

REIVINDICACIONES

1. Un método para generar un producto para la construcción de una vacuna contra el cáncer personalizada mediante la identificación de uno o más neoantígenos de una o más células tumorales de un sujeto que es probable que se presenten en una superficie de las células tumorales, que comprende las etapas de:
- 5 obtener datos de secuenciación de nucleótidos de al menos uno de exoma, transcriptoma o genoma completo de las células tumorales y las células normales del sujeto, donde los datos de secuenciación de nucleótidos se usan para obtener datos que representan secuencias de péptidos de cada uno de un conjunto de neoantígenos identificados mediante comparación de los datos de secuenciación de nucleótidos de las células tumorales y los datos de secuenciación de nucleótidos de las células normales, y donde la secuencia de péptidos de cada neoantígeno comprende al menos una alteración que lo distingue de la secuencia de péptidos de tipo salvaje correspondiente
- 10 identificada de las células normales del sujeto;
- codificar las secuencias de péptidos de cada uno de los neoantígenos en un vector numérico correspondiente, donde cada vector numérico incluye información con respecto a múltiples aminoácidos que conforman la secuencia de péptidos y un conjunto de posiciones de los aminoácidos en la secuencia de péptidos;
- 20 ingresar los vectores numéricos, mediante el uso de un procesador informático, en un modelo de presentación de aprendizaje profundo, para generar un conjunto de probabilidades de presentación para el conjunto de neoantígenos, donde cada probabilidad de presentación del conjunto representa la probabilidad de que un neoantígeno correspondiente sea presentado por uno o más alelos de MHC clase II sobre la superficie de las células tumorales del sujeto, donde el modelo de presentación de aprendizaje profundo comprende:
- 25 múltiples parámetros identificados al menos en función de un conjunto de datos de entrenamiento que comprende:
- etiquetas obtenidas mediante espectrometría de masas que miden la presencia de péptidos unidos a al menos un alelo de MHC clase II identificado como presente en al menos una de múltiples
- 30 muestras;
- entrenar las secuencias de péptidos codificadas como vectores numéricos que incluyen información con respecto a múltiples aminoácidos que conforman la secuencia de péptidos y un conjunto de posiciones de los aminoácidos en la secuencia de péptidos; y
- al menos un alelo de HLA asociado con las secuencias de péptidos de entrenamiento; y
- 35 una función que representa una relación entre el vector numérico recibido como entrada y la

probabilidad de presentación generada como producto en función del vector numérico y los parámetros,

seleccionar un subconjunto del conjunto de neoantígenos en función del conjunto de probabilidades de presentación para generar un conjunto de neoantígenos seleccionados; y

5 generar el producto para construir la vacuna contra el cáncer personalizada en función del conjunto de neoantígenos seleccionados.

2. El método de la reivindicación 1, donde la codificación de la secuencia de péptidos comprende codificar la secuencia de péptidos mediante el uso de un esquema de codificación one-hot.

3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde la entrada del vector numérico en el
10 modelo de presentación de aprendizaje profundo comprende:

aplicar el modelo de presentación de aprendizaje profundo a la secuencia de péptidos del neoantígeno para generar un puntaje de dependencia para cada uno de los alelos de MHC clase II que indica si el alelo de MHC clase II presentará el neoantígeno en función de los aminoácidos particulares en las posiciones particulares de la secuencia de péptidos.

15 4. El método de la reivindicación 3, donde la entrada del vector numérico en el modelo de presentación de aprendizaje profundo comprende además:

transformar los puntajes de dependencia para generar una probabilidad correspondiente por alelo para cada alelo de MHC clase II que indique la probabilidad de que el alelo de MHC clase II correspondiente presente el neoantígeno correspondiente; y

20 combinar las probabilidades por alelo para generar la probabilidad de presentación del neoantígeno.

5. El método de la reivindicación 4, donde la transformación de los puntajes de dependencia modela la presentación del neoantígeno como mutuamente exclusiva entre la una o más clases de alelos de MHC clase II.

6. El método de la reivindicación 3, donde la entrada del vector numérico en el modelo de
25 presentación de aprendizaje profundo comprende además:

transformar una combinación de los puntajes de dependencia para generar la probabilidad de presentación, donde la transformación de la combinación de los puntajes de dependencia modela la presentación del neoantígeno como interferencia entre la una o más clases de alelos de MHC clase II.

30 7. El método de la reivindicación 3, donde el conjunto de probabilidades de presentación se identifica adicionalmente mediante al menos una o más características de no interacción de alelos, y comprende además:

aplicar el modelo de presentación a las características de no interacción con el alelo para generar un puntaje de dependencia para las características de no interacción con el alelo que indique si se

35 presentará la secuencia peptídica del neoantígeno correspondiente en función de las características

de no interacción con el alelo.

8. El método de la reivindicación 7 que adicionalmente comprende:

combinar el puntaje de dependencia para cada alelo de MHC clase II en el uno o más alelos de MHC clase II con el puntaje de dependencia para la característica de no interacción de alelos; y

- 5 transformar los puntajes de dependencia combinados para cada alelo de MHC clase II para generar una probabilidad por alelo para el alelo de MHC clase II que indique la probabilidad de que el alelo de MHC clase II correspondiente presente el neoantígeno correspondiente; y
combinar las probabilidades por alelo para generar la probabilidad de presentación.

9. El método de la reivindicación 8 que adicionalmente comprende:

- 10 transformar una combinación de los puntajes de dependencia para cada uno de los alelos de MHC clase II y el puntaje de dependencia para las características de no interacción de alelos para generar la probabilidad de presentación.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el uno o más alelos de MHC clase II incluyen dos o más alelos de MHC clase II.

- 15 11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el al menos un alelo de MHC clase II incluye dos o más tipos distintos de alelos de MHC clase II.

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde las múltiples muestras comprenden al menos uno de:

- (a) una o más líneas celulares modificadas genéticamente para expresar un único alelo de MHC
20 clase II;
(b) una o más líneas celulares modificadas genéticamente para expresar múltiples alelos de MHC clase II;
(c) una o más líneas celulares humanas obtenidas o derivadas de múltiples pacientes;
(d) muestras tumorales frescas o congeladas obtenidas de múltiples pacientes; y
25 (e) muestras tisulares frescas o congeladas obtenidas de múltiples pacientes.

13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, donde el conjunto de datos de entrenamiento comprende además al menos uno de:

- (a) datos asociados con las mediciones de afinidad de unión a MHC-péptido para al menos uno de los péptidos aislados; y
30 (b) datos asociados con las mediciones de estabilidad de unión a MHC-péptido para al menos uno de los péptidos aislados.

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, donde el conjunto de probabilidades de presentación se identifica adicionalmente mediante al menos niveles de expresión del uno o más alelos de MHC clase II en el sujeto, según se mide a través de RNA-seq o espectrometría de masas.

- 35 15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, donde el conjunto de probabilidades de

presentación se identifica adicionalmente mediante al menos características de interacción de alelos, que comprenden al menos uno de:

(a) afinidad prevista entre un neoantígeno del conjunto de neoantígenos y el uno o más alelos de MHC; y

5 (b) la estabilidad prevista del complejo péptido-MHC codificado por el neoantígeno.

16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, donde el conjunto de probabilidades numéricas se identifica adicionalmente mediante al menos características de no interacción de alelos-MHC, que comprenden al menos uno de:

10 (a) las secuencias de extremo C que flanquean el péptido codificado por el neoantígeno dentro de su secuencia proteica de origen; y

(b) las secuencias de extremo N que flanquean el péptido codificado por el neoantígeno dentro de su secuencia proteica de origen.

17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una mayor probabilidad de presentarse sobre la superficie de la célula tumoral con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación.

18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con mayor probabilidad de poder inducir una respuesta inmunitaria específica para el tumor en el sujeto con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación.

19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una mayor probabilidad de poder ser presentados a linfocitos T no activados por parte de células presentadoras de antígenos (APC) con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, donde
25 opcionalmente la APC es una célula dendrítica (DC).

20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una menor probabilidad de someterse a inhibición a través de una tolerancia central o periférica con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación.

21. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con menor probabilidad de poder inducir una respuesta autoinmunitaria al tejido normal en el sujeto con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación.

22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, donde la una o más células tumorales se
35 seleccionan del grupo que consiste en: cáncer pulmonar, melanoma, cáncer de mama, cáncer de

ovario, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer testicular, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de páncreas, cáncer cerebral, linfoma de linfocitos B, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica y leucemia linfocítica de linfocitos T, cáncer pulmonar no microcítico y cáncer pulmonar microcítico.

- 5 23. Un método para tratar a un sujeto con un tumor, que comprende llevar a cabo las etapas de cualquiera de las reivindicaciones 1-22 y comprende además obtener una vacuna tumoral que comprende el conjunto de neoantígenos seleccionados y administrarle la vacuna tumoral al sujeto.
24. Un método para la fabricación de una vacuna tumoral, que comprende llevar a cabo las etapas de cualquiera de las reivindicaciones 1-22 y comprende además producir o haber producido una
10 vacuna tumoral que comprenda el conjunto de neoantígenos seleccionados.
25. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, que comprende además identificar uno o más linfocitos T que son específicos para antígenos para al menos uno de los neoantígenos del subconjunto.
26. El método de la reivindicación 25, donde la identificación comprende cocultivar el uno o más
15 linfocitos T con uno o más de los neoantígenos del subconjunto en condiciones que expanden el uno o más linfocitos T específicos para el antígeno.
27. El método de la reivindicación 25, donde la identificación comprende poner en contacto el uno o más linfocitos T con un tetrámero que comprende uno o más de los neoantígenos del subconjunto en condiciones que permiten la unión entre el linfocito T y el tetrámero.
- 20 28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 25-27, que comprende además identificar uno o más receptores de linfocitos T (TCR) del uno o más linfocitos T identificados.
29. El método de la reivindicación 28, donde la identificación del uno o más receptores de linfocitos T comprende secuenciar las secuencias de los receptores de linfocitos T del uno o más linfocitos T identificados.
- 25 30. Un linfocito T aislado que es específico para al menos un neoantígeno seleccionado del subconjunto de cualquiera de las reivindicaciones 1-28.
31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, que comprende además:
modificar genéticamente múltiples linfocitos T para que expresen al menos uno o más de los receptores de linfocitos T identificados;
- 30 cultivar los múltiples linfocitos T en condiciones que expandan los múltiples linfocitos T; e
infundir los linfocitos T expandidos en el sujeto.
32. El método de la reivindicación 31, donde la modificación genética de los múltiples linfocitos T para que expresen al menos uno del uno o más receptores de linfocitos T identificados comprende:
clonar las secuencias de los receptores de linfocitos T del uno o más linfocitos T identificados en un
35 vector de expresión; y

transfectar cada uno de los múltiples linfocitos T con el vector de expresión.

33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 25-29 y 31-32, que comprende además:

cultivar el uno o más linfocitos T identificados en condiciones que expandan el uno o más linfocitos T identificados; e

5 infundir los linfocitos T expandidos en el sujeto.