

REIVINDICACIONES

1. Un péptido caracterizado porque comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo consistente en las SEQ ID NOs: 3, 7, 11 derivadas de la proteína TRPM8 y las SEQ ID NOs: 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, y una variante peptídica caracterizada porque comprende la secuencia de las SEQ ID NOs: 3, 7, 11 derivadas de la proteína TRPM8 y las SEQ ID NOs: 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518 y que además comprende una o dos sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas SEQ ID NOs: 3, 7, 11 derivadas de la proteína TRPM8 y las SEQ ID NOs: 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, en el que dicha variante peptídica se une a molécula(s) del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y/o estimula a que linfocitos T presenten reactividad cruzada con dicha variante peptídica; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y en que dicho péptido tiene una longitud máxima de 16 aminoácidos.
2. El péptido o la variante o la sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque 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 CD8.
3. El péptido o la variante o la sal del mismo del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque dicho péptido consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NOs: 3, 7, 11 y 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518.
4. El péptido o variante o sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque dicho péptido incluye enlaces no peptídicos.

5. El péptido o variante o sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque dicho péptido forma parte de una proteína de fusión, y esta fusionado a los aminoácidos N-terminales de la cadena invariable (Ii) asociada al antígeno HLA-DR.
6. Una molécula de unión que reconoce específicamente el péptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o el péptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en complejo con una molécula del MHC.
7. La molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizada en que es un anticuerpo soluble o unido a membrana o un fragmento funcional del mismo.
8. La molécula de unión de acuerdo a la reivindicación 6, caracterizada porque la molécula de unión es un anticuerpo monoclonal.
9. La molécula de unión de acuerdo a la reivindicación 6, caracterizada porque es un receptor de linfocito T (TCR), o un fragmento funcional del mismo, que reacciona con un ligando HLA, en que dicho ligando es el péptido o variante del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o el péptido o variante del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 cuando está unido a una molécula de MHC.
10. La molécula de unión de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada porque dicho TCR está dotado de otra función efectora tal como un dominio inmunoestimulador o una toxina.

11. Un ácido nucleico caracterizado porque codifica un péptido o variante del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una molécula de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10.
12. El ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque está enlazado con una secuencia promotora heteróloga.
13. Un vector de expresión caracterizado porque comprende el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 11 o 12.
14. Una línea de linfocitos T que expresa un TCR que es reactivo con un ligando HLA, caracterizada porque dicho ligando es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NOs: 87, 1 a 86 y 88 a 432, en donde dicho péptido tiene una longitud máxima de 16 aminoácidos.
15. Una línea de células hospedadoras recombinantes caracterizada porque comprende el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, la molécula de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, el ácido nucleico que codifica el mismo de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, o el vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 12.
16. La línea de células hospedadoras recombinantes de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizada porque dicha célula hospedadora se selecciona de una célula presentadora de antígeno, tal como una célula dendrítica, un linfocito T o una célula NK.

17. Una línea celular de linfocitos T citotóxicos (CTLs) activados o linfocitos T cooperadores (células Th) activados, caracterizada porque consiste en una línea celular que comprende linfocitos T CD8+ estimulados con el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
18. Una línea de linfocitos T no existente de manera natural que expresa un receptor de células T que es reactivo con un ligando HLA, caracterizada porque dicho ligando es el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
19. Un método *in vitro* para producir linfocitos T activados, caracterizado porque comprende:
 - a. proveer linfocitos T,
 - b. proveer moléculas de MHC de clase I o II humanas cargadas con antígeno que se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o de un constructo artificial que imite a una célula presentadora de antígeno, en la que dicho antígeno es el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3;
 - c. poner en contacto en condiciones *in vitro* dichos linfocitos T con dichas moléculas de MHC de clase I o II humanas cargadas con antígeno que se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o de un constructo artificial que imite a una célula presentadora de antígeno, activando así dichos linfocitos T de una manera específica de antígeno; y
 - d. aislar dichos linfocitos T activados.
20. El método de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizado porque dicha célula presentadora de antígeno comprende un vector de expresión que

expresa el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

21. Un linfocito T activado producido con el método de acuerdo con la reivindicación 18, caracterizado porque dicho linfocito T activado reconoce selectivamente una célula que presente un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos dada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
22. Una población de linfocitos T modificada genéticamente con un ácido nucleico que codifica un receptor de linfocitos T reactivo con un ligando HLA, caracterizada porque las células de dicha población de linfocitos T expresan un receptor de linfocitos T que es reactivo con dicho ligando HLA, siendo dicho ligando el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
23. Una población de linfocitos T transducida por un lentivirus o retrovirus que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de linfocitos T reactivo con un ligando de HLA, caracterizada porque las células de dicha población de linfocitos T expresan un receptor de linfocitos T que es reactivo con dicho ligando HLA, siendo dicho ligando el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
24. Un método *in vitro* para proporcionar una población de linfocitos T que expresa un receptor de linfocitos T reactivo con un ligando HLA, en donde dicho ligando es el péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el método comprende las etapas de:
 - a. clonar ácidos nucleicos que codifican cadenas alfa de TCR y/o cadenas beta de TCR reactivas con un ligando HLA en un vector de

- expresión de retrovirus gamma o lentivirus, en el que dicho ligando es el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3;
- b. generar virus recombinantes con especificidad antigénica y avidez funcional por dicho ligando HLA que es el péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3;
 - c. transducir una población de linfocitos T diana con el virus recombinante de la etapa b;
 - d. expandir la población de linfocitos T de la etapa c.
25. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende el péptido o la variante o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el ácido nucleico que codifica el mismo de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, o el vector de expresión que comprende dicho ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 13, y un vehículo farmacéuticamente aceptable o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
26. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 25, caracterizada porque además comprende un adyuvante.
27. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende la molécula de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, el ácido nucleico que codifica la misma de acuerdo con la reivindicación 11 o 12 o el vector de expresión que comprende dicho ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 13, y un vehículo farmacéuticamente aceptable o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

28. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 27, caracterizada porque además comprende un adyuvante.
29. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende la línea de linfocitos T de acuerdo con la reivindicación 14, y un vehículo farmacéuticamente aceptable o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
30. La composición farmacéutica de la reivindicación 29, caracterizada porque además comprende un adyuvante.
31. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende la línea celular de CTLs activados o células Th activadas de acuerdo con la reivindicación 15, y un vehículo farmacéuticamente aceptable o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
32. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 31, caracterizada porque (i) la composición farmacéutica comprende además un adyuvante, y/o (ii) la composición farmacéutica es una terapia celular o una vacuna.
33. Un método *in vitro* para producir el péptido o variante del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, la molécula de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque comprende:
 - a. cultivar una línea celular hospedadora que comprende el péptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o un ácido nucleico que codifica el mismo, o que presenta el péptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o que expresa un ácido

nucleico que codifica el mismo, o que expresa un ácido nucleico que codifica la molécula de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10; y

- b. aislar el péptido o la variante del mismo o la molécula de unión a partir de las células de dicha línea celular hospedadora y/o de su medio de cultivo.

34. Un método *in vitro* para producir linfocitos T activados, caracterizado porque comprende:

- a. proveer linfocitos T *in vitro*,
- b. proveer moléculas de MHC de clase I humanas cargadas con antígeno que se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada, en la que dicho antígeno es el péptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3,
- c. poner en contacto *in vitro* dichos linfocitos T con dichas moléculas MHC de clase I humanas cargadas con antígeno como se expresan en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada, activando así dichos linfocitos T de una manera específica de antígeno, y
- d. aislar dichos linfocitos T activados.

35. Un kit caracterizado porque comprende:

- a. la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 32, en solución o en forma liofilizada; y
- b. un diluyente o solución de reconstitución para la formulación liofilizada.

36. El kit de acuerdo con la reivindicación 35, caracterizado porque además comprende uno o más de los siguientes componentes: (i) un tampón, (ii) un diluyente, (iii) un filtro, (iv) una aguja, o (v) una jeringa.
37. Un método *in vitro* para producir una vacuna o una terapia basada en células o una terapia basada en un compuesto contra el cáncer que sean personalizadas para un paciente concreto, caracterizado porque dicho método comprende:
- a) identificar un péptido asociado a tumor (TUMAP) presente en una muestra tumoral de dicho paciente en cuestión;
 - b) comparar el péptido identificado 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) seleccionar al menos un péptido del archivo que coincida con el TUMAP identificado en la muestra del paciente; y
 - d) fabricar la vacuna o la terapia basada en células o la terapia basada en un compuesto que sean personalizadas basadas en el paso c);
- en el que dicho archivo comprende un péptido que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NOs: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518.
38. El método *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 37, caracterizado porque dicho TUMAP es identificado:
- (a1) comparando 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 sobreexpresan o se expresan de modo aberrante en la muestra tumoral; y

- (a2) correlacionando los datos de expresión con las secuencias de ligandos MHC unidos a moléculas MHC de clase I en la muestra tumoral para identificar los ligandos MHC derivados de proteínas que son sobreexpresadas o expresadas de modo aberrante por el tumor.
39. El método *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 37 o 38, caracterizado porque 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.
40. El método *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 37 a 39, caracterizado porque el tejido normal correspondiente al tipo de tejido de la muestra tumoral se obtiene del mismo paciente.
41. El método *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 37 a 40, caracterizada porque 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 del MHC, ensayos ELISPOT y/o tinción intracelular de citocinas.
42. El método *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 37 a 41, caracterizado porque comprende además identificar 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 basadas en células.

43. El método *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 42, caracterizado porque la al menos una mutación se identifica por medio de secuenciación hologenómica.
44. Un método *in vitro* para producir una vacuna personalizada contra el cáncer o una terapia basada en células y/o una terapia basada en un compuesto para un paciente individual sospechoso de tener cáncer, caracterizado porque dicho método comprende:
- (a) obtener una muestra que comprende células de un paciente sospechoso de tener cáncer,
 - (b) determinar si un TUMAP que comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NOs: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518 es presentado por las células de la muestra de dicho paciente sospechoso de tener cáncer;
 - (c) obtener linfocitos T del paciente;
 - (d) proporcionar moléculas de 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 una célula presentadora de antígeno, en la que dicho antígeno es el TUMAP que comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquier de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, en la que dicho TUMAP tiene una longitud total de hasta 12 aminoácidos;
 - (e) poner en contacto *in vitro* dicho linfocito T con dichas moléculas del MHC de clase I humanas cargadas con antígeno tal como se expresa en la superficie de una célula presentadora de antígeno adecuada o de un constructo artificial que imita una célula presentadora de antígeno, activando así dicho linfocito T de una manera específica de antígeno; y

- (f) aislar dicho linfocito T activado para fabricar una vacuna personalizada o una terapia basada en células y/o una terapia basada en un compuesto.
45. Un método *in vitro* para diagnosticar cáncer en una muestra que comprende células de un paciente sospechoso de tener cáncer, caracterizado porque el método comprende:
- (a) obtener una muestra que comprende células de un paciente sospechoso de tener cáncer;
 - (b) añadir una molécula de unión aislada a la muestra, en la que la molécula de unión aislada se marca con una sonda o con un radionucleótido, y
 - (c) detectar la unión de la molécula de unión a las células del sujeto, identificando así la presentación de un TUMAP que comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, con una longitud máxima de 12 aminoácidos, en células del sujeto,
- en el que la molécula de unión reconoce específicamente (i) dicho TUMAP que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, o (ii) dicho TUMAP comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518 cuando se une a una molécula de MHC.
46. Un método *in vitro* para producir una vacuna personalizada contra el cáncer o una terapia basada en células y/o una terapia basada en compuestos para un paciente individual sospechoso de tener cáncer, caracterizado porque el método comprende:

- (a) obtener una muestra que comprende células de un paciente sospechoso de tener cáncer;
- (b) añadir una molécula de unión aislada a la muestra, en la que la molécula de unión aislada se marca con una sonda o con un radionucleótido,
- (c) detectar la unión de la molécula de unión a las células del sujeto, identificando así la presentación de un TUMAP que comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, con una longitud máxima de 12 aminoácidos, en células del sujeto, y
- (d) fabricar la vacuna personalizada o la terapia basada en compuestos y/o la terapia basada en células a partir del TUMAP identificado en el paso c);

en el que la molécula de unión reconoce específicamente (i) dicho TUMAP que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, o (ii) dicho TUMAP comprende la secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518 cuando se une a una molécula de MHC.

47. El método *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 45 o 46, caracterizado porque la molécula de unión es (a) un anticuerpo soluble o unido a membrana, o un fragmento funcional del mismo, o (b) un TCR soluble o unido a membrana, o un fragmento funcional del mismo, que es reactivo con un ligando HLA, en el que dicho ligando es dicho péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 11, 1, 2, 4-6, 8-10 y 12 a 518, con una longitud total de hasta 12 aminoácidos, cuando se une a una molécula de MHC.

48. El método de la reivindicación 34 o 44, caracterizado porque dichos linfocitos T son autólogos del paciente.
49. El método de la reivindicación 34 o 44, caracterizado porque dichos linfocitos T son obtenidos de un donante sano.
50. El método de la reivindicación 34 o 44, caracterizado porque dichos linfocitos T derivan de linfocitos infiltrantes en el tumor o de células mononucleares de sangre periférica.