

REIVINDICACIONES

1. Un péptido CARACTERIZADO PORQUE comprende una secuencia de aminoácidos que se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114, y secuencias variantes de las mismas que son por lo menos 88% homólogas a SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114; y una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, en donde dicho péptido no es un polipéptido de longitud completa.

2. El péptido de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE dicho péptido tiene la capacidad de unirse a una molécula de MHC de clase I o II, y en donde dicho péptido, cuando se une a dicha MHC, es capaz de ser reconocido por las células T CD4 y/o CD8, y en donde dicha variante se une a una o más moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y/o induce la reactividad cruzada de las células T con dicho péptido variante.

3. El péptido o variante del mismo de acuerdo a la reivindicación 1 o 2, CARACTERIZADO PORQUE la secuencia de aminoácidos del mismo comprende un tramo continuo de aminoácidos de acuerdo a cualquiera de SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114.

4. El péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, CARACTERIZADO PORQUE dicho péptido o variante del mismo tiene una longitud total de entre 8 y 100, preferiblemente entre 8 y 30, y más preferiblemente entre 8 y 16 aminoácidos, y más preferiblemente en donde el péptido consiste o consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos de acuerdo a cualquiera de SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114.

5. El péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE dicho péptido se modifica y/o incluye enlaces no peptídicos.

6. El péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO PORQUE dicho péptido es parte de una proteína de fusión, en particular que comprende aminoácidos N-terminales de la cadena invariante (Ii) asociada a antígeno de HLA-DR.

7. Un ácido nucleico, CARACTERIZADO PORQUE codifica para un péptido o

variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, opcionalmente conectado a una secuencia promotora heteróloga.

8. Un vector de expresión CARACTERIZADO PORQUE es capaz de expresar el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 7.

9. Una célula huésped recombinante CARACTERIZADA PORQUE comprende el péptido de acuerdo a la reivindicación 1 a 6, el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 7 o el vector de expresión de acuerdo a la reivindicación 8, en donde dicha célula huésped preferiblemente es una célula presentadora de antígeno tal como una célula dendrítica.

10. El péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 7, el vector de expresión de acuerdo a la reivindicación 8, o la célula huésped de acuerdo a la reivindicación 9 CARACTERIZADOS PORQUE son para usar en medicina.

11. Un método para producir el péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende cultivar la célula huésped de acuerdo a la reivindicación 9 que presenta el péptido de acuerdo a la reivindicación 1 a 6, o expresa el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 7 o porta el vector de expresión de acuerdo a la reivindicación 8, y aislar el péptido o variante del mismo de la célula huésped o su medio de cultivo.

12. Un método in vitro para producir linfocitos T activados, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende poner en contacto in vitro células T con moléculas MHC de clase I o II humanas cargadas con antígeno expresadas sobre la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o una construcción artificial que imita una célula presentadora de antígeno durante un periodo de tiempo suficiente para activar a dichas células T de una forma específica de antígeno, en donde dicho antígeno es un péptido de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

13. Un linfocito T activado, producido por el método de acuerdo a la reivindicación 12, CARACTERIZADO PORQUE reconoce selectivamente a una célula que presenta un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

14. Un método para matar células blanco en un paciente cuyas células blanco presentan un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende administrar al paciente un número eficaz de células T activadas como se define en la reivindicación 13.

15. Un anticuerpo, en particular un anticuerpo soluble o unido a membrana, CARACTERIZADO PORQUE reconoce específicamente el péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente el péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 cuando está unido a una molécula MHC en donde el anticuerpo porta una función efectora adicional tal como un dominio o toxina de estimulación inmune.

16. El anticuerpo de acuerdo a la reivindicación 15, CARACTERIZADO PORQUE el anticuerpo porta una función efectora adicional tal como un dominio o toxina de estimulación inmune

17. Uso de un péptido de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 7, el vector de expresión de acuerdo a la reivindicación 8, la célula de acuerdo a la reivindicación 9, el linfocito T activado de acuerdo a la reivindicación 13 o el anticuerpo de acuerdo a la reivindicación 15 CARACTERIZADOS PORQUE son para el tratamiento de cáncer o en la fabricación de un medicamento contra el cáncer.

18. El uso de acuerdo a la reivindicación 16, CARACTERIZADO PORQUE dicho cáncer se elige del grupo de cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer hepático, cáncer pancreático, cáncer de próstata, leucemia, cáncer de mama, melanoma, cáncer ovárico, y cáncer esofágico y otros tumores que muestran una sobreexpresión de la que deriva el péptido de SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114.

19. Un conjunto de componentes CARACTERIZADO PORQUE comprende:

(a) un recipiente que comprende una composición farmacéutica que contiene el o los péptidos o la variante de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el o los ácidos nucleicos de acuerdo a la reivindicación 7, el o los vectores de expresión de

acuerdo a la reivindicación 8, la o las células de acuerdo a la reivindicación 10, el o los linfocitos T activados de acuerdo a la reivindicación 13 o el anticuerpo de acuerdo a la reivindicación 15, en solución o en forma liofilizada;

(b) opcionalmente, un segundo recipiente que contiene un diluyente o solución de reconstitución para la formulación liofilizada;

(c) opcionalmente, por lo menos uno o más péptidos que se eligen del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151, y

(d) opcionalmente, instrucciones para (i) el uso de la solución o (ii) la reconstitución y/o el uso de la formulación liofilizada.

20. El conjunto de componentes de acuerdo a la reivindicación 18, CARACTERIZADO PORQUE además comprende uno o más de (iii) una solución amortiguadora, (iv) un diluyente, (v) un filtro, (vi) una aguja, o (v) una jeringa.

21. El conjunto de componentes de acuerdo a la reivindicación 18 o 19, CARACTERIZADO PORQUE dicho péptido se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114.

22. Un método para producir una vacuna anticáncer personalizada, CARACTERIZADO PORQUE dicho método comprende:

a) identificar péptidos asociados a tumor (TUMAP) presentados por una muestra tumoral a partir de dicho paciente individual;

b) comparar los péptidos identificados en a) con un depósito de péptidos que se han precibado para inmunogenicidad y/o sobrerepresentación en tumores en comparación con tejidos normales

c) seleccionar por lo menos un péptido a partir del depósito que coincide con un TUMAP identificado en el paciente; y

d) formular la vacuna personalizada o terapia basada en compuesto o celular en base al paso c).

23. El método de acuerdo a la reivindicación 21, CARACTERIZADO PORQUE dichos TUMAP se identifican mediante las acciones de:

a1) comparar los datos de expresión de la muestra tumoral con los datos de expresión a partir de una muestra de tejido normal que corresponde al tipo de tejido de la

muestra tumoral para identificar proteínas que se sobreexpresan o se expresan aberrantemente en la muestra tumoral; y

a2) correlacionar los datos de expresión con secuencias de ligandos de MHC unidos a las moléculas de MHC de clase I y/o clase II en la muestra tumoral para identificar ligandos de MHC derivados de proteínas sobreexpresadas o expresadas aberrantemente por el tumor.

24. El método de acuerdo a la reivindicación 21 o 22, CARACTERIZADO PORQUE las secuencias de los ligandos de MHC se identifican por elusión de los péptidos unidos a partir de moléculas MHC aisladas de la muestra tumoral, y secuenciar los ligandos eluidos.

25. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 21 a 23, CARACTERIZADO PORQUE el tejido normal que corresponde al tipo de tejido de la muestra tumoral se obtiene a partir del mismo paciente.

26. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 21 a 24, CARACTERIZADO PORQUE los péptidos incluidos en el depósito se identifican en base a los siguientes pasos:

aa. llevar a cabo un análisis de expresión de ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) de genoma completo por métodos altamente paralelos, tales como microarreglos o perfilamiento de expresión basado en secuenciación, que comprenden identificar genes que se sobreexpresan en un tejido maligno, en comparación con un tejido o con tejidos normales;

ab. seleccionar los péptidos codificados por genes expresados o sobreexpresados selectivamente detectados en el paso aa, y

ac. determinar una inducción de respuestas de células T in vivo mediante los péptidos seleccionados por métodos que comprenden ensayos de inmunogenicidad in vitro usando células T humanas a partir de donantes sanos o dicho paciente; o

ba. identificar ligandos de HLA a partir de dicha muestra tumoral usando espectrometría de masa;

bb. llevar a cabo un análisis de expresión de ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) de genoma completo por métodos altamente paralelos, tales como microarreglos

o perfilamiento de expresión basado en secuenciación, que comprenden identificar genes que se sobreexpresan en tejidos malignos, en comparación con un tejido o con tejidos normales;

bc. comparar los ligandos de HLA identificados con dichos datos de expresión génica;

bd. seleccionar péptidos codificados por genes expresados o sobreexpresados selectivamente detectados en el paso bc;

be. detectar nuevamente los TUMAP seleccionados a partir del paso bd en tejido tumoral y con falta de detección o con detección infrecuente en tejidos sanos y confirmar la relevancia de la sobreexpresión a nivel de ARNm; y

bf. determinar una inducción de respuestas de células T *in vivo* mediante los péptidos seleccionados por métodos que comprenden ensayos de inmunogenicidad *in vitro* usando células T humanas a partir de donantes sanos o de dicho paciente.

27. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, CARACTERIZADO PORQUE la inmunogenicidad de los péptidos incluidos en el depósito se determina mediante un método que comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro*, inmunomonitorio del paciente para unión de HLA individuales, tinción multimérica de MHC, ensayos ELISPOT y/o tinción de citoquinas intracelulares.

28. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 21 a 26, CARACTERIZADO PORQUE dicho depósito comprende una pluralidad de péptidos que se seleccionan del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151.

29. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 21 a 27, CARACTERIZADO PORQUE además comprende identificar por lo menos una mutación que es única a la muestra tumoral en relación a tejido normal correspondiente a partir del paciente individual, y seleccionar un péptido que se correlaciona con la mutación para su inclusión en la vacuna o para la generación de terapias celulares.

30. El método de acuerdo a la reivindicación 28, CARACTERIZADO PORQUE dicha por lo menos una mutación se identifica por secuenciación de genoma completo.

31. Un receptor de células T, preferiblemente soluble o unido a membrana, que es reactivo con el ligando de HLA, CARACTERIZADO PORQUE dicho ligando tiene

por lo menos 75% de identidad con una secuencia de aminoácidos que se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151.

32. El receptor de células T de acuerdo a la reivindicación 30, CARACTERIZADO PORQUE dicha secuencia de aminoácidos es por lo menos 88% idéntica a SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151.

33. El receptor de células T de acuerdo a la reivindicación 30 o 31, CARACTERIZADO PORQUE dicha secuencia de aminoácidos consiste en cualquiera de SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151.

34. El receptor de células T de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 30 a 32, CARACTERIZADO PORQUE dicho receptor de células T se provee como una molécula soluble y opcionalmente porta una función efectora adicional tal como un dominio o toxina de estimulación inmune.

35. Un ácido nucleico, CARACTERIZADO PORQUE codifica para un TCR de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 30 a 33, opcionalmente conectado a una secuencia promotora heteróloga.

36. Un vector de expresión CARACTERIZADO PORQUE es capaz de expresar el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 34.

37. Una célula huésped CARACTERIZADA PORQUE comprende el ácido nucleico de acuerdo a la reivindicación 34 o el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo de acuerdo a la reivindicación 15 o el vector de expresión de acuerdo a la reivindicación 35, en donde dicha célula huésped preferiblemente es una célula T o una célula NK.

38. Un método para producir el receptor de células T de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 30 a 33, CARACTERIZADO PORQUE dicho método comprende cultivar a célula huésped de acuerdo a la reivindicación 36, y aislar dicho receptor de células T a partir de dicha célula huésped y/o su medio de cultivo.

39. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA PORQUE comprende por lo menos un ingrediente activo que se elige del grupo que consiste en

a) un péptido que se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114;

- b) un receptor de células T reactivo con un péptido y/o el complejo de péptido y MHC de acuerdo a a);
- c) una proteína de fusión que comprende un péptido de acuerdo a a), y los aminoácidos N-terminales 1 a 80 de la cadena invariante (Ii) asociada a antígeno de HLA-DR;
- d) un ácido nucleico que codifica para cualquiera de a) a c) o un vector de expresión que comprende un ácido nucleico,
- e) una célula huésped que comprende el vector de expresión de d,
- f) un linfocito T activado, que se obtiene por un método que comprende poner en contacto en vitro células T con un péptido de acuerdo a a) expresado sobre la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada durante un periodo de tiempo suficiente para activar a dicha célula T en una forma específica de antígeno, así como también un método para transferir estas células T activadas en el paciente autólogo o en otros pacientes;
- g) un anticuerpo, o receptor de células T soluble, reactivo contra un péptido y/o el complejo de péptido y MHC de acuerdo a a) y/o una célula que presenta un péptido de acuerdo a a), y potencialmente modificado por fusión con por ejemplo, dominios o toxinas activadoras del sistema inmune,
- h) un aptámero que reconoce un péptido que se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 114 y/o un complejo de un péptido que se elige del grupo que consiste en SEQ ID No. 1 a SEQ ID No. 151 con una molécula de MHC,
- i) un péptido o esqueleto conjugado o marcado de acuerdo a cualquiera de a) a h) y un transportador farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente, excipientes y/o estabilizantes farmacéuticamente aceptable.

40. Un aptámero CARACTERIZADO PORQUE reconoce específicamente el péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente el péptido o variante del mismo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que está unido a una molécula de MHC.