

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 958**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 7/00 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2007 E 07827901 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 2091965**

54 Título: **Vacunas de péptidos para cánceres que expresan los polipéptidos MPHOSP1 ó DEPDC1**

30 Prioridad:

17.10.2006 US 852575 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.07.2013

73 Titular/es:

**ONCOTHERAPY SCIENCE, INC. (100.0%)
2-1, Sakado 3-chome Takatsu-ku Kawasaki-shi
Kanagawa 213-0012, JP**

72 Inventor/es:

**FUJIOKA, TOMOAKI;
NAKAMURA, YUSUKE;
TSUNODA, TAKUYA;
OSAWA, RYUJI y
SHIDA, MIDORI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 415 958 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Vacunas de péptidos para cánceres que expresan los polipéptidos MPHOSPH1 ó DEPDC1.

5 Campo técnico

La presente exposición se refiere al campo de las ciencias biológicas, más concretamente al campo de la terapia del cáncer. En particular, la presente exposición se refiere a nuevos péptidos que sirven como vacunas para el cáncer extremadamente efectivas, y a fármacos para tratar y prevenir tumores que contienen dichos péptidos.

10

Antecedentes de la técnica

Se ha demostrado que los linfocitos T citotóxicos (LTC) CD8⁺ reconocen los péptidos derivados de antígenos asociados a tumor (AAT) presentados sobre las moléculas del CMH de clase I y lisan las células tumorales. Desde el descubrimiento de la familia MAGE como primer ejemplo de AAT, se han descubierto muchos otros AAT mediante enfoques inmunológicos (Boon T., *Int. J. Cancer* 54: 177-80, 1993; Boon T. et al., *J. Exp. Med.* 183: 725-9, 1996; van der Bruggen P. et al., *Science* 254: 1643-7, 1991; Brichard V. et al., *J. Exp. Med.* 178: 489-95, 1993; Kawakami Y. et al., *J. Exp. Med.* 180: 347-52, 1994). Algunos de ellos ahora se encuentran en desarrollo clínico como dianas inmunoterapéuticas. Entre los AAT descubiertos hasta el momento se incluyen MAGE (van der Bruggen P. et al., *Science* 254:1643-7, 1991), gp100 (Kawakami Y. et al., *J. Exp. Med.* 180: 347-52, 1994), SART (Shichijo S. et al., *J. Exp. Med.* 187:277-88, 1998) y NY-ESO-1 (Chen Y.T. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:1914-8, 1997). Por otra parte, determinados productos génicos que se ha demostrado que se sobreexpresan bastante específicamente en las células tumorales se ha probado que resultan reconocidos como dianas para la inducción de respuestas inmunológicas celulares. Entre dichos productos génicos se incluyen p53 (Umano Y. et al., *Br. J. Cancer* 84:1052-7, 2001), HER2/neu (Tanaka H. et al., *Br. J. Cancer* 84:94-9, 2001), CEA (Nukaya I. et al., *Int. J. Cancer* 80:92-7, 1999) y similares.

A pesar de los significativos avances en la investigación básica y clínica relativa a los AAT (Rosenberg S.A. et al., *Nature Med.* 4: 321-7, 1998; Mukherji B. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 8078-82, 1995; Hu X. et al., *Cancer Res.* 56: 2479-83, 1996), actualmente sólo se dispone de un número muy limitado de AAT candidatos para el tratamiento del cáncer. Los AAT que se expresan abundantemente en las células de cáncer y cuya expresión se restringe a las células de cáncer serían candidatos prometedores a dianas inmunoterapéuticas.

Tanto HLA-A24 como HLA-A0201 son alelos HLA comunes en las poblaciones japonesa y caucásica (Date Y. et al., *Tissue Antigens* 47:93-101, 1996; Kondo A. et al., *J. Immunol.* 155:4307-12, 1995; Kubo R.T. et al., *J. Immunol.* 152:3913-24, 1994; Imanishi et al., *Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference*, Oxford University Press, Oxford, 1065, 1992; Williams F. et al., *Tissue Antigen* 49:129-33, 1997). De esta manera, los péptidos antigénicos de los cánceres presentados por dichos alelos HLA podrían resultar particularmente útiles en el tratamiento del cáncer en pacientes japoneses y caucásicos. Además, es conocido que la inducción de LTC de baja afinidad in vitro habitualmente resulta de la exposición a concentraciones elevadas de péptido, generando un nivel elevado de complejos específicos de péptido/CMH sobre células presentadoras de antígeno (CPA), las cuales pueden activar eficazmente estos LCT (Alexander-Miller et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 4102-7, 1996).

Los recientes avances en las tecnologías de micromatrices de ADNc han permitido construir perfiles completos de expresión génica de células malignas en comparación con las células normales (Okabe H. et al., *Cancer Res.* 61:2129-37, 2001; Lin Y.M. et al., *Oncogene* 21:4120-8, 2002; Hasegawa S. et al., *Cancer Res.* 62:7012-7, 2002). Este enfoque ha permitido comprender la compleja naturaleza de las células de cáncer y los mecanismos de carcinogénesis y ha facilitado la identificación de genes cuya expresión se encuentra desregulada en los tumores (Bienz M. et al., *Cell* 103:311-20, 2000). Entre los transcritos identificados como regulados positivamente en el cáncer, recientemente se han descubierto MPHOSPH1 (fosfoproteína 1 de etapa M, nº de acceso de GenBank NM_016195, SEC ID nº 1 y nº 2) y DEPDC1 (dominio DEP que contiene 1; nº de acceso de GenBank BM683578). Ver los documentos WO nº 2004/031413, nº 2006/085684 y nº 2007/013.665, el contenido completo de los cuales se incorpora como referencia en la presente memoria. DEPDC1 ha sido descrito en el contexto de dos variantes transcripcionales diferentes: DEPDC1 V1 (SEC ID nº 3, nº 4) y DEPDC1 V2 (SEC ID nº 5, nº 6). Se ha demostrado que estos genes se encuentran específicamente regulados positivamente en las células tumorales de los diversos tejidos de cáncer de los casos analizados (ver posteriormente); sin embargo, los análisis de transferencia northern demuestran que estos productos génicos no se encuentran en los órganos vitales normales (ver la solicitud de patente PCT nº JP2006/302684). En la medida en que los péptidos inmunogénicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1 puedan encontrar utilidad en la eliminación de células tumorales que expresan dichos antígenos, estos genes resultan de interés particular para los presentes inventores.

Debido a que los fármacos citotóxicos, tales como M-VAC, con frecuencia provocan reacciones adversas severas,

5 resulta evidente que la selección cuidadosa de nuevas moléculas diana basándose en mecanismo de acción bien
 10 caracterizados resulta importante en el desarrollo de fármacos anticáncer efectivos con un riesgo minimizado de
 efectos secundarios negativos. Con este objetivo, los inventores previamente llevaron a cabo un análisis del perfil de
 expresión de diversos cánceres y tejido humano normal, y descubrieron múltiples genes que se sobreexpresan
 específicamente en el cáncer (Lin Y.M. et al., *Oncogene* 21:4120-8, 13 de junio de 2002; Kitahara O. et al., *Cancer*
 15 *Res.* 61:3544-9, 1 de mayo de 2001; Suzuki C. et al., *Cancer Res.* 63:7038-41, 1 de nov. de 2003; Ashida S. et al.,
Cancer Res. 64:5963-72, 1 de sept. de 2004; Ochi K. et al., *Int. J. Oncol.* 2004 Mar;24(3):647-55.; Kaneta Y, et al.,
Int J Oncol. 23:681-91, sept. de 2003; Obama K., *Hepatology* 41:1339-48, junio de 2005; Kato T. et al., *Cancer Res.*
 20 65:5638-46, 1 de julio de 2005; Kitahara O. et al., *Neoplasia* 4:293-303, jul-ag. de 2002; Saito-Hisaminato A. et al.,
DNA Res. 9: 35-45, 2002). De ellos, MPHOSPH1 (nº interno C2093) y DEPDC1 (nº interno B5860N) fueron
 identificados como genes sobreexpresados en diversos cánceres. En particular, se identificó MPHOSPH1 como
 sobreexpresado en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer
 colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal y tumor de tejido
 25 blando. De manera similar, se identificó DEPDC1 como sobreexpresado en cáncer de vejiga, cáncer de mama,
 30 cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, SCL y tumor
 de tejido blando.

MPHOSPH1 fue identificado anteriormente como una de las proteínas fosforilada específicamente en la transición
 20 G2/M y caracterizado como una proteína relacionada con quinesina dirigida al extremo (+) (Abaza A. et al., *J. Biol.*
Chem. 278: 27844-52, 2003). Más particularmente, se ha documentado previamente que MPHOSPH1 es un motor
 molecular dirigido al extremo (+) que desempeña una función crucial en la citoquinesis y se acumula en la zona
 intermedia del huso entre la anafase y la telofase en las células HeLa (Abaza A. et al., *J. Biol. Chem.* 278: 27844-52,
 2003; Kamimoto T. et al., *J. Biol. Chem.* 276: 37520-8, 2001). El ADNc de MPHOSPH1 codifica una proteína de
 25 1.780 aminoácidos que está compuesta de tres dominios: un dominio motor NH₂-quinasina, un dominio central de
 hélice superenrollada-tallo y un dominio de cola C-globular. Conjuntamente, estos datos sugieren que MPHOSPH1
 es una proteína relacionada con quinesina de tipo NH₂.

Respecto a DEPDC1, sigue sin conocerse exactamente cuál es su función. El dominio DEP contenido en esta
 30 proteína también se encuentran en Dishevelled, Egl-10 y Pleckstrin. El dominio DEP en dishevelled de *Drosophila*
 desempeña un papel esencial en el rescate de defectos de polaridad plana e induce la señalización de JNK; sin
 embargo, todavía no se ha aclarado cuál es su función en el ser humano. Sin embargo, tal como se da a conocer en
 la solicitud de patente PCT nº JP2006/302684, los ARNip de DEPDC1 pueden suprimir el crecimiento de las células
 de cáncer. Estos resultados demuestran que DEPDC1 desempeña un papel importante en el crecimiento de la
 35 mayoría de las células de cáncer.

Descripción resumida de la invención

La invención se refiere a las realizaciones según se define en las reivindicaciones.

40 Tal como se ha indicado anteriormente, se ha identificado que MPHOSPH1 (fosfoproteína 1 de la etapa M) y
 DEPDC1 (dominio DEP que contiene 1) se encuentran regulados positivamente en diversos cánceres. Más
 particularmente, los genes han sido identificados utilizando el perfil de expresión génica con una micromatriz de
 ADNc para todo el genoma. Tal como se ha comentado anteriormente, se ha demostrado que la expresión de
 45 MPHOSPH1 y DEPDC1 se encuentra específicamente regulada positivamente en diversas células tumorales,
 incluyendo el cáncer de pulmón y el cáncer de vejiga. Tal como se describe en la Tabla 1, se ha demostrado que la
 expresión de MPHOSPH1 se encuentra válidamente elevada en 30 de 31 cánceres de vejiga, 8 de 36 cánceres de
 mama, 18 de 18 cánceres cervicales, 5 de 17 carcinomas colangiocelulares, 25 de 31 LMC, 6 de 11 cánceres
 colorrectales, 6 de 14 cánceres gástricos, 5 de 5 CPCNP, 7 de 7 linfomas, 6 de 10 osteosarcomas, 7 de 22 cánceres
 de próstata, 10 de 18 carcinomas renales y 15 de 21 tumores de tejido blando. Simultáneamente, se ha demostrado
 50 que la expresión de DEPDC1 se encuentra válidamente elevada en 23 de 25 cánceres de vejiga, 6 de 13 cánceres
 de mama, 12 de 12 cánceres cervicales, 6 de 6 carcinomas colangiocelulares, 3 de 4 LCM, 2 de 4 cánceres
 colorrectales, 6 de 6 CPCNP, 7 de 7 linfomas, 10 de 14 osteosarcomas, 11 de 24 cánceres de próstata, 14 de 14
 CPCP y 22 de 31 tumores de tejido blando, tal como se indica en la Tabla 1.

55 La presente exposición se basa, por lo menos en parte, en la identificación de péptidos epítipo específicos de los
 productos génicos de estos genes (MPHOSPH1 y DEPDC1) que presentan la capacidad de inducir linfocitos T
 citotóxicos (LTC) específicos de las moléculas correspondientes. Tal como se comenta en detalle posteriormente, las
 células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos fueron estimuladas con péptidos candidatos
 de unión a HLA-A*2402 y HLA-A*0201 derivados de MPHOSPH1 ó DEPDC1. A continuación, se establecieron
 60 clones y/o líneas de LTC con citotoxicidad específica para las células diana positivas para HLA-A24 ó HLA-A2
 pulsadas con cada uno de los péptidos candidatos. Estos resultados demuestran que estos péptidos son péptidos
 epítopos restringidos a HLAA24 ó HLA-A2 que pueden inducir respuestas inmunológicas potentes y específicas
 contra células que expresan MPHOSPH1 ó DEPDC1.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente invención proporciona métodos para tratar o prevenir una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo el cáncer. Dichos métodos implican la etapa de administrar en un sujeto que lo necesita, un polipéptido MPHOSPH1 y/o DEPDC1 de la invención. La administración de dicho péptido o péptidos resulta en la inducción de inmunidad antitumoral. De esta manera, la presente invención proporciona métodos para inducir inmunidad antitumoral en un sujeto, implicando dichos métodos la etapa de administrar en el sujeto un polipéptido MPHOSPH1 y/o DEPDC1, así como composiciones farmacéuticas para tratar o prevenir una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cáncer, que incluyen los polipéptidos MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Entre los cánceres ejemplares se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

Es decir, la presente invención incluye las realizaciones siguientes, y cualesquiera combinaciones de las mismas.

[1] Un péptido aislado que presenta inducibilidad de células T citotóxicas, en la que dicho péptido se deriva de la secuencia SEC ID nº 2, nº 4 ó nº 6.

[2] Un péptido aislado de menos de aproximadamente 15 aminoácidos seleccionados de entre el grupo que consiste de péptidos que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID nº 7, nº 8 y nº 12, o un péptido aislado que presenta inducibilidad de células T citotóxicas, en la que dichos péptidos comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 7, nº 8 y nº 12, en la que 1, 2 ó varios aminoácidos han sido sustituidos, delecionados o añadidos.

[3] El péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas de [2], en el que el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano.

[4] El péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas de [2], en el que el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.

[5] Un péptido aislado de menos de aproximadamente 15 aminoácidos seleccionados de entre el grupo que consiste de péptidos que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID nº 9, nº 10, nº 11, nº 192, nº 195, nº 197, nº 209, nº 225, nº 226, nº 228, nº 230, nº 240, nº 241, nº 243, nº 244, nº 253, nº 254 y nº 255 ó un péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas, en la que dichos péptidos comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 9, nº 10, nº 11, nº 192, nº 195, nº 197, nº 209, nº 225, nº 226, nº 228, nº 230, nº 240, nº 241, nº 243, nº 244, nº 253, nº 254 y nº 255, en las que 1, 2 ó varios aminoácidos han sido sustituidos, delecionados o añadidos

[6] El péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas de [5], en el que el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina.

[7] El péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas de [5], en el que el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

[8] Un vector en el que el ADN codifica péptidos de cualquiera de entre [1] y [7].

[9] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir una enfermedad asociada a la sobreexpresión de los genes de SEC ID nº 1, nº 3 y/o nº 5, comprendiendo dicha composición uno o más péptidos de cualquiera de entre [1] y [7].

[10] La composición farmacéutica de [9], en la que la enfermedad es cáncer.

[11] La composición farmacéutica de [10], en la que el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

[12] Un exosoma que presenta sobre su superficie un complejo que comprende un péptido cualquiera de entre [1] y [7] y un antígeno HLA.

[13] El exosoma de [12], en el que el antígeno HLA es HLA-A24.

[14] El exosoma de [13], en el que el antígeno HLA es HLA-A2402.

[15] El exosoma de [12], en el que el antígeno HLA es HLA-A2.

[16] El exosoma de [13], en el que el antígeno HLA es HLA-A0201.

5 [17] Un método de inducción de células presentadoras de antígeno que presenta una elevada inducibilidad de las células T citotóxicas, que comprende la etapa de poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido cualquiera de entre [1] y [7].

[18] Un método de inducción de células T citotóxicas mediante la puesta en contacto de una célula T con un péptido cualquiera de entre [1] y [7].

10 [19] Un método de inducción de células presentadoras de antígeno que presentan una elevada inducibilidad de las células T citotóxicas, que comprende la etapa de poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido cualquiera de entre [1] y [7].

15 [20] Una célula T citotóxica aislada, que se induce mediante la puesta en contacto de una célula T con un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 ó que se transduce con los ácidos nucleicos codificantes de los polipéptidos subunidades de RCT de unión a un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el contexto de HLA-A24 ó HLA-A2.

20 [21] Una célula presentadora de antígeno, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido cualquiera de entre [1] y [7].

[22] La célula presentadora de antígeno de [21], inducida mediante el método de [17].

25 [23] Una vacuna para inhibir la proliferación de células que expresan genes de SEC ID nº 1, nº 3 y/o nº 5, comprendiendo la vacuna un péptido cualquiera de entre [1] y [7] como ingrediente activo.

[24] La vacuna de [23], en la que la célula es una célula de cáncer

30 [25] La composición farmacéutica de [24], en la que el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando

[26] La vacuna de [23], formulada para la administración en un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24 ó HLA-A2

35 [27] Un método para tratar o prevenir una enfermedad asociada a la sobreexpresión de los genes de SEC ID nº 1, nº 3 y/o nº 5 en un sujeto, que comprende administrar en dicho sujeto una vacuna que comprende uno o más péptidos cualesquiera de entre [1] y [7], un fragmento inmunológicamente activo de los mismos, o un polinucleótido codificante de dicho péptido o fragmento inmunológicamente activo. [28] El método de [27], en el que la enfermedad es cáncer.

40 [29] El método de [28], en el que el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

45 Alternativamente, la presente invención se refiere además a un método de inducción de células T citotóxicas, que comprende la etapa de poner en contacto una célula T con la célula presentadora de antígeno producida mediante el método de [19].

50 Estos y otros objetivos y características de la invención se pondrán más de manifiesto tras la lectura de la descripción detallada siguiente conjuntamente con las figuras y ejemplos adjuntos. Sin embargo, debe entenderse que tanto la descripción resumida anteriormente proporcionada y la descripción detallada siguiente son de realizaciones preferentes, y que no es limitativa de la exposición u otras realizaciones alternativas de la exposición.

Breve descripción de los dibujos

55 [fig. 1] La figura 1A ilustra los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de péptidos epítomos que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) es un potente productor de IFN- γ . Los LTC para aquellos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos, posteriormente. Se muestran los LTC resultantes que presentan una actividad de LTC específica detectable. En particular, las células en el pocillo número 4 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-278 mostraron una producción potente de IFN- γ para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La figura 1B ilustra los resultados del ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de clones de LTC tras la dilución limitante (clon de LTC MPHOSPH1-A24-9-278). Se expandieron las células

en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como demuestran los resultados ilustrados, se determinaron cuáles eran los clones de LTC con actividades de LTC específicas más altas contra la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades contra la diana sin pulso de péptido.

5 [fig. 2] La figura 2A ilustra los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de citotoxicidad de péptidos epitopos que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID n° 8) es un potente productor de IFN- γ . Los LTC para aquellos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos, posteriormente. Se muestran los LTC resultantes que
10 presentan una actividad de LTC específica detectable. En particular, las células en el pocillo número 8 estimuladas con MPHOSPH1-A24-10-278 mostraron una producción potente de IFN- γ en comparación con el control. La figura 2B ilustra los resultados del ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de clones de LTC tras la dilución limitante (clon de LTC MPHOSPH1-A24-10-278). Se expandieron las células en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como demuestran los resultados ilustrados, se determinaron cuáles eran los clones de LTC con
15 actividades de LTC específicas más altas contra la diana pulsada con MPHOSPH1-A24-10-278 en comparación con las actividades contra la diana sin pulso de péptido.

[fig. 3] La figura 3A ilustra el establecimiento de los clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID n° 7). Este clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra las células diana (A24LCL) pulsadas con MPHOSPH1-A24-9-278, pero no mostró actividad de LTC significativa contra las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. La figura 3B ilustra el establecimiento de los clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID n° 8). Este clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra
20 las células diana (A24LCL) pulsadas con MPHOSPH1-A24-10-278, pero no mostró actividad de LTC significativa contra las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. R significa Respondedor: clon de LTC. S significa Estimulador: A24-LCL pulsado con péptido (1×10^4 /pocillo).

25 [fig. 4] La figura 4 ilustra la expresión de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID n° 7) sobre la superficie de las células diana con HLA-A24. La actividad específica de LTC contra COS7 transfectadas tanto con el gen MPHOSPH1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402 se sometió a ensayo utilizando como células efectoras el clon de LTC inducido por MPHOSPH1-A24-9-278. A modo de control se prepararon células COS7 transfectadas con MPHOSPH1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402 y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con MPHOSPH1 de longitud completa. El clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra las
30 COS7 transfectadas tanto con MPHOSPH1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad específica significativa de LTC contra COS7 transfectadas con MPHOSPH1 ni con HLA-A24. R significa Respondedor: clon de LTC. S significa Estimulador: COS7 transfectante (1×10^4 /pocillo).

35 [fig. 5] La figura 5 ilustra la actividad de LTC contra las líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan endógenamente MPHOSPH1. El clon de LTC establecido que había sido inducido con MPHOSPH1-A24-9-278 reconocía las células tumorales que expresaban endógenamente MPHOSPH1. Las células HT1376, RT-4 y J82 expresaban MPHOSPH1 endógenamente, respectivamente. El clon LTC mostró producción de IFN- γ contra HT
40 1376 que presentaban el genotipo HLA-A*2402, pero no mostraron respuesta contra RT-4 y J82, que no presentan el genotipo HLA-A*2402.

[fig. 6] La figura 6 ilustra el análisis de inmunogenicidad in vivo utilizando el péptido MPHOSPH1-A24-9-278. Se inyectó por vía subcutánea péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c los días 0 y 7. El día 14, se recolectaron esplenocitos de los ratones vacunados y se utilizaron como células respondedoras, mientras que se utilizaron 1×10^4
45 células RLmalel pulsadas con péptido MPHOSPH1-A24-9-278 como células estimuladoras en ensayo ELISPOT de IFN- γ . Para cada ratón se indican los recuentos de unidades formadoras de puntos (SFC); cinco ratones (Ani1~Ani5) se vacunaron con péptido epítipo y tres ratones (nega1~nega3) recibieron una inyección de emulsión IFA de tratamiento simulado a modo de control negativo.

50 [fig. 7] La figura 7 ilustra los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de péptidos epitopos que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID n° 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID n° 10) y MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID n° 11) presentan una potente actividad de producción de IFN- γ . Los LTC para aquellos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de
55 "Materiales y métodos" de los ejemplos, posteriormente. Se muestran los LTC resultantes que presentan una actividad de LTC específica detectable. En particular, la figura 7A demuestra que las células en los pocillos n° 1 y n° 5 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-282 mostraron una producción potente de IFN- γ suficiente para reconocer las células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La figura 7B demuestra que las células en el pocillo n° 8 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-638 mostraron una producción potente de IFN- γ suficiente para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La figura 7C demuestra que las
60 células en el pocillo n° 4 estimuladas con MPHOSPH1-A24-10-1714 mostraron una producción potente de IFN- γ suficiente para reconocer las células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control.

[fig. 8] La figura 8 ilustra el establecimiento de los clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A24-9-282 (SEC ID nº 9), MPHOSPH1-A02-9-638 (SEC ID nº 10) y MPHOSPH1-AU2-10-1714 (SEC ID nº 11). Se expandieron las células en el pocillo positivo y, tal como demuestran los resultados ilustrados, se establecieron las líneas de LTC que presentaban actividades específicas de LTC más altas contra la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-9-282 (A), la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-9-638 (B) o la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-10-1714 (C) en comparación con las actividades contra la diana sin péptido pulsado. R significa Respondedor: líneas de LTC. S significa Estimulador: T2 pulsado con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 9] La figura 9A ilustra los resultados del ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de clones de LTC tras la dilución limitante (clon de LTC MPHOSPH1-A2-9-282). Se expandieron las células en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como demuestran los resultados ilustrados, se establecieron los clones de LTC con actividades específicas de LTC más altas contra la diana pulsada con MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID nº 9) en comparación con las actividades contra la diana sin pulsado de péptido. La figura 9B ilustra el establecimiento de clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A02-9-282. El clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra las células diana (T2) pulsadas con MPHOSPH1-A2-9-282, pero no presentaba una actividad de LTC significativa contra las mismas células diana (T2) sin pulsado de péptido. R significa Respondedor: clon de LTC. S significa Estimulador: T2 pulsado con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 10] La figura 10A ilustra los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de péptidos epítomos que, a su vez, demuestran que DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12) es un potente productor de IFN- γ . Los LTC para aquellos péptidos derivados de DEPDC1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos, posteriormente. Se muestran los LTC resultantes que presentan una actividad de LTC específica detectable. En particular, las células en el pocillo número 10 estimuladas con DEPDC1-A24-9-294 mostraron una producción potente de IFN- γ para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La figura 10B ilustra los resultados del ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de clones de LTC tras la dilución limitante (clon de LTC DEPDC1-A24-9-294). Se expandieron las células en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como demuestran los resultados ilustrados, se determinaron cuáles eran los clones de LTC con actividades de LTC específicas más altas contra la diana pulsada con DEPDC1-A24-9-294 en comparación con las actividades contra la diana sin pulso de péptido.

[fig. 11] La figura 11 ilustra el establecimiento de los clones de LTC estimulados con DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12). Este clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra las células diana (A24LCL) pulsadas con DEPDC1-A24-9-294, pero no mostró actividad de LTC significativa contra las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. R significa Respondedor: clon de LTC DEPDC-A24-9-294. S significa Estimulador: A24-LCL pulsado con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 12] La figura 12 ilustra la expresión de DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12) sobre la superficie de las células diana con HLA-A24. La actividad específica de LTC contra COS7 transfectadas tanto con el gen DEPDC1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402 se sometió a ensayo utilizando como células efectoras el clon de LTC inducido por DEPDC1-A24-9-294. A modo de controles se prepararon células COS7 transfectadas con DEPDC1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402 y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con DEPDC1 de longitud completa. El clon de LTC establecido demostró una elevada actividad específica de LTC contra las COS7 transfectadas tanto con DEPDC1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad específica significativa de LTC contra COS7 transfectadas con DEPDC1 ni con HLA-A24. R significa Respondedor: Clon de LTC DEPDC1-A24-9-294. S significa Estimulador: COS7 transfectante (1×10^4 /pocillo).

[fig. 13] La figura 13 ilustra la actividad de LTC contra líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan endógenamente DEPDC1. El clon de LTC establecido que había sido inducido con péptido DEPDC1-A24-9-294 reconoce células tumorales que expresan endógenamente DEPDC1. Las células HT1376, RT-4 y J82 expresaban DEPDC1 endógenamente, respectivamente. El clon de LTC mostró producción de IFN- γ contra HT1376 que presentaba el genotipo HLA-A*2402, pero no mostró respuesta contra RT-4 y J82, que no presentan el genotipo HLA-A*2402.

[fig. 14] La figura 14 ilustra el análisis de inmunogenicidad in vivo utilizando el péptido DEPDC1-A24-9-294. Se inyectó por vía subcutánea péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c los días 0 y 7. El día 14, se recolectaron esplenocitos de ratones vacunados y se utilizaron como células respondedoras y se utilizaron 1×10^4 células RLMale1 pulsadas con péptido DEPDC1-A24-9-294 como células estimuladoras para el ensayo ELISPOT de IFN- γ . Para cada ratón se realizaron recuentos de unidades formadoras de puntos (SFC); cinco ratones (Ani1~Ani5) se vacunaron con péptido epítomo y dos ratones (nega1 y nega2) recibieron una inyección de emulsión IFA de tratamiento simulado a modo de control negativo.

[fig. 15] La figura 15 ilustra una potente producción de IFN- γ de DEPDC1-A02-10-644,-10-575,-10-506,-10-765,-10-395,-10-224,-9-297,-10-296 y -10-302 mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ para el cribado de péptidos epítomos.

Las LTC de los péptidos derivados de DEPDC1 se generaron de la manera descrita en "Materiales y métodos". Las células en los pocillos nº 4 y nº 7 estimuladas con DEPDC1-A02-10-644, nº 2 con DEPDC1-A02-10-575, nº 7 con DEPDC1-A02-10-506, nº 1 con DEPDC1-A02-10-765 y nº 1 con DEPDC1-A02-10-395, nº 1 y nº 2 con DEPDC1-A02-10-224, nº 4 con DEPDC1-A02-9-297, nº 3 y nº 4 con DEPDC1-A02-10-296 y nº 2, nº 3, nº 5 y nº 7 con DEPDC1-A02-10-302 mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control.

[fig. 16] La figura 16 ilustra la producción de IFN- γ de la línea de LTC generada con el péptido DEPDC1-A02-10-296. Las líneas de LTC establecidas que se indujeron con el péptido DEPDC1-A02-10-296 presentaban una potente actividad de producción de IFN- γ . Se demostró una potente producción de IFN- γ contra las células diana pulsadas con péptido, pero no se demostró contra las células diana sin pulsado de péptido. Las células diana utilizadas fueron células T2, que expresaban la molécula HLA-A2 en la superficie celular.

[fig. 17] La figura 17 ilustra la actividad de LTC contra dianas que expresan endógenamente la molécula DEPDC1 y HLA-A2. Se demuestra en el panel superior que la línea de LTC establecida que se había generado con el péptido DEPDC1-A02-10-296 presentaba actividad de producción de IFN- γ contra las células diana que expresaban endógenamente DEPDC1V2 y HLA-A2. Se muestra en el panel inferior el caso de la utilización de péptido DEPDC1-A02-10-296. A modo de control negativo se prepararon las células diana que expresaban únicamente DEPDC1V2 y que expresaban únicamente HLA-A2 con tratamiento de pulso de péptido DEPDC1V1-9-674 ó DEP-9-462. Las células diana se prepararon a partir de HEK293 transfectante que expresaba establemente HLA-A2 ó simuladas.

[fig. 18] La figura 18 ilustra la expresión de antígeno en el Caso 2. En el Caso 2, se expresaron fuertemente tanto MPHOSPH1 como DEPDC1. Por lo tanto, se utilizaron para las vacunaciones dos tipos de péptidos epítomos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

[fig. 19] La figura 19 ilustra la evaluación clínica de recurrencia local de cáncer de vejiga en el Caso 2. El caso 2 se evaluó como enfermedad estable (EE) según los criterios RECIST.

[fig. 20] La figura 20 ilustra la expresión de antígenos en el Caso 3. En el Caso 3, se expresaba fuertemente DEPDC1. Por lo tanto, se utilizó para las vacunas el péptido epítomo derivado de DEPDC1 únicamente.

[fig. 21] La figura 21 ilustra la evaluación clínica del lóbulo derecho del pulmón metastásico en el Caso 3. Se redujo la tasa de progresión tras la vacunación. Especialmente se redujo el tamaño del tumor tras los terceros cursos de tratamiento.

[fig. 22] La figura 22 ilustra la evaluación clínica del lóbulo izquierdo del pulmón metastásico en el Caso 3. Se redujo la tasa de progresión tras la vacunación. Especialmente se redujo el tamaño del tumor tras los terceros cursos de tratamiento.

[fig. 23] La figura 23 ilustra el efecto antitumoral en el Caso 3. Se redujo la tasa de progresión del tumor metastásico tras la vacunación.

[fig. 24] La figura 24 ilustra la respuesta específica de TCL en el Caso 3. Se manifestó una fuerte respuesta específica de TCL tras la vacunación.

[fig. 25] La figura 25 ilustra la expresión de antígeno en el Caso 4. En el Caso 4, se expresaron tanto MPHOSPH1 como DEPDC1. Por lo tanto, se utilizaron para las vacunaciones dos tipos de péptidos epítomos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

[fig. 26] La figura 26 ilustra la evaluación clínica de recurrencia local de cáncer de vejiga en el Caso 4. El tamaño del tumor se redujo en 20% según los criterios RECIST tras el primer curso de vacunación.

Descripción detallada de la invención

Los términos "un", "una" y "el" o "la" tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a "por lo menos uno", a menos que se indique específicamente lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan los mismos significados entendidos por el experto ordinario en la materia a la que se refiere la presente invención.

La identificación de nuevos AAT, particularmente aquellos que inducen respuestas inmunológicas antitumorales potentes y específicas, justifica un desarrollo posterior de la aplicación clínica de la estrategia de vacunación con péptidos en diversos tipos de cáncer (Boon T. et al., J. Exp. Med. 183: 725-9, 1996; van der Bruggen P. et al., Science 254: 1643-7, 1991; Brichard V. et al., J. Exp. Med. 178: 489-95, 1993; Kawakami Y. et al., J. Exp. Med. 180:

347-52, 1994), Shichijo S. et al., J. Exp. Med. 187:277-88, 1998; Chen Y.T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914-8, 1997; Harris C.C., J. Natl. Cancer Inst. 88: 1442-55, 1996; Butterfield L.H. et al., Cancer Res. 59:3134-42, 1999; Vissers J.L. et al., Cancer Res. 59: 5554-9, 1999; van der Burg S.H. et al., J. Immunol. 156:3308-14, 1996; Tanaka F. et al., Cancer Res. 57:4465-8, 1997; Fujie T. et al., Int. J. Cancer 80:169-72, 1999; Kikuchi M. et al., Int. J. Cancer 81: 459-66, 1999; Oiso M. et al., Int. J. Cancer 81:387-94, 1999). Tal como se ha indicado anteriormente, MPHOSPH1 (fosfoproteína 1 de la etapa M; nº de acceso de GenBank NM_016195; SEC ID nº 1 y nº 2) y DEPDC1 (dominio DEP que contiene 1; nº de acceso de GenBank BM683578), más particularmente sus dos variantes DEPDC1V1 (SEC ID nº 3 y nº 4) y DEPDC1V2 (SEC ID nº 5 y nº 6) se identificaron previamente utilizando tecnologías de micromatrices de ADNc como sobreexpresados en diversos cánceres. MPHOSPH1 fue identificado anteriormente como una de las proteínas fosforilada específicamente en la transición G2/M y caracterizado como una proteína relacionada con quinesina dirigida al extremo (+) (Abaza A. et al., J. Biol. Chem. 278: 27844-52, 2003). Más particularmente, se ha documentado previamente que MPHOSPH1 es un motor molecular dirigido al extremo (+) que desempeña una función crucial en la citocinesis y se acumula en la zona intermedia del huso entre la anafase y la telofase en las células HeLa (Abaza A. et al., J. Biol. Chem. 278: 27844-52, 2003; Kamimoto T. et al., J. Biol. Chem. 276: 37520-8). El ADN de MPHOSPH1 codifica una proteína de 1.780 aminoácidos que está compuesta de tres dominios: un dominio motor NH2-quinasa, un dominio central de hélice superenrollada-tallo y un dominio de cola C-globular. Conjuntamente, estos datos sugieren que MPHOSPH1 es una proteína relacionada con quinesina de tipo NH2.

La función de la proteína DEPDC1 sigue sin estar clara. El dominio DEP contenido en esta proteína también se encuentra en Dishevelled, Egl-10 y Pleckstrin. En particular, el dominio DEP en Dishevelled de Drosophila desempeña un papel esencial en el rescate de defectos de polaridad plana e induce la señalización de JNK; sin embargo, todavía no se ha aclarado cuál es su función en el ser humano. Sin embargo, tal como se da a conocer en la solicitud de patente PCT nº JP2006/302684, DEPDC1 (referencia interna nº B5860N) presenta dos variantes transcripcionales diferentes de 12 y 11 exones, correspondientes a DEPDC1 V1 y V2, respectivamente. Se observaron variaciones alternativas en el exón 8 de V1 y se encontró que los demás exones eran comunes a ambas variantes. La variante V2 no presenta el exón 8 de V1, pero genera el mismo codón de parada dentro del último exón. Las secuencias de ADNc de longitud completa de las variantes B5860NV1 y B5860NV2 consisten de 5.318 y 4.466 nucleótidos, respectivamente. Los marcos de lectura abierta (MLA) de dichas variantes se inician dentro de cada exón 1. Finalmente, los transcritos de V1 y V2 codifican 811 y 527 aminoácidos, respectivamente. Los ARNip suprimieron el crecimiento de las células de cáncer. Estos resultados demuestran que DEPDC1 desempeña un papel importante en el crecimiento de la mayoría de células de cáncer.

Tal como se da a conocer en la solicitud de patente PCT nº JP2006/302684, MPHOSPH1 y DEPDC1 se encuentran sobreexpresados en el cáncer de vejiga pero muestran una expresión mínima en los tejidos normales. Además, se encontró que estos genes presentaban una función significativa relacionada con la proliferación celular.

En la presente invención, se demuestra que los péptidos derivados de MPHOSPH1 ó de DEPDC1 son epítopos de AAT restringidos por HLA-A24 y HLA-A2, un alelo de HLA observado comúnmente en las poblaciones japonesas y caucásicas. Específicamente, utilizando sus afinidades de unión a HLA-A24 y a HLA-A2, se identificaron los candidatos a péptidos de unión a HLA-A24 y a HLA-A2 derivados de MPHOSPH1 ó de DEPDC1. Tras la estimulación in vitro de las células T por parte de las células dendríticas (CD) cargadas con dichos péptidos, se establecieron con éxito LTC utilizando MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID nº 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID nº 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID nº 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID nº 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID nº 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID nº 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID nº 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID nº 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID nº 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID nº 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID nº 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID nº 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)), DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID nº 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID nº 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID nº 195)), DEPDC 1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID nº 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID nº 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEEV (SEC ID nº 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID nº 228)) y DEPDC1-A2-10-302 (ILVVCGYITV (SEC ID nº 230)). Estas LTC demostraron una potente actividad citotóxica contra las células A24LCL y T2 pulsadas con péptido. Además, los clones de TLC derivados de estas células también demostraron una citotoxicidad específica contra células positivas para HLAA24 ó HLA-A2 que expresaban MPHOSPH1 ó DEPDC1, respectivamente. Sin embargo, dichos clones de TLC no expresaban actividad citotóxica contra células que presentaban expresión de únicamente uno de los péptidos, incluyendo HLA-A24, HLA-A2, MPHOSPH1 y DEPDC-1. Conjuntamente, estos resultados sugieren la utilidad de MPHOSPH-1 y DEPDC1 como AAT de células de cáncer y que MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID nº 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYT1EYIYDLF (SEC ID nº 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID nº 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID nº 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID nº 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID nº 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID nº 241)),

DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID nº 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID nº 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID nº 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV(SEC ID nº 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID nº 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)), DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID nº 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID nº 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID nº 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID nº 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID nº 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID nº 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID nº 228)) y DEPDC1-A2-10-302 (ILWCGYITV (SEC ID nº 230)) son péptidos epítomos de cada AAT restringido por HLA-A24 ó HLA-A2. Debido a que estos antígenos se sobreexpresan en la mayoría de cánceres y se asocian a la proliferación de células tumorales, resultan útiles como dianas inmunoterapéuticas contra cánceres. Entre los cánceres ejemplares se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente exposición proporciona además métodos de tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC-1, por ejemplo cánceres, en un sujeto, incluyendo dichos métodos las etapas de administrar en un sujeto que lo necesita, un péptido inmunogénico de menos de aproximadamente 40 aminoácidos, con frecuencia de menos de aproximadamente 20 aminoácidos, habitualmente de menos de aproximadamente 15 aminoácidos y que presenta la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255. Alternativamente, el péptido inmunogénico puede estar compuesto de una secuencia SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255, en la que 1, 2 ó varios (por ejemplo hasta 5) aminoácidos han sido sustituidos, delecionados o añadidos, con la condición de que el péptido variante resultante conserve la actividad inmunogénica (es decir, la capacidad de inducir LTC específicas de células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres). El número de residuos que debe sustituirse, delecionarse o añadirse es generalmente de 5 aminoácidos o menos, preferentemente de 4 aminoácidos o menos, más preferentemente de 3 aminoácidos o menos, todavía más preferentemente de uno o dos aminoácidos. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

Es conocido que los péptidos variantes (es decir, péptidos que presentan una secuencia de aminoácidos modificados mediante sustitución, deleción o adición de uno, dos o varios residuos aminoácidos respecto a una secuencia de aminoácidos original) conservan la actividad biológica original (Mark D.F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 5662-6, 1984; Zoller M.J. y Smith M., Nucleic Acids Res. 10:6487-500, 1982; Dalbadie-McFarland G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 6409-13, 1982). En el contexto de la presente exposición, resulta preferible que la modificación de aminoácidos resulte en la conservación de las propiedades de la cadena lateral de aminoácidos original (un proceso conocido como sustitución conservadora de aminoácidos). Entre los ejemplos de propiedades de las cadenas laterales de aminoácidos se incluyen los aminoácidos hidrofóbicos (A, I, L, M, F, P, W, Y, V), los aminoácidos hidrofílicos (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T) y las cadenas laterales que presentan los grupos o características funcionales siguientes en común: una cadena lateral alifática (G, A, V, L, I, P), una cadena lateral que contiene grupo hidroxilo (S, T, Y), una cadena lateral que contiene un átomo de azufre (C, M), un ácido carboxílico y una cadena lateral que contiene amida (D, N, E, Q), una cadena lateral que contiene base (R, K, H) y una cadena lateral que contiene un aromático (H, F, Y, W). Las letras entre paréntesis indican los códigos de una letra de los aminoácidos.

En realizaciones preferentes, el péptido inmunogénico es un nonapéptido (9-mero) o un decapéptido (10-mero).

La expresión invención proporciona además un método para inducir inmunidad antitumoral frente a una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, en un sujeto, incluyendo dicho método las etapas de administrar en un sujeto que lo necesita, un péptido inmunogénico de la presente invención, es decir, uno que presente la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255 ó una variante de las mismas (es decir, que incluye 1, 2 ó varias sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos). Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

En el contexto de la presente exposición, el sujeto preferentemente es un mamífero. Entre los mamíferos ejemplares se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, por ejemplo, un ser humano, un primate no humano, un ratón, una rata, un perro, un gato, un caballo o una vaca.

En la presente exposición, el péptido puede administrarse en un sujeto mediante un protocolo in vivo o ex vivo. Además, la presente exposición proporciona además la utilización de un nonapéptido o decapéptido seleccionado de

entre péptidos que presentan la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255 (y variantes de las mismas) para preparar una composición inmunogénica para el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 5 cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

Análisis de homología de MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYD (SEC ID nº 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID nº 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID nº 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID nº 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID nº 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)), DEPDC1-A02-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID nº 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID nº 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID nº 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID nº 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID nº 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID nº 228)), DEPDC1-A2-10-302 (ILVVCGYITV (SEC ID nº 230)) DEPDC1-A02-10-644 (SLMihTFSRC (SEC ID nº 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT(SEC ID nº 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID nº 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID nº 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID nº 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID nº 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID nº 226)), DEPDC1-A02-10-296(YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) y DEPDC1-A02-10-301(NIL- 10 GLLQPHL (SEC ID nº 255)) demuestran que no presentan homología significativa con los péptidos derivados de cualesquiera productos génicos humanos conocidos. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la posibilidad de respuestas inmunológicas desconocidas o no deseables con la inmunoterapia contra estas moléculas se reduce significativamente.

Con respecto a los antígenos HLA, los datos presentados en la presente memoria demuestran que los usos de los antígenos de tipo A-24 ó de tipo A-2 (que se considera que se expresan a nivel elevado entre los japoneses) son favorables a la obtención de resultados efectivos. Los usos de subtipos tales como A-2402 y A-0201 resultan todavía más preferibles. Típicamente, en la clínica, el tipo de antígeno HLA del paciente que requiere tratamiento se investiga previamente, lo que permite, a su vez, seleccionar los péptidos apropiados, que presentan niveles elevados de afinidad de unión para el antígeno del paciente, o que presentan inducibilidad de células T citotóxicas (CTC) mediante presentación de antígeno. Además, con el fin de obtener péptidos con elevada afinidad de unión e inducibilidad de CTC, puede llevarse a cabo la sustitución, delección o adición de 1, 2 ó varios aminoácidos basándose en la secuencia de aminoácidos del péptido parcial MPHOSPH1 y DEPDC1 natural. En la presente memoria, el término "varios" se refiere a 5 ó menos, más preferentemente 3 ó menos. Además, adicionalmente a los péptidos que se expresan naturalmente, debido a que la regularidad de las secuencias de péptidos expresados mediante la unión a antígenos HLA ya es conocida (Kubo R.T. et al., J. Immunol. 152:3913-24, 1994; Rammensee H.G. et al., Immunogenetics 41:178-228, 1995; Kondo A. et al., J. Immunol. 155:4307-12, 1995), pueden llevarse a cabo modificaciones basadas en dicha regularidad respecto a los péptidos inmunogénicos de la invención. Por ejemplo, pueden utilizarse favorablemente péptidos que presentan una afinidad de unión a HLA-24 elevada, en la que el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal ha sido sustituido por fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano. De manera similar, también pueden utilizarse favorablemente péptidos cuyo aminoácido C-terminal se ha sustituido por fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina. Por otra parte, pueden utilizarse favorablemente los péptidos que presentan una afinidad de unión a HLA-A2 elevada en los que el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal ha sido sustituido por leucina o metionina, y los péptidos cuyo aminoácido C-terminal ha sido sustituido por valina o leucina. Además, pueden añadirse 1 a 2 aminoácidos al extremo N-terminal y/o C-terminal del péptido. 25 30 35 40 45

Sin embargo, en el caso de que la secuencia del péptido sea idéntica a una parte de la secuencia de aminoácidos de una proteína endógena o exógena que presenta una función diferente, pueden inducirse efectos secundarios, tales como trastornos autoinmunológicos o síntomas alérgicos contra sustancias específicas. Por lo tanto, resulta preferible evitar la situación en la que la secuencia inmunogénica se corresponde con la secuencia de aminoácidos de una proteína conocida. Esta situación puede evitarse llevando a cabo una búsqueda de homología utilizando las bases de datos disponibles. En el caso de que las búsquedas de homología confirmen que los péptidos en los que no existen 1, 2 ó varios aminoácidos diferentes en la naturaleza, puede evitarse el riesgo de que las modificaciones de la secuencia de aminoácidos anteriormente indicada incremente, por ejemplo, la afinidad de unión para los antígenos HLA y/o incremente la inducibilidad de los LTC. 50 55

Aunque los péptidos que presentan una afinidad de unión elevada para los antígenos HLA tal como se ha indicado anteriormente se espera que resulten altamente efectivos como vacunas del cáncer, los péptidos candidatos, que se seleccionan según la presencia de alta afinidad de unión como indicador, deben examinarse para la presencia real de inducibilidad de los LTC. La inducibilidad de los LTC puede confirmarse rutinariamente mediante la inducción de células presentadoras de antígeno que portan antígenos del CMH humano (por ejemplo linfocitos B, macrófagos y células dendríticas), o más específicamente células dendríticas derivadas de leucocitos mononucleares sanguíneos periféricos y, tras la estimulación con el péptido de interés, la mezcla con células CD8-positivas y la medición de la 60

actividad citotóxica contra las células diana. Como sistema de reacción, pueden utilizarse animales transgénicos producidos para expresar un antígeno HLA humano (por ejemplo los descritos en BenMohamed L. et al., Hum. Immunol. 61(8):764-79, 2000; artículos y libros relacionados, Linkout.). Por ejemplo, las células diana pueden marcarse radioactivamente con ⁵¹Cr y similares, y la actividad citotóxica puede calcularse a partir de la radioactividad liberada de las células diana. Alternativamente, puede examinarse a partir de la medición del IFN-γ producido y liberado por las LTC en presencia de células presentadoras de antígeno que portan péptidos inmovilizados y visualizar la zona de inhibición en el medio utilizando anticuerpos monoclonales anti-IFN-γ.

Como resultado del examen de la inducibilidad de los LTC de los péptidos tal como se ha indicado anteriormente, se descubrió que aquellos péptidos que presentaban una afinidad de unión elevada para un antígeno HLA no presentaban necesariamente una inducibilidad elevada. Sin embargo, los nonapéptidos o decapeptidos seleccionados de entre el grupo de péptidos que presentan las secuencias de aminoácidos indicadas por IYNEYIYDL (SEC ID nº 7), IYNEYIYDLF (SEC ID nº 8), YIYDLFVPV (SEC ID nº 9), RLAIFKDLV (SEC ID nº 10), TMSSSKLSNV (SEC ID nº 11), EYYELFVNI (SEC ID nº 12), LLQPHLERV (SEC ID nº 192), LLMRMISRM (SEC ID nº 195), LLTFEYYEL (SEC ID nº 197), RLCKSTIEL (SEC ID nº 209), CVLCCAEEV (SEC ID nº 225), FLMDHHQEIL (SEC ID nº 228), ILVVCGYITV (SEC ID nº 230) DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID nº 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID nº 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID nº 243)), DEPDC1A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID nº 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID nº 249)), DEPDC1-A02-10-224(NMANTSKRGV (SEC ID nº 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID nº 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) y DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID nº 255)) mostraron una inducibilidad de LTC particularmente elevada.

Tal como se ha indicado anteriormente, la presente exposición proporciona péptidos que presentan inducibilidad de células T citotóxicas, es decir aquellos que presentan la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255, o una variante de las mismas (es decir, aquellas en las que 1, 2 ó varios aminoácidos han sido sustituidos, delecionados o añadidos). Resulta preferible que las secuencias de aminoácidos compuestas de 9 ó 10 aminoácidos indicadas en SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255 ó una variante de las mismas no coincida con una secuencia de aminoácidos asociada a otra proteína endógena. En particular, la sustitución de un aminoácido por leucina o metionina en el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal, la sustitución de un aminoácido por valina o leucina en el aminoácido C-terminal y la adición de 1 a 2 aminoácidos al extremo N-terminal y/o C-terminal son ejemplos de variantes preferentes. El experto en la materia reconocerá que, además de sustituciones y adiciones de aminoácidos, también pueden utilizarse fragmentos inmunológicamente activos en los métodos de la invención. Los métodos para determinar los fragmentos activos son bien conocidos de la técnica. Los clones de LTC obtenidos mediante la estimulación por dichos péptidos modificados pueden reconocer los péptidos originales y provocar daños en las células que expresan los péptidos originales.

Los péptidos de la presente invención pueden prepararse utilizando técnicas bien conocidas. Por ejemplo, los péptidos pueden prepararse sintéticamente, utilizando tecnología de ADN recombinante o la síntesis química. Los péptidos de la presente invención pueden sintetizarse individualmente o en forma de polipéptidos más largos que comprenden dos o más péptidos. Los péptidos de la presente invención preferentemente han sido aislados, es decir, se encuentran sustancialmente libres de otras proteínas naturales de la célula huésped y fragmentos de las mismas.

Los péptidos de la presente invención pueden contener modificaciones, tales como glucosilaciones, oxidaciones de cadenas laterales o fosforilaciones, con la condición de que las modificaciones no destruyan la actividad biológica de los péptidos indicados en la presente memoria, es decir, la capacidad de unirse a un antígeno HLA e inducir los LTC. Entre otras modificaciones se incluyen la incorporación de D-aminoácidos u otros miméticos de aminoácidos que pueden utilizarse, por ejemplo, para incrementar la vida media en suero de los péptidos.

Los péptidos de la presente invención pueden prepararse en forma de una combinación, que incluye dos o más péptidos de la invención, para la utilización como vacuna para una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSP1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, tal como una vacuna inductora de LTC in vivo. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando. Los péptidos pueden encontrarse en un cóctel o pueden conjugarse entre sí utilizando técnicas estándares. Por ejemplo, los péptidos pueden expresarse en forma de una única secuencia polipeptídica. Los péptidos en la combinación pueden ser iguales o diferentes. Mediante la administración de los péptidos de la presente invención, los péptidos se presentan a una densidad elevada sobre los antígenos HLA de las células presentadoras de antígeno, las cuales, a su vez, inducen los LTC que reaccionan específicamente con el complejo formado entre el péptido expresado y el antígeno HLA. Alternativamente, las células presentadoras de antígeno, las cuales presentan inmovilizados sobre su superficie celular los péptidos de la presente invención, obtenidas mediante extracción de células dendríticas de los sujetos, pueden ser estimuladas con los péptidos de la presente invención. La nueva administración de estas células en los sujetos respectivos induce los

LTC y, como resultado, puede incrementarse la agresividad hacia las células diana.

Más específicamente, la presente invención proporciona fármacos para tratar y/o prevenir la proliferación, metástasis y similares de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, que incluyen uno o más de los péptidos de la presente invención. Los péptidos dados a conocer resultan particularmente útiles en el tratamiento de una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

Los péptidos dados a conocer pueden administrarse en un sujeto directamente, en forma de una composición farmacéutica que ha sido formulada mediante métodos de formulación convencionales. En estos casos, la adición a los péptidos de la presente invención de portadores, excipientes y similares que se utilizan habitualmente para los fármacos puede incluirse según resulte apropiado, sin limitaciones particulares. Las composiciones inmunogénicas de la presente invención puede utilizarse para el tratamiento y prevención de una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.

Las composiciones inmunogénicas para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, que comprenden como ingrediente activo uno o más péptidos de la presente invención, pueden incluir además un adyuvante, de manera que puede establecerse eficazmente la inmunidad celular. Alternativamente, pueden administrarse con otros ingredientes activos, tales como agentes anticáncer. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando. Entre las formulaciones adecuadas se incluyen gránulos. Se describen adyuvantes adecuados en la literatura (Johnson A.G., Clin. Microbiol. Rev. 7:277-89, 1994). Entre los adyuvantes ejemplares se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio y alúmina. Además, pueden utilizarse convenientemente formulaciones de liposomas, formulaciones granulares en las que el fármaco se encuentra unido a perlas de unos cuantos micrómetros de diámetro y formulaciones en las que se une un lípido al péptido. El método de administración puede ser oral, o la inyección intradérmica, subcutánea o intravenosa, o similar, y puede incluir la administración sistémica o la administración local en un área próxima al tumor diana. La dosis del péptido o péptidos de la presente invención puede ajustarse apropiadamente según la enfermedad que debe tratarse, la edad y peso del paciente, el método de administración, y similares. Aunque la dosis habitualmente es de 0,001 mg a 1.000 mg, preferentemente de 0,01 mg a 100 mg, más preferentemente de 0,1 mg a 10 mg, preferentemente administrada una vez en unos cuantos días a unos cuantos meses, el experto en la materia podrá seleccionar fácilmente la dosis y método de administración apropiados, ya que la selección y optimización de dichos parámetros se encuentra perfectamente dentro de los conocimientos del experto rutinario en la materia.

La presente invención proporciona además vesículas intracelulares denominadas exosomas, que presentan complejos formados entre los péptidos de la presente invención y antígenos HLA sobre su superficie. Los exosomas pueden prepararse, por ejemplo, mediante la utilización de los métodos descritos en detalle en la traducción japonesa publicada de las publicaciones internacionales nº Hei 11-510507 y nº 2000-512161, y preferentemente se preparan utilizando células presentadoras de antígenos obtenidas de sujetos que son dianas de tratamiento y/o prevención. Los exosomas de la presente invención pueden inocularse como vacunas del cáncer, de manera similar a los péptidos de la presente invención.

El tipo de antígenos HLA utilizados debe coincidir con el del sujeto que requiere tratamiento y/o prevención. Por ejemplo, en la población japonesa, HLA-A24 ó HLA-A2, particularmente HLA-A2402 ó HLA-A0201, con frecuencia resulta apropiado.

En algunas realizaciones, las composiciones de vacuna de la presente invención incluyen un componente que sensibiliza los linfocitos T citotóxicos. Los lípidos han sido identificados como agentes capaces de sensibilizar los LTC in vivo frente a los antígenos víricos. Por ejemplo, pueden unirse residuos de ácido palmítico a los grupos ϵ -amino y α -amino de un residuo de lisina y después unirse a un péptido inmunogénico de la invención. El péptido lipidado seguidamente puede administrarse directamente, en una micela o partícula, incorporado en un liposoma, o emulsionado en un adyuvante. A título de ejemplo alternativo de un lípido sensibilizador de respuestas de LTC, pueden utilizarse lipoproteínas de E. coli, tales como tripalmitoil-S-glicerilcisteinilseril-serina (P3CSS) para sensibilizar los LTC cuando se encuentran unidos covalentemente a un péptido apropiado (ver, por ejemplo, Deres K. et al., Nature 342:561-4, 1989).

Las composiciones inmunogénicas de la presente invención también pueden incluir ácidos nucleicos codificantes de uno o más de los péptidos inmunogénicos dados a conocer en la presente memoria. Ver, por ejemplo, Wolff J.A. et al., Science 247:1465-8, 1990; patentes US nº 5.580.859, nº 5.589.466, nº 5.804.566, nº 5.739.118, nº 5.736.524, nº 5.679.647 y documento WO nº 98/04720. Entre los ejemplos de tecnologías de administración basadas en ADN se incluyen el "ADN desnudo" la administración facilitada (bupivacaína, polímeros, mediada por péptidos), los complejos lipídicos catiónicos y la administración mediada por partículas ("pistolas génicas") o mediada por presión (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.922.687).

Los péptidos inmunogénicos dados a conocer también pueden ser expresados por vectores víricos o bacterianos. Entre los ejemplos de vectores de expresión adecuados se incluyen huéspedes víricos atenuados, tales como el virus Vaccinia o el de la viruela aviar. Este enfoque implica la utilización del virus Vaccinia, por ejemplo como vector para expresar secuencias de nucleótidos que codifican el péptido. Tras la introducción en un huésped, el virus Vaccinia recombinante expresa el péptido inmunogénico y de esta manera induce una respuesta inmunológica. Los vectores Vaccinia y los métodos que resultan útiles en los protocolos de inmunización se describen en, por ejemplo, la patente US nº 4.722.848. Otro vector adecuado es BCG (Bacille Calmette Guerin). Los vectores BCG se describen en Stover C.K. et al., Nature 351:456-60, 1991. Se conoce de la técnica una amplia diversidad de otros vectores útiles para la administración terapéutica o la inmunización, por ejemplo vectores adenovíricos o adenoasociados, vectores retrovíricos, vectores Salmonella typhi, vectores de toxina del ántrax destoxificada y similares. Ver, por ejemplo, Shata M.T. et al., Mol. Med. Today 6:66-71, 2000; Shedlock D.J. y Weiner D.B. et al., J. Leukoc. Biol. 68:793-806, 2000, y Hipp J.D. et al., In vivo 14:571-85, 2000.

La presente invención proporciona además métodos de inducción de células presentadoras de antígeno utilizando uno o más péptidos de la presente invención. Las células presentadoras de antígenos pueden inducirse mediante la inducción de células dendríticas procedentes de monocitos de sangre periférica seguido de su puesta en contacto (estimulación) con uno o más péptidos dados a conocer in vitro, ex vivo o in vivo. Al administrar péptidos de la presente invención en los sujetos, las células presentadoras de antígenos que presentan los péptidos de la presente invención inmovilizados en ellas resultan inducidas en el cuerpo del sujeto. Alternativamente, tras inmovilizar los péptidos de la presente invención en las células presentadoras de antígenos, las células pueden administrarse en el sujeto en forma de una vacuna. Por ejemplo, la administración ex vivo puede incluir las etapas de:

a : recolectar las células presentadoras de antígenos de un sujeto y

b: poner en contacto las células presentadoras de antígenos de la etapa a. con un péptido de la presente invención

Las células presentadoras de antígenos obtenidas en la etapa b. pueden administrarse en el sujeto en forma de una vacuna.

La presente invención proporciona además un método para inducir las células presentadoras de antígeno que presentan un nivel elevado de inducibilidad de células T citotóxicas, en el que el método incluye la etapa de transferir genes compuestos de uno o más polinucleótidos codificantes de uno o más péptidos de la presente invención a las células presentadoras de antígenos in vitro. Los genes introducidos pueden encontrarse en forma de ADN o ARN. Para el método de la introducción, sin limitaciones particulares, pueden utilizarse convenientemente diversos métodos llevados a cabo convencionalmente en este campo, tales como la lipofección, la electroporación y el método del fosfato cálcico. Más específicamente, la transfección puede llevarse a cabo tal como se describe en Reeves M.E. et al., Cancer Res. 56:5672-7, 1996; Butterfield L.H. et al., J. Immunol. 161:5607-13, 1998; Boczkowski D. et al., J. Exp. Med. 184:465-72, 1996; traducción japonesa publicada de la publicación internacional nº 2000-509281. Mediante la transferencia del gen al interior de las células presentadoras de antígenos, el gen es transcrito y traducido en la célula y seguidamente la proteína obtenida es procesada por el CMH de clase I ó de clase II y sigue una ruta de presentación para presentar péptidos parciales.

La presente invención proporciona además métodos de inducción de LTC utilizando uno o más péptidos de la presente invención. Al administrar los péptidos de la presente invención en un sujeto, los LTC son inducidos en el cuerpo del sujeto y de esta manera se incrementa la potencia del sistema inmunológico con diana en las células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células de cáncer en los tejidos tumorales. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando. Alternativamente, los péptidos de la presente invención pueden utilizarse en el contexto de un método terapéutico ex vivo, en el que células presentadoras de antígeno derivadas del sujeto y células positivas para CD8 ó leucocitos mononucleares de sangre periférica se ponen en contacto (se estimulan) con uno o más péptidos de la presente invención in vitro y, tras inducir los LTC, se devuelven las células al sujeto. Por ejemplo, el método puede incluir las etapas de:

a : recolectar las células presentadoras de antígenos de un sujeto,

b: poner en contacto las células presentadoras de antígenos de la etapa a. con un péptido de la presente invención

c: mezclar las células presentadoras de antígenos de la etapa b. con células T CD8⁺ y cocultivarlas de manera que se induzca las células T citotóxicas, y

d: recolectar las células T CD8⁺ del cocultivo de la etapa c.

Las células T CD8⁺ que presentan actividad citotóxica obtenidas en la etapa d. pueden administrarse en el sujeto en forma de una vacuna.

La presente invención proporciona además métodos para producir células T citotóxicas activadas utilizando los péptidos de la presente invención. Por ejemplo, el método puede incluir las etapas siguientes:

a : recolectar células T de un sujeto, y

b: poner en contacto las células T con los péptidos siguientes:

(1) un péptido aislado de menos de aproximadamente 15 aminoácidos seleccionado de entre el grupo que consiste de péptidos que presentan las secuencias de aminoácidos SEC ID n° 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255.

(2) Un péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dichos péptidos presentan una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste de SEC ID n° 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255, en el que 1, 2 ó varios aminoácidos han sido sustituidos, delecionados o añadidos.

La presente invención proporciona además un método para producir células presentadoras de antígenos (CPA) que presentan inducibilidad de células T activadas, utilizando los péptidos de la presente invención. Por ejemplo, el método puede incluir la etapa de poner en contacto células presentadoras de antígenos con los péptidos para producir células presentadoras de antígenos que presentan el péptido y antígeno HLA sobre la superficie. En el contexto de la presente invención, las "células T citotóxicas activadas" inducen la producción de IFN-γ, la liberación de IFN-γ y la muerte de las células tumorales.

La presente invención proporciona además células T citotóxicas aisladas que se han inducido utilizando los péptidos de la presente invención. Las células T citotóxicas, inducidas mediante estimulación con una célula presentadora de antígeno que presenta uno o más péptidos de la presente invención, preferentemente se derivan de sujetos que son la diana de tratamiento y/o prevención y pueden administrarse solas o en combinación con otros fármacos, incluyendo uno o más péptidos de la presente invención o exosomas que presentan actividad antitumoral. Las células T citotóxicas obtenidas actúan específicamente contra células diana que presentan los péptidos de la presente invención o preferentemente el mismo péptido o péptidos utilizados para la inducción. Las células diana pueden ser células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1 endógenamente, o células que han sido transfectadas con genes MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Las células que presentan los péptidos de la presente invención sobre la superficie celular, debido a la estimulación con estos péptidos, también pueden convertirse en dianas de un ataque.

La presente invención proporciona además células presentadoras de antígenos que presentan complejos formados entre antígenos HLA y uno o más péptidos de la presente invención. Las células presentadoras de antígenos, obtenidas mediante contacto con los péptidos de la presente invención o con los nucleótidos codificantes de dichos péptidos, preferentemente se derivan de sujetos que son la diana de tratamiento y/o prevención y pueden administrarse en forma de vacunas, solos o en combinación con otros fármacos, incluyendo los péptidos, exosomas o células T citotóxicas de la presente invención.

La presente invención proporciona además una composición que comprende ácidos nucleicos codificantes de polipéptidos que son capaces de formar una subunidad de un receptor de células T (RCT) y métodos de utilización de los mismos. Las subunidades de RCT presentan la capacidad de formar RCT que proporcionan especificidad a las células T para las células tumorales que presentan MPHOSPH1 ó DEPDC1. Mediante la utilización del método conocido de la técnica, pueden identificarse los ácidos nucleicos de cadena α y cadena β de los LTC inducidos con uno o más péptidos de la presente invención (documento WO n° 2007/0322 y Morgan et al., J. Immunol. 171:3288, 2003). Los RTC derivados preferentemente se unen a células diana que expresan el péptido MPHOSPH1 ó DEPDC1 con alta avidéz, y opcionalmente median en la eliminación eficiente de células diana que presentan el péptido MPHOSPH1 ó DEPDC1 in vivo e in vitro.

Los ácidos nucleicos codificantes de las subunidades de RCT pueden incorporarse en vectores adecuados, por ejemplo en vectores retrovéricos. Estos vectores son bien conocidos de la técnica. Los ácidos nucleicos o los

vectores que los comprenden útilmente pueden transferirse al interior de una célula T, la cual preferentemente procede de un paciente. Ventajosamente, la invención proporciona una composición de venta al público que permite la rápida modificación de las propias células T de un paciente (o las de otro mamífero) para producir rápida y fácilmente células T modificadas que presentan excelentes propiedades de eliminación de las células de cáncer.

5 Además, la presente invención proporciona LTC que se preparan mediante transducción con los ácidos nucleicos codificantes de los polipéptidos de subunidades de RCT de unión al péptido MPHOSPH1 ó DEPDC1, por ejemplo SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255 en el contexto de HLA-A24 ó HLA-A2. Los LTC transducidos son capaces de reconocer las células de cáncer in vivo y expandirse mediante un método de cultivo in vitro bien conocido (por ejemplo Kawakami et al., J. Immunol. 142:3452-3461, 1989). Las células T de la presente invención pueden utilizarse para formar una composición inmunogénica útil en el tratamiento o prevención del cáncer en un paciente que necesita terapia o protección (documento WO nº 2006/031221).

15 En el contexto de la presente invención, el término "vacuna" (también denominada composición inmunogénica) se refiere a una sustancia que induce inmunidad antitumoral o que suprime cánceres tras la inoculación en animales. Según la presente invención, se sugiere que los polipéptidos que presentan la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8 ó 12 son péptidos epítomos restringidos a HLA-A24 y los de SEC ID nº 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255, péptidos epítomos restringidos a HLA-A2, que pueden inducir una respuesta inmunológica potente y específica contra células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células de cáncer que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando. De esta manera, la presente invención comprende además un método de inducción de inmunidad antitumoral utilizando polipéptidos que presentan la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 ó 255 ó una variante de las mismas (es decir, incluyendo 1, 2 ó varias sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos). En general, la inmunidad antitumoral incluye respuestas inmunológicas tales como las siguientes:

- 30 - una inducción de linfocitos citotóxicos contra tumores que contienen células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1,
- una inducción de anticuerpos que reconocen tumores que contienen células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, y
- 35 - una inducción de la producción de citoquinas antitumorales.

Por lo tanto, en el caso de que un determinado péptido induzca cualquiera de dichas respuestas inmunológicas al ser inoculado en un animal, se considera que el péptido presenta un efecto inductor de inmunidad antitumoral. La inducción de la inmunidad antitumoral por parte de un péptido puede detectarse mediante la observación in vivo o in vitro de la respuesta del sistema inmunológico en el huésped contra el péptido.

Por ejemplo, un método para detectar la inducción de linfocitos T citotóxicos es bien conocido. Una sustancia foránea que entra en el cuerpo vivo es presentada a las células T y a las células B por la acción de las células presentadoras de antígenos (CPA). Las células T que responden al antígeno presentado por las CPA de una manera específica de antígeno se diferencian en células T citotóxicas (también denominadas linfocitos T citotóxicos o LTC) debido a la estimulación por el antígeno y seguidamente proliferan; este proceso se denomina en la presente memoria "activación" de las células T. Por lo tanto, la inducción de LTC por un determinado péptido puede evaluarse mediante la presentación del péptido a una célula T por parte de una CPA y la detección de la inducción de los LTC. Además, las CPA presentan el efecto de activar las células T CD4+, las células T CD8+, los macrófagos, los eosinófilos y las células NK. Debido a que las células T CD4⁺ también resultan importantes en la inmunidad antitumoral, la acción inductora de inmunidad antitumoral del péptido puede evaluarse utilizando como indicador el efecto de activación de estas células.

55 Un método para evaluar la acción inductora de los LTC utilizando células dendríticas (CD) como CPA es bien conocido de la técnica. Las CD son un tipo representativo de CPA que presenta la acción inductora de LTC más potente de entre las APC. En dicho método, el polipéptido de ensayo se pone en contacto inicialmente con las CD y después estas CD se ponen en contacto con células T. La detección de las células T que presentan efectos citotóxicos contra las células de interés tras el contacto con las CD demuestra que el polipéptido de ensayo presenta una actividad de inducción de las células T citotóxicas. La actividad de los LTC contra los tumores puede detectarse, por ejemplo, utilizando como indicador la lisis de células tumorales marcadas con ⁵¹Cr. Alternativamente, es bien conocida la evaluación del grado de daño de las células tumorales utilizando la actividad de incorporación de ³H-timidina o la liberación de LDH (lactosa deshidrogenasa) como indicador. Además, también puede examinarse a

partir de la medición del IFN- γ producido y liberado por las LTC en presencia de células presentadoras de antígeno que portan péptidos inmovilizados mediante visualización utilizando anticuerpos monoclonales anti-IFN- γ , tal como un ensayo ELISPOT.

- 5 Aparte de las CD, también pueden utilizarse células mononucleares sanguíneas periféricas (CMSP) como las CPA. La inducción de los LTC se informa que resulta incrementada mediante el cultivo de CMSP en presencia de GM-LCE e IL-4. De manera similar, se ha demostrado que los LTC resultan inducidos mediante el cultivo de CMSP en presencia de hemocianina de lapa californiana (HLC) e IL-7.
- 10 Los polipéptidos de ensayo que se confirmó que presentaban actividad inductora de LTC mediante dichos métodos eran polipéptidos que presentaban un efecto de activación de CD y la consecuente actividad de inducción de LTC. Por lo tanto, los péptidos que inducen LTC contra las células tumorales resultan útiles como vacunas contra enfermedades asociadas a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Además, las CPA que han adquirido la capacidad de inducir LTC contra una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, mediante el contacto con los polipéptidos resultan útiles como vacunas contra la enfermedad.
- 15 Además, los LTC que han adquirido citotoxicidad debido a la presentación de los antígenos polipéptidos por parte de las CPA también pueden utilizarse como vacunas contra una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Dichos métodos terapéuticos para una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, utilizando inmunidad antitumoral debido a las CPA y los LTC, se denominan inmunoterapia celular. Entre los cánceres contemplados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.
- 20 Generalmente, al utilizar un polipéptido para la inmunoterapia celular, la eficiencia de la inducción de los LTC puede incrementarse combinando una pluralidad de polipéptidos que presentan diferentes estructuras y poniéndolos en contacto con las CD. Por lo tanto, al estimular las CD con fragmentos de proteínas, resulta ventajoso utilizar una mezcla de múltiples tipos de fragmento.
- 25 La inducción de inmunidad antitumoral por un polipéptido puede confirmarse adicionalmente observando la inducción de la producción de anticuerpos contra los tumores. Por ejemplo, al inducir anticuerpos contra un polipéptido en un animal de laboratorio inmunizado con el polipéptido, y al suprimir el crecimiento, proliferación y/o metástasis de las células tumorales por dichos anticuerpos, se determina que el polipéptido induce inmunidad antitumoral.
- 30 La inmunidad antitumoral puede inducirse mediante la administración de una vacuna de la presente invención, y la inducción de inmunidad antitumoral permite el tratamiento y prevención de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. La terapia o prevención de la aparición de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, puede incluir la inhibición del crecimiento de células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células de cáncer, la involución de dichas células y la supresión de la aparición de estas células, por ejemplo células de cáncer. La reducción de la mortalidad de los individuos que presentan una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, la reducción de los marcadores de la enfermedad en la sangre, el alivio de los síntomas detectables que acompañan a la enfermedad y similares también se encuentran incluidos en la terapia o prevención de la enfermedad, por ejemplo cáncer. Dichos efectos terapéuticos y preventivos preferentemente son estadísticamente significativos, por ejemplo se observan a un nivel de significancia del 5% o menos, en donde el efecto terapéutico o preventivo de una vacuna contra una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, se compara con un control en el que no se ha administrado vacuna. Por ejemplo, puede utilizarse la prueba t de Student, la prueba U de Mann-Whitney o la ANOVA para determinar la significancia estadística.
- 35 En el aspecto de que la presente invención proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, los compuestos o composiciones terapéuticas pueden administrarse profiláctica o terapéuticamente en sujetos que sufren o que presentan el riesgo de sufrir (o son susceptibles de sufrir) el desarrollo de la enfermedad. Dichos sujetos pueden identificarse utilizando métodos clínicos estándares. En el contexto de la presente invención, la administración profiláctica se produce antes de la manifestación de síntomas clínicos manifiestos de la enfermedad, de manera que se previene o
- 40 alternativamente se retrasa el avance de una enfermedad o trastorno. En el contexto del campo médico, el término "prevenir" comprende cualquier actividad que reduce la carga de mortalidad o morbilidad de la enfermedad. La prevención puede producirse a los niveles de prevención primaria, secundaria y terciaria. Mientras que la prevención primaria evita el desarrollo de una enfermedad, los niveles secundario y terciario de prevención comprenden actividades destinadas a prevenir el avance de una enfermedad y la aparición de síntomas, así como a reducir el impacto negativo de una enfermedad ya establecida mediante la restitución de función y la reducción de las complicaciones relacionadas con la enfermedad.
- 45
- 50
- 55
- 60

En el contexto del tratamiento del cáncer, el término "eficaz" se refiere a un tratamiento que conduce a una reducción del tamaño, prevalencia o potencial metastásico del cáncer en un sujeto. Al aplicar un tratamiento profilácticamente, el término "eficaz" se refiere a que el tratamiento retrasa o previene la aparición de cáncer o alivia un síntoma clínico del cáncer. La evaluación de cáncer puede llevarse a cabo utilizando protocolos clínicos estándares. Además, la eficacia de un tratamiento puede determinarse en asociación con cualquier método conocido de diagnóstico o tratamiento del cáncer. Por ejemplo, el cáncer puede diagnosticarse histopatológicamente o mediante la identificación de anomalías sintomáticas.

El péptido anteriormente indicado, que presenta actividad inmunológica, o un polinucleótido o vector codificante de dicho péptido, puede combinarse con un adyuvante. Un adyuvante se refiere a un compuesto que incrementa la respuesta inmunológica contra el péptido al administrarlo conjuntamente (o sucesivamente) con el péptido que presenta actividad inmunológica. Entre los ejemplos de adyuvantes adecuados se incluyen la toxina del cólera, la toxina de Salmonella, alúmina y similares, aunque sin limitación a los mismos. Además, una vacuna de la presente invención puede combinarse apropiadamente con un portador farmacéuticamente aceptable. Son ejemplos de dichos portadores, agua esterilizada, solución salina fisiológica, tampón fosfato, líquido de cultivo y similares. Además, la vacuna puede contener, según resulte necesario, estabilizadores, suspensiones, conservantes, surfactantes y similares. La vacuna se administra sistémicamente o localmente. La administración de la vacuna puede llevarse a cabo mediante una única administración o reforzarse mediante múltiples administraciones.

Al utilizar CPA o LTC como la vacuna de la presente invención, una enfermedad asociada a la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cáncer, puede tratarse o prevenirse, por ejemplo mediante el método ex vivo. Más específicamente, se recolectan CMSP del sujeto que recibe tratamiento o prevención, y se ponen en contacto ex vivo con un péptido de la presente invención. Tras la inducción de las CPA o los LTC, las células pueden ser administradas en el sujeto. Las CPA también pueden inducirse mediante la introducción de un vector codificante del péptido en las CMSP ex vivo. Las CPA o los LTC inducidos in vitro pueden clonarse previamente a la administración. Mediante la clonación y cultivo de las células que presentan una actividad elevada de producción de daños en las células diana, puede llevarse a cabo más efectivamente la inmunoterapia celular. Además, las CPA y los LTC aislados de esta manera pueden utilizarse para la inmunoterapia celular no sólo contra individuos de los que se han derivado las células, sino también contra tipos similares de enfermedades en otros individuos.

En los ejemplos siguientes se describen aspectos de la presente invención, los cuales se presentan únicamente a título ilustrativo de la presente invención y para ayudar al experto ordinario en la preparación y utilización de los mismos. Los ejemplos no pretenden en modo alguno limitar el alcance de la exposición.

Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen posteriormente métodos y materiales adecuados.

Ejemplos

A continuación, la presente invención se encuentra ejemplificada, aunque no limitada, mediante los Ejemplos siguientes. Sin embargo, los materiales, métodos y similares indicados en la presente memoria únicamente ilustran aspectos de la invención y en modo alguno pretenden limitar el alcance de la misma. De esta manera, los materiales, métodos y otros similares o equivalentes a los indicados en la presente memoria pueden utilizarse en la práctica o ensayo de la presente invención.

EJEMPLO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

Líneas celulares

Se obtuvieron de la ATCC células A24LCL (HLA-A24/24), líneas celulares linfoblastoides B humanas, células T2 y células COS7.

Selección de péptidos candidatos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1

Se predijeron los péptidos 9-meros y 10-meros derivados de MPHOSPH1 ó DEPDC1 que se unen a HLA-A*2402 y a HLA-A*0201 utilizando el software de predicción de unión "BIMAS" (bimas.dcrf.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_com-boform) (Parker K.C. et al., J. Immunol. 152(1):163-75, 1994; Kuzushima K. et al., Blood 98(6):1872-81, 2001). Estos péptidos fueron sintetizados por Sigma (Sapporo, Japón) siguiendo el método de síntesis en fase sólida estándar y se purificaron mediante HPLC de fase inversa. Se determinaron la pureza (>90%) y la identidad de los péptidos mediante HPLC analítica y análisis de espectrometría de masas, respectivamente. Los péptidos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 20 mg/ml y se almacenaron a -80°C.

Inducción in vitro de LTC

5 Se utilizaron células dendríticas (CD) derivadas de monocitos como células presentadoras de antígenos (CPA) para inducir respuestas de LTC contra péptidos presentados sobre HLA. Se generaron CD in vitro tal como se ha descrito (Nukaya I. et al., Int. J. Cancer 80:92-7, 1999; Tsai V. et al., J. Immunol. 158:1796-802, 1997). Brevemente, se separaron células mononucleares sanguíneas periféricas (CMSP) de un voluntario normal (HLA-A*2402 y/o HLA-A*0201) en solución de Ficoll-Paque (Pharmacia) se separaron mediante adherencia a un matraz de plástico de cultivo de tejidos (Becton Dickinson) para enriquecerlas en la fracción de monocitos. Se cultivo la población
10 enriquecida en monocitos en presencia de 1.000 U/ml de GM-LCE (Genzyme) y 1.000 U/ml de IL4 (Genzyme) y AIM-V (Invitrogen) que contenía suero autólogo (SA) inactivado por calor al 2%. Tras 7 días de cultivo, las CD generadas con citoquinas se pulsaron con 20 µg/ml de los péptidos sintetizados, en presencia de 3 µg/ml de β2-microglobulina durante 4 h a 20°C en AIM-V. Estas CD pulsadas con péptido seguidamente se inactivaron con MMC (30 µg/ml durante 30 min) y se mezclaron en una proporción 1:0 con células T CD8⁺ autólogas, obtenidas mediante
15 selección positiva con Dynabeads M-450 CD8 (Dyna) y DETACHa BEAD™ (Dyna). Estos cultivos se prepararon en placas de 48 pocillos (Corning); cada pocillo contenía 1,5x10⁴ CD pulsadas con péptido, 3x10⁵ células T CD8⁺ y 10 ng/ml de IL-7 (Genzyme) en 0,5 ml de AIM-V/SA al 2%. Tres días después, estos cultivos se suplementaron con IL-2 (CHIRON) hasta una concentración final de 20 IU/ml. Los días 7 y 14, las células T se reestimularon nuevamente con las CD autólogas pulsadas con péptido. Las CD se prepararon cada vez mediante el mismo método que el
20 descrito anteriormente. Se sometieron a ensayo los LTC frente a células A24LCL pulsadas con péptido o células T2 tras la tercera ronda de estimulación con péptido el día 21.

Procedimiento de expansión de LTC

25 Las LTC se expandieron en cultivo utilizando un método similar al descrito por Riddell S.R. et al. (Walter E.A. et al., N. Engl. J. Med. 333:1038-44, 1995; Riddell S.R. et al., Nature Med. 2:216-23, 1996). Se resuspendió un total de 5x10⁴ LTC en 25 ml de AIM-V/SA al 5% con 2 tipos de línea celular linfoblastoide B humana, inactivadas con MMC, en presencia de 40 ng/ml de anticuerpo monoclonal anti-CD3 (Pharmingen). Un día después de iniciar los cultivos, se añadieron 120 IU/ml de IL-2 a los cultivos. Los cultivos se alimentaron con AIM-V fresco/SA al 5% que contenía
30 30 IU/ml de IL-2 los días 5, 8 y 11.

Establecimiento de clones de LTC

35 Las diluciones se prepararon para presentar 0,3, 1 y 3 LTC/pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos de fondo redondo (Nalge Nunc International). Los LTC se cultivaron con 7x10⁴ células/pocillo de 2 tipos de línea celular linfoblastoide B humana, 30 ng/ml de anticuerpo anti-CD3 y 125 U/ml de IL-2 en total de 150 µl/pocillo de AIM-V que contenía SA al 5%. Se añadieron 50 µl/pocillo de IL-2 al medio 10 días después, de manera que IL-2 alcanzase 125 U/ml en la concentración final. Se sometió a ensayo la actividad de los LTC el día 14, y los clones de LTC se expandieron utilizando el mismo método que anteriormente.

40

Actividad específica de LTC

Con el fin de examinar la actividad específica de LTC, se llevó a cabo un ensayo ELISPOT de IFN-γ y un ELISA de IFN-γ. Brevemente, se prepararon células A24-LCL ó T2 pulsadas con péptido (1x10⁴/pocillo) como células
45 estimuladoras. Las células cultivadas en 40 pocillos o los clones de LTC tras la dilución limitante se utilizaron como células respondedoras. Se llevaron a cabo ensayos ELISPOT y ELISA de IFN-γ siguiendo el procedimiento del fabricante.

Cultivo celular y transfección

50 Se establecieron B-LCL HLA-A24 (A24LCL) transformadas con virus de Epstein-Barr. Se obtuvieron Jiyoye, EB-3, COS7, HT1376, RT-4 y J82 de la American Type Culture Collection (Rockville, MD). Se mantuvieron A24LCL, Jiyoye y EB-3 en RPMI1640 que contenía suero de feto bovino al 10% (GEMINI Bioproducts) y solución de antibiótico al 1% (Sigma). Las células COS7, HT1376, RT-4 y J82 se mantuvieron en medio apropiado con antibiótico. Las
55 transfecciones de COS7 y HEK se llevaron a cabo utilizando FUGENE6 (Roche). Se estableció un clon de células HEK-A2 estable expresante de la molécula HLA-A*0201, mediante transfección del plásmido pcDNA6.2-HLA-A2 y se aisló mediante el método de dilución limitante en presencia de 5 µg/ml de blastidina S.

Inmunogenicidad de los péptidos epítomos en ratones BALB/c

60 Para la inducción de los LTC específicos de péptido, se administró la inmunización utilizando 100 µl de mezcla de vacuna, que contenía 50 µl (100 µg) de péptido restringido por HLA-A24 y 50 µl de IFA en cada ratón. La vacuna se inyectó subcutáneamente en el flanco derecho para la primera inmunización el día 0 y en el flanco izquierdo para la

segunda, el día 7. El día 14, los esplenocitos de los ratones vacunados, sin ninguna estimulación in vitro, se utilizaron como células respondedoras y las células RLmale1 pulsadas o no con péptidos se utilizaron como las células estimuladoras para el ensayo ELISPOT de IFN- γ .

5 RESULTADOS

Expresión incrementada de MPHOSPH1 y DEPDC1 en cánceres

10 Los datos globales de perfilado de expresión génica obtenidos de diversos cánceres utilizando micromatrices de
ADNc revelaron que la expresión de MPHOSPH1 (nº de acceso de GenBank NM_016195, SEC ID nº 1) y DEPDC1
(nº de acceso de GenBank BM683578), el cual presentaba dos variantes: DEPDC1 V1 (SEC ID nº 3) y DEPDC1 V2
(SEC ID nº 5), se encontraba incrementado. La expresión de MPHOSPH1 se encontraba válidamente elevada en 30
15 de 31 cánceres de vejiga, 8 de 36 cánceres de mama, 18 de 18 cánceres cervicales, 5 de 17 carcinomas
colangiocelulares, 25 de 31 LMC, 6 de 11 cánceres colorrectales, 6 de 14 cánceres gástricos, 5 de 5 CPCNP, 7 de 7
linfomas, 6 de 10 osteosarcomas, 7 de 22 cánceres de próstata, 10 de 18 carcinomas renales y 15 de 21 tumores de
tejido blando, en comparación con el tejido normal correspondiente. La expresión de DEPDC1 se encontraba
válidamente elevada en 23 de 25 cánceres de vejiga, 6 de 13 cánceres de mama, 12 de 12 cánceres cervicales, 6
de 6 carcinomas colangiocelulares, 3 de 4 LCM, 2 de 4 cánceres colorrectales, 6 de 6 CPCNP, 7 de 7 linfomas, 10
20 de 14 osteosarcomas, 11 de 24 cánceres de próstata, 14 de 14 CPCP y 22 de 31 tumores de tejido blando, en
comparación con el tejido normal correspondiente (Tabla 1).

[Tabla 1]
 Proporción de casos observados de regulación positiva de MPHOSPH1 ó DEPDC1 en tejido canceroso en comparación con el tejido normal correspondiente

	Cáncer de vejiga	Cáncer de mama	Cáncer cervical	Carcinoma colangiocelular	LMC	Cáncer colorrectal	Cáncer gástrico
MPHOSPH1	30/31	8/36	18/18	5/17	25/31	6/11	6/14
DEPDC1	23/25	6/13	12/12	6/6	3/4	2/4	-
	CPCNP	Linfoma	Osteosarcoma	Cáncer de próstata	Cáncer renal	CPCP	Tumor de tejido blando
MPHOSPH1	5/5	7/7	6/10	7/22	10/18	-	15/21
DEPDC1	6/6	7/7	10/14	11/24	-	14/14	22/31

Predicción de los péptidos de unión a HLA-A24 y a HLA-A2 derivados de MPHOSPH1 ó DEPDC1

5 La Tabla 2 indica los péptidos de unión de HLA-A*2402 para MPHOSPH1 en orden de afinidad de unión. La Tabla 2A indica los péptidos 9-meros derivados de MPHOSPH1 y la Tabla 2B indica los péptidos 10-meros derivados de MPHOSPH1. La Tabla 3 indica los péptidos de unión de HLA-A*0201 para MPHOSPH1 en orden de afinidad de unión. La Tabla 3A indica los péptidos 9-meros derivados de MPHOSPH1 y la Tabla 3B indica los péptidos 10-meros derivados de MPHOSPH1. La Tabla 4 indica los péptidos de unión de HLA-A*2402 para DEPDC1 V1 y V2 en orden de afinidad de unión. La Tabla 4A indica los péptidos 9-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2 y la Tabla 4B indica los péptidos 10-meros derivados de DEPDC1 V1. La Tabla 5 indica los péptidos de unión de HLA-A*0201 para DEPDC1 V1 y V2; la Tabla 5A indica los péptidos 9-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2, y la Tabla 5B indica los péptidos 10-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2.

[Tabla 2A]

Péptidos 9-meros de unión a HLA-A*2402 derivados de MPHOSPH1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión	Inicio = Posición	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión
278	IYNEYTYDL	7	360	179	LFDSLQERL	29	24
1244	DYADLKEKL	13	316,8	268	KFSVWVSFF	30	20
1319	QYERACKDL	14	300	575	KLLDLIEDL	31	17,28
459	CYLAYDETL	15	300	1577	RFPKPELEI	32	16,5
462	AYDETLNVL	16	288	1414	KYNADRKKW	33	16,5
1054	GKDENNRL	17	288	1230	RTQNLKADL	34	14,4
236	LYGSLTNSL	18	288	1421	KWLEEKMML	35	14,4
1446	KYAEDRERF	19	240	1617	KSNEEEDL	36	14,4
899	NYDIAIAEL	20	220	1555	KIEDGSVVL	37	14,4
1118	CYKAKIKEL	21	220	1456	KQQNEMEIL	38	12
57	DYLQVCLRI	22	105	389	KTQNEGERL	39	12
676	KFNQIKael	23	92,4	1371	KWKEKCNDL	40	11,52
14	SYVFSADPI	24	75	1122	KIKELETIL	41	11,52
326	AYRLLKLG I	25	60	850	FLLTIENEL	42	11,088
255	DYEQANLNM	26	37,5	763	SSLIINNKL	43	11,088
29	NFDGIKLDL	27	28	1400	KLINLQDEL	44	10,56
286	LFVPVSSKF	28	27,72	133	IMQPVKDLL	45	10,08

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de MPHOSPH1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

15

[Tabla 2B]

Péptidos 10-meros de unión a HLA-A*2402 derivados de MPHOSPH1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Unión
1414	KYNADRKKWL	46	600	1274	KLLRIKINEL	56	15,84
278	IYNEYTYDLF	8	252	1332	KIIEDMRMTL	57	14,4
1446	KYAEDRERFF	47	240	1299	RTIQLKEQL	58	14,4
611	QYWAQREADF	48	100	1134	KVECSHSAKL	59	13,2
1740	LYTSEISSPI	49	70	859	KNEKEEKAEL	60	13,2
293	KFQKRKMLRL	50	60	586	KLINEKKEKL	61	13,2
849	AFLTIENEL	51	55,44	943	KLMHTKIDEL	62	13,2
1667	TYSLRSQASI	52	50	838	RVLQENNEGL	63	12
1695	DFLQHSPSIL	53	30	369	RVIRVSELSL	64	12
174	RTLNVLFDSL	54	17,28	1159	RNLKEFQEHL	65	12
870	KOIVHFQQEL	55	15,84	281	EYIYDLFVPV	66	10,8

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de MPHOSPH1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

[Tabla 3A]

20 Péptidos 9-meros de unión a HLA-A*0201 derivados de MPHOSPH1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión
575	KLLDLIEDL	31	1278,29	1184	KLKEEITQL	93	24,677
282	YIYDLFVPV	9	1096,62	888	TLSKEVQQI	94	23,995
298	KMLRLSQDV	67	650,504	280	NEYIYDLFV	95	23,802
218	ALLRQIKEV	68	591,888	552	LLDEDLDKT	96	23,415

ES 2 415 958 T3

850	FLLTIENEL	42	363,588	461	LAYDETLNV	97	21,546
1108	ALSELTQGV	69	285,163	980	NLPNTQLDL	98	21,362
331	KLGIKHOSV	70	243,432	409	TLGKCINVL	99	20,145
1689	TLQKFGDFL	71	218,772	175	TLNVLFDSL	100	19,888
1251	KLTDAAKQI	72	149,711	923	KLSNEIETA	101	19,596
638	RLAIFKDLV	10	129,506	1389	KEHENNTDV	102	19,407
1467	QLTEKDSDL	73	87,586	987	DLLGNDYLV	103	19,301
1195	NLQDMKHLL	74	87,586	920	KIMKLSNEI	104	18,577
270	SVWVSFFEI	75	83,497	1703	ILQSKAKKI	105	17,736
129	FQGCIMQPV	76	74,608	512	ILNVKRATI	106	17,736
839	VLQENNEGL	77	72,959	1124	KELETILET	107	17,695
1094	TLDVQIQHV	78	63,988	453	IVNISQCYL	108	17,477
1019	AIWEECKEI	79	48,816	771	UCNETVEV	109	16,258
1696	FLQHSPSIL	80	40,289	623	TLLQEREIL	110	15,879
528	DLMEDEDLV	81	38,775	560	TLEENKAFI	111	15,057
406	SLLTLGKCI	82	38,601	1415	YNADRKKWL	112	14,465
1400	KLTLNLQDEL	44	36,637	307	KGYSFIKDL	113	13,65
170	GILPRTLNV	83	35,385	133	IMQPVKDLL	45	12,852
171	ILPRTLNVL	84	34,246	1594	KMAVKHPGC	114	12,558
786	KICSERKRV	85	33,472	365	SEMSRVIRV	115	11,509
880	SLSEKKNLT	86	30,553	1191	QLTNNLQDM	116	11,426
944	LMHTKIDEL	87	29,559	871	QIVHFQQEL	117	11,162
1422	WLEEKMMU	88	28,963	245	NISEFEESI	118	10,951
466	TLNVLFKFA	89	28,814	484	TLNSSQEKL	119	10,468
1539	KLQTEPLST	90	26,082	764	SLIINNCLI	120	10,433
132	CIMQPVKDL	91	24,997	587	UNEKKEKL	121	10,032
1260	KQVQKEVSV	92	24,681				

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de MPHOSPH1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

[Tabla 3B
Péptidos 10-meros de unión a HLA-A*0201 derivados de MPHOSPH1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	de SEC ID nº	Unión
1274	KLLRIKINEL	56	626,279	1318	QQYERACKDL	140	28,417
551	KLLDEDLDKT	122	445,913	452	MIVNISQCYL	141	27,464
460	YLAYDETLNV	123	319,939	923	KLSNEIETAT	142	26,082
943	KLMHTKIDEL	62	311,777	1257	KQIKQVQKEV	143	24,681
262	NMANSIKFSV	124	291,346	980	NLPNTQLDLL	144	24,075
178	VLFDSLQERL	125	269,948	985	QLDLLGNDYL	145	23,029
770	KLICNETVEV	126	243,432	1427	MMLITQAKEA	146	22,569
34	KLDLSHEFSL	127	173,463	1523	QIMDIKPKRI	147	21,762
407	LLTLGKCINV	128	118,238	1484	QLVAALEIQL	148	21,362
1714	TMSSSKLSNV	11	115,534	466	TLNVLFKFAI	149	19,822
1353	QVLEAKLEEV	129	104,046	511	KILNVKRATI	150	18,577
880	SLSEKKNLTL	130	87,586	1340	TLEEQEQTQV	151	18,25
235	TLYGSLTNSL	131	68,36	372	RVSELSLCDL	152	17,627
1019	AIWEECKEIV	132	65,381	1561	VVLDSCEVST	153	16,816
552	LLEDLDKTL	133	59,558	309	YSFIKDLQWI	154	14,663
1093	VTLDVQIQHV	134	57,298	353	SIFTVKILQI	155	12,208
559	KTLEENKAFI	135	42,314	1094	TLDVQIQHVV	156	11,407
1332	KIIEDMRMTL	57	42,151	1688	GTLQKFGDFL	157	11,242
152	GLTNSGKTYT	136	40,986	311	FIKDLQWIQV	158	10,732
830	NIAEIEDIRV	137	39,21	1079	TLIQLLKEEL	159	10,468
586	KLINEKKEKL	61	36,637	1128	TILETQKVEC	160	10,363
182	SLQERLYTKM	138	30,553	1487	AALEIQLKAL	161	10,352
1043	QQIEKLQAEV	139	28,912	170	GILPRTLNVL	162	10,249
870	KQIVHFQQEL	55	28,807				

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de MPHOSPH1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y métodos.

[Tabla 4A]

Péptidos 9-meros de unión a HLA-A*2402 derivados de DEPDC1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión
295	YYELFVNIL	163	360	505	KQLCRSQSL	167	14,4
294	EYYELFVNI	12	86,4	275	VFRTIADYF	168	14
282	YFLDLPEPL	164	43,2	36	HFKKYGNCF	169	12
118	RYPELRKNN	165	21,8	307	GYITVSDRS	170	10,5
338	SFKSTECLL	166	20	298	LFVNILGLL	171	42

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de DEPDC1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

[Tabla 4B]

Péptidos 10-meros de unión a HLA-A*2402 derivados de DEPDC1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión
294	EYYELFVNIL	172	288	275	VFRTIADYFL	182	20
281	DYFLDLPEPL	173	240	113	KTLPRRYPEL	183	15,84
118	RYPELRKNNI	174	216	277	RTIADYFLDL	184	14,4
770	EYPLIYQKRF	175	150	270	GFERDVFRTI	185	12,6
267	TYVGFERDVF	176	150	146	RTPKRHGLHL	186	12
523	SYINTPVAEI	177	82,5	505	KQLCRSQSLL	187	12
282	YFLDLPEPLL	178	36	340	KSTECLLLSL	188	11,52
191	RYVILIYLQT	179	21	295	YYELFVNILV	189	10,5
338	SFKSTECLLL	180	20	129	NFSKDKDSIF	190	10
103	LFRFPATSPL	181	20				

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de DEPDC1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

5

[Tabla 5A]

Péptidos 9-meros de unión a HLA-A*0201 derivados de DEPDC1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión
674	FLMDHHOEI	191	728,022	563	RLCKSTIEL	209	21,382
589	LLQPHLERV	192	133,255	506	QLCRSQSLL	210	21,362
575	SLLPASSML	193	79,041	193	VILIYLQTI	211	20,753
246	WVLSAMKCL	194	73,172	297	ELFVNILVV	212	18,201
619	LLMRMISRM	195	71,872	235	ILQNKSDDL	213	17,795
581	SMLTGTOSL	196	57,085	616	KLQLLMRMI	214	16,797
290	LLTFEYYEL	197	54,474	623	MISRMSQNV	215	16,258
220	YIMYNMANT	198	40,111	72	TIQLLRKFL	216	16,155
283	FLDLPEPLL	199	39,307	421	CSLEGIVDV	217	15,841
787	ALFGDKPTI	200	38,601	303	LVVCGYITV	218	15,519
582	MLTGTQSLL	201	36,316	524	YINTPVAEI	219	15,177
773	LIYQKRFPT	202	32,33	194	ILIYLQTI	220	14,89
114	TLPRRYPEL	203	32,044	239	KSDDLPHWV	221	14,333
505	KQLCRSQSL	167	28,049	576	LLPASSMLT	222	12,668
765	KQFQKEYPL	204	28,049	646	MIHTFSRCV	223	12,356
395	IMGGSCHNL	205	26,228	645	LMIHTFSRC	224	11,589
296	YELFVNILV	206	23,018	653	CVLCCAEV	225	11,034
278	TIADYFLDL	207	22,882	297	ELFVNILGL	226	13,635
601	ALQLCCLLL	208	21,362				

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de DEPDC1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

10

[Tabla 5B]

Péptidos 10-meros de unión a HLA-A*0201 derivados de DEPDC1

Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Puntuación de unión	Posición inicial	Secuencia de aminoácidos	SEC ID nº	Unión
666	LLAGRLVSFL	227	459,398	575	SLLPASSMLT	241	27,572

674	FLMDHHQEIL	228	299,484	296	YELFVNILVV	242	21,706
588	SLLQPHLERV	229	290,025	506	QLCRSQSLLL	243	21,362
302	ILVVCGYITV	230	177,358	765	KQFQKEYPLI	244	20,547
291	LTFEYYELFV	231	137,017	682	ILQVPSYLQT	245	19,003
201	ILGVPSLEEV	232	133,255	269	VGFERDVFRT	246	16,735
195	LIYLQITLGV	233	119,657	381	QLVNLNRNRV	247	13,91
688	YLQTAVEKHL	234	98,267	283	FLDLPEPLLT	248	13,712
645	LMIHTFSRCV	235	64,9	395	IMGGSCHNLI	249	12,809
581	SMLTGTQSLL	236	57,085	403	LIGLSNMHDL	250	11,485
622	RMISRMSQNV	237	50,232	773	LIYQKRFPPT	251	10,591
618	QLLMRMISRM	238	42,278	488	TLTVQDQEEL	252	10,468
654	VLCCAEVDL	239	36,316	224	NMANTSKRGV	253	10,046
644	SLMIHTFSRC	240	34,925	296	YELFVNILGL	254	16,26
505	KQLCRSQSLL	187	28,049	301	NILGLLQPHL	255	10,868

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de DEPDC1. La puntuación de unión se deriva de "BIMAS" indicada en Materiales y métodos.

Estimulación de las células T utilizando los péptidos predichos a partir de MPHOSPH1 restringido a HLA-A*2402

5 Los LTC para aquellos péptidos derivados de MPHOSPH1 (SEC ID nº 2) se generaron según los protocolos indicados en la sección "Materiales y métodos", anteriormente. Los LTC resultantes que presentaban actividad de LTC específica detectable, según evaluación mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ , se muestran en las figuras 1A y 2A. En la figura 1A, las células en el pocillo número 4 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. En la figura 2A, las células en el pocillo número 8 estimuladas con MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID nº 8) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. A continuación, se expandieron las células en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como se muestra en la figura 1B (MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7)) y en la figura 2B (MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID nº 8)), se determinaron cuáles eran los clones de LTC que presentaban actividades de LTC específica más altas contra la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades contra la diana sin pulsado con péptido.

15 Los clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID nº 7)) (figura 3A) y con MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID nº 8)) (figura 3B) demostraron una potente actividad de LTC específica contra la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de LTC específica significativa contra dianas no pulsadas con ningún péptido. Esto sugiere que el clon de LTC presenta citotoxicidad específica de péptido.

Actividad de LTC específica contra células diana que expresan MPHOSPH1

25 Los clones de LTC establecidos que se habían cultivado contra dichos péptidos se examinaron para su capacidad de reconocer las células diana que expresaban endógenamente MPHOSPH1 y HLA-A*2402. Se sometió a ensayo la actividad de LTC contra las COS7 transfectadas tanto con el gen MPHOSPH1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402, que es un modelo específico para las células diana que expresan endógenamente MPHOSPH1 y HLA-A*2402, utilizando como células efectoras el clon de LTC inducido por MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7). A modo de controles se prepararon COS7 transfectadas con MPHOSPH1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402 y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con MPHOSPH1 de longitud completa. El clon de LTC que presentaba la actividad específica de LTC contra COS7 más alta fue el transfectado con MPHOSPH1 y con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad específica significativa de LTC contra COS7 que no habían sido transfectadas con MPHOSPH1 ni con HLA-A24 (figura 4).

35 Estos resultados demuestran claramente que MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) se expresaba naturalmente en la superficie de las células diana con la molécula HLA-A24 y que reconocía los LTC.

Actividad de LTC contra líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan endógenamente MPHOSPH1

40 El clon de LTC establecido que se había cultivado contra el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) se examinó para su capacidad de reconocer las células tumorales que expresaban endógenamente MPHOSPH1. Se sometió a ensayo la actividad de LTC contra las células HT1376, que expresan endógenamente MPHOSPH1 y HLA-A24, utilizando el clon de LTC inducido por MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) a modo de células efectoras. Se utilizaron células J82 y RT-4 como células diana que expresan endógenamente MPHOSPH1 pero que no expresan HLA-A24. El clon de LTC establecido mostraba una producción elevada de IFN- γ contra las células HT1376 que expresaban tanto MPHOSPH1 como HLA-A24. Por otra parte, las LTC no mostraban actividad de LTC significativa contra las células J82 y RT-4 que expresaban MPHOSPH1 pero no HLA-A24 (figura 5). Estos resultados

demuestran claramente que el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7) es procesado naturalmente enviándolo a la superficie de las células tumorales con la molécula HLA-A24 y que es reconocido por los LTC.

Inducción in vivo de LTC con el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 en ratones BALB/c

Es conocido que la molécula H-2Kd, una molécula del CMH de clase I de ratón, presenta un motivo de anclaje peptídico similar para la molécula HLA-A24 y que reacciona cruzadamente de manera parcial con el péptido restringido por HLA-A24. A continuación, los presentes inventores examinaron si el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 induce los LTC in vivo mediante vacunación con este péptido utilizando ratones BALB/c (H-2Kd). Se inyectó por vía subcutánea péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c los días 0 y 7. El día 14, se recolectaron esplenocitos y se utilizaron como las células respondedoras para el ensayo ELISPOT. Los esplenocitos de todos los ratones en los que se había inyectado péptido (Anil-5) mostraron una producción potente de IFN- γ en comparación con los ratones de control, los cuales recibieron inyecciones de solo IFA (negal-3) (figura 6). Estos datos indican que el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 podría inducir una respuesta de LTC incluso in vivo.

Estimulación de las células T utilizando los péptidos predichos a partir de MPHOSPH1 restringido por HLA-A*0201

Los LTC resultantes que presentaban una actividad de LTC específica detectable, según evaluación mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ , se muestran en la figura 7. Tal como se muestra en la figura 7A, las células en los pocillos nº 1 y nº 5, estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID nº 9)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Tal como se muestra en la figura 7B, las células en el pocillo número 8 estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID nº 10)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Tal como se muestra en la figura 7C, las células en el pocillo número 4 estimuladas con MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID nº 11)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control.

Tal como se muestra en las figuras 8A (MPHOSPH1-A24-9-282 (SEC ID nº 9), 8B (MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID nº 10) y 8C (MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID nº 9)), se expandieron estas células en el pocillo positivo, y se determinaron cuáles eran las líneas de LTC que presentaban actividades de LTC específicas más altas contra la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades contra la diana sin pulsado de péptido.

Los clones de LTC estimulados con MPHOSPH1-A24-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID nº 9)) (figuras 9A y 9B) demostraron una potente actividad de LTC específica contra la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de LTC específica significativa contra dianas no pulsadas con ningún péptido.

Estimulación de las células T utilizando los péptidos predichos a partir de DEPDC1 restringido por HLA-A*2402

Las LTC de los péptidos derivados de DEPDC1 se generaron según el protocolo descrito en la sección de "Materiales y métodos", anteriormente. Los LTC resultantes que presentaban una actividad de LTC específica detectable, según evaluación mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ , se muestran en la figura 10. Tal como se muestra en la figura 10A, las células en los pocillos nº 10 estimuladas con DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. A continuación, se expandieron las células en el pocillo positivo y se llevó a cabo dilución limitante. Tal como se muestra en la figura 10B (DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12)), se determinaron cuáles eran los clones de LTC que presentaban actividades de LTC específica más altas contra la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades contra la diana sin pulsado con péptido. Los clones de LTC estimulados con DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)) (figura 11) demostraron una potente actividad de LTC específica contra la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de LTC específica significativa contra dianas no pulsadas con ningún péptido. Los resultados sugieren que el clon de LTC presenta citotoxicidad específica de péptido.

Actividad de LTC específica contra células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A*2402

Los clones de LTC establecidos que se habían cultivado contra dichos péptidos se examinaron para su capacidad de reconocer las células diana que expresaban endógenamente DEPDC1 y HLA-A*2402. Se sometió a ensayo la actividad de LTC contra las COS7 transfectadas tanto con el gen DEPDC1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402, que es un modelo específico para las células diana que expresan endógenamente DEPDC1 y HLA-A*2402, utilizando como células efectoras el clon de LTC inducido por DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)). A modo de controles se prepararon COS7 transfectadas con DEPDC1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402 y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con DEPDC1 de longitud completa. El clon de LTC demostró una elevada actividad específica de LTC contra las COS7 transfectadas tanto con DEPDC1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad específica significativa de LTC contra COS7 que no habían sido transfectadas con DEPDC1 ni con HLA-A24 (figura 12).

Estos resultados demuestran claramente que DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)) se expresaba naturalmente en la superficie de las células diana con la molécula HLA-A24 y que reconocía los LTC.

Actividad de LTC contra líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan endógenamente DEPDC1

5 El clon de LTC establecido que se había cultivado contra el péptido DEPDC1-A24-9-294 se examinó para su capacidad de reconocer las células tumorales que expresaban endógenamente DEPDC1. Se sometió a ensayo la actividad de LCT contra las células HT1376, que expresan endógenamente DEPDC1 y HLA-A24, utilizando el clon de LTC inducido por DEPDC1-A24-9-294 a modo de células efectoras. Se utilizaron células J82 y RT-4 como células diana que expresan endógenamente DEPDC1 pero que no expresan HLA-A24. El clon de LTC establecido mostraba una producción elevada de IFN- γ contra las células HT1376 que expresaban tanto DEPDC1 como HLA-A24. Por otra parte, las LTC no mostraban actividad de LTC significativa contra las células J82 y RT-4 que expresaban DEPDC1 pero no HLA-A24 (figura 13). Se demuestra claramente que DEPDC1-A24-9-294 es procesado naturalmente enviándolo a la superficie de las células tumorales con la molécula HLA-A24 y que es reconocido por los LTC.

Inducción in vivo de LTC con el péptido DEPDC1-A24-9-294 en ratones BALB/c

20 Es conocido que la molécula H-2Kd, una molécula del CMH de clase I de ratón, presenta un motivo de anclaje peptídico similar para la molécula HLA-A24 y que reacciona cruzadamente de manera parcial con el péptido restringido por HLA-A24. A continuación, los presentes inventores examinaron si el péptido DEPDC1-A24-9-294 inducía los LTC in vivo mediante vacunación con este péptido utilizando ratones BALB/c (H-2Kd). Se inyectó por vía subcutánea péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c los días 0 y 7. El día 14, se recolectaron esplenocitos y se utilizaron como las células respondedoras para el ensayo ELISPOT. Los esplenocitos de todos los ratones en los que se había inyectado péptido (Anil-5) mostraron una producción potente de IFN- γ en comparación con los ratones de control, los cuales recibieron inyecciones de solo IFA (negal-2) (figura 14). Estos datos indican que el péptido DEPDC1-A24-9-294 podría inducir una respuesta de LTC incluso in vivo.

Estimulación de las células T utilizando los péptidos predichos a partir de DEPDC1 restringido por HLA-A*0201

30 Los LTC resultantes que presentaban una actividad de LTC específica detectable según cribado mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ , se muestran en la figura 15 y en la Tabla 6. Las células en los pocillos nº 4 y nº 7, estimuladas con DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID nº 240)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 2 estimuladas con DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID nº 241)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 7 estimuladas con DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID nº 243)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 1 estimuladas con DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID nº 244)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 1 estimuladas con DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID nº 249)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en los pocillos nº 1 y nº 2 estimuladas con DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID nº 253)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 4 estimuladas con DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID nº 226)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en los pocillos nº 3 y nº 4 estimuladas con DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en los pocillos nº 2, nº 3, nº 5 y nº 7 estimuladas con DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID nº 255)) mostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 6 estimuladas con DEPDC1-A02-9-598 (LLQPHLERV (SEC ID nº 192)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 6 estimuladas con DEPDC1-A02-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID nº 195)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 2 estimuladas con DEPDC1-A02-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID nº 197)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 5 estimuladas con DEPDC1-A02-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID nº 209)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en los pocillos nº 1 y nº 3 estimuladas con DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAEEV (SEC ID nº 225)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en el pocillo número 1 estimuladas con DEPDC1-A02-10-674 (FLMDHNQEIL (SEC ID nº 228)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control. Las células en los pocillos nº 2 y nº 6 estimuladas con DEPDC1-A02-10-302 (ILVVCGYITV (SEC ID nº 230)) demostraron una potente producción de IFN- γ en comparación con el control.

60 Los clones de LTC estimulados con DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAEEV (SEC ID nº 225)) (figura 16) mostraron una potente actividad de LTC específica contra la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de LTC específica significativa contra dianas no pulsadas con ningún péptido. Esto sugiere que el clon de LTC presenta citotoxicidad específica de péptido.

[Tabla 6]

Péptidos candidatos de DEPDC1 restringido por HLA-A*0201

nombre de péptido	SEC ID nº	Pocillo nº
DEPDC1-A02-9-589	192	6
DEPDC1-A02-9-619	195	6
DEPDC1-A02-9-290	197	2
DEPDC1-A02-9-563	209	5
DEPDC1-A02-9-653	225	1
DEPDC1-A02-9-653	225	3
DEPDC1-A02-10-674	228	1
DEPDC1-A02-10-302	230	2
DEPDC1-A02-10-302	230	6

5

Actividad de LTC específica contra células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A*0201

Las líneas de LTC establecidas que se habían cultivado contra DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAAEEV (SEC ID nº 225)) se examinaron para su capacidad de reconocer las células diana que expresaban endógenamente DEPDC1 y HLA-A2. Inicialmente, los presentes inventores establecieron que la línea celular HEK293, que expresa constitutivamente HLA-A*0201 (HEK-A2), determina eficientemente la respuesta de LTC específica. Se sometió a ensayo la actividad de LTC específica contra las células HEK-A2 transfectadas con el gen DEPDC1 de longitud completa, que es un modelo específico de células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A2, utilizando las líneas de LTC establecidas que se habían cultivado contra DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID nº 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAAEEV (SEC ID nº 225)) a modo de células efectoras. Para los controles negativos se prepararon HEK-A2 transfectadas con vector de expresión simulada y HEK-A2 no pulsadas con el péptido correspondiente derivado de DEPDC1. Las líneas de LTC establecidas mostraron actividad de LTC específica contra HEK-A2 transfectadas con DEPDC1. Por otra parte, las líneas de LTC no mostraron actividad de LTC específica significativa contra HEK-A2 transfectadas con vector de expresión simulada y que habían sido pulsadas con péptido DEPDC1-A02-9-674 ó DEPDC1-A02-9-462 (figura 17). Se demuestra claramente que los péptidos DEPDC1-A02-10-296 y DEPDC1-A02-9-653 son procesados naturalmente enviándolos a la superficie de las células diana con la molécula HLA-A2 y que son reconocidos por los LTC.

Análisis de homología de los péptidos antigénicos

Los LTC establecidos contra los péptidos de la presente invención demostraron una potente actividad de LTC. Esto sugiere que las secuencias de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7), MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID nº 8), MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID nº 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID nº 10), MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID nº 11), DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12), DEPDC1-A2-9-589 (SEC ID nº 192), DEPDC1-A2-9-619 (SEC ID nº 195), DEPDC1-A2-9-290 (SEC ID nº 197), DEPDC1-A2-9-563 (SEC ID nº 209), DEPDC1-A2-9-653 (SEC ID nº 225), DEPDC1-A2-10-674 (SEC ID nº 228), DEPDC1-A2-10-302 (SEC ID nº 230) DEPDC1-A02-10-644 (SEC ID nº 240), DEPDC1-A02-10-575 (SEC ID nº 241), DEPDC1-A02-10-506 (SEC ID nº 243), DEPDC1-A02-10-765 (SEC ID nº 244), DEPDC1-A02-10-395 (SEC ID nº 249), DEPDC1-A02-10-224 (SEC ID nº 253), DEPDC1-A02-9-297 (SEC ID nº 226), DEPDC1-A02-10-296 (SEC ID nº 254) y DEPDC1-A02-10-301 (SEC ID nº 255) son homólogas de los péptidos derivados de otras moléculas, que es conocido que sensibilizan el sistema inmunológico humano. Para excluir esta posibilidad, se llevó a cabo un análisis de homología con las secuencias peptídicas como secuencias problema utilizando el algoritmo BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>). No se descubrió homología de secuencias significativa.

Estos resultados sugieren que las secuencias de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID nº 7), MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID nº 8), MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID nº 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID nº 10), MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID nº 11), DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12), DEPDC1-A2-9-598 (SEC ID nº 192), DEPDC1-A2-9-619 (SEC ID nº 195), DEPDC1-A2-9-290 (SEC ID nº 197), DEPDC1-A2-9-563 (SEC ID nº 209), DEPDC1-A2-9-653 (SEC ID nº 225), DEPDC1-A2-10-674 (SEC ID nº 228), DEPDC1-A2-10-302 (SEC ID nº 230) DEPDC1-A02-10-644 (SEC ID nº 240), DEPDC1-A02-10-575 (SEC ID nº 241), DEPDC1-A02-10-506 (SEC ID nº 243), DEPDC1-A02-10-765 (SEC ID nº 244), DEPDC1-A02-10-395 (SEC ID nº 249), DEPDC1-A02-10-224 (SEC ID nº 253), DEPDC1-A02-9-297 (SEC ID nº 226), DEPDC1-A02-10-296 (SEC ID nº 254) Y DEPDC1-A02-10-301 (SEC ID nº 255) son únicas y de esta manera presentan un riesgo reducido de inducir una respuesta inmunológica no deseada contra cualquier molécula no relacionada.

50

COMENTARIO

La identificación de nuevos AAT, particularmente aquellos que inducen respuestas inmunológicas antitumorales

potentes y específicas, justifica un desarrollo posterior de la aplicación clínica de las estrategias de vacunación con péptidos en diversos tipos de cáncer (Boon T. et al., J. Exp. Med. 183: 725-9, 1996; van der Bruggen P. et al., Science 254: 1643-7, 1991; Brichard V. et al., J. Exp. Med. 178: 489-95, 1993; Kawakami Y. et al., J. Exp. Med. 180: 347-52, 1994), Shichijo S. et al., J. Exp. Med. 187:277-88, 1998; Chen Y.T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914-8, 1997; Harris C.C., J. Natl. Cancer Inst. 88:1442-5, 1996; Butterfield L.H. et al., Cancer Res 59:3134-42, 1999; Vissers J.L. et al., Cancer Res 59: 5554-9, 1999; van der Burg S.H. et al., J. Immunol. 156:3308-14, 1996; Tanaka F. et al., Cancer Res. 57:4465-8, 1997; Fujie T. et al., Int. J. Cancer 80:169-72, 1999; Kikuchi M. et al., Int. J. Cancer 81:459-66, 1999; Oiso M. et al., Int. J. Cancer 81:387-94, 1999).

Las tecnologías de micromatrices de ADNc pueden generar perfiles completos de expresión génica de las células malignas (Lin Y.M. et al., Oncogene 21:4120-8, 13 de junio de 2002; Kitahara O. et al., Cancer Res. 61:3544-9, 1 de mayo de 2001; Suzuki C. et al., Cancer Res. 63:7038-41, 1 de nov. de 2003; Ashida S. et al., Cancer Res. 64:5963-72, 1 de sept. de 2004; Ochi K. et al., Int. J. Oncol. 647-55, marzo de 2004; Kaneta Y. et al., Int. J. Oncol. 23:681-91, sept. de 2003; Obama K., Hepatology 41:1339-48, junio de 2005; Kato T. et al., Cancer Res. 65:5638-46, 1 de julio de 2005; Kitahara O. et al., Neoplasia 4:293-303, jul-ag. de 2002; Saito-Hisaminato A. et al., DNA Res. 9: 35-45, 2002) y encontrar utilidad en la identificación de AAT potenciales. Entre los transcritos que se encuentran regulados positivamente en diversos cánceres, se han identificado dos nuevos genes humanos, denominados MPHOSPH1 y DEPDC1, respectivamente, utilizando dichas tecnologías.

Tal como se ha demostrado anteriormente, MPHOSPH1 y DEPDC1 se encuentran sobreexpresados en diversos cánceres mientras que muestran una expresión mínima en tejidos normales. Además, se ha demostrado que dichos genes presentan una función significativa relacionada con la proliferación celular (ver la solicitud de patente PCT nº JP2006/302684). De esta manera, los péptidos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1 pueden servir como epítomos AAT que, a su vez, pueden utilizarse para inducir respuestas inmunológicas significativas y específicas contra las células de cáncer.

De esta manera, debido a que MPHOSPH1 y DEPDC1 son AAT nuevos, las vacunas que utilicen estos péptidos epítomos encontrarán utilidad como inmunoterapéuticos contra diversos carcinomas u otras enfermedades que expresan dichas moléculas.

EJEMPLO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

Péptidos y adyuvante

Los péptidos sintetizados de grado BPF se obtuvieron de Neo Multi Peptide System (MPS) (San Diego, CA). Como adyuvante se utilizó adyuvante incompleto de Freund (IFA) (MONTANIDE *ISA51). Se emulsionó 1 mg del péptido apropiado con 1 mg de IFA.

Expresión de antígenos

Los presentes inventores llevaron a cabo un análisis inmunohistoquímico. Las células tumorales o tejidos tumorales de cánceres de vejiga obtenidos de cirugía o biopsia se tiñeron con cada uno de los anticuerpos policlonales específicos de MPHOSPH1 y de DEPDC1. El protocolo de tinción fue el establecido en el Human Genome Center, Institute for Medical Science, The University of Tokyo, tal como se ha descrito anteriormente (Kanehira M. et al., Cancer Res. 67(7):3276-3285, 2007; Kanehira M. et al., Oncogene, 23 de abril de 2007 [publ. elec. previa a la imprenta]. Se sometió a ensayo la expresión de HLA-A*2402 en el SRL (Tachikawa, Japón).

Pacientes incluidos

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

1. Pacientes con cáncer de vejiga recurrente no operable sometido previamente a quimioterapia estándar que resultó fallida.
2. Pacientes con estado funcional 0 ó 1 según los criterios japoneses.
3. Pacientes de entre 20 y 80 años de edad.
4. Pacientes con tumor primario o metástasis que puede reconocerse mediante inspección de imágenes (TC/RMI) antes del tratamiento, con independencia de la guía RECIST

5. Pacientes en los que han transcurrido más de 4 semanas desde el tratamiento anterior (cirugía, quimioterapia, radioterapia, termoterapia, otra inmunoterapia, etc.).

6. Pacientes con pronóstico esperado de más de 3 meses.

7. Pacientes con función de la médula ósea (glóbulos blancos (GB)>2.000, 15.000 menos que, placa más de 50.000), función hepática (GOT<150, GTP<150, T-bil<3,0), función renal (Cr<3,0).

8. Pacientes con HLA-A*2402.

9. Tumor del paciente con expresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

1. Pacientes en estado de gestación.

2. Pacientes lactantes.

3. Pacientes con deseo de gestación.

4. Pacientes con infección no controlable.

5. Pacientes con necesidad de seguimiento médico durante el periodo de ensayo clínico; administración sistémica de esteroides; administración sistémica de inmunosupresor

6. Pacientes que el médico o investigador principal considera que no deben incluirse en el ensayo.

Protocolo

Los pacientes incluidos con cáncer de vejiga con HLA-A*2402 cuyos tumores expresaban fosfoproteína 1 de etapa M (MPHOSPH1) y/o dominio DEP que contiene 1 (DEPDC1) se inmunizaron con el péptido epítipo restringido por HLA-A*2402, MPHOSPH1-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID nº 7)) y/o DEPDC1-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)). Cada péptido se combinó con 1 ml de adyuvante incompleto de Freund (IFA, MONTANIDE *ISA51) y se inyectó subcutáneamente en una lesión axilar o inguinal una vez a la semana. Cuatro veces una inyección se define como un curso, y tras 1 curso para la evaluación inmunológica y clínica se extrajo sangre y se llevó a cabo TC/RMI.

Evaluación de la seguridad

La evaluación de los efectos adversos se llevó a cabo según los criterios comunes de toxicidad del National Cancer Institute, versión 3 (NCI-CTC ver. 3).

Evaluación inmunológica

Éste es un criterio de evaluación secundario en el presente estudio y los presentes inventores confirmaron si se había producido respuesta de LTC específica de péptido o no. Se midió una respuesta de LTC específica de la manera siguiente: se recolectaron células mononucleares sanguíneas periféricas y se estimularon nuevamente con los péptidos apropiados. Se sometió a ensayo la respuesta de TCL el día 14^o mediante ensayo ELISPOT de IFN- γ .

Evaluación de los efectos antitumorales

La evaluación de la respuesta clínica se llevó a cabo según los criterios RECIST.

RESULTADOS

La Tabla 7 muestra el resumen del presente ensayo clínico. No se produjeron efectos adversos graves, excepto exantema de grado 2 en el Caso 3. Se observó una respuesta menor (Caso 3) y una respuesta mixta (Caso 4). La expresión de MPHOSPH1 se produjo en 4 de 5 casos, mientras que DEPDC1 se expresó en 5 de 5 casos, respectivamente.

[Tabla 7]

Resumen del presente ensayo clínico

Caso	Edad/Sexo	Vacunación	Efecto adv.	DTH	Eval. lesión	Eval.	Estado actual	Expresión de antig.	LTC
								MPHOSPH1 DEPDC1	
1	79/M	1 curso	No	No	LN, Cerebro	PD	1,8 meses, muerte	o	No
2	72/F	en 3 cursos	No	No	Local Rec.	SD (4,5 meses)	5,0 meses, vivo	o	NT
3	49/M	en 4 cursos	exantema	No	Metast Pulm.	Respuesta menor	3,7 meses, vivo	x	Sí
4	74/M	en 2 cursos	No	No	Local Rec.	Respuesta menor	1,4 meses, vivo	o	NT
5	78/M	en 2 cursos	No	No	Local Rec.	SD	1,4 meses, vivo	o	NT

NT: no sometido a ensayo

Caso 2

5 En el Caso 2, se incluyó en el presente ensayo clínico una mujer de 72 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado tras el fracaso de la quimioterapia estándar. En la figura 18, la expresión de antígenos del tumor reveló que se expresaban fuertemente tanto MPHOSPH1 como DEPDC1. Por lo tanto, se utilizaron para las vacunaciones dos tipos de péptidos epítomos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1. En el Caso 2 se produjo recurrencia local del cáncer de vejiga. Se evaluó como enfermedad estable (EE) según los criterios RECIST (figura 19).

10 Caso 3

15 En el Caso 3, se incluyó en el presente ensayo clínico un hombre de 49 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado tras el fracaso de la quimioterapia estándar. Sólo se expresaba fuertemente DEPDC1 (figura 20). Por lo tanto, se utilizó para las vacunas el péptido epítomo derivado de DEPDC1 únicamente. El Caso 3 presentaba múltiples metástasis pulmonares del cáncer de vejiga. En los lóbulos derecho (figura 21) e izquierdo (figura 22) de las metástasis pulmonares, se redujo la tasa de progresión tras la vacunación. Especialmente se redujo el tamaño del tumor tras los terceros cursos de tratamiento. La figura 23 muestra el efecto antitumoral según los criterios RECIST. Se clarificó que la tasa de progresión del tumor metastásico se reducía tras la vacunación. Indicaba una respuesta menor obtenida mediante la vacunación con el péptido epítomo derivado de DEPDC1. Para la evaluación inmunológica del Caso 3, se midió la respuesta de LTC específica antes y después de la vacunación. Se mostró una respuesta específica de LTC fuerte tras la vacunación (figura 24). Indicaba claramente que los LTC inducidos por el péptido epítomo derivado de DEPDC1 podrían mostrar un efecto antitumoral.

25 Caso 4

25 En el Caso 4, se incluyó en el presente ensayo clínico un hombre de 74 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado tras el fracaso de la quimioterapia estándar. De este tumor se expresaban MPHOSPH1 y DEPDC1 (figura 25). Por lo tanto, se utilizaron para las vacunaciones dos tipos de péptidos epítomos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1. En el Caso 4 se produjo recurrencia local del cáncer de vejiga. Tras 1 curso de vacunación, el tamaño del tumor se redujo en 20% según los criterios RECIST (figura 26). Sin embargo, aparecieron nuevas lesiones metastásicas en pulmones. La respuesta obtenida fue mixta con la vacunación con dos tipos de péptidos epítomos, derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

35 COMENTARIO

A continuación se describe la fundamentación del presente ensayo clínico:

1. debido a que MPHOSPH1 y DEPDC1 no se expresan en los tejidos normales excepto en los testículos, ambos antígenos son altamente específicos de tumor.
2. Estos péptidos se considera que presentan una fuerte inmunogenicidad, ya que se establecen respuestas de LTC potentes y específicas con estos péptidos epítomos.
3. El 60% de la población japonesa presenta HLA-A*2402.
4. Estos péptidos presentan suficiente estabilidad química para la aplicación a un ensayo clínico.

45 El propósito del presente estudio era obtener información clínica sobre la toxicidad, respuesta inmunológica y actividad antitumoral.

50 Los efectos adversos previamente informados en ensayos clínicos de vacunas con péptidos son síntomas similares a la gripe, tales como fiebre, cefalea y malestar. En casos raros, se ha informado de reacciones en la piel con ampollas, consideradas una reactividad cruzada en el sitio de la inyección. En el presente estudio no se produjeron efectos adversos severos, excepto exantema de grado 2 en el Caso 3. Este paciente presentaba una historia clínica de exantema durante la quimioterapia. Ello indica que este efecto adverso no se originaba en la vacunación y por lo tanto el presente protocolo podría considerarse seguro.

55 Se llevó a cabo un análisis inmunológico mediante inducción de una respuesta específica de LTC tras la vacunación. En el Caso 1, no se obtuvo respuesta de LTC específica tras la vacunación (datos no mostrados). En el Caso 3, se obtuvo claramente una respuesta de LTC específica contra el péptido derivado de DEPDC1 tras el 1º y 2º curso de vacunación. En el Caso 3 se obtuvo un efecto antitumoral mediante la vacunación. Demostró claramente que este péptido derivado de DEPDC1 presentaba un efecto antitumoral contra el cáncer de vejiga mediante inducción de una respuesta específica de LTC.

60 En el Caso 4, tras sólo el primer curso de vacunación se obtuvo un claro efecto antitumoral contra la recurrencia local del cáncer de vejiga. Estos datos apoyan fuertemente que estos péptidos epítomos presentan efectos

antitumorales contra el cáncer de vejiga.

En conclusión, se clarificó que la presente terapia de epítomos es segura y que además muestra fuertes efectos antitumorales sin efectos adversos severos.

5

Aplicabilidad industrial

La presente invención identifica nuevos AAT, particularmente que inducen potentes respuestas inmunológicas antitumorales específicas. Dichos AAT justifican un desarrollo adicional de las vacunas de péptidos contra enfermedades asociadas a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres.

10

LISTADO DE SECUENCIAS

15

<110> CNOOTHERAPY SCIENCE, INC. THE UNIVERSITY OF TOKYO FUJICKA, Tomoaki

<120> VACUNAS DE PÉPTIDOS PARA CÁNCERES QUE EXPRESAN LOS POLIPÉPTIDOS MPHOSPH1 O DEPDC1

20

<130> ONC-A0618P

<150> US 60/852, 575

<151> 2006-10-17

25

<160> 255

<170> Patent In versión 3.1

30

<210> 1

<211> 6319

<212> ADN

<213> Homo sapiens

35

<220>

<221> CDS

<222> (73)..(5415)

<400> 1

at t g t t t g a a t t t g a a a a c g g t a a c a t c g c a g t g c t g c t c g c g g g t c t g g c t a g t c a g g c	60
g a a g t t t g c a g a a t g g a a t c t a a t t t t a a t c a a g a g g a g t a c c t c g a c c a	111
Met 1 Glu 5 Ser 10 Asn 15 Phe 20 Asn 25 Gln 30 Glu 35 Gly 40 Val 45 Pro 50 Arg 55 Pro 60	
t c t t a t g t t t t t a g t g c t g a c c c a a t t g c a a g g c c t t c a g a a t a a a t	159
Ser 15 Tyr 20 Val 25 Phe 30 Ser 35 Ala 40 Asp 45 Pro 50 Ile 55 Ala 60 Arg 65 Pro 70 Ser 75 Glu 80 Ile 85 Asn 90	
t t c g a t g g c a t t a a g c t t g a t c t g t c t c a t g a a t t t t c c t t a g t t g c t	207
Phe 30 Asp 35 Gly 40 Ile 45 Lys 50 Leu 55 Asp 60 Leu 65 Ser 70 His 75 Glu 80 Phe 85 Ser 90 Leu 95 Val 100 Ala 105	
c c a a a t a c t g a g g c a a a c a g t t t c g a a t c t a a a g a t t a t c t c c a g g t t	255
Pro 255 Asn 260 Thr 265 Glu 270 Ala 275 Asn 280 Ser 285 Phe 290 Glu 295 Ser 300 Lys 305 Asp 310 Tyr 315 Leu 320 Gln 325 Val 330	
t g t c t t c g a a t a a g a c c a t t t a c a c a g t c a g a a a g a a c t t g a g t c t	303
Cys 303 Leu 308 Arg 313 Ile 318 Arg 323 Pro 328 Phe 333 Thr 338 Gln 343 Ser 348 Glu 353 Lys 358 Glu 363 Leu 368 Gu 373 Ser 378	
g a g g g c t g t g t g c a t a t t c t g g a t t c a c a g a c t g t t g t g c t g a a a g a g	351
Glu 351 Gly 356 Oys 361 Val 366 His 371 Ile 376 Leu 381 Asp 386 Ser 391 Gln 396 Thr 401 Val 406 Val 411 Leu 416 Lys 421 Gu 426	
c c t c a a t g c a t c c t t g g t c g g t t a a g t g a a a a g c t c a g g g c a g a t g	399
Pro 399 Gln 404 Oys 409 Ile 414 Leu 419 Gly 424 Arg 429 Phe 434 Ser 439 Glu 444 Lys 449 Ser 454 Thr 459 Ser 464 Gly 469 Gln 474 Met 479	
g c a c a g a a a t t c a g t t t t c c a a g g t t t g g c c c a g c a a c t a c a c a g	447
Ala 447 Gln 452 Lys 457 Phe 462 Ser 467 Phe 472 Ser 477 Lys 482 Val 487 Phe 492 Gly 497 Pro 502 Ala 507 Thr 512 Thr 517 Gln 522	
a a g g a a t t c t t t c a g g g t t g c a t t a t g c a a c c a g t a a a g a c c t c t t g	495
Lys 495 Glu 500 Phe 505 Phe 510 Gln 515 Gly 520 Oys 525 Ile 530 Met 535 Gln 540 Pro 545 Val 550 Lys 555 Asp 560 Leu 565 Leu 570	
a a a g g a c a g a g t c g t a t t t a c t t a c g g g c t a a c c a a t t c a g g a	543
Lys 543 Gly 548 Gln 553 Ser 558 Arg 563 Leu 568 Ile 573 Phe 578 Thr 583 Tyr 588 Gly 593 Leu 598 Thr 603 Asn 608 Ser 613 Gly 618	

aaa	aca	tat	aca	ttt	caa	ggg	aca	gaa	gaa	aat	att	ggc	att	ctg	cct	591
Lys	Thr	Tyr	Thr	Phe	G n	G y	Thr	G u	G u	Asn	I le	G y	I le	Leu	Pro	
		160					165					170				
cga	act	tig	aat	gta	tta	ttt	gat	agt	ctt	caa	gaa	aga	ctg	tat	aca	639
Arg	Thr	Leu	Asn	Val	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	G n	G u	Arg	Leu	Tyr	Thr	
		175				180					185					
aag	atg	aac	ctt	aaa	cca	cat	aga	tcc	aga	gaa	tac	tta	agg	tta	tca	687
Lys	Met	Asn	Leu	Lys	Pro	H s	Arg	Ser	Arg	G u	Tyr	Leu	Arg	Leu	Ser	
		190			195					200					205	
tca	gaa	caa	gag	aaa	gaa	gaa	att	gct	agc	aaa	agt	gca	tig	ctt	cgg	735
Ser	G u	G n	G u	Lys	G u	G u	I le	Al a	Ser	Lys	Ser	Al a	Leu	Leu	Arg	
				210					215					220		
caa	att	aaa	gag	gtt	act	gtg	cat	aat	gat	agt	gat	gat	act	ctt	tat	783
G n	I le	Lys	G u	Val	Thr	Val	H s	Asn	Asp	Ser	Asp	Asp	Thr	Leu	Tyr	
			225					230					235			
gga	agt	tta	act	aac	tct	tig	aat	atc	tca	gag	ttt	gaa	gaa	tcc	ata	831
G y	Ser	Leu	Thr	Asn	Ser	Leu	Asn	I le	Ser	G u	Phe	G u	G u	Ser	I le	
		240					245					250				
aaa	gat	tat	gaa	caa	gcc	aac	tig	aat	atg	gct	aat	agt	ata	aaa	ttt	879
Lys	Asp	Tyr	G u	G n	Al a	Asn	Leu	Asn	Met	Al a	Asn	Ser	I le	Lys	Phe	
	255					260					265					
tct	gtg	tgg	gtt	tct	ttc	ttt	gaa	att	tac	aat	gaa	tat	att	tat	gac	927
Ser	Val	Trp	Val	Ser	Phe	Phe	G u	I le	Tyr	Asn	G u	Tyr	I le	Tyr	Asp	
					275					280					285	
tta	ttt	gtt	cct	gta	tca	tct	aaa	ttc	caa	aag	aga	aag	atg	ctg	cgc	975
Leu	Phe	Val	Pro	Val	Ser	Ser	Lys	Phe	G n	Lys	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	
				290					295					300		
ctt	tcc	caa	gac	gta	aag	ggc	tat	tct	ttt	ata	aaa	gat	cta	caa	tgg	1023
Leu	Ser	G n	Asp	Val	Lys	G y	Tyr	Ser	Phe	I le	Lys	Asp	Leu	G n	Trp	
			305					310					315			
att	caa	gta	tct	gat	tcc	aaa	gaa	gcc	tat	aga	ctt	tta	aaa	cta	gga	1071
I le	G n	Val	Ser	Asp	Ser	Lys	G u	Al a	Tyr	Arg	Leu	Leu	Lys	Leu	G y	
		320					325					330				
ata	aag	cac	cag	agt	gtt	gcc	ttc	aca	aaa	tig	aat	aat	gct	tcc	agt	1119
I le	Lys	H s	G n	Ser	Val	Al a	Phe	Thr	Lys	Leu	Asn	Asn	Al a	Ser	Ser	
	335					340					345					
aga	agt	cac	agc	ata	ttc	act	gtt	aaa	ata	tta	cag	att	gaa	gat	tct	1167
Arg	Ser	H s	Ser	I le	Phe	Thr	Val	Lys	I le	Leu	G n	I le	G u	Asp	Ser	
					355					360					365	
gaa	atg	tct	cgt	gta	att	cga	gtc	agt	gaa	tta	tct	tta	tgt	gat	ctt	1215
G u	Met	Ser	Arg	Val	I le	Arg	Val	Ser	G u	Leu	Ser	Leu	Oys	Asp	Leu	
				370					375					380		
gct	ggt	tca	gaa	cga	act	atg	aag	aca	cag	aat	gaa	ggt	gaa	agg	tta	1263
Al a	G y	Ser	G u	Arg	Thr	Met	Lys	Thr	G n	Asn	G u	G y	G u	Arg	Leu	
			385					390					395			
aga	gag	act	ggg	aat	atc	aac	act	tct	tta	tig	act	ctg	gga	aag	tgt	1311
Arg	G u	Thr	G y	Asn	I le	Asn	Thr	Ser	Leu	Leu	Thr	Leu	G y	Lys	Oys	
		400					405					410				
att	aac	gtc	tig	aag	aat	agt	gaa	aag	tca	aag	ttt	caa	cag	cat	gtg	1359
I le	Asn	Val	Leu	Lys	Asn	Ser	G u	Lys	Ser	Lys	Phe	G n	G n	H s	Val	
	415					420					425					

ES 2 415 958 T3

cct Pro 430	ttc Phe	cgg Arg	gaa Glu	agt Ser	aaa Lys 435	ctg Leu	act Thr	cac His	tat Tyr	ttt Phe 440	caa Gln	agt Ser	ttt Phe	tll Phe	aat Asn 445	1407
ggt Gly	aaa Lys	ggg Gly	aaa Lys	att Ile 450	tgt Oys	atg Met	att Ile	gtc Val	aat Asn 455	atc Ile	agc Ser	caa Gln	tgt Oys	tat Tyr 460	tta Leu	1455
gcc Ala	tat Tyr	gat Asp	gaa Glu 465	aca Thr	ctc Leu	aat Asn	gta Val	tig Leu 470	aag Lys	ttc Phe	tcc Ser	gcc Ala 475	att Ile	gca Ala	caa Gln	1503
aaa Lys	gtt Val	tgt Oys 480	gtc Val	cca Pro	gac Asp	act Thr	tta Leu 485	aat Asn	tcc Ser	tct Ser	caa Gln	gag Glu 490	aaa Lys	tta Leu	ttt Phe	1551
gga Gly	cct Pro 495	gtc Val	aaa Lys	tct Ser	tct Ser	caa Asp 500	gat Asp	gta Val	tca Ser	cta Leu	gac Asp 505	agt Ser	aat Asn	tca Ser	aac Asn	1599
agt Ser 510	aaa Lys	ata Ile	tta Leu	aat Asn	gta Val 515	aaa Lys	aga Arg	gcc Ala	acc Thr	att Ile 520	tca Ser	tgg Trp	gaa Glu	aat Asn	agt Ser 525	1647
cta Leu	gaa Glu	gat Asp	tig Leu	atg Met 530	gaa Glu	gac Asp	gag Glu	gat Asp	tig Leu 535	gtt Val	gag Glu	gag Glu	cta Leu	gaa Glu 540	aac Asn	1695
gct Ala	gaa Glu	gaa Glu	act Thr 545	caa Gln	aat Asn	gtg Val	gaa Glu	act Thr 550	aaa Lys	ctt Leu	ctt Leu	gat Asp 555	gaa Glu	gat Asp	cta Leu	1743
gat Asp	aaa Lys	aca Thr 560	tta Leu	gag Glu	gaa Glu	aat Asn	aag Lys 565	gct Ala	ttc Phe	att Ile	agc Ser	cac His 570	gag Glu	gag Glu	aaa Lys	1791
aga Arg 575	aaa Lys	ctg Leu	tig Leu	gac Asp	tta Leu	ata Ile 580	gaa Glu	gac Asp	tig Leu	aaa Lys	aaa Lys	aaa Lys	ctg Leu	ata Ile	aat Asn	1839
gaa Glu 590	aaa Lys	aag Lys	gaa Glu	aaa Lys	tta Leu 595	acc Thr	tig Leu	gaa Glu	ttt Phe	aaa Lys 600	att Ile	cga Arg	gaa Glu	gaa Glu	gtt Val 605	1887
aca Thr	cag Gln	gag Glu	ttt Phe	act Thr 610	cag Gln	tat Tyr	tgg Trp	gct Ala	caa Gln 615	cgg Arg	gaa Glu	gct Ala	gac Asp 620	ttt Phe	aag Lys	1935
gag Glu	act Thr	ctg Leu	ctt Leu 625	caa Gln	gaa Glu	cga Arg	gag Glu	ata Ile 630	tta Leu	gaa Glu	gaa Glu	aat Asn 635	gct Ala 635	gaa Glu	cgt Arg	1983
cgt Arg	tig Leu	gct Ala 640	atc Ile	ttc Phe	aag Lys	gat Asp	tig Leu 645	gtt Val	ggt Gly	aaa Lys	tgt Oys	gac Asp 650	act Thr	cga Arg	gaa Glu	2031
gaa Glu 655	gca Ala	gcg Ala	aaa Lys	gac Asp	att Ile 660	tgt Oys	gcc Ala	aca Thr	aaa Lys	gtt Val	gaa Glu 665	act Thr	gaa Glu	gaa Glu	gct Ala	2079
act Thr 670	gct Ala	tgt Oys	tta Leu	gaa Glu	cta Leu 675	aag Lys	ttt Phe	aat Asn	caa Gln	att Ile 680	aaa Lys	gct Ala	gaa Glu	tta Leu	gct Ala 685	2127
aaa Lys	acc Thr	aaa Lys	gga Gly	gaa Glu 690	tta Leu	atc Ile	aaa Lys	acc Thr	aaa Lys 695	gaa Glu	gag Glu	tta Leu	aaa Lys	aag Lys	aga Arg 700	2175
gaa	aat	gaa	tca	gat	tca	tig	att	caa	gag	ctt	gag	aca	tct	aat	aag	2223

ES 2 415 958 T3

975				980				985								
ggt G y 990	aat Asn	gat Asp	tat Tyr	ttg Leu	gta Val 995	agt Ser	aag Lys	caa G n	gtt Val 1000	aaa Lys 1000	gaa G u	tat Tyr	cga Arg	att Ile	caa G n 1005	3087
gaa G u	ccc Pro	aat Asn	agg Arg	gaa G u 1010	aat Asn	tct Ser	ttc Phe	cac H s	tct Ser 1015	agt Ser	att Ile	gaa G u	gct Ala	att Ile 1020		3132
tg Trp	gaa G u	gaa G u	tgt Oys	aaa Lys 1025	gag G u	att Ile	gtg Val	aag Lys	gcc Ala 1030	tct Ser	tcc Ser	aaa Lys	aaa Lys	agt Ser 1035		3177
cat H s	cag G n	att Ile	gag G u	gaa G u 1040	ctg Leu	gaa G u	caa G n	caa G n	att Ile 1045	gaa G u	aaa Lys	ttg Leu	cag G n	gca Ala 1050		3222
gaa G u	gta Val	aaa Lys	ggc G y	tat Tyr 1055	aag Lys	gat Asp	gaa G u	aac Asn	aat Asn 1060	aga Arg	cta Leu	aag Lys	gag G u	aag Lys 1065		3267
gag G u	cat H s	aaa Lys	aac Asn	caa G n 1070	gat Asp	gac Asp	cta Leu	cta Leu	aaa Lys 1075	gaa G u	aaa Lys	gaa G u	act Thr	ctt Leu 1080		3312
ata Ile	cag G n	cag G n	ctg Leu	aaa Lys 1085	gaa G u	gaa G u	ttg Leu	caa G n	gaa G u 1090	aaa Lys	aat Asn	gtt Val	act Thr	ctt Leu 1095		3357
gat Asp	gtt Val	caa G n	ata Ile	cag G n 1100	cat H s	gta Val	gtt Val	gaa G u	gga G y 1105	aag Lys	aga Arg	gcg Ala	ctt Leu	tca Ser 1110		3402
gaa G u	ctt Leu	aca Thr	caa G n	ggt G y 1115	gtt Val	act Thr	tgc Oys	tat Tyr	aag Lys 1120	gca Ala	aaa Lys	ata Ile	aag Lys	gaa G u 1125		3447
ctt Leu	gaa G u	aca Thr	att Ile	tta Leu 1130	gag G u	act Thr	cag G n	aaa Lys	gtt Val 1135	gaa G u	tgt Oys	agt Ser	cat H s	tca Ser 1140		3492
gcc Ala	aag Lys	tta Leu	gaa G u	caa G n 1145	gac Asp	att Ile	ttg Leu	gaa G u	aag Lys 1150	gaa G u	tct Ser	atc Ile	atc Ile	tta Leu 1155		3537
aag Lys	cta Leu	gaa G u	aga Arg	aat Asn 1160	ttg Leu	aag Lys	gaa G u	ttt Phe	caa G n 1165	gaa G u	cat H s	ctt Leu	cag G n	gat Asp 1170		3582
tct Ser	gtc Val	aaa Lys	aac Asn	acc Thr 1175	aaa Lys	gat Asp	tta Leu	aat Asn	gta Val 1180	aag Lys	gaa G u	ctc Leu	aag Lys	ctg Leu 1185		3627
aaa Lys	gaa G u	gaa G u	atc Ile	aca Thr 1190	cag G n	tta Leu	aca Thr	aat Asn	aat Asn 1195	ttg Leu	caa G n	gat Asp	atg Met	aaa Lys 1200		3672
cat H s	tta Leu	ctt Leu	caa G n	tta Leu 1205	aaa Lys	gaa G u	gaa G u	gaa G u	gaa G u 1210	gaa G u	acc Thr	aac Asn	agg Arg	caa G n 1215		3717
gaa G u	aca Thr	gaa G u	aaa Lys	ttg Leu 1220	aaa Lys	gag G u	gaa G u	ctc Leu	tct Ser 1225	gca Ala	agc Ser	tct Ser	gct Ala	cgt Arg 1230		3762
acc Thr	cag G n	aat Asn	ctg Leu	aaa Lys 1235	gca Ala	gat Asp	ctt Leu	cag G n	agg Arg 1240	aag Lys	gaa G u	gaa G u	gat Asp	tat Tyr 1245		3807

gct gac ctg aaa gag Ala Asp Leu Lys Gu	aaa ctg act gat gcc Lys Leu Thr Asp Ala	aaa aag cag att aag Lys Lys Gn Ile Lys	1250														3852
caa gta cag aaa gag Gn Val Gn Lys Gu	gta tct gta atg cgt Val Ser Val Met Arg	gat gag gat aaa tta Asp Gu Asp Lys Leu	1265														3897
ctg agg att aaa att Leu Arg Ile Lys Ile	aat gaa ctg gag Asn Gu Leu Gu	aaa aag aaa aac cag tgt Lys Lys Lys Asn Gn Oys	1280														3942
tct cag gaa tta gat Ser Gn Gu Leu Asp	atg aaa cag cga acc Met Lys Gn Arg Thr	att cag caa ct c aag Ile Gn Gn Leu Lys	1295														3987
gag cag tta aat aat Gu Gn Leu Asn Asn	cag aaa gtg gaa gaa Gn Lys Val Gu Gu	gct ata caa cag tat Ala Ile Gn Gn Tyr	1310														4032
gag aga gca tgc aaa Gu Arg Ala Oys Lys	gat cta aat gtt aaa Asp Leu Asn Val Lys	gag aaa ata att gaa Gu Lys Ile Ile Gu	1325														4077
gac atg cga atg aca Asp Met Arg Met Thr	cta gaa gaa cag gaa Leu Gu Gu Gn Gu	caa act cag gta gaa Gn Thr Gn Val Gu	1340														4122
cag gat caa gtg ctt Gn Asp Gn Val Leu	gag gct aaa tta gag Gu Ala Lys Leu Gu	gaa gtt gaa agg ctg Gu Val Gu Arg Leu	1355														4167
gcc aca gaa ttg gaa Ala Thr Gu Leu Gu	aaa tgg aag gaa aaa Lys Trp Lys Gu Lys	tgc aat gat ttg gaa Oys Asn Asp Leu Gu	1370														4212
acc aaa aac aat caa Thr Lys Asn Asn Gn	agg tca aat aaa gaa Arg Ser Asn Lys Gu	cat gag aac aac aca His Gu Asn Asn Thr	1385														4257
gat gtg ctt gga aag Asp Val Leu Gy Lys	ctc act aat ctt caa Leu Thr Asn Leu Gn	gat gag tta cag gag Asp Gu Leu Gn Gu	1400														4302
tct gaa cag aaa tat Ser Gu Gn Lys Tyr	aat gct gat aga aag Asn Ala Asp Arg Lys	aaa tgg tta gaa gaa Lys Trp Leu Gu Gu	1415														4347
aaa atg atg ctt atc Lys Met Met Leu Ile	act caa gcg aaa gaa Thr Gn Ala Lys Gu	gca gag aat ata cga Ala Gu Asn Ile Arg	1430														4392
aat aaa gag atg aaa Asn Lys Gu Met Lys	aaa tat gct gag gac Lys Tyr Ala Gu Asp	agg gag cgt ttt ttt Arg Gu Arg Phe Phe	1445														4437
aag caa cag aat gaa Lys Gn Gn Asn Gu	atg gaa ata ctg aca Met Gu Ile Leu Thr	gcc cag ctg aca gag Ala Gn Leu Thr Gu	1460														4482
aaa gat agt gac ctt Lys Asp Ser Asp Leu	caa aag tgg cga gaa Gn Lys Trp Arg Gu	gaa cga gat caa ctg Gu Arg Asp Gn Leu	1475														4527
gtt gca gct tta gaa Val Ala Ala Leu Gu	ata cag cta aaa gca Ile Gn Leu Lys Ala	ctg ata tcc agt aat Leu Ile Ser Ser Asn	1490														4572

gt a cag aaa gat aat gaa att gaa caa cta aaa agg atc ata tca Val G n Lys Asp Asn G u lle G u G n Leu Lys Arg lle lle Ser	1505	1510	1515	4617
gag act tct aaa ata gaa aca caa atc atg gat atc aag ccc aaa G u Thr Ser Lys lle G u Thr G n lle Met Asp lle Lys Pro Lys	1520	1525	1530	4662
cgt att agt tca gca gat cct gac aaa ctt caa act gaa cct cta Arg lle Ser Ser Ala Asp Pro Asp Lys Leu G n Thr G u Pro Leu	1535	1540	1545	4707
tcg aca agt ttt gaa att tcc aga aat aaa ata gag gat gga tct Ser Thr Ser Phe G u lle Ser Arg Asn Lys lle G u Asp G y Ser	1550	1555	1560	4752
gt a gt c ctt gac tct tgt gaa gtg tca aca gaa aat gat caa agc Val Val Leu Asp Ser Oys G u Val Ser Thr G u Asn Asp G n Ser	1565	1570	1575	4797
act cga ttt cca aaa cct gag tta gag att caa ttt aca cct tta Thr Arg Phe Pro Lys Pro G u Leu G u lle 1585 G n Phe Thr Pro Leu	1580	1585	1590	4842
cag cca aac aaa atg gca gtg aaa cac cct ggt tgt acc aca cca G n Pro Asn Lys Met Ala Val Lys H s Pro G y Oys Thr Thr Pro	1595	1600	1605	4887
gtg aca gtt aag att ccc aag gct cgg aag agg aag agt aat gaa Val Thr Val Lys lle Pro Lys Ala Arg Lys Arg Lys Ser Asn G u	1610	1615	1620	4932
atg gag gag gac ttg gtg aaa tgt gaa aat aag aag aat gct aca Met G u G u Asp Leu Val Lys Oys G u Asn Lys Lys Asn Ala Thr	1625	1630	1635	4977
ccc aga act aat ttg aaa ttt cct att tca gat gat aga aat tct Pro Arg Thr Asn Leu Lys Phe Pro lle Ser Asp Asp Arg Asn Ser	1640	1645	1650	5022
tct gtc aaa aag gaa caa aag gtt gcc ata cgt cca tca tct aag Ser Val Lys Lys G u G n Lys Val Ala lle Arg Pro Ser Ser Lys	1655	1660	1665	5067
aaa aca tat tct tta cgg agt cag gca tcc ata att ggt gta aac Lys Thr Tyr Ser Leu Arg Ser G n Ala Ser lle lle G y Val Asn	1670	1675	1680	5112
ctg gcc act aag aaa aaa gaa gga aca cta cag aaa ttt gga gac Leu Ala Thr Lys Lys Lys G u G y Thr Leu G n Lys Phe G y Asp	1685	1690	1695	5157
ttc tta caa cat tct ccc tca att ctt caa tca aaa gca aag aag Phe Leu G n H s Ser Pro Ser lle Leu G n Ser Lys Ala Lys Lys	1700	1705	1710	5202
ata att gaa aca atg agc tct tca aag ctc tca aat gta gaa gca lle lle G u Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val G u Ala	1715	1720	1725	5247
agt aaa gaa aat gtg tct caa cca aaa cga gcc aaa cgg aaa tta Ser Lys G u Asn Val Ser G n Pro Lys Arg Ala Lys Arg Lys Leu	1730	1735	1740	5292
tac aca agt gaa att tca tct cct att gat ata tca ggc caa gtg Tyr Thr Ser G u lle Ser Ser Pro lle Asp lle Ser G y G n Val	1745	1750	1755	5337
att tta atg gac cag aaa atg aag gag agt gat cac cag att atc				5382

ES 2 415 958 T3

Ile	Leu	Met	Asp	Gln	Lys	Met	Lys	Glu	Ser	Asp	His	Gln	Ile	Ile										
				1760					1765					1770										
aaa	cga	cga	ctt	cga	aca	aaa	aca	gcc	aaa	taa	atcacttatg				5425									
Lys	Arg	Arg	Leu	Arg	Thr	Lys	Thr	Ala	Lys															
				1775					1780															
gaaatg	ttta	atataa	atftt	talatg	cat	a	gtcatt	ggaa	cttgc	atcct	gtat	tgt	aaa		5485									
tataa	atgta	tataat	atgca	atlaa	atcac	tctg	cat	ataga	tgtg	ctgt	tata	acat	ag		5545									
tataa	tttta	atcca	ataaa	tgagt	caaaa	ttt	gtat	atftt	ttata	aaggc	ttttt	at	aa		5605									
tagct	tcttt	caaact	gtat	ttccct	atfta	tct	cagacat	tggat	cagtg	aagat	cct	ag			5665									
gaaagagg	ct	gtat	atctca	ttt	atftt	gc	tata	acaggat	gtaat	aggt	c	aggt	at	ttgg	5725									
ttfact	tata	ttta	acaatg	tct	atgaat	ttttt	tact	ttat	ctgta	taca	act	gat			5785									
ttfacat	atc	tgt	ttggatt	atagct	agga	ttt	ggagaat	aagt	gtgt	ac	agat	cacaaa			5845									
acat	gtat	at	acat	atfta	gaaa	agat	ct	caagt	ctfta	at	agaat	gt	ct	cact	tatt	5905								
ttgt	aa	cat	ttgt	gggt	a	cat	ag	acat	gtat	at	atftt	acggg	gt	at	tgagat	gttt	5965							
tgacac	aggc	atg	caat	gtg	aaat	acgt	gt	at	cat	ggaga	atgag	gt	at	c	cat	cccct	ca	6025						
agcat	ttttc	cttt	gaat	ta	cagat	aat	cc	aat	tacatt	c	tttagat	cat	tt	aaaa	at			6085						
acaag	t	aagt	t	at	at	gat	t	at	ag	t	cact	ct	at	l	gt	gct	at	cagat	agt	agat	cat	t	ct	6145
tttt	at	ct	ta	ttt	gt	tttt	g	t	accat	ta	ccat	cccc	ac	ct	cccc	ct	gc	aacc	gt	cagt				6205
accct	t	acca	gcc	act	ggt	a	accat	t	ct	c	t	act	ct	gt	at	gccc	at	gagg	t	caat	t	gat	t	6265
ttat	tttt	ag	at	cccat	aaa	t	aaat	gagaa	cat	gc	agt	ct	tt	gt	caaaaa	aaaa								6319

<210> 2
 <211> 1780
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 2

ES 2 415 958 T3

Met Glu Ser Asn Phe Asn Gln Glu Gly Val Pro Arg Pro Ser Tyr Val
 1 5 10

Phe Ser Ala Asp Pro Ile Ala Arg Pro Ser Glu Ile Asn Phe Asp Gly
 20 25 30

Ile Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu Val Ala Pro Asn Thr
 35 40 45

Glu Ala Asn Ser Phe Glu Ser Lys Asp Tyr Leu Gln Val Cys Leu Arg
 50 55 60

Ile Arg Pro Phe Thr Gln Ser Glu Lys Glu Leu Glu Ser Glu Gly Cys
 65 70 75 80

Val His Ile Leu Asp Ser Gln Thr Val Val Leu Lys Glu Pro Gln Cys
 85 90 95

Ile Leu Gly Arg 100 Leu Ser Glu Lys Ser 105 Ser Gly Gln Met Ala Gln Lys 110
 Phe Ser Phe Ser Lys Val Phe Gly 120 Pro Ala Thr Thr Gln Lys Gu Phe 125
 Phe Gln Gly Oys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu Lys Gly Gln 140
 Ser Arg Leu Ile Phe Thr 150 Tyr Gly Leu Thr Asn Ser Gly Lys Thr Tyr 160
 Thr Phe Gln Gly Thr 165 Gu Gu Asn Ile Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu 175
 Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Gu Arg Leu Tyr Thr Lys Met Asn 190
 Leu Lys Pro His Arg Ser Arg Gu Tyr Leu Arg Leu Ser Ser Gu Gln 205
 Gu Lys Gu Gu Ile Ala Ser Lys Ser Ala Leu Leu Arg Gln Ile Lys 220
 Gu Val Thr Val His Asn Asp Ser Asp Asp Thr Leu Tyr Gly Ser Leu 240
 Thr Asn Ser Leu Asn Ile Ser Gu Phe Gu Gu Ser Ile Lys Asp Tyr 255
 Gu Gln Ala Asn Leu Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val Trp 270
 Val Ser Phe Phe Gu Ile Tyr Asn Gu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val 285
 Pro Val Ser Ser Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu Ser Gln 300
 Asp Val Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile Gln Val 320
 Ser Asp Ser Lys Gu Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile Lys His 335
 Gln Ser Val Ala Phe Thr Lys Leu Asn Asn Ala Ser Ser Arg Ser His 350
 Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile Gu Asp Ser Gu Met Ser 365
 Arg Val Ile Arg Val Ser Gu Leu Ser Leu Cys Asp Leu Ala Gly Ser

ES 2 415 958 T3

370		375		380											
G u	Arg	Thr	Mét	Lys	Thr	Gln	Asn	G u	G y	G u	Arg	Leu	Arg	G u	Thr
385					390					395					400
G y	Asn	Ile	Asn	Thr	Ser	Leu	Leu	Thr	Leu	G y	Lys	Oys	Ile	Asn	Val
				405					410					415	
Leu	Lys	Asn	Ser	G u	Lys	Ser	Lys	Phe	Gln	Gln	His	Val	Pro	Phe	Arg
			420					425					430		
G u	Ser	Lys	Leu	Thr	His	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Phe	Asn	G y	Lys	G y
		435					440					445			
Lys	Ile	Oys	Mét	Ile	Val	Asn	Ile	Ser	Gln	Oys	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Asp
	450					455					460				
G u	Thr	Leu	Asn	Val	Leu	Lys	Phe	Ser	Ala	Ile	Ala	Gln	Lys	Val	Oys
465					470					475					480
Val	Pro	Asp	Thr	Leu	Asn	Ser	Ser	Gln	G u	Lys	Leu	Phe	G y	Pro	Val
				485					490					495	
Lys	Ser	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Leu	Asp	Ser	Asn	Ser	Asn	Ser	Lys	Ile
			500					505					510		
Leu	Asn	Val	Lys	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Trp	G u	Asn	Ser	Leu	G u	Asp
		515					520					525			
Leu	Mét	G u	Asp	G u	Asp	Leu	Val	G u	G u	Leu	G u	Asn	Ala	G u	G u
	530					535					540				
Thr	Gln	Asn	Val	G u	Thr	Lys	Leu	Leu	Asp	G u	Asp	Leu	Asp	Lys	Thr
545					550					555					560
Leu	G u	G u	Asn	Lys	Ala	Phe	Ile	Ser	His	G u	G u	Lys	Arg	Lys	Leu
			565						570					575	
Leu	Asp	Leu	Ile	G u	Asp	Leu	Lys	Lys	Lys	Leu	Ile	Asn	G u	Lys	Lys
			580					585					590		
G u	Lys	Leu	Thr	Leu	G u	Phe	Lys	Ile	Arg	G u	G u	Val	Thr	Gln	G u
		595					600					605			
Phe	Thr	Gln	Tyr	Trp	Ala	Gln	Arg	G u	Ala	Asp	Phe	Lys	G u	Thr	Leu
	610					615					620				
Leu	Gln	G u	Arg	G u	Ile	Leu	G u	G u	Asn	Ala	G u	Arg	Arg	Leu	Ala
625					630					635					640
Ile	Phe	Lys	Asp	Leu	Val	G y	Lys	Oys	Asp	Thr	Arg	G u	G u	Ala	Ala
				645					650					655	

Lys Asp Ile Cys Ala Thr Lys Val Gu Thr Gu Gu Ala Thr Ala Cys
 660 665 670
 Leu Gu Leu Lys Phe Asn Gn Ile Lys Ala Gu Leu Ala Lys Thr Lys
 675 680 685
 Gy Gu Leu Ile Lys Thr Lys Gu Gu Leu Lys Lys Arg Gu Asn Gu
 690 695 700
 Ser Asp Ser Leu Ile Gn Gu Leu Gu Thr Ser Asn Lys Lys Ile Ile
 705 710 715 720
 Thr Gn Asn Gn Arg Ile Lys Gu Leu Ile Asn Ile Ile Asp Gn Lys
 725 730 735
 Gu Asp Thr Ile Asn Gu Phe Gn Asn Leu Lys Ser His Met Gu Asn
 740 745 750
 Thr Phe Lys Cys Asn Asp Lys Ala Asp Thr Ser Ser Leu Ile Ile Asn
 755 760 765
 Asn Lys Leu Ile Cys Asn Gu Thr Val Gu Val Pro Lys Asp Ser Lys
 770 775 780
 Ser Lys Ile Cys Ser Gu Arg Lys Arg Val Asn Gu Asn Gu Leu Gn
 785 790 795 800
 Gn Asp Gu Pro Pro Ala Lys Lys Gy Ser Ile His Val Ser Ser Ala
 805 810 815
 Ile Thr Gu Asp Gn Lys Lys Ser Gu Gu Val Arg Pro Asn Ile Ala
 820 825 830
 Gu Ile Gu Asp Ile Arg Val Leu Gn Gu Asn Asn Gu Gy Leu Arg
 835 840 845
 Ala Phe Leu Leu Thr Ile Gu Asn Gu Leu Lys Asn Gu Lys Gu Gu
 850 855 860
 Lys Ala Gu Leu Asn Lys Gn Ile Val His Phe Gn Gn Gu Leu Ser
 865 870 875 880
 Leu Ser Gu Lys Lys Asn Leu Thr Leu Ser Lys Gu Val Gn Gn Ile
 885 890 895
 Gn Ser Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Gu Leu His Val Gn Lys Ser
 900 905 910
 Lys Asn Gn Gu Gn Gu Gu Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Gu Ile
 915 920 925

G u Thr Ala Thr Arg Ser Ile Thr Asn Asn Val Ser G n Ile Lys Leu
 930 935 940
 Met His Thr Lys Ile Asp Gl u Leu Arg Thr Leu Asp Ser Val Ser G n
 945 950 955 960
 Ile Ser Asn Ile Asp Leu Leu Asn Leu Arg Asp Leu Ser Asn Gly Ser
 965 970 975
 G u Gl u Asp Asn Leu Pro Asn Thr G n Leu Asp Leu Leu Gly Asn Asp
 980 985 990
 Tyr Leu Val Ser Lys G n Val Lys Gl u Tyr Arg Ile G n Gl u Pro Asn
 995 1000 1005
 Arg Gl u Asn Ser Phe His Ser Ser Ile Gl u Ala Ile Trp Gl u Gl u
 1010 1015 1020
 Cys Lys Gl u Ile Val Lys Ala Ser Ser Lys Lys Ser His G n Ile
 1025 1030 1035
 G u Gl u Leu Gl u G n G n Ile Gl u Lys Leu G n Ala Gl u Val Lys
 1040 1045 1050
 Gly Tyr Lys Asp Gl u Asn Asn Arg Leu Lys Gl u Lys Gl u His Lys
 1055 1060 1065
 Asn G n Asp Asp Leu Leu Lys Gl u Lys Gl u Thr Leu Ile G n G n
 1070 1075 1080
 Leu Lys Gl u Gl u Leu G n Gl u Lys Asn Val Thr Leu Asp Val G n
 1085 1090 1095
 Ile G n His Val Val Gl u Gly Lys Arg Ala Leu Ser Gl u Leu Thr
 1100 1105 1110
 G n Gly Val Thr Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Gl u Leu Gl u Thr
 1115 1120 1125
 Ile Leu Gl u Thr G n Lys Val Gl u Cys Ser His Ser Ala Lys Leu
 1130 1135 1140
 Gl u G n Asp Ile Leu Gl u Lys Gl u Ser Ile Ile Leu Lys Leu Gl u
 1145 1150 1155
 Arg Asn Leu Lys Gl u Phe G n Gl u His Leu G n Asp Ser Val Lys
 1160 1165 1170
 Asn Thr Lys Asp Leu Asn Val Lys Gl u Leu Lys Leu Lys Gl u Gl u
 1175 1180 1185

Ile Thr G n Leu Thr Asn Asn Leu G n Asp Met Lys H s Leu Leu
 1190 1195 1200
 G n Leu Lys G u G u G u G u G u Thr Asn Arg G n G u Thr G u
 1205 1210 1215
 Lys Leu Lys G u G u Leu Ser Ala Ser Ser Ala Arg Thr G n Asn
 1220 1225 1230
 Leu Lys Ala Asp Leu G n Arg Lys G u G u Asp Tyr Ala Asp Leu
 1235 1240 1245
 Lys G u Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys G n Ile Lys G n Val G n
 1250 1255 1260
 Lys G u Val Ser Val Met Arg Asp G u Asp Lys Leu Leu Arg Ile
 1265 1270 1275
 Lys Ile Asn G u Leu G u Lys Lys Lys Asn G n Cys Ser G n G u
 1280 1285 1290
 Leu Asp Met Lys G n Arg Thr Ile G n G n Leu Lys G u G n Leu
 1295 1300 1305
 Asn Asn G n Lys Val G u G u Ala Ile G n G n Tyr G u Arg Ala
 1310 1315 1320
 Cys Lys Asp Leu Asn Val Lys G u Lys Ile Ile G u Asp Met Arg
 1325 1330 1335
 Met Thr Leu G u G u G n G u G n Thr G n Val G u G n Asp G n
 1340 1345 1350
 Val Leu G u Ala Lys Leu G u G u Val G u Arg Leu Ala Thr G u
 1355 1360 1365
 Leu G u Lys Trp Lys G u Lys Cys Asn Asp Leu G u Thr Lys Asn
 1370 1375 1380
 Asn G n Arg Ser Asn Lys G u H s G u Asn Asn Thr Asp Val Leu
 1385 1390 1395
 Gly Lys Leu Thr Asn Leu G n Asp G u Leu G n G u Ser G u G n
 1400 1405 1410
 Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu G u G u Lys Met Met
 1415 1420 1425
 Leu Ile Thr G n Ala Lys G u Ala G u Asn Ile Arg Asn Lys G u
 1430 1435 1440
 Met Lys Lys Tyr Ala G u Asp Arg G u Arg Phe Phe Lys G n G n

ES 2 415 958 T3

1445		1450		1455
Asn Gu Met Gu Ile Leu Thr		Ala Gn Leu Thr Gu		Lys Asp Ser
1460		1465		1470
Asp Leu Gn Lys Trp Arg Gu		Gu Arg Asp Gn Leu		Val Ala Ala
1475		1480		1485
Leu Gu Ile Gn Leu Lys Ala		Leu Ile Ser Ser Asn		Val Gn Lys
1490		1495		1500
Asp Asn Gu Ile Gu Gn Leu		Lys Arg Ile Ile Ser		Gu Thr Ser
1505		1510		1515
Lys Ile Gu Thr Gn Ile Met		Asp Ile Lys Pro Lys		Arg Ile Ser
1520		1525		1530
Ser Ala Asp Pro Asp Lys Leu		Gn Thr Gu Pro Leu		Ser Thr Ser
1535		1540		1545
Phe Gu Ile Ser Arg Asn Lys		Ile Gu Asp Gy Ser		Val Val Leu
1550		1555		1560
Asp Ser Cys Gu Val Ser Thr		Gu Asn Asp Gn Ser		Thr Arg Phe
1565		1570		1575
Pro Lys Pro Gu Leu Gu Ile		Gn Phe Thr Pro Leu		Gn Pro Asn
1580		1585		1590
Lys Met Ala Val Lys His Pro		Gy Oys Thr Thr Pro		Val Thr Val
1595		1600		1605
Lys Ile Pro Lys Ala Arg Lys		Arg Lys Ser Asn Gu		Met Gu Gu
1610		1615		1620
Asp Leu Val Lys Oys Gu Asn		Lys Lys Asn Ala Thr		Pro Arg Thr
1625		1630		1635
Asn Leu Lys Phe Pro Ile Ser		Asp Asp Arg Asn Ser		Ser Val Lys
1640		1645		1650
Lys Gu Gn Lys Val Ala Ile		Arg Pro Ser Ser Lys		Lys Thr Tyr
1655		1660		1665
Ser Leu Arg Ser Gn Ala Ser		Ile Ile Gy Val Asn		Leu Ala Thr
1670		1675		1680
Lys Lys Lys Gu Gy Thr Leu		Gn Lys Phe Gy Asp		Phe Leu Gn
1685		1690		1695
His Ser Pro Ser Ile Leu Gn		Ser Lys Ala Lys Lys		Ile Ile Gu
1700		1705		1710

ES 2 415 958 T3

Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val Glu Ala Ser Lys Glu
 1715 1720 1725
 Asn Val Ser Gln Pro Lys Arg Ala Lys Arg Lys Leu Tyr Thr Ser
 1730 1735 1740
 Glu Ile Ser Ser Pro Ile Asp Ile Ser Gly Gln Val Ile Leu Met
 1745 1750 1755
 Asp Gln Lys Met Lys Glu Ser Asp His Gln Ile Ile Lys Arg Arg
 1760 1765 1770
 Leu Arg Thr Lys Thr Ala Lys
 1775 1780

<210> 3
 <211> 5318
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (79)..(2511)

10

<400> 3

ES 2 415 958 T3

gagactcgcc actgccgagg ccgctgggccc t g a g t g t c g c c t t c g c c g c c a t g g a c g c c a	60
ccgggcgctg acagacct atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr 1 5 10	111
cgg gcc acc aag ctg tgg aat gaa gtt acc aca tct ttt cga gca gga Arg Ala Thr Lys Leu Trp Asn Gu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly 15 20 25	159
atg cct cta aga aaa cac aga caa cac ttt aaa aaa tat ggc aat tgt Met Pro Leu Arg Lys His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys 30 35 40	207
ttc aca gca gga gaa gca gtg gat tgg ctt tat gac cta tia aga aat Phe Thr Ala Gly Gu Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn 45 50 55	255
aat agc aat ttt ggt cct gaa gtt aca agg caa cag act atc caa ctg Asn Ser Asn Phe Gly Pro Gu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu 60 65 70 75	303
tig agg aaa ttt ctt aag aat cat gta att gaa gat atc aaa ggg agg Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile Gu Asp Ile Lys Gly Arg 80 85 90	351
tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctc ttc aga ttt cct Trp Gly Ser Gu Asn Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro 95 100 105	399
gca act tcg cca ctt aaa act cta cca cga agg tat cca gaa ttg aga Ala Thr Ser Pro Leu Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Gu Leu Arg 110 115 120	447
aaa aac aac ata gag aac ttt tcc aaa gat aaa gat agc att ttt aaa Lys Asn Asn Ile Gu Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys 125 130 135	495

tta cga aac tta tct cgt aga act cct aaa agg cat gga tta cat tta 543
 Leu Arg Asn Leu Ser Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu 155
 140

tct cag gaa aat ggc gag aaa ata aag cat gaa ata atc aat gaa gat 591
 Ser Gln Gu Asn Gly Gu Lys Ile Lys His Gu Ile Ile Asn Gu Asp 170
 160

caa gaa aat gca att gat aat aga gaa cta agc cag gaa gat gtt gaa 639
 Gln Gu Asn Ala Ile Asp Asn Arg Gu Leu Ser Gln Gu Asp Val Gu 185
 175

gaa gtt tgg aga tat gtt att ctg atc tac ctg caa acc att tta ggt 687
 Gu Val Trp Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly 200
 190

gtg cca tcc cta gaa gaa gtc ata aat cca aaa caa gta att ccc caa 735
 Val Pro Ser Leu Gu Gu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln 215
 205

tat ata atg tac aac atg gcc aat aca agt aaa cgt gga gta gtt ata 783
 Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile 235
 220

cta caa aac aaa tca gat gac ctg cct cac tgg gta tta tct gcc atg 831
 Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met 250
 240

aag tgc cta gca aat tgg cca aga agc aat gat atg aat aat cca act 879
 Lys Cys Leu Ala Asn Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr 265
 255

tat gtt gga ttt gaa cga gat gta ttc aga aca atc gca gat tat ttt 927
 Tyr Val Gly Phe Gu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe 280
 270

cta gat ctg cct gaa cct cta ctt act ttt gaa tat tac gaa tta ttt 975
 Leu Asp Leu Pro Gu Pro Leu Leu Thr Phe Gu Tyr Tyr Gu Leu Phe 295
 285

gta aac att ttg gtt gtt tgt ggc tac atc aca gtt tca gat aga tcc 1023
 Val Asn Ile Leu Val Val Oys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser 315
 300

agt ggg ata cat aaa att caa gat gat cca cag tct tca aaa ttc ctt 1071
 Ser Gly Ile His Lys Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu 330
 320

cac tta aac aat ttg aat tcc ttc aaa tca act gag tgc ctt ctt ctg 1119
 His Leu Asn Asn Leu Asn Ser Phe Lys Ser Thr Gu Cys Leu Leu Leu 345
 335

agt ctg ctt cat aga gaa aaa aac aaa gaa gaa tca gat tct act gag 1167
 Ser Leu Leu His Arg Gu Lys Asn Lys Gu Gu Ser Asp Ser Thr Gu 360
 350

aga cta cag ata agc aat cca gga ttt caa gaa aga tgt gct aag aaa 1215
 Arg Leu Gln Ile Ser Asn Pro Gly Phe Gln Gu Arg Oys Ala Lys Lys 375
 365

atg cag cta gtt aat tta aga aac aga aga gtg agt gct aat gac ata 1263
 Met Gln Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile 395
 380

atg gga gga agt tgt cat aat tta ata ggg tta agt aat atg cat gat 1311
 Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp 410
 400

c t a Leu	t c c Ser	t c t Ser	a a c Asn 415	a g c Ser	a a a Lys	c c a Pro	a g g Arg	t g c Oys 420	t g t Oys	t c t Ser	t t g Leu	g a a G u 425	g g a G y 425	a t t I l e	g t a Val	1359
g a t Asp	g t g Val	c c a Pro 430	g g g G y	a a t Asn	t c a Ser	a g t Ser	a a a Lys 435	g a g G u	g c a A l a	t c c Ser	a g t Ser	g t c Val 440	t t t P h e	c a t H i s	c a a G n	1407
t c t Ser	t t t P h e 445	c c g Pro	a a c Asn	a t a I l e	g a a G u	g g a G y 450	c a a G n	a a t Asn	a a t Asn	a a a Lys	c t g Leu 455	t t t P h e	t t a Leu	g a g G u	t c t Ser	1455
a a g Lys 460	c c c Pro	a a a Lys	c a g G n	g a a G u	t t c P h e 465	c t g Leu	t t g Leu	a a t Asn	c t t Leu	c a t H i s 470	t c a Ser	g a g G u	g a a G u	a a t Asn	a t t I l e 475	1503
c a a G n	a a g Lys	c c a Pro	t t c P h e	a g t Ser 480	g c t A l a	g g t G y	t t t P h e	a a g Lys	a g a Arg 485	a c c Thr	t c t Ser	a c t Thr	t t g Leu	a c t Thr 490	g t t Val	1551
c a a G n	g a c Asp	c a a G n	g a g G u 495	g a g G u	t t g Leu	t g t Oys	a a t Asn	g g g G y 500	a a a Lys	t g c Oys	a a g Lys	t c a Ser	a a a Lys 505	c a g G n	c t t Leu	1599
t g t Oys	a g g Arg	t c t Ser 510	c a g G n	a g t Ser	t t g Leu	c t t Leu	t t a Leu 515	a g a Arg	a g t Ser	a g t Ser	a c a Thr	a g a Arg 520	a g g Arg	a a t Asn	a g t Ser	1647
t a t Tyr	a t c I l e 525	a a t Asn	a c a Thr	c c a Pro	g t g Val	g c t A l a 530	g a a G u	a t t I l e	a t c I l e	a t g M e t	a a a Lys 535	c c a Pro	a a t Asn	g t t Val	g g a G y	1695
c a a G n 540	g g c G y	a g c Ser	a c a Thr	a g t Ser	g t g Val 545	c a a G n	a c a Thr	g c t A l a	a t g M e t	g a a G u 550	a g t Ser	g a a G u	c t c Leu	g g a G y	g a g G u 555	1743
t c t Ser	a g t Ser	g c c A l a	a c a Thr	a t c I l e 560	a a t Asn	a a a Lys	a g a Arg	c t c Leu	t g c Oys 565	a a a Lys	a g t Ser	a c a Thr	a t a I l e	g a a G u 570	c t t Leu	1791
t c a Ser	g a a G u	a a t Asn	t c t Ser 575	t t a Leu	c t t Leu	c c a Pro	g c t A l a	t c t Ser 580	t c t Ser	a t g M e t	t t g Leu	a c t Thr	g g c G y 585	a c a Thr	c a a G n	1839
a g c Ser	t t g Leu	c t g Leu	c a a G n	c c t Pro	c a t H i s	t t a Leu	g a g G u 595	a g g Arg	g t t Val	g c c A l a	a t c I l e	g a t Asp 600	g c t A l a	c t a Leu	c a g G n	1887
t t a Leu	t g t Oys 605	t g t Oys	t t g Leu	t t a Leu	c t t Leu	c c c Pro 610	c c a Pro	c c a Pro	a a t Asn	c g t Arg	a g a Arg 615	a a g Lys	c t t Leu	c a a G n	c t t Leu	1935
t t a Leu 620	a t g M e t	c g t Arg	a t g M e t	a t t I l e	t c c Ser 625	c g a Arg	a t g M e t	a g t Ser	c a a G n	a a t Asn 630	g t t Val	g a t Asp	a t g M e t	c c c Pro	a a a Lys 635	1983
c t t Leu	c a t H i s	g a t Asp	g c a A l a	a t g M e t 640	g g t G y	a c g Thr	a g g Arg	t c a Ser	c t g Leu 645	a t g M e t	a t a I l e	c a t H i s	a c c Thr	t t t P h e 650	t c t Ser	2031
c g a Arg	t g t Oys	g t g Val	t t a Leu 655	t g c Oys	t g t Oys	g c t A l a	g a a G u 660	g a a G u	g t g Val	g a t Asp	c t t Leu	g a t Asp	g a g G u 665	c t t Leu	c t t Leu	2079
g c t A l a	g g a G y	a g a Arg	t t a Leu	g t t Val	t c t Ser	t t c P h e	t t a Leu 675	a t g M e t	g a t Asp	c a t H i s	c a t H i s	c a g G n 680	g a a G u	a t t I l e	c t t Leu	2127
c a a Leu	g t a Val	c c c Pro	t c t Ser	t a c Thr	t t a Leu	c a g Arg	a c t Thr	g c a Arg	g t g Val	g a a Val	a a a Val	c a t Thr	c t t Thr	g a c Thr	t a c Thr	2175

G n 685	Val	Pro	Ser	Tyr	Leu	G n 690	Thr	Al a	Val	G u	Lys	H i s	Leu	Asp	Tyr	
tta Leu 700	aaa Lys	aag Lys	gga G y	cat H i s	att I l e 705	gaa G u	aat A s n	cct P r o	gga G y	gat A s p 710	gga G y	cta L e u	ttt P h e	gct A l a	cct P r o 715	2223
ttg Leu	cca P r o	act T h r	tac T y r	tca S e r 720	tac T y r	tgt O y s	aag L y s	cag G n	att I l e 725	agt S e r	gct A l a	cag G n	gag G u	ttt P h e 730	gat A s p	2271
gag G u	caa G n	aaa L y s	gtt V a l 735	tct S e r	acc T h r	tct S e r	caa G n	gct A l a 740	gca A l a	att I l e	gca A l a	gaa G u	cit L e u 745	tta L e u	gaa G u	2319
aat A s n	att I l e 750	att I l e	aaa L y s	aac A s n	agg A r g	agt S e r	tta L e u 755	cct P r o	cta L e u	aag L y s	gag G u	aaa L y s	aga A r g	aaa L y s	aaa L y s	2367
cta L e u 765	aaa L y s	cag G n	ttt P h e	cag G n	aag L y s	gaa G u 770	tat T y r	cct P r o	ttg L e u	ata I l e	tat T y r 775	cag G n	aaa L y s	aga A r g	ttt P h e	2415
cca P r o 780	acc T h r	acg T h r	gag G u	agl S e r	gaa G u 785	gca A l a	gca A l a	ctt L e u	ttt P h e	ggt G y 790	gac A s p	aaa L y s	cct P r o	aca T h r	atc I l e 795	2463
aag L y s	caa G n	cca P r o	atg M e t	ctg L e u 800	att I l e	tta L e u	aga A r g	aaa L y s 805	cca P r o	aag L y s	ttc P h e	cgt A r g	agt S e r	cta L e u 810	aga A r g	2511
t aact aact g	aatt aaaaat	t atgtaat ac	t tgtggaact	t t gat aat g	aagccat at c											2571
t gagaat gta	gct act caaa	aggaagt ct g	t catt aat aa	ggt at t t cta	aat aacaca											2631
t t atgt aagg	aagt gccaaa	at agt t at ca	at gt gagact	ct t aggaac	t aact agat c											2691
t caat t gaga	gcacat aaca	at agat gat a	ccaaat act t	t t t g t t t t a	acacagct at											2751
ccagt aaggc	t at cat gat g	t gt gct aaaa	t t t t at t t ac	t t gaat t t t g	aaaact gagc											2811
t gt g t t aggg	at t aact at	aat t ct gt t c	t t aaaagaaa	at t t at ct gc	aaat gt gcaa											2871
gt t ct gagat	at t agct aat	gaat t agt t g	t t t ggggt t a	ct t ct t t gt t	t ct aagt at a											2931
agaat gt gaa	gaat at t t ga	aaact caat g	aaat aat t ct	cagct gccaa	at gt t gcact											2991
ct t t t at at a	t t ct t t t t cc	act t t t gat c	t at t t at at a	t at gt at gt g	t t t t t aaaaat											3051
at gt gt at at	t t t at cagat	t t ggt t t t gc	ct t aaat at t	at ccccaat t	gct t cagt ca											3111
t t catt t t g t t	cagt at at at	at t t t gaat t	ct agt t t t ca	t aat ct at t a	gaagat gggg											3171
at at aaaaga	agt at aaggc	aat cat at at	t catt caaaa	gat at t t at t	t agcaact gc											3231
t at gt gcct t	t cgt t gt t cc	agat at gcag	agacaat gal	aaat aaaaca	t at aat ct ct											3291
t ccat aagg t	at t t at t t t t	t aat caagg g	agat acaccl	at cagat gt t	t aaaa aaca											3351
acact accca	ct gaaat cag	ggcat at aga	at cat t cagc	t aaagagt ga	ct t ct at gat											3411
gat ggaacag	gt ct ct aagc	t agt ggt t t t	caaact ggt a	cacatt agac	t caccgagg											3471
aat t t t aaaa	cagcct at at	gccagggcc	t aact t acac	t aat t aat c	t gaat t t t gg											3531
ggat gt t gt a	t agggat t ag	t at t t t t t t t	aat ct aggt g	at t ccaat at	t cagccaact											3591
gt gagaat ca	at ggct aaa	t gct t t t t at	aaacat t t t t	at aagt gt ca	agat aat ggc											3651

```

acat t gact t t a t t t t t t c a t t g g a a g a a a a t g c c t g c c a a g t a t a a a t g a c t c t c a t c t 3711
t a a a c a a g g t t c t t c a g g t t t c t g c t t g a t t g a c t t g g t a c a a a c t t g a a g c a a g t t g c 3771
c t t c t a a t t t t t a c t c c a a g a t t g t t t c a t a t c t a t t c c t t a a g t g t a a a g a a t a t a t a 3831
a t g c a t g g t t t g t a a t a a a a t c t t a a t g t t t a a t g a c t g t t c t c a t t t c t c a a t g t a a t t 3891
t c a t a c t g t t t c t c t a t a a a a t g a t a g t a t t c c a t t t a a c a t t a c t g a t t t t t a t t a a a a 3951
a c c t g g a c a g a a a a t t a t a a a t t a t a a a t a t g a c t t t a t c c t g g c t a t a a a a t t a t t g a a 4011
c c a a a a t g a a t t c t t t c t a a g g c a t t t g a a t a c t a a a a c g t t t a t t g t t t a t a g a t a t g t 4071
a a a a t g t g g a t t a t g t t g c a a a t t g a g a t t a a a a t t a t t t g g g g t t t t g t a a c a a t a t a a 4131
t t t t g c t t t t g t a t t a t a g a c a a t a t a t a a a t a a a t a a t a a a g g c a g g c a a c t t t c a t t t g c a 4191
c t a a t g t a c a t g c a a t t g a g a t t a c a a a a t a c a t g g t a c a a t g c t t t a a t a a c a a a c t c t 4251
g c c a g t c a g g t t t g a a t c c t a c t g t g c t a t t a a c t a g c t a g t a a a c t c a g a c a a g t t a c t 4311
t a a c t t c t c t a a g c c c c a g t t t t g t t a t c t a t a a a a t g a a t a t t a t a a t a g t a c c t c t t t 4371
t t a g g a t t g c g a g g a t t a a g c a g g a t a a t g c a t g t a a a g t g t t a g c a c a g t g t c t c a c a t 4431
a g a a t a a g c a c t c t a t a a a t a t t t t a c t a g a a t c a c c t a g g a t t a t a g c a c t a g a a g a g a 4491
t c t t a g c a a a a a t g t g g t c c t t t c t g t t g c t t t g g a c a g a c a t g a c c a a a a c a a a a t t a 4551
c g g a c a a t t g a t g a g c c t t a t t a a c t a t c t t t t c a t t a t g a g a c a a a g g t t c t g a t t a t g 4611
c c t a c t g g t t g a a a t t t t t t a a t c t a g t c a a g a a g g a a a a t t t g a t g a g g a a g g a a g g a a 4671
t g g a t a t c t t c a g a a g g g c t t c g c c t a a g c t g g a a c a t g g a t a g a t t c c a t t c t a a c a t a 4731
a a g a t c t t t a a g t t c a a a t a t a g a t g a g t t g a c t g g t a g a t t t g g t g g t a g t t g c t t t c t 4791
c g g g a t a t a a g a a g c a a a a t c a a c t g c t a c a a g t a a a g a g g g g a t g g g g a a g g t g t t g c a 4851
c a t t t a a a g a g a g a a a g t g t g a a a a a g c c t a a t t g t g g g a a t g c a c a g g t t t c a c c a g a t 4911
c a g a t g a t g t c t g g t t a t t c t g t a a a t t a t a g t t c t t a t c c c a g a a a t t a c t g c c t c c a c 4971
c a t c c c t a a t a t c t t c t a a t t g g t a t c a t a t a a t g a c c c a c t c t t c t t a t g t t a t c c a a a 5031
c a g t t a t g t g g c a t t t a g t a a t g g a a t g t a c a t g g a a t t t c c c a c t g a c t t a c c t t t c t g 5091
t c c t t g g g a a g c t t a a a c t c t g a a t c t t c t c a t c t g t a a a a t g t g a a t t a a a g t a t c t a c 5151
c t a a c t g a g t t g t g a t t g t a g t g a a g a a a g g c a a t a t a t t t a a a t c t t g a a t t t a g c a a 5211
g c c c a c g c t c g a t t t t t a t g t c c t t t c c t c t t g c c t t g t a t t g a g t t t a a g a t c t c t a c t 5271
g a t t a a a a c t c t t t t g c t a t c a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a a 5318

```

<210> 4
 <211> 811
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

ES 2 415 958 T3

Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr Arg Ala Thr Lys Leu
1 5 10 15

Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys

Val Oys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
 305 310 315 320
 Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu
 325 330 335
 Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Oys Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Arg
 340 345 350
 Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser
 355 360 365
 Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Oys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn
 370 375 380
 Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Oys
 385 390 395 400
 His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser
 405 410 415
 Lys Pro Arg Oys Oys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val Pro Gly Asn
 420 425 430
 Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln Ser Phe Pro Asn Ile
 435 440 445
 Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser Lys Pro Lys Gln Glu
 450 455 460
 Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile Gln Lys Pro Phe Ser
 465 470 475 480
 Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu
 485 490 495
 Leu Oys Asn Gly Lys Oys Lys Ser Lys Gln Leu Oys Arg Ser Gln Ser
 500 505 510
 Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser Tyr Ile Asn Thr Pro
 515 520 525
 Val Ala Glu Ile Ile Met Lys Pro Asn Val Gly Gln Gly Ser Thr Ser
 530 535 540
 Val Gln Thr Ala Met Glu Ser Glu Leu Gly Glu Ser Ser Ala Thr Ile
 545 550 555 560
 Asn Lys Arg Leu Oys Lys Ser Thr Ile Glu Leu Ser Glu Asn Ser Leu
 565 570 575

Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu Gln Pro
 580 585 590
 His Leu Glu Arg Val Ala Ile Asp Ala Leu Gln Leu Cys Cys Leu Leu
 595 600 605
 Leu Pro Pro Pro Asn Arg Arg Lys Leu Gln Leu Leu Met Arg Met Ile
 610 615 620
 Ser Arg Met Ser Gln Asn Val Asp Met Pro Lys Leu His Asp Ala Met
 625 630 635 640
 Gly Thr Arg Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val Leu Cys
 645 650 655
 Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu Asp Glu Leu Leu Ala Gly Arg Leu Val
 660 665 670
 Ser Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu Gln Val Pro Ser Tyr
 675 680 685
 Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu Asp Tyr Leu Lys Lys Gly His
 690 695 700
 Ile Glu Asn Pro Gly Asp Gly Leu Phe Ala Pro Leu Pro Thr Tyr Ser
 705 710 715 720
 Tyr Cys Lys Gln Ile Ser Ala Gln Glu Phe Asp Glu Gln Lys Val Ser
 725 730 735
 Thr Ser Gln Ala Ala Ile Ala Glu Leu Leu Glu Asn Ile Ile Lys Asn
 740 745 750
 Arg Ser Leu Pro Leu Lys Glu Lys Arg Lys Lys Leu Lys Gln Phe Gln
 755 760 765
 Lys Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr Thr Glu Ser
 770 775 780
 Glu Ala Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile Lys Gln Pro Met Leu
 785 790 795 800
 Ile Leu Arg Lys Pro Lys Phe Arg Ser Leu Arg
 805 810

<210> 5
 <211> 8666
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (79)..(1659)

10

<400> 5

gagactcgcc actgcccggg ccgctgggcc t gagtgtcgc cttcgccgcc atggacgcca 60

ccgggcgctg acagacct atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat 111
Met G u Ser G n G y Val Pro Pro G y Pro Tyr
1 5 10

cgg gcc acc aag ctg tgg aat gaa gtt acc aca tct ttt cga gca gga 159
Arg Ala Thr Lys Leu Trp Asn G u Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala G y
15 20 25

atg cct cta aga aaa cac aga caa cac ttt aaa aaa tat ggc aat tgt 207
Met Pro Leu Arg Lys His Arg G n His Phe Lys Lys Tyr G y Asn Cys
30 35 40

ttc aca gca gga gaa gca gtg gat tgg ctt tat gac cta tta aga aat 255
Phe Thr Ala G y G u Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn
45 50 55

aat agc aat ttt ggt cct gaa gtt aca agg caa cag act atc caa ctg 303
Asn Ser Asn Phe G y Pro G u Val Thr Arg G n G n Thr Ile G n Leu
60 65 70 75

ttg agg aaa ttt ctt aag aat cat gla att gaa gat atc aaa ggg agg 351
Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile G u Asp Ile Lys G y Arg
80 85 90

tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctg ttc aga ttt cct 399
Trp G y Ser G u Asn Val Asp Asp Asn Asn G n Leu Phe Arg Phe Pro
95 100 105

gca act tcg cca ctt aaa act cta cca cga agg tat cca gaa tlg aga 447
Ala Thr Ser Pro Leu Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro G u Leu Arg
110 115 120

aaa aac aac ata gag aac ttt tcc aaa gat aaa gat agc att ttt aaa 495
Lys Asn Asn Ile G u Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys
125 130 135

tta cga aac tta tct cgt aga act cct aaa agg cat gga tta cat tta 543
Leu Arg Asn Leu Ser Arg Arg Thr Pro Lys Arg His G y Leu His Leu
140 145 150 155

tct cag gaa aat ggc gag aaa ata aag cat gaa ata atc aat gaa gat 591
Ser G n G u Asn G y G u Lys Ile Lys His G u Ile Ile Asn G u Asp
160 165 170

caa gaa aat gca att gat aat aga gaa cta agc cag gaa gat gtt gaa 639
G n G u Asn Ala Ile Asp Asn Arg G u Leu Ser G n G u Asp Val G u
175 180 185

gaa gtt tgg aga tat gtt att ctg atc tac ctg caa acc att tta ggt 687
G u Val Trp Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu G n Thr Ile Leu G y
190 195 200

gtg cca tcc cta gaa gaa gtc ata aat cca aaa caa gta att ccc caa 735
Val Pro Ser Leu G u G u Val Ile Asn Pro Lys G n Val Ile Pro G n
205 210 215

tat ata atg tac aac atg gcc aat aca agt aaa cgt gga gta gtt ata 783
Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg G y Val Val Ile
220 225 230 235

cta caa aac aaa tca gat gac ctg cct cac tgg gta tta tct gcc atg 831
Leu G n Asn Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met
240 245 250

aag tgc cta gca aat tgg cca aga agc aat gat atg aat aat cca act 879

Lys	Oys	Leu	Ala 255	Asn	Trp	Pro	Arg	Ser 260	Asn	Asp	Met	Asn	Asn 265	Pro	Thr		
tat	gtt	gga	ttt	gaa	cga	gat	gta	ttc	aga	aca	atc	gca	gat	tat	ttt		927
Tyr	Val	Gly 270	Phe	Glu	Arg	Asp	Val 275	Phe	Arg	Thr	Ile	Ala 280	Asp	Tyr	Phe		
cta	gat	ctc	cct	gaa	cct	cta	ctt	act	ttt	gaa	tat	tac	gaa	tta	ttt		975
Leu	Asp 285	Leu	Pro	Glu	Pro	Leu 290	Leu	Thr	Phe	Glu	Tyr 295	Tyr	Glu	Leu	Phe		
gta	aac	att	tig	gtt	gtt	tgt	ggc	tac	atc	aca	gtt	tca	gat	aga	tcc		1023
Val	Asn	Ile	Leu	Val	Val 305	Oys	Gly	Tyr	Ile	Thr 310	Val	Ser	Asp	Arg	Ser 315		
agt	ggg	ata	cat	aaa	att	caa	gat	gat	cca	cag	tct	tca	aaa	ttc	ctt		1071
Ser	Gly	Ile	His	Lys 320	Ile	Gln	Asp	Asp	Pro 325	Gln	Ser	Ser	Lys	Phe 330	Leu		
cac	tta	aac	aat	tig	aat	tcc	ttc	aaa	tca	act	gag	tgc	ctt	ctt	ctc		1119
His	Leu	Asn	Asn 335	Leu	Asn	Ser	Phe	Lys 340	Ser	Thr	Glu	Cys 345	Leu	Leu	Leu		
agt	ctg	ctt	cat	aga	gaa	aaa	aac	aaa	gaa	gaa	tca	gat	tct	act	gag		1167
Ser	Leu	Leu 350	His	Arg	Glu	Lys	Asn 355	Lys	Glu	Glu	Ser	Asp 360	Ser	Thr	Glu		
aga	cta	cag	ata	agc	aat	cca	gga	ttt	caa	gaa	aga	tgt	gct	aag	aaa		1215
Arg	Leu 365	Gln	Ile	Ser	Asn 370	Pro	Gly	Phe	Gln	Glu	Arg 375	Cys	Ala	Lys	Lys		
atg	cag	cta	gtt	aat	tta	aga	aac	aga	aga	gtg	agt	gct	aat	gac	ata		1263
Met	Gln	Leu	Val	Asn 385	Leu 385	Arg	Asn	Arg	Arg	Val 390	Ser	Ala	Asn	Asp	Ile 395		
atg	gga	gga	agt	tgt	cat	aat	tta	ata	ggg	tta	agt	aat	atg	cat	gat		1311
Met	Gly	Gly	Ser 400	Oys	His	Asn	Leu	Ile	Gly 405	Leu	Ser	Asn	Met	His 410	Asp		
cta	tcc	tct	aac	agc	aaa	cca	agg	tgc	tgt	tct	tig	gaa	gga	att	gta		1359
Leu	Ser	Ser	Asn 415	Ser	Lys	Pro	Arg	Oys 420	Oys	Ser	Leu	Glu	Gly 425	Ile	Val		
gat	gtg	cca	ggg	aat	tca	agt	aaa	gag	gca	tcc	agt	gtc	ttt	cat	caa		1407
Asp	Val	Pro 430	Gly	Asn	Ser	Ser	Lys 435	Glu	Ala	Ser	Ser	Val 440	Phe	His	Gln		
tct	ttt	ccg	aac	ata	gaa	gga	caa	aat	aat	aaa	ctg	ttt	tta	gag	tct		1455
Ser	Phe 445	Pro	Asn	Ile	Glu 450	Gly 450	Gln	Asn	Asn	Lys	Leu 455	Phe	Leu	Glu	Ser		
aag	ccc	aaa	cag	gaa	ttc	ctg	tig	aat	ctt	cat	tca	gag	gaa	aat	att		1503
Lys	Pro	Lys	Gln	Glu 465	Phe 465	Leu	Leu	Asn	Leu 470	His 470	Ser	Glu	Glu	Asn	Ile 475		
caa	aag	cca	ttc	agt	gct	ggt	ttt	aag	aga	acc	tct	act	tig	act	gtt		1551
Gln	Lys	Pro	Phe 480	Ser 480	Ala	Gly	Phe	Lys	Arg 485	Thr	Ser	Thr	Leu	Thr 490	Val		
caa	gac	caa	gag	gag	tig	tgt	aat	ggg	aaa	tgc	aag	tca	aaa	cag	ctt		1599
Gln	Asp	Gln 495	Glu 495	Glu	Leu	Oys	Asn 500	Gly 500	Lys	Cys	Lys	Ser	Lys 505	Gln	Leu		
tgt	agg	tct	cag	agt	tig	ctt	tta	aga	agt	agt	aca	aga	agg	aat	agt		1647
Oys	Arg	Ser 510	Gln	Ser	Leu	Leu 515	Leu 515	Arg	Ser	Ser	Thr	Arg 520	Arg	Asn	Ser		
tat	atc	aat	aca	ccagt	ggctg	aaatt	tat	cat	gaa	ccaaat	gtt	ggacaag					1699
Tyr	Ile	Asn	Thr														

525

gcagcacaag t g l g c a a a c a g c t a t g g a a a g t g a a c t c g g a g a g t c t a g t g c c a c a a t c a 1759
 a t a a a g a c t c t g c a a a a g t a c a a t a g a a c t t t c a g a a a t t c t t t a c t t c c a g c t t c t t 1819
 c t a t g t t g a c t g g c a c a c a a a g c t t g c t g c a a c c t c a t t t a g a g a g g g t g c c a t c g a t g 1879
 c t c t a c a g t t a t g t t g t t t g t t a c t t c c c c c a c c a a a t c g t a g a a a g c t t c a a c t t t t a a 1939
 t g c g t a t g a t t t c c c g a a t g a g t c a a a a t g t t g a t a t g c c c a a a c t t c a t g a t g c a a t g g 1999
 g t a c g a g g t c a c t g a t g a t a c a t a c c t t t t c t c g a t g t g t g t t a t g c t g t g c t g a a g a a g 2059
 t g g a t c t t g a t g a g c t t c t t g c t g g a a g a t t a g t t t c t t t c t t a a t g g a t c a t c a t c a g g 2119
 a a a t t c t t c a a g t a c c c t c t t a c t t a c a g a c t g c a g t g g a a a a c a t c t t g a c t a c t t a a 2179
 a a a a g g g a c a t a t t g a a a a t c c t g g a g a t g g a c t a t t t g c t c c t t t g c c a a c t t a c t c a t 2239
 a c t g t a a g c a g a t t a g t g c t c a g g a g t t t g a t g a g c a a a a a g t t t c t a c c t c t c a a g c t g 2299
 c a a t t g c a g a a c t t t t a g a a a a t a t t a t t a a a a c a g g a g t t t a c c t c t a a a g g a g a a a a 2359
 g a a a a a a a c t a a a a c a g t t t c a g a a g g a a t a t c c t t t g a t a t a t c a g a a a a g a t t t c c a a 2419
 c c a c g g a g a g t g a a g c a g c a c t t t t t g g t g a c a a a c c t a c a a t c a a g c a a c c a a t g c t g a 2479
 t t t t a a g a a a a c c a a a g t t c c g t a g t c t a a g a t a a c t a a c t g a a t t a a a a a t t a t g t a a t 2539
 a c t t g t g g a a c t t t g a t a a a t g a a g c c a t a t c t g a g a a t g t a g c t a c t c a a a a g g a a g t c 2599
 t g t c a t t a a t a a g g t a t t t c t a a a t a a c a c a t t a t g t a a g g a a g t g c c a a a a t a g t t a t 2659
 c a a t g t g a g a c t c t t a g g a a a c t a a c t a g a t c t c a a t t g a g a g c a c a t a a c a a t a g a t g a 2719
 t a c c a a a t a c t t t t t g t t t t t a a c a c a g c t a t c c a g t a a g g c t a t c a t g a t g t g t g c t a a 2779
 a a t t t t a t t t a c t t g a a t t t t g a a a a c t g a g c t g t g t t a g g g a t t a a a c t a t a a t t c t g t 2839
 t c t t a a a a g a a a a t t t a t c t g c a a a t g t g c a a g t t c t g a g a t a t t a g c t a a t g a a t t a g t 2899
 t g t t t g g g g t t a c t t c t t t g t t t c t a a g t a t a a g a a t g t g a a g a a t a t t t g a a a a c t c a a 2959
 t g a a a t a a t t c t c a g c t g c c a a a t g t t g c a c t c t t t t a t a t a t t c t t t t t c c a c t t t t g a 3019
 t c t a t t t a t a t a t a t g t a t g t g t t t t t a a a a t a t g t g t a t a t t t t a t c a g a t t t g g t t t t 3079
 g c c t t a a a t a t t a t c c c c a a t t g c t t c a g t c a t t c a t t t g t t c a g t a t a t a t t t t g a a 3139
 t t c t a g t t t t c a t a a t c t a t t a g a a g a t g g g g a t a t a a a a g a a g t a t a a g g c a a t c a t a t 3199
 a t t c a t t c a a a a g a t a t t t a t t t a g c a a c t g c t a t g t g c c t t t c g t t g t t c c a g a t a t g c 3259
 a g a g a c a a t g a t a a a t a a a a c a t a t a a t c t c t t c c a t a a g g t a t t t a t t t t t a a t c a a g 3319
 g g a g a t a c a c c t a t c a g a t g t t t a a a a t a a c a a c a c t a c c c a c t g a a a t c a g g g c a t a t a 3379
 g a a t c a t t c a g c t a a a g a g t g a c t t c t a t g a t g a g a a c a g g t c t c t a a g c t a g t g g t t 3439
 t t c a a a c t g g t a c a c a t t a g a c t c a c c c g a g g a a t t t t a a a a c a g c c t a t a t g c c a g g g 3499
 c c t a a c t t a c a c t a a t t a a a t c t g a a t t t t g g g g a t g t t g t a t a g g g a t t a g t a t t t t t t 3559
 t t a a t c t a g g t g a t t c c a a t a t t c a g c c a a c t g t g a g a a t c a a t g g c c t a a a t g c t t t t t 3619
 a t a a a c a t t t t t a t a a g t g t c a a g a t a a t g g c a c a t t g a c t t t a t t t t t t c a t t g g a a g a 3679
 a a a t g c c t g c c a a g t a t a a a t g a c t c t c a t c t t a a a a c a a g g t t c t t c a g g t t t c t g c t t 3739

gat t gact t g gt acaaact t gaagcaagt t gcct t ct aat t t t t act cca agat t g t t t c 3799
at at ct at t c ct t aagt g t a aagaaat at a t aat gcat gg t t t gt aat aa aat ct t aat g 3859
t t t aat gact gt t ct cal t t ct caat gt aa t t t cat act g t t t ct ct at a aaat gat agt 3919
at t ccat t t a acat t act ga t t t t t at t aa aaacct ggac agaaaaat t at aaat t at aaa 3979
t at gact t t a t cct ggct at aaaat t at t g aaccaaagt g aat t ct t t ct aaggcat t t g 4039
aat act aaaa cgt t t at t gt t t at agat at gt aaaa gt g gat t at gt t g caaat t gaga 4099
t t aaaaat t at t t ggggt t t t gt aacaat at aat t t t gct t t t gt at t at a gacaaat at a 4159
t aaat aat aa aggcaggcaa ct t t cal t t g cact aat gt a cgagact cgc cact gccgcg 4219
gccgct gggc ct gagt gt cg cct t cgccgc cat ggacgcc accgggct gacagacct a 4279
t ggagagt ca ggggt gt gcct cccgggct t at cgggccac caagct gt gg aat gaagt t a 4339
ccacat ct t t t cgagcagga at gcct ct aa gaaaacacag acaacact t t aaaaaat at g 4399
gcaat t g t t t cacagcagga gaagcagt gg at t ggct t t a t gacct at t a agaaat aat a 4459
gcaat t t t gg t cct gaagt t acaaggcaac agact at cca act gt t gagg aaat t t ct t a 4519
agaat cat gt aat t gaagat at caaagggg ggt ggggat c agaaaaat gt t gat gat aaca 4579
accagct ct t cagat t t cct gcaact t cgc cact t aaaac t ct accacga aggt at ccag 4639
aat t gagaaa aaacaacat a gagaact t t t ccaaagat aa agat agcat t t t t aat t ac 4699
gaaact t at c t cgt agaact cct aaaaggc at ggat t aca t t t at ct cag gaaaaat ggcg 4759
agaaaaat aaa gcat gaaat a at caat gaag at caagaaaa t gcaat t gat aat agagaac 4819
t aagccagga agat gt t gaa gaagt t t gga gat at gt t at t ct gat ct ac ct gcaaacca 4879
t t t t aggt gt gccat cct a gaagaagt ca t aaat ccaa acaagt aat t cccaat at a 4939
t aat gt acaa cat ggccaat acaagt aaac gt ggagt agt t at act acaa aacaaat cag 4999
at gacct ccc t cact ggg t a t t at ct gcca t gaagt gcct agcaaat t gg ccaagaagca 5059
at gat at gaa t aat ccaact t at gt t g gat t t gaacgaga t gt at t caga acaat cgcag 5119
at t at t t t ct agat ct cct gaacct ct ac t t act t t t ga at at t acgaa t t at t t gt aa 5179
acat t t t ggg ct t gct gcaa cct cal t t ag agagggt t gc cat cgat gct ct acagt t at 5239
gt t gt t t gt t act t ccccca ccaaat cgt a gaaagct t ca act t t t aat g cgt at gat t t 5299
cccgaat gag t caaaat gt t gat at gccca aact t cat ga t gcaat ggg t acgaggt cac 5359
t gat gat aca t acct t t t ct cgat gt gt gt t at gct gt gc t gaagaagt g gat ct t gat g 5419
agct t ct t gc t ggaagat t a gl t t ct t t ct t aat ggat ca t cal caggaa at t ct t caag 5479
t acct ct t a ct t acagact gcagt ggaaa aacat ct t ga ct act t aaaa aaggacat a 5539
t t gaaaaat cc t ggagat gga ct at t t gct c ct t t gccaac t t act cal ac t gt aagcaga 5599
t t agt gct ca ggagt t t gat gagcaaaaag t t t ct acct c t caagct gca at t gcagaac 5659
t t t t agaaaa t at t at t aaa aacaggagt t t acct ct aaa ggagaaaaga aaaaaact aa 5719
aacagt t t ca gaaggaat at cct t t gat at at cagaaaag at t t ccaacc acggagagt g 5779

aagcagcact t t t t ggtgac aaacct acaa t caagcaacc aat gci gal t t t aagaaaac 5839
caaagt t ccg t agt ct aaga t aact aact g aat t aaaaat t at gt aat ac t t gt ggaact 5899
t t gal aat g aagccat at c t gagaat gt a gct act caaa aggaagt ct g t cat t aat aa 5959
ggf at t t ct a aat aaacaca t t at gt aagg aagt gccaaa at agf t at ca at gt gagact 6019
ct t aggaaac t aact agat c t caat t gaga gcacat aaca at agat gat a ccaaat act t 6079
t t t g t t t t a acacagct at ccagt aaggc t at cat gat g t gt gct aaaa t t t t at t t ac 6139
t t gaat t t t g aaaact gagc t gt gt t aggg at t aaact at aat t ct gt t c t t aaaagaaa 6199
at t t at ct gc aaat gt gcaa gt t ct gagat at t agct aat gaat t agt t g t t t ggggt t a 6259
ct t ct t t gt t t ct aagt at a agaat gt gaa gaat at t t ga aaact caat g aaat aat t ct 6319
cagct gccaa at gt t gcact ct t t t at at a t t ct t t t t cc act t t t gat c t at t t at at a 6379
t at gt at gt g t t t t t aaaa at gt gt at at t t t at cagat t t ggt t t t gc ct t aaat at t 6439
at cccaat t gct t cagt ca t t cat t t gt t cagt at at at at t t t gaat t ct agt t t t ca 6499
t aat ct at t a gaagat gggg at at aaaaga agt at aaggc aat cat at at t cat t caaaa 6559
gat at t t at t t agcaact gc t at gt gcct t t cgt t gt t cc agat at gcag agacaat gat 6619
aaat aaaaca t at aat ct ct t ccat aaggt at t t at t t t t t aat caaggg agat acacct 6679
at cagat gt t t aaaa aaca acaact accca ct gaaat cag ggcat at aga at cat t cagc 6739
t aaagagt ga ct t ct at gat gat ggaacag gt ct ct aagc t agt ggt t t t caaact ggt a 6799
cacat t agac t caccgagg aat t t t aaaa cagcct at at gccagggcc t aact t acac 6859
t aat t aat c t gaal t t t gg ggat gt t gt a t agggat t ag t at t t t t t t aat ct aggt g 6919
at t ccaat at t cagccaact gt gagaat ca at ggcct aaa t gct t t t t at aaacat t t t t 6979
at aagt gt ca agat aat ggc acat t gact t t at t t t t t ca t t ggaagaaa at gcct gcc 7039
agt at aat g act ct cat ct t aaaacaagg t t ct t caggt t t ct gct t ga t t gact t ggt 7099
acaaact t ga agcaagt t gc ct t ct aat t t t t act ccaag at t gt t t cat at ct at t cct 7159
t aagt gt aaa gaaat at at a at gcat ggt t t gt aat aaaa t ct t aat gt t t aat gact gt 7219
t ct cat t t ct caat gt aat t t cat act gt t t ct ct at aaa at gat agt at t ccat t t aac 7279
at t act gat t t t t at t aaaa acct ggacag aaaaat t at aa at t at aat a t gact t t at c 7339
ct ggct at aa aat t at t gaa ccaaaaat gaa t t ct t t ct aa ggcat t t gaa t act aaaacg 7399
t t t at t gt t t at agat at gt aaaaat gt gga t t at gt t gca aat t gagat t aaaaat t at t t 7459
gggg t t t t g t acaat at aa t t t t gct t t t gt at t at aga caaat at at a aat aat aaag 7519
gcaggcaact t t cat t t gca ct aat gt aca t gcaat t gag at t acaaaaat acat ggt aca 7579
at gct t t aat acaaaact ct gccagt cagg t t t gaat cct act gt gct at t aact agct a 7639
gt aaact cag acaagt t act t aact t ct ct aagccccagt t t t gt t at ct at aaaaat gaa 7699
t at t at aat a gt acct ct t t t t aggat t gc gaggat t aag caggat aat g cat gt aaagt 7759
gt t agcacag t gt ct cacat agaat aagca ct ct at aaaa at t t t act ag aat cacct ag 7819
gat t at agca ct agaagaga t ct t agcaaa aat gt ggt cc t t t ct gt t gc t t t ggacaga 7879

```

catgaaccaa aacaaaat ta cggacaattg atgagcctta ttaactatct tttcattatg 7939
agacaaaggt tctgattatg cctactggtt gaaatTTTTT aatctagtca agaaggaaaa 7999
tttgatgagg aaggaaggaa tggat atctt cagaagggct tgcct aage tggacatgg 8059
atagattcca ttclaacata aagatcttta agttcaaat a tagatgagtt gactggtaga 8119
tttgggtgga gttgctttct cgggatataa gaagcaaaat caactgctac aaglaaagag 8179
gggatggga aggtgttgca catttaaaga gagaaagtgt gaaaaagcct aatltggga 8239
atgcacaggt ttcaccagat cagatgatgt ctggttatct tgtaaattat agttcttctc 8299
ccagaaatta ctgcctccac catccctaat atcttctaat tggatcata taatgacca 8359
ctcttcttat gttatccaaa cagttatgtg gcatttagta atggaatgta catggaattt 8419
cccactgact tacctttctg tccctgggaa gcttaaacctc tgaatcttct catctgtaa 8479
atgtgaatta aaglatctac ct aactgagt tgtgatgtg a gtgaaagaaa ggcaat at at 8539
ttaaatcttg aattlagcaa gccacgctc gatttttatg tcccttctc ttgccttgt a 8599
ttgagtttaa gatctctact gattaaaact cttttgctat caaaaaaaaa aaaaaaaaa 8659
aaaaaaaa 8666

```

<210> 6
 <211> 527
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 6

```

Met  Glu Ser  Gln Gly Val  Pro Pro Gly Pro Tyr Arg Ala Thr Lys Leu
 1          5          10          15

Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys
          20          25          30

His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe Thr Ala Gly Glu
          35          40          45

Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn Asn Ser Asn Phe Gly
 50          55          60

Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu
65          70          75          80

Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg Trp Gly Ser Glu Asn
          85          90          95

Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
          100          105          110

Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile Glu
          115          120          125

```

10

Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys Leu Arg Asn Leu Ser
 130 135 140
 Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu Ser Gln Glu Asn Gly
 145 150 155 160
 Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp Gln Glu Asn Ala Ile
 165 170 175
 Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu Glu Val Trp Arg Tyr
 180 185 190
 Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu
 195 200 205
 Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln Tyr Ile Met Tyr Asn
 210 215 220
 Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile Leu Gln Asn Lys Ser
 225 230 235 240
 Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu Ala Asn
 245 250 255
 Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr Tyr Val Gly Phe Glu
 260 265 270
 Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu
 275 280 285
 Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 290 295 300
 Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
 305 310 315 320
 Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu
 325 330 335
 Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Arg
 340 345 350
 Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser
 355 360 365
 Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn
 370 375 380
 Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Cys
 385 390 395 400
 His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser

<220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 9

5

Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val
1 5

<210> 10

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

15 <400> 10

Arg Leu Ala Ile Phe Lys Asp Leu Val
1 5

<210> 11

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 11

Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val
1 5 10

30

<210> 12

<211> 9

35 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40 <400> 12

Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile
1 5

<210> 13

45 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 13

Asp Tyr Ala Asp Leu Lys Glu Lys Leu
1 5

5 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 14

Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu
1 5

15 <210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 15

25 **Cys Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu**
1 5

30 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 16

Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val Leu
1 5

40 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 17

50 **Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu**
1 5

5 <210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 18

Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu
 1 5

15 <210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 19

Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe
 1 5

25 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 20

Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu
 1 5

35 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 21

45 **Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu Leu**
 1 5

50 <210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 22

5

Asp Tyr Leu Gln Val Oys Leu Arg Ile
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

10

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

15

<400> 23

Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

20

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25

<400> 24

Ser Tyr Val Phe Ser Ala Asp Pro Ile
1 5

30

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

35

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40

<400> 25

Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

45

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50

<400> 26

Asp Tyr G u G n Ala Asn Leu Asn Met
1 5

- 5 <210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 27

Asn Phe Asp G y I l e Lys Leu Asp Leu
1 5

- 15 <210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 20 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 28

Leu Phe Val Pro Val Ser Ser Lys Phe
1 5

- 25 <210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 29

Leu Phe Asp Ser Leu G n G u Arg Leu
1 5

- 35 <210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 40 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 30

Lys Phe Ser Val Trp Val Ser Phe Phe
1 5

- 45 <210> 31
<211> 9
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 31

Lys Leu Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu
 1 5

10

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 32

Arg Phe Pro Lys Pro Glu Leu Glu Ile
 1 5

20

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

30

<400> 33

Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp
 1 5

35

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 34

Arg Thr Gln Asn Leu Lys Ala Asp Leu
 1 5

45

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 35

Lys Trp Leu G u G u Lys Met Met Leu
1 5

- 5 <210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 36

Lys Ser Asn G u Met G u G u Asp Leu
1 5

- 15 <210> 37
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 37

Lys Ile G u Asp G y Ser Val Val Leu
1 5

- 25 <210> 38
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 35 <400> 38

Lys G n G n Asn G u Met G u Ile Leu
1 5

- 40 <210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 45 <400> 39

Lys Thr G n Asn G u G y G u Arg Leu
1 5

- 50 <210> 40
 <211> 9

<212> PRT
<213> Artificial

5 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 40

Lys Trp Lys Glu Lys Oys Asn Asp Leu
1 5

10 <210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 41

20 **Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu**
1 5

25 <210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 42

Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu
1 5

35 <210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

40 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 43

Ser Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu
1 5

45 <210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

50 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 44

Lys Leu Thr Asn Leu G n Asp G u Leu
1 5

5

<210> 45
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 45

15

I le Met G n Pro Val Lys Asp Leu Leu
1 5

<210> 46
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25

<400> 46

Lys Tyr Asn Al a Asp Arg Lys Lys Trp Leu
1 5 10

30

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

35

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 47

Lys Tyr Al a G u Asp Arg G u Arg Phe Phe
1 5 10

40

<210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 48

50

G n Tyr Trp Ala G n Arg G u Ala Asp Phe
 1 5 10

- 5 <210> 49
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 49

Leu Tyr Thr Ser G u Ile Ser Ser Pro Ile
 1 5 10

- 15 <210> 50
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- 20 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 50

Lys Phe G n Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu
 1 5 10

- 25 <210> 51
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 30 <220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 51

Ala Phe Leu Leu Thr Ile G u Asn G u Leu
 1 5 10

- 35 <210> 52
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 40 <220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 52

Thr Tyr Ser Leu Arg Ser G n Ala Ser Ile
 1 5 10

- 45 <210> 53
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 50 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 53

Asp Phe Leu G n H s Ser Pro Ser I l e Leu
 1 5 10

5 <210> 54
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220> <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 54

Arg Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu
 1 5 10

15 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25 <400> 55

Lys G n I l e Val H s Phe G n G n G u Leu
 1 5 10

30 <210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 56

Lys Leu Leu Arg I l e Lys I l e Asn G u Leu
 1 5 10

40 <210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50 <400> 57

Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg Met Thr Leu
1 5 10

5 <210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 58

Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln Leu
1 5 10

15 <210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 59

Lys Val Glu Gln Ser His Ser Ala Lys Leu
1 5 10

25 <210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 60

Lys Asn Glu Lys Glu Glu Lys Ala Glu Leu
1 5 10

35 <210> 61
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 61

Lys Leu Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu
1 5 10

45 <210> 62
 <211> 10

<212> PRT
<213> Artificial

5 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 62

Lys Leu Met H s Thr Lys I l e Asp G u Leu
1 5 10

10 <210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 63

20 **Arg Val Leu G n G u Asn Asn G u G y Leu**
1 5 10

25 <210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 64

Arg Val I l e Arg Val Ser G u Leu Ser Leu
1 5 10

35 <210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

40 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 65

Arg Asn Leu Lys G u P h e G n G u H s Leu
1 5 10

45 <210> 66
<211> 10
<212> PRT
50 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 66

G u Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val
1 5 10

5

<210> 67
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 67

15

Lys Met Leu Arg Leu Ser G n Asp Val
1 5

<210> 68
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25

<400> 68

Al a Leu Leu Arg G n Ile Lys G u Val
1 5

30

<210> 69
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

35

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 69

Al a Leu Ser G u Leu Thr G n G y Val
1 5

40

<210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50

<400> 70

Lys Leu G y Ile Lys H s G n Ser Val
1 5

<210> 71

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 71

Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu
1 5

10
 <210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 72

Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile
1 5

25 <210> 73
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 73

Gln Leu Thr Glu Lys Asp Ser Asp Leu

1 5

35 <210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 74

45
Asn Leu Gln Asp Met Lys His Leu Leu
1 5

50 <210> 75
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 75

Ser Val Trp Val Ser Phe Phe Glu Ile
1 5

5

<210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 76

15

Phe Gln Gly Oys Ile Met Gln Pro Val
1 5

<210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 77

25

Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu
1 5

<210> 78
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 78

35

Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val
1 5

<210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 79

45

50

Ala Ile Trp Glu Glu Oys Lys Glu Ile
1 5

5 <210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 80

Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu
 1 5

15 <210> 81
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 81

Asp Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val
 1 5

25 <210> 82
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 82

Ser Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile
 1 5

35 <210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

45 <400> 83

Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val
 1 5

50 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 84

5

I l e L e u P r o A r g T h r L e u A s n V a l L e u
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

10

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

15

<400> 85

L y s I l e O y s S e r G l u A r g L y s A r g V a l
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

20

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25

<400> 86

S e r L e u S e r G l u L y s L y s A s n L e u T h r
1 5

30

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

35

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40

<400> 87

L e u M e t H i s T h r L y s I l e A s p G l u L e u
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

45

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50

<400> 88

Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu Ile
1 5

- <210> 89
- <211> 9
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 89

Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala
1 5

- <210> 90
- 15 <211> 9
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- 20 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 90

Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr
1 5

- 25 <210> 91
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 30 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 91
- 35

Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu
1 5

- <210> 92
- <211> 9
- <212> PRT
- 40 <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 45 <400> 92

Lys Gln Val Gln Lys Glu Val Ser Val
1 5

- 50 <210> 93
- <211> 9

<212> PRT
<213> Artificial

5 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 93

Lys Leu Lys G u G u Ile Thr G n Leu
1 5

10 <210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 94

20 **Thr Leu Ser Lys G u Val G n G n Ile**
1 5

25 <210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 95

Asn G u Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val
1 5

35 <210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

40 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 96

Leu Leu Asp G u Asp Leu Asp Lys Thr
1 5

45 <210> 97
<211> 9
<212> PRT
50 <213> Artificial

<220>

5 <210> 102
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 102

Lys Glu His Glu Asn Asn Thr Asp Val
 1 5

15 <210> 103
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 103

Asp Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu Val
 1 5

25 <210> 104
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

30 <400> 104

Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Glu Ile
 1 5

35 <210> 105
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40 <400> 105

45 **Ile Leu Gln Ser Lys Ala Lys Lys Ile**
 1 5

50 <210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

Thr Leu Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu
1 5

5 <210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 111

Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile
1 5

15 <210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

20 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 112

Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu
1 5

25 <210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 113

35

Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu
1 5

40 <210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
45 <400> 114

Lys Met Ala Val Lys His Pro Gly Oys
1 5

<210> 115

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 115

10 **Ser G u Mèt Ser Arg Val Ile Arg Val**
 1 5

<210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 20 <400> 116

G n Leu Thr Asn Asn Leu G n Asp Mèt
 1 5

<210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 117

G n Ile Val His Phe G n G n G u Leu
 1 5

<210> 118
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 40 <400> 118

Asn Ile Ser G u Phe G u G u Ser Ile
 1 5

45 <210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

50 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 119

Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu
1 5

5 <210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 120

Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu Ile
1 5

15 <210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 121

Leu Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu
1 5

30 <210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 122

Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr
1 5 10

40 <210> 123
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 123

Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val
1 5 10

5 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 124

Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val
1 5 10

15 <210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 125

Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu
1 5 10

25 <210> 126
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 126

Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val
1 5 10

35 <210> 127
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

45 <400> 127

Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu
1 5 10

<210> 128

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Art i f i c i a l

5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 128

Leu Leu Thr Leu G y Lys Oys I l e Asn Val
 1 5 10

10 <210> 129
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 129

20 **G n Val Leu G u A l a Lys Leu G u G u Val**
 1 5 10

25 <210> 130
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 130

Ser Leu Ser G u Lys Lys Asn Leu Thr Leu
 1 5 10

35 <210> 131
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 131

Thr Leu Tyr G y Ser Leu Thr Asn Ser Leu
 1 5 10

45 <210> 132
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

50 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 132

Ala Ile Trp Glu Glu Oys Lys Gu Ile Val
1 5 10

5 <210> 133
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 133

Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr Leu
1 5 10

15 <210> 134
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25 <400> 134

Val Thr Leu Asp Val G n Ile G n H s Val
1 5 10

30 <210> 135
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 135

Lys Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile
1 5 10

40 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 136

50 **Gly Leu Thr Asn Ser Gly Lys Thr Tyr Thr**
1 5 10

- <210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Artificial

 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

 10 <400> 137

Asn Ile Ala Gu Ile Gu Asp Ile Arg Val
1 5 10
- <210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Artificial

 <220>
 20 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

 <400> 138

Ser Leu G n Gu Arg Leu Tyr Thr Lys Met
1 5 10
- 25 <210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

 <400> 139
 35 <210> 140
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 45 <400> 140

G n G n Tyr Gu Arg Ala Oys Lys Asp Leu
1 5 10
- 50 <210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 141

5

Met Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu
1 5 10

<210> 142

<211> 10

10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

15

<400> 142

Lys Leu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala Thr

1 5 10

<210> 143

20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 143

Lys Gln Ile Lys Gln Val Gln Lys Glu Val
1 5 10

30

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 144

40

Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 145

45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 145

G n Leu Asp Leu Leu G y Asn Asp Tyr Leu
1 5 10

5 <210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 146

Mét Mét Leu Ile Thr G n Ala Lys Gu Ala
1 5 10

15 <210> 147
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 147

G n Ile Mét Asp Ile Lys Pro Lys Arg Ile
1 5 10

25 <210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 148

G n Leu Val Ala Ala Leu Gu Ile G n Leu
1 5 10

35 <210> 149
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 149

50

Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile
 1 5 10

5 <210> 150
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 150

Lys Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile
 1 5 10

15 <210> 151
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 151

Thr Leu Gu Gu Gn Gu Gn Thr Gn Val
 1 5 10

25 <210> 152
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 152

Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu Cys Asp Leu
 1 5 10

35 <210> 153
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

45 <400> 153

Val Val Leu Asp Ser Cys Glu Val Ser Thr
 1 5 10

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 158

Phe Ile Lys Asp Leu G n Trp Ile G n Val
1 5 10

10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 159

Thr Leu Ile G n G n Leu Lys G u G u Leu
1 5 10

20

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

30

<400> 160

Thr Ile Leu G u Thr G n Lys Val G u Cys
1 5 10

35

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

40

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 161

Ala Ala Leu G u Ile G n Leu Lys Ala Leu
1 5 10

45

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 162

Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val Leu
1 5 10

5

<210> 163
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 163

15

Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu
1 5

<210> 164
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 164

25

Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu
1 5

<210> 165
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 165

35

Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn
1 5

<210> 166
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 166

45

50

Ser Phe Lys Ser Thr Glu Oys Leu Leu
1 5

5 <210> 167
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 167

Lys Gl n Leu Oys Arg Ser Gl n Ser Leu
1 5

15 <210> 168
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 168

Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe
1 5

25 <210> 169
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 169

35 **His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Oys Phe**
1 5

40 <210> 170
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 170

Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser
1 5

5 <210> 171
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 171

Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu Leu
1 5

15 <210> 172
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 172

Gly Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu
1 5 10

25 <210> 173
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 35 <400> 173

Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu
1 5 10

40 <210> 174
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 174

Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile
1 5 10

5 <210> 175
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 175

G u Tyr Pro Leu Ile Tyr G n Lys Arg Phe
 1 5 10

15 <210> 176
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 176

Thr Tyr Val G y Phe G u Arg Asp Val Phe
 1 5 10

25 <210> 177
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 177

35

Ser Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala G u Ile
 1 5 10

40 <210> 178
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 178

Tyr Phe Leu Asp Leu Pro G u Pro Leu Leu
 1 5 10

50 <210> 179
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 179

Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr
1 5 10

10

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 180

Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu
1 5 10

20

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

30

<400> 181

Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
1 5 10

35

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 182

Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu
1 5 10

45

<210> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5 <400> 183

Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu
1 5 10

10 <210> 184
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 184

Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu
1 5 10

20 <210> 185
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

25 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 185

30 **Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile**
1 5 10

35 <210> 186
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

40 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 186

Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu
1 5 10

45 <210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

50 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 187

Lys Gln Leu Oys Arg Ser Gln Ser Leu Leu
 1 5 10

5 <210> 188
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 188

Lys Ser Thr Glu Oys Leu Leu Leu Ser Leu
 1 5 10

15 <210> 189
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 189

25 Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 1 5 10

30 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 190

Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe
 1 5 10

40 <210> 191
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 191

Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile
1 5

- 5 <210> 192
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 192

Leu Leu Gln Pro His Leu Glu Arg Val
1 5

- 15 <210> 193
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 20 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 193

Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu
1 5

- 25 <210> 194
- <211> 9
- <212> PRT
- 30 <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 35 <400> 194

Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Oys Leu
1 5

- 40 <210> 195
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- 45 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 195

Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met
1 5

5 <210> 196
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 196

Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu
 1 5

15 <210> 197
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 197

Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu
 1 5

25 <210> 198
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 198

35 **Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr**
 1 5

40 <210> 199
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 199

Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu
 1 5

50 <210> 200
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 200

Al a Leu Phe G y Asp Lys Pro Thr I l e
1 5

10 <210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 201

Met Leu Thr G y Thr G n Ser Leu Leu
1 5

20

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 202

30

Leu I l e Tyr G n Lys Arg Phe Pro Thr
1 5

<210> 203

<211> 9

35

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40

<400> 203

Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro G l u Leu
1 5

45 <210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

50 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 204

Lys G n Phe G n Lys G u Tyr Pro Leu
1 5

- 5 <210> 205
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 10 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 205

Ile Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu
1 5

- 15 <210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 20 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 206

Tyr G u Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
1 5

- 25 <210> 207
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 30 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 207

Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu
1 5

- 40 <210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial
- 45 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
<400> 208

Ala Leu G n Leu Cys Cys Leu Leu Leu
1 5

5 <210> 209
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 209

Arg Leu Oys Lys Ser Thr Ile Glu Leu
 1 5

15 <210> 210
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 210

Gln Leu Oys Arg Ser Gln Ser Leu Leu
 1 5

25 <210> 211
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

30 <400> 211

Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile

1 5

35 <210> 212
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

40 <400> 212

45 **Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val Val**
 1 5

<210> 213

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 213

I l e L e u G n A s n L y s S e r A s p A s p L e u
1 5

10

<210> 214
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 214

L y s L e u G n L e u L e u M e t A r g M e t I l e
1 5

25 <210> 215
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 215

M e t I l e S e r A r g M e t S e r G n A s n V a l
1 5

35 <210> 216
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 216

T h r I l e G n L e u L e u A r g L y s P h e L e u
1 5

45

<210> 217
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

50

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5 <400> 217

Oys Ser Leu Gu Gly Ile Val Asp Val
1 5

10 <210> 218
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 218

Leu Val Val Oys Gy Tyr Ile Thr Val
1 5

20 <210> 219
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

25 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 219

Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala Gu Ile
1 5

30 <210> 220
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

35 <220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 220

40

Ile Leu Ile Tyr Leu Gn Thr Ile Leu
1 5

45 <210> 221
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50 <400> 221

Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val
1 5

- 5 <210> 222
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 222

Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr
1 5

- 15 <210> 223
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 223

Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val
1 5

- 30 <210> 224
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 35 <400> 224

Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys
1 5

- 40 <210> 225
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 225

Oys Val Leu Oys Oys Ala Gu Gu Val
1 5

5 <210> 226
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 226

Gu Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu
1 5

15 <210> 227
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 227

Leu Leu Ala Gly Arg Leu Val Ser Phe Leu
1 5 10

25 <210> 228
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

35 <400> 228

Phe Leu Met Asp His His Gln Gu Ile Leu
1 5 10

40 <210> 229
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 229

Ser Leu Leu Gln Pro His Leu Gu Arg Val
1 5 10

5 <210> 230
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 230

I l e L e u V a l V a l O y s G y T y r I l e T h r V a l
 1 5 10

15 <210> 231
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 231

L e u T h r P h e G u T y r T y r G l u L e u P h e V a l
 1 5 10

25 <210> 232
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 232

I l e L e u G y V a l P r o S e r L e u G l u G l u V a l
 1 5 10

35 <210> 233
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 233

L e u I l e T y r L e u G l n T h r I l e L e u G y V a l
 1 5 10

45 <210> 234
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 234

Tyr **Leu** **G n** **Thr** **Al a** **Val** **G u** **Lys** **H s** **Leu**
1 **5** **10**

10

<210> 235

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 235

Leu **Met** **I l e** **H s** **Thr** **Phe** **Ser** **Arg** **Oys** **Val**
1 **5** **10**

20

<210> 236

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 236

30

Ser **Met** **Leu** **Thr** **G l y** **Thr** **G n** **Ser** **Leu** **Leu**
1 **5** **10**

35

<210> 237

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 237

Arg **Met** **I l e** **Ser** **Arg** **Met** **Ser** **G n** **Asn** **Val**
1 **5** **10**

45

<210> 238

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 238

Gln Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met
 1 5 10

5 <210> 239
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 239

Val Leu Oys Oys Ala Gu Gu Val Asp Leu
 1 5 10

15 <210> 240
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 240

25 **Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Oys**
 1 5 10

30 <210> 241
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 35 <400> 241

Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr
 1 5 10

40 <210> 242
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 242

Tyr Gu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val Val
 1 5 10

50

<210> 243
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 243
 10
G n Leu Cys Arg Ser G n Ser Leu Leu Leu
1 5 10

<210> 244
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 20
 <400> 244
Lys G n Phe G n Lys G u Tyr Pro Leu Ile
1 5 10

<210> 245
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30
 <400> 245
Ile Leu G n Val Pro Ser Tyr Leu G n Thr
1 5 10

<210> 246
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 40
 <400> 246
Val G y Phe G u Arg Asp Val Phe Arg Thr
1 5 10

<210> 247
 <211> 10
 <212> PRT
 50

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

5

<400> 247

G n Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val
1 5 10

<210> 248

10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 248

Phe Leu Asp Leu Pro G u Pro Leu Leu Thr
1 5 10

<210> 249

20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 249

I l e M e t G y G y S e r O y s H i s A s n L e u I l e
1 5 10

30

<210> 250

<211> 10

<212> PRT

35

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 250

40

L e u I l e G y L e u S e r A s n M e t H i s A s p L e u
1 5 10

<210> 251

45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

50

<400> 251

Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr Thr
1 5 10

- 5 <210> 252
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 10 <400> 252

Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu Leu
1 5 10

- 15 <210> 253
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- <400> 253

Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val
1 5 10

- 25 <210> 254
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 35 <400> 254

Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu
1 5 10

- 40 <210> 255
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 45 <400> 255

Asn Ile Leu Gly Leu Leu Gln Pro His Leu
1 5 10

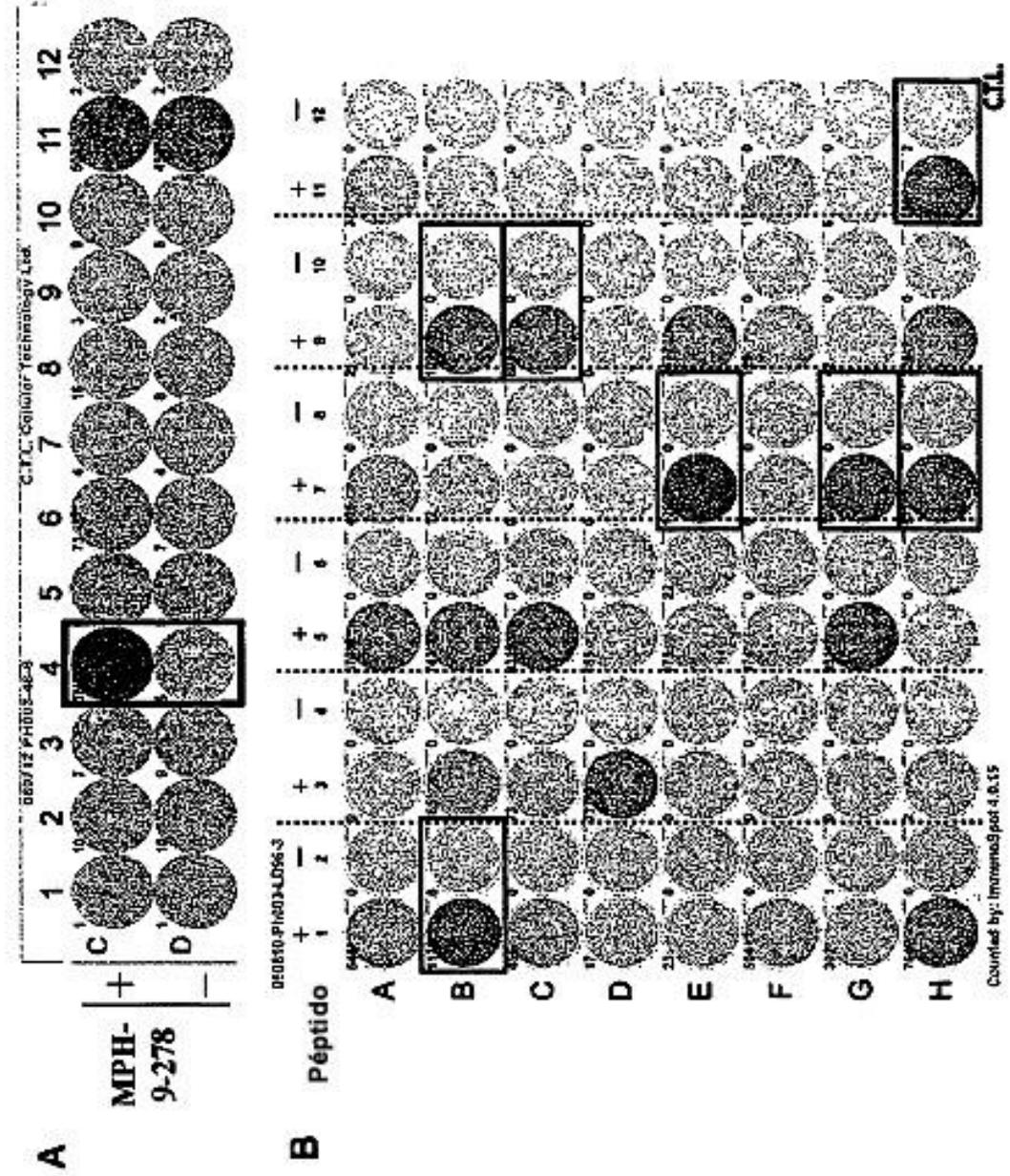
REIVINDICACIONES

1. Péptido seleccionado de entre (a) o (b) a continuación
:
- 5 (a) péptido que presenta inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido se deriva de la secuencia de aminoácidos
- SEC ID nº 2, en la que dicho péptido presenta menos de aproximadamente 15 aminoácidos y se selecciona de entre el grupo que consiste de péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7 ó 8, o
- 10 (b) el péptido de (a) en el que se han sustituido, delecionado o añadido 1 ó 2 aminoácidos de la secuencia SEC ID nº 7 ó 8.
2. Péptido según la reivindicación 1(b), en el que el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 7 y 8 presenta por lo menos una sustitución en la secuencia SEC ID nº 7 ó 8 seleccionada de entre el grupo que consiste de:
- 15 (a) el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano, y
- (b) el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.
- 20 3. Péptido según la reivindicación 1 seleccionado de entre (a) o (b) a continuación:
- (a) un péptido que consiste de la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7 ó 8, o
- 25 (b) un péptido que consiste de la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 7 ó 8 en la que se han sustituido, delecionado o añadido 1 ó 2 aminoácidos.
4. Péptido según la reivindicación 3(b), en el que el péptido que consiste de la secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 7 y 8 presenta por lo menos una sustitución seleccionada de entre el grupo que consiste de:
- 30 (a) el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano, y
- (b) el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.
- 35 5. Vector que comprende ADN codificante del péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
6. Composición farmacéutica para la utilización en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a la sobreexpresión de los genes de SEC ID nº 1, comprendiendo dicha composición uno o más péptidos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 40 7. Composición farmacéutica según la reivindicación 6, para la utilización en el tratamiento o prevención del cáncer.
8. Vacuna para la utilización en la inhibición de la proliferación de células que expresan genes de SEC ID nº 1, que comprenden un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a modo de ingrediente activo.
- 45 9. Vacuna según la reivindicación 8, formulada para la administración en un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24.
10. Vacuna según la reivindicación 8 ó 9, en la que las células son células de cáncer.
- 50 11. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la utilización en el tratamiento o prevención del cáncer en un sujeto.
12. Utilización del péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la preparación de una vacuna destinada al tratamiento o prevención del cáncer en un sujeto.
- 55 13. Composición farmacéutica según la reivindicación 7, vacuna según la reivindicación 10, péptido para la utilización según la reivindicación 11 ó utilización según la reivindicación 12, en la que el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, LMC, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, CPCNP, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, CPCP y tumor de tejido blando.
- 60 14. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la utilización en la inducción de células

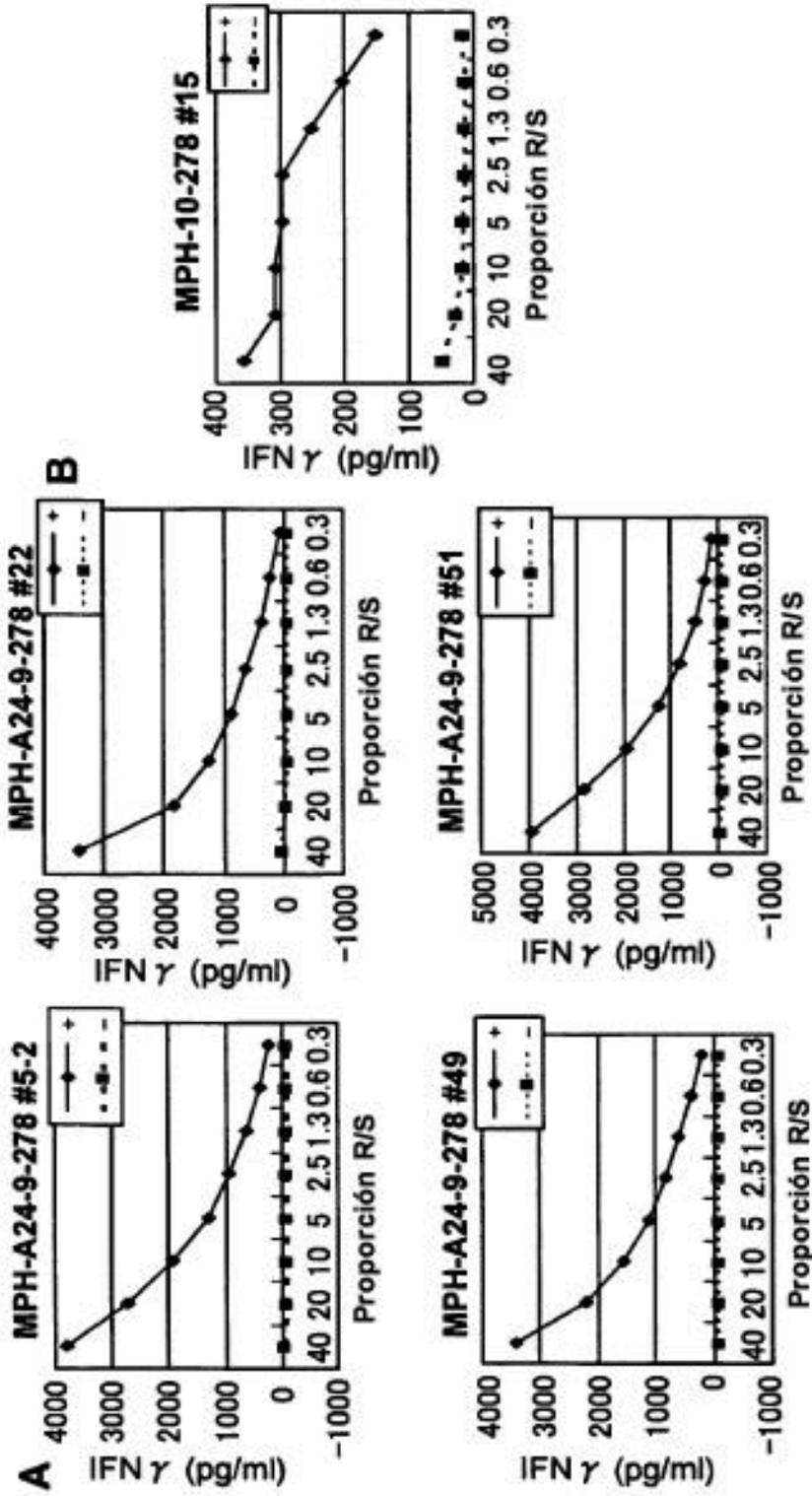
presentadoras de antígenos que presentan una elevada inducibilidad de células T citotóxicas mediante el contacto de una célula presentadora de antígenos con dicho péptido.

- 5 15. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la utilización en la inducción de células T citotóxicas mediante la puesta en contacto de una célula T con dicho péptido.
- 10 16. Polinucleótido codificante del péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la utilización en la inducción de células presentadoras de antígenos que presentan una elevada inducibilidad de células T citotóxicas, mediante la transferencia del gen que comprende un polinucleótido codificante de dicho péptido a una célula presentadora de antígenos.
- 15 17. Método in vitro de inducción de células presentadoras de antígeno que presentan una elevada inducibilidad de las células T citotóxicas, que comprende la etapa de poner en contacto una célula presentadora de antígenos con el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 20 18. Método in vitro de inducción de células presentadoras de antígenos que presentan una elevada inducibilidad de las células T citotóxicas, comprendiendo dicho método la etapa de transferir un polinucleótido codificante del péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a una célula presentadora de antígenos.
- 25 19. Célula T citotóxica inducida mediante la puesta en contacto de una célula T con un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 ó mediante la transducción con los ácidos nucleicos codificantes de polipéptidos de subunidades de receptores de células T de unión a dicho péptido.
- 20 20. Célula presentadora de antígenos, que comprende un complejo de un antígeno HLA y un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 25 21. Célula presentadora de antígenos según la reivindicación 20, el péptido producido según la reivindicación 14 ó el polinucleótido según la reivindicación 16.
- 30 22. Exosoma que presenta sobre su superficie un complejo que comprende un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un antígeno HLA.
- 35 23. Exosoma según la reivindicación 22 ó la célula presentadora de antígenos según la reivindicación 20 ó 21, en el que el antígeno HLA es HLA-A24.
24. Exosoma o célula presentadora de antígenos según la reivindicación 23, en el que el antígeno HLA es HLA-A2402.

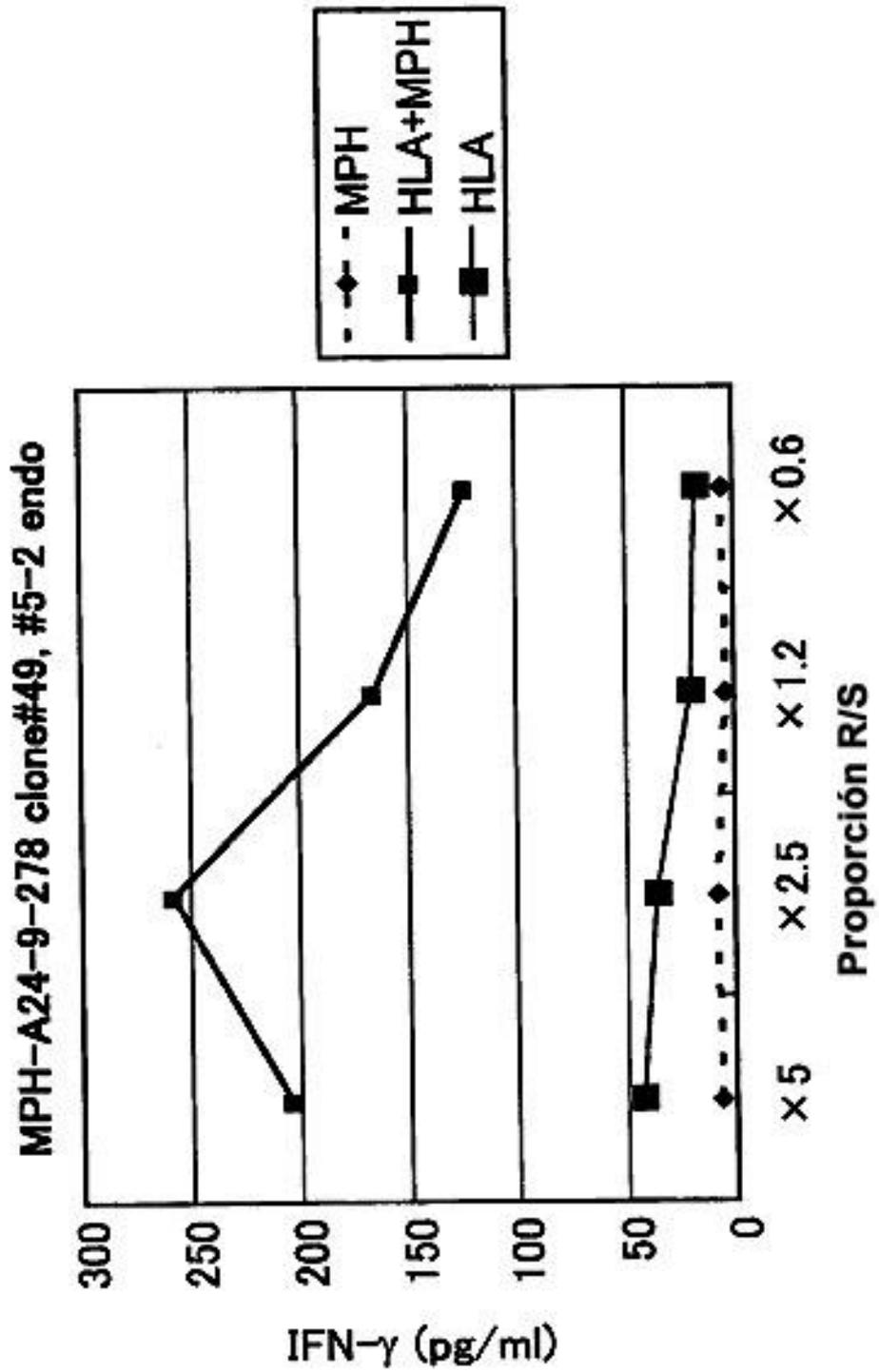
[Fig. 1]



[Fig. 3]

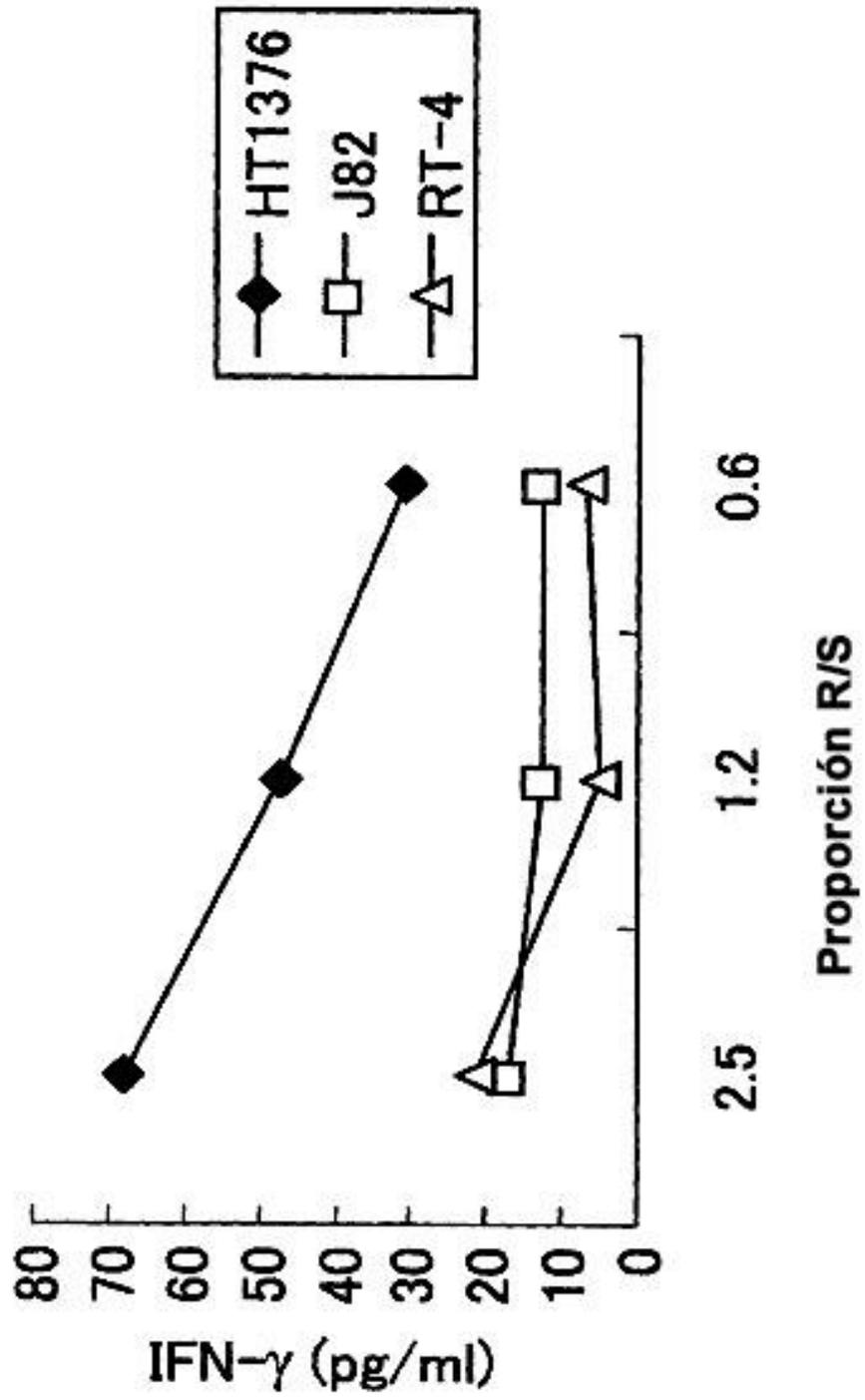


[Fig. 4]

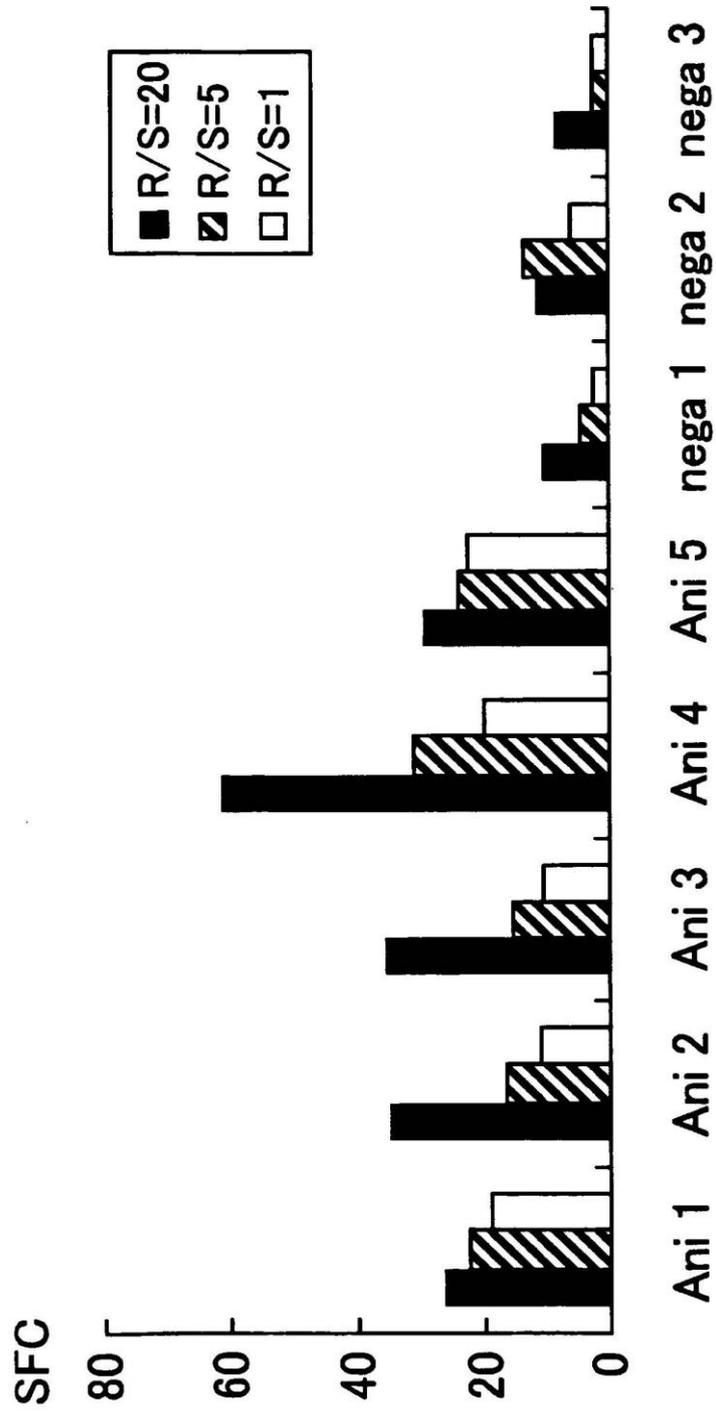


[Fig. 5]

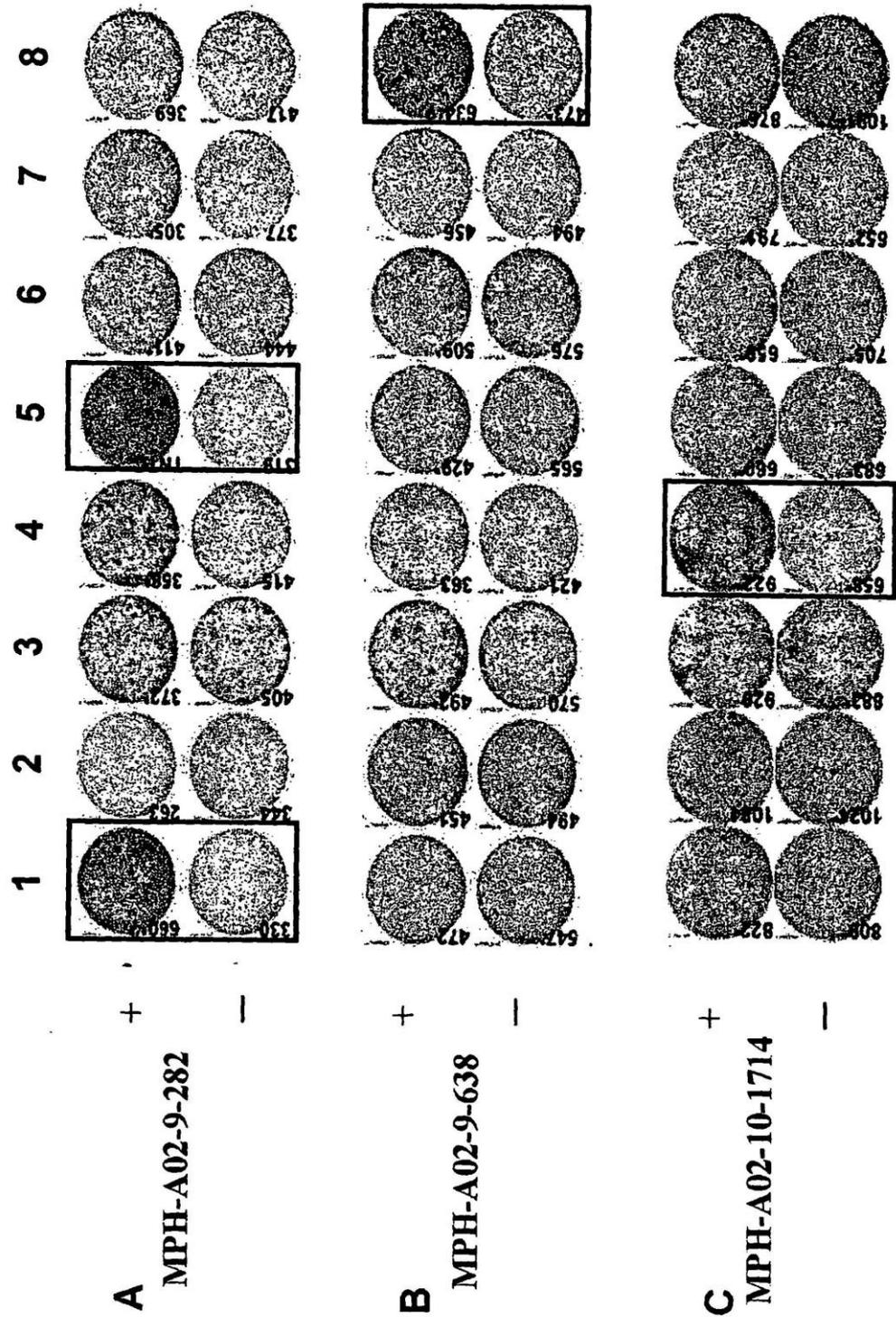
MPH-A24-9-278



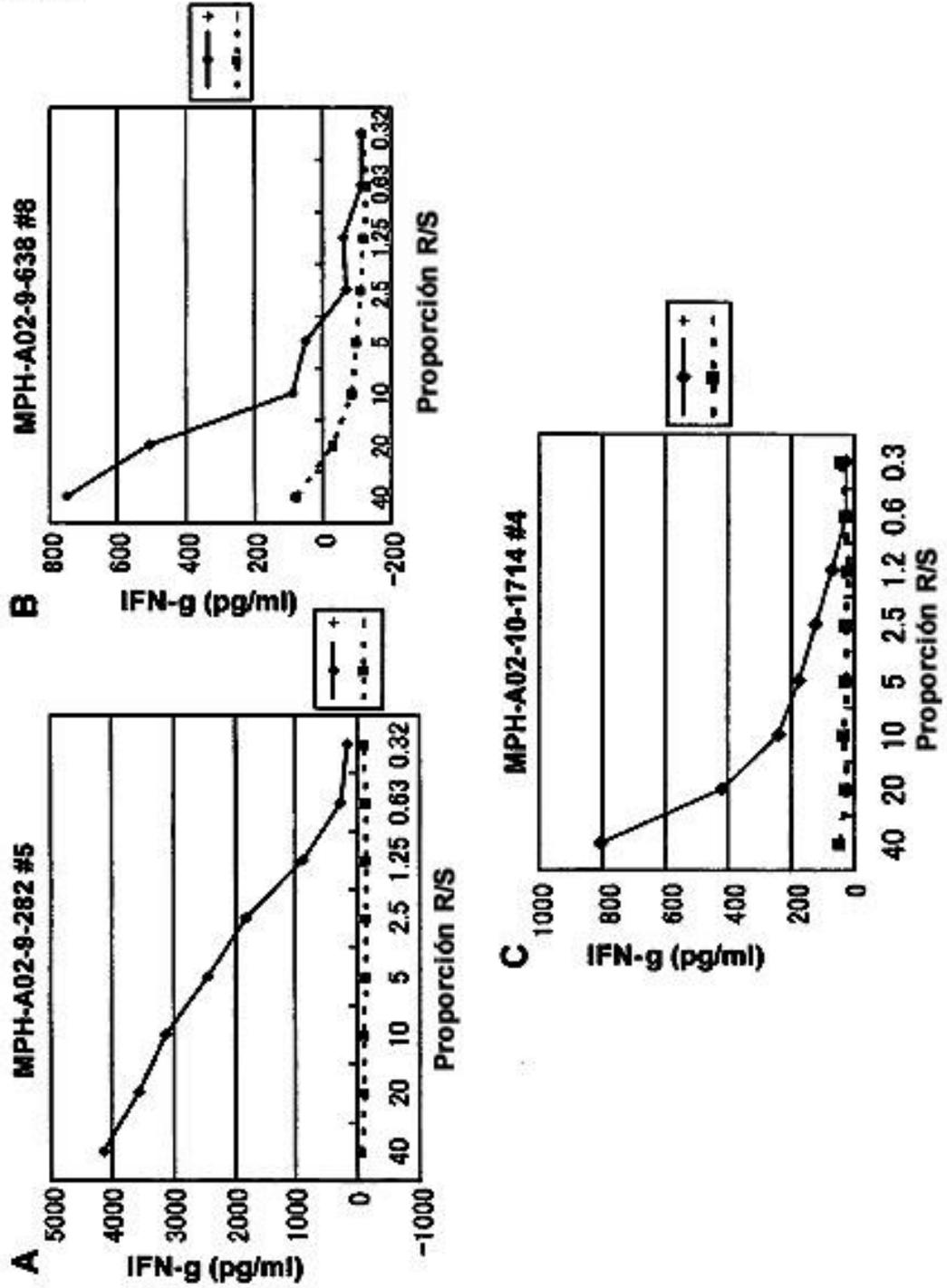
[Fig. 6]



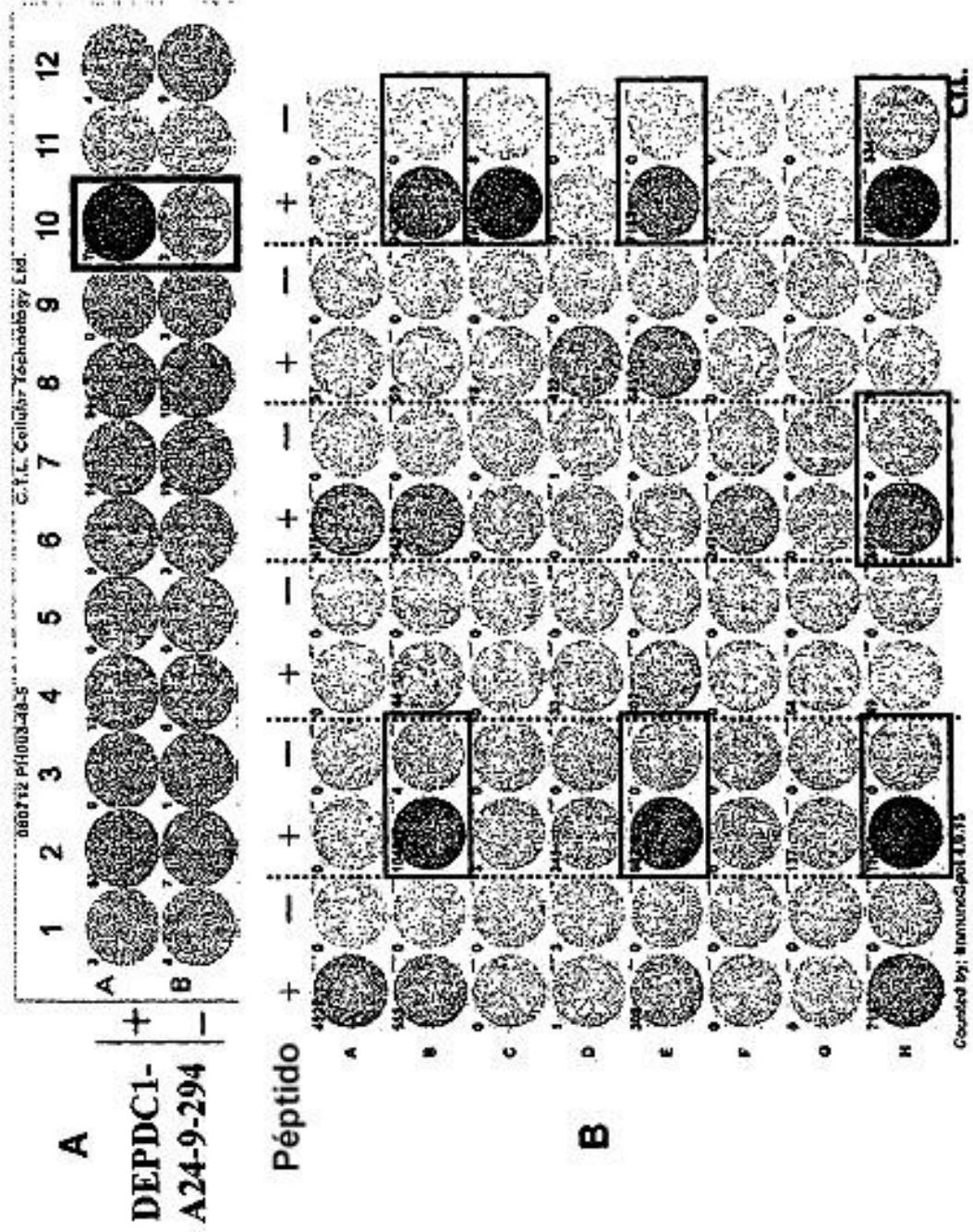
[Fig. 7]



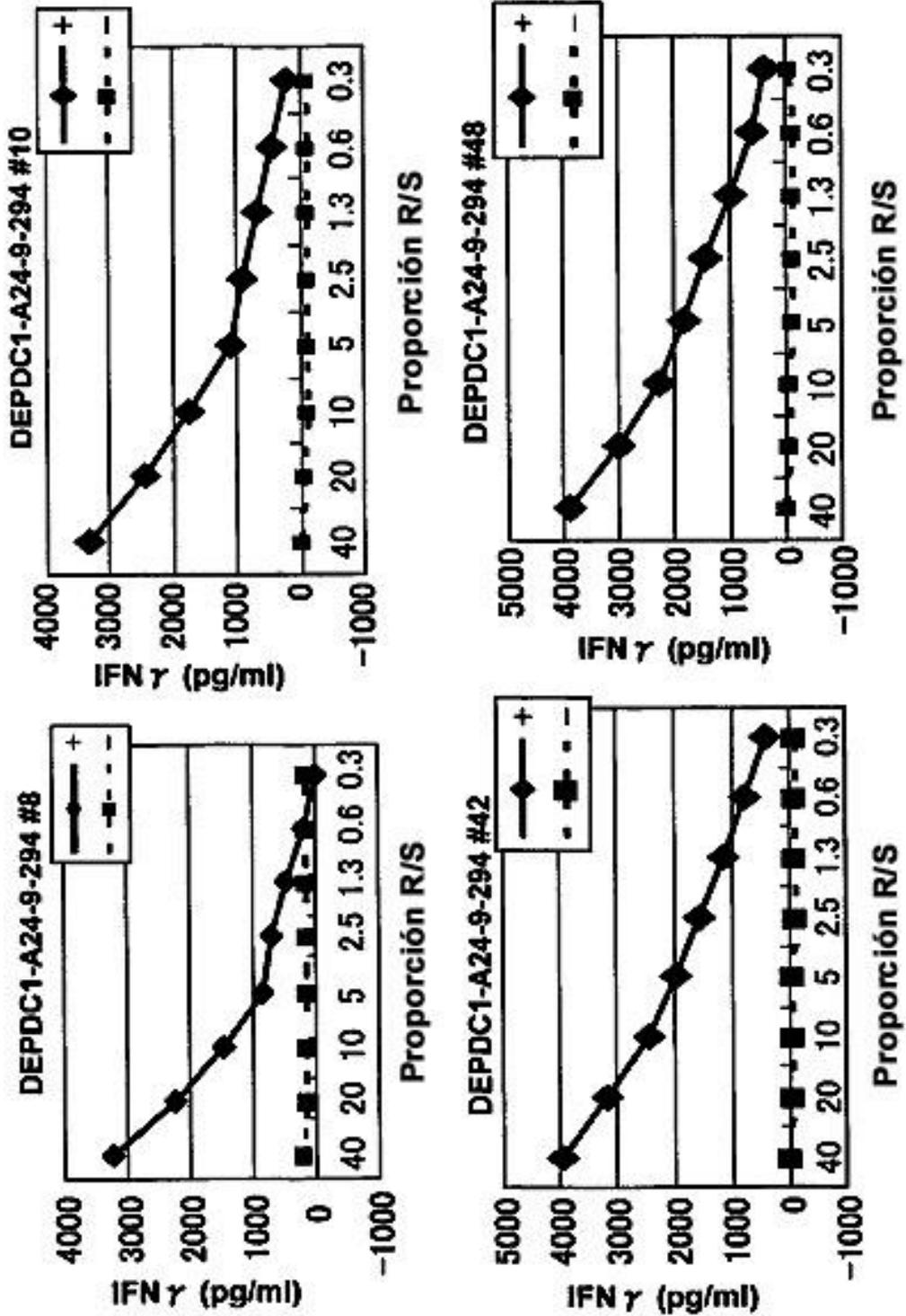
[Fig. 8]



[Fig. 10]

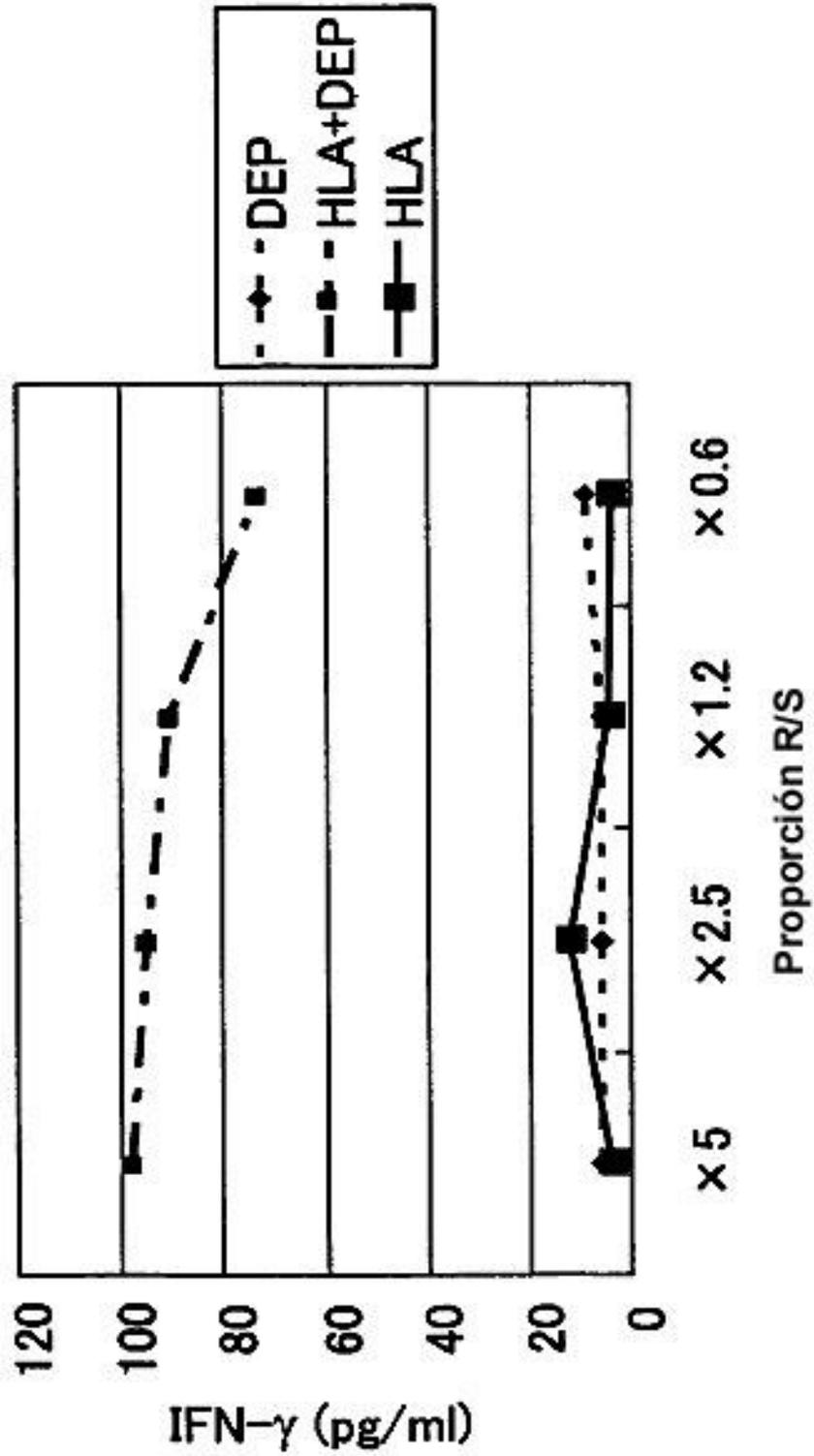


[Fig. 11]



[Fig. 12]

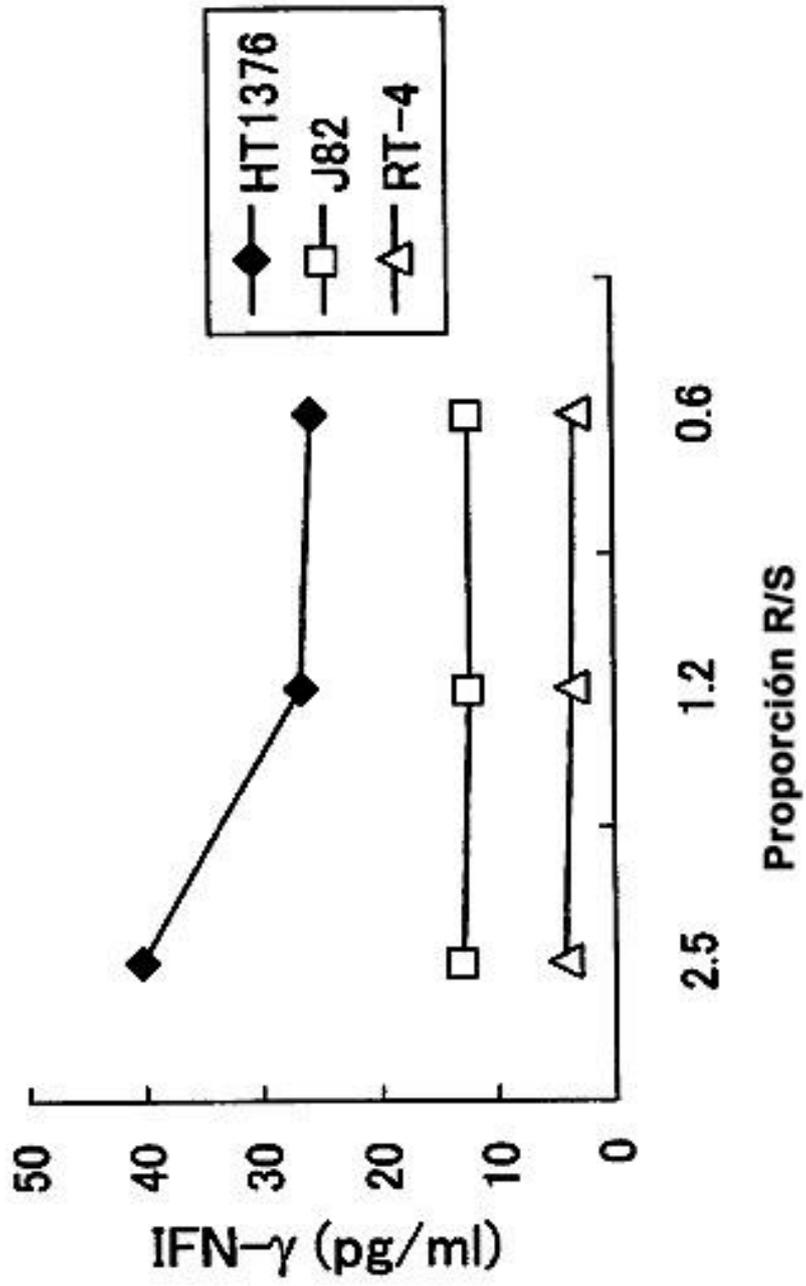
DEPDC1-A24-9-294 clon nº 8 endo



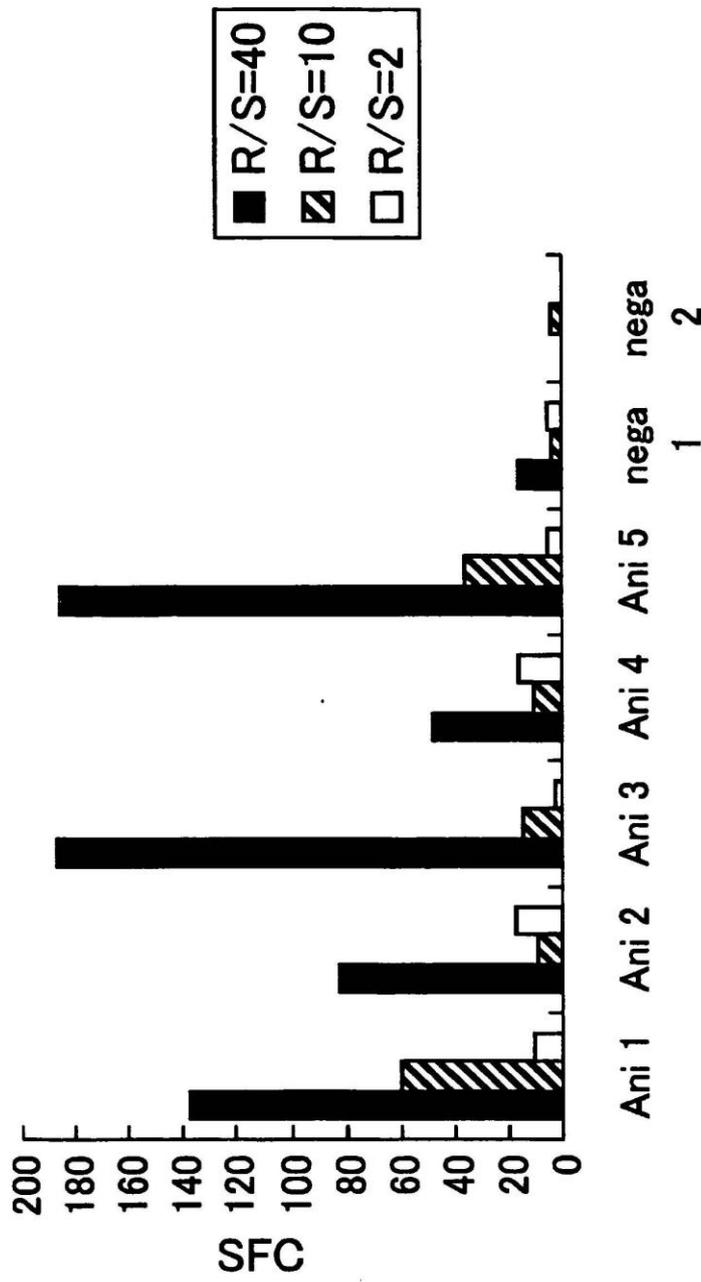
DEP: DEPDC1

[Fig. 13]

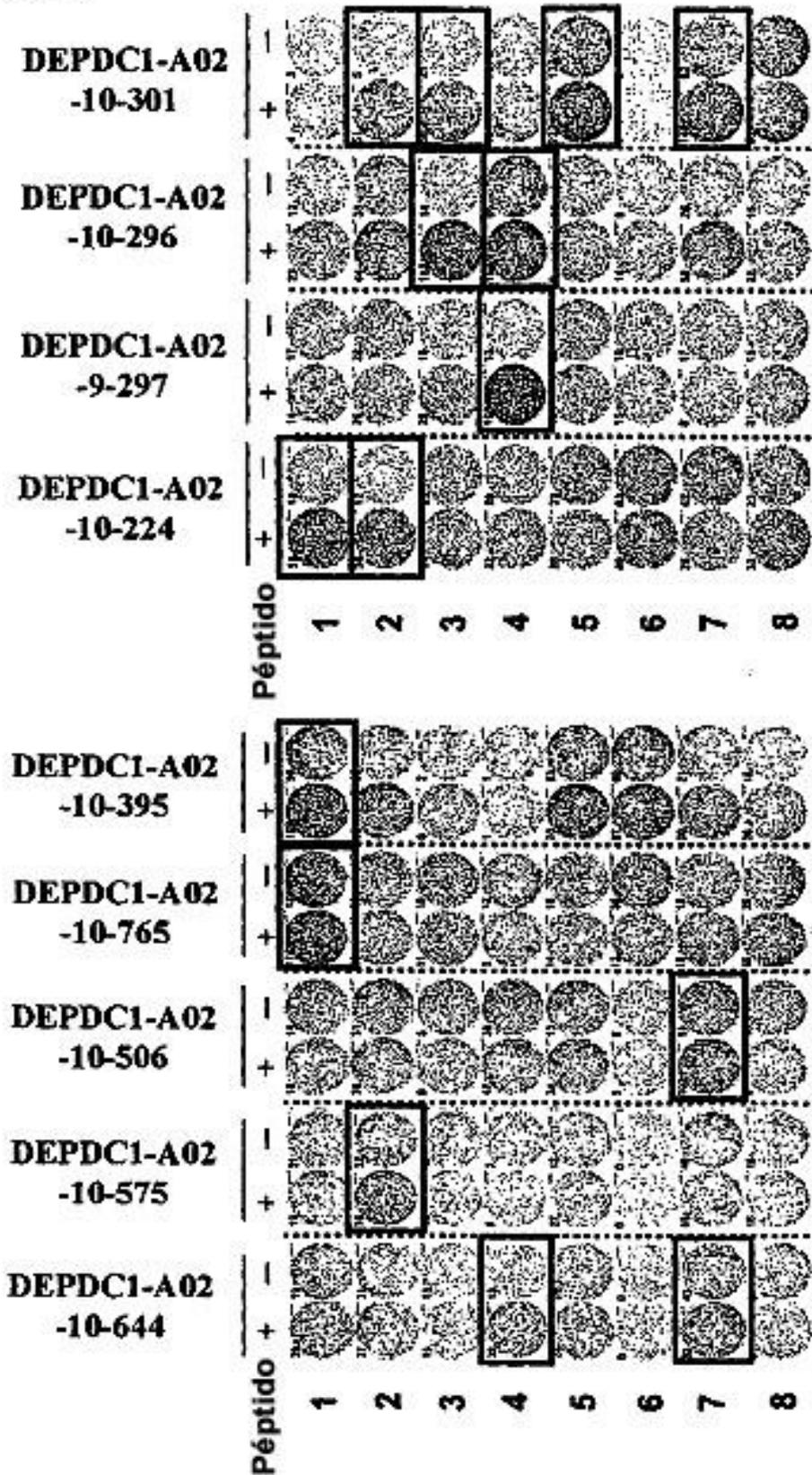
DEPDC1-A24-9-294



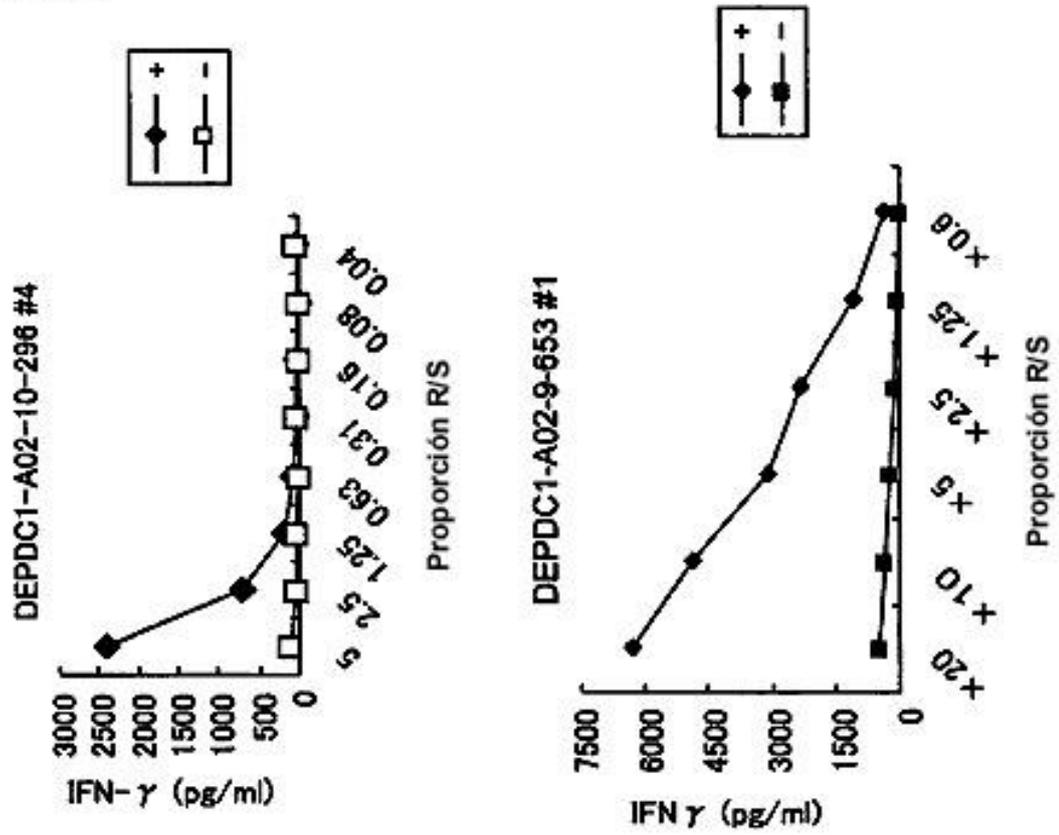
[Fig. 14]



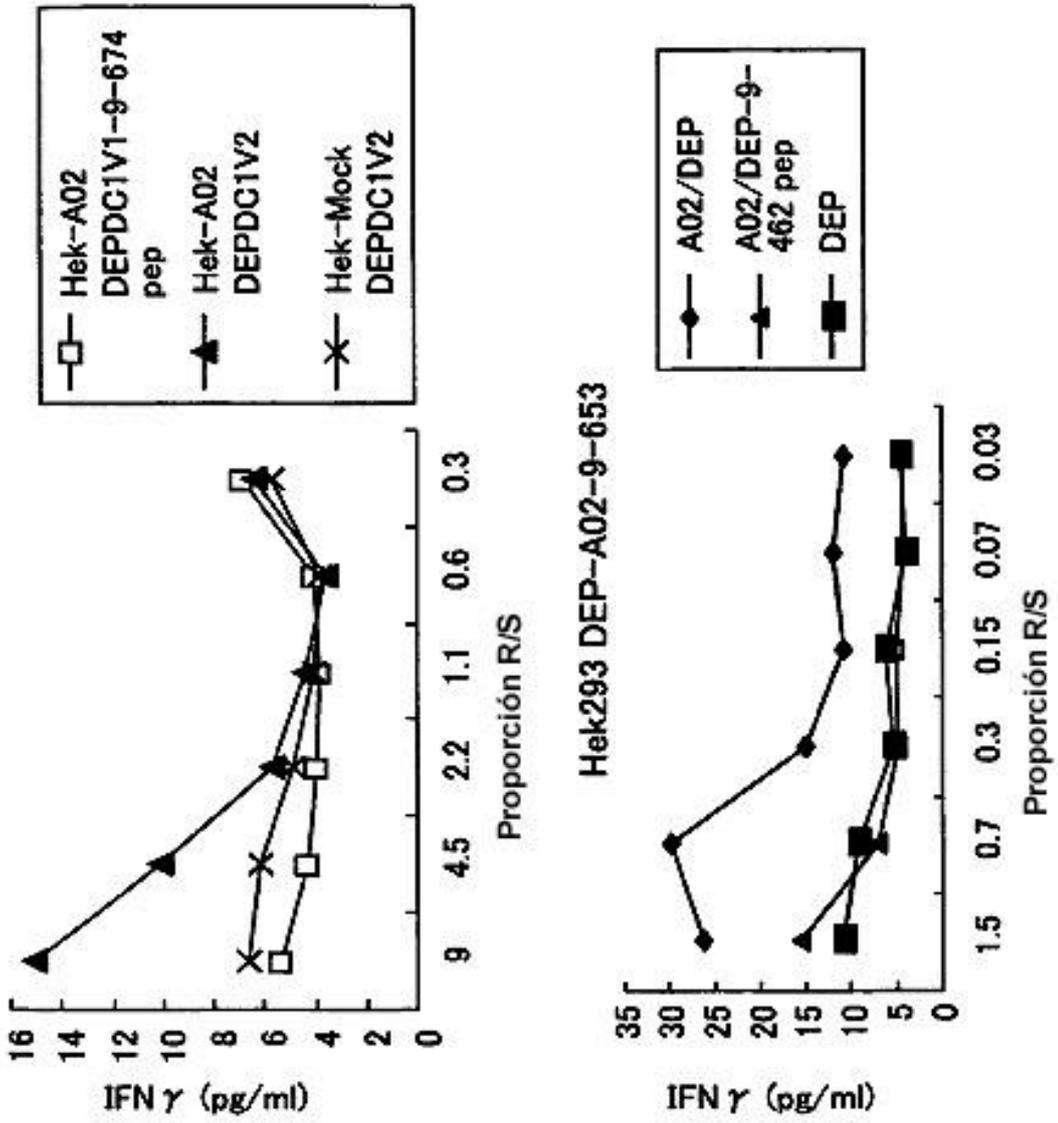
[Fig. 15]



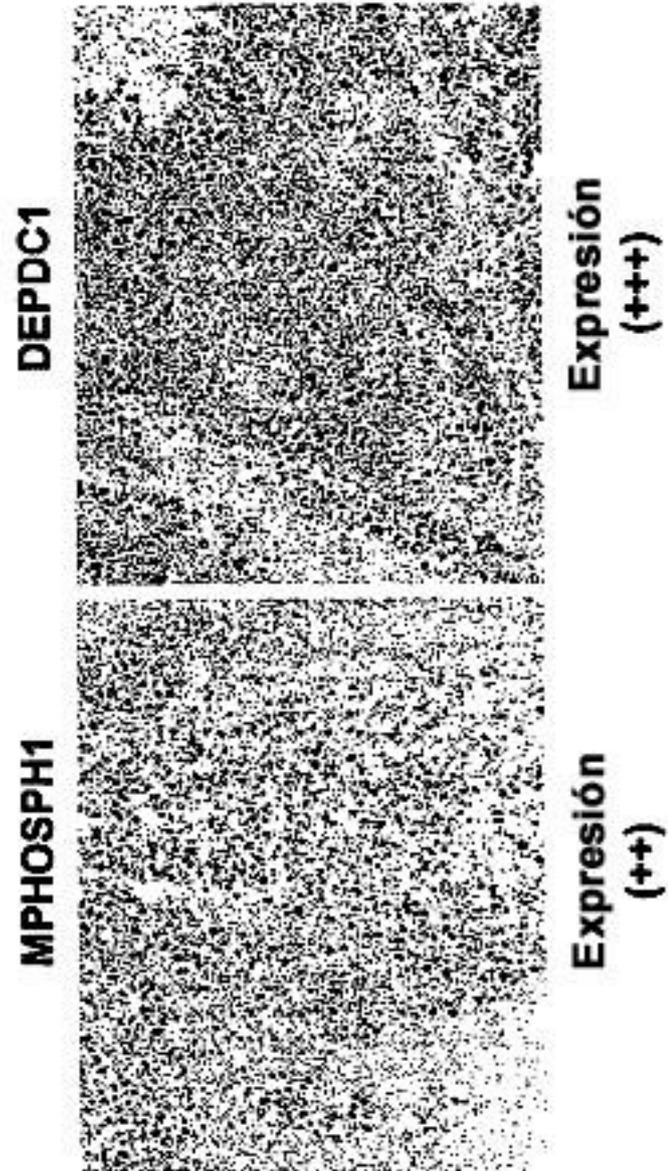
[Fig. 16]



[Fig. 17]

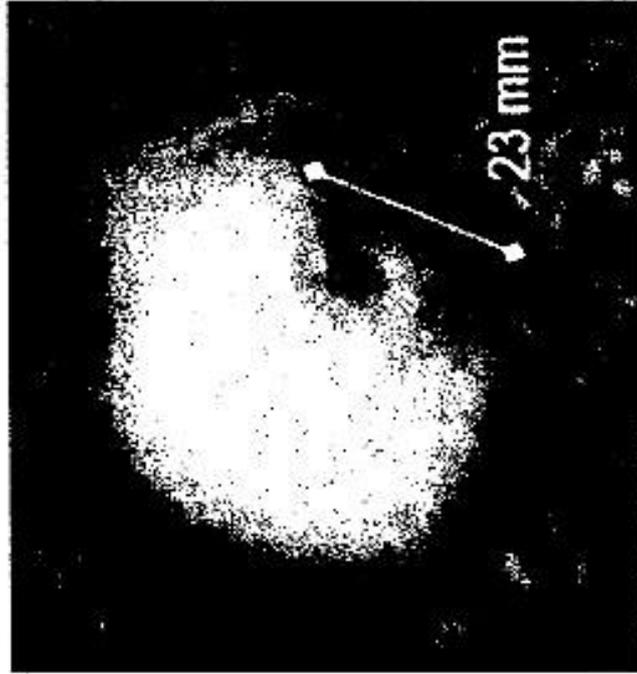


[Fig. 18]



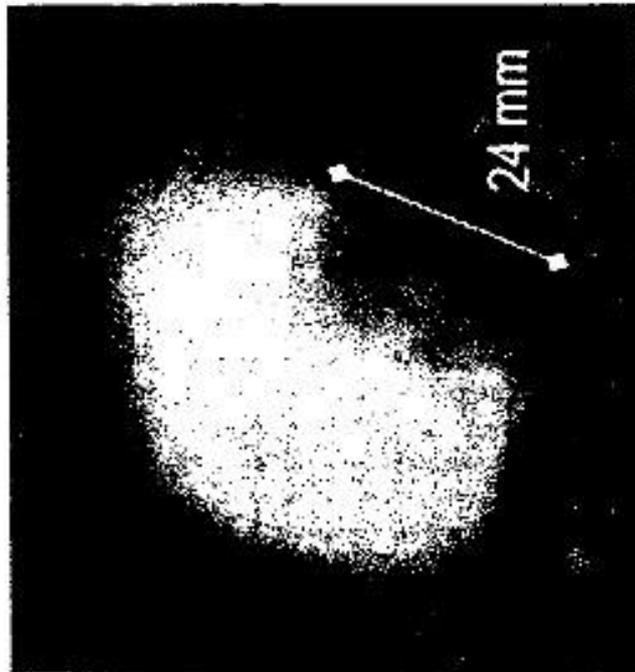
[Fig. 19]

Vejiga



Después de vacunación

Vejiga



Antes de vacunación

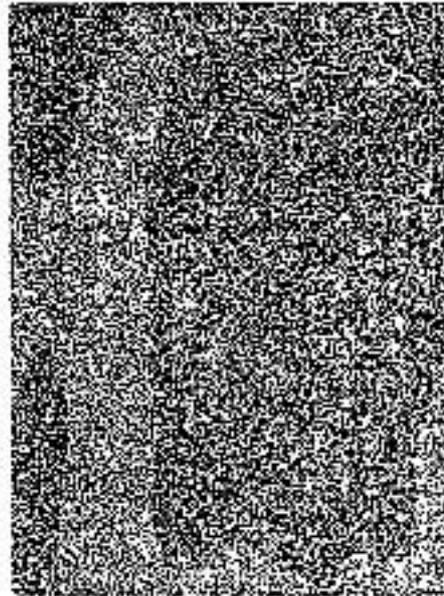
[Fig. 20]

DEPDC1



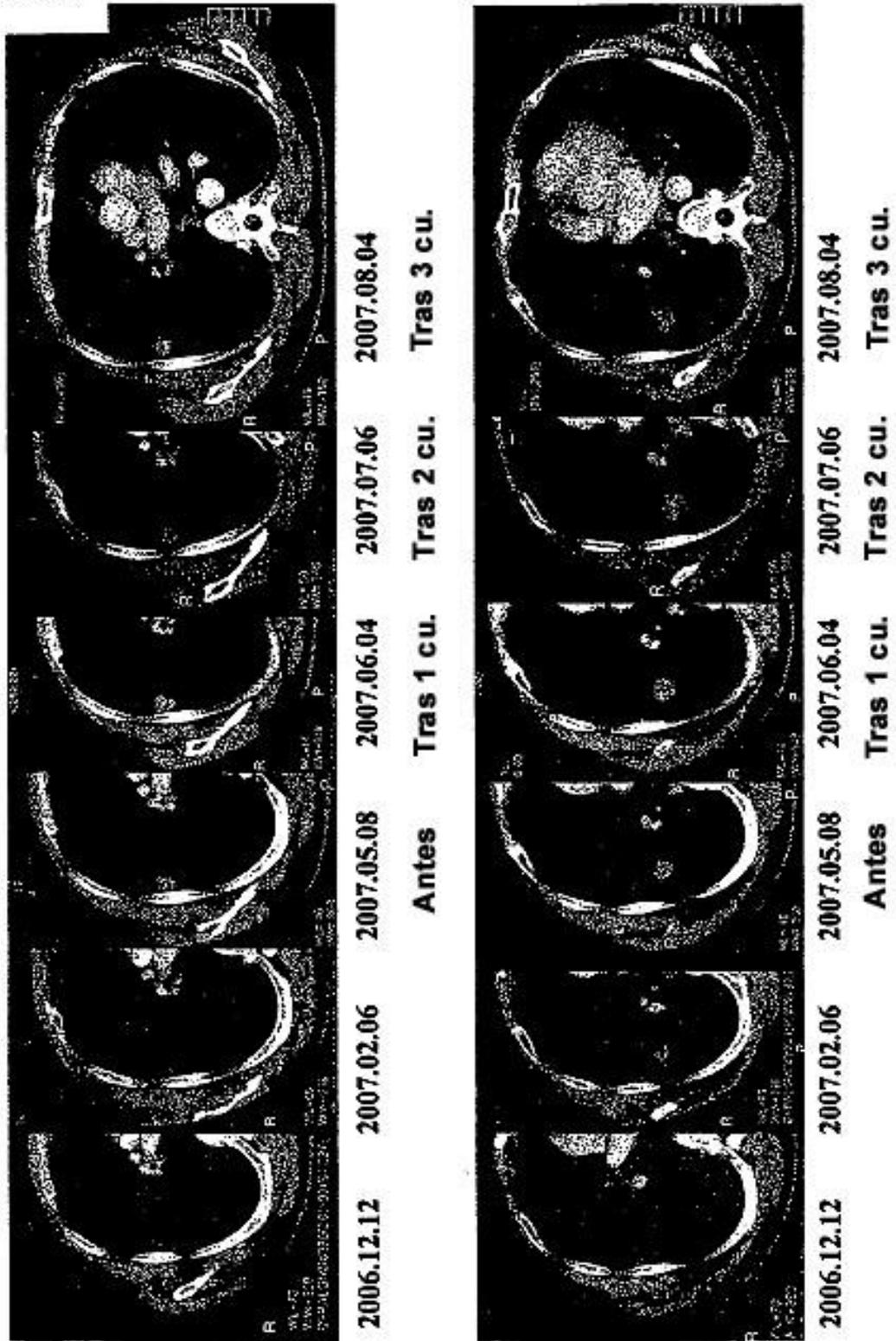
**Expresión
(+++)**

MPHOSPH1

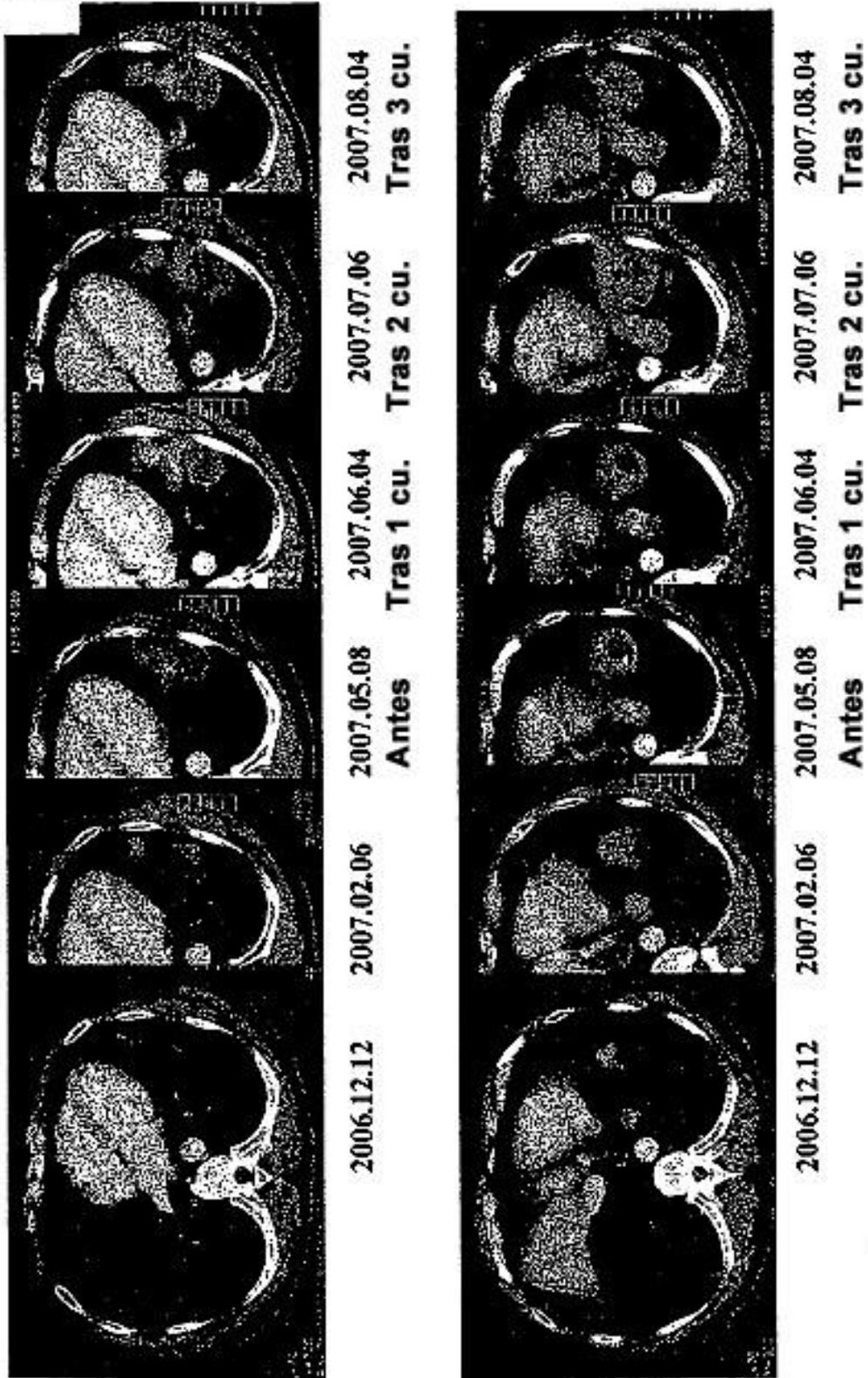


**Expresión
(negativo)**

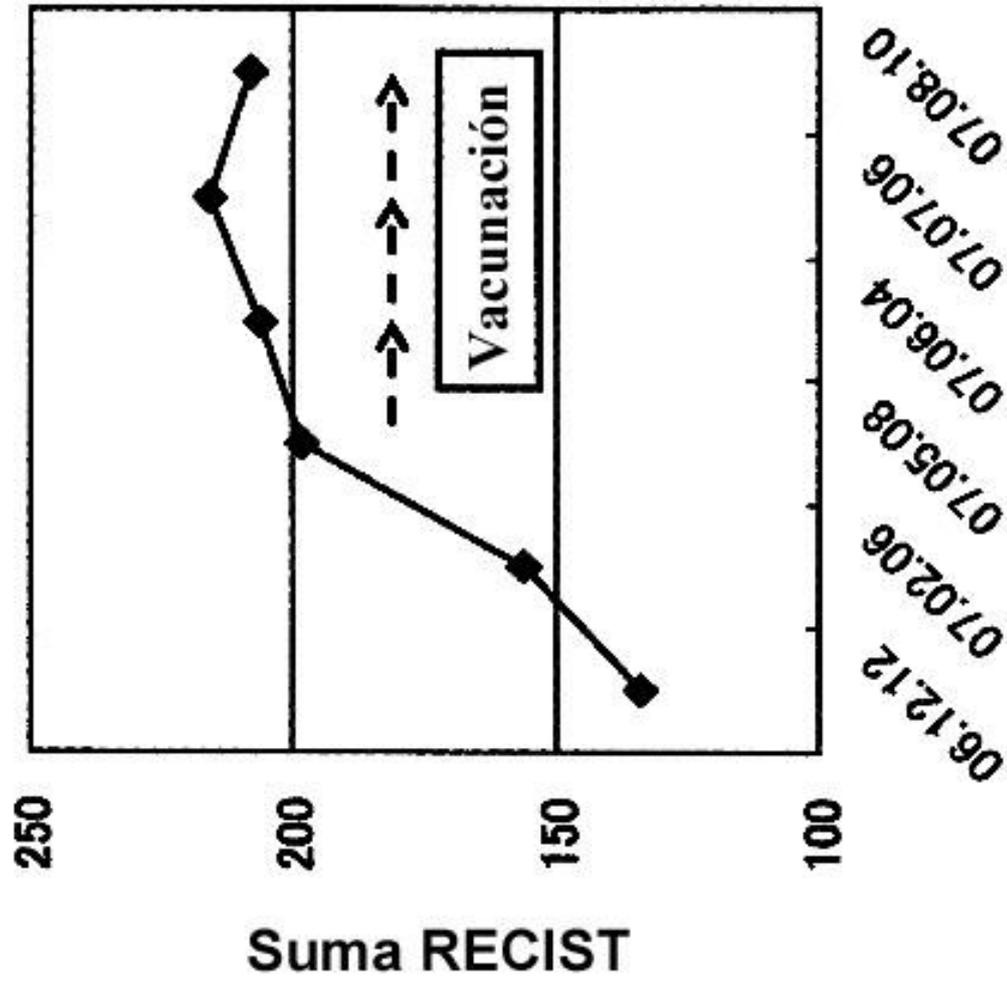
[Fig. 21]



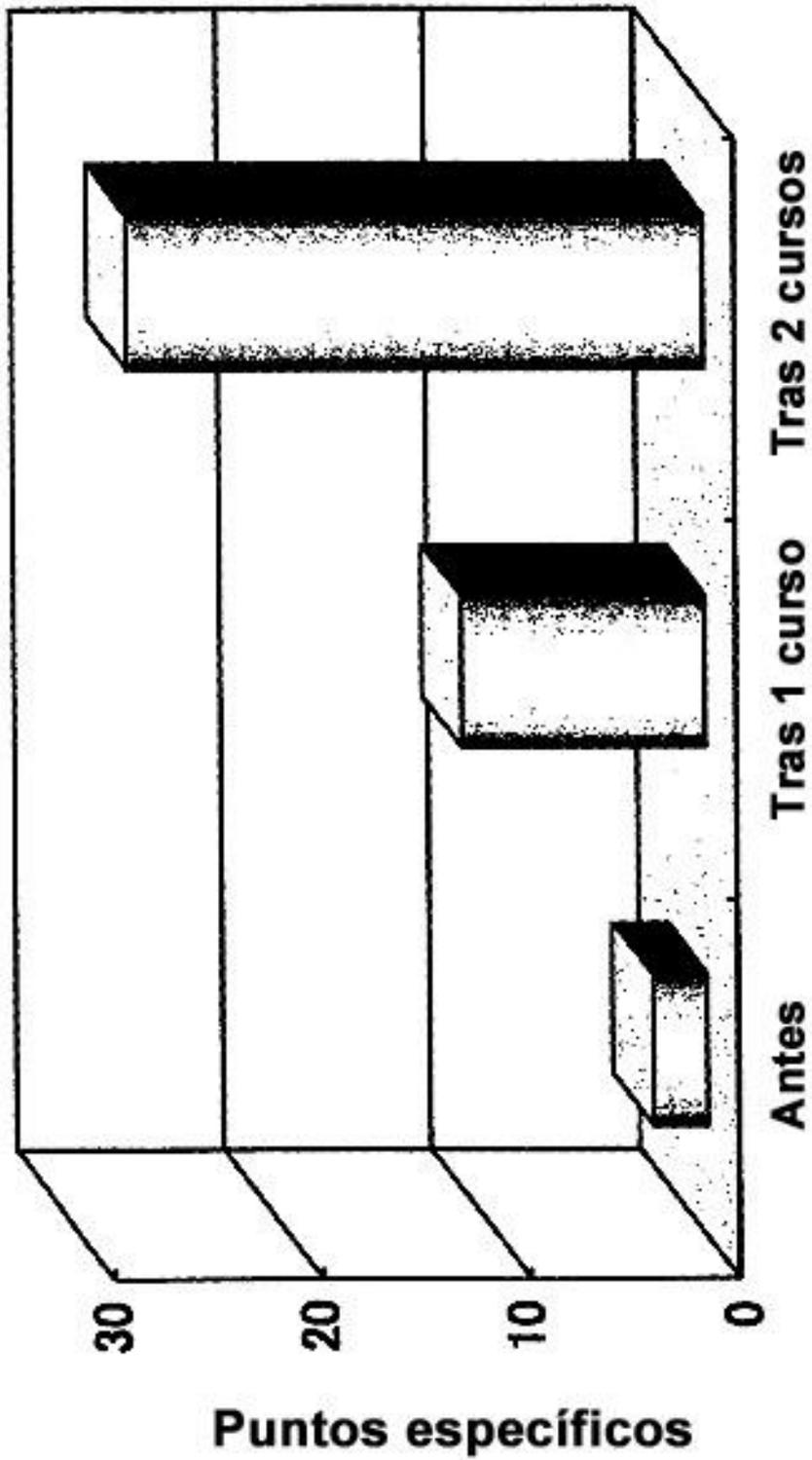
[Fig. 22]



[Fig. 23]

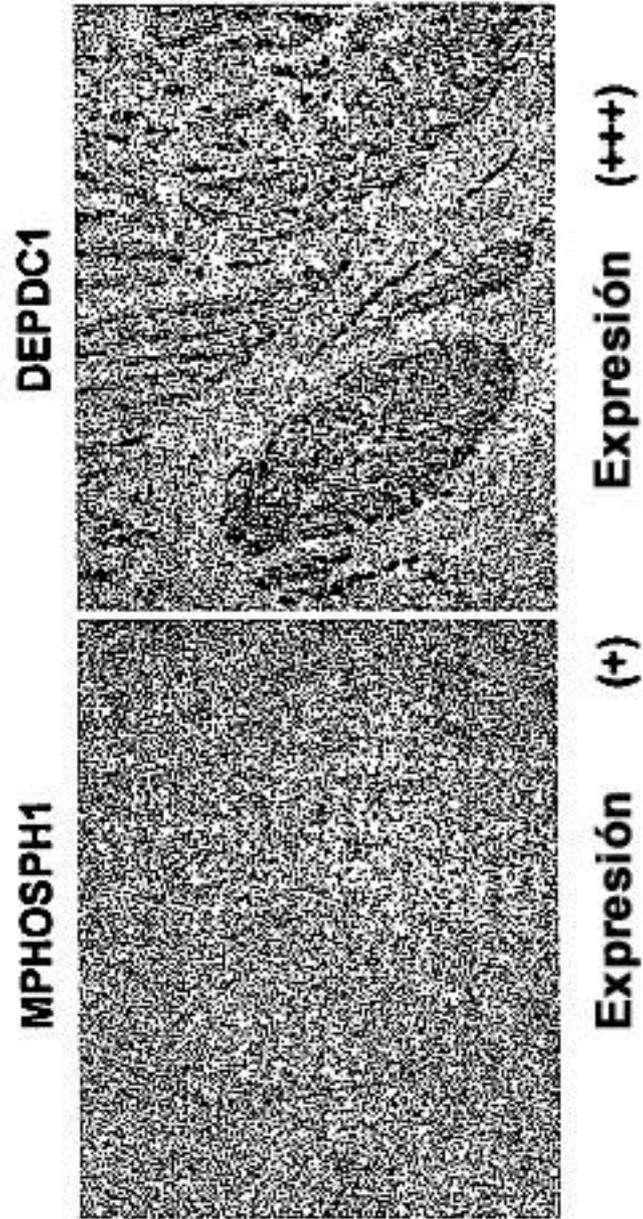


[Fig. 24]



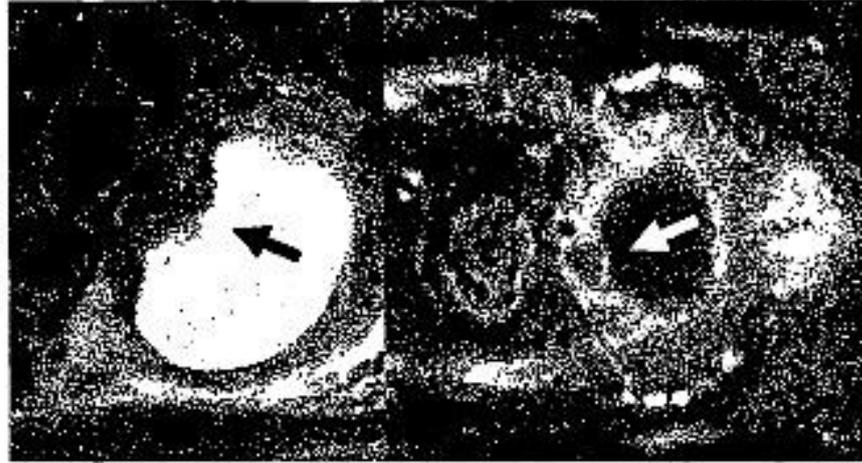
Puntos específicos = Puntos(DEPDC1 pep) - Puntos (VIH pep)

[Fig. 25]



[Fig. 26]

**Tras 1 curso
07.08.17**



**Antes
07.07.11**

