

REIVINDICACIONES

1. Péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo consistente en la SEQ ID N.º 1 a la SEQ ID N.º 149, y secuencias variantes de las mismas que son como mínimo homólogas en un 88% a las SEQ ID N.º 1 a la SEQ ID N.º 149, y en que dicha variante se une a una o varias moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y/o induce la reacción cruzada de linfocitos T con dicho péptido variante; y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en que dicho péptido no es un polipéptido entero.
2. El péptido acorde con la reivindicación 1, en que dicho péptido tiene la capacidad para unirse a una molécula MHC de clase I o II, y en que dicho péptido, cuando está unido a dicho MHC, es capaz de ser reconocido por linfocitos T CD4 y/o CD8.
3. El péptido o variante del mismo acordes con la reivindicación 1 o 2, en que la secuencia de aminoácidos del mismo comprende un segmento continuo de aminoácidos conforme a cualquiera de las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 149.
4. El péptido o la variante del mismo acordes con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en que dicho péptido o variante del mismo tiene una longitud total de 8 a 100, preferentemente de 8 a 30, más preferentemente de 8 a 16 aminoácidos, y aún más preferentemente en que dicho péptido consiste o consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos acorde con cualquiera de las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 149.
5. El péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en que dicho péptido está modificado y/o incluye enlaces no peptídicos.
6. El péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en que dicho péptido forma parte de una proteína de fusión, que en concreto

comprende aminoácidos N-terminales de la cadena invariable (Ii) asociada al antígeno HLA-DR.

7. Anticuerpo, en particular un anticuerpo soluble o unido a membrana, preferiblemente un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo, que reconoce específicamente el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 cuando está unido a una molécula MHC.

8. Receptor de linfocito T, preferiblemente soluble o unido a membrana, o un fragmento del mismo, que reacciona ante un ligando HLA, en que dicho ligando es el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 cuando está unido a una molécula MHC.

9. El receptor de linfocito T acorde con la reivindicación 8, en que dicha secuencia de aminoácidos del ligando es idéntica al menos en un 88% a cualquiera de las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 149, o en que dicha secuencia de aminoácidos del ligando consiste en cualquiera de las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 149.

10. El receptor de linfocito T acorde con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, en que dicho receptor de linfocito T se provee como una molécula soluble y opcionalmente está dotado de otra función efectora como es un dominio inmunoestimulador o una toxina.

11. Un aptámero que reconoce específicamente el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que se une a una molécula MHC.

12. Ácido nucleico, que codifica un péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, un anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, un receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, opcionalmente enlazado con una secuencia promotora heteróloga, o un vector de expresión que expresa dicho ácido nucleico.

13. Célula hospedadora recombinante que comprende el péptido acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9 o el ácido nucleico o el vector de expresión acordes con la reivindicación 12, en que dicha célula hospedadora se selecciona preferiblemente de una célula presentadora de antígeno, como una célula dendrítica, un linfocito T o una célula NK.

14. Método *in vitro* para producir linfocitos T activados, método que comprende la puesta en contacto de linfocitos T *in vitro* con antígeno cargado en moléculas MHC de clase I o II humanas que se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o en un constructo artificial que emula a una célula presentadora de antígeno durante un período de tiempo suficiente para activar dichos linfocitos T de un modo específico de antígeno, siendo dicho antígeno un péptido acorde con la cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

15. Un linfocito T activado producido con el método acorde con la reivindicación 14, que reconoce selectivamente una célula que presenta un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

16. Composición farmacéutica que comprende al menos un ingrediente activo seleccionado del grupo consistente en el péptido acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, el aptámero acorde con la reivindicación 11, el ácido nucleico o el vector de expresión

acordes con la reivindicación 12, la célula hospedadora acorde con la reivindicación 13, el linfocito T activado acorde con la reivindicación 15, o un ingrediente activo marcado o conjugado, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente, excipientes y/o estabilizantes farmacéuticamente aceptables.

17. Método para producir el péptido o variante del mismo acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, o el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, el método que comprende el cultivo de la célula hospedadora acorde con la reivindicación 13, y el aislamiento del péptido o variante del mismo, el anticuerpo o fragmento del mismo o el receptor de linfocito T o fragmento del mismo a partir de dicha célula hospedadora y/o de su medio de cultivo.

18. El péptido acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, el aptámero acorde con la reivindicación 11, el ácido nucleico o el vector de expresión acorde con la reivindicación 12, la célula hospedadora acorde con la reivindicación 13, o el linfocito T activado acorde con la reivindicación 15, para el uso en medicina.

19. Método para destruir células diana en un paciente cuyas células diana presentan un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, comprendiendo el método la administración al paciente de un número efectivo de linfocitos T activados tal y como se definen en la reivindicación 15.

20. El péptido acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, el aptámero acorde con la reivindicación 11, el ácido nucleico o el vector de expresión acordes con la reivindicación 12, la célula hospedadora acorde con la reivindicación 13, o el linfocito T activado acorde con la

reivindicación 15 para el uso en el diagnóstico y/o el tratamiento del cáncer, o para el uso en la fabricación de un medicamento contra el cáncer.

21. El uso acorde con la reivindicación 20, en que dicho cáncer es seleccionado entre el grupo formado por cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, carcinoma colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de pulmón amicrocítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de páncreas, carcinoma de células renales, cáncer de próstata, melanoma, cáncer de mama, leucemia linfocítica crónica, linfoma no hodgkiniano, leucemia mieloide aguda, cáncer de vesícula biliar y colangiocarcinoma, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de útero, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, mesotelioma y otros tumores que presenten la sobreexpresión de una proteína de la cual derive un péptido de las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 205.

22. Un equipo que comprende:

- a) un envase que comprende una composición farmacéutica que contiene el péptido o péptidos o las variantes acordes con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el anticuerpo o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 7, el receptor de linfocito T o fragmento del mismo acorde con la reivindicación 8 o 9, el aptámero acorde con la reivindicación 11, el ácido nucleico o el vector de expresión acordes con la reivindicación 12, la célula hospedadora acorde con la reivindicación 13, o el linfocito T activado acorde con la reivindicación 15, en solución o en forma liofilizada;
- (b) opcionalmente, un segundo envase que contiene un diluyente o solución de reconstitución para la formulación liofilizada;
- (c) opcionalmente, al menos un péptido más seleccionado del grupo consistente en las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 205, y
- (d) opcionalmente, instrucciones para (I) el uso de la solución o (II) la reconstitución y/o el uso de la formulación liofilizada.

23. El equipo acorde con la reivindicación 22, que además comprenda uno o más de los siguientes componentes: (III) un tampón, (IV) un diluyente, (V) un filtro, (VI) una aguja, o (V) una jeringa.

24. Método para producir una vacuna personalizada contra el cáncer, o un tratamiento a base de un compuesto y/o de células para un paciente individual, en que dicho método comprende:

- a) identificación de los péptidos asociados a tumor (TUMAP) presentes en una muestra tumoral de dicho paciente en cuestión;
- b) comparación de los péptidos identificados en a) con un archivo de péptidos que han sido preseleccionados por su inmunogenicidad y/o su sobrerepresentación en tumores en comparación con los tejidos normales;
- c) selección de al menos un péptido del archivo que coincida con el TUMAP identificado en el paciente; y
- d) fabricación y/o formulación de la vacuna personalizada o del tratamiento a base de un compuesto o de células basadas en el paso c).

25. El método acorde con la reivindicación 24, en que dichos TUMAP son identificados mediante:

- (a1) comparación de los datos de expresión de la muestra tumoral con los datos de expresión de una muestra de tejido normal correspondiente con el mismo tipo de tejido que la muestra tumoral para identificar proteínas que se sobreexpresen o se expresen de modo aberrante en la muestra tumoral; y
- (a2) correlación de los datos de expresión con las secuencias de ligandos MHC unidos a moléculas MHC de clase I y/o clase II en la muestra tumoral para identificar los ligandos MHC derivados de proteínas que son sobreexpresadas o expresadas de modo aberrante por el tumor.

26. El método acorde con la reivindicación 24 o 25, en que las secuencias de los ligandos MHC se identifican eluyendo los péptidos unidos de las moléculas MHC aisladas de la muestra tumoral y secuenciando los ligandos eluidos.

27. El método acorde con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 26, en que el tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra tumoral se obtiene del mismo paciente.

28. El método acorde con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 27, en que los péptidos incluidos en el archivo son identificados mediante los pasos siguientes:

aa. Ejecución de un análisis hologenómico de la expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) mediante métodos con un alto nivel de paralelismo, como son la obtención de los perfiles de expresión por medio de micromatrices o de secuenciación, que comprenden la identificación de los genes que aparecen sobreexpresados en el tejido maligno en comparación con el tejido o tejidos normales;

ab. Selección de péptidos codificados por genes que se expresan selectivamente o se sobreexpresan detectados del modo indicado en el paso aa, y

ac. Determinación de la inducción de respuestas de linfocitos T *in vivo* por parte de los péptidos seleccionados, la cual comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro* con linfocitos T humanos procedentes de donantes sanos o de dicho paciente; o

ba. Identificación de ligandos de HLA a partir de dicho material tumoral mediante espectrometría de masas;

bb. Ejecución de un análisis hologenómico de la expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) mediante métodos con un alto nivel de paralelismo, como son la obtención de los perfiles de expresión por medio de micromatrices o de secuenciación, que comprenden la identificación de los genes que aparecen sobreexpresados en el tejido maligno en comparación con el tejido o tejidos normales;

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

bd. Selección de los péptidos codificados por los genes que se expresan selectivamente o se sobreexpresan detectados en el paso bc;

be. Volver a detectar los TUMAP seleccionados del paso bd en el tejido tumoral y comprobar que en los tejidos sanos no se detectan o su detección es infrecuente y confirmar la relevancia de la sobreexpresión a nivel del ARNm; y

bf. Determinación de la inducción de respuestas de linfocitos T *in vivo* por parte de los péptidos seleccionados, la cual comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro* con linfocitos T humanos procedentes de donantes sanos o de dicho paciente.

29. El método acorde con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 28, en que la inmunogenicidad de los péptidos incluidos en el archivo se determina con un método que comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro*, la inmunomonitorización del paciente para determinar la unión a HLA individuales, tinción de los multímeros de MHC, ensayos ELISPOT y/o tinción intracelular de citocinas.

30. El método acorde con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 29, en que dicho archivo comprende una pluralidad de péptidos seleccionados del grupo consistente en las SEQ ID N.º 1 a SEQ ID N.º 149.

31. El método acorde con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 30, que comprende además la identificación de al menos una mutación que sea exclusiva de la muestra tumoral con respecto al tejido normal correspondiente del paciente en cuestión, y la selección de un péptido que se correlacione con la mutación para la inclusión en la vacuna o para la creación de terapias celulares.

32. El método acorde con la reivindicación 31, en que como mínimo se identifica una mutación tal por medio de la secuenciación hologenómica.