A-11W-A019-09	BRCA	cbdea951-3dc9-42c2-bfdd-3796c30e928e
TCGA-A8-A086-01A-11W-A019-09	BRCA	13d89926-9e4c-434f-80b4-4fb15e4426f6
TCGA-A8-A08A-01A-11W-A019-09	BRCA	0257d030-6d78-452c-9dcc-79fe50533543
TCGA-A8-A08B-01A-11W-A019-09	BRCA	267a951b-29b7-4849-9ea7-d2205838fcc7
TCGA-A8-A08F-01A-11W-A019-09	BRCA	4975eeda-984e-4a7a-8193-43d8b6e0271c
TCGA-A8-A08G-01A-11W-A019-09	BRCA	8da61928-e935-4a33-8e46-840e637163d7
TCGA-A8-A08H-01A-21W-A019-09	BRCA	26161c06-f816-489a-8800-e0a68a4ce78a
TCGA-A8-A08I-01A-11W-A019-09	BRCA	4525400d-0a2c-4cc7-9c71-9ad6d9faf93f
TCGA-A8-A08J-01A-11W-A019-09	BRCA	ae458901-e900-4aaa-bde6-3eda8912fbd5
TCGA-A8-A08L-01A-11W-A019-09	BRCA	8b819a59-f0c1-456a-9e81-64b5bed025c1

TCGA-A8-A08O-01A-21W-A071-09	BRCA	bc1398b9-d4ec-43e8-86bc-7025afaf93d5
TCGA-A8-A08P-01A-11W-A019-09	BRCA	2fbe3da3-ce62-4edf-933b-367f983e221a
TCGA-A8-A08R-01A-11W-A050-09	BRCA	05362091-8e04-46e2-81e7-1efddc0d8c63
TCGA-A8-A08S-01A-11W-A050-09	BRCA	9c981525-80af-4f79-b94a-be00131ab872
TCGA-A8-A08T-01A-21W-A019-09	BRCA	af5f43d9-5ff3-4fd8-9c1c-30a88d2bab8e
TCGA-A8-A08X-01A-21W-A019-09	BRCA	67c7d350-5c82-49b0-a7eb-6ca829ffc9bc9
TCGA-A8-A08Z-01A-21W-A019-09	BRCA	96afb6d0-29ea-4bd5-8a9d-130e42954707
TCGA-A8-A090-01A-11W-A019-09	BRCA	783e4c13-8fa5-4591-9453-1e59ca167e10
TCGA-A8-A091-01A-11W-A019-09	BRCA	6618f367-c782-43a0-b5c8-a53d9bda6722
TCGA-A8-A092-01A-11W-A019-09	BRCA	732dd0ab-c869-4d35-973f-9db064680fb1
TCGA-A8-A093-01A-11W-A019-09	BRCA	8f64ba22-0958-4fdb-8161-f83cfe57c95d
TCGA-A8-A094-01A-11W-A019-09	BRCA	ab9bf7a6-688e-4388-9682-6b1616723fde
TCGA-A8-A095-01A-11W-A019-09	BRCA	d16f025a-4187-4632-b833-02a3ffa54210
TCGA-A8-A096-01A-11W-A019-09	BRCA	8a411a0a-ec66-4d9f-b0e4-f1c1f969d605

TCGA-A8-A097-01A-11W-A050-09	BRCA	15ca7c47-131a-4dd7-b0a7-584577b4b02c
TCGA-A8-A099-01A-11W-A019-09	BRCA	1066cb38-e051-42fa-a8bc-20b659c17a13
TCGA-A8-A09A-01A-11W-A019-09	BRCA	ecfedc29-5c31-4d3d-b599-fc0a1c0beafa
TCGA-A8-A09B-01A-11W-A019-09	BRCA	a8be37d2-2743-4fde-9aae-2623b5a03b60
TCGA-A8-A09C-01A-11W-A019-09	BRCA	b56cf2cb-bb2a-46b6-b3b4-84dd8b364984
TCGA-A8-A09D-01A-11W-A019-09	BRCA	d0ef396f-4e9f-40ba-a09c-0a96832cabf9
TCGA-A8-A09E-01A-11W-A019-09	BRCA	d6465963-5ea6-44a5-96b0-dff0b0fae4c4
TCGA-A8-A09G-01A-21W-A019-09	BRCA	3bd68e94-d902-4079-8fdb-16edcc90de1c
TCGA-A8-A09I-01A-22W-A050-09	BRCA	96d5070d-1fa9-4fa5-b2c9-472240dfd3b9
TCGA-A8-A09K-01A-11W-A019-09	BRCA	d8cd75f2-5ee5-4296-a781-a6a16ee94506
TCGA-A8-A09M-01A-11W-A019-09	BRCA	8e92515a-8049-4ebb-9117-a137c06e5d04
TCGA-A8-A09N-01A-11W-A019-09	BRCA	304a2945-f134-45c7-9eaa-c6c9c2435552
TCGA-A8-A09Q-01A-11W-A019-09	BRCA	51a8ac83-bafa-4df7-a52d-a1e1fb45799d
TCGA-A8-A09R-01A-11W-A019-09	BRCA	35ebf91d-6fec-4d28-9b21-493d0e14f8db

TCGA-A8-A09T-01A-11W-A019-09	BRCA	e565da2b-4a3f-4be1-9cf7-2845145d1dbc
TCGA-A8-A09V-01A-11D-A045-09	BRCA	818f1a34-17c5-409a-b5f5-4a8576db0d44
TCGA-A8-A09W-01A-11W-A019-09	BRCA	9a2690ce-485f-4d4f-9673-d86f91be27a4
TCGA-A8-A09X-01A-11W-A019-09	BRCA	48e532ea-2af5-427a-a784-781e208cced6
TCGA-A8-A0A1-01A-11W-A019-09	BRCA	73aa20fe-b74b-41ae-88d3-2d5a66908c25
TCGA-A8-A0A2-01A-11W-A050-09	BRCA	b681dba3-a608-47c2-9ae8-5d761d1e800e
TCGA-A8-A0A4-01A-11W-A019-09	BRCA	1fc4d542-86ac-42bc-9fbb-272c23e6aa72
TCGA-A8-A0A7-01A-11W-A019-09	BRCA	28be7b14-730d-44f7-bf93-a7590b4a08f8
TCGA-A8-A0A9-01A-11W-A019-09	BRCA	228e66eb-1dc6-4c01-8252-c557a8f53916
TCGA-A8-A0AB-01A-11W-A050-09	BRCA	ad2a2f5d-dad6-4c03-b235-20810d6d34dc
TCGA-A8-A0AD-01A-11W-A071-09	BRCA	6e6511fa-4f6e-4184-84b8-9e9e7a863632
TCGA-AC-A23C-01A-12D-A167-09	BRCA	91766158-e175-4270-bc01-8e853fc9f391
TCGA-AC-A23E-01A-11D-A159-09	BRCA	137cb73f-394a-459a-83e6-0b3c85c955cd
TCGA-AN-A03X-01A-21W-A019-09	BRCA	f177234e-e0a7-4f85-b73d-48e0080c805d

TCGA-AN-A03Y-01A-21W-A019-09	BRCA	f4849adc-b6e8-40bd-9de4-dc5bb37d2a79
TCGA-AN-A041-01A-11W-A050-09	BRCA	f18c7389-6c8d-485f-a7f7-a450a42e3719
TCGA-AN-A049-01A-21W-A019-09	BRCA	1d0c87ef-6840-4051-85d5-7fc2c544578c
TCGA-AN-A04A-01A-21W-A050-09	BRCA	7e8f250c-6162-4049-8559-5bdfdf054b021
TCGA-AN-A04C-01A-21W-A050-09	BRCA	c1302f79-cc50-487a-9db5-016df85e67d7
TCGA-AN-A04D-01A-21W-A050-09	BRCA	9407735f-19e3-49d0-b783-cd9672dfa6a9
TCGA-AN-A0AJ-01A-11W-A019-09	BRCA	97fbce82-0eed-4d70-9af2-57918a4ea8da
TCGA-AN-A0AL-01A-11W-A019-09	BRCA	47849ee3-b59e-4ccf-a261-65f7e252b885
TCGA-AN-A0AM-01A-11W-A050-09	BRCA	a238f21f-ca46-4759-b5b7-f8c3810dfbdb
TCGA-AN-A0AR-01A-11W-A019-09	BRCA	a2d77acd-89db-4d2d-89d7-d1cc58cf576b
TCGA-AN-A0AS-01A-11W-A019-09	BRCA	2257c942-1274-47e7-86ad-b92ecfafc205
TCGA-AN-A0AT-01A-11D-A045-09	BRCA	f848b66f-bd9e-4fba-afd4-eb58848d1ef4
TCGA-AN-A0FD-01A-11W-A050-09	BRCA	abae6f4c-2378-4fbd-adea-f739e6629b22
TCGA-AN-A0FF-01A-11W-A050-09	BRCA	cd45e46c-50bf-449e-bb40-29ccffbbd49c

TCGA-AN-A0FJ-01A-11W-A019-09	BRCA	6b988737-0504-42bb-8c75-d70d7a312e68
TCGA-AN-A0FK-01A-11W-A050-09	BRCA	a765959e-b234-427d-aade-855d6d4981d9
TCGA-AN-A0FL-01A-11W-A050-09	BRCA	18ee29ae-fe36-49a3-9843-e0757c69a7dd
TCGA-AN-A0FN-01A-11W-A050-09	BRCA	8f583981-b257-43ee-9c9e-71a192a49d38
TCGA-AN-A0FS-01A-11W-A050-09	BRCA	9bb76d20-cefb-4f7a-80c2-aa2178e302a9
TCGA-AN-A0FT-01A-11W-A050-09	BRCA	0598fc5f-9651-4ace-bf4e-56759d544e52
TCGA-AN-A0FV-01A-11W-A019-09	BRCA	c70259c1-f561-43d7-9829-6852815baa87
TCGA-AN-A0FW-01A-11W-A050-09	BRCA	5afde43a-194c-4876-b244-2132aef2f505
TCGA-AN-A0FX-01A-11W-A050-09	BRCA	2523cf22-1a16-42be-8560-833ed2031e3c
TCGA-AN-A0FY-01A-11W-A050-09	BRCA	a6a8bd08-0e60-442d-adce-de020177f82c
TCGA-AN-A0FZ-01A-11W-A050-09	BRCA	d77f59f7-8cff-41f3-a1bb-0de14524d4f4
TCGA-AN-A0G0-01A-11W-A050-09	BRCA	9eb55dd2-a956-4dfe-8631-04722c49819f
TCGA-AN-A0XL-01A-11D-A10M-09	BRCA	1b08a181-a73b-4506-aaa3-3521f2c57207
TCGA-AN-A0XN-01A-21D-A10G-09	BRCA	94a6c172-25e2-4438-945c-9b310f89ae22

TCGA-AN-A0XO-01A-11D-A10G-09	BRCA	f63863f5-cb60-4961-a5b4-ed5ea1fb3dc8
TCGA-AN-A0XP-01A-11D-A117-09	BRCA	6179b498-2cea-4f7a-82a8-b7ec71431ea8
TCGA-AN-A0XR-01A-11D-A10G-09	BRCA	e7dc7492-3a84-49c7-8dea-8f508b53dc40
TCGA-AN-A0XS-01A-22D-A10G-09	BRCA	f1b5268d-556f-404f-a956-770df4a1e7aa
TCGA-AN-A0XT-01A-11D-A10G-09	BRCA	353d9161-95fd-4bec-abb7-859d9ee19785
TCGA-AN-A0XU-01A-11D-A10G-09	BRCA	537c5818-eb89-4b46-8915-2bb2b9e4545f
TCGA-AN-A0XV-01A-11D-A10G-09	BRCA	6f0e5a39-e2c7-4a93-bd63-f1babe7c16e
TCGA-AN-A0XW-01A-11D-A10G-09	BRCA	200dba9e-201b-4634-a2cf-666e1f6710dc
TCGA-AO-A03L-01A-41W-A071-09	BRCA	743a29c4-e1cc-457a-8406-765f1a1bc114
TCGA-AO-A03N-01B-11D-A10M-09	BRCA	ef5987f1-46ac-430a-b94a-49afa0e286d4
TCGA-AO-A03O-01A-11W-A019-09	BRCA	1578b356-7f42-4722-bc54-cd5f37954f6a
TCGA-AO-A03P-01A-11W-A019-09	BRCA	185c5e15-c068-4a72-8d5e-468624bf958a
TCGA-AO-A03R-01A-21W-A050-09	BRCA	6d2dc4e3-f1ed-4ef0-ae83-e09c87756d56
TCGA-AO-A03T-01A-21W-A050-09	BRCA	cbea866d-da66-4f7c-994b-c1ec35aa2d4b

TCGA-AO-A03U-01B-21D-A10M-09	BRCA	1e0ecd57-5c7d-4495-874d-9e286c999c22
TCGA-AO-A03V-01A-11D-A10Y-09	BRCA	d88c365f-366a-49d5-9860-b930aab3eb1b
TCGA-AO-A0J2-01A-11W-A050-09	BRCA	84b66e02-1b37-4424-b752-363f7861fe74
TCGA-AO-A0J3-01A-11W-A050-09	BRCA	ff706355-867e-4968-99ad-0af4e24ece51
TCGA-AO-A0J4-01A-11W-A050-09	BRCA	7667f49c-449d-44ce-bab8-02a491bb6775
TCGA-AO-A0J5-01A-11W-A050-09	BRCA	93ae73f6-c355-47be-a355-faa78c0632d4
TCGA-AO-A0J6-01A-11W-A050-09	BRCA	7d21a0c4-03c7-4641-8b4d-7a5877960360
TCGA-AO-A0J7-01A-11W-A050-09	BRCA	a53056d9-e8bd-4cb1-ad67-85879ccc925d
TCGA-AO-A0J8-01A-21D-A045-09	BRCA	24ba5501-8097-4af6-b12c-bb6dcbe10cac
TCGA-AO-A0J9-01A-11W-A050-09	BRCA	9932232f-a7b0-4962-9b14-adb8316a4661
TCGA-AO-A0JA-01A-11W-A071-09	BRCA	0215d4f1-6697-4e8f-afc4-ff7c6439e56d
TCGA-AO-A0JB-01A-11W-A071-09	BRCA	8f4f06be-2a16-4ae2-9dd4-5d87f480810b
TCGA-AO-A0JC-01A-11W-A071-09	BRCA	120f55df-5d1d-4073-a21a-632c892d3da9
TCGA-AO-A0JD-01A-11W-A071-09	BRCA	9d3ad8d0-ddd3-44d2-ba0e-0b283a4fbf32

TCGA-AO-A0JE-01A-11W-A071-09	BRCA	4f311714-ebb4-47fb-b471-62c6951d9066
TCGA-AO-A0JF-01A-11W-A071-09	BRCA	191caa1a-5ab8-4db5-b42a-f1c5964b0b0d
TCGA-AO-A0JG-01A-31D-A099-09	BRCA	cf7ec093-5040-43db-949c-f426795a7488
TCGA-AO-A0JI-01A-21W-A100-09	BRCA	861297ec-2c88-4717-ae63-eb8e21fe8c52
TCGA-AO-A0JJ-01A-11W-A071-09	BRCA	812191d1-6711-4efd-8932-c76159b60ffb
TCGA-AO-A0JL-01A-11W-A071-09	BRCA	56a22648-be92-402c-a225-bcaa44a7e612
TCGA-AO-A0JM-01A-21W-A071-09	BRCA	f070142b-f44e-4264-8919-dde7d02ad835
TCGA-AO-A124-01A-11D-A10M-09	BRCA	987528ac-437a-4eb8-a335-4f2076d5c006
TCGA-AO-A125-01A-11D-A10M-09	BRCA	17669c6d-2eeb-4d56-ac72-f06bfafb7e42
TCGA-AO-A126-01A-11D-A10M-09	BRCA	85b39644-6f19-40dc-94c1-0afc93ee4981
TCGA-AO-A129-01A-21D-A10M-09	BRCA	cdf43c25-3ba7-4073-a92d-4a97f651f4a8
TCGA-AO-A12A-01A-21D-A10Y-09	BRCA	77e7b41a-d4c8-42ee-ae6e-da15ea3634d9
TCGA-AO-A12B-01A-11D-A10M-09	BRCA	865ebd77-7b7d-4a27-b945-df5ec8d1f86a
TCGA-AO-A12D-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b3065cfe-3067-4f08-8c82-46f10c1ec279

TCGA-AO-A12E-01A-11D-A10M-09	BRCA	b3990b59-e2f4-4759-8eb0-11ad3c34ac50
TCGA-AO-A12F-01A-11D-A10Y-09	BRCA	d1617673-57c2-40c1-a970-f3692ee13cf3
TCGA-AO-A12G-01A-11D-A10M-09	BRCA	5b9d3741-2aa3-489b-93e6-3b5376b80d48
TCGA-AO-A12H-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5a535c49-d42e-43c6-9d32-dc76f28d4f0f
TCGA-AO-A1KO-01A-31D-A188-09	BRCA	2cdec2b-40b1-4419-bcd9-101cee78966c
TCGA-AO-A1KP-01A-11D-A13L-09	BRCA	bc36db60-3f6b-42c4-b03e-b7c74c3dda5c
TCGA-AO-A1KR-01A-12D-A142-09	BRCA	d3b598d8-8a3b-4506-aa98-9fbc5b51afd4
TCGA-AO-A1KS-01A-11D-A13L-09	BRCA	21074661-4b0f-4adc-b406-5801688a3ae9
TCGA-AO-A1KT-01A-11D-A13L-09	BRCA	97b33dc3-6a62-419a-aa6c-cb84c9f92102
TCGA-AQ-A04H-01B-11D-A10M-09	BRCA	73c13e04-1400-4ebb-aa80-f54becbe036c
TCGA-AQ-A04J-01A-02W-A050-09	BRCA	cce21f2b-784b-4fa0-9809-ae532c528f8e
TCGA-AQ-A04L-01B-21D-A10M-09	BRCA	e8d7feb0-981b-4ba0-b4d4-fa985064444b
TCGA-AQ-A0Y5-01A-11D-A14K-09	BRCA	4aa80fbd-a337-49b6-9371-223cbcfbc85d
TCGA-AQ-A1H2-01A-11D-A13L-09	BRCA	1ab2dc63-51ce-4a96-b7ad-f0d9eb198d10

TCGA-AQ-A1H3-01A-31D-A13L-09	BRCA	1fa2017e-ce08-4a16-bdf6-f9bf1296c834
TCGA-AR-A0TP-01A-11D-A099-09	BRCA	bee5b9c8-739e-4530-b140-cd2b898d7afd
TCGA-AR-A0TQ-01A-11D-A099-09	BRCA	b266fffc-263d-4b0f-a781-7437e41061b2
TCGA-AR-A0TR-01A-11D-A099-09	BRCA	58ca11bf-17b0-4cff-b210-5b85d8e66ef5
TCGA-AR-A0TS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c9253ecc-cfac-4cc5-8dab-1e502d34d103
TCGA-AR-A0TT-01A-31D-A099-09	BRCA	29cfdc11-2f20-436e-8913-340909684c06
TCGA-AR-A0TU-01A-31D-A10G-09	BRCA	31922dbe-3b4a-4ac1-98fc-db88ae851462
TCGA-AR-A0TV-01A-21D-A099-09	BRCA	0ec80200-12fe-479c-8ea0-982a9995f55a
TCGA-AR-A0TW-01A-11D-A099-09	BRCA	b40d49ed-bc30-4656-9f36-ffc280de2fb8
TCGA-AR-A0TX-01A-11D-A099-09	BRCA	63d635fa-d136-4e8a-a534-966ee678bb66
TCGA-AR-A0TY-01A-12W-A12T-09	BRCA	f915733b-aaf4-406d-af52-00de113e8e0c
TCGA-AR-A0TZ-01A-12D-A099-09	BRCA	90a26d5e-356b-424c-80bc-4723d24c594f
TCGA-AR-A0U0-01A-11D-A10G-09	BRCA	79e2c073-7727-4c34-ac28-5d7895144743
TCGA-AR-A0U1-01A-11D-A10Y-09	BRCA	265ceec6-e9a8-499e-adf6-0c18c598532e

TCGA-AR-A0U2-01A-11D-A10G-09	BRCA	f0194733-2347-43c4-a4a3-131642c27798
TCGA-AR-A0U3-01A-11D-A10G-09	BRCA	c8251555-77d3-4a20-9cc0-f7df0fda5955
TCGA-AR-A0U4-01A-11D-A117-09	BRCA	ed064e31-8fae-4f9c-8455-d7517f94e16b
TCGA-AR-A1AH-01A-11D-A12B-09	BRCA	ff4a0f5a-9f30-4a2b-9915-62f2df5ad155
TCGA-AR-A1AI-01A-11D-A12Q-09	BRCA	842846ea-881c-4d79-88d2-fc1703c58350
TCGA-AR-A1AJ-01A-21D-A12Q-09	BRCA	4e1f9084-4729-4b3f-b036-6226d64fd25b
TCGA-AR-A1AK-01A-21D-A12Q-09	BRCA	52f7c22f-84cb-4263-93bf-1ae8cf8abbd2
TCGA-AR-A1AL-01A-21D-A12Q-09	BRCA	8495c66e-dc95-4eae-909b-b51b8bc84889
TCGA-AR-A1AN-01A-11D-A12Q-09	BRCA	9c879ced-92e8-4292-9b24-46005acab0f4
TCGA-AR-A1AO-01A-11D-A12Q-09	BRCA	b841db95-2eff-4181-8d44-3cde2f2f9e70
TCGA-AR-A1AP-01A-11D-A12Q-09	BRCA	597e37c9-f0c9-4839-800e-6e9519ec3add
TCGA-AR-A1AQ-01A-11D-A12Q-09	BRCA	88ff7728-ecc9-4ec5-817e-4793619ab5a4
TCGA-AR-A1AR-01A-31D-A135-09	BRCA	008ba655-a0a3-42c4-8c72-f1341365ef02
TCGA-AR-A1AS-01A-11D-A12Q-09	BRCA	3f26f93c-e11a-4ec9-b73b-98fcadc209f4

TCGA-AR-A1AT-01A-11D-A12Q-09	BRCA	7e00d4fa-b951-44d8-8fbf-fc7b9f19772e
TCGA-AR-A1AU-01A-11D-A12Q-09	BRCA	d7cfeb04-ce20-4aab-8e5b-8a1483bcaaa5
TCGA-AR-A1AV-01A-21D-A12Q-09	BRCA	0a0dd89c-5ec8-4015-9616-733e41361a64
TCGA-AR-A1AW-01A-21D-A12Q-09	BRCA	33c6b6b5-1484-4002-8f84-ba67525a8777
TCGA-AR-A1AX-01A-11D-A12Q-09	BRCA	71a3cf72-3539-4ade-97d1-6a1bd1ee4205
TCGA-AR-A1AY-01A-21D-A12Q-09	BRCA	15f90ef0-831b-40a3-98bd-ec226a9e8b26
TCGA-AR-A24H-01A-11D-A167-09	BRCA	6bb61dce-289d-4e39-8298-df5abe8049a2
TCGA-AR-A24K-01A-11D-A167-09	BRCA	df692383-1d6d-4caa-b44c-7a133ec4b7ee
TCGA-AR-A24L-01A-11D-A167-09	BRCA	2a93298a-d272-487c-ae4a-ec385844536e
TCGA-AR-A24M-01A-11D-A167-09	BRCA	722a8960-3a69-4f66-b972-74e6de94a1e8
TCGA-AR-A24N-01A-11D-A167-09	BRCA	b85b311c-1b29-44e3-8585-6995f9259221
TCGA-AR-A24O-01A-11D-A167-09	BRCA	2c9fc77f-951b-4764-911a-f0cff3174fb1
TCGA-AR-A24P-01A-11D-A167-09	BRCA	dbdcf82a-3d37-4cfb-a70b-9b69ada0e732
TCGA-AR-A24Q-01A-12D-A167-09	BRCA	a9d691f2-ad2a-4a3b-ae30-ed4af96d75f2

TCGA-AR-A24R-01A-11D-A167-09	BRCA	baf43433-0001-4495-a37f-9132eb213157
TCGA-AR-A24S-01A-11D-A167-09	BRCA	aad32a56-5b98-433e-bb6e-48e09a027db6
TCGA-AR-A24T-01A-11D-A167-09	BRCA	09991de6-2e8e-476f-987b-98d9a85dac7d
TCGA-AR-A24U-01A-11D-A167-09	BRCA	567cdc6c-df03-4642-8cbc-a269769ce1a1
TCGA-AR-A24V-01A-21D-A167-09	BRCA	bb77af66-bb8f-4590-9be8-5f729373c555
TCGA-AR-A24W-01A-11D-A17G-09	BRCA	454e7cd4-8424-4cad-8fbb-f69affa5d1bf
TCGA-AR-A24X-01A-11D-A167-09	BRCA	53d55f5a-df86-44d7-a3a2-2dccc2557b7b
TCGA-AR-A24Z-01A-11D-A167-09	BRCA	c11f2060-d3fb-4e3d-8058-b8cce44af519
TCGA-AR-A250-01A-31D-A167-09	BRCA	f7d9a372-fcd1-4462-9e0b-7eb46ddb68fd
TCGA-AR-A251-01A-12D-A167-09	BRCA	68b4de6d-352d-44e8-911a-f4541f28fc78
TCGA-AR-A252-01A-11D-A167-09	BRCA	e800d9b3-32a1-48eb-840b-9a3bec9d1f6e
TCGA-AR-A254-01A-21D-A167-09	BRCA	fe2bdac0-832e-4268-bd8f-5dcfffa1979
TCGA-AR-A255-01A-11D-A167-09	BRCA	505f1398-0bd8-4f1c-a142-651605158bf3
TCGA-AR-A256-01A-11D-A167-09	BRCA	ea43434b-197e-48ac-ae2e-46bc7f3776de

TCGA-B6-A0I2-01A-11W-A050-09	BRCA	a9cae7c8-a62b-46ad-a98b-82e6b5fddf00
TCGA-B6-A0I5-01A-11W-A100-09	BRCA	f1139266-fade-4d27-ac67-60870e666295
TCGA-B6-A0I6-01A-11D-A128-09	BRCA	a876398c-5b1d-444f-a360-5fe2db697480
TCGA-B6-A0I8-01A-11W-A050-09	BRCA	ba80b13a-e20a-441b-b845-b617cc861ce7
TCGA-B6-A0I9-01A-11W-A050-09	BRCA	d2291482-9bbb-4f8f-a65b-c0737cf3acea
TCGA-B6-A0IA-01A-11W-A050-09	BRCA	f7e5ada6-8f53-4765-a874-5ee9d258ad6a
TCGA-B6-A0IB-01A-11W-A050-09	BRCA	ff80d5cd-7aed-499f-a472-153cc40f65de
TCGA-B6-A0IC-01A-11W-A050-09	BRCA	f23fd730-0a18-4e3b-a2ed-f1a4231c2b53
TCGA-B6-A0IE-01A-11W-A050-09	BRCA	4cb39f50-5031-4b08-baa3-1a366ada6514
TCGA-B6-A0IG-01A-11W-A050-09	BRCA	e8046519-d928-4fd3-b3e2-84585aa4f022
TCGA-B6-A0IH-01A-11D-A10Y-09	BRCA	4a4488b9-74d9-4eb1-a7ef-c894c32db942
TCGA-B6-A0IJ-01A-11W-A050-09	BRCA	c63f9ddb-6301-400e-a0e8-197eea2efe75
TCGA-B6-A0IK-01A-12W-A071-09	BRCA	c5b1f426-562e-44e4-bcce-ce2ff6d969c8
TCGA-B6-A0IM-01A-11W-A050-09	BRCA	e99a4753-10db-4823-953d-e878a90e6b01

TCGA-B6-A0IN-01A-11W-A050-09	BRCA	ee2c9198-cea3-4a54-b96b-834a70c30d2f
TCGA-B6-A0IO-01A-11W-A050-09	BRCA	648cee86-f2e7-45a0-abf2-0ab0037e2eee
TCGA-B6-A0IP-01A-11D-A045-09	BRCA	94250f1c-d514-4dd2-b488-a93fbf111784
TCGA-B6-A0IQ-01A-11W-A050-09	BRCA	583964cf-84ad-4ef1-90d1-2f6bfbeb245a
TCGA-B6-A0RE-01A-11W-A071-09	BRCA	db2bd5cf-f0a7-4874-89eb-15029447dae1
TCGA-B6-A0RG-01A-11W-A071-09	BRCA	9431c642-610e-4325-97b8-8b4c5c81cacd
TCGA-B6-A0RH-01A-21D-A10Y-09	BRCA	6e59b987-b4f0-4078-af2d-482c299103b6
TCGA-B6-A0RI-01A-11W-A071-09	BRCA	50d83050-b98c-4a1a-a673-91dbc67c37c6
TCGA-B6-A0RL-01A-11D-A099-09	BRCA	0d28966d-e03b-4b2a-ba07-b8f195efc29b
TCGA-B6-A0RM-01A-11D-A099-09	BRCA	3e03385e-f0fa-4e11-8bed-c6316802e1a9
TCGA-B6-A0RN-01A-12D-A099-09	BRCA	bbbc493-2937-4a7b-8454-0abbbb379927
TCGA-B6-A0RO-01A-22D-A099-09	BRCA	05e12ff8-023b-4ac1-b35d-f97b42e3da7a
TCGA-B6-A0RP-01A-21D-A099-09	BRCA	efbdb449-b885-44bb-9054-9e97d6603cad
TCGA-B6-A0RQ-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f425edf3-0d08-49bf-94f6-f03343873a6c

TCGA-B6-A0RS-01A-11D-A099-09	BRCA	6b3ff733-402d-4390-8f57-57a9ad9b9969
TCGA-B6-A0RT-01A-21D-A099-09	BRCA	e1a297ed-1951-4d97-978c-56b452111ba5
TCGA-B6-A0RU-01A-11D-A099-09	BRCA	251371ac-ef46-4e11-b45e-a2aaa986a2d2
TCGA-B6-A0RV-01A-11D-A099-09	BRCA	39b0b605-29ae-4e2c-81dc-319446c807dd
TCGA-B6-A0WS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	271d1985-1b15-4828-8261-4415ab048de9
TCGA-B6-A0WT-01A-11D-A10G-09	BRCA	5fb780fb-12bc-4195-8f0c-2c6e3cc36b49
TCGA-B6-A0WV-01A-11D-A10G-09	BRCA	b92107c5-c46f-4606-b4e9-2dab55ca4e9c
TCGA-B6-A0WW-01A-11D-A10G-09	BRCA	e9d6f59d-7d87-4fda-ab6f-e9c2501b8600
TCGA-B6-A0WX-01A-11D-A10G-09	BRCA	47b5d831-5287-4f62-b17a-6e5eff2e4184
TCGA-B6-A0WY-01A-11D-A10G-09	BRCA	c973a902-abdf-41a3-8250-57011dfef1f4
TCGA-B6-A0WZ-01A-11D-A10G-09	BRCA	f6b8b1a9-370c-4023-b8bd-934e2a3d913a
TCGA-B6-A0X0-01A-21D-A10Y-09	BRCA	264fb6ef-65be-48fd-8216-6c493b620ad8
TCGA-B6-A0X1-01A-11D-A10G-09	BRCA	a492abf9-0cd3-402c-89e2-c49d650ef540
TCGA-B6-A0X4-01A-11D-A10G-09	BRCA	edbe95af-e727-4d0f-a2a4-a3c9f2afa901

TCGA-B6-A0X5-01A-21D-A10G-09	BRCA	da42f10b-d515-4678-a038-ed9c92a8b56b
TCGA-B6-A0X7-01A-11D-A10M-09	BRCA	be5f93af-844a-4adb-ad89-05bfeefa58cd
TCGA-B6-A1KC-01B-11D-A159-09	BRCA	fc3e822f-150d-47a7-a346-10919b42aa8c
TCGA-B6-A1KF-01A-11D-A13L-09	BRCA	fbfbc76-0524-4772-b918-1e8599a09d7f
TCGA-B6-A1KI-01A-11D-A14K-09	BRCA	d9374702-8fc6-48c0-bec5-5c1105e641dc
TCGA-B6-A1KN-01A-11D-A13L-09	BRCA	c1ad09c8-4237-48f0-b04c-7ee8ccaf8cf1
TCGA-BH-A0AU-01A-11D-A12Q-09	BRCA	d06209b8-8aba-44d8-b94a-990861c2324a
TCGA-BH-A0AV-01A-31D-A10Y-09	BRCA	9032b7fe-e38a-4641-a45e-67041668adc4
TCGA-BH-A0AW-01A-11W-A071-09	BRCA	82057159-dd32-49fd-9ee7-82b4668f39c3
TCGA-BH-A0AZ-01A-21D-A12Q-09	BRCA	e6d90bb8-ad96-4cb8-a96f-a8202fcbc58f
TCGA-BH-A0B0-01A-21D-A10Y-09	BRCA	4680fd93-33c8-4aee-942b-5c616acd02cf
TCGA-BH-A0B1-01A-12W-A071-09	BRCA	de20290a-1560-41fd-896b-a3ae1103423e
TCGA-BH-A0B4-01A-11W-A019-09	BRCA	83bee702-eb97-4216-a47e-d4e4eece279a
TCGA-BH-A0B5-01A-11D-A12Q-09	BRCA	dfa0f8ea-ae94-4673-9751-f6cdad26022a

TCGA-BH-A0B9-01A-11W-A071-09	BRCA	c57595bb-7953-4611-b0d1-3c2c40feb3b9
TCGA-BH-A0BD-01A-11W-A050-09	BRCA	eba2178f-6235-49c1-a49e-98de8ffdc6a0
TCGA-BH-A0BF-01A-21D-A12Q-09	BRCA	39221056-704b-4a23-9b8d-3178dd9e790d
TCGA-BH-A0BG-01A-11D-A10Y-09	BRCA	923ee16a-2c42-46ee-b2cb-82075f2dd603
TCGA-BH-A0BP-01A-11D-A10Y-09	BRCA	51405cf1-e844-4316-be17-85e8ad1de4a3
TCGA-BH-A0BR-01A-21W-A12T-09	BRCA	df82226e-2242-418b-9f5f-0a5e531826a4
TCGA-BH-A0BS-01A-11D-A12Q-09	BRCA	81e4b7a4-8d94-4d31-9c08-325ee04f5f36
TCGA-BH-A0BT-01A-11D-A12Q-09	BRCA	2299036e-7099-4b53-9143-5935442c3310
TCGA-BH-A0BZ-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1f07765a-3f2b-4b6f-88ef-0d7aab17a758
TCGA-BH-A0C1-01B-11D-A12B-09	BRCA	adebc709-8059-43c3-ad0e-a102fa1536ff
TCGA-BH-A0C3-01A-21D-A12Q-09	BRCA	ec57ee0f-949e-4eee-91c2-dd129d657065
TCGA-BH-A0C7-01B-11D-A10Y-09	BRCA	ba3b30c5-8179-49bd-aacd-53326bf356f8
TCGA-BH-A0DD-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1a59cd97-2ee8-4f82-b542-e2f35171bc01
TCGA-BH-A0DG-01A-21D-A12Q-09	BRCA	ec4d4cbc-d5d1-418d-a292-cad9576624fd

TCGA-BH-A0DI-01A-21D-A12Q-09	BRCA	3777748c-5614-4826-8cde-eb7ecefb8101
TCGA-BH-A0DO-01B-11D-A12B-09	BRCA	14649437-79a6-40bd-87b1-a278bfb2dcda
TCGA-BH-A0DS-01A-11W-A071-09	BRCA	6cfb5de9-ef59-4bc0-9ec2-f9bd5a9f2aee
TCGA-BH-A0DT-01A-21D-A12B-09	BRCA	30dbe353-86d5-40ed-84c2-dbddf7beb17b
TCGA-BH-A0DV-01A-21D-A12Q-09	BRCA	24ee6b1d-3594-4d12-91b3-8ad1b3c98f28
TCGA-BH-A0DX-01A-11D-A10Y-09	BRCA	bca403d9-48ff-4534-ba33-94b8fb9fee0f
TCGA-BH-A0E2-01A-11W-A071-09	BRCA	2703ce22-3ffa-4094-b3f1-1f573b5204a9
TCGA-BH-A0E6-01A-11W-A050-09	BRCA	1c55939a-ae58-4ed9-8a6e-01bae8ac12f7
TCGA-BH-A0E7-01A-11W-A050-09	BRCA	1ddc3a98-e0b9-4b8e-b3d3-9d39eb7d8264
TCGA-BH-A0E9-01B-11D-A10Y-09	BRCA	48ccd30d-0c71-4117-8ccb-013986f14e95
TCGA-BH-A0EA-01A-11D-A10Y-09	BRCA	561b8777-801a-49ed-a306-e7dafeb044b6
TCGA-BH-A0EB-01A-11W-A050-09	BRCA	3861ca01-bcc3-42a9-835d-1ef9f1a053bd
TCGA-BH-A0EE-01A-11W-A050-09	BRCA	68d16e6a-20a5-428f-89d0-a8a0deda80cc
TCGA-BH-A0EI-01A-11D-A10Y-09	BRCA	ee8e93e0-d08c-400e-8ed7-ae56d7aefbec

TCGA-BH-A0GY-01A-11W-A071-09	BRCA	db589949-1630-45b2-b09b-0312d3efd60b
TCGA-BH-A0GZ-01A-11W-A071-09	BRCA	068bd892-6fee-46c2-945f-34a6c6804070
TCGA-BH-A0H0-01A-11W-A071-09	BRCA	69110467-4cf5-4b5d-a2dd-b1c91e786959
TCGA-BH-A0H3-01A-11D-A12Q-09	BRCA	12d7dc75-2e4f-42f6-a067-fe6d7118a0b6
TCGA-BH-A0H6-01A-21W-A071-09	BRCA	bbed00d2-9791-464d-alba-28fd56a0504e
TCGA-BH-A0HA-01A-11D-A12Q-09	BRCA	95f2ee35-a485-4995-8205-01623d97da2d
TCGA-BH-A0HB-01A-11W-A071-09	BRCA	ed5f1077-62c1-43d8-8a27-56521bbdd8a5
TCGA-BH-A0HI-01A-11D-A099-09	BRCA	507213d0-ef1c-400c-8724-24cd6a39feb8
TCGA-BH-A0HL-01A-11W-A050-09	BRCA	1fd1db26-79e0-4018-8548-8fd20a96c479
TCGA-BH-A0HN-01A-11D-A099-09	BRCA	ada199c5-8015-481f-a46e-46fa42646cd8
TCGA-BH-A0HO-01A-11W-A050-09	BRCA	354172e7-3e54-4ec4-88fa-fd7781cc86ae
TCGA-BH-A0HP-01A-12D-A099-09	BRCA	ad52a8fb-7a76-4aa0-95fb-d6edab0fe2b2
TCGA-BH-A0HQ-01A-11W-A050-09	BRCA	f03af67f-3119-4ee4-a4b0-227d36f493ba
TCGA-BH-A0HU-01A-11W-A050-09	BRCA	b46f2619-5937-4847-bb38-fe6022225ab9

TCGA-BH-A0HW-01A-11W-A050-09	BRCA	706ec3be-bd65-4f42-b5cc-603f7f62c91a
TCGA-BH-A0HX-01A-21W-A071-09	BRCA	27df78cd-1f39-42f3-92e6-56664d4c472c
TCGA-BH-A0HY-01A-11W-A071-09	BRCA	a63c2000-9e41-4897-8b01-4723c382096e
TCGA-BH-A0RX-01A-21D-A099-09	BRCA	48115e9a-5027-455a-a88e-c3d991dbf966
TCGA-BH-A0W3-01A-11D-A10G-09	BRCA	3fa14183-e0c5-4dc2-bb4a-d8dd42f6578b
TCGA-BH-A0W4-01A-11D-A10G-09	BRCA	fdafddde-aff1-42b4-bf94-a95861eacf53
TCGA-BH-A0W5-01A-11D-A10G-09	BRCA	aca1d737-c24c-49fd-86c0-ab2b29cd28de
TCGA-BH-A0W7-01A-11D-A10Y-09	BRCA	7d20774c-6aac-4eb0-a876-1be14e0f3004
TCGA-BH-A0WA-01A-11D-A10G-09	BRCA	4076f947-a1f0-4101-9a79-79828eb3bbe3
TCGA-BH-A18F-01A-11D-A12B-09	BRCA	d414b3fe-b768-4a98-b285-5284bffa66f9
TCGA-BH-A18H-01A-11D-A12B-09	BRCA	d3c1b990-aae2-45f8-be28-8ccd192a0fab
TCGA-BH-A18I-01A-11D-A12B-09	BRCA	f0ca4831-d56d-4bae-b304-bb43c5d2f09b
TCGA-BH-A18J-01A-11D-A12B-09	BRCA	fd9923db-2a27-432e-a0c6-4c44e6ee1f53
TCGA-BH-A18K-01A-11D-A12B-09	BRCA	f75de986-bc8a-4ffe-9b35-011eee3a1446

TCGA-BH-A18L-01A-32D-A12B-09	BRCA	883cd3c9-2681-4822-8b22-29149a027514
TCGA-BH-A18M-01A-11D-A12B-09	BRCA	0e548c1e-cbb7-4432-8112-bb262a1ef9d9
TCGA-BH-A18N-01A-11D-A12B-09	BRCA	13c38ac4-c410-4602-83e3-9b80b4f93839
TCGA-BH-A18P-01A-11D-A12B-09	BRCA	add624a3-57e9-46be-9bcc-3e53d7c2dfb7
TCGA-BH-A18Q-01A-12D-A12B-09	BRCA	a4de6680-33c3-4f6f-8696-453470a00bcb
TCGA-BH-A18R-01A-11D-A12B-09	BRCA	42facac2-81d9-4a9f-b4f6-1de89a7662fc
TCGA-BH-A18S-01A-11D-A12B-09	BRCA	a01c12fc-a33e-4a06-8b69-ebe6d4f59c2b
TCGA-BH-A18T-01A-11D-A12B-09	BRCA	4e0ddfcb-e847-4132-bdce-aaee2e027b28
TCGA-BH-A18U-01A-21D-A12B-09	BRCA	a8400863-c145-4c6c-bcf3-e4cc4d816d22
TCGA-BH-A18V-01A-11D-A12B-09	BRCA	6150dd25-a8f4-4d9f-9da0-f956855ab67d
TCGA-BH-A1EN-01A-11D-A17G-09	BRCA	ca100ef0-be45-415f-909d-7172261d0084
TCGA-BH-A1EO-01A-11D-A135-09	BRCA	20131381-8a11-425d-8954-980e6ec7c427
TCGA-BH-A1ES-01A-11D-A135-09	BRCA	7ecda44b-e942-4077-9d18-2a844ec53c9d
TCGA-BH-A1ET-01A-11D-A135-09	BRCA	9bd66613-68ad-42c1-ab43-dac1386027f9

TCGA-BH-A1EU-01A-11D-A135-09	BRCA	dc578e75-e63c-4bdf-abfa-e2d063c9cd6d
TCGA-BH-A1EV-01A-11D-A135-09	BRCA	43fbe2a9-078a-4be2-b67c-b855329091f0
TCGA-BH-A1EW-01A-11D-A135-09	BRCA	c6f4b1b6-a8dd-4a9a-a500-b14a738fe18f
TCGA-BH-A1EX-01A-11D-A13L-09	BRCA	537b1685-0882-48ee-a38a-a05b5d1c8ba1
TCGA-BH-A1EY-01A-11D-A13L-09	BRCA	7c035023-8ea9-4504-8f03-9573745cb6ef
TCGA-BH-A1F0-01A-11D-A135-09	BRCA	3903b485-366d-4318-b17d-a0194f032bd8
TCGA-BH-A1F2-01A-31D-A13L-09	BRCA	a5c67494-d843-4b14-ba9c-d077396ed2dc
TCGA-BH-A1F5-01A-12D-A13L-09	BRCA	82121518-98d6-4db6-8be4-74bbe232a9ed
TCGA-BH-A1F6-01A-11D-A13L-09	BRCA	34eb095d-3d44-4c59-9ef5-94592ba97900
TCGA-BH-A1F8-01A-11D-A13L-09	BRCA	030cfc8a-7b43-4d73-8bfa-b68a47749e49
TCGA-BH-A1FC-01A-11D-A13L-09	BRCA	84c77098-03d0-4b22-afb1-797703e85c6c
TCGA-BH-A1FD-01A-11W-A14Q-09	BRCA	b372b5cd-4c38-4cd3-95e0-8708ce5437e7
TCGA-BH-A1FE-01A-11D-A13L-09	BRCA	5e71fc3a-a2f4-4899-9c1f-8fee1ef29e2e
TCGA-BH-A1FG-01A-11D-A13L-09	BRCA	311f2f1a-75c8-4fee-b31d-0815d71a3173

TCGA-BH-A1FH-01A-12D-A13L-09	BRCA	fd6bd486-6371-4892-863e-64838fcea624
TCGA-BH-A1FJ-01A-11D-A13L-09	BRCA	dc62eafd-b5ad-42b4-9665-11ba6b22cff5
TCGA-BH-A1FL-01A-11D-A13L-09	BRCA	bb84cbb1-7244-4d92-8977-a37dbafc47b4
TCGA-BH-A1FM-01A-11D-A13L-09	BRCA	7cb17736-03da-4f77-8397-145585a25b1e
TCGA-BH-A1FN-01A-11D-A13L-09	BRCA	bf92d76e-31ff-4273-82ea-982c4c26394b
TCGA-BH-A1FR-01A-11D-A13L-09	BRCA	a589f5ac-105c-45d6-96e1-55e3080f999c
TCGA-BH-A1FU-01A-11D-A14G-09	BRCA	9efd4bfb-d4e4-487e-8d1c-a19c2d62e3cf
TCGA-BH-A201-01A-11D-A14K-09	BRCA	df6e619f-67a5-49f3-9768-4826aa2c9d1b
TCGA-BH-A202-01A-11D-A14K-09	BRCA	e6feb69a-8827-4d43-94aa-036cf5150549
TCGA-BH-A203-01A-12D-A167-09	BRCA	128b9209-2201-428c-87e7-65690bfe3875
TCGA-BH-A204-01A-11D-A159-09	BRCA	2454d30f-1ca5-4f01-bfce-6ae10e84e75a
TCGA-BH-A208-01A-11D-A159-09	BRCA	ae749fbb-6de7-4c51-b9d6-80a2ce7b5a29
TCGA-BH-A209-01A-11D-A17G-09	BRCA	4eaf8116-4733-4865-8e22-5d03887bbc9b
TCGA-BH-A28Q-01A-11D-A16D-09	BRCA	0698379c-8f4e-460d-b7da-d3f6179dafd7

TCGA-C8-A12K-01A-21D-A10Y-09	BRCA	bcf92c27-3aa7-4449-9c7a-fc715789788f
TCGA-C8-A12L-01A-11D-A10Y-09	BRCA	998a465a-d084-4d7f-8c02-8c5be1e1ee27
TCGA-C8-A12M-01A-11D-A135-09	BRCA	9a0a7b93-da6e-45b7-9a6f-190d79552b49
TCGA-C8-A12N-01A-11D-A10Y-09	BRCA	e2af7f0c-3cf4-4ffe-b764-b4fd83bf7694
TCGA-C8-A12O-01A-11D-A10Y-09	BRCA	51dbda2a-106b-4597-aa49-609b677866c8
TCGA-C8-A12P-01A-11D-A10Y-09	BRCA	540fe594-0186-40d3-b519-c1ccebe82247
TCGA-C8-A12Q-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b6b4af38-7ebb-4fa8-9876-6d88d2b1e7e4
TCGA-C8-A12T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	961fae8a-d944-4866-b198-ea6f1e59a979
TCGA-C8-A12U-01A-11D-A10Y-09	BRCA	444a1ef9-819a-41dc-baef-22057225efcd
TCGA-C8-A12V-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b8728982-8254-4aa8-baa5-aaeb6d852260
TCGA-C8-A12W-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5fb924d9-3201-491b-90b1-fe8a6320b2d7
TCGA-C8-A12X-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f133a2e3-73a2-40b8-855f-e819e4d11630
TCGA-C8-A12Y-01A-11D-A12B-09	BRCA	d5c0a1a0-3d38-497b-9f47-107f06659cb1
TCGA-C8-A12Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	ae68cac5-e561-4094-98fa-2303cdaa6dbb

TCGA-C8-A130-01A-31D-A10Y-09	BRCA	da70101d-10c2-47ab-bce1-7757dcbb08a2
TCGA-C8-A131-01A-11D-A10Y-09	BRCA	df8c72f3-ca4f-4a15-8d58-976d9c796570
TCGA-C8-A132-01A-31D-A10Y-09	BRCA	c038ab30-af2f-4771-bf82-dcf19f32efab
TCGA-C8-A133-01A-32D-A12B-09	BRCA	641e848d-e3e2-46a7-ad42-5e5672639816
TCGA-C8-A134-01A-11D-A10Y-09	BRCA	a3e8738b-2456-4f08-bb3d-5debb4265f85
TCGA-C8-A135-01A-11D-A10Y-09	BRCA	6b47c22f-8b4e-40fd-9a12-18b539521224
TCGA-C8-A137-01A-11D-A10Y-09	BRCA	08778f40-d895-46f1-8e7b-122fc598418b
TCGA-C8-A138-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f3474e56-8457-4f0b-8a2f-58fdd8f58607
TCGA-C8-A1HE-01A-11D-A188-09	BRCA	8314bada-5bd3-4cd2-b308-4cb2db64de94
TCGA-C8-A1HF-01A-11D-A135-09	BRCA	508a26f2-d117-44aa-b579-00a119b8bcc4
TCGA-C8-A1HG-01A-11D-A135-09	BRCA	ba937e3d-30b7-4446-84fb-5f77831a4843
TCGA-C8-A1HI-01A-11D-A135-09	BRCA	75dc3bff-75da-4734-b930-a18fd3d1ebfe
TCGA-C8-A1HJ-01A-11D-A13L-09	BRCA	a62c3601-b90f-402f-8212-ffdfde3c6df8
TCGA-C8-A1HK-01A-21D-A13L-09	BRCA	357e0b08-fa33-4f58-92b0-d7293b63c01d

TCGA-C8-A1HL-01A-11D-A135-09	BRCA	88c9ef88-5d85-4a4b-9c68-d9ec709a1f07
TCGA-C8-A1HM-01A-12D-A135-09	BRCA	a2f9165d-9fe7-492e-9b4c-3cb4200c6e85
TCGA-C8-A1HN-01A-11D-A135-09	BRCA	a2576147-28eb-460f-9b97-916892d801e2
TCGA-C8-A1HO-01A-11D-A13L-09	BRCA	c6fb921c-78fe-4852-b2a5-edd5a02ae923
TCGA-C8-A26V-01A-11D-A16D-09	BRCA	6c5a83f5-983f-434c-ac29-ddb84a7f1019
TCGA-C8-A26W-01A-11D-A16D-09	BRCA	d3db354e-f22c-4576-a7d7-6515f1c11002
TCGA-C8-A26X-01A-31D-A16D-09	BRCA	a5bc549a-1a1f-41b4-b548-14c448fed6c7
TCGA-C8-A26Z-01A-11D-A16D-09	BRCA	fa4f7af6-380f-4dbd-ba6a-8c0d22f56a9c
TCGA-C8-A273-01A-11D-A16D-09	BRCA	c5e6f325-5fd0-4cff-8eaf-6e23e016f605
TCGA-C8-A274-01A-11D-A16D-09	BRCA	5e6e7c20-47b3-4f0e-a3c7-8293993e39cf
TCGA-C8-A275-01A-21D-A16D-09	BRCA	7751a837-2656-4e3b-9182-556314c4f6a3
TCGA-C8-A278-01A-11D-A167-09	BRCA	7bc48524-1f69-4d85-9d16-6db7844543bd
TCGA-C8-A27A-01A-11D-A167-09	BRCA	d0fd3dcc-4ac7-4fe9-9fb8-c0676b6faabb
TCGA-C8-A27B-01A-11D-A167-09	BRCA	11e43e41-54b8-4232-b078-5062288d3868

TCGA-D8-A13Y-01A-11D-A10Y-09	BRCA	8bb90325-028e-491a-bbaf-2cf4b3b87cd6
TCGA-D8-A13Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c3722c97-80f5-4eea-bf50-5a214134bbcc
TCGA-D8-A140-01A-11D-A10Y-09	BRCA	795f051e-01c4-4b49-b179-bd18ba24433c
TCGA-D8-A141-01A-11D-A10Y-09	BRCA	807791d8-b6c0-4722-bf5c-d5fa30baffc6
TCGA-D8-A143-01A-11D-A10Y-09	BRCA	db1763d1-fcae-4a01-a0cb-3019e292aa10
TCGA-D8-A145-01A-11D-A10Y-09	BRCA	af6ca646-499a-4e0a-a194-cacf72e5810b
TCGA-D8-A146-01A-31D-A10Y-09	BRCA	9a7548dc-fc79-4ad4-a324-0e9f63c91a20
TCGA-D8-A147-01A-11D-A10Y-09	BRCA	1f292323-cafc-4e45-bb4e-f5428e1a3276
TCGA-D8-A1J9-01A-11D-A13L-09	BRCA	6627e4b1-b34c-4aa2-836e-093061442a6d
TCGA-D8-A1JB-01A-11D-A13L-09	BRCA	54621c54-b7ef-48e4-aa68-e2fe10bf0afb
TCGA-D8-A1JC-01A-11D-A13L-09	BRCA	63a9d14f-d91a-47af-8ef6-8124193aa110
TCGA-D8-A1JD-01A-11D-A13L-09	BRCA	7df92725-fa63-494d-af9d-65c6ed76e023
TCGA-D8-A1JE-01A-11D-A13L-09	BRCA	bb34512b-2432-4256-968c-d7fdf38f126a
TCGA-D8-A1JF-01A-11D-A13L-09	BRCA	d31358da-639c-4fe5-9f7c-c17c31fd2865

TCGA-D8-A1JG-01B-11D-A13L-09	BRCA	0b15c6f7-8e3e-48ad-a4a2-97d2ada56c44
TCGA-D8-A1JH-01A-11D-A188-09	BRCA	9f59481d-be89-4361-8cc3-3f1d46702016
TCGA-D8-A1JI-01A-11D-A13L-09	BRCA	2c6a885b-0452-492c-8829-13ba4b2ac455
TCGA-D8-A1JJ-01A-31D-A14K-09	BRCA	412f96a6-6599-40a6-9dd2-afba8c643910
TCGA-D8-A1JK-01A-11D-A13L-09	BRCA	fadaa39d-ebd2-4887-ae54-1fca12287fcf
TCGA-D8-A1JL-01A-11D-A13L-09	BRCA	425dbc9f-6bee-412a-b77a-22a2724ea4c6
TCGA-D8-A1JM-01A-11D-A13L-09	BRCA	f66d4178-34f3-4f5d-aa0a-7fdd03801033
TCGA-D8-A1JN-01A-11D-A13L-09	BRCA	c83c7d48-8671-4f27-b3dd-05411fa2f784
TCGA-D8-A1JP-01A-11D-A13L-09	BRCA	1e21a355-0cb6-4a43-b134-50ff88dacf92
TCGA-D8-A1JS-01A-11D-A13L-09	BRCA	4a9181d0-d3df-4791-99f0-4db076c22a3a
TCGA-D8-A1JT-01A-31D-A13L-09	BRCA	3be3972f-4125-44c3-94d6-0ddba2008fcf
TCGA-D8-A1JU-01A-11D-A13L-09	BRCA	7bff4f75-749d-4a63-9a64-0bcf1cd615ea
TCGA-D8-A1X5-01A-11D-A14G-09	BRCA	db4526d4-e344-4b5a-bb66-fd43b41764ca
TCGA-D8-A1X6-01A-11D-A14K-09	BRCA	1951aa38-481b-464c-9a78-0819312a0a93

TCGA-D8-A1X7-01A-11D-A14K-09	BRCA	7acb4232-db95-4889-942e-f1be897b4f2a
TCGA-D8-A1X8-01A-11D-A14K-09	BRCA	78c3c787-5731-4c38-8d7a-e5b503b11c36
TCGA-D8-A1X9-01A-12D-A159-09	BRCA	b5f65c3a-b922-4a81-863d-59b72b08d1bf
TCGA-D8-A1XA-01A-11D-A14G-09	BRCA	a362780b-8917-4438-9693-ec9fa84c352a
TCGA-D8-A1XB-01A-11D-A14G-09	BRCA	e5ca0f82-6fa9-4d54-adc7-385721f351f3
TCGA-D8-A1XC-01A-11D-A14G-09	BRCA	68fd3045-073d-4242-8a41-41b707fca625
TCGA-D8-A1XF-01A-11D-A14G-09	BRCA	e1587f32-2ff9-40f3-97dd-b45b0f14be46
TCGA-D8-A1XG-01A-11D-A14G-09	BRCA	800ff536-ald2-4213-b85e-7780851c6378
TCGA-D8-A1XJ-01A-11D-A14K-09	BRCA	a37b27a2-c3b0-4f62-82a2-94e9205b1d6e
TCGA-D8-A1XL-01A-11D-A14K-09	BRCA	28d44e6e-c73f-4788-8ad4-2bd6572f643d
TCGA-D8-A1XM-01A-21D-A14K-09	BRCA	07418962-0a82-43a2-a66f-614903ea8380
TCGA-D8-A1XO-01A-11D-A14K-09	BRCA	b5ff68a2-da74-4608-941e-dbac40153077
TCGA-D8-A1XR-01A-11D-A14K-09	BRCA	5913c8ff-26ce-4f26-909e-3ed292d3c538
TCGA-D8-A1XS-01A-11D-A14K-09	BRCA	5d302c04-302e-4040-9429-37cd672e8d53

TCGA-D8-A1XT-01A-11D-A14K-09	BRCA	bc13601e-3e03-4d7d-8e6e-5b05ff500ea3
TCGA-D8-A1XU-01A-11D-A14K-09	BRCA	55c547ee-7cc9-4b7a-aaca-22f2a8c8c3a4
TCGA-D8-A1XV-01A-11D-A14K-09	BRCA	a76adfd1-8c89-4c13-b570-5ccc47043a70
TCGA-D8-A1XW-01A-11D-A14K-09	BRCA	f29405cc-d712-4562-ac02-ca3c89fb82af
TCGA-D8-A1XY-01A-11D-A14K-09	BRCA	edb6d161-8f50-4c11-8246-487c4ea9a55d
TCGA-D8-A1XZ-01A-11D-A14K-09	BRCA	381a9211-1f2b-4c14-895b-ee7fb6eb8c7f
TCGA-D8-A1Y0-01A-11D-A14K-09	BRCA	33ff7870-fa76-4e48-a223-a8e2441d8f53
TCGA-D8-A1Y1-01A-21D-A14K-09	BRCA	2ea6e540-6e2f-48a5-99e3-27a0107d07b7
TCGA-D8-A1Y2-01A-11D-A159-09	BRCA	9dbf62eb-0de7-4410-b44b-fdf59026d8e6
TCGA-D8-A1Y3-01A-11D-A159-09	BRCA	64fa29ff-534f-4b22-b0c4-513e8657edb1
TCGA-D8-A27E-01A-11D-A16D-09	BRCA	eab47cbb-eab0-4dd6-9cd0-f2700e5b6227
TCGA-D8-A27F-01A-11D-A16D-09	BRCA	fc6d77a9-121b-48ab-a899-713c3d1319a2
TCGA-D8-A27H-01A-11D-A16D-09	BRCA	78e51220-c9f8-44b2-bc1c-b34a56af3b54
TCGA-D8-A27I-01A-11D-A16D-09	BRCA	47c0db0a-fc37-4fa0-832c-e67f089d3889

TCGA-D8-A27K-01A-11D-A16D-09	BRCA	09fa0bc7-acb3-45b0-b687-977869c31d12
TCGA-D8-A27L-01A-11D-A16D-09	BRCA	10666107-dffb-4c51-b3ee-71e70cde7c88
TCGA-D8-A27M-01A-11D-A16D-09	BRCA	cb9257f9-ca3f-4c14-a680-6632175dd526
TCGA-D8-A27N-01A-11D-A16D-09	BRCA	6a411174-582a-4c68-bb04-5ea2e504bf7c
TCGA-D8-A27P-01A-11D-A16D-09	BRCA	94011b46-74e3-41c1-a3f6-6db1821d1778
TCGA-D8-A27R-01A-11D-A16D-09	BRCA	27741c13-8d5f-43b8-8651-caf69acef0e4
TCGA-D8-A27T-01A-11D-A16D-09	BRCA	ecabcc6a-2767-4ad8-ac4f-54cc3d081b6e
TCGA-D8-A27W-01A-11D-A16D-09	BRCA	b045d675-286b-4cf8-aed4-c7ff81a78919
TCGA-E2-A105-01A-11D-A10M-09	BRCA	2441f3e0-2016-4313-8c05-486759f5dd0f
TCGA-E2-A107-01A-11D-A10M-09	BRCA	5804fc1c-063b-429d-a652-22b0de416bd6
TCGA-E2-A108-01A-13D-A10M-09	BRCA	e3e394d4-2593-4bf9-86e4-2e79d8cb8dab
TCGA-E2-A109-01A-11D-A10M-09	BRCA	3585e133-b3c1-4d90-b5f2-2b867e0ae0ec
TCGA-E2-A10A-01A-21D-A10Y-09	BRCA	cd49ccc5-a776-4307-930c-298ba6cfd79
TCGA-E2-A10B-01A-11D-A10M-09	BRCA	9d712002-74cb-459a-b350-e9a4b49aac13

TCGA-E2-A10C-01A-21D-A10M-09	BRCA	2750ed41-0bd4-4cf4-98f5-762957cf80b7
TCGA-E2-A10F-01A-11D-A10M-09	BRCA	530b7e22-e70a-46ef-a0e8-bf2ef814850a
TCGA-E2-A14N-01A-31D-A135-09	BRCA	00c8d151-2223-4e36-8c66-6c09e42d8777
TCGA-E2-A14O-01A-31D-A10Y-09	BRCA	d6ab6f8d-0e65-40a3-bf98-7249e4075395
TCGA-E2-A14P-01A-31D-A12B-09	BRCA	35a96eee-113b-45cb-a999-81c13545b104
TCGA-E2-A14Q-01A-11D-A12B-09	BRCA	ee51cf6d-351f-48f8-ab93-639c27c50e9f
TCGA-E2-A14R-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c7212115-1007-40cf-b9b5-7b25e2f5f2a4
TCGA-E2-A14S-01A-11D-A12B-09	BRCA	78f39325-e1d0-4181-87f4-cb7f00e886d7
TCGA-E2-A14T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	14c1c6b6-575e-416b-b219-15552b62ea74
TCGA-E2-A14V-01A-11D-A12B-09	BRCA	703314fe-bfd5-45d5-9ed5-fcdce8a19fd6
TCGA-E2-A14W-01A-11D-A12B-09	BRCA	fbdc8659-e9cc-483f-bd0a-1a24b5ada1cf
TCGA-E2-A14X-01A-11D-A10Y-09	BRCA	74039acd-5aca-4c65-818c-3b577d295be0
TCGA-E2-A14Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c83eaaca-ced5-4630-abb5-ef34db888753
TCGA-E2-A150-01A-11D-A12B-09	BRCA	446064de-ff64-4113-9080-360e5bf6d5e4

TCGA-E2-A152-01A-11D-A12B-09	BRCA	b266b370-425c-4146-8b72-59248436618e
TCGA-E2-A154-01A-11D-A10Y-09	BRCA	336e39fb-d407-4ced-b7bb-e8ff5329abdb
TCGA-E2-A155-01A-11D-A12B-09	BRCA	a966904f-e8dd-473c-8626-84c25d7e0d6c
TCGA-E2-A156-01A-11D-A12B-09	BRCA	26003dce-0fc6-4538-a392-c80e1ebaa1e4
TCGA-E2-A159-01A-11D-A10Y-09	BRCA	757c8a2d-90cf-4dab-a4dd-45f3cbdeaeeb
TCGA-E2-A15A-01A-11D-A12B-09	BRCA	b7e3eff1-65d5-491f-a726-35dc6752b370
TCGA-E2-A15C-01A-31D-A12B-09	BRCA	10c594a1-0843-4740-9d96-00211a9509fb
TCGA-E2-A15D-01A-11D-A10Y-09	BRCA	891295d6-4dd0-4ab4-bbce-13da7f3c30d0
TCGA-E2-A15E-01A-11D-A12B-09	BRCA	c6f107df-1186-4d6d-b5b5-2393e9369dd1
TCGA-E2-A15F-01A-11D-A10Y-09	BRCA	33edf937-b09f-49ec-8f4c-e05dee7ece1f
TCGA-E2-A15G-01A-11D-A12B-09	BRCA	d45bb60a-e73b-4b95-8637-e8d17fcca745
TCGA-E2-A15H-01A-11D-A12B-09	BRCA	7875c5b3-ced2-4669-a3d5-45739b850af7
TCGA-E2-A15I-01A-21D-A135-09	BRCA	9bec02b4-7cf0-4797-b1ac-253ef78a34af
TCGA-E2-A15J-01A-11D-A12Q-09	BRCA	e5fd7cbd-8fce-49e9-8d2c-d2a2e61367a5

TCGA-E2-A15O-01A-11D-A10Y-09	BRCA	39c1df91-b670-4f6b-b5ff-dbb6b66d30af
TCGA-E2-A15P-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5f1853c2-6579-42d0-adc2-636b5de543e4
TCGA-E2-A15R-01A-11D-A10Y-09	BRCA	11799240-0275-48fe-84ef-85e188839bbe
TCGA-E2-A15S-01A-11D-A10Y-09	BRCA	01f78efa-ba0b-4263-81fd-d3d8ea1bc5fd
TCGA-E2-A15T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	eff74709-36af-4da4-91c1-01100ddc7735
TCGA-E2-A1AZ-01A-11D-A12Q-09	BRCA	f961c932-cf37-47c8-8520-8d0d444dc94f
TCGA-E2-A1B0-01A-11D-A12Q-09	BRCA	14e3b00c-cbec-4733-8fa4-829b8e7d9808
TCGA-E2-A1B1-01A-21D-A12Q-09	BRCA	a6e77a14-e5e5-452e-a46f-5629ee8228e3
TCGA-E2-A1B4-01A-11D-A12Q-09	BRCA	a6aa4529-7996-4b66-9632-2559293db35d
TCGA-E2-A1B6-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1aaf88fc-f7cb-4239-a420-224352194160
TCGA-E2-A1BD-01A-11D-A12Q-09	BRCA	f5ac1986-272b-48d2-9a73-4a550e38a997
TCGA-E2-A1IE-01A-11D-A188-09	BRCA	e416f05b-c7d2-479b-8068-803492e86d86
TCGA-E2-A1IF-01A-11D-A142-09	BRCA	7751c2d5-e548-4439-aac1-e7b9dce97583
TCGA-E2-A1IG-01A-11D-A142-09	BRCA	84da47a3-49e1-4f94-bea9-dd20b6627adb

TCGA-E2-A1IH-01A-11D-A188-09	BRCA	cd886e35-4201-4732-90c6-142d8fe309b1
TCGA-E2-A1II-01A-11D-A142-09	BRCA	698c8a73-c6b6-45bd-82fc-9bd0f140729d
TCGA-E2-A1IJ-01A-11D-A142-09	BRCA	3aff2da1-1647-4b95-abdb-c9db923cfc22
TCGA-E2-A1IK-01A-11D-A17G-09	BRCA	8577ac01-1274-4bd5-ab04-380eaa78d95b
TCGA-E2-A1IL-01A-11D-A14G-09	BRCA	1540ae03-7bb4-418b-afbc-44bf3ad60a31
TCGA-E2-A1IN-01A-11D-A13L-09	BRCA	9e85559f-098e-4b0f-8034-4798789e710b
TCGA-E2-A1IO-01A-11D-A142-09	BRCA	986e9b9f-ae15-4743-a150-d6ee11f3c077
TCGA-E2-A1IU-01A-11D-A14G-09	BRCA	7fcd5fda-8155-4b48-afb9-9e7958627113
TCGA-E2-A1L6-01A-11D-A13L-09	BRCA	f610239f-5610-4d7b-bc31-ae3ccb9c425d
TCGA-E2-A1L7-01A-11D-A142-09	BRCA	33a09072-6554-4d46-b738-0852624940af
TCGA-E2-A1L8-01A-11D-A13L-09	BRCA	04a7762f-2cbb-498b-ab4e-921406c1aec0
TCGA-E2-A1L9-01A-11D-A13L-09	BRCA	a50cd2b2-913d-41bf-94ad-45464547b348
TCGA-E2-A1LA-01A-11D-A142-09	BRCA	bdcd4800-3258-446f-b6e5-3c8e2f46c656
TCGA-E2-A1LB-01A-11D-A142-09	BRCA	377b1816-61e1-431a-9952-71e4d58bbd48

TCGA-E2-A1LG-01A-21D-A14K-09	BRCA	7cdbe0e8-f614-4f54-b864-fd6b39e8ef1c
TCGA-E2-A1LH-01A-11D-A14G-09	BRCA	605f1d27-db45-449a-a68f-4888b8c786a1
TCGA-E2-A1LI-01A-12D-A159-09	BRCA	c812374c-8bc9-4ccf-9157-fbd9d162ee1e
TCGA-E2-A1LK-01A-21D-A14G-09	BRCA	4e84eed6-82a8-4e91-b0fd-61ec6ef69ce9
TCGA-E2-A1LL-01A-11D-A142-09	BRCA	47312f61-5ef4-4f25-9320-8fbb4758790e
TCGA-E2-A1LS-01A-12D-A159-09	BRCA	40087f80-85f6-4cc4-95c9-0639153dd3f4
TCGA-E9-A1N3-01A-12D-A159-09	BRCA	6c3891a9-baa9-4309-9974-d82fd5f97417
TCGA-E9-A1N4-01A-11D-A14K-09	BRCA	a3784a48-47a7-4587-91dd-5b8873a24ca9
TCGA-E9-A1N5-01A-11D-A14G-09	BRCA	432a9f5e-0f2a-4cd2-a910-ee9ee30c1ff3
TCGA-E9-A1N8-01A-11D-A142-09	BRCA	cac57844-0e46-489b-8d94-ceea5788c050
TCGA-E9-A1N9-01A-11D-A14G-09	BRCA	2aa7a1db-40a5-421b-97ab-1031e6fa7f04
TCGA-E9-A1NA-01A-11D-A142-09	BRCA	a3d223eb-20e6-40b9-9f07-e5f865bd2439
TCGA-E9-A1NC-01A-12W-A16L-09	BRCA	2ba4c398-b94b-49f8-bb88-9d0cb3347d2c
TCGA-E9-A1ND-01A-11D-A142-09	BRCA	8e72652d-3b99-47b2-87fe-04b96b243722

TCGA-E9-A1NE-01A-21D-A14K-09	BRCA	dbd34322-ac40-41f0-acc7-7bfd06afdf67
TCGA-E9-A1NF-01A-11D-A14G-09	BRCA	cd428bec-fc31-4d2d-9e6c-c8f30608d797
TCGA-E9-A1NG-01A-21D-A14K-09	BRCA	1cbf389d-1ec8-4543-880f-4ef64c55a44b
TCGA-E9-A1NH-01A-11D-A14G-09	BRCA	13c312ec-0add-4758-ab8d-c193e2e08c6d
TCGA-E9-A1NI-01A-11W-A16H-09	BRCA	3bf0b169-f870-4887-be06-414f20f1dcf0
TCGA-E9-A1QZ-01A-21D-A167-09	BRCA	2d47b244-e5e4-4645-91cb-71de1d685a95
TCGA-E9-A1R0-01A-22D-A16D-09	BRCA	c09eaa03-c14c-4a96-a505-4d999e45270e
TCGA-E9-A1R2-01A-11D-A14G-09	BRCA	b321a2d9-5345-4891-b450-bfd696c6cfb0
TCGA-E9-A1R3-01A-31D-A14K-09	BRCA	ba6af877-7a23-4738-a867-01a5dd8a8050
TCGA-E9-A1R4-01A-21D-A14G-09	BRCA	15d9c916-a12e-48a0-8a0f-8c240c54bd37
TCGA-E9-A1R5-01A-11D-A14K-09	BRCA	a04ba6e9-2bc4-4cab-96d8-0820e0390d84
TCGA-E9-A1R6-01A-11D-A14G-09	BRCA	b8a1805d-a43a-4433-a90b-01715e8cc554
TCGA-E9-A1R7-01A-11D-A14K-09	BRCA	b3991854-6634-4428-bef7-a7d9ad9cca30
TCGA-E9-A1RA-01A-11D-A14G-09	BRCA	6d067461-2002-468e-934d-2721f6cb97ff

TCGA-E9-A1RB-01A-11D-A17G-09	BRCA	2ce0333c-deca-4199-a06c-ede43c5575fc
TCGA-E9-A1RC-01A-11D-A159-09	BRCA	5b5e7eb2-8efc-4681-ab8c-49a9cc4ac6d6
TCGA-E9-A1RD-01A-11D-A159-09	BRCA	23f7a698-eab1-40f1-926c-c95d4ed8213d
TCGA-E9-A1RE-01A-11D-A159-09	BRCA	4a9c0873-f496-48a4-853c-2b41b2dbaa9e
TCGA-E9-A1RF-01A-11D-A159-09	BRCA	43983619-d863-4816-a334-445f6ca36541
TCGA-E9-A1RG-01A-11D-A14G-09	BRCA	81896525-0e3f-47ff-9b0d-95b45aef718c
TCGA-E9-A1RH-01A-21D-A167-09	BRCA	2ecb84c0-c307-4fa9-85e3-2f722dd365a3
TCGA-E9-A1RI-01A-11D-A167-09	BRCA	661c0074-dac9-44c6-bebc-202cfb9fb735
TCGA-E9-A226-01A-21D-A159-09	BRCA	866e5e9b-4e6c-49e2-9ea6-560f9bd99c2b
TCGA-E9-A227-01A-11D-A159-09	BRCA	15eb25c4-f4a7-446e-b654-ae39ccd2cf00
TCGA-E9-A228-01A-31D-A159-09	BRCA	4a804a8d-7dc8-4b5b-9537-b7f8f7133bda
TCGA-E9-A229-01A-31D-A17G-09	BRCA	a27fa57d-d1ad-4534-a933-0fdcc5f06a8c
TCGA-E9-A22A-01A-11D-A159-09	BRCA	25bf7831-6878-4bac-b23d-e94a555b2232
TCGA-E9-A22B-01A-11D-A159-09	BRCA	e46a5d19-2dd7-4c34-8fff-6276278c58b3

TCGA-E9-A22D-01A-11D-A159-09	BRCA	3dfdc7fd-3f69-4297-a4cf-1a05b75d302f
TCGA-E9-A22E-01A-11D-A159-09	BRCA	a1d7dafc-a755-44a6-b45b-dc6aae309d3e
TCGA-E9-A22G-01A-11D-A159-09	BRCA	2be1b92a-6041-4d2b-9cf8-b9723921987f
TCGA-E9-A22H-01A-11D-A159-09	BRCA	42993dbb-b99b-4b48-8038-05cf14fec886
TCGA-E9-A243-01A-21D-A167-09	BRCA	c6bb16c6-cb0f-44c6-93e7-6c55d0958f82
TCGA-E9-A244-01A-11D-A167-09	BRCA	9edf63e8-ae94-4b2f-8521-b56dad21cd5
TCGA-E9-A245-01A-22D-A16D-09	BRCA	bdd591f9-21d1-4ce5-bfde-30e7ac3d440a
TCGA-E9-A247-01A-11D-A167-09	BRCA	7c184a2b-d857-444a-936c-43e38a196df9
TCGA-E9-A248-01A-11D-A167-09	BRCA	fee90b4e-f005-4b40-a9af-d1e590b1e8a8
TCGA-E9-A249-01A-11D-A167-09	BRCA	2799ad7e-d6f0-4919-b7f6-1c957b4c74f8
TCGA-E9-A24A-01A-11D-A167-09	BRCA	d11d3770-a4f4-4d15-94f4-149cca27d391
TCGA-E9-A295-01A-11D-A16D-09	BRCA	f3d5e986-046f-4f75-8abc-67a3b99f742d
TCGA-EW-A1IW-01A-11D-A13L-09	BRCA	8b8732c3-78b1-409b-bc8c-c482575361bb
TCGA-EW-A1IX-01A-12D-A142-09	BRCA	01ea194f-dc06-4e15-9b9e-1c73668040e0

TCGA-EW-A1IY-01A-11D-A188-09	BRCA	01d3fddf-b447-4925-a5cb-c5fd70c97278
TCGA-EW-A1IZ-01A-11D-A188-09	BRCA	18db4143-48cc-424c-8d23-46cf23056528
TCGA-EW-A1J1-01A-11D-A188-09	BRCA	4b8d51b3-8393-45d4-a73d-3c22c561d6f3
TCGA-EW-A1J2-01A-21D-A13L-09	BRCA	c906931e-dc1a-434c-96cd-58088762f1e7
TCGA-EW-A1J3-01A-11D-A13L-09	BRCA	ac13b81a-ca05-432c-918a-0c9c8170bf46
TCGA-EW-A1J5-01A-11D-A13L-09	BRCA	98bb3025-0637-4106-8621-12df7b5d662f
TCGA-EW-A1J6-01A-11D-A188-09	BRCA	d95c5cb1-d081-47fa-8ac0-1ade7652a0af
TCGA-EW-A1OV-01A-11D-A142-09	BRCA	e27ca8f5-3f76-4531-87ea-ba3a44f6830d
TCGA-EW-A1OX-01A-11D-A142-09	BRCA	7828f9cf-aa93-44a0-8070-efdf90a677f0
TCGA-EW-A1OY-01A-11D-A142-09	BRCA	925323a2-ca03-48f4-8c37-1a8a6f8a6daa
TCGA-EW-A1OZ-01A-11D-A142-09	BRCA	a73152be-2293-403d-940b-74ac05810808
TCGA-EW-A1P0-01A-11D-A142-09	BRCA	6475f4dd-782c-411a-b7ce-9c9ebd0753b8
TCGA-EW-A1P1-01A-31D-A14G-09	BRCA	28a56927-bab8-4a8c-be11-f46e37ea34c1
TCGA-EW-A1P3-01A-11D-A142-09	BRCA	e783933d-1c24-4cd5-82b7-0d680f9c3c22

TCGA-EW-A1P4-01A-21D-A142-09	BRCA	204e4ef3-e6b8-469f-9024-56c6f6f07afd
TCGA-EW-A1P5-01A-11D-A142-09	BRCA	84b4da42-9b73-4448-9185-a12857ab422f
TCGA-EW-A1P6-01A-11D-A142-09	BRCA	eef5cea9-82f6-4001-8e2c-701e43a9787a
TCGA-EW-A1P7-01A-21D-A142-09	BRCA	402abf40-5a01-467d-a5be-b9101743f34b
TCGA-EW-A1P8-01A-11D-A142-09	BRCA	e55f338f-97e2-4394-ae23-c92606069485
TCGA-EW-A1PA-01A-11D-A142-09	BRCA	56c8aca4-b3bd-4791-b05d-0b2338b6346d
TCGA-EW-A1PB-01A-11D-A142-09	BRCA	9ddf2119-a222-4fa5-a9f3-0bec7eeea36b
TCGA-EW-A1PD-01A-11D-A142-09	BRCA	5a288561-bf14-4cb9-b2f5-9ece0e038319
TCGA-EW-A1PE-01A-11D-A142-09	BRCA	54377bac-8f52-4116-b7e5-b71a8a721ac4
TCGA-EW-A1PG-01A-11D-A142-09	BRCA	bd3801e2-c5bb-4116-9ce3-97903fc6956e
TCGA-EW-A1PH-01A-11D-A14K-09	BRCA	ce860c6f-c87a-4a45-92df-ca34bfb2e8b2
TCGA-GI-A2C8-01A-11D-A16D-09	BRCA	535a899d-67ca-4500-8dda-63a331a3611c
TCGA-AA-3664-01A-01W-0900-09	COAD	9cff122a-9960-4f2e-ba5b-94736bad7f2b
TCGA-AA-3666-01A-02W-0900-09	COAD	d7065ea5-88b0-4b56-a367-5defa0d9ed27

TCGA-AA-3667-01A-01W-0900-09	COAD	c2799cdc-c6f7-44ba-a72c-e1632b434575
TCGA-AA-3672-01A-01W-0900-09	COAD	04dc0b16-834c-4351-b3b9-58fe558c634d
TCGA-AA-3673-01A-01W-0900-09	COAD	7952f001-8901-44b4-833e-824282967118
TCGA-AA-3678-01A-01W-0900-09	COAD	968fea30-df40-425f-87ba-935942dbd450
TCGA-AA-3679-01A-02W-0900-09	COAD	94cfbc05-df22-4db0-9aa0-808faab01c61
TCGA-AA-3680-01A-01W-0900-09	COAD	20dd1d44-2321-4a84-b8b9-894073c6acd3
TCGA-AA-3681-01A-01W-0900-09	COAD	e5fea94c-f2ab-4476-b641-f2764eb0d026
TCGA-AA-3684-01A-02W-0900-09	COAD	6ecc0812-6ce3-4569-9868-6c4936236682
TCGA-AA-3685-01A-02W-0900-09	COAD	db8d5d6c-c200-4ffc-a1bb-8465044cefad
TCGA-AA-3688-01A-01W-0900-09	COAD	7224118e-b762-4e72-8bee-9e87c37aac7f
TCGA-AA-3692-01A-01W-0900-09	COAD	6e2f4d01-6413-473e-98f4-9256ca4285d5
TCGA-AA-3693-01A-01W-0900-09	COAD	45ea6cb9-8d5e-4470-bd07-a2c59ddc5cf0
TCGA-AA-3695-01A-01W-0900-09	COAD	db143a45-b2c5-4dce-98d4-d15dccc5b757
TCGA-AA-3696-01A-01W-0900-09	COAD	9e1f1824-12e2-42be-aa57-e0d0b4079a4c

TCGA-AA-3715-01A-01W-0900-09	COAD	554258ce-99c3-49a3-bfbf-131ec867a0e9
TCGA-AA-3812-01A-01W-0900-09	COAD	28087364-af53-4ac4-b1b2-bbe54b71c040
TCGA-AA-3814-01A-01W-0900-09	COAD	733e8b21-718b-405d-b860-ed36c70a8411
TCGA-AA-3818-01A-01W-0900-09	COAD	9ddb06a8-300e-40d2-8f6a-c851e2f90d90
TCGA-AA-3819-01A-01W-0900-09	COAD	0192a572-a235-400d-8fb1-af81e40d3763
TCGA-AA-3831-01A-01W-0900-09	COAD	7843d5c1-373d-4a55-82b8-db2f8ead890c
TCGA-AA-3833-01A-01W-0900-09	COAD	9ea5c555-6e44-4313-8572-779a099efaaa
TCGA-AA-3837-01A-01W-0900-09	COAD	888c1825-a44b-49cb-bed1-09db01e54b75
TCGA-AA-3848-01A-01W-0900-09	COAD	729fbad4-0152-44e5-b26b-dffc1f7dcf70
TCGA-AA-3852-01A-01W-0900-09	COAD	1ee1ab0a-cd8c-49d5-ab8c-0d2a2f94724f
TCGA-AA-3854-01A-01W-0900-09	COAD	2a7ecd84-d49c-484c-a918-381769835ebc
TCGA-AA-3856-01A-01W-0900-09	COAD	7a07d137-7936-486d-aeb5-6d9598fe4660
TCGA-AA-3858-01A-01W-0900-09	COAD	99e41f17-b760-4b34-8230-39aa42db46fd
TCGA-AA-3860-01A-02W-0900-09	COAD	57869735-96fd-4439-ba2d-583df6fc32a0

TCGA-AA-3875-01A-01W-0900-09	COAD	06e6b2e8-634e-4b03-989e-0d192b60b64a
TCGA-AA-3966-01A-01W-1073-09	COAD	689f1a40-4315-48bc-8b05-75d800e17b44
TCGA-AA-3994-01A-01W-1073-09	COAD	4348f66a-e104-4fdd-bdee-2f346832835d
TCGA-AA-A004-01A-01W-A00E-09	COAD	0b856311-aa63-44b7-a191-9d6d8308c3d0
TCGA-AA-A00N-01A-02W-A00E-09	COAD	dfb1aec9-d196-49e6-bdb1-9318222b8121
TCGA-AA-A00O-01A-02W-A00E-09	COAD	0328eea5-c89c-4462-8af8-48a28ed38537
TCGA-AA-A010-01A-01W-A00E-09	COAD	77cdcb19-16fa-4330-921c-e21f17c2298e
TCGA-AA-A017-01A-01W-A00E-09	COAD	a0ad6347-d20c-494a-a094-b816c4fec5de
TCGA-AA-A01D-01A-01W-A00E-09	COAD	e00404be-0bea-4893-89cf-cc24073f10b1
TCGA-AA-A01I-01A-02W-A00E-09	COAD	ee78a7e5-6ddb-4d06-8fb1-ba7300af59e1
TCGA-AA-A01K-01A-01W-A00E-09	COAD	7b7c405e-65c8-4633-ac54-0a112fb478ac
TCGA-AA-A024-01A-02W-A00E-09	COAD	45a6b8e2-a4a7-400e-ba7a-f93c29f50fe4
TCGA-AA-A029-01A-01W-A00E-09	COAD	41be5565-479e-4c56-b48b-1de52dad2299
TCGA-AA-A02F-01A-01W-A00E-09	COAD	68c4226b-dfbd-4130-b50e-94839bcb1b0f

TCGA-AA-A02H-01A-01W-A00E-09	COAD	1cbf3771-fb49-4517-83ba-8e112fcb1d00
TCGA-AA-A02J-01A-01W-A00E-09	COAD	5d03450f-b249-4dcd-927b-713158acc8b2
TCGA-AA-A02W-01A-01W-A00E-09	COAD	2104138f-b09d-4452-91e1-c4a10382f009
TCGA-AY-4070-01A-01W-1073-09	COAD	a7a74785-31cf-4527-bae2-991d7df97b5f
TCGA-AY-4071-01A-01W-1073-09	COAD	80aa3f17-b072-4e59-a6fc-1afe016fa477
TCGA-02-0003-01A-01D-1490-08	GBM	458f13e0-34f3-4a92-b3b3-9a3c2ee3ef23
TCGA-02-0033-01A-01D-1490-08	GBM	39d1f122-31d0-4e1c-95a7-0e65e75b1457
TCGA-02-0047-01A-01D-1490-08	GBM	ce03026e-b756-43a2-972d-b3a4dcda5491
TCGA-02-0055-01A-01D-1490-08	GBM	9cd89af4-5118-4adb-aa1d-fbd03bf42a33
TCGA-02-2470-01A-01D-1494-08	GBM	0b35f2ff-2a08-4585-a1a9-cfc6a9f5b224
TCGA-02-2483-01A-01D-1494-08	GBM	4d7f2c74-862b-4aad-98e1-fa831f14a905
TCGA-02-2485-01A-01D-1494-08	GBM	0332b017-17d5-4083-8fc4-9d6f8fdbbbde
TCGA-02-2486-01A-01D-1494-08	GBM	3331813c-f538-4833-b5eb-a214b7d52334
TCGA-06-0119-01A-08D-1490-08	GBM	0cda6181-c62b-4ced-a543-d6138fd2e94a

TCGA-06-0122-01A-01D-1490-08	GBM	08c54819-32fa-455d-a443-fc71dfd3f03a
TCGA-06-0124-01A-01D-1490-08	GBM	6ae82bf8-7076-43fb-a541-4c7db5d49280
TCGA-06-0125-02A-11D-2280-08	GBM	96e3db14-2bb1-4f68-aed6-5e794750c96e
TCGA-06-0126-01A-01D-1490-08	GBM	c3c3059d-e2fb-45ea-80b5-99fb040cba29
TCGA-06-0128-01A-01D-1490-08	GBM	c5688535-bda4-4831-aaba-e0c19101d7b0
TCGA-06-0129-01A-01D-1490-08	GBM	73e7aa35-91b4-4392-bbb9-9ec21f30250c
TCGA-06-0130-01A-01D-1490-08	GBM	c09f0ebd-d604-49a3-9738-0c65fd47fbf9
TCGA-06-0132-01A-02D-1491-08	GBM	53c2e159-5774-499f-b0d1-e04fa3faf5c3
TCGA-06-0137-01A-01D-1490-08	GBM	37c11dfc-c37c-4cb6-bd81-9e0a7789b0f1
TCGA-06-0139-01A-01D-1490-08	GBM	c84ff17d-436d-49c1-aef2-b998ffe4a693
TCGA-06-0140-01A-01D-1490-08	GBM	18c94086-d2cc-45cd-9bad-f8968a042d5e
TCGA-06-0141-01A-01D-1490-08	GBM	5af251d5-e76b-480c-8142-6d6fbfce0b2a
TCGA-06-0142-01A-01D-1490-08	GBM	4bce79ce-c59c-4d86-b25f-28c8edda1651
TCGA-06-0145-01A-01W-0224-08	GBM	8f904068-2967-4b38-8813-3ad0a99e4af8

TCGA-06-0151-01A-01D-1491-08	GBM	5fea9ebc-8c1b-4078-af87-79c7f5b5470b
TCGA-06-0152-01A-02W-0323-08	GBM	79062efd-2b09-4798-a504-0a18ca30ef2d
TCGA-06-0154-01A-03D-1491-08	GBM	f5045707-3ddd-4ade-959a-b368437752fb
TCGA-06-0155-01B-01D-1492-08	GBM	2dc59e9b-3a60-4178-9fa0-81cf5171622d
TCGA-06-0157-01A-01D-1491-08	GBM	b1e62d8e-24d2-4118-8cd0-3142acebdd5b
TCGA-06-0158-01A-01D-1491-08	GBM	14580533-4a0c-47ca-bb51-c233700de35c
TCGA-06-0165-01A-01D-1491-08	GBM	1728988e-0877-4194-92c5-92c1ee6c5f5b
TCGA-06-0166-01A-01D-1491-08	GBM	70157018-a3c5-4ef8-9314-f8715a3438a4
TCGA-06-0167-01A-01D-1491-08	GBM	d530c696-235d-4a41-944d-e7f7ae21aa17
TCGA-06-0168-01A-01D-1491-08	GBM	2b3babe-dddd-4c2c-b5ec-7bb6e700e070
TCGA-06-0169-01A-01D-1490-08	GBM	06053a14-2d9a-4df0-a79b-81bda36bf3c3
TCGA-06-0171-02A-11D-2280-08	GBM	39520be3-a2af-4189-acf4-9d239363333a
TCGA-06-0173-01A-01D-1491-08	GBM	0908aac1-d3b7-4eec-96f2-a28c3738388c
TCGA-06-0174-01A-01D-1491-08	GBM	017c9167-0354-41e4-ad50-fb38fcb5668c

TCGA-06-0178-01A-01D-1491-08	GBM	a4fa779b-d116-4696-b170-60f3e215e9fb
TCGA-06-0184-01A-01D-1491-08	GBM	a5a2e50f-dc7e-44cc-bffe-b675a707bf53
TCGA-06-0185-01A-01W-0254-08	GBM	bc62d57d-b536-41ab-a344-e765fd3f7439
TCGA-06-0188-01A-01W-0254-08	GBM	cc0c78e7-1d76-45e6-b043-dc209bb9a32a
TCGA-06-0189-01A-01D-1491-08	GBM	25c64c53-746c-4e92-976a-8bd947fb9c7f
TCGA-06-0190-02A-01D-2280-08	GBM	c065761d-f775-457f-bda0-4c7c257a701e
TCGA-06-0192-01B-01W-0348-08	GBM	43d7bc6f-be9b-4d5e-bcec-4fb30b0d9b65
TCGA-06-0195-01B-01D-1491-08	GBM	2a2fac52-44aa-41f7-ae27-de6b7eba8ff1
TCGA-06-0209-01A-01D-1491-08	GBM	b4a7de67-14b6-4b8c-abbe-9eaa990d905e
TCGA-06-0210-02A-01D-2280-08	GBM	b60392fb-43d9-4c9c-b91b-ded40492e61c
TCGA-06-0211-02A-02D-2280-08	GBM	3914c02e-44ad-4c96-8464-61aa95b42c49
TCGA-06-0213-01A-01D-1491-08	GBM	885f9df7-fc27-43c2-9acc-833c410b2db1
TCGA-06-0214-01A-02D-1491-08	GBM	08ac57ec-0036-4134-a9bb-f22eaa27ab0d
TCGA-06-0216-01B-01D-1492-08	GBM	eac73a02-b2e0-4601-9bd6-aceb07594fe8

TCGA-06-0219-01A-01D-1491-08	GBM	a6c6c454-058f-41ec-93c3-3cff44bed149
TCGA-06-0221-02A-11D-2280-08	GBM	b2d17671-d2e1-4c97-8b01-a976d5abe1d6
TCGA-06-0237-01A-02D-1491-08	GBM	a50b5271-484a-436e-ac6f-6074071015fd
TCGA-06-0238-01A-02D-1492-08	GBM	7e8c6b9f-0fec-49ea-9ecb-c9ba1fb4cb74
TCGA-06-0240-01A-03D-1491-08	GBM	20f74001-1cb8-451d-8173-5795fa93432b
TCGA-06-0241-01A-02D-1491-08	GBM	4dd4035a-c800-41b0-85c9-02531d2910ed
TCGA-06-0644-01A-02D-1492-08	GBM	2553c4d2-5f6a-4eba-84b6-04c4761ebf5c
TCGA-06-0645-01A-01D-1492-08	GBM	3f458a3c-baac-427d-b3d6-6f15104a8886
TCGA-06-0646-01A-01D-1492-08	GBM	89742b5d-0256-48c7-8d8f-41b6e5e5b561
TCGA-06-0648-01A-01W-0323-08	GBM	33f8304e-11c3-4a9d-ad21-ffea555309dc
TCGA-06-0649-01B-01W-0348-08	GBM	27af6a5f-993d-41f0-a9af-65e5a8cc41d4
TCGA-06-0650-01A-02D-1696-08	GBM	89af56db-b7f9-41d2-af62-c9b2ee7b540f
TCGA-06-0686-01A-01W-0348-08	GBM	4af220fa-c00b-40b1-ae82-b2c256a3d3fe
TCGA-06-0743-01A-01D-1492-08	GBM	430e6ca1-d678-4373-8d8d-9d93412c8012

TCGA-06-0744-01A-01W-0348-08	GBM	d80afd62-48a6-4da4-8026-e6384e86cf62
TCGA-06-0745-01A-01W-0348-08	GBM	188c837e-6389-48eb-8b77-91c8a2f099ac
TCGA-06-0747-01A-01W-0348-08	GBM	7773738f-f5dd-48ae-870c-aa89aea77450
TCGA-06-0749-01A-01W-0348-08	GBM	1121aced-04ae-4ba2-a467-c5b8445a0a76
TCGA-06-0750-01A-01W-0348-08	GBM	fc15ced3-5ed1-4f88-8789-09ec713bd613
TCGA-06-0875-01A-01W-0424-08	GBM	862cc896-a0dc-4f02-9940-8c9a5016027b
TCGA-06-0876-01A-01W-0424-08	GBM	c2f27319-4e84-4b12-bce1-623ea20722be
TCGA-06-0877-01A-01W-0424-08	GBM	dda2b842-fd8b-4d14-9aa5-3cd3abc0a0e1
TCGA-06-0878-01A-01W-0424-08	GBM	07869e29-9ced-4be5-9a6c-8fd3c29ae487
TCGA-06-0879-01A-01W-0424-08	GBM	f96b8966-e0c2-4fb6-b3f6-e76d7953d537
TCGA-06-0881-01A-02W-0424-08	GBM	1069a9d0-9978-4c01-8516-947200264314
TCGA-06-0882-01A-01W-0424-08	GBM	385a3692-3208-479f-9f39-37fb65501b80
TCGA-06-1804-01A-01D-1696-08	GBM	d9a1ff46-8d28-451e-937f-bdad42bddd64
TCGA-06-1806-01A-02D-1845-08	GBM	beb40d7c-3861-4efe-9b1d-34ba68a66c9d

TCGA-06-2557-01A-01D-1494-08	GBM	c27290e4-6835-448a-abdc-df8ddd5f4630
TCGA-06-2558-01A-01D-1494-08	GBM	19f41e2f-cff9-4f04-ba65-6d945bf05edd
TCGA-06-2559-01A-01D-1494-08	GBM	8df5560b-9f8f-4636-bdb2-1af8b45df1ba
TCGA-06-2561-01A-02D-1494-08	GBM	f9898ad3-f9b6-4061-90ef-30e0eab0a706
TCGA-06-2562-01A-01D-1494-08	GBM	6cb3467e-0ad8-4dd9-8b9b-9103629fd16f
TCGA-06-2563-01A-01D-1494-08	GBM	1d81086c-bf8b-4459-abcf-1ff905c6bf74
TCGA-06-2564-01A-01D-1494-08	GBM	9225f366-b08b-4c43-a09f-a16b3bcfb5aa
TCGA-06-2565-01A-01D-1494-08	GBM	c866726d-2d95-4d23-b3d4-0e28a0b3da00
TCGA-06-2567-01A-01D-1494-08	GBM	d40a4861-b8c4-4fb8-815a-4e82801eedca
TCGA-06-2569-01A-01D-1494-08	GBM	617eec0b-78e9-4663-946c-c01e7e00a7de
TCGA-06-2570-01A-01D-1495-08	GBM	04339769-517c-448d-a7ca-951f83608c60
TCGA-06-5408-01A-01D-1696-08	GBM	ed8ca267-0153-475b-9154-361af62ff767
TCGA-06-5410-01A-01D-1696-08	GBM	67244284-dc40-46cb-a2ac-3f4a38f7bbe4
TCGA-06-5411-01A-01D-1696-08	GBM	2fdab641-d73b-4f9a-aa4c-c1944f131a69

TCGA-06-5412-01A-01D-1696-08	GBM	b6be0866-b8ae-4767-8cdc-e1dd4f78f440
TCGA-06-5413-01A-01D-1696-08	GBM	72c13e51-0dd2-4e96-af37-aa471407436f
TCGA-06-5414-01A-01D-1486-08	GBM	7aa16ff4-169a-4206-83d1-a2495fb56f62
TCGA-06-5415-01A-01D-1486-08	GBM	fca08ee9-b480-4dc7-be56-f1eb03b56f7c
TCGA-06-5417-01A-01D-1486-08	GBM	66350d36-6662-4d4c-9cf8-e052a17cddbba
TCGA-06-5418-01A-01D-1486-08	GBM	ae28fd78-d254-46fa-aba1-1353931aa414
TCGA-06-5856-01A-01D-1696-08	GBM	0bd9b573-712b-4da1-9c33-7b7f43d4af31
TCGA-06-5858-01A-01D-1696-08	GBM	951799e6-12f0-4cf6-8732-f2e044db7210
TCGA-06-5859-01A-01D-1696-08	GBM	bb404507-ab63-4d82-99c6-f3297bffc46f
TCGA-06-6388-01A-12D-1845-08	GBM	c9214f8b-6684-4e29-812c-2a44963e8914
TCGA-06-6389-01A-11D-1696-08	GBM	10911471-5404-42d5-817e-f9616e7dacfc
TCGA-06-6390-01A-11D-1696-08	GBM	f04b6bde-63e0-41c9-89f7-07673f9de0f6
TCGA-06-6391-01A-11D-1696-08	GBM	40fc77dc-46df-4487-925f-1d87c5326661
TCGA-06-6693-01A-11D-1845-08	GBM	45ca8f53-6d0e-4659-a81f-258184b7a70e

TCGA-06-6694-01A-12D-1845-08	GBM	b5a5717d-0e3d-4b44-82f3-5b68187beb52
TCGA-06-6695-01A-11D-1845-08	GBM	13817acd-8c1e-4154-8b88-7cdc5f2660a7
TCGA-06-6697-01A-11D-1845-08	GBM	7d947ed1-1315-459e-b973-f3dd624d9e39
TCGA-06-6698-01A-11D-1845-08	GBM	d605a279-c0ea-467c-a423-cdf21547f87e
TCGA-06-6699-01A-11D-1845-08	GBM	90ba858d-e3bb-40d8-98ee-eeb127c58409
TCGA-06-6700-01A-12D-1845-08	GBM	6da42a38-94dd-49b7-8a03-df0f7174ca6f
TCGA-06-6701-01A-11D-1845-08	GBM	fad178f1-385b-4f94-bd29-567c1aa0a8fc
TCGA-08-0386-01A-01D-1492-08	GBM	90bf7f8f-4b8c-410f-afa6-2b439ec82f97
TCGA-12-0615-01A-01D-1492-08	GBM	a6068793-51e4-4762-9150-cdfb030e8ade
TCGA-12-0616-01A-01D-1492-08	GBM	b0e2fed7-38bd-48d8-a786-ac574c9fa5be
TCGA-12-0618-01A-01D-1492-08	GBM	390fc5e9-787e-4a3f-86c8-e3e0e7e43824
TCGA-12-0619-01A-01D-1492-08	GBM	79c65ab5-1924-4710-96e4-31e9a615a53e
TCGA-12-0688-01A-02D-1492-08	GBM	143dc738-1694-4105-8115-9cc0902ef35b
TCGA-12-0692-01A-01W-0348-08	GBM	937fb2a6-3856-4086-a327-8d8e593b7b7b

TCGA-12-0821-01A-01W-0424-08	GBM	357e3a3c-cceb-4b38-bc35-6fe8f5be5ac8
TCGA-12-1597-01B-01D-1495-08	GBM	7d35c610-cc06-4aa5-8c96-2f7b7465069f
TCGA-12-3649-01A-01D-1495-08	GBM	2580567a-8f51-4cb7-9525-bba987c55e36
TCGA-12-3650-01A-01D-1495-08	GBM	8b1d52e2-489b-4972-9bef-1690ccd2bac9
TCGA-12-3652-01A-01D-1495-08	GBM	ab460bc2-e504-4b7f-8533-ab06448a55bc
TCGA-12-3653-01A-01D-1495-08	GBM	fdc52d48-828e-481f-ba1c-0264f1da38a5
TCGA-12-5295-01A-01D-1486-08	GBM	796f5741-3b2d-46e5-b74f-e5a76604a401
TCGA-12-5299-01A-02D-1486-08	GBM	a44954fc-49f2-489a-8593-7de98963e4f8
TCGA-12-5301-01A-01D-1486-08	GBM	891fc6bc-d0a7-4064-842c-43d500b4ef5d
TCGA-14-0740-01B-01D-1845-08	GBM	f49859c4-adf9-4c53-8288-8a7ad65a940d
TCGA-14-0781-01B-01D-1696-08	GBM	13878ec6-fce7-423e-b545-6656145e9d2c
TCGA-14-0786-01B-01D-1492-08	GBM	75fa4de1-29fd-4b54-b63a-add459f1d69c
TCGA-14-0787-01A-01W-0424-08	GBM	184b240c-ebf1-4ecf-87eb-aae0718cd81f
TCGA-14-0789-01A-01W-0424-08	GBM	3462087f-f791-43b4-b9d9-b11cc48eaf9e

TCGA-14-0790-01B-01D-1494-08	GBM	d63d49a0-9413-4583-a7a5-cb2c202cc085
TCGA-14-0813-01A-01W-0424-08	GBM	754cd19e-a319-4ddf-887b-ddca4914cdf9
TCGA-14-0817-01A-01W-0424-08	GBM	a5f06dfc-e9b2-46a6-bee5-604d2839baad
TCGA-14-0862-01B-01D-1845-08	GBM	f0b7d451-8190-45a4-8242-bf698f05243d
TCGA-14-0871-01A-01W-0424-08	GBM	0cc45f48-0967-42dc-8035-e76c6bd0a3fd
TCGA-14-1034-02B-01D-2280-08	GBM	7cae6c0b-36fe-411b-bbba-093a4c846d84
TCGA-14-1043-01B-11D-1845-08	GBM	a439c422-8728-42f5-8dda-6e9e1590478c
TCGA-14-1395-01B-11D-1845-08	GBM	8825b7a5-dfac-4e21-b4ec-05161b1341e9
TCGA-14-1450-01B-01D-1845-08	GBM	7ec7f174-13f6-44b1-83e3-6f35a244f00e
TCGA-14-1456-01B-01D-1494-08	GBM	e525e774-f925-41cd-9822-15aeeee29190
TCGA-14-1823-01A-01W-0643-08	GBM	1c3ddf6a-e496-4b87-833b-084d814b6876
TCGA-14-1825-01A-01W-0643-08	GBM	f0d7cb8b-995c-419b-a366-aadb156879bc
TCGA-14-1829-01A-01W-0643-08	GBM	c69ca476-9e11-4f6e-a4f5-6952f792a580
TCGA-14-2554-01A-01D-1494-08	GBM	53dec97d-0464-4ffd-8e2e-95b2b9a03af0

TCGA-15-0742-01A-01W-0348-08	GBM	3c015456-02f0-4473-be25-b53166da41ea
TCGA-15-1444-01A-02D-1696-08	GBM	cbd4d4e7-f1c4-446c-8dbc-ce06c872ec14
TCGA-16-0846-01A-01W-0424-08	GBM	cf3eb226-36c2-4498-a5c1-3f161de6fa3f
TCGA-16-0861-01A-01W-0424-08	GBM	deab6efd-8213-4f35-a897-060c605ce58b
TCGA-16-1045-01B-01W-0611-08	GBM	c92c1d87-0df9-4c5a-baef-2dd26ad6d75a
TCGA-19-1390-01A-01D-1495-08	GBM	d7e8e408-0a8f-4177-ad38-08c5da484ed0
TCGA-19-2619-01A-01D-1495-08	GBM	b765a4c7-4fe8-444c-95bd-6a4d03af1432
TCGA-19-2620-01A-01D-1495-08	GBM	6de41ac1-229b-40b9-a494-5588c284351d
TCGA-19-2623-01A-01D-1495-08	GBM	a14ae5c3-fee0-4ed7-9080-51056ce62ef2
TCGA-19-2624-01A-01D-1495-08	GBM	a8f86b64-914c-4d89-897b-33bcdd1759f7
TCGA-19-2625-01A-01D-1495-08	GBM	b0833912-0cb6-4d2a-bd18-9fc211793b30
TCGA-19-2629-01A-01D-1495-08	GBM	56ffaa35-814c-4c0b-b3c6-d4514d34fec2
TCGA-19-5947-01A-11D-1696-08	GBM	d5e7dd90-ead0-40fe-94c5-bc740cb509ab
TCGA-19-5950-01A-11D-1696-08	GBM	8d6626e2-ea32-4b1d-8f2b-389294121692

TCGA-19-5951-01A-11D-1696-08	GBM	57cf584c-8c95-42ec-9cb0-707228b70010
TCGA-19-5952-01A-11D-1696-08	GBM	483cad63-ca73-4b31-b4c7-9d73f2cb4186
TCGA-19-5953-01B-12D-1845-08	GBM	a0180465-3685-4735-a76e-acbeebfa635a
TCGA-19-5954-01A-11D-1696-08	GBM	cfd4e06e-203f-4a6f-8aa9-60828e0d4d68
TCGA-19-5955-01A-11D-1696-08	GBM	c8abde95-f4d7-4d48-879b-bd584eaf8a25
TCGA-19-5958-01A-11D-1696-08	GBM	fd385a8e-d6dc-4e65-a023-ce485793c410
TCGA-19-5959-01A-11D-1696-08	GBM	dd3e4733-7154-4162-9a61-a3a685e5f561
TCGA-19-5960-01A-11D-1696-08	GBM	b8151614-b08f-49a3-ab6f-2e780f765a17
TCGA-26-1442-01A-01D-1696-08	GBM	17e25583-886e-4dc9-802b-35e67971073d
TCGA-26-5132-01A-01D-1486-08	GBM	d1132127-1250-43af-9c16-425798a3d1a7
TCGA-26-5133-01A-01D-1486-08	GBM	533051f3-5ea5-41a4-8727-11dc6d786607
TCGA-26-5134-01A-01D-1486-08	GBM	11956d98-4ba5-486f-ae79-05aacebe0631
TCGA-26-5135-01A-01D-1486-08	GBM	2ce48f01-2f61-49d9-a56a-7438bf4a37d7
TCGA-26-5136-01B-01D-1486-08	GBM	39e0587b-1b04-4c68-8ae4-3ae7781e8017

TCGA-26-5139-01A-01D-1486-08	GBM	8199001b-a3c9-47e1-97cf-943fa8030f46
TCGA-26-6173-01A-11D-1845-08	GBM	af373e42-cbbf-4a89-8479-bdd413011885
TCGA-26-6174-01A-21D-1845-08	GBM	3ba04f15-48f4-4851-a21f-8fa7cc9eac6b
TCGA-27-1830-01A-01W-0643-08	GBM	b391392a-9865-4bf4-b5f1-fa4fb2ad1343
TCGA-27-1831-01A-01D-1494-08	GBM	9880c3c9-5685-42a7-8fe9-7585ea1a1d37
TCGA-27-1832-01A-01W-0643-08	GBM	7ea7ee22-55a6-4748-9607-d93a6a367122
TCGA-27-1833-01A-01W-0643-08	GBM	4d8d34d9-7069-436c-84d6-ace5760c2aec
TCGA-27-1834-01A-01W-0643-08	GBM	a6c0824e-3d2a-498a-af77-44ea96ba5ce4
TCGA-27-1835-01A-01D-1494-08	GBM	6d5fd73b-4cad-44ae-8c79-67f2b9d30328
TCGA-27-1836-01A-01D-1494-08	GBM	8c58f090-31a3-4b2f-93e7-1ae6f6d73350
TCGA-27-1837-01A-01D-1494-08	GBM	61ad1d55-21a9-49c4-925b-54a24703afda
TCGA-27-1838-01A-01D-1494-08	GBM	881af1d2-3fbc-44dd-8362-e6c386345cf6
TCGA-27-2518-01A-01D-1494-08	GBM	dae099ff-330f-492b-a06d-6f975e9e5aea
TCGA-27-2519-01A-01D-1494-08	GBM	b0daafab-b783-4cfc-9f7d-8017d98e80bb

TCGA-27-2521-01A-01D-1494-08	GBM	3678d5f3-9a29-4750-b0a9-20e971ff6aa4
TCGA-27-2523-01A-01D-1494-08	GBM	d60f54f5-b154-42c4-99fb-cea4e7a33dc7
TCGA-27-2524-01A-01D-1494-08	GBM	ce679bfd-fbf9-4c78-822e-37d2322d544b
TCGA-27-2526-01A-01D-1494-08	GBM	bc1abcb7-b4e9-4447-b0c5-0fc09401eec0
TCGA-27-2527-01A-01D-1494-08	GBM	b8b00995-ada6-493b-bafc-0f6c9def41c9
TCGA-27-2528-01A-01D-1494-08	GBM	374cbd87-428e-4509-85c1-b7d3302c30a0
TCGA-28-1747-01C-01D-1494-08	GBM	7c746081-ac14-4ae2-9564-d67d52f2627c
TCGA-28-1753-01A-01D-1494-08	GBM	c7143f1e-458c-4129-aa91-61b8e4b90e53
TCGA-28-2499-01A-01D-1494-08	GBM	28583f40-c3fc-4213-91c1-99d7d536551e
TCGA-28-2501-01A-01D-1696-08	GBM	2a2cb25d-4069-4824-b09d-2d49634ed284
TCGA-28-2502-01B-01D-1494-08	GBM	707466c8-138a-4ed0-b806-6579464595cb
TCGA-28-2509-01A-01D-1494-08	GBM	f4a62fe0-cee2-487a-9a8a-4cd98d8380df
TCGA-28-2510-01A-01D-1696-08	GBM	5f2dc303-9859-4b63-8aab-c387da4b2cc1
TCGA-28-2513-01A-01D-1494-08	GBM	52dd150e-abd7-4fd2-abe9-09428c5a610c

TCGA-28-2514-01A-02D-1494-08	GBM	6eef4a0e-3fef-4529-8193-21b380d96344
TCGA-28-5204-01A-01D-1486-08	GBM	e9590ee4-92d8-4afb-908e-0c816d2b82f3
TCGA-28-5207-01A-01D-1486-08	GBM	2d795a16-bdc3-44f0-8c01-6eeec0e1a0b1
TCGA-28-5208-01A-01D-1486-08	GBM	76209124-b3f0-4bb2-8b2c-e268abdefe2b
TCGA-28-5209-01A-01D-1486-08	GBM	ef8b63f3-b820-46ac-a99c-3d401a6203d7
TCGA-28-5211-01C-11D-1845-08	GBM	f8dc846b-1b17-4699-9dc5-3f79e21eee94
TCGA-28-5213-01A-01D-1486-08	GBM	b866e742-5ed0-4d7d-b96c-52f8f6f37142
TCGA-28-5214-01A-01D-1486-08	GBM	c992e603-30c9-4e30-a425-8050189db4f8
TCGA-28-5215-01A-01D-1486-08	GBM	34c77b5d-c3a6-4e83-96f4-fadd729362d9
TCGA-28-5216-01A-01D-1486-08	GBM	cde8518a-ce8e-4b54-ab21-5ad4171ab1b3
TCGA-28-5218-01A-01D-1486-08	GBM	68008a98-3889-4dd2-bcf9-f1f6cbca6355
TCGA-28-5219-01A-01D-1486-08	GBM	f016e9f7-66a3-4f50-b9cd-58b1c8a955e9
TCGA-28-5220-01A-01D-1486-08	GBM	f7b80486-fa19-49c7-8ace-ea61338677d7
TCGA-28-6450-01A-11D-1696-08	GBM	5f10d0c5-05b8-44bb-98ce-bbea41820850

TCGA-32-1970-01A-01D-1494-08	GBM	65723119-bdfe-46f0-b629-c171023abd71
TCGA-32-1979-01A-01D-1696-08	GBM	0c81ebb9-20a6-40c1-9be2-17b99517e988
TCGA-32-1980-01A-01D-1696-08	GBM	9b267205-1994-46ff-8d0f-56625dae7c1b
TCGA-32-1982-01A-01D-1494-08	GBM	9cf7c4cb-ce19-4b79-9163-b74369603e22
TCGA-32-1986-01A-01D-1494-08	GBM	5afe3ffc-ba3a-49bb-9837-091b600cbb35
TCGA-32-2615-01A-01D-1495-08	GBM	65e3c804-b1a3-4e21-9407-90a6edc4e290
TCGA-32-2632-01A-01D-1495-08	GBM	27203e18-af27-478c-a224-8bca77a81c90
TCGA-32-2634-01A-01D-1495-08	GBM	52b2a114-4f8c-4e02-af9d-24c4a05d4ca0
TCGA-32-2638-01A-01D-1495-08	GBM	1e103221-ab46-4a5c-9b96-5e34f0d49fc2
TCGA-32-5222-01A-01D-1486-08	GBM	f48abf4d-f1fb-48bf-97a1-0c38435b6af7
TCGA-41-2571-01A-01D-1495-08	GBM	36349a22-17eb-48d8-9b69-1921ee7576ff
TCGA-41-2573-01A-01D-1495-08	GBM	fadc9e2a-d97d-4e86-a814-4f32f8cfd7a5
TCGA-41-2575-01A-01D-1495-08	GBM	4943e80a-d098-49cd-8261-1d53d42f8223
TCGA-41-3392-01A-01D-1495-08	GBM	c08b37a5-9938-4ab0-8183-d73b01cb9a89

TCGA-41-5651-01A-01D-1696-08	GBM	5fd77ba9-5015-4d8b-86a0-582e5c76bdd6
TCGA-41-6646-01A-11D-1845-08	GBM	6272bb0c-c47b-4cd2-9f59-398f1a75f020
TCGA-74-6573-01A-12D-1845-08	GBM	0941e50e-1205-49ed-8735-1f86eaf87718
TCGA-74-6575-01A-11D-1845-08	GBM	f4ec96d6-d7fc-4892-9a36-80802f387a12
TCGA-74-6577-01A-11D-1845-08	GBM	5be142d5-b6f7-4e1e-ae75-49b302b332a2
TCGA-74-6578-01A-11D-1845-08	GBM	a2ae2128-4d95-4261-a30d-bd6be58de8e0
TCGA-74-6584-01A-11D-1845-08	GBM	cedd2d49-371b-4b12-8aac-6a9bd38f2ccb
TCGA-76-4925-01A-01D-1486-08	GBM	ca2fa3da-18d6-4e8b-8081-b07022ead6a8
TCGA-76-4926-01B-01D-1486-08	GBM	3c93cb58-d39b-4a5e-907a-8b5438630d21
TCGA-76-4927-01A-01D-1486-08	GBM	2dc69425-dbfd-4228-ab78-541062b5c445
TCGA-76-4928-01B-01D-1486-08	GBM	6e30f277-875e-4ab8-bc7c-0a5121cde6d1
TCGA-76-4929-01A-01D-1486-08	GBM	af4f8b89-837a-48b7-b0e7-12aec23fc285
TCGA-76-4931-01A-01D-1486-08	GBM	d4a27742-ca69-4f54-9bce-ec33d8481fed
TCGA-76-4932-01A-01D-1486-08	GBM	81656daa-af7c-430c-afa3-0eb10eb9a695

TCGA-76-4934-01A-01D-1486-08	GBM	e9bc4701-562e-4d35-a949-53a61fd96651
TCGA-76-4935-01A-01D-1486-08	GBM	c8d06abf-437d-4bc9-804b-44345af74f36
TCGA-76-6191-01A-12D-1696-08	GBM	4dbf66ef-4108-4a86-a8eb-6ba8cdefb4a2
TCGA-76-6192-01A-11D-1696-08	GBM	c29754bc-44e8-4980-98a1-b8d69700f4a3
TCGA-76-6193-01A-11D-1696-08	GBM	6a751d65-5fcf-4c03-8253-8f1b8faccab2
TCGA-76-6280-01A-21D-1845-08	GBM	9096e339-7730-4d7a-acab-a6c4d26c52c3
TCGA-76-6282-01A-11D-1696-08	GBM	1c7f63d2-a2a4-42c3-928b-319695a66443
TCGA-76-6283-01A-11D-1845-08	GBM	a4083f8b-0c39-4d65-a372-b494caf84f8d
TCGA-76-6285-01A-11D-1696-08	GBM	28380a2f-d302-45fb-a4c5-31b2fd150bc3
TCGA-76-6286-01A-11D-1845-08	GBM	45d03116-6cff-4074-9c26-2e5f1a8854d3
TCGA-76-6656-01A-11D-1845-08	GBM	fe66f11a-e03d-49c5-befe-db74ef55ce61
TCGA-76-6657-01A-11D-1845-08	GBM	6ba47878-126c-420d-b3c1-ca7ea8c182d0
TCGA-76-6660-01A-11D-1845-08	GBM	f4960945-c464-49c2-8ad6-d73a6fa47b20
TCGA-76-6661-01B-11D-1845-08	GBM	8329c910-7ccf-4e84-b468-bd6cf23327a2

TCGA-76-6662-01A-11D-1845-08	GBM	7f7c80ca-6ad9-4820-83ca-5248b3873eea
TCGA-76-6663-01A-11D-1845-08	GBM	624864ad-3178-4a6d-a0cf-7fa3e9bdf8da
TCGA-76-6664-01A-11D-1845-08	GBM	6a8f17c6-060d-492e-8a39-53d9ac7035a4
TCGA-81-5910-01A-11D-1696-08	GBM	bcf79a66-30e6-4554-982e-38d8eab46114
TCGA-81-5911-01A-12D-1845-08	GBM	a501e01b-249c-43cb-ae22-f355c3c697dd
TCGA-87-5896-01A-01D-1696-08	GBM	640c33a6-a7df-4dba-9c21-367a9a839f0f
TCGA-BA-4074-01A-01D-1434-08	HNSC	2c84e904-0cbc-4645-b7e5-94ec45e61268
TCGA-BA-4075-01A-01D-1434-08	HNSC	5b3fec35-d127-4cb5-859b-edac003acdf3
TCGA-BA-4076-01A-01D-1434-08	HNSC	93dda6a6-907d-4dc2-9391-36dd09c767c6
TCGA-BA-4077-01B-01D-1434-08	HNSC	9b37211a-2150-4d33-bc6a-9d6a0a429708
TCGA-BA-4078-01A-01D-1434-08	HNSC	f02d0332-d7c8-4d2a-98ca-dbe7826437ae
TCGA-BA-5149-01A-01D-1512-08	HNSC	6e98841c-ce33-4b7e-882d-ce65707d4c10
TCGA-BA-5151-01A-01D-1434-08	HNSC	dac15d7e-3930-4fcb-b752-4a4f00449ddd
TCGA-BA-5152-01A-02D-1870-08	HNSC	18da68fd-3bfb-45a3-ba28-4c90555b4e68

TCGA-BA-5153-01A-01D-1434-08	HNSC	363ccc6f-dab0-413e-bc42-d738ee25abcd
TCGA-BA-5555-01A-01D-1512-08	HNSC	65dc1531-713b-41ba-a567-caa12340c0cf
TCGA-BA-5556-01A-01D-1512-08	HNSC	d31fda32-363b-44e4-8f2c-834a66f46b87
TCGA-BA-5557-01A-01D-1512-08	HNSC	7caa2a2f-3b77-46f0-9886-37f6e4278d83
TCGA-BA-5558-01A-01D-1512-08	HNSC	97a47fa4-c857-4483-9572-07012c10e9d5
TCGA-BA-5559-01A-01D-1512-08	HNSC	c0845927-fc9a-41b2-9431-619952878e18
TCGA-BA-6868-01B-12D-1912-08	HNSC	51647474-f538-4e96-babd-e742f1fb793f
TCGA-BA-6869-01A-11D-1870-08	HNSC	b78a2501-f312-41a2-ab19-7c18d8dfbac6
TCGA-BA-6870-01A-11D-1870-08	HNSC	2fdd3f42-cb2f-4faf-8a47-b8bfee058265
TCGA-BA-6871-01A-11D-1870-08	HNSC	a8a04117-0ebc-4c27-83d6-441be47e5fd3
TCGA-BA-6872-01A-11D-1870-08	HNSC	182b2a39-4881-402a-a907-b51aa114584a
TCGA-BA-6873-01A-11D-1870-08	HNSC	f65b842c-257e-4ac7-a155-23d3ac12d41c
TCGA-BA-7269-01A-11D-2012-08	HNSC	2e8ffdfc-48f5-41e0-9192-d761f3b518ef
TCGA-BB-4217-01A-11D-2078-08	HNSC	5916ef19-7838-4621-a869-de8c2b34931c

TCGA-BB-4223-01A-01D-1434-08	HNSC	c4799ee4-3014-4b2f-ba7e-9771ab5dc3f1
TCGA-BB-4224-01A-01D-1434-08	HNSC	cfa7d658-031d-4cd4-9ca3-ceaa201f702d
TCGA-BB-4225-01A-01D-1434-08	HNSC	85fb5611-0dee-4a73-8aa1-1629ad929173
TCGA-BB-4227-01A-01D-1870-08	HNSC	c1b315bb-773b-4fd0-88ec-d11044996adc
TCGA-BB-4228-01A-01D-1434-08	HNSC	6fd93146-1026-4362-982b-d1fc70e3c65d
TCGA-BB-7861-01A-11D-2229-08	HNSC	77cb5c69-f15e-45de-a060-0e8b52648209
TCGA-BB-7862-01A-21D-2229-08	HNSC	84c57a23-1428-488e-9275-9f2bc3673476
TCGA-BB-7863-01A-11D-2229-08	HNSC	0bf356d5-1259-4042-9860-2f793f5fe32c
TCGA-BB-7864-01A-11D-2229-08	HNSC	1d6324a3-8bb4-45d1-89b3-134ffca01aec
TCGA-BB-7866-01A-11D-2229-08	HNSC	8d6ae619-b33e-453c-aa6d-dda14cd5a337
TCGA-BB-7870-01A-11D-2229-08	HNSC	d584f4ec-09b0-40fe-bba2-256b6cf6974e
TCGA-BB-7871-01A-11D-2229-08	HNSC	8e13f8a5-5d80-4e34-bffa-54ae808114e7
TCGA-BB-7872-01A-11D-2229-08	HNSC	c05cb0b5-b288-48fb-bdc0-ee9acd6643a8
TCGA-CN-4723-01A-01D-1434-08	HNSC	d5d71c48-1a2d-4d7d-8f2c-e3a68352776b

TCGA-CN-4725-01A-01D-1434-08	HNSC	57ffef9d-193b-48f6-8d5b-3c2eca854d93
TCGA-CN-4726-01A-01D-1434-08	HNSC	2201e681-a727-4fd2-aded-cbcb543b2232
TCGA-CN-4727-01A-01D-1434-08	HNSC	b24fc60a-fe83-4743-a6d3-d90b807412e1
TCGA-CN-4728-01A-01D-1434-08	HNSC	e450fec8-66dd-4798-8197-4206b8ba7c4d
TCGA-CN-4729-01A-01D-1434-08	HNSC	7240e742-9315-4fb8-b6f7-28bfe69410a8
TCGA-CN-4730-01A-01D-1434-08	HNSC	543bbfe3-4a11-49af-b445-303f0912bfc3
TCGA-CN-4731-01A-01D-1434-08	HNSC	31ffd2d8-ee97-4002-9737-08c044878ace
TCGA-CN-4733-01A-02D-1870-08	HNSC	12880a34-83d1-4075-b62a-9fc61d18ca09
TCGA-CN-4734-01A-01D-1434-08	HNSC	fd54bbfa-62a2-4d8b-88fb-b74b91e1b958
TCGA-CN-4735-01A-01D-1434-08	HNSC	369ebdf4-ee27-414d-978d-3698711fae98
TCGA-CN-4736-01A-01D-1434-08	HNSC	788337f5-722c-45d6-8ca4-8037c489cb64
TCGA-CN-4737-01A-01D-1434-08	HNSC	4c6857bb-f20f-4ac9-9c2c-cb83c5387a74
TCGA-CN-4738-01A-02D-1512-08	HNSC	1d3b16fd-f98b-45ef-a423-861975f098b6
TCGA-CN-4739-01A-02D-1512-08	HNSC	7d6cc6ef-6bb0-44ab-bac1-c8f7198d1d8a

TCGA-CN-4740-01A-01D-1434-08	HNSC	40308868-8d79-484b-85a4-257142763d72
TCGA-CN-4741-01A-01D-1434-08	HNSC	3486c689-d7ae-4ce8-8df5-ac8271b4661d
TCGA-CN-4742-01A-02D-1512-08	HNSC	1fa89bda-b719-445a-85d2-76ce8c484b15
TCGA-CN-5355-01A-01D-1434-08	HNSC	0d93e8bc-69d5-47aa-b4bb-bf7b0ade92d6
TCGA-CN-5356-01A-01D-1434-08	HNSC	aad13fa4-b2e7-4c89-9936-57cf7a5e16a4
TCGA-CN-5358-01A-01D-1512-08	HNSC	498c0b1f-678f-4f70-b0d1-aad89bfa2a23
TCGA-CN-5359-01A-01D-1434-08	HNSC	dcf1e53d-22dc-4b11-9b3f-e421bc28b835
TCGA-CN-5360-01A-01D-1434-08	HNSC	174f1ea8-abcfc-44ee-b17b-9687b3ab6dae
TCGA-CN-5361-01A-01D-1434-08	HNSC	5eea0205-e539-48de-b94c-4bb68c74ec96
TCGA-CN-5363-01A-01D-1434-08	HNSC	203f8426-6ec5-427a-9ccf-ec2b4683504d
TCGA-CN-5364-01A-01D-1434-08	HNSC	22078e53-2c9e-4ae4-a166-34488f259ee8
TCGA-CN-5365-01A-01D-1434-08	HNSC	a419a54c-58b4-4682-aaca-ed85697dd2a0
TCGA-CN-5366-01A-01D-1434-08	HNSC	161342fd-4cfa-4fc8-9708-7bb815b137c6
TCGA-CN-5367-01A-01D-1434-08	HNSC	57adb398-48c5-4a14-a43e-f79a19befbda

TCGA-CN-5369-01A-01D-1434-08	HNSC	4c8e6937-9fd7-41cc-ac74-d8b75235d4b3
TCGA-CN-5370-01A-01D-2012-08	HNSC	f4ca6755-68ca-4702-b08b-65005d31e9be
TCGA-CN-5373-01A-01D-1434-08	HNSC	00988676-1e9b-4e00-b4aa-a8f86c21b206
TCGA-CN-5374-01A-01D-1434-08	HNSC	28d5a97b-3f3d-4595-9034-8491999fcf40
TCGA-CN-6010-01A-11D-1683-08	HNSC	2d9693f3-0917-42be-97b8-4dc15cc4d3f6
TCGA-CN-6011-01A-11D-1683-08	HNSC	0e0aa5da-2cb2-47b8-b000-83a07d68ed29
TCGA-CN-6012-01A-11D-1683-08	HNSC	c5d99faa-ef68-4f08-af97-d722bcc383f5
TCGA-CN-6013-01A-11D-1683-08	HNSC	992de9b5-c394-48e7-b4e3-4c4aeacb4a23
TCGA-CN-6016-01A-11D-1683-08	HNSC	fc6e29c-864d-483f-a848-8a61202d9516
TCGA-CN-6017-01A-11D-1683-08	HNSC	7cd89cbe-6bd9-41a2-a042-345fa0a09866
TCGA-CN-6018-01A-11D-1683-08	HNSC	33815edd-bb4f-4f05-bc82-94eafe423652
TCGA-CN-6019-01A-11D-1683-08	HNSC	00769a89-ffc5-46f5-a42e-25b3eae886c2
TCGA-CN-6020-01A-11D-1683-08	HNSC	1f33c4c7-4f08-44a2-91f5-7ed2d7da68f0
TCGA-CN-6021-01A-11D-1683-08	HNSC	e62a2c4d-18e3-4ec8-8d93-40e055e65be4

TCGA-CN-6022-01A-21D-1683-08	HNSC	90cd2296-7133-4cbe-99cb-84b084eb88cd
TCGA-CN-6023-01A-11D-1683-08	HNSC	d03b8f96-c932-4abf-b508-f4e1b50739ee
TCGA-CN-6024-01A-11D-1683-08	HNSC	0604584e-0654-4b00-94fc-45e76588000c
TCGA-CN-6988-01A-11D-1912-08	HNSC	230b06a8-5f6e-41db-bb59-19e4e6c9afaf
TCGA-CN-6989-01A-11D-1912-08	HNSC	61cd2198-d85e-4eae-b9c6-e36be372595b
TCGA-CN-6992-01A-11D-1912-08	HNSC	7a70356c-74a3-40c3-bd32-3049da642831
TCGA-CN-6994-01A-11D-1912-08	HNSC	157b67ad-f092-4ea3-b557-0406839e6905
TCGA-CN-6995-01A-31D-2012-08	HNSC	c0b6813d-4b3e-479e-81a7-1e5c2de89b0d
TCGA-CN-6996-01A-11D-1912-08	HNSC	c063bec5-c716-4ea2-843a-e9f0bec3b540
TCGA-CN-6997-01A-11D-2012-08	HNSC	11b531cc-d9d9-496a-8448-e654ba71c414
TCGA-CN-6998-01A-23D-2012-08	HNSC	9c364f7e-5b90-44ef-9f80-250e428989ef
TCGA-CQ-5323-01A-01D-1683-08	HNSC	892067ef-c465-46ea-8f91-10636dd0081b
TCGA-CQ-5324-01A-01D-1683-08	HNSC	67b184fe-c4f4-49f3-938e-5370eb6246b9
TCGA-CQ-5325-01A-01D-1683-08	HNSC	22b6abf5-aad8-46ab-9b87-e3c12309cb59

TCGA-CQ-5326-01A-01D-1870-08	HNSC	199249f9-808d-4565-bb6b-82724f61edaa
TCGA-CQ-5327-01A-01D-1683-08	HNSC	da19d7bc-9748-4cd4-bd54-4792894838f0
TCGA-CQ-5329-01A-01D-1683-08	HNSC	5aa9b6fc-4169-4346-98fb-4c711d08d701
TCGA-CQ-5330-01A-01D-1683-08	HNSC	4ce7e702-9b62-459e-b2b4-a26cabba3a93
TCGA-CQ-5331-01A-02D-1870-08	HNSC	d2c2d3db-dbc0-44f1-b625-17f3f819c122
TCGA-CQ-5332-01A-01D-1683-08	HNSC	4fdf4f0d-0a55-4b5e-8545-65f1aad37c10
TCGA-CQ-5334-01A-01D-1683-08	HNSC	39978192-2119-4910-a2f6-53834a2b1bf2
TCGA-CQ-6218-01A-11D-1912-08	HNSC	d3717097-7cdb-446f-a020-78c770362656
TCGA-CQ-6219-01A-11D-1912-08	HNSC	c6263b94-0ffe-40e7-9184-deb427c67802
TCGA-CQ-6220-01A-11D-1912-08	HNSC	65e67eda-16a4-4dfd-94a9-546c76d94a02
TCGA-CQ-6221-01A-11D-2078-08	HNSC	d6166f0d-c0b5-44a3-814d-0c94c5bc41b0
TCGA-CQ-6222-01A-11D-1912-08	HNSC	de2c492f-5cd8-4330-a5de-36f693ec31af
TCGA-CQ-6223-01A-11D-1912-08	HNSC	be7cb5b4-1d09-479c-8bf2-a9e7abde575f
TCGA-CQ-6224-01A-11D-1912-08	HNSC	c03d51a0-8731-430d-a792-280e01629e8f

TCGA-CQ-6225-01A-11D-1912-08	HNSC	cd311590-3c69-4ff2-8fbd-cb5b0f21975e
TCGA-CQ-6227-01A-11D-1912-08	HNSC	ca62509e-d477-41ca-9bc2-3f20c2dd4e49
TCGA-CQ-6228-01A-11D-1912-08	HNSC	655e502b-1a6e-4eab-a948-4120d6c31c29
TCGA-CQ-6229-01A-11D-1912-08	HNSC	07e76152-9e83-42a5-9111-c39a2310a2e4
TCGA-CQ-7065-01A-11D-2078-08	HNSC	64c422bb-a531-4636-8e68-bdaf212df6dc
TCGA-CQ-7067-01A-11D-2229-08	HNSC	01f46aa2-e15b-4544-add5-c783868b6c26
TCGA-CQ-7068-01A-11D-2078-08	HNSC	97a96e61-f2dc-4af4-807a-3925c1ffbf43
TCGA-CR-5243-01A-01D-1512-08	HNSC	297e8b35-5b8b-4d5b-b812-86165f949a20
TCGA-CR-5247-01A-01D-2012-08	HNSC	3b5b07b4-29ef-4a55-b6ab-93352613f631
TCGA-CR-5248-01A-01D-2012-08	HNSC	e5af63d7-e8b2-4a76-8b39-6ee652ad8e5f
TCGA-CR-5249-01A-01D-1512-08	HNSC	42bf9ca3-47d8-45ff-bccf-bda80af58d22
TCGA-CR-5250-01A-01D-1512-08	HNSC	49e54f5a-9b3a-47ff-b6cc-a1eaf54fd136
TCGA-CR-6467-01A-11D-1870-08	HNSC	2a7f5a16-9330-45a1-9024-1cff1cdb5714
TCGA-CR-6470-01A-11D-1870-08	HNSC	30bc4d1e-f0cb-44c5-a32c-b4b690cd6cc5

TCGA-CR-6471-01A-11D-1870-08	HNSC	c087e87f-867c-45dd-8645-5ab774e4827c
TCGA-CR-6472-01A-11D-1870-08	HNSC	52f12c71-2473-4411-aad6-318a3496e82c
TCGA-CR-6473-01A-11D-1870-08	HNSC	9f3396a0-a38d-4069-b65a-c4c4dd6187ad
TCGA-CR-6474-01A-11D-1870-08	HNSC	6b4369e1-cf03-4a40-9a66-fc67bfb946b3
TCGA-CR-6477-01A-11D-1870-08	HNSC	e02f3646-a500-4781-ad44-2f62661a883d
TCGA-CR-6478-01A-11D-1870-08	HNSC	c21f40c6-4260-4def-8cca-1c11895b35b0
TCGA-CR-6480-01A-11D-1870-08	HNSC	7ee5501e-5463-4481-b798-3d23bfb4f113
TCGA-CR-6481-01A-11D-1870-08	HNSC	5e7d2531-81c1-48bb-9c0a-1867d1f83f92
TCGA-CR-6482-01A-11D-1870-08	HNSC	684bcd80-30fb-49e5-b72a-09502a9d1468
TCGA-CR-6484-01A-11D-1870-08	HNSC	e72df726-1575-4789-afac-3b15a7643401
TCGA-CR-6487-01A-11D-1870-08	HNSC	d4df06d7-97e1-4f22-83a7-993fdcd3a4da
TCGA-CR-6488-01A-12D-2078-08	HNSC	8bfa9606-b24d-4803-b551-2e86fb02ae5e
TCGA-CR-6491-01A-11D-1870-08	HNSC	a32853ad-b6a3-4147-ae5a-f48fad71581e
TCGA-CR-6492-01A-12D-2078-08	HNSC	d4550d39-4f32-48ab-b049-2fe623332d07

TCGA-CR-6493-01A-11D-1870-08	HNSC	f061abfa-4554-4328-9e8f-b84dd2aa4b45
TCGA-CR-7364-01A-11D-2012-08	HNSC	f5047f1e-5088-4d30-927d-e64147fe661d
TCGA-CR-7365-01A-11D-2012-08	HNSC	ec114413-a950-4e74-abc8-98857af8b9ad
TCGA-CR-7367-01A-11D-2012-08	HNSC	b82e34db-7b0e-4bbd-bc42-ba063ac42409
TCGA-CR-7368-01A-11D-2129-08	HNSC	4b194ab3-d213-4a7a-be46-909b4f0c7291
TCGA-CR-7369-01A-11D-2129-08	HNSC	f16a5c08-c9f8-442e-ba13-45681cacda40
TCGA-CR-7370-01A-11D-2129-08	HNSC	9f8ec337-85f7-4b01-a2b6-5db9a9e62f30
TCGA-CR-7371-01A-11D-2012-08	HNSC	68201be8-a1a9-4c78-ad99-3c767ca8366b
TCGA-CR-7372-01A-11D-2012-08	HNSC	9032c525-9bed-47f9-b9f2-ecce4593ea37
TCGA-CR-7373-01A-11D-2012-08	HNSC	9b1f5f6d-503c-4933-944a-b4fd1cc3fa93
TCGA-CR-7374-01A-11D-2012-08	HNSC	2cf33b63-464e-49a0-88f0-6a6d5b0393c4
TCGA-CR-7376-01A-11D-2129-08	HNSC	a6b11f68-79da-4542-818d-f404116c0bf8
TCGA-CR-7377-01A-11D-2012-08	HNSC	93e4eb9a-7643-411b-be90-94b801f23566
TCGA-CR-7379-01A-11D-2012-08	HNSC	8cc45c01-a363-4151-9ea0-32c404b79da4

TCGA-CR-7380-01A-11D-2012-08	HNSC	ac968fdd-970b-41fc-99f7-5670c741bc06
TCGA-CR-7382-01A-11D-2129-08	HNSC	fdde6828-b9f4-4648-a86b-157c5d46abb2
TCGA-CR-7383-01A-11D-2129-08	HNSC	203629ed-2791-4e22-a9da-be647b0cdef5
TCGA-CR-7385-01A-11D-2012-08	HNSC	2c00b622-c4a4-4862-b14a-a97b7261f46f
TCGA-CR-7386-01A-11D-2012-08	HNSC	dac99486-00bc-41ad-92b4-8bed1a28b122
TCGA-CR-7388-01A-11D-2012-08	HNSC	3eddb2ad-6c75-4ae7-9d27-8ec0e7b4aa55
TCGA-CR-7389-01A-11D-2012-08	HNSC	37149937-8131-4dbf-916b-d599d203eba7
TCGA-CR-7390-01A-11D-2012-08	HNSC	714399af-e425-43bb-a82a-b62ca6fd735d
TCGA-CR-7391-01A-11D-2012-08	HNSC	7236609c-34dd-425a-b882-2dff36983f7b
TCGA-CR-7392-01A-11D-2012-08	HNSC	0616d3e5-9641-4329-a65a-19f4c6918e1c
TCGA-CR-7393-01A-11D-2012-08	HNSC	f59ef1d2-2fc0-44a0-9d2f-c4efd9e79f5d
TCGA-CR-7394-01A-11D-2012-08	HNSC	1fe9a612-4c9a-432d-b175-e1d8bdbc7c56
TCGA-CR-7395-01A-11D-2012-08	HNSC	bd0b1b16-ee20-48e5-be11-70eac9c15630
TCGA-CR-7397-01A-11D-2012-08	HNSC	b93863c2-4657-4ca2-8fce-094fe5df163a

TCGA-CR-7398-01A-11D-2012-08	HNSC	12c391dc-3138-4e73-bdc7-b06512dd0fa7
TCGA-CR-7399-01A-11D-2012-08	HNSC	0a76ba15-f6e5-484f-8a52-9be8351ebdb7
TCGA-CR-7401-01A-11D-2012-08	HNSC	f8d6968c-2648-4dcf-a0da-77e46878581c
TCGA-CR-7402-01A-11D-2012-08	HNSC	015b1cc4-6fa5-43c1-9444-4a1af7663f7e
TCGA-CR-7404-01A-11D-2129-08	HNSC	1c1a8920-9163-4d56-a982-61c4e792cee7
TCGA-CV-5430-01A-02D-1683-08	HNSC	4dfcbe35-9e78-4629-8a00-96fee7062d1e
TCGA-CV-5431-01A-01D-1512-08	HNSC	f1a234f0-8890-4cf3-891f-c7a7423b1e75
TCGA-CV-5432-01A-02D-1683-08	HNSC	91e9ac70-5524-4b13-9d53-7cec52b38ea5
TCGA-CV-5434-01A-01D-1683-08	HNSC	69ef7b45-cd0e-4d59-a0ee-35a8c830120c
TCGA-CV-5435-01A-01D-1683-08	HNSC	ec0a719b-3c3a-4797-9ec5-90d3474da727
TCGA-CV-5436-01A-01D-1512-08	HNSC	34dc613e-e4b4-4897-ac4b-13ff46e46d7e
TCGA-CV-5439-01A-01D-1683-08	HNSC	42a06486-b084-4497-8fe0-a8cff194e020
TCGA-CV-5440-01A-01D-1512-08	HNSC	5f5ba5a9-8089-4fe7-92e3-6c31c5fb32d4
TCGA-CV-5441-01A-01D-1512-08	HNSC	f57f2873-a4ae-4fc0-9d4c-e1f4ef47482e

TCGA-CV-5442-01A-01D-1512-08	HNSC	4d42594f-c1f4-45ed-8bd2-7701f914d33c
TCGA-CV-5443-01A-01D-1512-08	HNSC	9d279797-4464-4ef5-8858-640978ccc258
TCGA-CV-5444-01A-02D-1512-08	HNSC	cf975479-131b-4b37-927e-cacb1f13e62d
TCGA-CV-5966-01A-11D-1683-08	HNSC	24ad5336-f5ee-49c0-a176-48411285fbe8
TCGA-CV-5970-01A-11D-1683-08	HNSC	a52dc15f-d06d-46ed-a73e-aa004a2a736a
TCGA-CV-5971-01A-11D-1683-08	HNSC	881a530b-fdd2-4674-b95d-fded0dfce4ff
TCGA-CV-5973-01A-11D-1683-08	HNSC	b848fbad-1eb3-4bc2-9006-2d0ca559cee8
TCGA-CV-5976-01A-11D-1683-08	HNSC	7b643ce3-43bc-4a14-942a-0d6fcffa0312
TCGA-CV-5977-01A-11D-1683-08	HNSC	81f3c96a-54bb-4629-a64e-7c8dae66e11a
TCGA-CV-5978-01A-11D-1683-08	HNSC	791d4f3f-90e0-4fa5-9671-9b5f04ed3eca
TCGA-CV-5979-01A-11D-1683-08	HNSC	c2c31b58-c5b3-4fc3-be99-b978d2961f86
TCGA-CV-6003-01A-11D-1683-08	HNSC	9a040a5e-3d2b-433a-9786-7c26b433c0c2
TCGA-CV-6433-01A-11D-1683-08	HNSC	16b220fa-a554-43c9-85b0-315331e5ba6e
TCGA-CV-6436-01A-11D-1683-08	HNSC	a5214457-3a86-4b29-b116-3baaa0aa5099

TCGA-CV-6441-01A-11D-1683-08	HNSC	22b32736-3b91-4542-affa-46fa90819e69
TCGA-CV-6933-01A-11D-1912-08	HNSC	8ef4b02e-4d34-4d58-aa2d-65a7f73982d5
TCGA-CV-6934-01A-11D-1912-08	HNSC	f5abf385-0372-4faa-9558-8bf02381b68b
TCGA-CV-6935-01A-11D-1912-08	HNSC	fdc0ebce-5ba2-4c18-b594-50b33ef6d116
TCGA-CV-6936-01A-11D-1912-08	HNSC	2d4bdd75-d967-40b2-b55d-99e59cc7e125
TCGA-CV-6937-01A-11D-2012-08	HNSC	1c78a20e-150f-4c12-8abe-b941f90e730f
TCGA-CV-6938-01A-11D-1912-08	HNSC	b1dcb76e-b98f-4989-90a2-885e50d8174c
TCGA-CV-6939-01A-11D-1912-08	HNSC	e2e84cc1-2944-489e-be1b-0018a4e723e4
TCGA-CV-6940-01A-11D-1912-08	HNSC	39f2e005-79f9-4c63-a6d6-0b378481a3ba
TCGA-CV-6941-01A-11D-1912-08	HNSC	87071681-0058-4081-91f3-f689a150fc94
TCGA-CV-6942-01A-21D-2012-08	HNSC	c5409f12-e438-4979-b40e-120899c1fa15
TCGA-CV-6943-01A-11D-1912-08	HNSC	4fa37ade-3451-406d-b0bb-e135e1591b70
TCGA-CV-6945-01A-11D-1912-08	HNSC	fcfc9b74-5b8a-45b7-97ca-4e477e941e7c
TCGA-CV-6948-01A-11D-1912-08	HNSC	03eb2650-4b9f-46d2-b09f-378d8e919ae2

TCGA-CV-6950-01A-11D-1912-08	HNSC	4a341860-44fb-493e-bd46-aeb6610842de
TCGA-CV-6951-01A-11D-1912-08	HNSC	9e1bf26c-6a68-44d2-aaa8-9af2f67828aa
TCGA-CV-6952-01A-11D-1912-08	HNSC	2d859062-3655-471e-b3dd-e6ff0671c076
TCGA-CV-6953-01A-11D-1912-08	HNSC	fb79f2be-3dec-4b5a-b5f3-e29e0fb05a98
TCGA-CV-6954-01A-11D-1912-08	HNSC	08f56645-763e-4864-a145-c0136dacd4f5
TCGA-CV-6955-01A-11D-2012-08	HNSC	f2c7fbe1-af36-4c42-b5ae-b9bf1e88fe36
TCGA-CV-6956-01A-21D-2012-08	HNSC	9ccee056-124e-40d5-a07d-c208765d8640
TCGA-CV-6959-01A-11D-1912-08	HNSC	ff4cc4f1-9897-4d04-a3f6-c28a9b928b7a
TCGA-CV-6960-01A-41D-2012-08	HNSC	750da72e-cabd-4b97-8160-8c4e39272b8b
TCGA-CV-6962-01A-11D-1912-08	HNSC	0b2767d9-10b4-4ec4-9437-5a5186e284ca
TCGA-CV-7089-01A-11D-2012-08	HNSC	125ccb76-bf8d-4ce7-a04c-4424d6da0322
TCGA-CV-7090-01A-11D-2012-08	HNSC	5c636c2d-f426-43a9-984d-b4455e4388e5
TCGA-CV-7091-01A-11D-2012-08	HNSC	563c5a89-6dad-467e-b2ea-e07677574a08
TCGA-CV-7095-01A-21D-2012-08	HNSC	e4aba107-a048-46e5-b0aa-901f076b6f61

TCGA-CV-7097-01A-11D-2012-08	HNSC	23336d44-bb79-4361-b661-ce26eae06692
TCGA-CV-7099-01A-41D-2012-08	HNSC	12a04e68-c814-4a18-a469-d7edc76e362d
TCGA-CV-7100-01A-11D-2012-08	HNSC	f21a5e1f-84b8-4e6f-8230-03d31cc7c431
TCGA-CV-7101-01A-11D-2012-08	HNSC	511c3fa8-476b-4ee8-8e93-1ab46bc40dbe
TCGA-CV-7102-01A-11D-2012-08	HNSC	eda5514f-3aa1-447c-ad07-55ec307c26e3
TCGA-CV-7103-01A-21D-2012-08	HNSC	e04f3556-ae16-410d-bc03-1057ae308329
TCGA-CV-7104-01A-11D-2012-08	HNSC	4f429401-f71e-4908-9663-2e66bacbebdd
TCGA-CV-7177-01A-11D-2012-08	HNSC	c984165c-88ea-4840-a980-be818db16820
TCGA-CV-7178-01A-21D-2012-08	HNSC	3f30774f-2b8c-4057-abd1-a9dd1e49ec78
TCGA-CV-7180-01A-11D-2012-08	HNSC	4233a363-ba28-495c-8590-644199c33d64
TCGA-CV-7183-01A-11D-2012-08	HNSC	172e7b30-829e-40b2-976e-4971cd1724a9
TCGA-CV-7235-01A-11D-2012-08	HNSC	1758147b-cb09-430b-a8cb-6a144744a79f
TCGA-CV-7236-01A-11D-2012-08	HNSC	dc220a9d-1f16-4fe3-8196-d837a909f038
TCGA-CV-7238-01A-11D-2012-08	HNSC	e9619e49-7185-4158-9e8b-45d446960b60

TCGA-CV-7242-01A-11D-2012-08	HNSC	9e07a1bc-f7c7-4cb4-b3b1-92162a79de0e
TCGA-CV-7243-01A-11D-2012-08	HNSC	bc6a2b7c-8a6c-4084-8551-8d1db9072ec2
TCGA-CV-7245-01A-11D-2012-08	HNSC	56291b3c-595c-4388-a264-9037a48401d8
TCGA-CV-7247-01A-11D-2012-08	HNSC	b0ce56d2-8e2b-42b4-ac59-d37ba5a7a2c3
TCGA-CV-7248-01A-11D-2012-08	HNSC	8ffc7f9d-16da-4cff-b845-f2ff8df87569
TCGA-CV-7250-01A-11D-2012-08	HNSC	14516d2b-47dc-4768-977b-bc3c1fe93722
TCGA-CV-7252-01A-11D-2012-08	HNSC	9692c6b2-ce97-4c92-a0dd-f27d01a94e6e
TCGA-CV-7253-01A-11D-2012-08	HNSC	d501a7e5-70e7-4f80-851a-efe8859d603a
TCGA-CV-7254-01A-11D-2012-08	HNSC	fd22e861-571e-44da-82b6-b128e07d1963
TCGA-CV-7255-01A-11D-2012-08	HNSC	4dedba61-e137-4ae4-8312-94231e3b1d16
TCGA-CV-7261-01A-11D-2012-08	HNSC	9fa7bc79-d05b-41da-8bcc-8d5ad4451b0c
TCGA-CV-7263-01A-11D-2012-08	HNSC	19a07472-c8b9-4a34-b2cb-11ace35e7903
TCGA-CV-7406-01A-11D-2078-08	HNSC	8c9effa8-acb6-4db0-874a-8f0df386924c
TCGA-CV-7407-01A-11D-2078-08	HNSC	94631dc8-6dcb-49ed-bb68-e1a57a65f1cb

TCGA-CV-7409-01A-31D-2229-08	HNSC	47fa56f1-0802-403a-a644-913f1a0fdeca
TCGA-CV-7410-01A-21D-2078-08	HNSC	b89c4f94-b07c-485b-95ba-ffe815616d78
TCGA-CV-7411-01A-11D-2078-08	HNSC	790e387e-9e87-48d0-bc9d-2bc92f20abc5
TCGA-CV-7413-01A-11D-2078-08	HNSC	be482a19-0de0-4e60-a831-9ebe8545a6f3
TCGA-CV-7414-01A-11D-2078-08	HNSC	7137f980-5301-4b18-9664-d887eaced75e
TCGA-CV-7415-01A-11D-2078-08	HNSC	bb1e4188-130c-4206-8671-d7ce3eb8ee74
TCGA-CV-7418-01A-11D-2078-08	HNSC	25a70d04-f533-4e60-b9fc-e74d600db296
TCGA-CV-7421-01A-11D-2078-08	HNSC	ee675976-b447-48c8-bc67-6878a0d35e07
TCGA-CV-7422-01A-21D-2078-08	HNSC	5eb3f291-082c-48a8-b653-09264342adee
TCGA-CV-7423-01A-11D-2078-08	HNSC	a99653e0-2751-4423-93f7-abcdf258c9868
TCGA-CV-7424-01A-11D-2078-08	HNSC	76d5fc22-fd06-43f6-94a8-943a09db5fd6
TCGA-CV-7425-01A-11D-2078-08	HNSC	f8cc6696-91d0-4eba-a765-ef7d044238ce
TCGA-CV-7427-01A-11D-2078-08	HNSC	3fdb4698-4a38-4a81-a403-d1ce5568c225
TCGA-CV-7429-01A-11D-2129-08	HNSC	14b42e59-e519-4efc-8105-6f6b83d33353

TCGA-CV-7430-01A-11D-2129-08	HNSC	29a4027f-4d4f-4133-b40a-3bfab6d2ac9e
TCGA-CV-7432-01A-11D-2129-08	HNSC	60da7e3f-4d9c-4cb3-856d-6cc02e381028
TCGA-CV-7433-01A-11D-2129-08	HNSC	15380da5-6a0b-4649-b21b-ce1ed7d61b67
TCGA-CV-7434-01A-11D-2129-08	HNSC	d64e4e80-e6c6-42c8-8bc6-0fafb6475c51
TCGA-CV-7435-01A-11D-2129-08	HNSC	16b7fd85-3664-4c4a-9a43-48b107dbcf7f
TCGA-CV-7437-01A-21D-2129-08	HNSC	53413980-80cc-4c73-8bb6-31a01d6df86e
TCGA-CV-7438-01A-21D-2129-08	HNSC	6fd3ecf3-c87c-46c3-81f0-11e2f8936d61
TCGA-CV-7440-01A-11D-2129-08	HNSC	901c2ed5-8348-4dd9-a84c-6c0b18d6525e
TCGA-CX-7082-01A-11D-2012-08	HNSC	4c6c96b8-958e-4235-9673-8bf4ce0e6b38
TCGA-CX-7085-01A-21D-2012-08	HNSC	4f6ee10b-246d-49cd-8b60-01dcb175e634
TCGA-CX-7086-01A-11D-2078-08	HNSC	dfcb7c6e-b0f4-4557-9669-4c580d1093a0
TCGA-CX-7219-01A-11D-2012-08	HNSC	83f92af6-60ab-402e-8990-e1060ca3cc4c
TCGA-D6-6515-01A-21D-1870-08	HNSC	15c4d640-884c-4d55-897e-2f68314423fe
TCGA-D6-6516-01A-11D-1870-08	HNSC	5ab94b24-1a1f-4df7-a5c6-b1dce8ee9be5

TCGA-D6-6517-01A-11D-1870-08	HNSC	c553e4a2-cbea-43d6-8937-a48836856b5a
TCGA-D6-6823-01A-11D-1912-08	HNSC	e1f4d8ef-f24a-417b-bf22-c03cdb6b5275
TCGA-D6-6824-01A-11D-1912-08	HNSC	b658aa3f-0812-4812-8254-816d9a4d7c04
TCGA-D6-6825-01A-21D-1912-08	HNSC	01f44db3-84dc-4f96-888d-b0370bf582a5
TCGA-D6-6826-01A-11D-1912-08	HNSC	368030ac-f855-452a-a3d3-3698ab9a00dd
TCGA-D6-6827-01A-11D-1912-08	HNSC	059be8f9-9536-40c0-a751-5fe529a2f01f
TCGA-DQ-5624-01A-01D-1870-08	HNSC	01282192-5bb6-44d6-bbc7-33a42eba416b
TCGA-DQ-5625-01A-01D-1870-08	HNSC	4e042e1d-8604-484a-b229-94b85745a478
TCGA-DQ-5629-01A-01D-1870-08	HNSC	e748f828-0b80-47f3-aa92-fb3b2be0dcc2
TCGA-DQ-5630-01A-01D-1870-08	HNSC	5aa7ff44-d4ff-4163-81db-9f09bec8d5b0
TCGA-DQ-5631-01A-01D-1870-08	HNSC	e389975a-e588-48d4-9ed3-548e8ed9de1c
TCGA-DQ-7588-01A-11D-2078-08	HNSC	6aad9b01-6a99-4f21-955f-7938af25a188
TCGA-DQ-7589-01A-11D-2229-08	HNSC	de34e28e-942b-442b-b745-7f2a0e56f3ff
TCGA-DQ-7590-01A-11D-2229-08	HNSC	5cbcfaf67-f062-4a03-84ad-dabfbcf14514

TCGA-DQ-7591-01A-11D-2078-08	HNSC	4068a2fc-452d-4b2c-88d8-72d30097527b
TCGA-DQ-7592-01A-11D-2078-08	HNSC	d8e20b3b-2666-4b53-aa85-a5056028df98
TCGA-DQ-7594-01A-11D-2229-08	HNSC	92e689c0-08ab-472b-aedc-6344fedcbbc0
TCGA-DQ-7595-01A-11D-2229-08	HNSC	7d504cd7-09f0-4691-a1b2-55fc7d206439
TCGA-F7-7848-01A-11D-2129-08	HNSC	ba8a3e47-ee55-4c88-b29f-6d161ffae1d0
TCGA-H7-7774-01A-21D-2078-08	HNSC	0eb5b79a-e3be-4b19-aef6-74247986aaf6
TCGA-HD-7229-01A-11D-2012-08	HNSC	26b27991-540f-47f4-95f3-a59a493da593
TCGA-HD-7753-01A-11D-2078-08	HNSC	7dc33525-6f57-4b12-9b72-c9c845296ae3
TCGA-HD-7754-01A-11D-2078-08	HNSC	233ecdc4-0b42-4533-8908-64ac7d3ac33b
TCGA-HD-7831-01A-11D-2129-08	HNSC	ae914215-3b1a-4edb-9f5a-ce4a17154178
TCGA-HD-7832-01A-11D-2129-08	HNSC	374f3e37-87e5-4450-a89f-0bde3981a31e
TCGA-HD-7917-01A-11D-2229-08	HNSC	451948c9-3d16-4771-b006-28b98580db2c
TCGA-HL-7533-01A-11D-2229-08	HNSC	fbf8f4a8-be9e-4713-884d-c80ef662d622
TCGA-IQ-7630-01A-11D-2078-08	HNSC	80442509-c2f0-4047-956e-a3633dfd472b

TCGA-IQ-7631-01A-11D-2078-08	HNSC	b2266f1c-1642-4849-9278-41e827691aa7
TCGA-IQ-7632-01A-11D-2078-08	HNSC	9fcfc377-a153-401c-95b4-8a4569866096
TCGA-A3-3311-01A-01D-0966-08	RCC	9c095b70-9a64-48b0-8a1c-45dd00a70019
TCGA-A3-3316-01A-01D-0966-08	RCC	e1241cff-4071-482e-be5b-adb9c46a480a
TCGA-A3-3317-01A-01D-0966-08	RCC	cd12847f-695b-4b97-9a56-a4a1ddc58ec4
TCGA-A3-3319-01A-01D-0966-08	RCC	a771a7ad-8dfa-46ee-849d-4478798c46a6
TCGA-A3-3320-01A-01D-0966-08	RCC	5c4cc718-d7b5-453c-89d8-186ab0869e68
TCGA-A3-3322-01A	RCC	6f329d07-3308-4c84-9113-2bf000e9be3b
TCGA-A3-3323-01A-01D-0966-08	RCC	21c50574-7496-4be5-b723-1fdb980fb208
TCGA-A3-3326-01A-01D-0966-08	RCC	60ed222b-cd0c-4bc5-acd0-39f207be3289
TCGA-A3-3346-01A-01D-0966-08	RCC	c8a52c11-2278-4f15-80bb-c7115c2cd737
TCGA-A3-3347-01A-02D-1386-10	RCC	2f4a6bd7-16ff-4689-b41d-c5fabbb87823b
TCGA-A3-3349-01A-01D-1251-10	RCC	c2b257f6-9cb5-4598-89c7-f0b55e24dbb3
TCGA-A3-3357-01A-02D-1421-08	RCC	db6f5ad9-ae6e-4689-b146-f733f8352c54

TCGA-A3-3358-01A-01D-1534-10	RCC	fd42afa7-6f0f-48e8-a947-bb9c9f4770ef
TCGA-A3-3362-01A-02D-1386-10	RCC	03c9042a-0206-4f12-b444-62f435140e8d
TCGA-A3-3363-01A-01D-0966-08	RCC	34dac639-c2e5-447d-99c5-c6a3e15538fe
TCGA-A3-3365-01A	RCC	8bc46a09-7328-42e0-ad97-e557ec81048e
TCGA-A3-3367-01A-02D-1421-08	RCC	83a091b9-35cc-4f3b-9d5f-d699b79ac421
TCGA-A3-3370-01A-02D-1421-08	RCC	21ce7121-87b4-4686-9bf6-aff71d8b2223
TCGA-A3-3372-01A-01D-0966-08	RCC	f9f50073-a1d3-4c52-be78-529bd05cbce4
TCGA-A3-3373-01A-02D-1421-08	RCC	6cbaac72-ca6e-4c4b-a016-1836959344c8
TCGA-A3-3376-01A-02D-1421-08	RCC	31031387-393f-4bf9-ba87-cfe7330afc13
TCGA-A3-3378-01A-01D-0966-08	RCC	f04f3a00-e743-4fed-a0b0-e6a81bdd6ddd
TCGA-A3-3380-01A-01D-0966-08	RCC	269d4e2a-a425-4fde-bb51-5880f7f8b2b9
TCGA-A3-3382-01A-01D-0966-08	RCC	f10e1718-6fb8-4c08-bc28-439f26355cd2
TCGA-A3-3383-01A-01D-0966-08	RCC	2ea06f57-c7fa-4881-b9c0-dd3f9c1c4ca0
TCGA-A3-3385-01A	RCC	f780aef6-1c9c-4167-9f55-48885d6e5874

TCGA-A3-3387-01A-01D-1534-10	RCC	e9e149ff-79e0-48f9-9262-1fbbad865e77
TCGA-AK-3429-01A-02D-1386-10	RCC	fa51dce9-2101-4af7-9280-4bad56b6848e
TCGA-AK-3430-01A	RCC	b16a82ca-2eaf-4b7a-b469-2be4a023fc2a
TCGA-AK-3436-01A-02D-1386-10	RCC	714cd118-7f2b-47a5-83f6-41b20674ad03
TCGA-AK-3444-01A-01D-0966-08	RCC	ea794170-156d-4251-b899-abfd60b213b0
TCGA-AK-3451-01A	RCC	242777f6-a875-4072-9696-8d7f7d718906
TCGA-AK-3455-01A-01D-0966-08	RCC	3fbeeda4-a6c4-45a4-a963-dc6ca3f7e0ba
TCGA-AK-3456-01A-02D-1386-10	RCC	d36felbe-96a5-4001-a95e-d499a6087146
TCGA-AK-3458-01A-01D-1501-10	RCC	0198f3c3-78f2-4c19-90d5-c77b74044ca2
TCGA-AS-3778-01A-01D-0966-08	RCC	7b56e923-2bc5-4368-8e28-42649d3bf169
TCGA-B0-4700-01A-02D-1534-10	RCC	32cb433f-359c-44c3-b2df-d2a64df90175
TCGA-B0-4706-01A-01D-1501-10	RCC	040fdd9b-db76-4357-9aed-77a8cbde058d
TCGA-B0-4710-01A	RCC	6fc8cb4b-1dc0-46b8-ae80-7dbd022c9431
TCGA-B0-4712-01A-01D-1501-10	RCC	032b33f8-ff79-47de-8cb2-d744eab8bd1a

TCGA-B0-4810-01A-01D-1501-10	RCC	e014eeeb-c48e-42bb-a683-93299087a3cf
TCGA-B0-4811-01A-01D-1501-10	RCC	a46182dc-2481-4911-9f6b-9532666f9f8c
TCGA-B0-4815-01A-01D-1501-10	RCC	fe091054-41d3-44fa-86a2-fad3ae58423f
TCGA-B0-4816-01A	RCC	d05c3419-4164-4a69-8b11-ce1f5c29b5d4
TCGA-B0-4818-01A-01D-1501-10	RCC	213bf382-c2ca-45d4-95ae-329e6653620f
TCGA-B0-4823-01A-02D-1421-08	RCC	9f790e7e-3475-4242-82fc-cbdd461ce5ef
TCGA-B0-4827-01A-02D-1421-08	RCC	02f83f9a-4e4d-44f3-8d67-b4fc2d35102b
TCGA-B0-4842-01A-02D-1421-08	RCC	ae765ade-6a06-439c-a1cd-67222a70f44e
TCGA-B0-4852-01A-01D-1501-10	RCC	28dbeb57-c919-4f91-aa3c-7b8f3809011e
TCGA-B0-4945-01A-01D-1421-08	RCC	9fae377f-6c63-4f47-a769-a1396fb15f56
TCGA-B0-5075-01A	RCC	200819c3-826e-49a1-8824-6d4752e6eb6f
TCGA-B0-5077-01A-01D-1462-08	RCC	587f2bd8-952a-4f31-98e7-7654c80b8a99
TCGA-B0-5080-01A-01D-1501-10	RCC	9adf0a63-1d5c-403a-9e78-cb9d62a249a4
TCGA-B0-5081-01A-01D-1462-08	RCC	71a9d096-0e27-4585-b54a-48214d83cd6c

TCGA-B0-5085-01A-01D-1462-08	RCC	a36e36ee-48f3-4674-a9f3-a121a09535c5
TCGA-B0-5088-01A-01D-1462-08	RCC	e56245d6-c681-44e0-9eb2-504bee3e1b32
TCGA-B0-5092-01A-01D-1421-08	RCC	76b9d9e3-6010-4894-8435-debe95a376b5
TCGA-B0-5094-01A-01D-1421-08	RCC	8b910c03-86a9-488d-80b4-1f8c214c2941
TCGA-B0-5095-01A-01D-1421-08	RCC	93c714f8-acea-4550-92fe-aad4aad65ac9
TCGA-B0-5096-01A-01D-1421-08	RCC	261de0a2-6006-4b3b-aac0-37d9b33840aa
TCGA-B0-5097-01A-01D-1421-08	RCC	3af2978e-b892-4817-be05-39f020c06b5e
TCGA-B0-5099-01A-01D-1421-08	RCC	c3150136-ae55-49d0-9212-86728464167d
TCGA-B0-5100-01A-01D-1421-08	RCC	b20bd619-59c9-4e2a-8e64-7bb44eaa75ce
TCGA-B0-5102-01A-01D-1421-08	RCC	abea5e3e-705a-4d2c-b207-1ab43767a19b
TCGA-B0-5104-01A	RCC	ac2cfbde-9d62-49db-9a07-e8166003f10f
TCGA-B0-5106-01A-01D-1421-08	RCC	c0e28603-7204-416d-ba3d-5377a38f677d
TCGA-B0-5107-01A	RCC	4c6f4edb-9a29-48e6-8521-9c5fd2572e2d
TCGA-B0-5108-01A-01D-1421-08	RCC	d1d37af8-d2c3-4825-8e47-1a2e52e3acbb

TCGA-B0-5109-01A-02D-1421-08	RCC	58d6e408-ed00-4e1f-bffa-e73250cfe4a0
TCGA-B0-5110-01A	RCC	38041aeb-60fe-4784-a5d8-fd04b5c0c5f8
TCGA-B0-5113-01A-01D-1421-08	RCC	64b234e0-74f6-453f-b5cb-280e01fba09b
TCGA-B0-5115-01A-01D-1421-08	RCC	f122b61c-d537-4456-84e8-54e541eec531
TCGA-B0-5116-01A	RCC	97421d06-b199-4246-b2da-80a9ba313335
TCGA-B0-5119-01A-02D-1421-08	RCC	414d47c7-41bb-4c83-8cdf-703fa0a46f01
TCGA-B0-5120-01A-01D-1421-08	RCC	6ce58fbc-6742-4ade-84b0-cd025266e030
TCGA-B0-5121-01A-02D-1421-08	RCC	a2751cb2-8545-490c-92d9-edb9775d32b8
TCGA-B0-5399-01A	RCC	a1dddbed-c780-412a-b563-914f71e5c75d
TCGA-B0-5400-01A-01D-1501-10	RCC	e7128330-77b1-48be-b9f0-be986aa63ea8
TCGA-B0-5402-01A-01D-1501-10	RCC	ca62bea0-a008-481e-8a91-d0f3a9598255
TCGA-B0-5691-01A-11D-1534-10	RCC	ac2e1d29-e239-4dab-9d81-77c8d45970eb
TCGA-B0-5692-01A-11D-1534-10	RCC	1af40135-8357-40b7-b711-478633a70f97
TCGA-B0-5693-01A-11D-1534-10	RCC	be92ee16-6288-46c0-aaa7-7a27020cd7ca

TCGA-B0-5694-01A-11D-1534-10	RCC	6edbaa05-b935-4f82-b070-8fc80ea6b609
TCGA-B0-5695-01A	RCC	86e4862c-7405-40b5-b73f-be0c6c52ea6d
TCGA-B0-5696-01A-11D-1534-10	RCC	48b270af-07f2-4cb5-ace2-e2676ffaccd9
TCGA-B0-5697-01A-11D-1534-10	RCC	9ca4e638-5a95-4eeb-bfc4-257e8ea8fa66
TCGA-B0-5698-01A-11D-1669-08	RCC	2ddf2fa6-7871-49fb-be2c-8fce6f8e41ed
TCGA-B0-5699-01A	RCC	086554a9-2172-43a7-9f52-aab7d0888429
TCGA-B0-5701-01A-11D-1534-10	RCC	0e1c563a-ee60-478b-9286-ed90e7561892
TCGA-B0-5702-01A-11D-1534-10	RCC	780b3f3e-1c49-40de-9131-65c4df9ebba6
TCGA-B0-5703-01A-11D-1534-10	RCC	963400a2-d939-41a5-8c42-9fc3a04b8362
TCGA-B0-5705-01A-11D-1534-10	RCC	d3095df5-5466-4b98-9f6d-f8ae8916ccca
TCGA-B0-5706-01A-11D-1534-10	RCC	b60cf910-2d2e-483a-a9de-ce1e5f8d3825
TCGA-B0-5707-01A-11D-1534-10	RCC	eb2f9f38-bce2-4746-a3c8-40abc3379b32
TCGA-B0-5709-01A-11D-1534-10	RCC	bfeaecbe-7148-4642-b69a-b908a248f328
TCGA-B0-5710-01A-11D-1669-08	RCC	12f1e370-c269-4b95-a89b-a1f3ae42e876

TCGA-B0-5711-01A-11D-1669-08	RCC	cf09ae91-5523-494c-8f30-c26f6ba37624
TCGA-B0-5713-01A-11D-1669-08	RCC	2f35dbf4-3223-4550-951b-1409a30ece68
TCGA-B0-5812-01A-11D-1669-08	RCC	6327ce2c-8a24-45b9-9577-7b7d7b603e68
TCGA-B2-3924-01A	RCC	21527594-ed75-4654-9caf-83d31f248e67
TCGA-B2-4098-01A	RCC	6463ae73-a885-4d69-9345-7110ddac0c7e
TCGA-B2-4099-01A	RCC	e242adb8-db67-475e-a0e4-52a622666b12
TCGA-B2-4101-01A	RCC	a9947b6c-dbc7-4ba5-af61-7647e11e2973
TCGA-B4-5377-01A-01D-1501-10	RCC	a615b02d-fd18-47ef-bd66-6dba56de6981
TCGA-B8-4143-01A-01D-1806-10	RCC	bb186c78-1052-48ec-97f4-c94bddf0df72
TCGA-B8-4146-01B-11D-1669-08	RCC	380bdba7-8a12-4136-877a-f54346d2d8a5
TCGA-B8-4148-01A-02D-1386-10	RCC	fe752e2b-e694-4fa9-99d6-46d5bff9e8cf
TCGA-B8-4151-01A-01D-1806-10	RCC	3f847558-8bc7-49b0-899d-2a7b8f0e3d1a
TCGA-B8-4153-01B-11D-1669-08	RCC	a66078d8-a6b2-4dc4-bfa3-def5a2e4504f
TCGA-B8-4154-01A-01D-1251-10	RCC	e48f5c14-4b64-4d4b-8273-bebc74182181

TCGA-B8-4620-01A	RCC	e4ec1484-4f77-4520-9ff5- bc4dc8a0fb15
TCGA-B8-4621-01A	RCC	242a72ad-5968-4bbf-936d- 75b398a61b96
TCGA-B8-4622-01A	RCC	1c86e0f6-a019-47a5-8325- bbb82f76488c
TCGA-B8-5158-01A-01D-1421- 08	RCC	9d730534-98e7-464e-945c- 5964cec5362a
TCGA-B8-5159-01A-01D-1421- 08	RCC	ed8a9be1-31c6-40e2-9af2- 8abd80d00995
TCGA-B8-5163-01A-01D-1421- 08	RCC	903132ef-877f-4207-ba28- 2e9dd765c824
TCGA-B8-5164-01A	RCC	471ce542-e85b-4bdb-b365- 4562a93ef1e5
TCGA-B8-5165-01A-01D-1421- 08	RCC	d1579785-5c42-4bda-9825- 15ead235f7f4
TCGA-B8-5545-01A-01D-1669- 08	RCC	514d2342-64ba-4c9f-9866- 63bdbc26fda3
TCGA-B8-5550-01A	RCC	dafed455-98a2-419a-bebc- f90b731e2813
TCGA-B8-5552-01B-11D-1669- 08	RCC	13b52e49-20df-4e39-9dc9- cf8f7c157bd7
TCGA-B8-5553-01A-01D-1534- 10	RCC	7c19e63c-770b-4289-aa47- 9b2cf261b4ca
TCGA-BP-4161-01A	RCC	154de511-2bba-4959-970b- 6a8429f29793
TCGA-BP-4162-01A	RCC	ca4eac28-22c9-48d8-8139- 7cda2cfe4ae2

TCGA-BP-4163-01A	RCC	e44de28c-bce0-471d-bd4c- bea710f7c3cc
TCGA-BP-4164-01A	RCC	a8fab76e-ae69-43d6-972b- 5837aec668fd
TCGA-BP-4167-01A-02D-1386- 10	RCC	79b810e1-4de4-496d-9f70- ab62246e781b
TCGA-BP-4770-01A-01D-1501- 10	RCC	aecbc5db-f75a-42d0-a84d- aa0369b08eec
TCGA-BP-4782-01A	RCC	a6c21bf2-dd9b-4243-863e- 9d53b056666f
TCGA-BP-4801-01A-02D-1421- 08	RCC	d3e62cb1-5ced-42cb-a360- 479ee01877aa
TCGA-BP-4960-01A-01D-1462- 08	RCC	36d21be3-2f46-47af-84aa- 2305f2513aa1
TCGA-BP-4961-01A	RCC	f207131d-8db7-464b-a3e5- 44218dalcafc
TCGA-BP-4962-01A-01D-1462- 08	RCC	3454a6fe-2547-4531-a0be- cb27c1879e72
TCGA-BP-4963-01A-01D-1462- 08	RCC	154bfa5d-0d9a-40c6-a2a5- bde1054702c3
TCGA-BP-4964-01A-01D-1462- 08	RCC	5b838251-67f5-4e22-a291- 8a9e206d56db
TCGA-BP-4967-01A-01D-1462- 08	RCC	75866d14-47d5-4560-a5a0- 32ba3e15ac63
TCGA-BP-4968-01A-01D-1462- 08	RCC	d777d5ec-4632-446e-aeac- 8ae3e5273fe2
TCGA-BP-4970-01A-01D-1462- 08	RCC	205e81c6-235a-450f-b1f8- 80c518eb3478

TCGA-BP-4971-01A-01D-1462-08	RCC	c07945e8-8133-4237-9d1f-18c023bc9d2c
TCGA-BP-4972-01A-01D-1462-08	RCC	b2da5d39-33f6-4807-9d1d-92b7cef2a8df
TCGA-BP-4973-01A-01D-1462-08	RCC	5db95dcc-97e3-42a5-87dd-75a09b9c164a
TCGA-BP-4974-01A	RCC	a75c92b2-c67b-42b5-a8c2-7eea1b567ed0
TCGA-BP-4975-01A-01D-1462-08	RCC	109d2752-17f8-4b00-a61f-dfd8e2e3ca81
TCGA-BP-4976-01A-01D-1462-08	RCC	95bd81ec-3c06-4c4d-9915-5cc3dd7a7155
TCGA-BP-4977-01A-01D-1462-08	RCC	7c3bf7c1-07d9-4540-9a5e-614fd60b63ec
TCGA-BP-4981-01A-01D-1462-08	RCC	64a1f085-50cc-4129-a617-e0f691a58039
TCGA-BP-4982-01A-01D-1462-08	RCC	84591a73-bed0-4ad5-9acd-8f31acf27af0
TCGA-BP-4983-01A-01D-1462-08	RCC	beaafdf9-d5c0-4bc4-b08b-833c3c91c9ae
TCGA-BP-4985-01A-01D-1462-08	RCC	e56acfea-aec6-4102-8fe0-25df396c10ae
TCGA-BP-4986-01A-01D-1462-08	RCC	4465171a-d048-4078-b1ae-021b2c635ff4
TCGA-BP-4987-01A-01D-1462-08	RCC	7924f8ff-8e78-4910-9dc5-db14d5ee7011
TCGA-BP-4988-01A-01D-1462-08	RCC	792c9867-ceea-4520-bbb7-5dabe290664f

TCGA-BP-4989-01A-01D-1462-08	RCC	7096085b-cd5b-4cd1-8957-a6adcf7e818a
TCGA-BP-4991-01A-01D-1462-08	RCC	d54c714e-b1c4-4669-986d-5e13d2fc3cc3
TCGA-BP-4992-01A	RCC	212717dd-25f1-4c76-a648-b8a7d65caecf
TCGA-BP-4993-01A-02D-1421-08	RCC	34315bea-6ef2-42ec-b17e-c73eed40647f
TCGA-BP-4995-01A-01D-1462-08	RCC	93b9afac-e12e-49d2-96ac-274da6581d76
TCGA-BP-4998-01A-01D-1462-08	RCC	e646f930-967b-43a3-bd70-184e5c38efe5
TCGA-BP-4999-01A-01D-1462-08	RCC	86ffb814-7c65-426b-b7b5-7250322c4d01
TCGA-BP-5000-01A-01D-1462-08	RCC	b9816eaa-3c60-4fbf-abd6-6d869ca9cca7
TCGA-BP-5001-01A	RCC	e863bd35-0382-4979-b599-033a06a1f50b
TCGA-BP-5004-01A-01D-1462-08	RCC	e3d82fe4-b491-4172-86da-429cf16508de
TCGA-BP-5006-01A-01D-1462-08	RCC	11fb962b-b4b8-46f4-bde4-3f87309e94f3
TCGA-BP-5007-01A	RCC	a44eb1d6-3b5c-42e8-b17a-d71ffc0503d5
TCGA-BP-5008-01A	RCC	41c094e9-6c23-4993-8d90-338b66efefc1
TCGA-BP-5009-01A-01D-1462-08	RCC	3baa3cdc-c63e-4556-baf1-c3b03175b0fa

TCGA-BP-5010-01A-02D-1421-08	RCC	553cbe18-6dd3-4b34-b7fe-96a6dd2e6943
TCGA-BP-5168-01A-01D-1421-08	RCC	9930560d-22e6-43aa-a6f0-02515f7af8f0
TCGA-BP-5169-01A-01D-1429-08	RCC	3527b21e-972b-4c31-b5de-8c394ce0e500
TCGA-BP-5170-01A-01D-1429-08	RCC	68761b2c-66b9-4adf-9b60-955f79ed0f11
TCGA-BP-5173-01A-01D-1429-08	RCC	3ce0a5fc-09ae-412a-8a5b-56d9a44433aa
TCGA-BP-5174-01A-01D-1429-08	RCC	53b5cf8d-f3cf-4e7e-91ec-b0c907d1c13f
TCGA-BP-5175-01A-01D-1429-08	RCC	30e58a1e-e7db-43ce-a7e8-a1fd21f4438e
TCGA-BP-5176-01A-01D-1429-08	RCC	607eb48b-1647-4e35-ac60-f6c50341e304
TCGA-BP-5177-01A-01D-1429-08	RCC	ad4cc7e3-c4d1-4cc0-9c93-33b47dadaaae
TCGA-BP-5178-01A-01D-1429-08	RCC	60888dc5-1408-4bfb-bf27-f3e22f5488e4
TCGA-BP-5180-01A-01D-1429-08	RCC	a776bde5-7503-459c-8419-dc0d744a651e
TCGA-BP-5182-01A-01D-1429-08	RCC	00523547-da1c-4bb1-a627-c0946849b376
TCGA-BP-5183-01A-01D-1429-08	RCC	cd4c37c3-95f2-4612-b6a8-9d6d1dfb5fd4
TCGA-BP-5184-01A-01D-1429-08	RCC	ddebed14-f47f-46e6-ac39-c74ed3363211

TCGA-BP-5185-01A-01D-1429-08	RCC	42dc6d82-f52a-4b13-b3bc-c63002b47e98
TCGA-BP-5186-01A-01D-1429-08	RCC	02b98f85-07df-4fb2-b27e-efd368c84ec8
TCGA-BP-5187-01A	RCC	3257e690-9306-434f-b6ac-17da58ab1243
TCGA-BP-5189-01A-02D-1429-08	RCC	ca98342a-65ec-468a-9cc1-44c7d31a67d6
TCGA-BP-5190-01A-01D-1429-08	RCC	5491645b-552c-47a9-b081-e8e508d1df3d
TCGA-BP-5191-01A-01D-1429-08	RCC	64dd8a08-483e-4dce-90b0-64a751fdbebd
TCGA-BP-5192-01A-01D-1429-08	RCC	4db23b76-46dd-4ed9-a168-fee43b2fc7d7
TCGA-BP-5194-01A-02D-1429-08	RCC	5b52c97e-fdd2-4ae2-b036-297feeb1c7e2
TCGA-BP-5195-01A-02D-1429-08	RCC	c2ab2f01-3744-434a-b5b6-0f22599c9a17
TCGA-BP-5196-01A-01D-1429-08	RCC	201bf07d-0be9-442f-ad66-15ea8c7e812d
TCGA-BP-5198-01A-01D-1429-08	RCC	ac66d658-97d4-416b-8028-0077a1c8a01d
TCGA-BP-5199-01A-01D-1429-08	RCC	135f3b77-1474-40d8-87a1-15939136e8cd
TCGA-BP-5200-01A	RCC	e2557bba-b331-40c2-8389-c52324630bca
TCGA-BP-5201-01A-01D-1429-08	RCC	243c77a9-1591-45ac-b048-a5687a77c764

TCGA-BP-5202-01A-02D-1429-08	RCC	acc7214-d441-4a72-a2eb-9f2811c38a3e
TCGA-CJ-4634-01A-02D-1386-10	RCC	59f18fac-c6f8-4cbf-9259-8c22d6ba0c58
TCGA-CJ-4636-01A	RCC	5889076d-0a5f-4c3a-8254-a941df3186f7
TCGA-CJ-4637-01A-02D-1386-10	RCC	b8480571-ee08-4fa1-b509-1331a8fbc075
TCGA-CJ-4638-01A-02D-1386-10	RCC	cbc187b0-fafe-4b1f-9af0-6714942414ab
TCGA-CJ-4639-01A-02D-1386-10	RCC	9df6d1b1-5a09-4082-8ec0-61b12b3c8801
TCGA-CJ-4640-01A-02D-1386-10	RCC	e406036a-eeeb-474e-8c76-0fa8b64225be
TCGA-CJ-4641-01A-02D-1386-10	RCC	c00265ac-c6cc-4349-ac30-e2e44582015a
TCGA-CJ-4643-01A-02D-1386-10	RCC	5e00e420-94fd-4115-9cd9-cef24f6df0eb
TCGA-CJ-4644-01A-02D-1386-10	RCC	2f2888fb-ae20-4347-87dc-f0eeeb9b0d5
TCGA-CJ-4882-01A-02D-1429-08	RCC	b1b7b8e8-cc87-4a52-900a-1f3ef7d449d7
TCGA-CJ-4897-01A-03D-1429-08	RCC	c1331eec-e2df-4924-918b-7e5134e933c2
TCGA-CJ-4899-01A-01D-1462-08	RCC	943ca428-39f6-4ad2-8ca5-220628a6b5bb
TCGA-CJ-4901-01A-01D-1429-08	RCC	a8a8f3ff-0514-4bca-be75-16ad58eb9e72

TCGA-CJ-4902-01A-01D-1429-08	RCC	3ef9ea62-85c4-4261-af23-ecb86f192cdf
TCGA-CJ-4903-01A-01D-1429-08	RCC	3b685193-f1fa-4c1b-949b-bcdb2d1b934c
TCGA-CJ-4904-01A-02D-1429-08	RCC	9bedcded-0c33-4199-bdce-18681595c2d8
TCGA-CJ-4905-01A-02D-1429-08	RCC	22eb9dc5-8d5e-4158-8edc-12ff62a612be
TCGA-CJ-4907-01A-01D-1429-08	RCC	7c69fcb9-4b94-478a-bcb3-6ebd162d9482
TCGA-CJ-4908-01A-01D-1429-08	RCC	dbc5420c-5c60-4d1e-8554-9d2f6e55c502
TCGA-CJ-4912-01A-01D-1429-08	RCC	894ade93-8feb-4f93-a31a-d9e16eb81743
TCGA-CJ-4913-01A-01D-1429-08	RCC	0635f266-c4be-45ea-8347-455ef7ad5648
TCGA-CJ-4916-01A-01D-1429-08	RCC	81b0e02c-069c-4c4b-b56f-79c2ebec9927
TCGA-CJ-4918-01A-01D-1429-08	RCC	2c5d4600-0271-4c03-ab44-239ac19d8b4d
TCGA-CJ-4920-01A-01D-1429-08	RCC	12bf3338-f541-45a9-9fb7-e84931ba5ed8
TCGA-CJ-4923-01A-01D-1429-08	RCC	19171a1a-6483-4bf3-b0b4-8cd441303c55
TCGA-CJ-5671-01A-11D-1534-10	RCC	5b1084bb-3fb2-4f3f-9ca7-7108b0f77994
TCGA-CJ-5672-01A-11D-1534-10	RCC	61497c42-78f2-43d4-b2ab-2b1e655271a8

TCGA-CJ-5675-01A	RCC	26f77108-c3b0-4833-9a1a- df457d7415a9
TCGA-CJ-5676-01A-11D-1534- 10	RCC	2e8aa293-650b-4661-b130- 8b70f0949b86
TCGA-CJ-5677-01A-11D-1534- 10	RCC	70fe0b18-52d1-40f7-b2a3- c808b3009610
TCGA-CJ-5678-01A-11D-1534- 10	RCC	d49759a2-d2a9-48ba-9447- e42c9d3d64c7
TCGA-CJ-5679-01A	RCC	17313700-6052-4901-8850- 981fead99d6c
TCGA-CJ-5680-01A-11D-1534- 10	RCC	2c718814-9d25-49a6-a430- 2019071ec0ab
TCGA-CJ-5681-01A-11D-1534- 10	RCC	9ae0744a-9bc1-4cd7-b7cf- c6569ed9e4aa
TCGA-CJ-5682-01A-11D-1534- 10	RCC	deceb0ba-600f-491a-a207- 2e0205ff89d2
TCGA-CJ-5683-01A-11D-1534- 10	RCC	b85e29c5-0206-4d65-aa46- 179a55c0ceae
TCGA-CJ-5684-01A-11D-1534- 10	RCC	24ee4b71-c2e0-44c3-aaeb- 3c488cd26ce7
TCGA-CJ-5686-01A-11D-1669- 08	RCC	695e2a72-6b97-4fa1-9f57- d7c6e10438ee
TCGA-CJ-6027-01A-11D-1669- 08	RCC	b0483455-4cde-408f-b831- 17223c03241a
TCGA-CJ-6028-01A-11D-1669- 08	RCC	d165717a-cc3d-4533-8194- 0029c186f1bb
TCGA-CJ-6030-01A-11D-1669- 08	RCC	c904299c-09a8-4a4c-9378- 2fee0ac4cd33

TCGA-CJ-6031-01A-11D-1669-08	RCC	a47debc7-700e-4c64-a9b3-1113609a1ddf
TCGA-CJ-6032-01A-11D-1669-08	RCC	8c9823f0-69af-474d-adb7-5ec8ef4e5af7
TCGA-CJ-6033-01A-11D-1669-08	RCC	c7ce9042-f63c-4a93-a82d-f21977bd9bcb
TCGA-CW-5580-01A-01D-1669-08	RCC	6e4ed3ae-aa80-453a-95be-0af96a7bc4e3
TCGA-CW-5581-01A	RCC	22be4bab-231e-4784-aaa9-45ae158a5153
TCGA-CW-5583-01A-02D-1534-10	RCC	2cb6b578-8543-4a12-8331-1721ddc47303
TCGA-CW-5585-01A-01D-1534-10	RCC	bd6d9aa8-d0ef-4810-a43c-eacdd846c44e
TCGA-CW-5591-01A-01D-1534-10	RCC	02ac80cd-caa3-4dbc-9b57-4a324cec0ad4
TCGA-CW-6087-01A-11D-1669-08	RCC	65c23a97-1763-47d5-8648-df24cf0226f3
TCGA-CW-6090-01A-11D-1669-08	RCC	3b2e654a-4c13-4dab-9e18-1445a43af3e6
TCGA-CW-6093-01A-11D-1669-08	RCC	9b1beb37-1ed7-43c0-a532-56df7941111f
TCGA-CZ-4853-01A-01D-1429-08	RCC	bdef62d1-a036-43b4-811b-bf4beab7eca8
TCGA-CZ-4856-01A-02D-1429-08	RCC	85e26450-4cb1-4a91-ad86-a6d44890ee97
TCGA-CZ-4859-01A-02D-1429-08	RCC	82c0b6e4-cb0f-4870-81c9-b45a93d6f5d3

TCGA-CZ-4863-01A-01D-1501-10	RCC	4286d73b-1fb9-41a3-baba-46f23100586a
TCGA-CZ-4865-01A-02D-1501-10	RCC	f8eac30d-1155-44cc-a2ad-95427fecf4bf
TCGA-CZ-4866-01A-01D-1501-10	RCC	a3a06421-7838-4ac2-b5d5-45d2ea651368
TCGA-CZ-5451-01A-01D-1501-10	RCC	b1923d68-1d1e-4b59-b643-09e2c5969efd
TCGA-CZ-5452-01A-01D-1501-10	RCC	96bd68cb-5d8e-4de1-88ca-5f30fbdde036
TCGA-CZ-5453-01A-01D-1501-10	RCC	605079f6-2d6e-4c38-a214-b4c8875dd166
TCGA-CZ-5454-01A-01D-1501-10	RCC	d9fd1928-7b7d-4147-aeff-1618393ba26c
TCGA-CZ-5455-01A	RCC	d6a730ef-3f0d-47c1-977e-5c80647356d4
TCGA-CZ-5456-01A-01D-1501-10	RCC	45d5c746-60e3-4531-8db0-fd648811d45f
TCGA-CZ-5457-01A	RCC	8d54b22b-ee4b-45e0-922e-24e3c20c4c1a
TCGA-CZ-5458-01A-01D-1501-10	RCC	1737382a-a1c9-45e1-b009-a29be1d93749
TCGA-CZ-5459-01A-01D-1501-10	RCC	5711cdaa-7368-4a4f-8639-5df60a2fedac
TCGA-CZ-5460-01A-01D-1501-10	RCC	a6de1551-2a1a-4a43-ba7f-caa436f5f6dd
TCGA-CZ-5461-01A-01D-1501-10	RCC	79feee74-7b14-48d9-9be7-8d7671c79c83

TCGA-CZ-5462-01A-01D-1501-10	RCC	74eed0c6-b3cc-4666-8ef0-194e1bbe1048
TCGA-CZ-5463-01A-01D-1501-10	RCC	3732539b-eb77-485b-81a1-83be956a9a87
TCGA-CZ-5465-01A-01D-1806-10	RCC	062b7e63-bb4e-4eaa-9aa4-f2af44c2ab37
TCGA-CZ-5466-01A	RCC	694ca445-7bac-4216-acf5-e227650ae973
TCGA-CZ-5467-01A-01D-1501-10	RCC	99c640a3-660f-4723-bf82-36fcb3134356
TCGA-CZ-5468-01A-01D-1501-10	RCC	50c6b5a2-cd0e-4adf-b85f-0f9c1847477f
TCGA-CZ-5469-01A-01D-1501-10	RCC	3df654a0-48b0-45ff-bfe1-b5f78f63b30d
TCGA-CZ-5470-01A-01D-1501-10	RCC	c9a7ca9e-c36e-46c1-926f-4a57a0584cb0
TCGA-CZ-5982-01A-11D-1669-08	RCC	2c3c0f78-1c0a-48df-856e-0afbc2b5bceb
TCGA-CZ-5984-01A-11D-1669-08	RCC	89e8e486-0c93-4056-88ed-83fd0d5a7f2c
TCGA-CZ-5985-01A-11D-1669-08	RCC	ad5eae3d-2f73-49d2-be47-5891e7772bc6
TCGA-CZ-5986-01A-11D-1669-08	RCC	0abd91-5a5f-4923-bcf0-7fdda64ae232
TCGA-CZ-5987-01A-11D-1669-08	RCC	84a1a8d2-54c6-4771-9092-27c5f7fc4e5c
TCGA-CZ-5988-01A-11D-1669-08	RCC	668172b3-1e6f-4362-8432-3651925b86a6

TCGA-CZ-5989-01A-11D-1669-08	RCC	852e1614-35c0-4ba7-a29c-e8e2a91aa1b7
TCGA-DV-5565-01A-01D-1534-10	RCC	ee24d408-6043-4ca0-8bde-f29e798cc479
TCGA-DV-5566-01A-01D-1534-10	RCC	39a321cd-dbdf-474b-aead-6e69795470e0
TCGA-DV-5568-01A-01D-1534-10	RCC	ecb100d4-24da-40d9-aeel-2901cf3a655a
TCGA-EU-5904-01A-11D-1669-08	RCC	b13e89f1-683b-4261-94a1-e371d797237f
TCGA-EU-5905-01A-11D-1669-08	RCC	091c18b6-bfc2-4353-9eba-ebc46c2c18c5
TCGA-EU-5906-01A-11D-1669-08	RCC	050dc3b7-e560-44f4-a05c-8c792d8467a8
TCGA-EU-5907-01A-11D-1669-08	RCC	5fded36e-05ba-4cce-8303-738f5b04ad16
TCGA-AB-2807-03D-01W-0755-09	AML	3d15bdda-bbb7-4e3d-bdd6-7546d2905e95
TCGA-AB-2809-03D-01W-0755-09	AML	d86f567d-84f8-4a95-af1d-5a26ada92830
TCGA-AB-2814-03D-01W-0755-09	AML	604f0c72-efc7-4868-bc54-79d8f3f3507b
TCGA-AB-2822-03D-01W-0755-09	AML	68b67026-2f30-4839-8579-7a07341b8976
TCGA-AB-2825-03D-01W-0755-09	AML	e6e4b579-9ddf-4fb1-bb65-db8321294852
TCGA-AB-2840-03D-01W-0755-09	AML	cb122429-5b01-4fad-b498-b0342230b567

TCGA-AB-2845-03D-01W-0755-09	AML	98d27719-6f38-433a-ba0a-a14cb32958d8
TCGA-AB-2853-03D-01W-0755-09	AML	9e238bbc-61ba-4966-b30e-ba7ab1a5b11b
TCGA-AB-2858-03D-01W-0755-09	AML	b9dcb0aa-0098-49a9-a0c8-790a06dadea8
TCGA-AB-2863-03D-01W-0755-09	AML	d4ba0ac2-9d98-430b-bb0d-e1bada2d5486
TCGA-AB-2864-03D-01W-0755-09	AML	07f07406-597d-40b7-b218-ef40aad6f0bc
TCGA-AB-2872-03A-01W-0732-08	AML	495c3e6d-76f1-499d-894b-761d50b70566
TCGA-AB-2909-03A-01W-0755-09	AML	39ad6508-a476-4a33-ae8d-6e25fa36369e
TCGA-AB-2912-03A-01W-0732-08	AML	da01cad7-961b-46e2-8a80-9c846694ad5b
TCGA-AB-2918-03A-01W-0745-08	AML	d0833641-77a1-41fd-b635-d216b00d007b
TCGA-AB-2921-03A-01W-0755-09	AML	779697fe-899a-4bfb-a1d3-44a847487b6b
TCGA-AB-2926-03A-01W-0732-08	AML	890ea799-3156-40c3-839c-0c60179006d7
TCGA-AB-2927-03A-01W-0755-09	AML	46bbb19d-2bc9-4f0a-ac4e-cad7327ca142
TCGA-AB-2934-03A-01W-0755-09	AML	7791e140-fe03-44d0-8250-47826ea993df
TCGA-AB-2946-03A-01W-0755-09	AML	f24b41b4-79bf-4736-96c8-83921811bb95

TCGA-AB-2948-03A-01W-0755-09	AML	7b0fb197-8465-430b-9da7-322f2d218729
TCGA-05-4244-01A-01D-1105-08	LUAD	738c514d-ff0f-4220-9326-236119891df5
TCGA-05-4249-01A-01D-1105-08	LUAD	8be717b5-5b65-4631-a175-1f4c063d447e
TCGA-05-4250-01A-01D-1105-08	LUAD	41c4fe84-8beb-4a3a-920c-e74c7edd2182
TCGA-05-4382-01A-01D-1265-08	LUAD	005b918d-e4a9-4971-9588-656a35c33dec
TCGA-05-4384-01A-01D-1753-08	LUAD	4c71b66b-813f-472b-b866-b34b5b9199e7
TCGA-05-4389-01A-01D-1265-08	LUAD	c6f382d4-a522-4333-88b5-be7f55fe80f5
TCGA-05-4390-01A-02D-1753-08	LUAD	d0854b5b-69be-4b84-aa37-ecdd0bc14de9
TCGA-05-4395-01A-01D-1265-08	LUAD	dc45b4de-4c03-4fe4-89e0-d1cf378084b6
TCGA-05-4396-01A-21D-1855-08	LUAD	0176cfl1d-0760-4769-a493-277f4bb7585e
TCGA-05-4397-01A-01D-1265-08	LUAD	4b7be121-49af-4a44-95dd-0a487d47228f
TCGA-05-4398-01A-01D-1265-08	LUAD	9e4b2be6-e149-4c22-93e1-512c3c6bbea8
TCGA-05-4402-01A-01D-1265-08	LUAD	75475a84-582d-4949-a428-1e28ad526d8c
TCGA-05-4403-01A-01D-1265-08	LUAD	7e25ac0e-94e4-42f6-ae6f-89d0d21ce09f

TCGA-05-4405-01A-21D-1855-08	LUAD	3ef10eb8-d713-4fda-9e03-bc594b356d77
TCGA-05-4410-01A-21D-1855-08	LUAD	f85d0d42-436b-4251-a7fd-7d0f5fddd397
TCGA-05-4415-01A-22D-1855-08	LUAD	128f52c7-49dc-4a9f-a5bc-1c14684edc9c
TCGA-05-4417-01A-22D-1855-08	LUAD	57e3657d-7a3c-4d80-a2c2-2de0293f5f05
TCGA-05-4418-01A-01D-1265-08	LUAD	b07397ae-592b-4eb4-98b3-7c7e81ecb5e0
TCGA-05-4420-01A-01D-1265-08	LUAD	0536b000-eaf3-4cb2-b46b-8dd9f23c8199
TCGA-05-4422-01A-01D-1265-08	LUAD	a5370f18-e8a9-43d8-9eb8-be678ccd4669
TCGA-05-4424-01A-22D-1855-08	LUAD	fc500ff5-24c8-4965-94da-b4afafafe2dd
TCGA-05-4425-01A-01D-1753-08	LUAD	4a367804-9934-4241-90da-0ba0245564bd
TCGA-05-4426-01A-01D-1265-08	LUAD	117c6aff-8899-48f4-9328-746207d38eff
TCGA-05-4427-01A-21D-1855-08	LUAD	736e0134-8b1a-4ff1-9106-ca09c9812ef6
TCGA-05-4430-01A-02D-1265-08	LUAD	23398531-3f4c-45e6-980b-755165c04974
TCGA-05-4432-01A-01D-1265-08	LUAD	377ab4af-0958-4b8b-ac0c-4cd49c1e4c2e
TCGA-05-4433-01A-22D-1855-08	LUAD	fab4f1ca-1605-4c30-8b3e-badb44eb6580

TCGA-05-4434-01A-01D-1265-08	LUAD	f529778c-5968-4d87-80c0-bd14ba2311d0
TCGA-05-5420-01A-01D-1625-08	LUAD	8371b6a4-ffea-4fe5-b997-76ece85064a7
TCGA-05-5423-01A-01D-1625-08	LUAD	209d853d-6c50-4223-a572-a90d58aee51e
TCGA-05-5425-01A-02D-1625-08	LUAD	70a3e96b-dd26-419c-9a68-97dea0465d6e
TCGA-05-5428-01A-01D-1625-08	LUAD	7744a93b-0565-4d83-afad-caa02358f258
TCGA-05-5429-01A-01D-1625-08	LUAD	37d0cf1b-1743-4852-8073-372b16b5c17d
TCGA-05-5715-01A-01D-1625-08	LUAD	62fda17b-1de0-4b7e-bd28-a6793bc36d37
TCGA-17-Z000-01A-01W-0746-08	LUAD	ba9d9630-fc6c-4ffb-8464-c1a2ddec6579
TCGA-17-Z001-01A-01W-0746-08	LUAD	d5e77555-9412-4e64-a6aa-65c996e3d521
TCGA-17-Z003-01A-01W-0746-08	LUAD	443d768f-b871-4149-9ef0-2d49bc0d05a1
TCGA-17-Z004-01A-01W-0746-08	LUAD	c1a70a4b-2879-48e8-87e1-b02c57d58705
TCGA-17-Z005-01A-01W-0746-08	LUAD	96b0bb86-6092-47ef-8088-fd0a4f261439
TCGA-17-Z007-01A-01W-0746-08	LUAD	cac5bcd1-f044-4275-89cd-1110d0025537
TCGA-17-Z008-01A-01W-0746-08	LUAD	6b6ddf99-f050-4dfa-85a2-d5a3e3ad56b0

TCGA-17-Z009-01A-01W-0746-08	LUAD	8c5a3460-c1fa-4b7b-9b31-11f9c7b03255
TCGA-17-Z010-01A-01W-0746-08	LUAD	c9fb7916-74d0-4266-b5b8-705018e0e76b
TCGA-17-Z011-01A-01W-0746-08	LUAD	d7495a00-b312-4502-9e1b-9e5f3dbf4b5d
TCGA-17-Z012-01A-01W-0746-08	LUAD	861e9d45-df9a-41a6-9ddf-bc72f85aed80
TCGA-17-Z013-01A-01W-0746-08	LUAD	ee0cbaf2-a0bb-4e58-9e52-5986b5f4f25e
TCGA-17-Z014-01A-01W-0746-08	LUAD	ca24ac3d-4686-4f0c-a47d-0eff92a623b1
TCGA-17-Z015-01A-01W-0746-08	LUAD	770c22ba-b759-433e-8478-b6cf0d685447
TCGA-17-Z016-01A-01W-0746-08	LUAD	39bbd67b-52fd-46e5-98cf-b5632400216d
TCGA-17-Z017-01A-01W-0746-08	LUAD	37049bf1-55cb-44d3-b673-1e270ea835f7
TCGA-17-Z018-01A-01W-0746-08	LUAD	ddl1a61eb-8362-41a9-952d-b7e6887457ad
TCGA-17-Z020-01A-01W-0746-08	LUAD	7ea20aa3-68cf-4389-9ace-99d6149d16c1
TCGA-17-Z021-01A-01W-0746-08	LUAD	9394b536-cd08-414b-86a3-c6491f967709
TCGA-17-Z022-01A-01W-0746-08	LUAD	7f07e5b3-bf70-4690-84ba-a9eace798a24
TCGA-17-Z023-01A-01W-0746-08	LUAD	bd72330a-463f-471b-9eba-2f188524e74c

TCGA-17-Z025-01A-01W-0746-08	LUAD	99eab29e-32d3-49d5-aa30-56de8be556e7
TCGA-17-Z026-01A-01W-0746-08	LUAD	bb048ffc-de00-4706-85bb-d052c0fb6496
TCGA-17-Z027-01A-01W-0746-08	LUAD	880452fe-00ed-4732-bbcf-14b55c235e61
TCGA-17-Z028-01A-01W-0746-08	LUAD	1f55fb6e-342a-41e0-9a8e-7c5156c95eaa
TCGA-17-Z030-01A-01W-0746-08	LUAD	e35e27e8-6cc5-495b-9ae8-89f65d94ebed
TCGA-17-Z031-01A-01W-0746-08	LUAD	6516244a-dfd8-4568-a2d2-7556cbea52b1
TCGA-17-Z032-01A-01W-0746-08	LUAD	92bc438b-02c1-4b81-a90a-4a1302786a81
TCGA-17-Z033-01A-01W-0746-08	LUAD	639aea7c-5a38-4641-bf0d-90a9ce8e2980
TCGA-17-Z035-01A-01W-0746-08	LUAD	a4bcbb2e-594f-4a89-8b72-8c922a64cdef
TCGA-17-Z036-01A-01W-0746-08	LUAD	374b881a-dbe2-4b4b-bfc0-8431f1aec06c
TCGA-17-Z037-01A-01W-0746-08	LUAD	bffe237d-31b0-4950-a7ab-4ac7047aa3c0
TCGA-17-Z038-01A-01W-0746-08	LUAD	8785c362-1c4d-41da-a29e-5cff21dc2a2e
TCGA-17-Z040-01A-01W-0746-08	LUAD	62d2ca54-b8e0-4907-b75e-cb9786069b52
TCGA-17-Z041-01A-01W-0746-08	LUAD	c0ead7c7-169e-4932-a987-5461611c95e6

TCGA-17-Z042-01A-01W-0746-08	LUAD	3c303c9d-6cda-490d-a64d-21bc40b064f3
TCGA-17-Z043-01A-01W-0746-08	LUAD	577f7267-c568-4002-a153-26c09d1eca97
TCGA-17-Z044-01A-01W-0746-08	LUAD	cb1aaeb8-0c6f-4266-968c-38a3823d85f6
TCGA-17-Z045-01A-01W-0746-08	LUAD	ec7e65c5-7158-427f-8034-8616077da50b
TCGA-17-Z046-01A-01W-0746-08	LUAD	7aac0e3f-39fe-4c9a-9482-50f02f1b919d
TCGA-17-Z047-01A-01W-0747-08	LUAD	2c04cfa8-6e99-46fa-82ad-36fb96e5ffef
TCGA-17-Z048-01A-01W-0746-08	LUAD	8495e150-796b-4e15-9fa6-1fba558d7b10
TCGA-17-Z049-01A-01W-0746-08	LUAD	ac31bcc6-6ccc-43b7-96f2-3ab47050be76
TCGA-17-Z050-01A-01W-0747-08	LUAD	d086dd38-a9e0-466c-b1e5-9a4a879abd55
TCGA-17-Z051-01A-01W-0747-08	LUAD	5584878f-0608-45d9-8e28-29c277bf655f
TCGA-17-Z052-01A-01W-0747-08	LUAD	afdf7c82-2a17-4c73-980c-74ec822dc803
TCGA-17-Z053-01A-01W-0747-08	LUAD	2d422986-6e91-4299-b6cf-4076f3706c83
TCGA-17-Z054-01A-01W-0747-08	LUAD	409dd077-dab9-4f79-9c33-2c3b75b63125
TCGA-17-Z055-01A-01W-0747-08	LUAD	de78326d-3afc-4f29-af7f-1750da544826

TCGA-17-Z056-01A-01W-0747-08	LUAD	e6cb3d63-5a55-4eba-84d2-a25917c7b18e
TCGA-17-Z057-01A-01W-0747-08	LUAD	4236905d-1549-4cbc-b3c6-e62db9ea598b
TCGA-17-Z058-01A-01W-0747-08	LUAD	6b0b1fca-efce-49d6-9f7b-a2c34bb343e9
TCGA-17-Z059-01A-01W-0747-08	LUAD	88ec6fb4-1b81-422e-8204-ef9e8dbf260c
TCGA-17-Z060-01A-01W-0747-08	LUAD	f834dfa4-8d9c-4e0b-861f-a3cc31245237
TCGA-17-Z061-01A-01W-0747-08	LUAD	1eb07e6e-6cf8-45e4-9b5c-1a9a5d38d117
TCGA-17-Z062-01A-01W-0747-08	LUAD	f3280e5f-7d6e-4a18-a5a5-e84b805c9e66
TCGA-35-3615-01A	LUAD	7407d705-6ec6-4143-93d2-eedcf5a22399
TCGA-35-3621-01A-01D-0969-08	LUAD	4a0cc41a-562c-4aea-a7c3-b1186d46cda8
TCGA-35-4122-01A-01D-1105-08	LUAD	408e1cb4-64a8-4801-bf58-3b8183ede851
TCGA-35-4123-01A-01D-1105-08	LUAD	7ceccaee-df27-4f7f-bfcd-e1c59b365711
TCGA-35-5375-01A-01D-1625-08	LUAD	63e76bef-3ef1-445f-b591-649d774729cd
TCGA-38-4625-01A-01D-1553-08	LUAD	6f317d31-c9a4-4345-b5b1-b75776536402
TCGA-38-4626-01A-01D-1553-08	LUAD	85b56ce7-b420-433e-a77d-43ef628d685c

TCGA-38-4627-01A-01D-1553-08	LUAD	abef97da-d7db-495f-b594-fa66577becd6
TCGA-38-4628-01A-01D-1265-08	LUAD	67bc44b7-92cf-4e8f-a7f6-c53bf34a17c6
TCGA-38-4629-01A-02D-1265-08	LUAD	4797f969-5f4d-4681-9fc5-68f25ba8f4d8
TCGA-38-4630-01A-01D-1265-08	LUAD	2b139bb4-5a29-4684-901d-8d966ff79ac2
TCGA-38-4631-01A-01D-1753-08	LUAD	b3ffc36d-b0b8-4ada-a00a-b48890c0162c
TCGA-38-4632-01A-01D-1753-08	LUAD	83519ed1-29e2-4f1b-922c-5779f64178bc
TCGA-38-6178-01A-11D-1753-08	LUAD	7fa467f1-d928-4d81-bd0b-68d67a5c18cf
TCGA-44-2655-01A	LUAD	9fcabda1-ea79-4188-8b3f-7d0fd060a819
TCGA-44-2656-01A	LUAD	5593f581-3d45-4a4a-a525-bfae1f4753a0
TCGA-44-2657-01A-01D-1105-08	LUAD	e3aa9b45-13b9-4b61-a30f-ae3f88466040
TCGA-44-2661-01A-01D-1105-08	LUAD	3c3a2e7c-9aa0-495e-95c7-87f661b9ed92
TCGA-44-2662-01A	LUAD	d2198941-e96f-40bd-9fbe-82886217d5db
TCGA-44-2665-01A	LUAD	a0863fa6-515c-44fa-825f-f9e243f945f1
TCGA-44-2666-01A	LUAD	27a64f32-69c5-4c49-86b4-c8fc923cae08

TCGA-44-2668-01A	LUAD	dd9a6c68-b8b4-4168-9ff9-72a45f20c44f
TCGA-44-3396-01A-01D-1265-08	LUAD	d68b216c-b304-4b30-9af7-eb3a9a1a55ae
TCGA-44-3398-01A-01D-1105-08	LUAD	82284bb3-2dfa-4016-a908-3b5994e00d31
TCGA-44-3918-01A-01D-1105-08	LUAD	7f456c3f-58e3-43f1-9f76-4422451528a5
TCGA-44-3919-01A	LUAD	9de8d353-3442-41d8-8bfe-a08c4975eaca
TCGA-44-4112-01A	LUAD	6c206676-e511-4281-91f5-bfe91b3279a4
TCGA-44-5643-01A-01D-1625-08	LUAD	44286013-ae97-4890-86d3-1163285ac0cd
TCGA-44-5645-01A-01D-1625-08	LUAD	dac33765-0c88-4a51-8389-c042ccb78c83
TCGA-44-6144-01A-11D-1753-08	LUAD	f19575fd-eb9d-429f-96ce-c0e8f4bbc593
TCGA-44-6145-01A-11D-1753-08	LUAD	220dc947-4afc-4485-bcc7-cea046100b4b
TCGA-44-6146-01A-11D-1753-08	LUAD	d5e90162-d7d2-4a7c-89f0-51c2b32c9ef0
TCGA-44-6147-01A-11D-1753-08	LUAD	7b6daa70-492e-4283-b3d2-b26f4e26a8d4
TCGA-44-6148-01A-11D-1753-08	LUAD	9c7b3ac8-1352-49cd-8a8c-df6b19f6fd64
TCGA-44-6774-01A-21D-1855-08	LUAD	f9cc1d71-bece-4693-b953-3e73d1b6c11c

TCGA-44-6775-01A-11D-1855-08	LUAD	7a70a44f-84f3-440a-b898-dc3a0eff748e
TCGA-44-6776-01A-11D-1855-08	LUAD	7d3c5101-fae2-4320-a8a2-a93753375368
TCGA-44-6777-01A-11D-1855-08	LUAD	32a0f0f3-3879-4b96-b9bb-eeab87827f6e
TCGA-44-6778-01A-11D-1855-08	LUAD	903182ad-3145-4fa3-869e-62774aedf86c
TCGA-44-6779-01A-11D-1855-08	LUAD	d6990a90-6a99-490b-a476-5298f0c4e4f2
TCGA-49-4486-01A-01D-1265-08	LUAD	3ac132c3-4889-4dc3-8b3d-0ef98065a858
TCGA-49-4487-01A-21D-1855-08	LUAD	9bd8e303-a81e-4ff8-882b-d46a2f7c55d2
TCGA-49-4488-01A-01D-1753-08	LUAD	3635bb9c-a332-4445-ad81-83cec426dd02
TCGA-49-4490-01A-21D-1855-08	LUAD	940455cf-aa91-432a-bc39-9dfba206e32b
TCGA-49-4494-01A-01D-1265-08	LUAD	136bc973-1908-4767-9b22-d43d522b7c71
TCGA-49-4501-01A-01D-1265-08	LUAD	0c53bb1b-5e6f-44a8-97a0-f89d43e0e789
TCGA-49-4505-01A-01D-1265-08	LUAD	e773a2fe-1d80-492d-bba8-105036a14a92
TCGA-49-4506-01A-01D-1265-08	LUAD	d707f8ad-5ea5-493a-a745-9b5dba64f213
TCGA-49-4507-01A-01D-1265-08	LUAD	562a09a1-b491-45c8-a87d-3c2471353c0d

TCGA-49-4510-01A-01D-1265-08	LUAD	b2c12bff-addd-45a2-ada4-c30ac935809c
TCGA-49-4512-01A-21D-1855-08	LUAD	fa6a60f5-8949-4e01-9435-d3117601627f
TCGA-49-4514-01A-21D-1855-08	LUAD	7751af67-1415-475e-8ec5-66d76f515014
TCGA-49-6742-01A-11D-1855-08	LUAD	49dec0c2-8e75-4f44-a253-82b2ea605890
TCGA-49-6743-01A-11D-1855-08	LUAD	545c9d29-a8e0-4d2d-8552-d27b46f96070
TCGA-49-6744-01A-11D-1855-08	LUAD	bf6ba698-7154-4d7f-b076-24ac2f768696
TCGA-49-6745-01A-11D-1855-08	LUAD	bf97048-977b-4722-be8f-3dd37370ba30
TCGA-49-6767-01A-11D-1855-08	LUAD	9f82f494-042a-4f00-954c-4761fa25b298
TCGA-50-5044-01A-21D-1855-08	LUAD	ec034986-4bf7-4554-b635-ca6d9c30da28
TCGA-50-5045-01A-01D-1625-08	LUAD	b0d734ad-1222-4bc0-b02b-1d2262b8ac35
TCGA-50-5049-01A-01D-1625-08	LUAD	96358297-0735-4eab-a01c-a6be5d86a3de
TCGA-50-5051-01A-21D-1855-08	LUAD	bb50bc27-fb18-4eee-8785-b8e8b69bcbe6
TCGA-50-5055-01A-01D-1625-08	LUAD	12fe153e-a8f7-49ec-9e0c-f680e2311cf6
TCGA-50-5066-01A-01D-1625-08	LUAD	f5a97315-1906-4774-980e-0879c6ad368e

TCGA-50-5068-01A-01D-1625-08	LUAD	c1efdc48-6ea5-45f0-9fa3-94c42ecf3ab4
TCGA-50-5072-01A-21D-1855-08	LUAD	3c6dcba5-1312-40ca-b589-07f7d88b3477
TCGA-50-5930-01A-11D-1753-08	LUAD	bd3e88b3-b37c-4641-85fa-d8125ba324ca
TCGA-50-5931-01A-11D-1753-08	LUAD	290847c6-c9d4-4a16-a70f-0488e3718f35
TCGA-50-5932-01A-11D-1753-08	LUAD	6726c157-f688-491d-8b56-35628645df89
TCGA-50-5933-01A-11D-1753-08	LUAD	cc3a9cfe-8a14-4fb4-a60f-3ec795c5d7a1
TCGA-50-5935-01A-11D-1753-08	LUAD	9570cd02-3339-4805-855a-74ebe429df96
TCGA-50-5936-01A-11D-1625-08	LUAD	82d380d5-4c07-4cf0-a6e9-7ca9e3fc9a08
TCGA-50-5939-01A-11D-1625-08	LUAD	aa9108d7-5036-4059-ad82-dc64161d5bc3
TCGA-50-5941-01A-11D-1753-08	LUAD	86ef12c0-d5fc-4852-9960-593366e717b4
TCGA-50-5942-01A-21D-1753-08	LUAD	95475c1b-086d-4e09-a871-47d8f76c1a07
TCGA-50-5944-01A-11D-1753-08	LUAD	a314ee0c-694b-4ac8-b572-ff1fbbda4765
TCGA-50-5946-01A-11D-1753-08	LUAD	142d43e8-10e1-4945-a37c-f2824d53b122
TCGA-50-6590-01A-12D-1855-08	LUAD	85de182b-f4ae-41e6-b3fb-f60f46c072e4

TCGA-50-6591-01A-11D-1753-08	LUAD	bf7462a2-394f-4838-bcb6-4d0126fa48b1
TCGA-50-6592-01A-11D-1753-08	LUAD	d0303d05-a937-4a7d-9934-ffa93cc1c5de
TCGA-50-6593-01A-11D-1753-08	LUAD	10e03053-f6e3-42b7-8638-ce58c6e7dfaa
TCGA-50-6594-01A-11D-1753-08	LUAD	e1365c7d-e93e-4478-a8e9-ae2d7ca30bc6
TCGA-50-6595-01A-12D-1855-08	LUAD	9913e506-fc98-467d-8601-89595d0475e8
TCGA-50-6597-01A-11D-1855-08	LUAD	cd0aeed5-93a1-4287-8a88-fe6b7b5e3983
TCGA-55-1592-01A	LUAD	e190a9e4-10ae-4060-a071-4b8b73479023
TCGA-55-1594-01A	LUAD	2885d4b3-34a6-421d-b20c-eeedad721d10a
TCGA-55-1595-01A-01D-0969-08	LUAD	f1be8e08-5201-49bb-abf7-cedc0eff06d6
TCGA-55-1596-01A	LUAD	9a7a1b22-9df6-438f-ad00-54755c7dbc7c
TCGA-55-5899-01A-11D-1625-08	LUAD	ddaf36f7-7503-4ab4-b7f5-9777c0c1518c
TCGA-55-6543-01A-11D-1753-08	LUAD	ac7ab3b3-eb76-4da9-bfb3-82b90c8d79d6
TCGA-55-6642-01A-11D-1855-08	LUAD	3c756f7c-d1f0-4ab1-9c9f-41d2282af3bf
TCGA-55-6712-01A-11D-1855-08	LUAD	bc6eaf2b-9ccc-4ac7-9b19-204b0ff420a3

TCGA-64-1676-01A	LUAD	4bdf77d2-33cc-46e0-af34- 1e66a90a213a
TCGA-64-1677-01A-01W-0928- 08	LUAD	559017d8-4b22-4313-abdd- d3526c889d7f
TCGA-64-1678-01A-01W-0928- 08	LUAD	42e3b592-b57f-4b18-8f62- e7b0a9c0f1db
TCGA-64-1680-01A	LUAD	0bdb623-cf95-465a-917d- 87dfb6a8618e
TCGA-64-5774-01A-01D-1625- 08	LUAD	df5957d5-20d3-483e-990b- d6369fb990b8
TCGA-64-5775-01A-01D-1625- 08	LUAD	c209d392-7d3a-481c-8cc7- 398a6b90290a
TCGA-64-5778-01A-01D-1625- 08	LUAD	3c540f87-5981-4b7a-b1ab- 30c2056c785e
TCGA-64-5779-01A-01D-1625- 08	LUAD	5734711b-52cd-46e6-9c2a- 92c0612fee33
TCGA-64-5781-01A-01D-1625- 08	LUAD	fb9cfb49-99cf-4f49-8f3d- e25e762eb3ce
TCGA-64-5815-01A-01D-1625- 08	LUAD	e800c8d4-786a-4a9d-ace2- 2b779336e557
TCGA-67-3770-01A	LUAD	74bcf2d5-fd42-423e-bd96- b2de1b0cf778
TCGA-67-3771-01A	LUAD	b0410cd6-693d-41d6-9dad- d1b1c30bf5cb
TCGA-67-3772-01A-01W-0928- 08	LUAD	09226bc4-0202-4405-b3c9- 208e8ffb7408
TCGA-67-3773-01A	LUAD	e4cb66f4-e847-40bf-af14- 20a3867a1c35

TCGA-67-3774-01A	LUAD	b3585415-9ab9-4614-8b15- 8edb66efd1dc
TCGA-67-4679-01B-01D-1753- 08	LUAD	341bf21e-abd5-498e-8c49- 111782af842c
TCGA-67-6215-01A-11D-1753- 08	LUAD	68c2a355-862c-4657-b296- 5776ed8447b0
TCGA-67-6216-01A-11D-1753- 08	LUAD	6dc6da8c-2ecf-412f-b2c4- 74529adb7c0f
TCGA-67-6217-01A-11D-1753- 08	LUAD	cb98d825-668f-4b16-a05e- 501e1c94f3fe
TCGA-71-6725-01A-11D-1855- 08	LUAD	3a146eb4-7b9b-4834-b3d0- eac80f9173ec
TCGA-73-4658-01A-01D-1753- 08	LUAD	b11151cf-6976-4812-a77e- 1a12f9d1245c
TCGA-73-4659-01A-01D-1265- 08	LUAD	13989aec-b1a3-47c2-bc8e- ccf55f8e0c11
TCGA-73-4662-01A-01D-1265- 08	LUAD	48262c89-ecac-44c6-9a06- 7170b7b41058
TCGA-73-4666-01A-01D-1265- 08	LUAD	f49fc77e-03cd-423c-b3e1- 18bb19568650
TCGA-73-4668-01A-01D-1265- 08	LUAD	0fdcb5e9-ada2-4755-ae02- 491037ee9c10
TCGA-73-4670-01A-01D-1265- 08	LUAD	2aea0652-17ae-4dfa-9358- 206d4f24f02f
TCGA-73-4675-01A-01D-1265- 08	LUAD	59dad620-51f8-4c12-8b09- e635fbde126e
TCGA-73-4676-01A-01D-1753- 08	LUAD	ff368c6d-fedb-49cc-b519- 7726816aff8d

TCGA-73-4677-01A-01D-1265-08	LUAD	a9c03165-d534-425e-8370-d1f557b82fa2
TCGA-75-5122-01A-01D-1753-08	LUAD	e359b24f-7312-432f-b054-68dedc027df2
TCGA-75-5125-01A-01D-1753-08	LUAD	4cee9575-3040-4ff1-bf7e-ca8873860c59
TCGA-75-5126-01A-01D-1753-08	LUAD	1c1ad138-a59e-4f5d-8382-54c585c9298c
TCGA-75-5146-01A-01D-1625-08	LUAD	965a2bb7-6cd4-4309-beba-51ae74b8a980
TCGA-75-5147-01A-01D-1625-08	LUAD	52910a60-bb15-4ba5-9d09-50d8ee6a445b
TCGA-75-6203-01A-11D-1753-08	LUAD	d9cd7f95-07d3-4b87-be83-87340b08d249
TCGA-75-6205-01A-11D-1753-08	LUAD	79c0e183-95aa-4c37-9b15-8567aa87c93a
TCGA-75-6206-01A-11D-1753-08	LUAD	7a5ca29b-85d3-46b1-a710-6dcd3ce821c8
TCGA-75-6207-01A-11D-1753-08	LUAD	5a49e3fd-a47d-4b7d-9485-4238a88f4516
TCGA-75-6211-01A-11D-1753-08	LUAD	d8c9abbe-b112-4019-a6a3-f582df1379ed
TCGA-75-6212-01A-11D-1753-08	LUAD	0f2af4c9-05a8-4c97-ac2d-af9241b4ea64
TCGA-80-5611-01A-01D-1625-08	LUAD	c9bab512-c5c3-4ad3-a9bf-f5258e405966
TCGA-86-6562-01A-11D-1753-08	LUAD	e48dd11b-89ae-4278-8de0-7956423c8609

TCGA-91-6828-01A-11D-1855-08	LUAD	99f819f2-4340-4303-8ff0-fdb03ef0151a
TCGA-91-6829-01A-21D-1855-08	LUAD	443f5b2d-832e-45cf-bca5-3f064ea3bc50
TCGA-91-6831-01A-11D-1855-08	LUAD	1624af6f-05a6-474c-ba49-9754938979c6
TCGA-91-6835-01A-11D-1855-08	LUAD	8120c5eb-2917-4053-a5e5-aad53ff45da9
TCGA-91-6836-01A-21D-1855-08	LUAD	87045814-366d-4e42-97f2-ad341c620c47
TCGA-18-3406-01A-01D-0983-08	LUSC	d3320989-71fd-425b-933e-6e8528a016ed
TCGA-18-3407-01A-01D-0983-08	LUSC	c5b09119-0237-4804-a4f9-b67d676b8674
TCGA-18-3408-01A-01D-0983-08	LUSC	cab7a425-e081-4bae-b666-6cdf8ba4dd70
TCGA-18-3409-01A-01D-0983-08	LUSC	aa733cb0-37a9-4fef-8d40-d57596ce9e51
TCGA-18-3410-01A-01D-0983-08	LUSC	7e6382c3-368a-43a5-9812-c58f54ceba3f
TCGA-18-3411-01A-01D-0983-08	LUSC	6a9cc303-c7fd-4f40-8933-1636dea99252
TCGA-18-3412-01A-01D-0983-08	LUSC	84aca315-8380-4625-887f-a8b3c704c0a9
TCGA-18-3414-01A-01D-0983-08	LUSC	239deee9-2791-4163-b777-fdf8c49c9e33
TCGA-18-3415-01A-01D-0983-08	LUSC	ad0365d1-10b1-41e6-b838-9c5794b9ad42

TCGA-18-3416-01A-01D-0983-08	LUSC	e03577e7-37be-460b-96e8-5f6e0b49b3aa
TCGA-18-3417-01A-01D-1441-08	LUSC	024d8a82-06c5-4b82-9a27-c52bc4fd450a
TCGA-18-3419-01A-01D-0983-08	LUSC	c75ed357-d845-4443-8c9e-a2afa8ed30df
TCGA-18-3421-01A-01D-0983-08	LUSC	9f0e482e-e72d-4c57-b4f7-4580edabd390
TCGA-18-4083-01A-01D-1352-08	LUSC	0b87a82d-096c-4dd7-80c4-b4054fc1eba2
TCGA-18-4086-01A-01D-1352-08	LUSC	9bbdf36b-6804-416f-977d-fce772972bcc
TCGA-18-4721-01A-01D-1441-08	LUSC	d2ab2555-7288-47a4-a80c-bf62d65b67b8
TCGA-18-5592-01A-01D-1632-08	LUSC	1a6da454-8faf-4725-a702-55d29da461a5
TCGA-18-5595-01A-01D-1632-08	LUSC	973b8ed8-2295-4fb0-b857-f4433dfc785a
TCGA-21-1070-01A-01D-1521-08	LUSC	9e300205-b16d-4f40-bf1b-f47410678f6d
TCGA-21-1071-01A-01D-1521-08	LUSC	e01302f9-c5d6-4745-9c5d-d8bb8d278a77
TCGA-21-1076-01A-02D-1521-08	LUSC	504d4cb0-d2dd-420d-82e6-9ec14434a0fc
TCGA-21-1077-01A-01D-1521-08	LUSC	a71d74cb-5b10-4787-a654-7049cbb49a92
TCGA-21-1078-01A-01D-1521-08	LUSC	8cf9b32d-3d6f-4898-8c7a-89511b754021

TCGA-21-1081-01A-01D-1521-08	LUSC	811f7a11-635c-4606-91fd-3729b97ffd8e
TCGA-21-5782-01A-01D-1632-08	LUSC	4c2ad4a0-5d57-4e27-9f35-058b2f205f50
TCGA-21-5784-01A-01D-1632-08	LUSC	f79285af-c364-4ec3-97d3-70a7d9b5800b
TCGA-21-5786-01A-01D-1632-08	LUSC	d7404e0f-d171-419b-97d3-807570aba129
TCGA-21-5787-01A-01D-1632-08	LUSC	7cb79e4b-c1f1-434d-b13b-6c2eb7760ee8
TCGA-22-0944-01A-01D-1521-08	LUSC	818a6f09-a7fd-4cce-8373-adb4bcb5bc8c
TCGA-22-1002-01A-01D-1521-08	LUSC	7c7604fe-8321-46cb-ac34-0e7994b8853b
TCGA-22-1011-01A-01D-1521-08	LUSC	c9924f9f-fd86-434c-a83d-393d65272e64
TCGA-22-1012-01A-01D-1521-08	LUSC	3b75368a-d57f-4787-a0ef-3f478c7d22bc
TCGA-22-1016-01A-01D-1521-08	LUSC	935b113e-f5ed-4a07-8e1d-1603daba7f40
TCGA-22-4591-01A-01D-1267-08	LUSC	bcfb93d4-8653-477b-b5d2-c2832a0e3d92
TCGA-22-4593-01A-21D-1817-08	LUSC	b4a48075-92fd-43ab-95f3-476bcea88d7b
TCGA-22-4595-01A-01D-1267-08	LUSC	7fcf5123-2d1b-4666-9d39-a1aaf63cf954
TCGA-22-4599-01A-01D-1441-08	LUSC	08732b51-8ec8-4888-b0c8-a0cb83181cb9

TCGA-22-4601-01A-01D-1441-08	LUSC	6c05b3f5-65e9-4e7d-9f99-a694006f2ed0
TCGA-22-4604-01A-01D-1267-08	LUSC	db2614fb-109c-4ce1-af4c-f648a0d417fb
TCGA-22-4607-01A-01D-1267-08	LUSC	d8c6bb83-ebdd-4547-9077-3eba5c8bb9f0
TCGA-22-4613-01A-01D-1441-08	LUSC	5d1d538a-57d3-42ec-9fa3-0fad10b0f52f
TCGA-22-5471-01A-01D-1632-08	LUSC	665e98bf-6163-4d18-9665-ba93df9ecf6d
TCGA-22-5472-01A-01D-1632-08	LUSC	be780766-483f-42f5-b0d0-11d23a940156
TCGA-22-5473-01A-01D-1632-08	LUSC	c107ca1d-5e35-470a-8c39-80dc7624e306
TCGA-22-5474-01A-01D-1632-08	LUSC	1eda33fc-80e5-4c5f-8c61-43976ca0106f
TCGA-22-5477-01A-01D-1632-08	LUSC	e7ebc6fb-0926-4c8a-a67b-0c6b9c1ffaba
TCGA-22-5478-01A-01D-1632-08	LUSC	0ac704eb-d722-4c27-bfb4-fea6ca7af240
TCGA-22-5480-01A-01D-1632-08	LUSC	24e426fb-219a-4a4d-a45c-c9b0896d0e88
TCGA-22-5482-01A-01D-1632-08	LUSC	b57c316e-1cae-4286-bdbb-8b65c020b3fa
TCGA-22-5485-01A-01D-1632-08	LUSC	448af8b4-e071-48b0-a65b-b4ad17afdc0c
TCGA-22-5489-01A-01D-1632-08	LUSC	c4eb6681-7ec3-4688-b06a-c47a0043f3fb

TCGA-22-5491-01A-01D-1632-08	LUSC	ed4b5a8c-1dae-41a3-8a2a-f54fa51be4b8
TCGA-22-5492-01A-01D-1632-08	LUSC	abc94013-71f5-4ac6-88a4-01b4ef9f9d2f
TCGA-33-4532-01A-01D-1267-08	LUSC	c8baeba2-2a73-41d7-9226-b89a8f42e18f
TCGA-33-4533-01A-01D-1267-08	LUSC	52b8c7c1-2cfe-410d-a738-1dec43109e24
TCGA-33-4538-01A-01D-1267-08	LUSC	e04814f8-a51f-4b6b-a4e9-bd8d2291817c
TCGA-33-4547-01A-01D-1267-08	LUSC	7e622fc2-06c5-4686-a885-e407725c2f08
TCGA-33-4566-01A-01D-1441-08	LUSC	ddd84ea3-dd5e-4f95-97c3-84c107c19cad
TCGA-33-4582-01A-01D-1441-08	LUSC	4cb06585-62f9-4aae-969a-2085b4d514c3
TCGA-33-4583-01A-01D-1441-08	LUSC	fb901997-6e46-436f-ad34-74aadc344245
TCGA-33-4586-01A-01D-1441-08	LUSC	e6bf4288-9fdd-4c56-b6d2-fa2f5ee542b6
TCGA-33-6737-01A-11D-1817-08	LUSC	3b21ce38-16c6-4c68-9104-fa11f1b619b1
TCGA-34-2596-01A-01D-1522-08	LUSC	66e35f68-f4db-46ee-876e-e770ea616ef3
TCGA-34-2600-01A-01D-1522-08	LUSC	167e0f4e-e7d3-4942-885a-cf06419bbe6d
TCGA-34-2608-01A-02D-1522-08	LUSC	3c90209b-b6f6-40b2-a374-6cd37d6d3895

TCGA-34-5231-01A-21D-1817-08	LUSC	c9862ed2-4ba6-434d-a205-b1bda292d218
TCGA-34-5232-01A-21D-1817-08	LUSC	f32fff2f-0bbf-475f-b088-3f1699203c31
TCGA-34-5234-01A-01D-1632-08	LUSC	7b19ae84-2cab-47e7-87df-46c497da17e0
TCGA-34-5236-01A-21D-1817-08	LUSC	46cb2de7-bbe1-4444-b17e-4c5677a05249
TCGA-34-5239-01A-21D-1817-08	LUSC	6e596912-2146-4c4f-97b6-70b610f5d4b4
TCGA-34-5240-01A-01D-1441-08	LUSC	4c3840df-9824-40db-879e-6d24adc8c155
TCGA-34-5241-01A-01D-1441-08	LUSC	0bcdbc37-cde8-47df-9184-621b2b47da5b
TCGA-34-5927-01A-11D-1817-08	LUSC	d717b13a-e487-4cad-9aae-4b0d649236c4
TCGA-34-5928-01A-11D-1817-08	LUSC	9e2d032e-f982-44fc-b6e0-3be82f029689
TCGA-34-5929-01A-11D-1817-08	LUSC	a25de54e-c13d-4973-864a-e307fbe7324a
TCGA-37-3783-01A-01D-1267-08	LUSC	711e9b21-bd8c-4058-a0ce-5ff4dc23b527
TCGA-37-3789-01A-01D-0983-08	LUSC	d732196f-ef85-43ea-aac7-7c9060bf19c5
TCGA-37-4133-01A-01D-1352-08	LUSC	a678cc49-9009-4027-826f-e17f4533538d
TCGA-37-4135-01A-01D-1352-08	LUSC	754dda66-fceb-4f63-bc99-c98aaa86b0c2

TCGA-37-4141-01A-02D-1352-08	LUSC	3d4f4555-d71a-4c7d-8667-c42dcc20c076
TCGA-37-5819-01A-01D-1632-08	LUSC	edf2a2c0-3829-4da2-8960-598fbd5c4c07
TCGA-39-5016-01A-01D-1441-08	LUSC	d63a0a46-7676-40f5-8e03-b8317d243c73
TCGA-39-5019-01A-01D-1817-08	LUSC	6aecd71e-84f1-4b4d-bff6-ed33026f58b
TCGA-39-5021-01A-01D-1441-08	LUSC	4d8b4c6f-e6eb-4799-b64d-119afc691e3d
TCGA-39-5022-01A-21D-1817-08	LUSC	f60928ab-0cb1-4483-8d61-48a5333defbf
TCGA-39-5024-01A-21D-1817-08	LUSC	388478e9-8c1f-43f8-88c4-811bf3cc2500
TCGA-39-5027-01A-21D-1817-08	LUSC	32c14926-b510-4714-90b2-b0bd68569cd4
TCGA-39-5028-01A-01D-1441-08	LUSC	015b9329-ecf2-4410-b7b6-f9313b5d2adb
TCGA-39-5029-01A-01D-1441-08	LUSC	aa02c83c-7ef0-400d-bd8d-729dacda6352
TCGA-39-5030-01A-01D-1441-08	LUSC	9e7b63f2-6080-4bb0-b45d-a0d40dffcb0e
TCGA-39-5031-01A-01D-1441-08	LUSC	3eab4096-8e8e-459d-a2bb-6ef03f414315
TCGA-39-5035-01A-01D-1441-08	LUSC	035fe73e-56b4-4afe-b70e-dd3c34027f2d
TCGA-39-5036-01A-01D-1441-08	LUSC	a1aa5fba-f179-4777-8d49-345a366d12fa

TCGA-39-5037-01A-01D-1441-08	LUSC	825bd82c-f8f8-4776-a7f5-713b3a574955
TCGA-39-5039-01A-01D-1441-08	LUSC	0c14e914-abd4-4406-be82-a810b10a1320
TCGA-43-2578-01A-01D-1522-08	LUSC	7ce90b30-d372-4edb-9807-b71cb5eb4cb7
TCGA-43-3394-01A-01D-0983-08	LUSC	bb72e789-f8ad-4ab5-805b-a9ac21cef0e3
TCGA-43-3920-01A-01D-0983-08	LUSC	a97333f4-d289-493f-8dff-88e52719fa86
TCGA-43-5668-01A-01D-1632-08	LUSC	f01dfe80-ae9-44f6-b32d-3591fbc3c0f5
TCGA-43-6143-01A-11D-1817-08	LUSC	3874253f-7168-4cd6-b1d6-f426fa207313
TCGA-43-6647-01A-11D-1817-08	LUSC	90b97948-26f7-4431-be89-af8c432baae0
TCGA-43-6770-01A-11D-1817-08	LUSC	404ca8c2-f1bb-4749-8abd-87f491a8111c
TCGA-43-6771-01A-11D-1817-08	LUSC	20735861-1f84-4141-a467-f598108e1e41
TCGA-46-3765-01A-01D-0983-08	LUSC	6c4bb09f-46c8-4a42-bf4f-8bad5316603d
TCGA-46-3766-01A-01D-0983-08	LUSC	0a691892-2209-4f3c-ab16-c2560e4928b4
TCGA-46-3767-01A-01D-0983-08	LUSC	db4ea3ec-e926-4e75-a97b-a527c101b3b9
TCGA-46-3768-01A-01D-0983-08	LUSC	30666313-cc29-4fce-8308-b04fb932083c

TCGA-46-3769-01A-01D-0983-08	LUSC	108a1360-a545-4573-a775-49b3420814e2
TCGA-46-6025-01A-11D-1817-08	LUSC	767a9ae0-2aa4-467b-b9c3-fb3bf701b642
TCGA-46-6026-01A-11D-1817-08	LUSC	42a4a60c-257e-4bf6-a9ba-6f162dbca94a
TCGA-51-4079-01A-01D-1458-08	LUSC	0a43aade-225c-4a29-b1d8-6b930eb8a1db
TCGA-51-4080-01A-01D-1458-08	LUSC	2498ada2-b8d3-4220-8283-45af67a8119a
TCGA-51-4081-01A-01D-1458-08	LUSC	1492c429-1041-4d86-9358-c9b9babd1401
TCGA-56-1622-01A-01D-1521-08	LUSC	0bbc7ede-5022-4084-925c-d65baaf7abc2
TCGA-56-5897-01A-11D-1632-08	LUSC	056acb55-f3ba-4ce0-9735-3cfe6516df55
TCGA-56-5898-01A-11D-1632-08	LUSC	aaf47efe-4a0a-40d1-b70f-9c9168cbdae0
TCGA-56-6545-01A-11D-1817-08	LUSC	16756a08-8308-4ad3-9e21-2cea0cd7028e
TCGA-56-6546-01A-11D-1817-08	LUSC	87e71949-5bd9-458c-95f7-4b19882c2b4f
TCGA-60-2698-01A-01D-1522-08	LUSC	2045c788-9ea8-4ea5-a5e3-65fc16a62adb
TCGA-60-2707-01A-01D-1522-08	LUSC	5d1fa470-2789-4576-9743-0362af682c1d
TCGA-60-2708-01A-01D-1522-08	LUSC	a371189b-5808-4408-824e-8dacec925cc5

TCGA-60-2709-01A-21D-1817-08	LUSC	4f321c92-ae27-4253-bd8b-4505ba8c7dc4
TCGA-60-2710-01A-01D-1522-08	LUSC	faecb1fe-b4ef-434d-818c-81ad2167dd25
TCGA-60-2711-01A-01D-1522-08	LUSC	2ed85cc9-31bc-4cea-9e54-13b7c0e645fa
TCGA-60-2712-01A-01D-1522-08	LUSC	6662dd1b-3e4f-4b7a-b603-cfa7fd92fc30
TCGA-60-2713-01A-01D-1522-08	LUSC	79eb7bba-f0d8-462c-add7-20a2fb7843e1
TCGA-60-2715-01A-01D-1522-08	LUSC	8e05a30d-2177-45e0-90fd-8c5961268c39
TCGA-60-2719-01A-01D-1522-08	LUSC	ee6cc68e-8d2a-41ee-82c6-0fecdf7e6259
TCGA-60-2720-01A-01D-1522-08	LUSC	3b435ddf-a496-40a2-82e8-6b10391aae5d
TCGA-60-2721-01A-01D-1522-08	LUSC	8defff62-9395-47cb-bb19-4b8487d9ea8e
TCGA-60-2722-01A-01D-1522-08	LUSC	eb955f72-83bf-4635-a7ed-89e4d66e08f4
TCGA-60-2723-01A-01D-1522-08	LUSC	8a6aa45a-ef6d-4005-b7c9-e15240dc6dd4
TCGA-60-2724-01A-01D-1522-08	LUSC	387c6519-6529-4074-a5ab-00f8052a5732
TCGA-60-2725-01A-01D-1267-08	LUSC	f3ed705b-e5aa-4756-9794-e4b85303693a
TCGA-60-2726-01A-01D-1522-08	LUSC	a96eddfc-3afb-4bf8-a440-c91778113fbd

TCGA-63-5128-01A-01D-1441-08	LUSC	d3b9b51e-eeee-4355-829d-ee35bdd2cf5b
TCGA-63-5131-01A-01D-1441-08	LUSC	b290a86e-22da-4f10-a421-2616bb47bc1b
TCGA-63-6202-01A-11D-1817-08	LUSC	a3c568a6-0c43-47a7-a35a-3225fedeeb44
TCGA-66-2727-01A-01D-0983-08	LUSC	c2b2c909-1461-42ce-8fd9-736147dcacd8
TCGA-66-2734-01A-01D-0983-08	LUSC	9f7a24a2-10e2-4039-ad27-13d7ec28ff36
TCGA-66-2742-01A-01D-0983-08	LUSC	07047a99-45bd-4df6-ad6f-934a48e8e213
TCGA-66-2744-01A-01D-0983-08	LUSC	43be1a37-b18e-4e96-89e6-ed6ee1d8e65a
TCGA-66-2754-01A-01D-0983-08	LUSC	c34a64c8-3746-44f8-a7ee-77f502b6256c
TCGA-66-2755-01A-01D-1522-08	LUSC	177d64a9-65dc-4aa1-8774-bd8208e40f04
TCGA-66-2756-01A-01D-1522-08	LUSC	472c95e6-eccb-4988-be16-fdace73b2ed8
TCGA-66-2757-01A-01D-1522-08	LUSC	1886dba0-4662-4342-84ac-96af0beb2393
TCGA-66-2758-01A-02D-1522-08	LUSC	71c4e854-a704-4787-a37a-fa6642ca5dac
TCGA-66-2759-01A-01D-1522-08	LUSC	fecd0a2b-d176-438a-be95-306f453fde40
TCGA-66-2763-01A-01D-1522-08	LUSC	d6493c56-5322-4961-a693-8e8a62b0f7f1

TCGA-66-2765-01A-01D-1522-08	LUSC	85d7e094-ca96-4090-83aa-2f318ae6e954
TCGA-66-2766-01A-01D-1522-08	LUSC	452b75d0-1818-46aa-8804-9cfc0bd66449
TCGA-66-2767-01A-01D-1522-08	LUSC	ca748128-272c-4fad-9a1f-01328b93b3f4
TCGA-66-2768-01A-01D-1522-08	LUSC	5d458cef-965d-4d27-b754-31df67ed6eaa
TCGA-66-2770-01A-01D-1522-08	LUSC	e417903d-ab76-44f0-aae9-3a91fa9a8d3c
TCGA-66-2771-01A-01D-0983-08	LUSC	58c73372-223f-400a-a2df-073a78c58b62
TCGA-66-2773-01A-01D-1267-08	LUSC	fb0b515b-afc4-40c3-abe6-e90c442f0249
TCGA-66-2777-01A-01D-1267-08	LUSC	2ea52fb8-d7c9-48ce-9aef-50df7c42e5d5
TCGA-66-2778-01A-02D-1522-08	LUSC	5215060d-5ffd-49f3-a7a7-73167e7af74a
TCGA-66-2780-01A-01D-1522-08	LUSC	d088bd17-a1a0-4bd9-bfe1-d57b5725c53b
TCGA-66-2781-01A-01D-1522-08	LUSC	bf33630-c8a8-4ec4-9eee-8bef349339ea
TCGA-66-2782-01A-01D-1522-08	LUSC	640ff507-203c-45aa-8bc1-030ee8639b5d
TCGA-66-2783-01A-01D-1267-08	LUSC	f574d3b7-4ae4-49bc-9e05-f965fbc86119
TCGA-66-2785-01A-01D-1522-08	LUSC	57debe39-f57d-400a-a860-3de357d6bec1

TCGA-66-2786-01A-01D-1522-08	LUSC	999a6582-33cf-47ca-b268-9b2da102e99b
TCGA-66-2787-01A-01D-0983-08	LUSC	c59e5971-e243-4b00-b5f0-f4bca18530d6
TCGA-66-2788-01A-01D-0983-08	LUSC	2466d424-98bb-4380-9967-36abaa0e69d7
TCGA-66-2789-01A-01D-0983-08	LUSC	fab8faeb-35b3-42f0-b0af-4dfb1325a21a
TCGA-66-2791-01A-01D-0983-08	LUSC	dd468431-2fa4-45ab-be1f-90671891c5c4
TCGA-66-2792-01A-01D-0983-08	LUSC	b704a17a-9ee9-4555-b2bb-250ac1ec5bed
TCGA-66-2793-01A-01D-1267-08	LUSC	7dc5f8ba-0080-43d3-8426-bd527a970761
TCGA-66-2794-01A-01D-1267-08	LUSC	2c58fa70-8fef-4a49-8cde-bfdc92e77919
TCGA-66-2795-01A-02D-0983-08	LUSC	73825564-8731-4137-972a-330490aceadc
TCGA-66-2800-01A-01D-1267-08	LUSC	803ec3a5-4347-41c3-a7b6-7eb00427a48c
TCGA-70-6722-01A-11D-1817-08	LUSC	e81f1bb5-2d06-44b3-998a-e7a0b818467c
TCGA-70-6723-01A-11D-1817-08	LUSC	7483ea9f-8587-41e7-9ae5-d9223b76f33e
TCGA-85-6175-01A-11D-1817-08	LUSC	2ba53bf0-a4e1-4b46-b258-610522aac7ee
TCGA-85-6560-01A-11D-1817-08	LUSC	a5a156b8-2c8a-4ed0-8bae-b60cdc95698f

TCGA-85-6561-01A-11D-1817-08	LUSC	f5aa0f1c-da19-4c04-b695-01ed5b20e79e
TCGA-04-1332-01A-01W-0488-09	OV	b52e5d90-dc57-438c-9c38-e043308c24ac
TCGA-04-1336-01A-01W-0488-09	OV	586101df-93c9-4d0b-ba0e-58df7a2f9598
TCGA-04-1343-01A-01W-0488-09	OV	fbbc3d80-aff2-463e-8eb3-c4361ad7cb98
TCGA-04-1346-01A-01W-0488-09	OV	9f494df7-f64f-4935-ae42-eeb0b94624dc
TCGA-04-1347-01A-01W-0488-09	OV	21b50b8c-781a-4e15-a4ad-715f416f0fa2
TCGA-04-1348-01A-01W-0494-09	OV	1f4dee42-8f3d-4307-b6e5-3381d77d201c
TCGA-04-1349-01A-01W-0494-09	OV	e456f707-f0a0-4624-98bc-e9dfe779182b
TCGA-04-1361-01A-01W-0494-09	OV	0fc567bd-2201-4f3d-820e-2c0dbe58da6f
TCGA-04-1362-01A-01W-0494-09	OV	830e207f-458e-4628-b7bc-287c2f2e12e5
TCGA-04-1542-01A-01W-0553-09	OV	317a63af-e862-43df-8ef5-7c555b2cb678
TCGA-09-0366-01A-01W-0372-09	OV	62269d21-50dc-42b0-b1e4-75ed8010080a
TCGA-09-0369-01A-01W-0372-09	OV	633f5c4d-c224-404c-9f68-24daafd1fc84
TCGA-10-0930-01A-02W-0421-09	OV	ec98ed86-1d2f-4e54-b2d4-5976469bf0b8

TCGA-10-0933-01A-01W-0421-09	OV	3ec4215f-b57d-4ae7-b247-55ea1f7e97d3
TCGA-10-0935-01A-03W-0421-09	OV	af0edbf4-9d90-4373-a9ce-0875ebbe1d04
TCGA-13-0723-01A-02W-0372-09	OV	6f9e5a76-5d2a-4bb0-babf-3f365a177236
TCGA-13-0724-01A-01W-0372-09	OV	2b6aa1c8-5150-4d8f-af59-d5a826321308
TCGA-13-0726-01A-01W-0372-09	OV	201415c2-5b5a-4bb8-8005-bf2c78d4d88e
TCGA-13-0755-01A-01W-0372-09	OV	9bd227fa-e52a-4805-bd04-ad63df0930af
TCGA-13-0760-01A-01W-0372-09	OV	5181630f-246a-4cb4-88c2-1534b5fb8e37
TCGA-13-0765-01A-01W-0372-09	OV	5bcfe3ea-d95e-47ff-9718-6b123d3acaef
TCGA-13-0791-01A-01W-0372-09	OV	70f63e2f-9bc6-4ed9-8d91-f1889287d7b7
TCGA-13-0795-01A-01W-0372-09	OV	b266a007-694a-4580-ad67-48b0f709bc43
TCGA-13-0800-01A-01W-0372-09	OV	757862e3-0392-4e05-a242-25e3d2094ee8
TCGA-13-0804-01A-01W-0372-09	OV	7f39610d-45b8-45ae-806e-16b7acebafa6
TCGA-13-0807-01B-02W-0421-09	OV	f80466d9-6cc8-461b-acc2-addee22bd42a
TCGA-13-0884-01B-01W-0494-09	OV	c5f0aa38-556b-401c-b4da-ac82cdc2e637

TCGA-13-0885-01A-02W-0421-09	OV	a530d9a9-b21e-47be-b4d8-1707b71f360a
TCGA-13-0887-01A-01W-0421-09	OV	e05146f2-688d-416b-a992-e2c7a2b7b244
TCGA-13-0890-01A-01W-0421-09	OV	15b867fb-7a7b-4158-9abd-91870ba77eb7
TCGA-13-0893-01B-01W-0494-09	OV	a335ab49-84b7-4d3b-a03d-9c3931904ca5
TCGA-13-0894-01B-01W-0494-09	OV	eb57990e-702f-4fac-9ef5-7447ecb45cec
TCGA-13-0897-01A-01W-0421-09	OV	f48ed68f-a833-4b78-971a-3c746c563d24
TCGA-13-0903-01A-01W-0421-09	OV	854167b5-03ab-4867-af34-9c92e385822e
TCGA-13-0910-01A-01W-0421-09	OV	26cebe0b-b7a7-431e-bc12-7fda22af72f3
TCGA-13-0912-01A-01W-0421-09	OV	517f4d7f-c962-414f-8824-f2a7ae19cb6d
TCGA-13-0920-01A-01W-0421-09	OV	2e28969b-c9a9-41ec-80bf-f583197b7f92
TCGA-13-0924-01A-01W-0421-09	OV	510dda3c-6a1f-4781-972f-c9c270608c72
TCGA-13-1403-01A-01W-0494-09	OV	acbc77ba-7cc0-4af2-9ab6-0c835ce33998
TCGA-13-1404-01A-01W-0494-09	OV	692e4b24-daf0-4771-b4a6-b0599f122ad8
TCGA-13-1405-01A-01W-0494-09	OV	c0d1de72-4cce-4d74-93f0-29c462dc1426

TCGA-13-1411-01A-01W-0494-09	OV	e254d7f4-1edf-4054-9ca6-9fe058a05484
TCGA-13-1412-01A-01W-0494-09	OV	f7edafe2-3eab-4bac-9d25-ed5c223b4aee
TCGA-13-1481-01A-01W-0549-09	OV	f9eab025-5518-4240-b1a8-19f8ff8354f0
TCGA-13-1482-01A-01W-0549-09	OV	a68927d4-e827-49c9-9c3a-23ce0543261b
TCGA-13-1483-01A-01W-0549-09	OV	52280c07-44f5-4e9c-8601-7455b5b0de7a
TCGA-13-1488-01A-01W-0549-09	OV	886a8c10-63cf-4cb2-83d2-5a99bbda193d
TCGA-13-1489-01A-01W-0549-09	OV	395c1d93-7216-4c9d-bfad-26ff95fb8afe
TCGA-13-1491-01A-01W-0549-09	OV	fb7d1c2b-3e87-4d05-a58b-92d0e1016986
TCGA-13-1497-01A-01W-0549-09	OV	04e814c6-ea28-4ade-bc8f-a618552943da
TCGA-13-1498-01A-01W-0549-09	OV	b00d9680-4099-43fe-87de-b3cc8b9e70c8
TCGA-13-1499-01A-01W-0549-09	OV	b4ce07b1-677e-4a9c-8f8e-2b7762487692
TCGA-13-1506-01A-01W-0549-09	OV	7534b542-88f8-445c-ae4a-9f44fb6798a8
TCGA-13-1507-01A-01W-0549-09	OV	5423db1a-5b59-4a5b-a676-00a54570b04a
TCGA-13-1509-01A-01W-0549-09	OV	4d3fab96-bc22-48d0-a3ef-1844ad894d0f

TCGA-23-1021-01B-01W-0488-09	OV	4f14d366-4750-471f-98a1-a01934365ee1
TCGA-23-1022-01A-02W-0488-09	OV	160a0e7d-315e-4de3-a7d4-928412fd909c
TCGA-23-1117-01A-02W-0488-09	OV	3a4b0c6a-1f43-437c-b715-fc50c1c0303d
TCGA-23-1118-01A-01W-0488-09	OV	00c41845-6b48-40fa-82e9-1b436e7d91c3
TCGA-23-1123-01A-01W-0488-09	OV	22cfe2c8-5e1f-4b64-854d-2a7a02bf10fe
TCGA-23-1124-01A-01W-0488-09	OV	8a4061a0-77f2-4bb4-a3da-9b3d9f0314b9
TCGA-24-0966-01A-01W-0977-09	OV	dc069342-661a-4012-9bda-0c67469e117d
TCGA-24-0980-01A-01W-0421-09	OV	87d32a92-a8d2-4656-a100-798328338486
TCGA-24-0982-01A-01W-0488-09	OV	7667c0e6-e44a-448f-b118-6e2171a99b6c
TCGA-24-1103-01A-01W-0488-09	OV	47b7427c-a91a-4872-bc08-50c07ba60512
TCGA-24-1104-01A-01W-0488-09	OV	9cdb7821-fe43-46cd-94f3-b9d68b9ce21f
TCGA-24-1413-01A-01W-0494-09	OV	1b2d2cde-4553-472e-82f1-8224745ac1eb
TCGA-24-1416-01A-01W-0549-09	OV	21f5e805-c0b4-487b-9ccd-02963e2369ff
TCGA-24-1417-01A-01W-0549-09	OV	f6f43d04-a9e3-48c8-a276-3bebc4f416d7

TCGA-24-1418-01A-01W-0549-09	OV	6093bcb5-4889-4cb9-9b01-e4e4278e72aa
TCGA-24-1424-01A-01W-0549-09	OV	2849f3e8-85d8-4d42-953b-3190b0ca98fc
TCGA-24-1425-01A-02W-0553-09	OV	f8d4c37d-5b4d-4f5a-8022-7da2b32cc1b0
TCGA-24-1426-01A-01W-0549-09	OV	063f8696-2c9d-4af4-a863-df10c42a5ea8
TCGA-24-1427-01A-01W-0549-09	OV	6511d3d4-722c-4702-a644-29bb98e5e5c3
TCGA-24-1428-01A-01W-0549-09	OV	52866517-eddf-4d63-a121-a296d6b2d264
TCGA-24-1435-01A-01W-0549-09	OV	28d236f6-dddc-48c2-be30-b1568a4d6055
TCGA-24-1436-01A-01W-0549-09	OV	adef0f5-d2a3-41c5-a509-298f702266bb
TCGA-24-1463-01A-01W-0549-09	OV	c01ca9e7-ee9b-4698-8e4d-920ad7bfbe5f
TCGA-24-1464-01A-01W-0549-09	OV	01ec3cbb-c68a-4874-b396-f5e34876e04a
TCGA-24-1469-01A-01W-0553-09	OV	990c4b9d-608d-4b85-959c-5cc12f4e10fc
TCGA-24-1470-01A-01W-0553-09	OV	1d2bf111-910b-4ce9-8638-ab992b414e65
TCGA-24-1549-01A-01W-0553-09	OV	b2e252bd-895f-4b28-9367-dd527331010f
TCGA-24-1562-01A-01W-0553-09	OV	5e49bcea-9c1d-4cfd-a64c-4b84859bdda5

TCGA-24-1563-01A-01W-0553-09	OV	b6c46b53-f94d-4936-9005-518c8f1c1449
TCGA-24-1616-01A-01W-0553-09	OV	c464b2f6-9cfe-463a-b5e3-9a76cd4480c5
TCGA-25-1315-01A-01W-0494-09	OV	52f45b5e-af86-454c-be63-a56c6c21b730
TCGA-25-1316-01A-01W-0494-09	OV	d75a0b16-04e4-4ba3-a695-132c5ace698b
TCGA-25-1322-01A-01W-0494-09	OV	626f1798-fb15-4b01-8d8f-db19777d72e9
TCGA-AF-3913-01A-02W-1073-09	READ	4ebe7cf9-ce4f-485d-9332-ea9b536e38e2
TCGA-AG-3887-01A-01W-1073-09	READ	6d2de0f5-e812-4d3f-903b-7febdcfcd2f7
TCGA-AG-3890-01A-01W-1073-09	READ	042e984f-c106-4b23-9908-5abaf407e694
TCGA-AG-3892-01A-01W-1073-09	READ	26acdae6-b01a-4dbd-b0b8-f6d97fe01808
TCGA-AG-3893-01A-01W-1073-09	READ	0faa6d28-c01c-4847-9552-912733485610
TCGA-AG-3894-01A-01W-1073-09	READ	e508d0c8-cdaf-463f-bb03-47af1bc41866
TCGA-AG-3896-01A-01W-1073-09	READ	22c7d09a-e69b-44be-8d8e-0a0cc9adf57c
TCGA-AG-3898-01A-01W-1073-09	READ	cc3516ba-2941-4efa-80fc-7b5041194d52
TCGA-AG-3901-01A-01W-1073-09	READ	84859471-1136-4f42-ab75-b27a4ef27199

TCGA-AG-3902-01A-01W-1073-09	READ	b679f02d-f48d-49eb-b245-65f341e4c181
TCGA-AG-3909-01A-01W-1073-09	READ	f5ece3cf-39eb-4277-8975-986e548bc1ea
TCGA-AG-3999-01A-01W-1073-09	READ	0445426d-b9c0-4ce5-b1cc-cb236d4381cf
TCGA-AG-4001-01A-02W-1073-09	READ	55075176-07a4-4183-9f8f-9f472b15a6b4
TCGA-AG-4005-01A-01W-1073-09	READ	be1d3bda-de1a-4768-a2e4-22c07326ddc3
TCGA-AG-4007-01A-01W-1073-09	READ	6fcfdc8f-22c0-4c3a-9e46-58c0a68e818e
TCGA-AG-4008-01A-01W-1073-09	READ	83cd3c15-8eab-4d46-b9a2-36ee719f6774
TCGA-AG-4015-01A-01W-1073-09	READ	cf6f8e0f-04bf-4a0d-933e-8034ba6c1607
TCGA-AG-A008-01A-01W-A005-10	READ	2221cfc4-b324-4329-ad37-3dd9a5adf36e
TCGA-AG-A00C-01A-01W-A005-10	READ	1a4f95be-32d3-4202-a0e7-507181b3fb86
TCGA-AG-A00H-01A-01W-A00E-09	READ	fdc4c8ac-fee2-4801-ae94-94c5d8058a9f
TCGA-AG-A00Y-01A-02W-A005-10	READ	b50ae1df-ee6f-4a5e-ba4b-c962d740ab22
TCGA-AG-A011-01A	READ	b5dd8f49-26fc-48d9-a964-d8ebdcca9e19
TCGA-AG-A014-01A	READ	fbfa61fe-4fb7-4b2a-9bf0-33140fd41873

TCGA-AG-A015-01A-01W-A005-10	READ	abb751f0-c4df-4556-ac9b-ad1e1971ccccf
TCGA-AG-A016-01A-01W-A005-10	READ	f20ae301-b10b-4dfa-9169-04bc6c3d103a
TCGA-AG-A01L-01A	READ	b034c90b-d0bd-466a-88ba-b61efd36c6e4
TCGA-AG-A025-01A-01W-A00E-09	READ	7b5a3c33-cd13-4e4d-a1f8-3405dab5998f
TCGA-AG-A02G-01A-01W-A00E-09	READ	954527dc-8a7d-474d-b580-82199e86cb5a
TCGA-AG-A02X-01A-01W-A00E-09	READ	9ffb8919-a98c-40bd-bdad-146b1ccc14ef
TCGA-AG-A032-01A-01W-A00E-09	READ	7522eb6b-797a-4964-8aca-6d70590b5f9f

[00470] **Pipeline para previsão de peptídeos derivados de mutações de genes com ligação a alelos HLA pessoais:** Foi prevista afinidade de ligação MHC em todos os peptídeos 9-mer e 10-mer possíveis gerados a partir de cada mutação somática e do correspondente peptídeo de tipo selvagem usando NetMHCpan (versão 2.4). Estes peptídeos em mosaico foram analisados quanto às suas afinidades de ligação (IC50 nM) para cada alelo de classe I nos pacientes de perfil HLA. Um valor IC50 inferior a 150 nM foi considerado um aglutinante previsto como forte a intermédio, um IC50 de 150-500 nM foi considerado um aglutinante previsto como fraco, enquanto IC50 > 500 nM foi considerado um não aglutinante. Foi

realizada confirmação experimental de peptídeos previstos ligando a moléculas HLA (IC50 < 500 nM) usando um ensaio de ligação de alelos MHC de classe I e foi descrito em detalhe em outro local (Cai et al. 28 e Sidney et al. 2001).

[00471] **Fontes de antigênio:** Foram sintetizados peptídeos até >95% de pureza (confirmada por cromatografia líquida de alto desempenho) da New England Peptide (Gardner, MA); ou RS Synthesis, (Louisville, KY). Foram reconstituídos peptídeos em DMSO (10 mg/ml) e armazenados a -80 °C até utilização. Minigenes consistindo de uma sequência de 300 bp abrangendo mut ou wt *FNDC3B* foram clonados por PCR do tumor do Pt 2 no vetor de expressão pCDNA3.1 usando os seguintes iniciadores: iniciador 5': GACGTCGGATCCCACCATGGGTCCCGGAATTAAGAAAACAGAG; iniciador 3': CCCGGGGCGGCCCGCCTAATGGTGATGGTGATGGTGACATTCTAA TTCTTCTCCACTGTAAA. Minigenes foram expressos em células alvo apresentando antigênio introduzindo 20 µg do plasmídeo em 2 milhões de células K562 (ATCC) transfectadas estavelmente com HLA-A2 por nucleofecção Amaxa (Solution V, Program T16, Lonza Inc; Walkersville, MD). Foram incubadas células em meio RPMI (Cellgro; Manassas, VA), suplementadas com 10% de soro fetal de bovino (Cellgro), 1% de tampão HEPES (Cellgro), e 1% de L-glutamina (Cellgro). As células foram colhidas 2 dias a seguir a nucleofecção para ensaios imunitários.

[00472] **Análise de expressão de gene casos CLL:** foram

reanalisados dados de microarranjo anteriormente relatados (Gene Expression Omnibus da NCI número de acesso GSE37168). Ficheiros CEL da Affimetrix foram processados usando o pacote *affy* em R. Foi usado o algoritmo Robust Multichip Analysis (RMA) como correção de fundo que modela as intensidades observadas como uma mistura de sinal exponencialmente distribuído e ruído normalmente distribuído. A isto seguiu-se normalização quantil nos arranjos para facilitar a comparação de expressão de gene sob diferentes condições. O nível de sonda individual foi finalmente resumido usando a abordagem *median polish* para obter valores de nível de conjunto de sondas robustos. Valores de nível de genes foram obtidos selecionando a sonda com a expressão média máxima para cada gene. Efeitos de lote nos dados foram removidos usando o programa Combat.

[00473] **Geração e detecção de células T específicas de antígeno de PBMCs de paciente:** Células dendríticas autólogas (DCs) foram geradas a partir de células CD14⁺ imunomagneticamente isoladas (Miltenyi, Auburn CA) que foram cultivadas em RPMI (Cellgro) suplementadas com 3% de soro fetal de bovino, 1% de penicilina-estreptomicina (Cellgro), 1% de L-glutamina e 1% de tampão HEPES na presença de 120 ng/ml de GM-CSF e 70 ng/ml de IL-4 (R&D Systems, Minneapolis, MN). Nos dias três e cinco, foram adicionados GM-CSF e IL-4 adicionais. No dia seis, as células foram expostas a 30µg/ml

Poli I:C (Sigma Aldrich, St Louis, MO) para serem submetidas a maturação (por 48 horas), para além de adicionar IL-4 e GM-CSF. Células B CD19⁺ foram isoladas de PBMCs de paciente por seleção imunomagnética (microsféricas CD19⁺; Miltenyi, Auburn, CA), e semeadas a 1x10⁶ células/poço em uma placa de 24 poços. Células B foram cultivadas em meio de célula B (meio Dulbecco modificado por Iscoves) (IMDM; Life Technologies, Woburn, MA), suplementadas com 10% de soro humano AB (GemCell, Sacramento, CA), 5µg/mL de insulina (Sigma Chemical, St Louis, MO), 15 µg/mL de gentamicina, IL-4 (2ng/ml, R&D Systems, Minneapolis, MN) e CD40L-Tri (1µg/ml). CD40L-Tri foi reabastecido a cada 3-4 dias. Para algumas experiências, foram usadas como APCs células B CD19⁺ ativadas e expandidas por CD40L-Tri.

[00474] **Geração de células T específicas de antígeno de PBMCs de paciente:** Para gerar células T reativas a peptídeos de pacientes CLL, células T CD8⁺ imunomagneticamente selecionadas (5x10⁶/poço) de PBMCs pré- e pós-transplante (microsféricas CD8⁺, Miltenyi, Auburn, CA) foram cultivadas com DCs pulsados com conjuntos de peptídeos autólogos (a um rácio de 40:1) ou células B irradiadas ativadas com CD40L-Tri (a um rácio de 4:1) respectivamente, em meio completo suplementado com 10% de FBS e 5-10 ng/mL de IL-7, IL-12 e IL-15. APCs foram pulsados por 3 horas com

conjuntos de peptídeos (10 μM / peptídeo/conjunto). Células T CD8⁺ foram novamente estimuladas semanalmente (por 1-3 semanas, começando no dia 7) com APCs.

[00475] **Detecção de células T específicas de antígeno:** A especificidade de célula T contra conjuntos de peptídeos foi testada por ensaio IFN- γ ELISPOT, 10 dias após a segunda e quarta estimulações Foi detectada liberação de IFN- γ usando células de teste e controle ativadas com CD40L pulsadas com peptídeos B (50,000 células/poço) co-incubadas com 50.000 células T CD8⁺/poço (Millipore, Billerica, MA) durante 24 horas em placa ELISPOT. Foi detectado IFN- γ usando anticorpos de captura e detecção, como indicado (Mabtech AB, Mariemont, OH), e fotografado (ImmunoSpot Series Analyzer; Cellular Technology, Cleveland, OH). Para testar a dependência de reatividade de células T na classe MHC I, placas ELISPOT foram primeiro revestidas com APCs co-incubadas com anticorpos de bloqueio de classe I (W6/32) por 2 horas a 37 °C, antes da introdução de células T nos poços. Foi usado tetrâmero de classe MHC I para testar a especificidade de células T onde indicado (Emory University, Atlanta GA). Para coloração do tetrâmero, foram incubadas células 5×10^5 por 60 minutos a 4 °C com 1 μg /mL de tetrâmero marcado com PE e depois incubadas com a adição de anticorpos anti-CD3-FITC e anti-CD8-APC (BD Biosciences, San Diego CA)

por mais 30 minutos a 4 °C. Foram adquiridos um mínimo de 100.000 eventos por amostra. A secreção de GM-CSF e IL-2 de células T CD8⁺ cultivadas foi detectada por análise de sobrenadante de cultura usando uma tecnologia Luminex multiplex de base esferas, de acordo com as recomendações do fabricante (EMD Millipore, Billerica, MA). Resumindo, microsferas marcadas com fluorescente foram revestidas com anticorpos específicos de captura de citocina. Após incubação com a amostra de sobrenadante de cultura, foram detectadas citocinas capturadas por um anticorpo de detecção biotinizado seguido de um conjugado de estreptavidina-PE e intensidade de fluorescência média (Luminex 200 Bead Array instrument; Luminex Corporation, Austin TX). Com base em uma curva padrão, os níveis de citocina foram calculados no programa Bead View Software (Upstate, EMD Millipore, Billerica, MA). Para detecção e quantificação de clonótipos TCR V β , células T específicas de *mut-FNDC3B* foram enriquecidas de linhas celulares T do Pt 2 usando o ensaio de secreção de IFN- γ (Miltenyi, Auburn, CA) de acordo com as instruções do fabricante e como previamente descrito.

[00476] **Considerações estatísticas:** Modelos ANOVA de duas vias foram construídos para reatividade de células T contra peptídeo mut vs wt na forma de liberação de IFN-gama, GM-CSF, e IL-2 e incluíram estado de concentração e estado mutacional como efeitos fixos juntamente com um termo de

interação como apropriado. Valores *P* para estes modelos foram ajustados para comparações múltiplas *post-hoc* usando o método de Tukey. Para comparações normalizadas de IFN-gama, foi realizado um teste *t* para testar a hipótese de que o rácio normalizado é igual a um. Para outras comparações de medições contínuas entre grupos, foi usado um teste *t* de Welch. Todos os valores *P* reportados são bilaterais e considerados significativos no nível 0,05 com ajuste apropriado para comparações múltiplas. Foi realizada análise em SAS v9.2.

[00477] **Detecção e quantificação de clonótipos TCR V β**

Para detectar TCR V β específico de mut-*FNDC3B*, foi realizado um PCR agrupado de duas etapas de populações de células T enriquecidas com IFN- γ específicas de peptídeos. Em suma, a família V β dominante foi identificada entre as 24 subfamílias V β conhecidas. Primeiro, foram gerados 5 conjuntos de iniciadores diretos de V β (conjunto 1: V β 1-5,1; conjunto 2: V β 5,2-9; conjunto 3: V β 10-13,2; conjunto 4: V β 14-19; e conjunto 5: V β 20, 22-25). RNA extraído dos clones de célula T (QIAamp RNA Blood Mini-kit; Qiagen, Valencia, CA), foi reversamente transcrito para cDNA (Superscript, GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) usando hexâmeros aleatórios e amplificado por PCR em cinco reações separadas de volume de 20 μ l. Segundo, cDNA derivado de clone de célula T foi re-amplificado, com cada um dos 5 iniciadores individuais

contidos dentro de um conjunto positivo juntamente com um iniciador C β reverso (interno) conjugado com FAM. Subsequentemente, 4 μ l deste produto PCR foram amplificados com 1 μ l do iniciador específico de região CDR3 do clone e sonda e 10 μ l de Taqman Fast Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) em um volume total de 20 μ l. As condições de amplificação de PCR foram: 95°C por 20 minutos \times 1 ciclo, e 40 ciclos de 95°C por 3 segundos seguido de 60°C por 30 segundos (ciclador PCR 7500 Fast Real-time; Applied Biosystems, Foster City, CA). Os transcritos de teste foram quantificados relativamente a transcritos de RNA ribossômicos *S18* calculando $2^{(S18 \text{ rRNA CT-alvo CT})}$ como anteriormente descrito.

[00478] **Detecção de carga tumoral molecular:** A sequência IgH clonotípica de Pt 2 foi identificada usando um painel de iniciadores de PCR específicos de VH, como anteriormente descrito. Com base em esta sequência, foi concebido um ensaio de PCR Taqman quantitativo de forma a ser localizada uma sonda específica de sequência na região de diversidade juncional (Applied Biosystems; Foster City, CA). Este ensaio Taqman foi aplicado a cDNA de tumor. Todas as reações PCR consistiram de: 50°C por 1 minuto \times 1 ciclo, 95°C por 10 minutos \times 1 ciclo, e 40 ciclos de 95°C por 15 segundos seguido de 60°C por 1 minuto. Todas as reações foram

realizadas usando um ciclador de PCR 7500 Fast Real-time (Applied Biosystems, Foster City, CA). Os transcritos de teste foram quantificados relativamente a GAPDH.

REFERÊNCIAS

Zhang GL, Ansari HR, Bradley P, et al. Machine learning competition in immunology - Prediction of HLA class I binding peptides. *J Immunol Methods*. 30 de novembro 2011;374(1-2):1-4.

Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Seminars in immunology*. Fevereiro de 2007;19(1):24-32.

Adams S. Toll-like receptor agonists in cancer therapy. *Immunotherapy*. Novembro de 2009;1(6):949-964.

Cheever MA. Twelve immunotherapy drugs that could cure cancers. *Immunological reviews*. Abril de 2008;222:357-368.

Bogunovic D, Manches O, Godefroy E, et al. TLR4 engagement during TLR3-induced proinflammatory signaling in dendritic cells promotes IL-10-mediated suppression of antitumor immunity. *Cancer Res*. 15 de Agosto de 2011;71(16):5467-5476.

Stahl-Hennig C, Eisenblatter M, Jasny E, et al. Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques. *PLoS pathogens*. Abril de 2009;5(4):e1000373.

Boscardin SB, Hafalla JC, Masilamani RF, et al. Antigen

targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. The Journal of experimental medicine. 20 de Março de 2006;203(3):599-606.

Soares H, Waechter H, Glaichenhaus N, et al. A subset of dendritic cells induces CD4+ T cells to produce IFN-gamma by an IL-12-independent but CD70-dependent mechanism in vivo. The Journal of experimental medicine. 14 de maio de 2007;204(5):1095-1106.

Trumpfheller C, Caskey M, Nchinda G, et al. The microbial mimic poly IC induces durable and protective CD4+ T cell immunity together with a dendritic cell targeted vaccine. Proc Natl Acad Sci U S A. 19 de fevereiro de 2008;105(7):2574-2579.

Trumpfheller C, Finke JS, Lopez CB, et al. Intensified and protective CD4+ T cell immunity in mice with anti-dendritic cell HIV gag fusion antibody vaccine. The Journal of experimental medicine. 20 de Março de 2006;203(3):607-617.

Salem ML, Kadima AN, Cole DJ, Gillanders WE. Defining the antigen-specific T-cell response to vaccination and poly(I:C)/TLR3 signaling: evidence of enhanced primary and memory CD8 T-cell responses and antitumor immunity. J Immunother. maio-junho de 2005;28(3):220-228.

Tough DF, Borrow P, Sprent J. Induction of bystander T cell proliferation by viruses and type I interferon in vivo.

Science. 28 de junho de 1996;272(5270):1947-1950.

Zhu X, Nishimura F, Sasaki K, et al. Toll like receptor-3 ligand poly-ICLC promotes the efficacy of peripheral vaccinations with tumor antigen-derived peptide epitopes in murine CNS tumor models. *Journal of translational medicine*. 2007;5:10.

Flynn BJ, Kastenmuller K, Wille-Reece U, et al. Immunization with HIV Gag targeted to dendritic cells followed by recombinant New York vaccinia virus induces robust T-cell immunity in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26 de abril de 2011;108(17):7131-7136.

Gaucher D, Therrien R, Kettaf N, et al. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *The Journal of experimental medicine*. 22 de dezembro de 2008;205(13):3119-3131.

Caskey M, Lefebvre F, Filali-Mouhim A, et al. Synthetic double-stranded RNA induces innate immune responses similar to a live viral vaccine in humans. *The Journal of experimental medicine*. 21 de novembro de 2011;208(12):2357-2366.

Sabbatini P, Tsuji T, Ferran L, et al. Phase I trial of overlapping long peptides from a tumor self-antigen and poly-ICLC shows rapid induction of integrated immune response in ovarian cancer patients. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer*

Research. 1 de dezembro de 2012;18(23):6497-6508.

Robinson RA, DeVita VT, Levy HB, Baron S, Hubbard SP, Levine AS. A phase I-II trial of multiple-dose polyriboinosic-polyribocytidylic acid in patients with leukemia or solid tumors. Journal of the National Cancer Institute. Setembro de 1976;57(3):599-602.

Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA: a cancer journal for clinicians. Janeiro de 2013;63(1):11-30.

Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. 20 de dezembro de 2009;27(36):6199-6206.

Eggermont AM, Suciú S, Testori A, et al. Ulceration and stage are predictive of interferon efficacy in melanoma: results of the phase III adjuvant trials EORTC 18952 and EORTC 18991. Eur J Cancer. Janeiro de 2012;48(2):218-225.

Sosman JA, Moon J, Tuthill RJ, et al. A phase 2 trial of complete resection for stage IV melanoma: results of Southwest Oncology Group Clinical Trial S9430. Cancer. 15 de outubro de 2011;117(20):4740-4706.

Flaherty KT, Hodi FS, Fisher DE. From genes to drugs: targeted strategies for melanoma. Nat Rev Cancer. Maio de 2012;12(5):349-361.

Mocellin S, Pasquali S, Rossi CR, Nitti D. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 7 de abril de 2010;102(7):493-501.

Pirard D, Heenen M, Melot C, Vereecken P. Interferon alpha as adjuvant postsurgical treatment of melanoma: a meta-analysis. *Dermatology*. 2004;208(1):43-48.

Wheatley K, Ives N, Hancock B, Gore M, Eggermont A, Suci S. Does adjuvant interferon-alpha for high-risk melanoma provide a worthwhile benefit? A meta-analysis of the randomised trials. *Cancer treatment reviews*. Agosto de 2003;29(4):241-252.

Buckwalter MR, Srivastava PK. "It is the antigen(s), stupid" and other lessons from over a decade of vaccitherapy of human cancer. *Seminars in immunology*. Outubro de 2008;20(5):296-300.

Baurain JF, Colau D, van Baren N, et al. High frequency of autologous anti-melanoma CTL directed against an antigen generated by a point mutation in a new helicase gene. *J Immunol*. 1 de junho de 2000;164(11):6057-6066.

Chiari R, Foury F, De Plaen E, Baurain JF, Thonnard J, Coulie PG. Two antigens recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a melanoma result from a single point mutation in an essential housekeeping gene. *Cancer Res*. 15

de novembro de 1999;59(22):5785-5792.

Huang J, El-Gamil M, Dudley ME, Li YF, Rosenberg SA, Robbins PF. T cells associated with tumor regression recognize frameshifted products of the CDKN2A tumor suppressor gene locus and a mutated HLA class I gene product. J Immunol. 15 de maio de 2004;172(10):6057-6064.

Karanikas V, Colau D, Baurain JF, et al. High frequency of cytolytic T lymphocytes directed against a tumor-specific mutated antigen detectable with HLA tetramers in the blood of a lung carcinoma patient with long survival. Cancer Res. 1 de maio de 2001;61(9):3718-3724.

Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, et al. The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. Proc Natl Acad Sci U S A. 1 de novembro de 2005;102(44):16013-16018.

Zorn E, Hercend T. A natural cytotoxic T cell response in a spontaneously regressing human melanoma targets a neoantigen resulting from a somatic point mutation. Eur J Immunol. Fevereiro de 1999;29(2):592-601.

Kannan S, Neelapu SS. Vaccination strategies in follicular lymphoma. Current hematologic malignancy reports. Outubro de 2009;4(4):189-195.

Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, et al. Phase I immunotherapeutic trial with long peptides spanning the E6 and E7 sequences of high-risk human papillomavirus 16 in

end-stage cervical cancer patients shows low toxicity and robust immunogenicity. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1 janeiro de 2008;14(1):169-177.

Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *The New England journal of medicine*. 5 de novembro de 2009;361(19):1838-1847.

Welters MJ, Kenter GG, Piersma SJ, et al. Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1 janeiro de 2008;14(1):178-187.

Lundegaard C, Lund O, Nielsen M. Prediction of epitopes using neural network based methods. *J Immunol Methods*. 30 de novembro de 2011;374(1-2):26-34.

Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 25 de março de 2011;331(6024):1565-1570.

Berger, M. et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations. *Nature* 485, 502-6 (2012).

Carter, SL. et al. Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat Biotechnol* 30, 413-21 (2012).

Chapman, M.A. et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 471, 467-72 (2011).

Cibulskis, K. et al. ContEst: estimating cross-contamination of human samples in next-generation sequencing data. *Bioinformatics* 27, 2601-2 (2011).

Cibulskis, K. et al. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *Nature Biotech* (2013) 10 de fevereiro. doi: 10.1038/nbt.2514. [publicado eletronicamente antes de impressão].

DeLuca, DS. et al. RNA-SeQC: RNA-seq metrics for quality control and process optimization. *Bioinformatics* 28, 1530-2 (2012).

DePristo, M. et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature Genetics* 43, 491-498 (2011).

Landau, DA. et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 152, 714-26 (2013).

Langmead, B. et al. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology* 10, R25 (2009).

Li, B. et al. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics* 12, 323 (2011).

Li, H. et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25, 2078-9 (2009).

Li H. e Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* 25, 1754-60 (2009).

McKenna, A. et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res* 20, 1297-303 (2010).

Robinson, JT. et al. Integrative genomics viewer. *Nature Biotech* 29, 24-26 (2011).

Stransky, N. et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science* 333, 1157-60 (2011).

Garraway, L.A. e Lander, E. S, Lessons from the cancer genome. *Cell*. **153**, 17-37 (2013).

Lundegaard, C. et al. Prediction of epitopes using neural network based methods. *J Immunol Methods*. 374, 26-34 (2011).

Sette, A. et al., The relationship between class I binding affinity and immunogenicity of potential cytotoxic T cell epitopes. *J Immunol*. 153, 5586-5592 (1994).

Lu, Y. C. et al., Mutated regions of nucleophosmin 1PPP1R3B Is Recognized by T Cells Used To Treat a Melanoma Patient Who Experienced a Durable Complete Tumor Regression. *J Immunol*. 190, 6034-6042 (2013).

Sykulev, Y. et al., Evidence that a single peptide-MHC complex on a target cell can elicit a cytolytic T cell response. *Immunity*. 4, 565-571 (1996).

Carter, S. L. et al., Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat. Biotechnology* 30: 413-21 (2012).

Sidney, J. et al., HLA class I supertypes: a revised and updated classification. *BMC Immunol.* 9, 1 (2008).

Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 489, 519-525 (2012).

Ding, L. et al., Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*. 455, 1069-1075 (2008).

Stransky, N. et al., The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science* 333, 1157-1160 (2011).

Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 487, 330-337 (2012).

Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*. 455, 1061-1068 (2008).

Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 474, 609-615 (30 de junho, 2011).

Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature*. 499, 43-49 (2013).

Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute

myeloid leukemia. N Engl J Med. 368, 2059-2074 (2013).

Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature. 490, 61-70 (2012).

Outras Formas de Realização

[00479] Da descrição anterior, será aparente que variações e modificações podem ser feitas à invenção aqui descrita para a adotar para várias utilizações e problemas de saúde. Tais formas de realização encontram-se também dentro do escopo das reivindicações que se seguem.

[00480] A recitação de uma listagem de elementos em qualquer definição de uma variável aqui inclui definições dessa variável como qualquer elemento ou combinação (ou sub-combinação) de elementos listados. A recitação de uma forma de realização aqui inclui essa forma de realização como qualquer forma de realização única ou em combinação com quaisquer outras formas de realização ou suas porções.

Incorporação por Referência

[00481] Todas as patentes e publicações mencionadas em esta especificação são aqui incorporadas por referência na mesma extensão como se cada patente e publicação independente fosse específica e individualmente indicada como estando incorporada por referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para a produção de uma vacina personalizada contra a neoplasia para um indivíduo diagnosticado como tendo uma neoplasia, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

identificar uma pluralidade de mutações na neoplasia;

analisar a pluralidade de mutações para identificar um subconjunto de pelo menos cinco mutações neo-antigênicas previstas para codificar peptídeos neo-antigênicos, as mutações neo-antigênicas selecionadas a partir do grupo consistindo de mutações de sentido trocado, mutações neoORF, ou qualquer combinação das mesmas; a referida análise compreendendo identificar mutações neo-antigênicas a partir da pluralidade de mutações identificadas na neoplasia e classificar as mutações neo-antigênicas previstas para codificar peptídeos neo-antigênicos em uma ordem decrescente de prioridade, a ordem compreendendo:

i. mutações neoORF previstas para codificar um polipeptídeo neoORF que se liga ao HLA do indivíduo com um Kd de ≤ 500 nM;

ii. mutações de sentido trocado previstas para codificar um polipeptídeo que se liga ao HLA do indivíduo com um Kd de ≤ 150 nM, em que a proteína cognata nativa tem um Kd de ≥ 1000 nM;

iii. mutações de sentido trocado previstas para codificar um polipeptídeo que se liga ao HLA do indivíduo com um Kd de \leq 150 nM, em que a proteína cognata nativa tem um Kd de \leq 150 nM;

iv. mutações neoORF previstas para codificar um polipeptídeo que se liga ao HLA do indivíduo com um Kd de $>$ 500 nM;

v. mutações de sentido trocado previstas para codificar um polipeptídeo que se liga ao HLA do indivíduo com um Kd de 150 nM a \leq 500 nM, em que a proteína cognata nativa tem um Kd de 150 a \leq 500 nM; e

produzir, com base no subconjunto selecionado, uma vacina personalizada contra neoplasia.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que identificar uma pluralidade de mutações na neoplasia compreende sequenciamento do genoma ou transcriptoma da neoplasia.

3. Método, de acordo com qualquer umas das reivindicações 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que a vacina personalizada contra neoplasia compreende pelo menos 10 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, ou a vacina personalizada contra neoplasia compreende uma ou mais moléculas de DNA capazes de expressar pelo menos 10 peptídeos

neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, ou a vacina personalizada contra neoplasia compreende uma ou mais moléculas de RNA capazes de expressar pelo menos 10 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

4. Método, de acordo com qualquer umas das reivindicações 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que:

a vacina personalizada contra neoplasia compreende pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, ou a vacina personalizada contra neoplasia compreende uma ou mais moléculas de DNA capazes de expressar pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, ou a vacina personalizada contra neoplasia compreende uma ou mais moléculas de RNA capazes de expressar pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas.

5. Método, de acordo com qualquer umas das reivindicações 3 ou 4, **caracterizado** pelo fato de que a vacina personalizada contra neoplasia compreende pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, e em que:

os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam de 5 a 50 aminoácidos de comprimento, ou os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam de 15 a 35 aminoácidos de comprimento,

ou os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam de 18 a 30 aminoácidos de comprimento, ou os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam de 6 a 15 aminoácidos de comprimento, ou os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos são de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, ou 25 aminoácidos de comprimento.

6. Método, de acordo com qualquer umas das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que a vacina personalizada contra neoplasia compreende um adjuvante.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que o adjuvante é selecionado do grupo que consiste em poli-ICLC, 1018 ISS, sais de alumínio, Amplivax, AS15, BCG, CP-870, 893, CpG7909, CyaA, dSLIM, GM-CSF, IC30, IC31, Imiquimod, ImuFact IMP321, IS Patch, ISS, ISCOMATRIX, Juvlmmune, LipoVac, MF59, monofosforil lipídio A, Montanide IMS 1312, Montanide ISA 206, Montanide ISA 50V, Montanide ISA-51, OK-432, OM-174, OM-197-MP-EC, ONTAK, PepTel.RTM, sistema vetor, micropartículas PLGA, resiquimod, SRL172, Virossomas e outras partículas semelhantes a vírus, YF-17D, armadilha de VEGF, R848, beta-glucano, Pam3Cys, QS21 stimulon de Alquila, vadimezan, e AsA404 (DMXAA).

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato que o adjuvante é poli-ICLC.

9. Uso da vacina personalizada contra neoplasia preparada pelo método conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, o referido uso **caracterizado** pelo fato de que é para a fabricação de uma vacina personalizada para tratar neoplasia.

10. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado** pelo fato de que a fabricação compreende:

dividir a vacina produzida em dois ou mais subconjuntos;

e opcionalmente:

em que cada um dos subconjuntos compreende peptídeos neo-antigênicos de modo que um número de peptídeos individuais no subconjunto que alveja um único HLA de paciente seja um, ou o menor número possível acima de um.

11. Uso, de acordo com qualquer um das reivindicações 9 ou 10, **caracterizado** pelo fato de que a vacina personalizada contra neoplasia compreende pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos correspondendo às mutações neo-antigênicas, em que os pelo menos 20 peptídeos neo-antigênicos variam de 18 a 30 aminoácidos de comprimento, em que a fabricação compreende dividir a vacina produzida em dois ou mais subconjuntos, em que cada subconjunto compreende pelo menos cinco peptídeos neo-antigênicos selecionados para otimizar interações intra-conjuntos;

e opcionalmente:

em que a otimização compreende a redução de interações negativas entre peptídeos neo-antigênicos no mesmo conjunto.

12. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 9 a 11, **caracterizado** pelo fato de que a fabricação compreende fornecer uma vacina de célula dendrítica (DC), em que a DC é carregada com uma ou mais das pelo menos 5 mutações neo-antigênicas previstas para codificar peptídeos neo-antigênicos expressos.

13. Vacina personalizada contra neoplasia **caracterizada** pelo fato de é preparada por método conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8.

14. Vacina personalizada contra neoplasia, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizada** pelo fato de que é para uso conforme definido em qualquer uma das reivindicações 9 a 12.

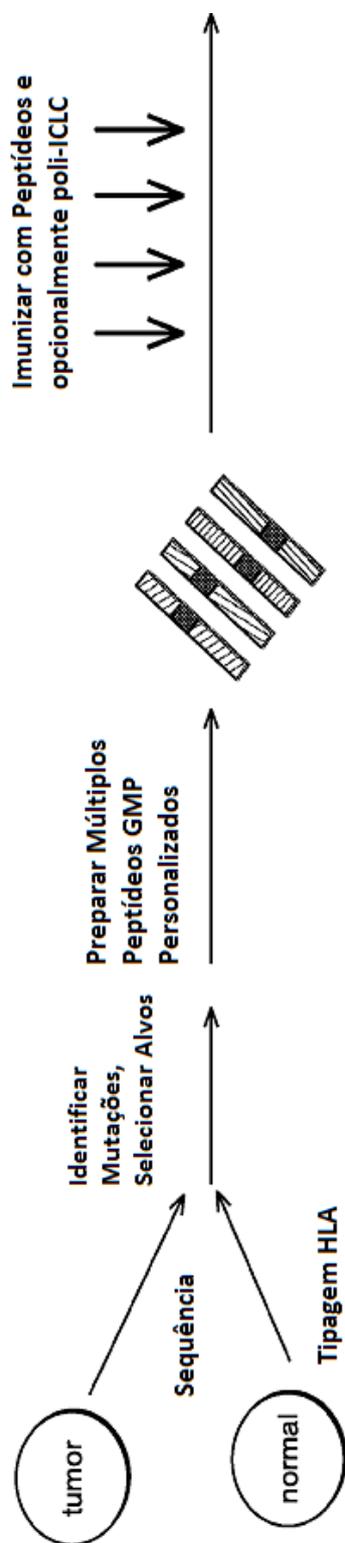


FIG. 1

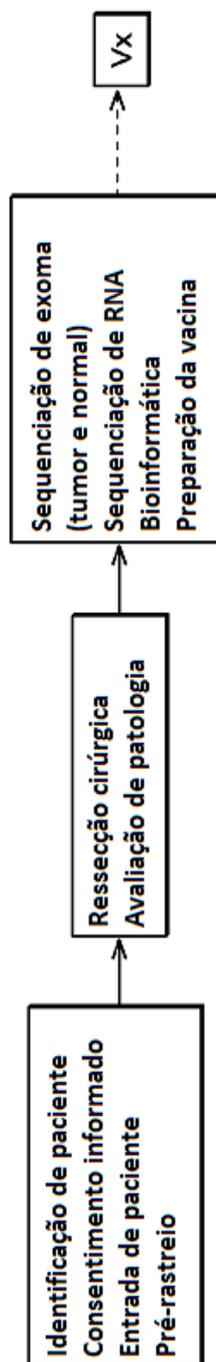


FIG. 2

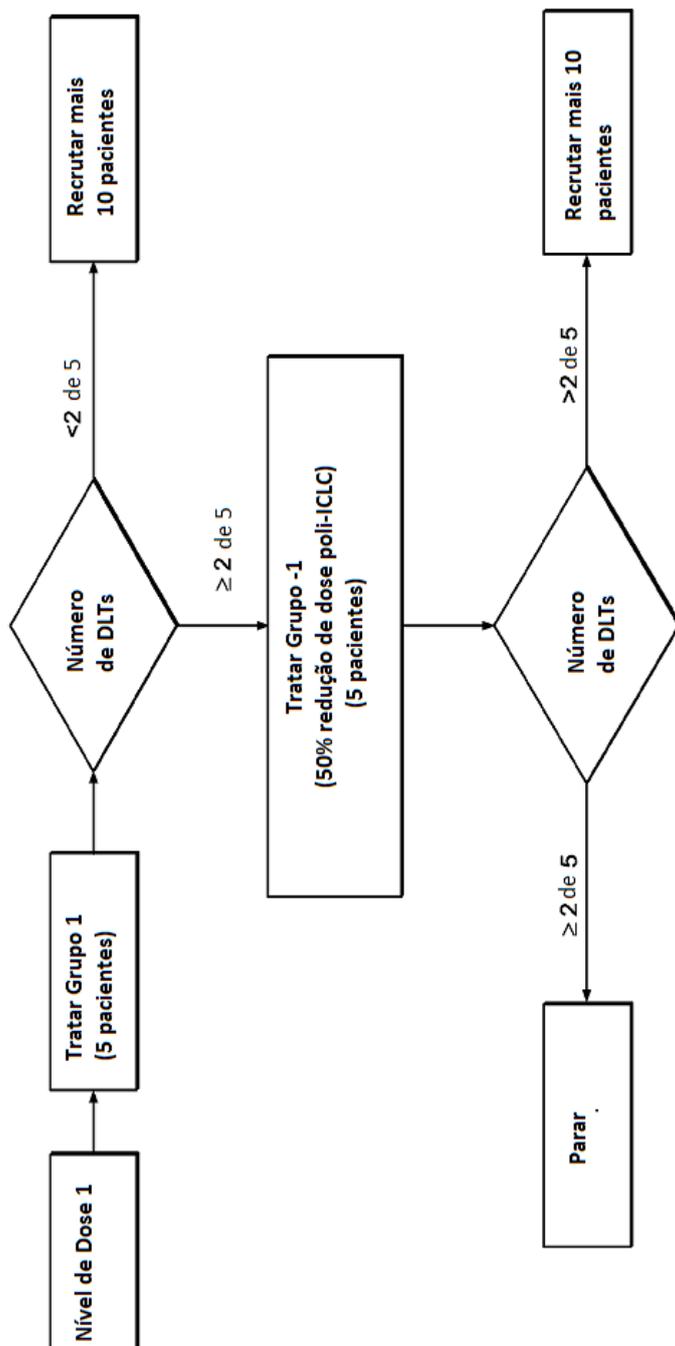


FIG. 3

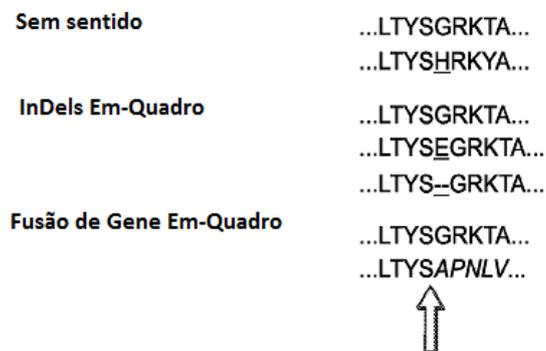


FIG. 4A

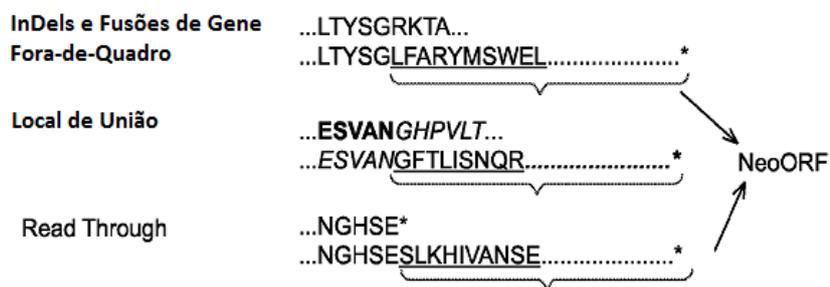


FIG. 4B

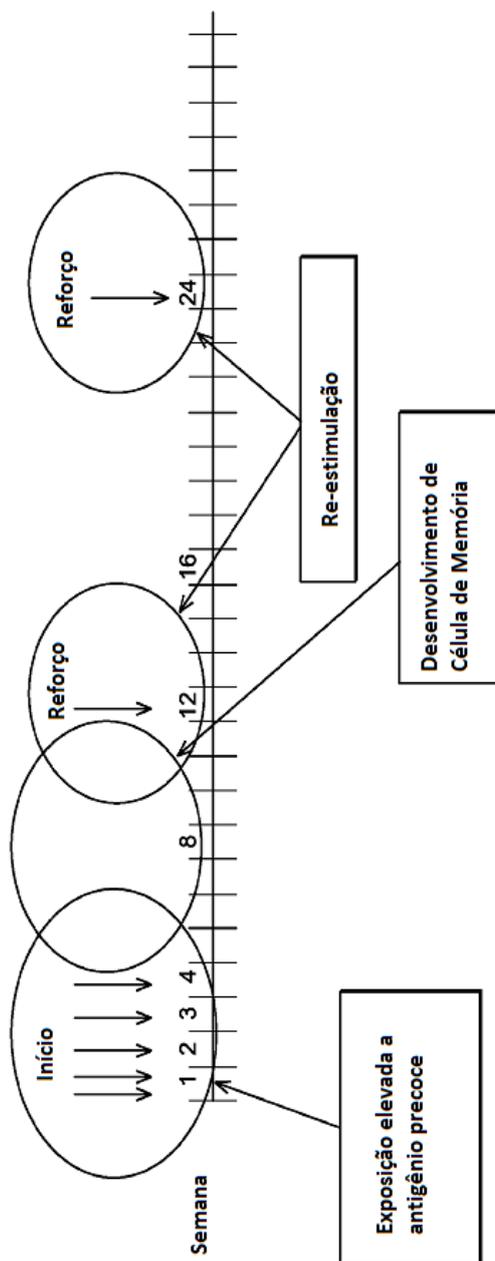


FIG. 5

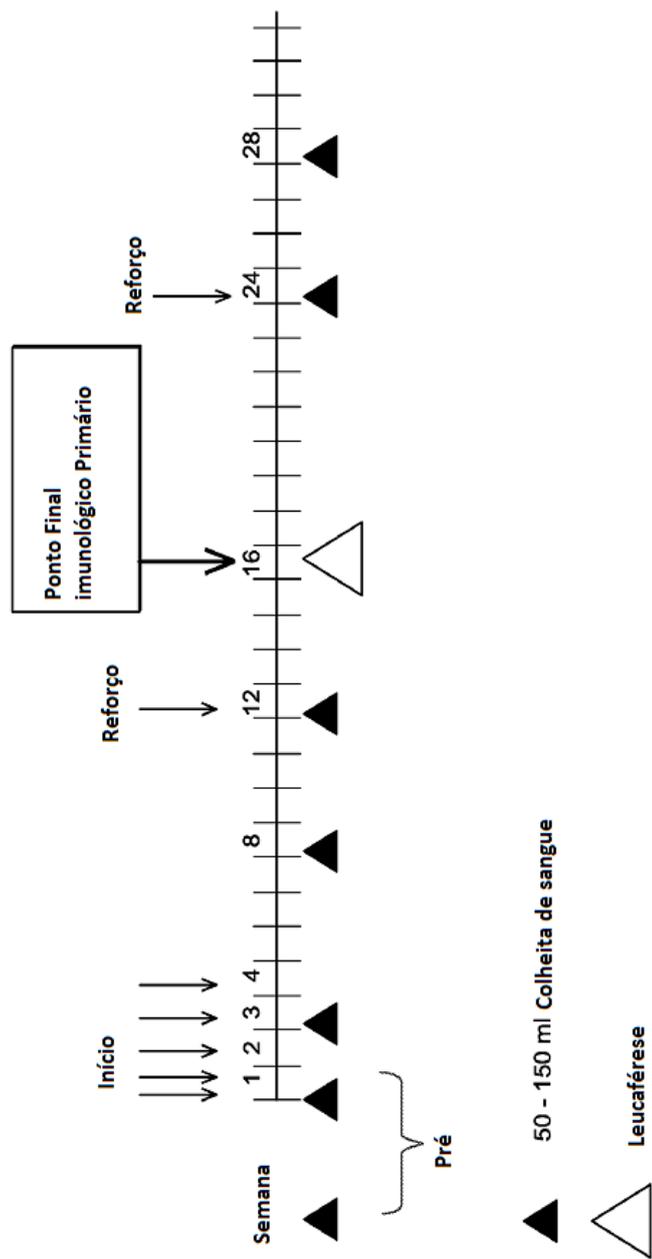


FIG. 6

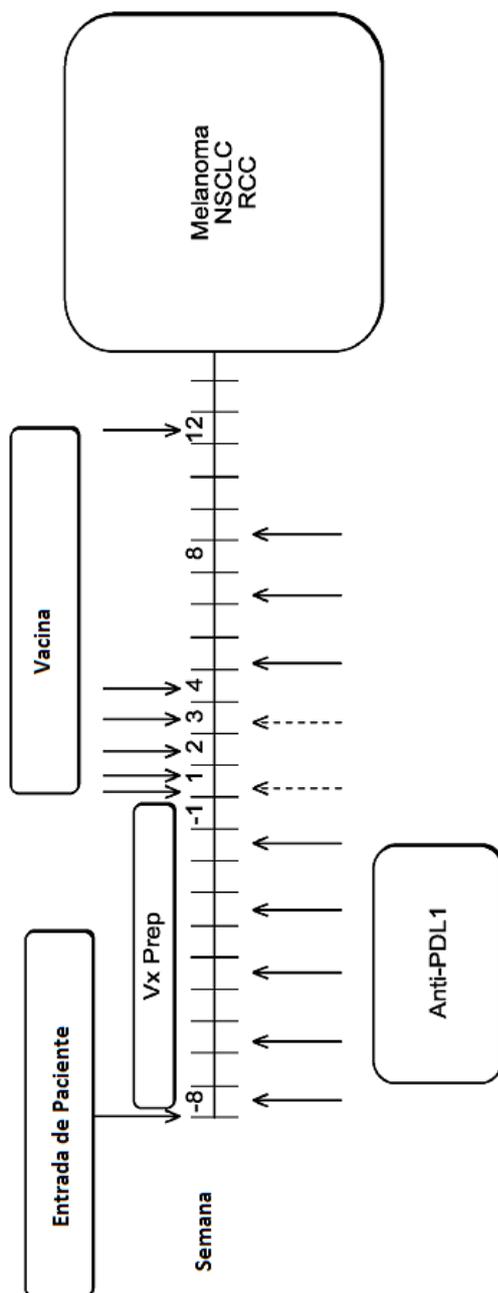


FIG. 7

CATEGORIA	TIPO DE MUTAÇÃO	PEPTÍDEO MUTANTE KD	PEPTÍDEO NATIVO KD	NÍVEL DE RNA
1	NeoORF	≤ 500 nM	NA	H/M/L/-
2	Sem sentido	≤ 150 nM	≥ 1000 nM	H/M/L
3	Sem sentido	≤ 150 nM	≤ 150 nM	H/M/L
4	NeoORF	>500 nM	NA	H/M/L
5	Sem sentido	150 - ≤ 500 nM	150 - ≤ 500 nM	H/M/L

FIG. 8

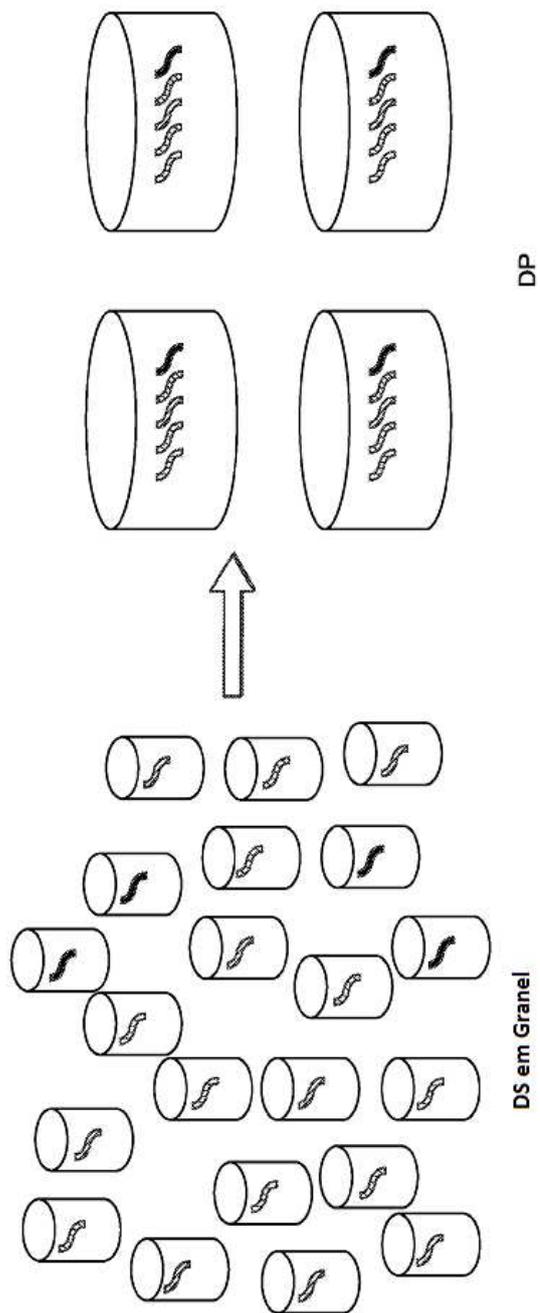


FIG. 9

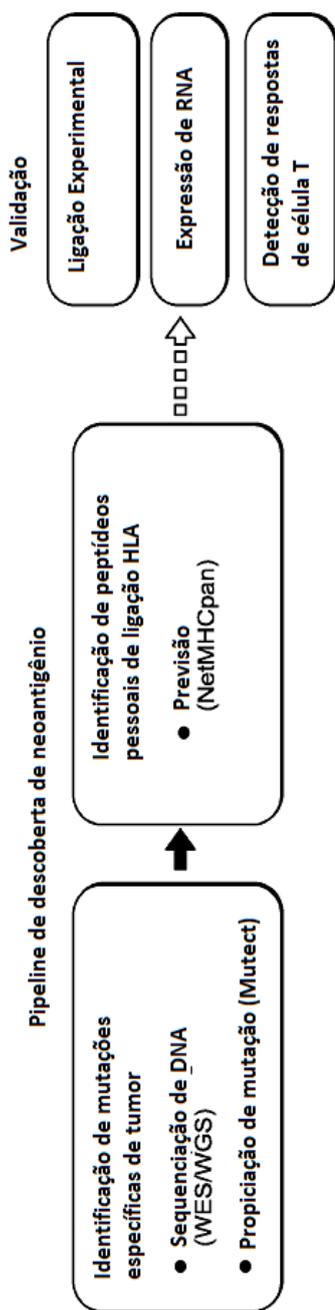


FIG. 10

Mutação sem sentido

DNA	WT: CTTGATCGGATCGTAGCTACG Mut: CTTGA <u>A</u> CGGATCGTAGCTACG
a.a.	WT: LDRIVAT Mut: L <u>E</u> RIVAT

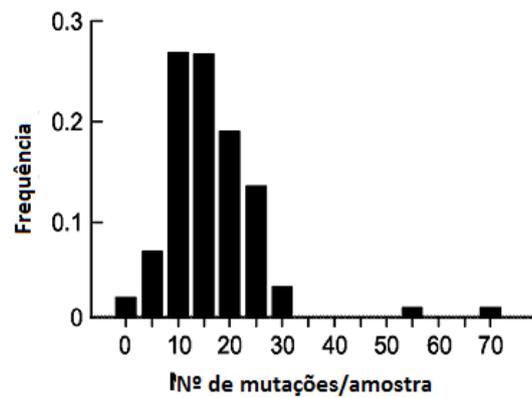


FIG. 11A

Mutações de deslocamento de quadro de leitura

Deleção ou inserção



WT: LTYSGRKTA
Mut: LYSGLFARYMSWEL*

Neo ORF

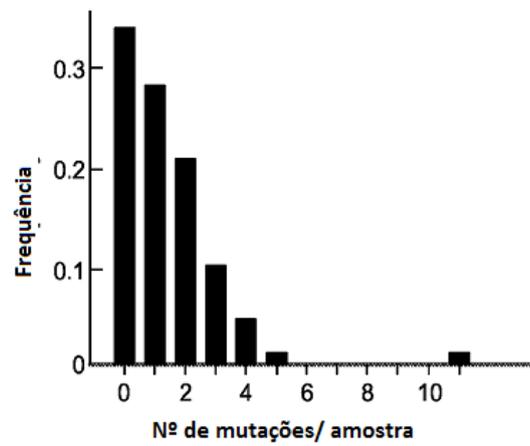


FIG. 11B

Mutações de local de união

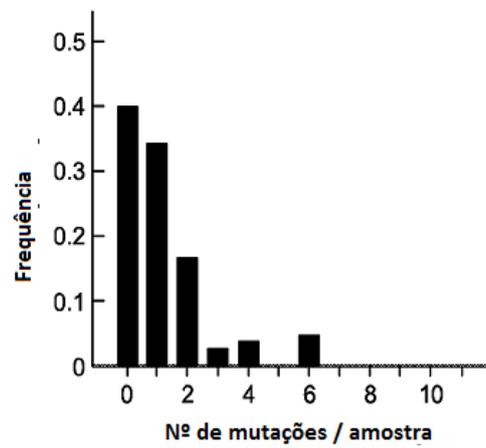
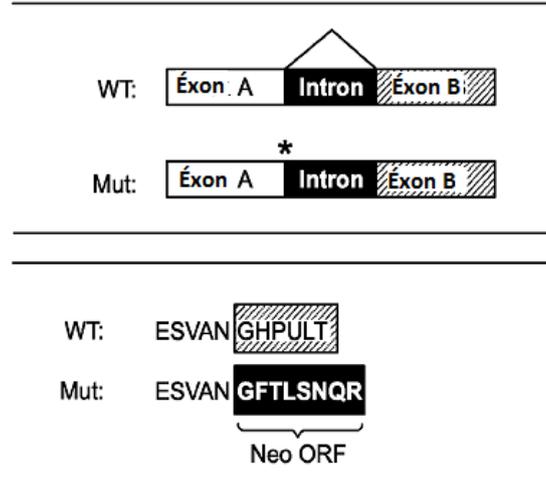


FIG. 11C

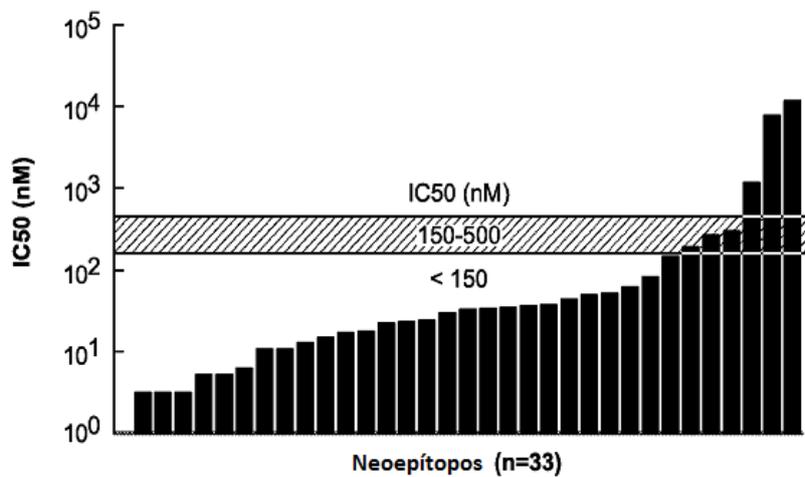


FIG. 12A

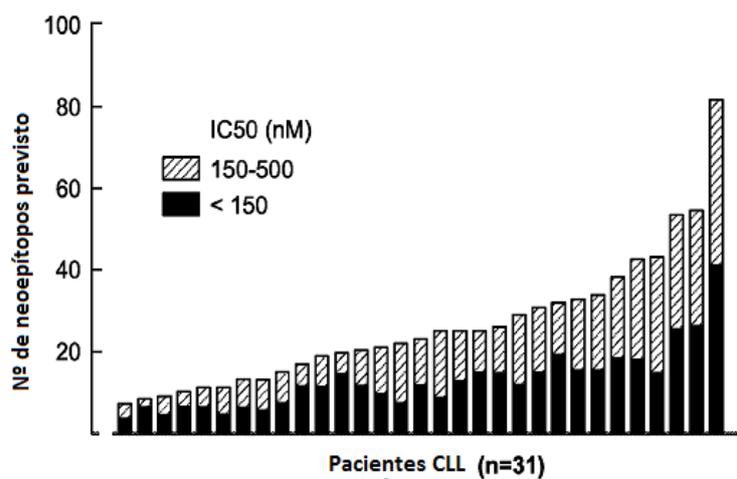


FIG. 12B

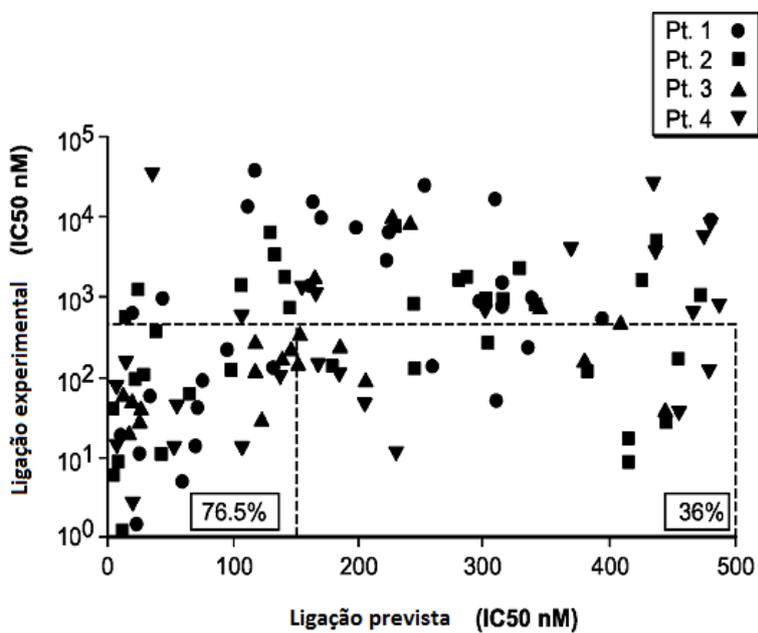


FIG. 12C

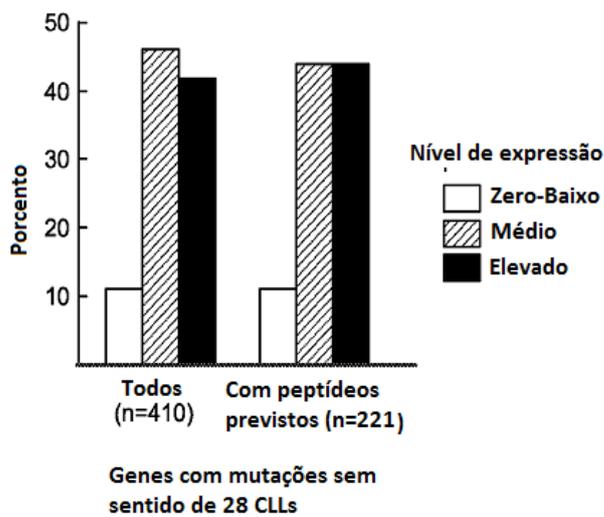


FIG. 12D

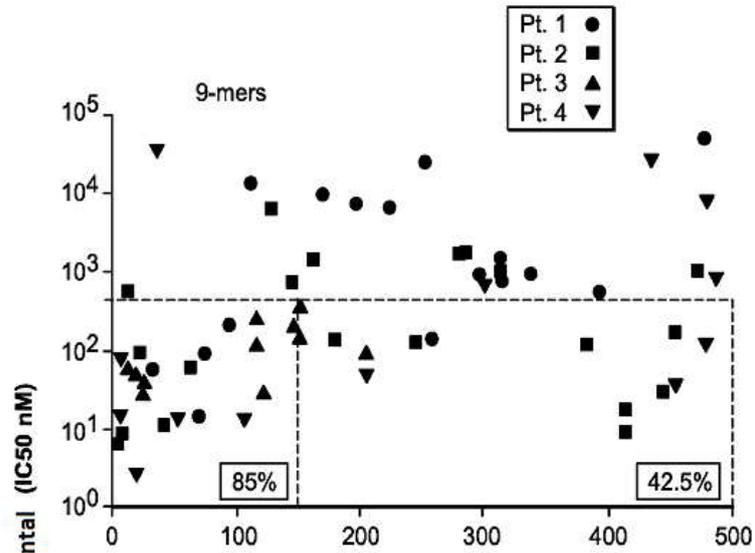


FIG. 13A

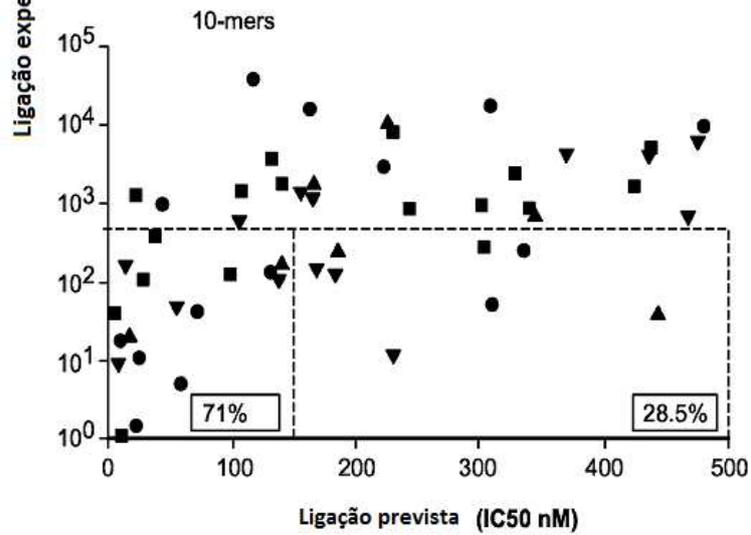


FIG. 13B

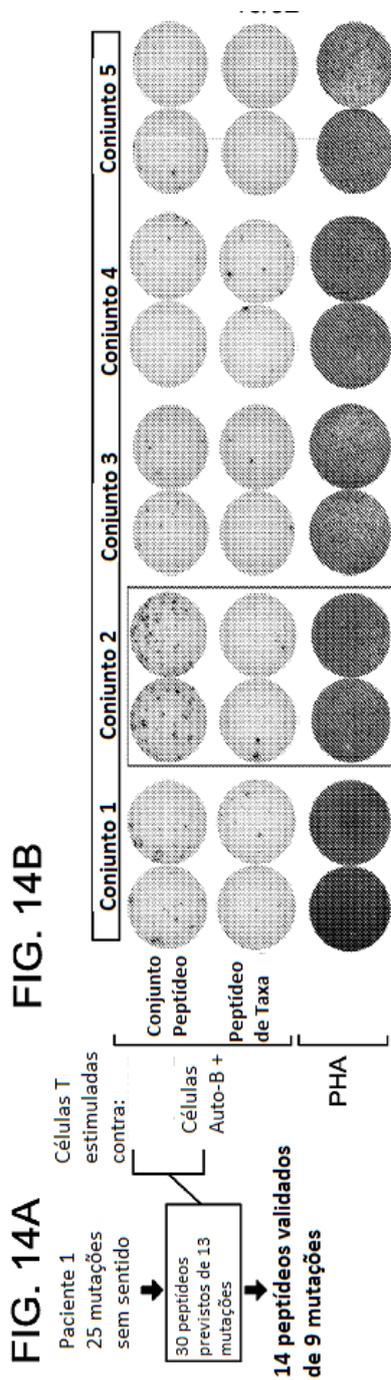
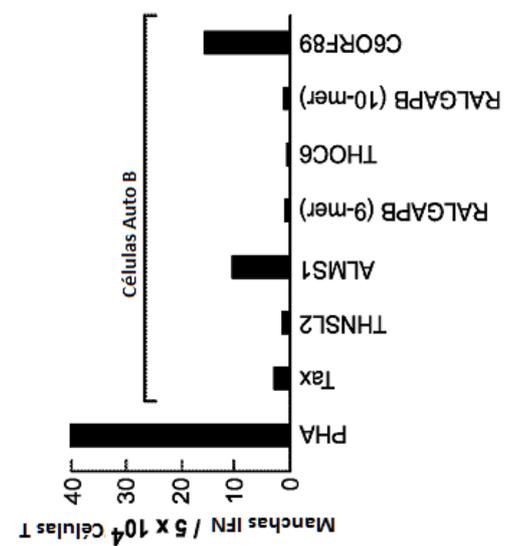


FIG. 14C



	IC50 previsto	IC50 Experimental
<i>C6ORF89</i> (HLA-B*35:01)		
WT: (MPIEPGDIG N)	2.75	1.7
Mut: (MPIEPGDIG G)	132.41	131
<i>ALMS1</i> (HLA-B*35:01)		
WT: (TPTVPS C SF)	89.33	666
Mut: (TPTVPS S SF)	75.28	91

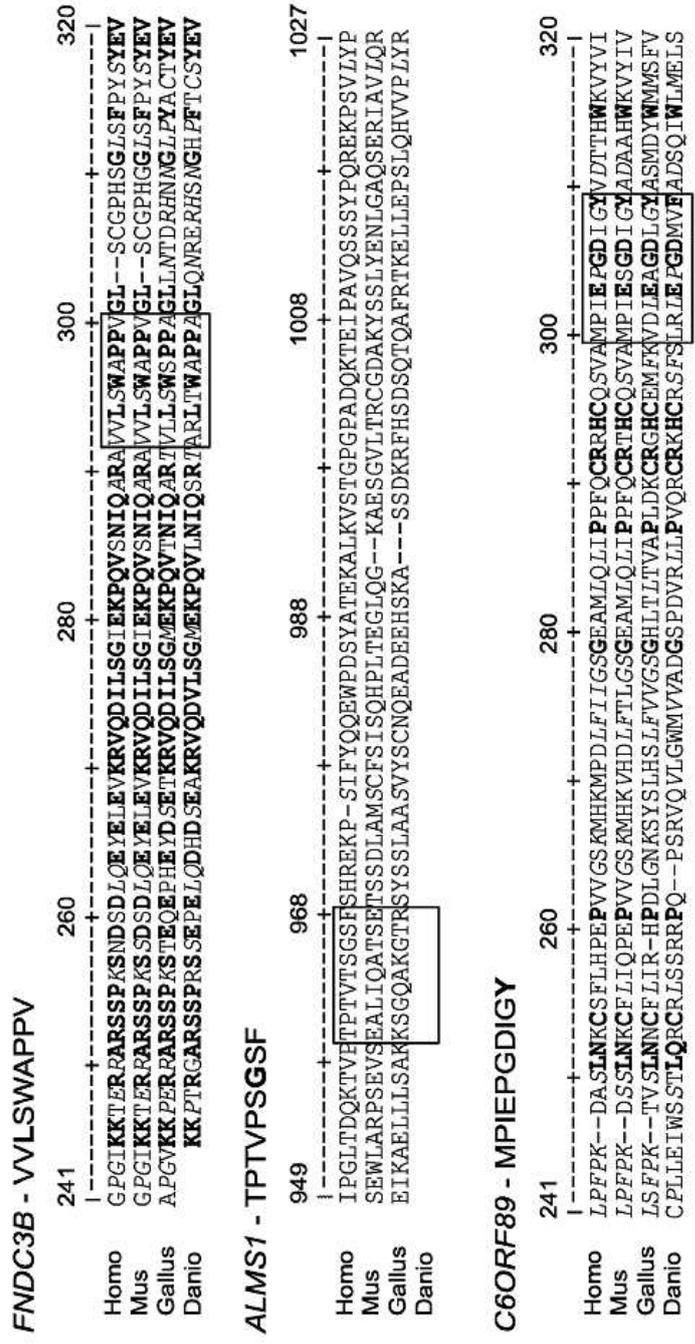


FIG. 15

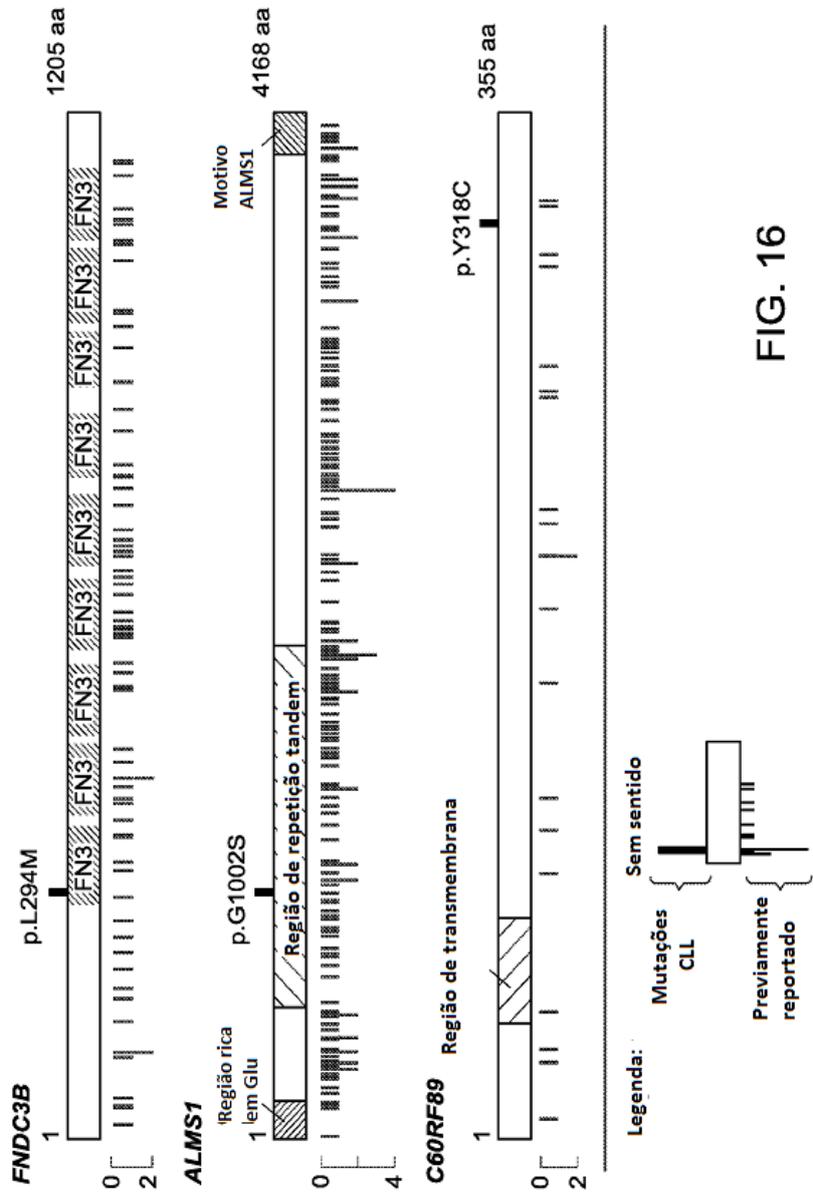


FIG. 16

FIG. 17A

Células T
estimuladas
contra:

Paciente 2

26 mutações
sem sentido

37 peptídeos
validados de 16
mutações

18 peptídeos
validados de 12
mutações

Células
Auto B +

PHA

FIG. 17B

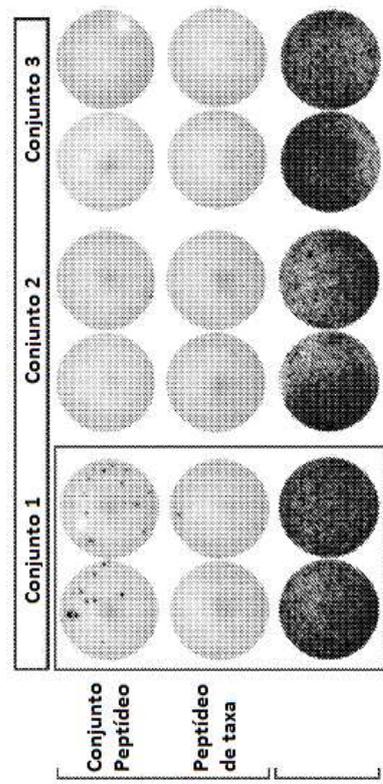
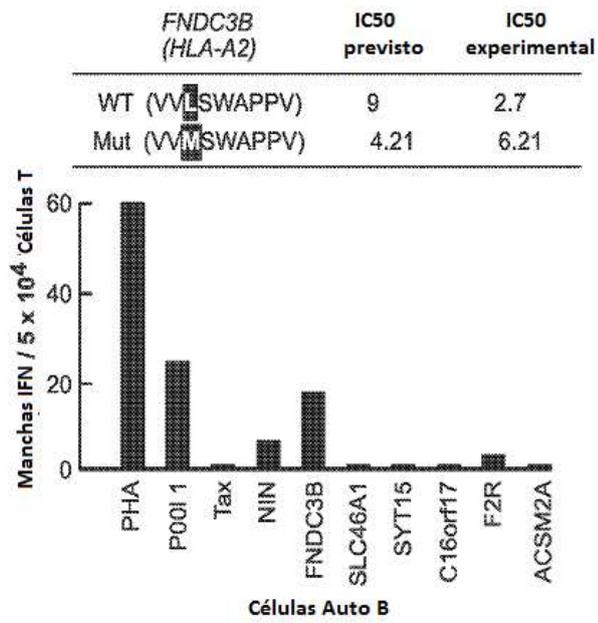


FIG. 17C



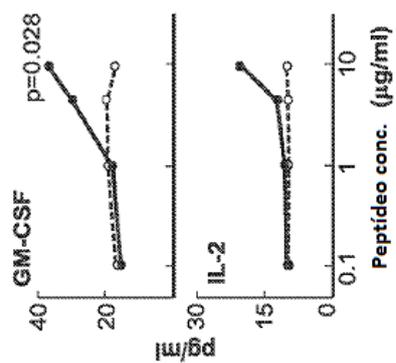
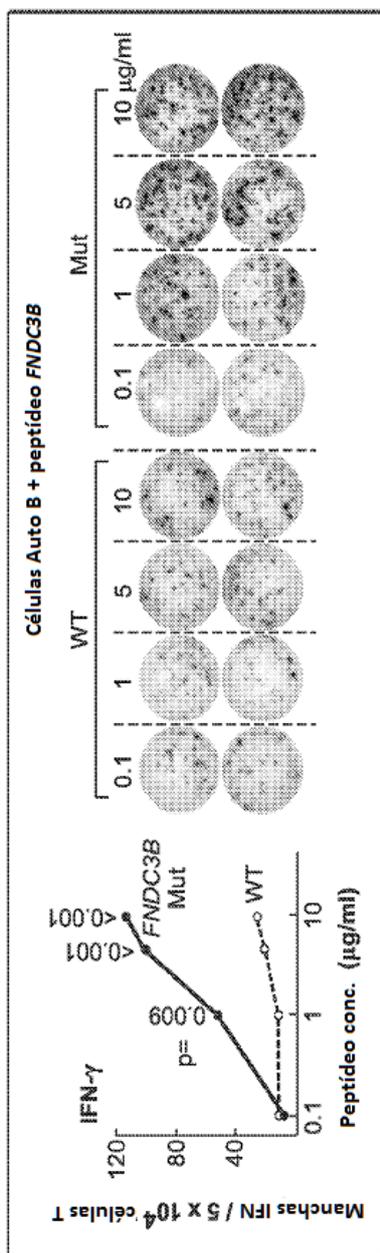


FIG. 17D

FIG. 17E

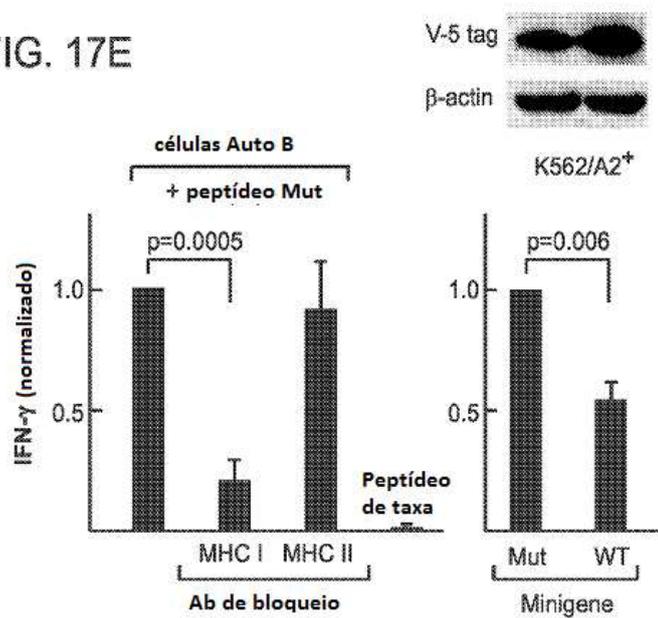


FIG. 17F

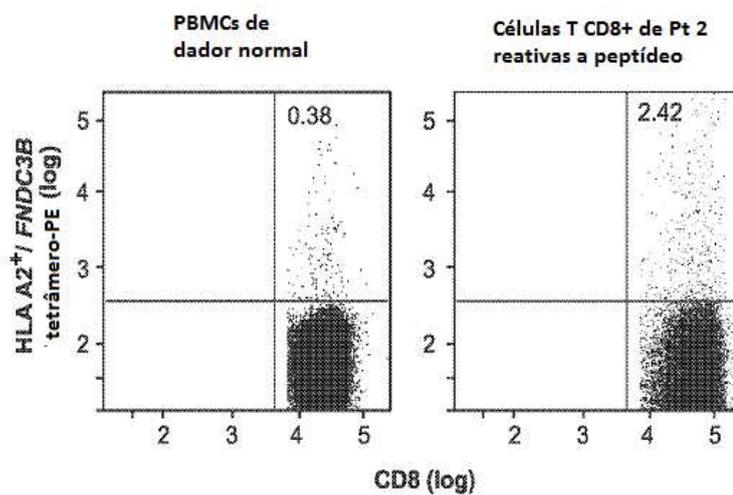
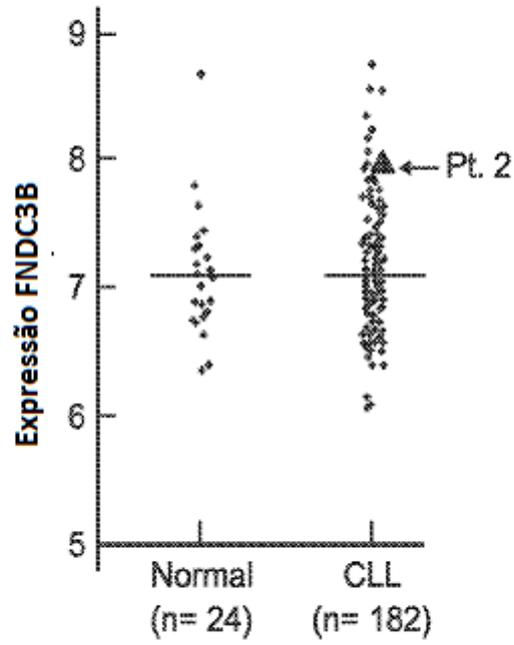


FIG. 17G



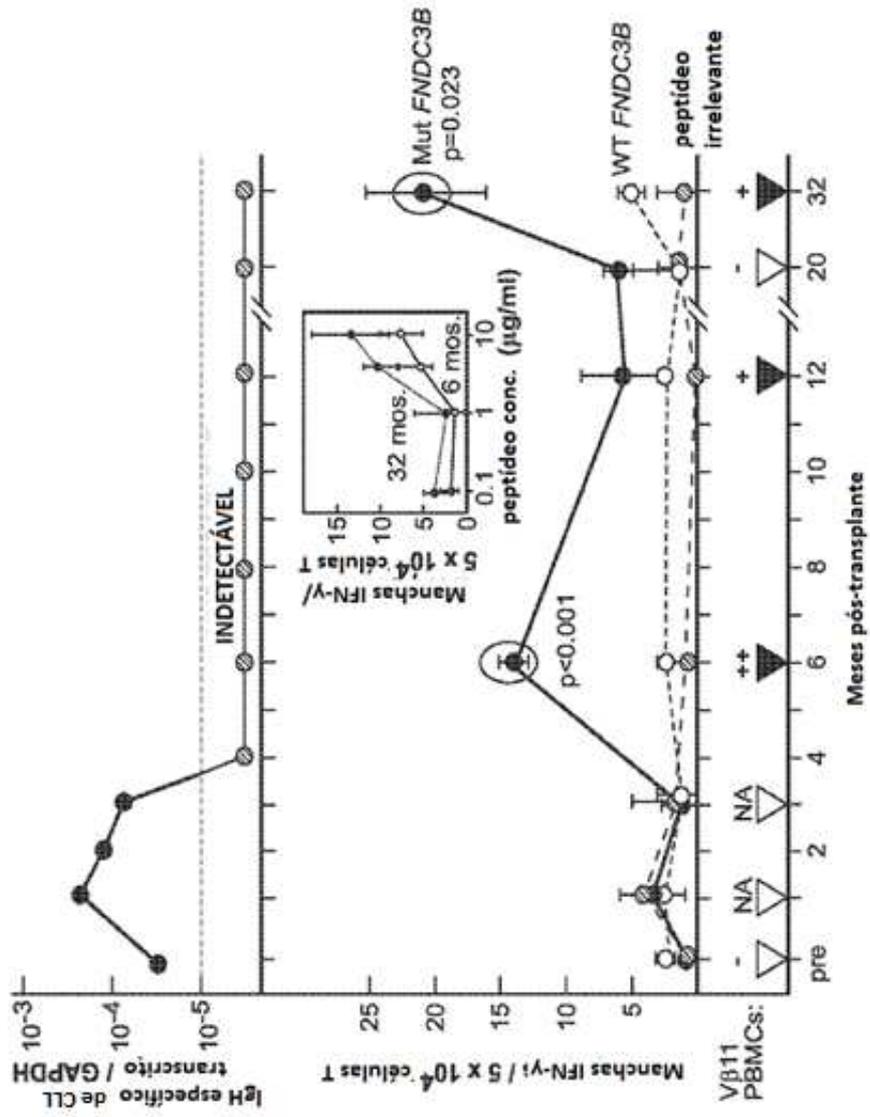


FIG. 18

FIG. 19A

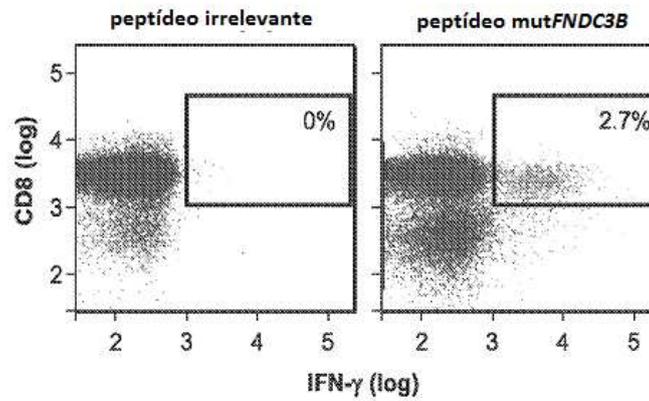


FIG. 19B

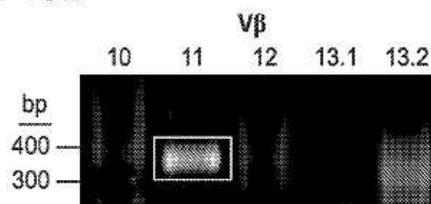
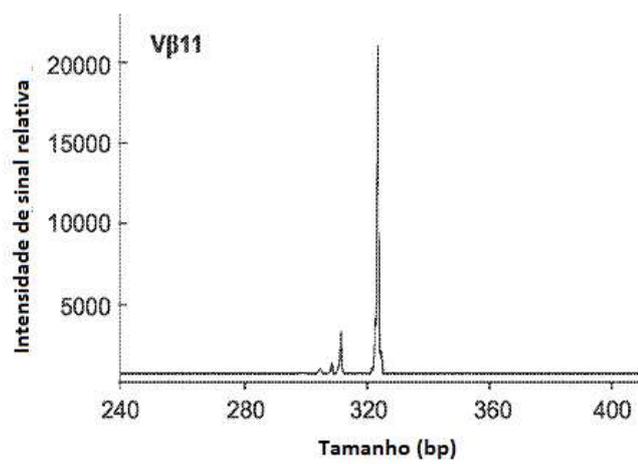


FIG. 19C

v β 11

CAAGGCTTGACGACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGC
 AGCTTAG N1 | D | N2 | CTACGA
 GCAGTAC | J | C |

FIG. 19D



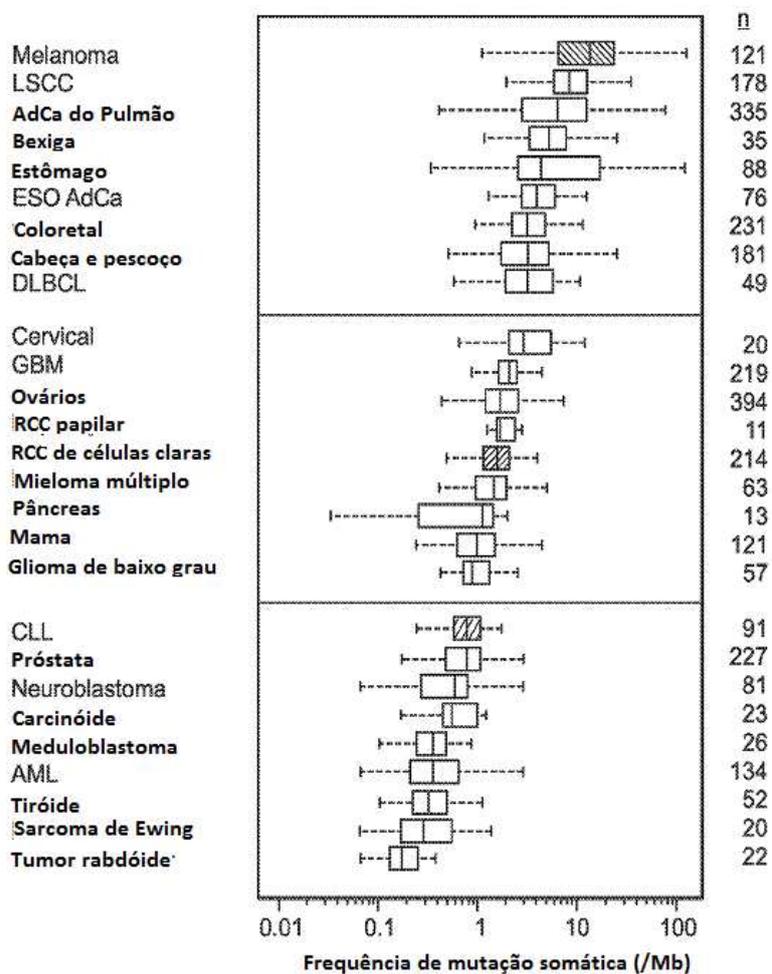
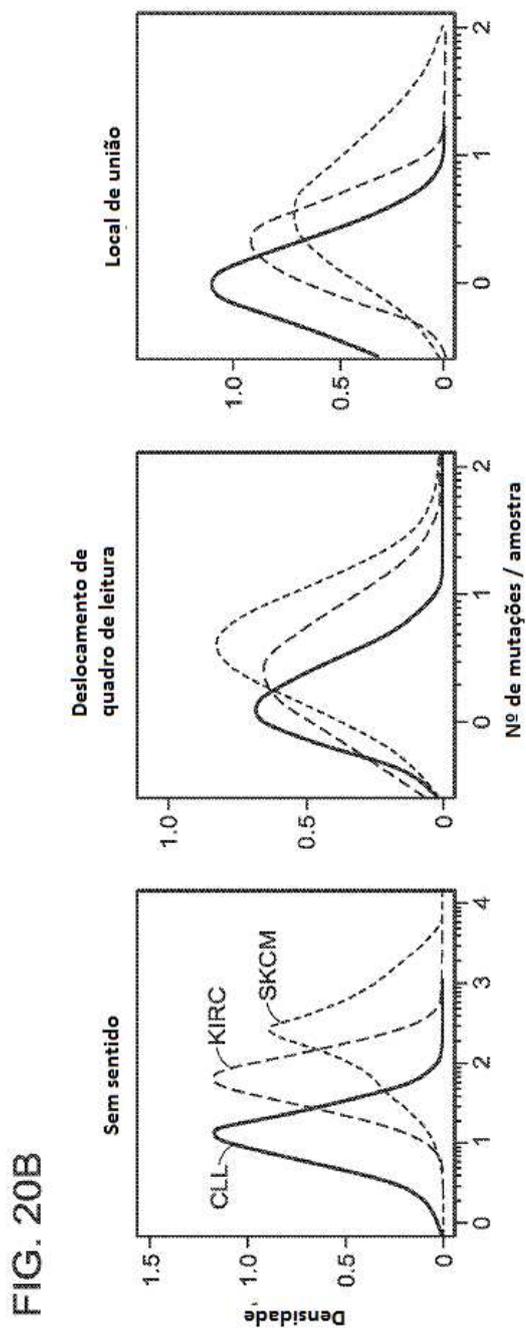


FIG. 20A



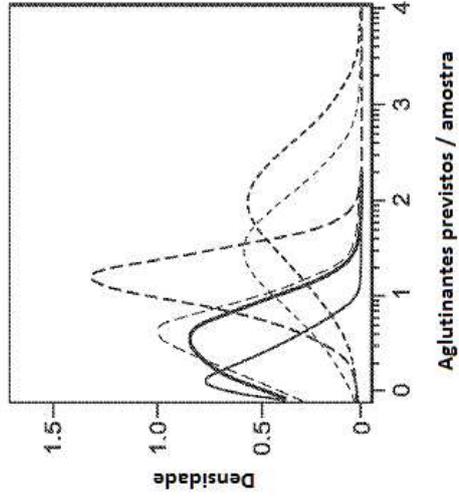


FIG. 20D

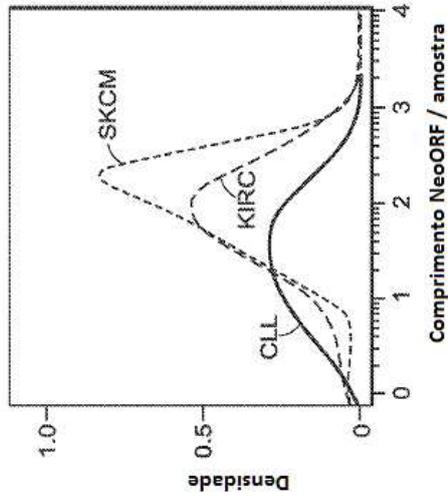


FIG. 20C

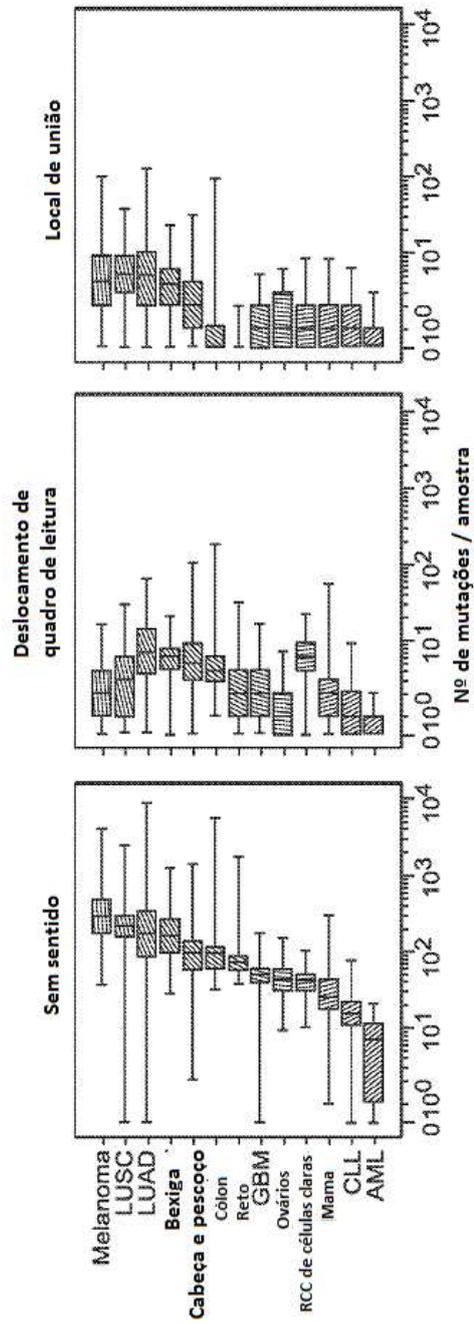


FIG. 20E

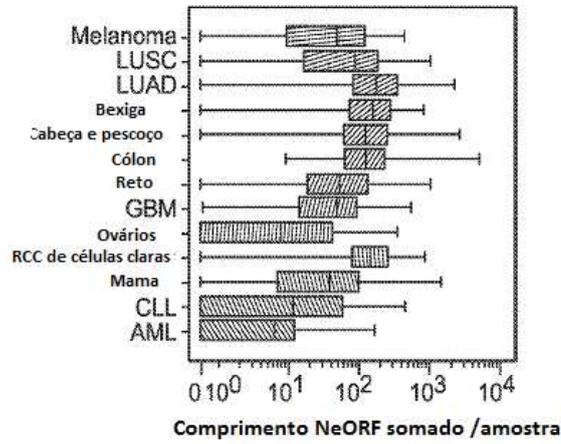


FIG. 20F

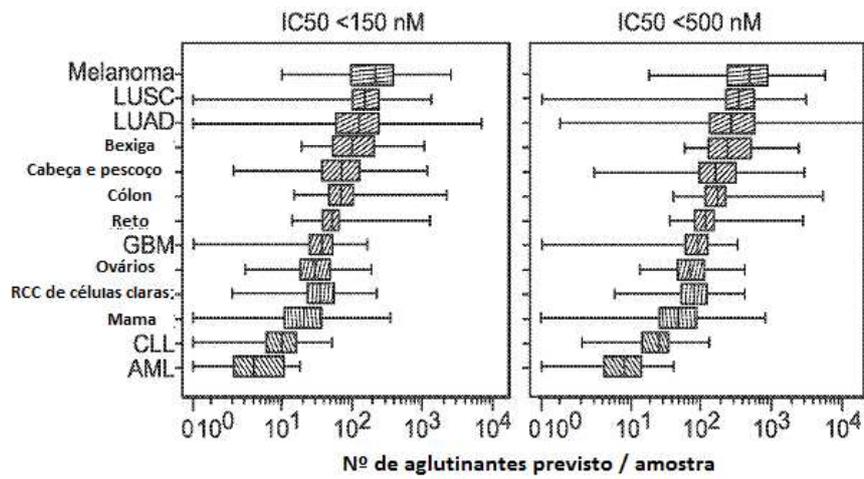


FIG. 20G