

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Segundo Examen de Fondo)

1. Un péptido sintético o recombinante, caracterizado porque dicho péptido tiene la capacidad para unirse a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I, y porque consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El péptido sintético o recombinante o la sal del mismo de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado porque dicho péptido es capaz de ser reconocido por linfocitos T CD8.
3. El péptido sintético o recombinante de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, caracterizado porque dicho péptido incluye enlaces no peptídicos.
4. El péptido sintético o recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque dicho péptido está fusionado a los aminoácidos del extremo N-terminal de la cadena invariable (Ii) asociada al antígeno HLA-DR.
5. Un ácido nucleico recombinante, caracterizado porque codifica para un péptido de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o un vector de expresión recombinante que comprende dicho ácido nucleico.
6. Una línea de células hospedadoras recombinantes caracterizada porque comprende el péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o el ácido nucleico o el vector de expresión de acuerdo con la Reivindicación 5.
7. Un método *in vitro* para producir el péptido de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque comprende cultivar la línea de células hospedadoras de acuerdo con la Reivindicación 6 que presentan el péptido de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o que expresa el ácido nucleico o el vector de expresión de acuerdo con la Reivindicación 5, y aislar el péptido de las células de dicha la línea de células o su medio de cultivo.
8. Un método *in vitro* para producir linfocitos T activados, caracterizado porque comprende (i) proporcionar linfocitos T *in vitro*, (ii) proporcionar moléculas MHC de clase I humanas cargadas con antígeno que se expresan en la superficie de una célula presentadora

de antígeno adecuada o de un constructo artificial que imita a una célula presentadora de antígeno, en donde dicho antígeno es el péptido de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, (iii) poner en contacto *in vitro* dichos linfocitos T con dichas moléculas MHC de clase I humanas cargadas con antígeno tal como se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o de un constructo artificial que imita a una célula presentadora de antígeno, activando de este modo dichos linfocitos T de una manera específica de antígeno, y (iv) aislar dichos linfocitos T activados.

9. Una línea celular humana de linfocitos T activados producida con el método de acuerdo con la Reivindicación 8, que reconoce selectivamente una célula que presente un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3.

10. Una línea celular de linfocitos T que expresa un TCR que es reactivo con un ligando HLA, caracterizada porque dicho ligando es un péptido de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

11. Un método *in vitro* para destruir células cancerosas, en donde dichas células cancerosas presentan un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 36, caracterizado porque el método comprende poner en contacto las células cancerosas con la línea celular de linfocitos T como se define en las Reivindicaciones 9 o 10.

12. El método de acuerdo con la Reivindicación 11, caracterizado porque dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, carcinoma colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, carcinoma de células renales, cáncer de próstata, melanoma, cáncer de mama, leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, leucemia mieloide aguda, cáncer de vesícula biliar y colangiocarcinoma, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de útero, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, mesotelioma y otros tumores que muestren una sobrerepresentación de un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 36.

13. Un anticuerpo recombinante, soluble o unido a membrana, o un fragmento del mismo, que reconoce específicamente el péptido de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, o el péptido de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2 cuando está en un complejo con una molécula de MHC, caracterizado porque dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo quimérico, o un fragmento funcional del mismo.

14. Un receptor de linfocitos T soluble o unido a membrana, o un fragmento del mismo, caracterizado porque reacciona con el péptido de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, o el péptido de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2 cuando está en un complejo con una molécula de MHC.

15. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende al menos un ingrediente activo seleccionado del grupo que consiste en el péptido o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, el ácido nucleico recombinante o el vector de expresión recombinante de acuerdo con la Reivindicación 5, la línea de células hospedadoras recombinantes de acuerdo con la Reivindicación 6, la línea celular humana de linfocitos T activados de acuerdo con la Reivindicación 9, la línea celular de linfocitos T de acuerdo con la Reivindicación 10, el anticuerpo recombinante de acuerdo con la Reivindicación 13 y el receptor de linfocitos T soluble de acuerdo con la Reivindicación 14; y un vehículo, un excipiente y/o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

16. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 15, caracterizada porque comprende además un adyuvante.

17. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, caracterizada porque el adyuvante es una interleucina.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 17, caracterizada porque la interleucina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-15 o una combinación de las mismas.

19. Un método *in vitro* para diagnosticar cáncer en una muestra que comprende células de un sujeto, caracterizado porque comprende:

(a) agregar un anticuerpo aislado o un fragmento funcional del mismo o un receptor de linfocitos T aislado a una muestra de tejido de un sujeto, en donde el anticuerpo, el fragmento de anticuerpo o el receptor de linfocitos T están marcados con una sonda o con un radionucleótido, y

(b) detectar la unión del anticuerpo el fragmento de anticuerpo o el receptor de linfocitos T a células de la muestra de tejido del sujeto, e identificar así la presentación de un péptido asociado a tumor (TUMAP) que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 36 en células de la muestra de tejido del sujeto, en donde el anticuerpo el fragmento de anticuerpo o el receptor de linfocitos T reconocen específicamente (i) dicho TUMAP que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo

con la SEQ ID NO: 36 o (ii) dicho TUMAP que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 36 cuando está en un complejo con una molécula de MHC.

20. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 19, caracterizado porque dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, carcinoma colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, carcinoma de células renales, cáncer de próstata, melanoma, cáncer de mama, leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, leucemia mieloide aguda, cáncer de vesícula biliar y colangiocarcinoma, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de útero, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, mesotelioma y otros tumores que muestren una sobrerepresentación de un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 36.

21. Un kit caracterizado porque comprende:
una composición farmacéutica que contiene el péptido o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, el ácido nucleico recombinante o el vector de expresión de acuerdo con la Reivindicación 5, la línea de células recombinantes de acuerdo con la Reivindicación 6, la línea celular humana de linfocitos T activados de acuerdo con la Reivindicación 9, la línea celular de linfocitos T de acuerdo con la Reivindicación 10, el anticuerpo recombinante de acuerdo con la Reivindicación 13 o el receptor de linfocitos T soluble de acuerdo con la Reivindicación 14, en solución o en forma liofilizada; y
una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

22. El kit de acuerdo con la Reivindicación 21, caracterizado porque comprende además uno o más de (i) un buffer, (ii) un diluyente, (iii) un filtro, (iv) una aguja, (v) una jeringa o (vi) un adyuvante.

23. Un método *in vitro* para producir una vacuna o un agente terapéutico celular y/o basado en un compuesto contra el cáncer que sea personalizado para un individuo específico, en que dicho método comprende:

- a) identificar un péptido asociado a tumor (TUMAP) presentados por una muestra de tumor de dicho individuo;
- b) comparar el péptido identificado en a) con un archivo de péptidos que han sido preseleccionados por su inmunogenicidad y/o sobrerepresentación en tumores en comparación a los tejidos normales;
- c) seleccionar un péptido del archivo de péptidos que coincida con el TUMAP identificado en la muestra de tumor del individuo en donde uno de dichos péptidos del archivo de péptidos es el péptido de SEQ ID NO. 36; y

d) fabricar y/o formular la vacuna o el agente terapéutico celular y/o basado en un compuesto con base en el péptido del archivo seleccionado en el paso c).

24. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 23, en donde dicho TUMAP se identifica mediante un método que comprende:

(a1) comparar los datos de expresión de la muestra de tumor con los datos de expresión de una muestra de tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra de tumor para identificar proteínas que están sobreexpresadas o que se expresan de forma aberrante en la muestra de tumor; y

(a2) correlacionar los datos de expresión con secuencias de ligandos de MHC unidos a moléculas de MHC de clase I en la muestra de tumor para identificar ligandos de MHC derivados de proteínas sobreexpresadas o expresadas de forma aberrante en la muestra de tumor.

25. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 23 o 24, en donde las secuencias de los ligandos del MHC se identifican eluyendo péptidos unidos a moléculas de MHC aisladas de la muestra de tumor y secuenciando los ligandos eluidos.

26. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 23 a 25, en donde el tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra de tumor es una muestra del mismo individuo.

27. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 23 a 26, en donde la inmunogenicidad de los péptidos incluidos en el archivo se determina mediante un método que comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro*, inmunomonitorización de unión a HCL individual, tinción de multímeros de MHC, ensayos ELISPOT y/o tinción de citocinas intracelulares.

28. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 23 a 27, que comprende además identificar una mutación que es única para la muestra de tumor en relación con el tejido normal correspondiente del individuo, y seleccionar un péptido que se correlaciona con la mutación para su inclusión en la vacuna o para la generación del agente terapéutico celular.

29. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 28, en donde dicha mutación se identifica mediante secuenciación hologenómica.
