

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Tercer Examen de Fondo)

1. Un péptido sintético o recombinante que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 432 o 74; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El péptido o la sal del mismo de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde dicho péptido tiene la capacidad para unirse a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I.
3. El péptido o la sal del mismo de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, en donde dicho péptido es capaz de ser reconocido por linfocitos T CD8 y/o en donde dicho péptido incluye enlaces no peptídicos.
4. El péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, en donde 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 que codifica un péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o un vector de expresión recombinante que expresa dicho ácido nucleico.
6. Una línea de células hospedadoras recombinante que comprende el péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, 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 cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, que comprende cultivar la línea de células hospedadoras de acuerdo con la Reivindicación 6 que presentan el péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o que expresan el ácido nucleico o el vector de expresión de acuerdo con la Reivindicación 5, y aislar el péptido de las células de dicha línea de células o de su medio de cultivo.
8. Un método *in vitro* para producir linfocitos T activados que 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 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 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, activando de este modo dicho linfocitos T de una manera específica de antígeno, y (iv) aislar dichos linfocitos T activados.

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

10. 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: 432 o 74, en donde el método comprende poner en contacto las células cancerosas con la línea celular de linfocitos T humanos activados como se define en la Reivindicación 9.

11. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 10, en donde dichas células cancerosas se seleccionan del grupo que consiste en células de 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 y mesotelioma.

12. Un anticuerpo recombinante, soluble o unido a membrana, que reconoce específicamente un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74, o el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74 cuando está en un complejo con una molécula MHC, en donde 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.

13. Un receptor de linfocitos T soluble que es reactivo con un ligando HLA, en donde dicho ligando es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74.

14. Una composición farmacéutica que 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, y la línea celular humana de linfocitos T activados de acuerdo con la Reivindicación 9; y un vehículo, excipiente y/o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

15. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 14, que comprende además un adyuvante.

16. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 15, en donde el adyuvante es una interleucina.

17. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, en donde dicha interleucina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-15 y una combinación de las mismas.

18. Una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los anticuerpos recombinantes de acuerdo con la Reivindicación 12 y el receptor de linfocitos T soluble de acuerdo con la Reivindicación 13.

19. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 18, que comprende además un adyuvante.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 19, en donde el adyuvante es una interleucina.

21. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 20, en donde dicha interleucina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-15 o una combinación de las mismas.

22. Un método *in vitro* para diagnosticar cáncer en una muestra que comprende células de un individuo, en donde el método 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 individuo, 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 las células de la muestra de tejido del individuo, identificando así la presentación de un péptido asociado a tumor (TUMAP) que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74, en células de la muestra de tejido del individuo,

en donde el anticuerpo, el fragmento de anticuerpo o el receptor de linfocitos T reconoce específicamente (i) dicho TUMAP que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74 o (ii) dicho TUMAP que consiste en la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 432 o 74 cuando está unido a una molécula de MHC.

23. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 22, en donde 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 y mesotelioma.

24. Un kit que comprende:

- a) una composición farmacéutica que contiene el péptido o sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en solución o en forma liofilizada; y
- b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

25. Un kit que comprende:

- (a) una composición farmacéutica que contiene el ácido nucleico recombinante o el vector de expresión recombinante de acuerdo con la Reivindicación 5; y
- (b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

26. Un kit que comprende:

- (a) una composición farmacéutica que contiene la línea de células hospedadoras recombinantes de acuerdo con la Reivindicación 6, en solución o en forma liofilizada; y
- (b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

27. Un kit que comprende:

(a) una composición farmacéutica que contiene la línea celular humana de linfocitos T activados de acuerdo con la Reivindicación 9, en solución o en forma liofilizada; y

(b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

28. El kit de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 24 a 27, que comprende además uno o más de (i) uno o más péptidos adicionales seleccionados del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1 a 73, 75 a 431 y 433 a 774, (ii) un tampón, (iii) un diluyente, (iv) un filtro, (v) una aguja, (vi) una jeringa o (vii) un adyuvante.

29. Un kit que comprende:

(a) una composición farmacéutica que contiene el anticuerpo recombinante de acuerdo con la Reivindicación 12, en solución o en forma liofilizada; y

(b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

30. Un kit que comprende:

(a) una composición farmacéutica que contiene el receptor de linfocitos T soluble de acuerdo con la Reivindicación 13, en solución o en forma liofilizada; y

(b) una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada.

31. El kit de acuerdo con la Reivindicación 29 o 30, que comprende además uno o más de (i) uno o más péptidos adicionales seleccionados del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1 a 73, 75 a 431 y 433 a 774, (ii) un tampón, (iii) un diluyente, (iv) un filtro, (v) una aguja, (vi) una jeringa o (vii) un adyuvante.

32. Un método *in vitro* para producir una composición farmacéutica contra el cáncer personalizada para un individuo específico, en donde la composición farmacéutica contra el cáncer es una vacuna o una composición terapéutica basada en un compuesto y/o una composición terapéutica celular, en donde dicha composición farmacéutica contra el cáncer comprende un péptido seleccionado de un archivo de péptidos preseleccionados, en donde dicho método comprende:

a. identificar un péptido asociado a tumor (TUMAP) presentado por una muestra de tumor de dicho individuo específico;

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 con tejidos normales, en donde dicho archivo de péptidos comprende un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 432 o 74;

c. seleccionar un péptido del archivo que coincida con el TUMAP identificado en la muestra del individuo específico para su inclusión en la composición farmacéutica contra el cáncer personalizada, en donde dicho péptido seleccionado del archivo consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 432 o 74; y

d. fabricar y/o producir la composición farmacéutica contra el cáncer personalizada basada en el péptido del archivo seleccionado en el paso (c).

33. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 32, en donde en la etapa (a) dicho TUMAP se identifica por un método que comprende:

a1) comparar los datos de expresión de la muestra tumoral con los datos de expresión de una muestra de tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra tumoral para identificar proteínas que se expresan en exceso o de forma anómala en la muestra tumoral; y

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

34. El método *in vitro* de acuerdo con la Reivindicación 33, en donde las secuencias de los ligandos del MHC se identifican eluyendo los péptidos unidos de las moléculas del MHC aisladas de la muestra tumoral y secuenciando los ligandos eluidos.

35. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 32 a 34, en donde el tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra tumoral es una muestra del mismo individuo.

36. El método de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 32 a 35, en donde los péptidos incluidos en el archivo son identificados mediante los pasos siguientes:

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

ac. determinar 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 individuo específico; o

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

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

bd. seleccionar 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. determinar 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 individuo específico.

37. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 32 a 36, en donde la inmunogenicidad de los péptidos incluidos en el archivo se determina mediante un método que comprende ensayos de inmunogenicidad *in vitro*, tinción de multímeros MHC, ensayos ELISPOT y/o o tinción de citoquinas intracelulares.

38. El método *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 32 a 37, que comprende además identificar al menos una mutación que es exclusiva de la muestra tumoral en relación con el tejido normal correspondiente del individuo específico y seleccionar un péptido que se correlaciona con la mutación para su inclusión en la composición farmacéutica personalizada.

39. El método de acuerdo con la Reivindicación 38, en donde dicha al menos una mutación se identifica mediante secuenciación del genoma completo.
