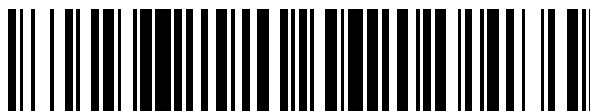


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 492**

51 Int. Cl.:

C12N 9/12 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2006 E 10010438 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2014 EP 2325305**

54 Título: **Vacunas de péptidos para cánceres de pulmón que expresan polipéptidos TTK, URLC10 o KOC1**

30 Prioridad:

25.02.2005 US 656857 P

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

09.05.2014

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**TSUNODA, TAKUYA;
TAHARA, HIDEAKI;
NAKATSURU, SHUICHI;
DAIGO, YATARO y
NAKAMURA, YUSUKE**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 459 492 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 de pulmón que expresan polipéptidos TTK, URLC10 o KOC1

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere al campo de las ciencias biológicas, más específicamente al campo de terapia contra el cáncer. En particular, se divulgan nuevos péptidos que son extremadamente eficaces como vacunas contra el cáncer y fármacos para tratar y prevenir tumores que contienen estos péptidos.

Técnica anterior

- 10 El cáncer de pulmón es uno de los tumores humanos más comúnmente mortales. Se han referido muchas alteraciones genéticas asociadas con el desarrollo y progresión del cáncer de pulmón. Los cambios genéticos pueden ayudar en los esfuerzos de pronóstico y en las predicciones de riesgo de metástasis o respuesta a ciertos tratamientos. (Mitsudomi T y col., (2000) Clin Cancer Res 6: 4055-63; Niklinski y col., (2001) Lung Cancer. 34 supl. 2: S53-8; Watine J. (2000) Brj 320: 379-80). El cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) es con diferencia la forma más común de cáncer de pulmón, que supone casi el 80 % de los tumores de pulmón (Society, A.C. Cancer Facts and Figures 2001, 2001). La tasa global de supervivencia a 10 años sigue siendo de solo el 10 %, a pesar de
15 los recientes avances en terapias de múltiples modalidades, porque la mayoría de los CPCNP no se diagnostican hasta fases avanzadas (Fry, W.A. y col., (1999) Cancer. 86: 1867-76). Aunque los regímenes de quimioterapia basados en platino se consideran estándares de referencia para el tratamiento de CPCNP, estos fármacos son capaces de prolongar la supervivencia de pacientes con CPCNP avanzado solo seis semanas aproximadamente (Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group, (1995) BMJ. 311: 899-909). Se están investigando numerosas
20 terapias diana para esta enfermedad, entre ellas inhibidores de la tirosina-cinasa; sin embargo, hasta la fecha se han obtenido resultados prometedores solo en un número limitado de pacientes y algunos receptores sufren reacciones adversas graves (Kris MG y col., (2002) Proc Am Soc Clin Oncol. 21: 292a(A1166)).

- 25 Se ha demostrado que los linfocitos T citotóxicos (LTC) CD8+ reconocen péptidos de epítomos derivados de antígenos asociados a tumores (AAT) presentes en moléculas MHC de clase I y lisan las células tumorales. Desde el descubrimiento de la familia MAGE como primer ejemplo de AAT, se han descubierto otros muchos AAT usando enfoques inmunológicos (Boon T. (1993) Int J Cancer 54: 177-80; Boon T. y col., (1996) J Exp Med 183: 725-9; van der Bruggen P y col., (1991) Science 254: 1643-47; Brichard V y col., (1993) J Exp Med 178: 489-95; Kawakami Y y col., (1994) J Exp Med 180: 347-52). Algunos de ellos se encuentran ahora en desarrollo clínico como dianas de inmunoterapia. Entre los AAT descubiertos hasta ahora se incluyen MAGE (van der Bruggen P y col., (1991) Science 254: 1643-7), gp100 (Kawakami Y y col., (1994) J Exp Med 180: 347-52), SART (Shichijo S y col., (1998) J Exp Med 187:277-88) y NY-ESO-1 (Chen YT y col., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 1914-8). Por otra parte, algunos
30 productos génicos mostraron estar sobreexpresados en cierta medida en las células tumorales que han demostrado ser reconocidas como dianas que inducen respuestas inmunitarias celulares. Entre estos productos génicos se incluyen p53 (Umano Y y col., (2001) Br J Cancer, 84:1052-7), HER2/neu (Tanaka H y col., (2001) Br Cancer, 84: 94-9), CEA (Nukaya I y col., (1999) Int. J. Cancer 80, 92-7) y similares.

Se ha mostrado en De Nooij y col. (2002), International Journal of Cancer 103: 768-774, que los antígenos Ly-6 humanos, incluyendo Ly-6k, se pueden usar como marcadores moleculares para carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

- 40 A pesar del importante avance en la investigación básica y clínica relativa a los AAT (Rosenberg SA y col., (1998) Nature Med, 4: 321-7; Mukherji B. y col., (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92: 8078-82; Hu X y col., (1996) Cancer Res, 56: 2479-83), están disponibles solo un número muy limitado de ATT candidatos adecuados para el tratamiento de adenocarcinomas, tales como cáncer de pulmón. Los AAT que se expresan abundantemente en células cancerosas y cuya expresión está limitada a células cancerosas, serían candidatos prometedores como dianas inmunoterapéuticas.

- 45 Se ha mostrado repetidamente en ensayos con liberación de ⁵¹Cr que las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) estimuladas por péptidos de ciertos donantes sanos producen niveles importantes de IFN-γ en respuesta al péptido, pero raramente ejercen citotoxicidad frente a células tumorales de una manera restringida por HLA-A24 o A0201 (Kawano K y col., (2000) Cancer Res 60: 3550-8; Nishizaka y col., (2000) Cancer Res 60: 4830-7; Tamura y col., (2001) Jpn J Cancer Res 92: 762-7). Sin embargo, tanto HLA-A24 como HLA-A0201 son alelos HLA
50 comunes en las poblaciones japonesa y caucásica (Date Y y col., (1996) Tissue Antigens 47: 93-101; Kondo A y col., (1995) J Immunol 155: 4307-12; Kubo RT y col., (1994) J Immunol 152: 3913-24; Imanishi y col., Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Oxford University Press, Oxford, 1065 (1992); Williams F y col., (1997) Tissue Antigen 49: 129). Así, los péptidos antigénicos de cánceres presentados por estos alelos HLA pueden ser especialmente útiles para el tratamiento de cánceres entre pacientes japoneses y
55 caucásicos. Además, se sabe que la inducción de LTC de baja afinidad *in vitro* procede habitualmente del uso de péptido a una concentración elevada, lo que genera un alto nivel de complejos péptido/MHC específicos de células presentadoras de antígenos (CPA), que activarán eficazmente estos LTC (Alexander-Miller y col., (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93: 4102-7).

Desarrollos recientes en tecnologías de micromatriz de ADNc han permitido las construcciones de perfiles extensos de expresión génica de células malignas en comparación con células normales (Okabe, H. y col., (2001) Cancer Res., 61, 2129-37; Lin YM y col., (2002) Oncogene, 21; 4120-8; Hasegawa S. y col., (2002) Cancer Res 62:7012-7). Este enfoque permite una comprensión de la naturaleza compleja de las células cancerosas y de los mecanismos de la carcinogénesis y facilita la identificación de genes cuya expresión está desregulada en tumores (Bienz M. y col., (2000) Cell 103, 311-320).

Entre los transcritos identificados como regulados por incremento comúnmente en cánceres de pulmón, *UCLC10* (ADNc para gen CO16 expresado diferencialmente; Acceso GenBank n.º: AB1055187; SEC ID N.ºs: 3, 4) es de especial interés para los autores de la presente invención, estando regulado por incremento específicamente en células tumorales de los tejidos de cáncer de pulmón en más del 80 % de los casos analizados. En cambio, el análisis de transferencia northern demostró que estos productos génicos no se encuentran en órganos vitales normales (véase el documento WO-2004/031.413). Así, los péptidos inmunógenos derivados de *URLC10* pueden encontrar utilidad en células tumorales citolíticas que expresan esos antígenos. La presente invención aborda estas y otras necesidades.

Sumario de la invención

El gen *URLC10* (ADNc para gen CO16 expresado diferencialmente) se ha identificado como regulado por incremento en cáncer de pulmón. El gen se identificó usando perfiles de expresión génica con una micromatriz de ADNc del genoma completo que contenía 23.040 genes. Según se expone anteriormente, la expresión de *TTK*, *URLC10* y *KOC1* está regulada específicamente por incremento en células tumorales en más del 80 % de los pacientes con cáncer de pulmón pero ausente en otros órganos vitales normales.

La presente invención se basa, al menos en parte, en la identificación de péptidos de epítomos de los productos génicos del gen (*URLC10*) que provocan linfocitos T citotóxicos (LTC) específicos de las moléculas correspondientes. Según se expone en detalle más adelante, se estimularon Células Mononucleares de Sangre Periférica (CMSP) de donante sano usando péptidos candidatos de unión a HLA-A*2402 derivados de *URLC10*.

A continuación se establecieron clones de LTC con citotoxicidad específica frente a las células diana positivas de HLA-A24 pulsadas con este péptido candidato. El análisis ulterior de los clones de LTC mostró la potente actividad citotóxica no solo frente a las células diana pulsadas con péptidos, sino también frente a células tumorales que expresan endógenamente *URLC10*. Además, un ensayo de inhibición de diana fría y un ensayo de bloqueo de anticuerpos revelaron que los clones de células LTC reconocieron específicamente el complejo peptídico MHC de clase I. Estos resultados demuestran que estos péptidos son péptidos de epítomos con restricción de HLA-A24 que pueden inducir respuestas inmunitarias potentes y específicas frente a células de cáncer de pulmón que expresan *URLC10*.

En consecuencia, la presente invención proporciona procedimientos para tratar o evitar cáncer de pulmón en un sujeto que comprenden la etapa de administrar al sujeto los polipéptidos *URLC10* de la invención. La inmunidad antitumoral se induce por la administración de este polipéptido. Así, la presente invención proporciona procedimientos para inducir actividad antitumoral en un sujeto que comprenden la etapa de administrar al sujeto el polipéptido *URLC10*, así como composiciones farmacéuticas para tratar o evitar cáncer de pulmón que comprenden el polipéptido *URLC10*.

Estos y otros objetos y características de la descripción se harán evidentes de forma más completa cuando se lea la siguiente descripción detallada en conjunción con las figuras y ejemplos que la acompañan. Sin embargo, se entiende que tanto el sumario precedente de la invención como la descripción detallada siguiente son de realizaciones preferidas y no restrictivas de la invención u otras realizaciones alternativas de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La fig. 1 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por TTK-567 tiene citotoxicidad específica del péptido. Específicamente, el clon de LTC demostró una alta actividad citotóxica frente a células diana (A24LCL) pulsadas con TTK-567, mientras que no mostró actividad citotóxica significativa frente a las mismas células diana (A24LCL) no pulsadas con péptidos.

La fig. 2 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por *URLC10*-177 tiene citotoxicidad específica del péptido. Específicamente, el clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a células diana (A24LCL) pulsadas con *URLC10*-177, mientras que no mostró actividad citotóxica importante frente a las mismas células diana (A24LCL) no pulsadas con péptidos.

La fig. 3 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por KOC1-508 tiene citotoxicidad específica del péptido. Específicamente, el clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a células diana (A24LCL) pulsadas con KOC1-508, mientras que no mostró actividad citotóxica importante frente a las mismas células diana (A24LCL) no pulsadas con péptidos.

La fig. 4 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por TTK-567 reconoce y lisa células tumorales que

expresan endógenamente *TTK* en una forma restringida por HLA. La actividad citotóxica frente a células TE1, que expresan endógenamente *TTK* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras los clones de LTC obtenidos por TTK-567. Se usaron células PC9 como células diana que expresan endógenamente *TTK* pero no expresan HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a células TE1 que expresan *TTK* y HLA-A24. Por otra parte, no mostró actividad citotóxica significativa frente a células PC9 que expresan *TTK* pero no HLA-A24.

La fig. 5 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por URLC10-177 reconoce y lisa células tumorales que expresan endógenamente *URLC10* en una forma restringida por HLA. La actividad citotóxica frente a células TE1, que expresan endógenamente *URLC10* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de LTC obtenido por URLC10-177. Se usaron células TE13 como células diana que expresan endógenamente *URLC10* pero no expresan HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a células TE1 que expresan *URLC10* y HLA-A24. Por otra parte, no mostró actividad citotóxica significativa frente a células TE13 que expresan *URLC10*, pero no HLA-A24.

La fig. 6 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por KOC1-508 reconoce y lisa las células tumorales que expresan endógenamente *KOC1* en una forma restringida por HLA. La actividad citotóxica frente a células TE1, que expresan endógenamente *KOC1* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de LTC obtenido por KOC1-508. Se usaron células PC9 como células diana que expresan endógenamente *KOC1* pero no expresan HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a células TE1 que expresan *KOC1* y HLA-A24. Por otra parte, no mostró actividad citotóxica significativa frente a células PC9 que expresan *KOC1*, pero no HLA-A24.

La fig. 7 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por TTK-567 reconoce específicamente TTK-567 de una manera restringida por HLA-A24. Se prepararon células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ como diana caliente, mientras que se usaron células A24LCL pulsadas con péptido TTK-567 como diana fría (Inhibidor). La relación E/T se fijó en 20. La actividad citotóxica de clon de LTC TTK-567 frente a células TE1 se inhibió mediante la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico.

La fig. 8 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por URLC10-177 reconoce específicamente URLC10 de una manera restringida por HLA-A24. Se prepararon células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ como diana caliente, mientras que se usaron células A24LCL pulsadas con péptido URLC10-177 como diana fría (Inhibidor). La relación E/T se fijó en 20. La actividad citotóxica de clon de LTC URLC10-177 frente a células TE1 se inhibió mediante la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico.

La fig. 9 es un gráfico que muestra que el clon de LTC obtenido por KOC1-508 reconoce específicamente KOC1 de una manera restringida por HLA-A24. Se prepararon células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ como diana caliente, mientras que se usaron células A24LCL pulsadas con péptido KOC1-508 como diana fría (Inhibidor). La relación E/T se fijó en 20. La actividad citotóxica de clon de LTC KOC1-508 frente a células TE1 se inhibió mediante la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico.

La fig. 10 es un gráfico que muestra que la actividad citotóxica del clon de LTC obtenido por TTK-567 está bloqueada específicamente por anticuerpos que reconocen los antígenos de superficie de linfocitos T de HLA de clase I o CD8. La especificidad de citotoxicidad del clon de LTC se confirmó mediante un ensayo de bloqueo de anticuerpos. Las células TE1 se cocultivaron con anticuerpos monoclonales respectivamente y se usaron como una diana. La actividad de LTC se bloqueó claramente con la adición de anticuerpos que reconocen HLA de Clase I o CD8 y estuvo afectada marginalmente por la adición de anticuerpos a HLA de Clase II o CD4; sin embargo, no se inhibió en absoluto por la adición de un anticuerpo de control de isotipo correspondiente;

La fig. 11 es un gráfico que muestra que la actividad citotóxica del clon de LTC obtenido por URLC10-177 está bloqueada específicamente por anticuerpos que reconocen los antígenos de superficie de linfocitos T de HLA de clase I o CD8. La especificidad de citotoxicidad del clon de LTC se confirmó mediante un ensayo de bloqueo de anticuerpos. Las células TE1 se cocultivaron con anticuerpos monoclonales respectivamente y se usaron como una diana. La actividad de LTC se bloqueó claramente con la adición de anticuerpos que reconocen HLA de Clase I o CD8 y estuvo afectada marginalmente por la adición de anticuerpos a HLA de Clase II o CD4; sin embargo, no se inhibió en absoluto por la adición de un anticuerpo de control de isotipo correspondiente;

La fig. 12 es un gráfico que muestra que la actividad citotóxica del clon de LTC obtenido por KOC1-508 está bloqueada específicamente por anticuerpos que reconocen los antígenos de superficie de linfocitos T de HLA de clase I o CD8. La especificidad de citotoxicidad del clon de LTC se confirmó mediante un ensayo de bloqueo de anticuerpos. Las células TE1 se cocultivaron con anticuerpos monoclonales respectivamente y se usaron como diana. La actividad de LTC se bloqueó claramente con la adición de anticuerpos que reconocen HLA de Clase I o CD8 y estuvo afectada marginalmente por la adición de anticuerpos a HLA de Clase II o CD4; sin embargo, no se inhibió en absoluto por la adición de un anticuerpo de control de isotipo correspondiente.

Descripción detallada de la invención

Las palabras “un”, “una”, “el” y “la” según se usan en la presente memoria descriptiva significan “al menos uno” salvo

que se indique específicamente lo contrario.

Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria descriptiva tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece esta invención.

5 La identificación de nuevos AAT, en particular los que inducen respuestas antitumorales potentes y específicas, merece un desarrollo ulterior de la aplicación clínica de la estrategia de vacunación con péptidos en diversos tipos de cáncer (Boon T y col., (1996) *J Exp Med* 183: 725-9; van der Bruggen P y col., (1991) *Science* 254: 1643-7; Brichard V y col., (1993) *J Exp Med* 178: 489-95; Kawakami Y y col., (1994) *J Exp Med* 180: 347-52; Shichijo S y col., (1998) *J Exp Med* 187:277-88; Chen YT y col., (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 1914-8; Harris CC, (1996) *J Natl Cancer Inst* 88:1442-5; Butterfield LH y col., (1999) *Cancer Res* 59:3134-42; Vissers JL y col., (1999) *Cancer Res* 59: 5554-9; van der Burg SH y col., (1996) *J. Immunol.* 156:3308-14; Tanaka F y col., (1997) *Cancer Res* 57:4465-8; Fujie T y col., (1999) *Int J Cancer* 80:169-72; Kikuchi M y col., (1999) *Int J Cancer* 81: 459-66; Oiso M y col., (1999) *Int J Cancer* 81: 387-94). Según se observó anteriormente, *TTK*, *URLC10* y *KOC1* se identificaron previamente como sobreexpresados en cáncer de pulmón usando tecnologías de micromatriz de ADNc. Según se expone en el documento WO-2004/031.413, *TTK* codifica un dominio S_TKc. La proteína codificada por el gen *TTK* fosforila proteínas en serina, treonina y tirosina, con dicha fosforilación asociada probablemente con proliferación celular (Mills GB y col., (1992) *J Biol Chem* 267: 16000-6; Schmandt R y col., (1994) *J. Immunol*; 152(1):96-105; Stucke VM y col., (2002) *EMBO J*; 21(7):1723-32). *KOC1* codifica proteína 3 de unión a ARNm (*IMP-3*) de factor de crecimiento 2 similar a insulina (*IGF2*). La proteína *IMP3* contiene 2 restos de reconocimiento de ARN funcionales (RRM) además de 4 dominios KH. La proteína se asocia específicamente con la 5-prima UTR del ARNm líder del factor II de crecimiento similar a insulina (*IGF2*) humano de 6,0 kb, sugiriendo un papel para *IMP-3* en la regulación fisiológica de producción de *IGF2*. (Nielsen, J. y col., (1999) *Molec. Cell. Biol.* 19: 1262-1270). *IMP-3* también se sobreexpresaba en cánceres pancreáticos (Mueller-Pillasch, F. y cols., (1007) *Oncogene* 14: 2727-2733).

25 Experimentos anteriores demostraron que *TTK*, *URLC10* y *KOC1* estaban sobreexpresados en cáncer de pulmón y muestran expresión mínima en tejidos normales. Además, estos genes estaban mostrando tener una función importante relacionada con proliferación celular (véase el documento WO-2004/031.413).

En la presente invención, se muestra que los péptidos obtenidos de *URLC10* son epítomos de AAT restringidos por HLA-A24, un alelo de HLA encontrado comúnmente en las poblaciones japonesas y caucásicas. Específicamente, usando sus afinidades de unión a HLA-A24, se identificaron candidatos de péptidos de unión HLA-A24 obtenidos de *URLC10*. Después de la estimulación *in vitro* de linfocitos T por células dendríticas (CD) cargados con estos péptidos, los LTC se establecieron con éxito usando *URLC10-177* (RYCNLEGPPPI (SEC ID N.º: 67)).

Estos LTC mostraron una potente actividad citotóxica frente a las células A24LCL pulsadas con péptidos. Además, los clones de LTC obtenidos a partir de estas células mostraron también citotoxicidad específica frente a líneas celulares de carcinoma de pulmón positivas a HLA-A24 que sobreexpresan endógenamente *URLC10*. Sin embargo, estos clones de LTC no mostraron actividad citotóxica frente a líneas celulares que carecen de expresión de HLA-A24 o de AAT diana. Las actividades citotóxicas específicas de estos clones de LTC se inhibieron significativamente por la diana fría. Estos resultados demuestran que *URLC10* es útil como AAT de células de cáncer de pulmón y que *URLC10-177* es un péptido de epítipo restringido por HLA-A24. Como este antígeno está sobreexpresado en la mayoría de los cánceres de pulmón y se asocia con proliferación de células tumorales, encuentra utilidad como diana inmunoterapéutica contra cánceres de pulmón.

En consecuencia, la presente invención proporciona además procedimientos de tratar o evitar cáncer de pulmón en un sujeto, comprendiendo dichos procedimientos las etapas de administrar un péptido inmunógeno de menos de 15 aminoácidos y comprendiendo la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67. Alternativamente, el péptido inmuno génico puede comprender la secuencia SEQ ID NO:67 en la que 1 o 2 aminoácidos están sustituidos, eliminados o añadidos, siempre que la variante peptídica resultante conserve la actividad inmunógena (es decir, la capacidad de inducir LTC específicos de células de cáncer de pulmón). También se divulga que el número de residuos que se sustituirán, eliminarán o añadirán es generalmente de 5 aminoácidos o menos, preferentemente 4 aminoácidos o menos, más preferentemente 3 aminoácidos o menos.

Se ha sabido que las variantes peptídicas (es decir, péptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos modificada por sustitución, delección o adición de uno, dos o más residuos de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos original) conservan la actividad biológica original (Mark DF y col., (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 5662-6; Zoller MJ y Smith M, (1982) *Nucleic Acids Res* 10: 6487-500; Dalbadie-McFarland G y col., (1982) *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 6409-13). En el contexto de la presente invención, la modificación de aminoácidos produce la conservación de las propiedades de la cadena lateral de aminoácidos original (un procedimiento conocido como sustitución de aminoácidos conservadora). Ejemplos de propiedades de cadenas laterales de aminoácidos son aminoácidos hidrófobos (A, I, L, M, F, P, W, Y, V), aminoácidos hidrófilos (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T) y cadenas laterales que tienen los siguientes grupos funcionales o características en común: una cadena lateral alifática (G, A, V, L, I, P); un grupo hidroxilo que contiene cadena lateral (S, T, Y); un átomo de azufre que contiene cadena lateral (C, M); un ácido carboxílico y una amida que contiene cadena lateral (D, N, E, Q); una base que contiene cadena lateral (R, K, H); y una sustancia aromática que contiene cadena lateral (H, F, Y, W). Obsérvese que las letras entre

paréntesis indican los códigos de una letra de los aminoácidos.

El péptido inmunógeno es un decapeptido (decámero).

La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para inducir inmunidad antitumoral para cáncer de pulmón en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de administrar al sujeto un péptido inmunógeno de la invención, en concreto uno que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67 o una variante de la misma (es decir, que incluye 1 o 2 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos) para el sujeto en necesidad de la misma.

En el contexto de la presente invención, el sujeto es preferentemente un mamífero. Los mamíferos de ejemplo se incluyen, pero no se limitan a, 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 invención, el péptido puede administrarse a un sujeto *in vivo* o *ex vivo*. Además, también se divulga el uso de un decapeptido seleccionado a partir del péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67 (y variantes de la misma) para fabricar una composición inmunógena para tratar o evitar cáncer de pulmón.

El análisis de homología de URLC10-177 demuestra que no tiene homología significativa con los péptidos obtenidos de cualesquiera productos génicos humanos conocidos. En consecuencia, la posibilidad de respuestas inmunitarias desconocidas o no deseables con inmunoterapia contra estas moléculas se reduce significativamente.

En relación con antígenos HLA, el uso de un tipo A-24 que tiene una expresión elevada entre la población japonesa es favorable para obtener resultados eficaces y el uso de subtipos, como A-2402, es todavía más preferible. Normalmente, en la clínica, el tipo de antígeno HLA del paciente que requiere tratamiento se investiga con antelación, lo que permite la selección apropiada de péptidos que tienen altos niveles de afinidad de unión a este antígeno, o que tienen inducibilidad de linfocitos T citotóxicos (LTC) por presentación de antígenos. Además, con el fin de obtener péptidos que muestran alta afinidad de unión e inducibilidad de LTC, puede realizarse sustitución, deleción o adición de 1 o 2 aminoácidos basándose en la secuencia de aminoácidos del péptido parcial URLC10 que se da en la naturaleza.

Adicionalmente, además de los péptidos que se muestran de forma natural, dado que la regularidad de las secuencias de péptidos mostrados por unión a antígenos HLA ya se conoce (Kubo R T y col., (1994) J. Immunol., 152, 3913-24; Rammensee HG y col., (1995) Immunogenetics. 41:178-228; Kondo A y col., (1995) J. Immunol. 155:4307-12), pueden realizarse modificaciones basadas en dicha regularidad en los péptidos inmunógenos de la invención. Por ejemplo, los péptidos que muestran alta afinidad de unión a HLA-24 en los que el segundo aminoácido del extremo N-terminal está sustituido por fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano pueden usarse favorablemente. Análogamente, también pueden usarse favorablemente los péptidos cuyo aminoácido en el extremo C-terminal está sustituido por fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.

Sin embargo, cuando la secuencia de péptidos es idéntica a una parte de la secuencia de aminoácidos de una proteína endógena o exógena que tiene una función diferente, pueden inducirse efectos secundarios tales como trastornos autoinmunes o síntomas alérgicos contra sustancias específicas. Por tanto, es preferible evitar la situación en la que la secuencia inmunógena se corresponde con la secuencia de aminoácidos de una proteína conocida. Esta situación puede evitarse realizando una búsqueda de homología mediante el uso de bases de datos disponibles. Si las búsquedas de homología confirman que los péptidos en los que 1 o 2 aminoácidos son diferentes no existen, luego puede evitarse el peligro de modificaciones de la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente que, por ejemplo, aumentan la afinidad de unión con antígenos HLA, y/o aumentan la inducibilidad de LTC.

Aunque se espera que los péptidos que tienen alta afinidad de unión a los antígenos HLA según se describe anteriormente tengan una alta eficacia como vacunas contra el cáncer, los péptidos candidatos, que se seleccionan según la presencia de alta afinidad de unión como un indicador, deben examinarse en relación con la presencia real de inducibilidad de LTC. La inducibilidad de LTC puede confirmarse mediante la inducción de células presentadoras de antígeno que llevan antígenos MHC humanos (por ejemplo, linfocitos B, macrófagos y células dendríticas), o más específicamente células dendríticas obtenidas de leucocitos de sangre periférica humana y después de estimulación con el péptido de interés, mezclando con células positivas para CD8 y midiendo la actividad citotóxica contra las células diana. Como sistema de reacción, pueden usarse animales transgénicos producidos para expresar un antígeno HLA humano (por ejemplo, los descritos en BenMohamed L y col., (2000) Hum. Immunol. 61(8):764-79 Related Articles, Books, Linkout). Por ejemplo, las células diana pueden radiomarcarse con ⁵¹Cr y similares y la actividad citotóxica puede calcularse a partir de la radioactividad liberada de las células diana. Alternativamente, puede examinarse midiendo el IFN- γ producido y liberado por LTC en presencia de células presentadoras de antígeno que transportan péptidos inmovilizados y visualizando la zona de inhibición en el soporte usando anticuerpos monoclonales anti-IFN- γ .

Como consecuencia de examinar la inducibilidad de LTC de péptidos según se describe anteriormente, se descubrió que los péptidos que tienen alta afinidad de unión a un antígeno HLA no tenían necesariamente alta inducibilidad. Sin embargo, los decapeptidos seleccionados a partir de péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos

indicadas por RYCNLEGPPI (SEC ID N.º: 67) mostraron una inducibilidad de LTC especialmente alta.

Según se observa anteriormente, la presente invención proporciona péptidos que tienen inducibilidad de linfocitos T citotóxicos, en concreto los que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67 o una variante de la misma (es decir, aquellos en los que 1 o 2 aminoácidos están sustituidos, eliminados o añadidos). Es preferible que la secuencia de aminoácidos comprenda 10 aminoácidos indicados en SEC ID N.º: 67 o una variante de la misma que no se corresponda con una secuencia de aminoácidos asociada con otra proteína endógena. En particular, la sustitución de aminoácidos a fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano en el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal y a fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina en el aminoácido del extremo C-terminal y la adición de aminoácidos de 1 o 2 aminoácidos en el extremo N-terminal y/o el extremo C-terminal son ejemplos favorables.

Los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden prepararse usando técnicas bien conocidas. Por ejemplo, los péptidos pueden prepararse sintéticamente, usando bien tecnología de ADN recombinante o bien síntesis química. Los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden sintetizarse individualmente o como polipéptidos más largos que comprenden dos péptidos o más. Los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva están preferentemente aislados, es decir, están sustancialmente libres de otras proteínas de células hospedadoras que se dan en la naturaleza y de fragmentos de las mismas.

Los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden contener modificaciones, tales como glucosilación, oxidación de cadena lateral o fosforilación; en la medida en que las modificaciones no destruyan la actividad biológica de los péptidos según se describe en la presente memoria descriptiva. Otras modificaciones incluyen la incorporación de D-aminoácidos u otros miméticos de aminoácidos que pueden usarse, por ejemplo, para incrementar la semivida en suero de los péptidos.

Los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden prepararse como una combinación, que comprende dos o más de los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva, para su uso como una vacuna contra el cáncer que pueden inducir LTC *in vivo*. Los péptidos pueden estar en un cóctel o pueden conjugarse entre sí usando técnicas estándar. Por ejemplo, los péptidos pueden expresarse como una única secuencia de polipéptidos. Los péptidos en la combinación pueden ser iguales o diferentes. Administrando los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva, los péptidos se presentan en una densidad elevada en los antígenos HLA de células presentadoras de antígenos, lo que, a su vez, induce LTC que reaccionan específicamente hacia el complejo formado entre el péptido mostrado y el antígeno HLA. Alternativamente, las células presentadoras de antígeno que tienen inmovilizados los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva en su superficie celular, obtenidas retirando células dendríticas de los sujetos, pueden ser estimuladas por los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva. La readministración de estas células en los sujetos respectivos induce LTC y en consecuencia, la agresividad hacia las células diana puede incrementarse.

Más específicamente, se divulgan fármacos para tratar tumores o evitar la proliferación, metástasis y dichos tumores, que comprenden uno o más de los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva. Los péptidos de esta invención encuentran utilidad particular en el tratamiento de cáncer de pulmón.

Los péptidos de esta invención pueden administrarse a un sujeto directamente, como una composición farmacéutica que ha sido formulada por procedimientos convencionales de formulación. En dichos casos, además de los péptidos de esta invención, pueden incluirse vehículos, excipientes y similares que se usan corrientemente en fármacos según resulte apropiado, sin limitaciones particulares. La composición farmacéutica de esta invención puede usarse para el tratamiento y la prevención de cánceres de pulmón.

Las composiciones inmunógenas para tratamiento y/o prevención de tumores, que comprenden como ingrediente activo uno o más péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva, pueden incluir además un adyuvante de manera que la inmunidad celular se establecerá con eficacia. Alternativamente, pueden administrarse con otros ingredientes activos, como agentes antitumorales. Las formulaciones adecuadas incluyen gránulos. Se describen adyuvantes adecuados en la bibliografía (Johnson AG. (1994) Clin. Microbiol. Rev., 7: 277-89). Los adyuvantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio y alumbre. Además, pueden usarse convenientemente formulaciones de liposomas, formulaciones granulares en las que el fármaco está unido a perlas de unos pocos μm de diámetro y formulaciones en las que un lípido está unido al péptido. El procedimiento de administración puede ser oral, intradérmico, subcutáneo, inyección intravenosa, o similares y puede incluir administración sistémica o administración local en la proximidad del tumor diana. La dosis del o de los péptidos de esta invención puede ajustarse apropiadamente según la enfermedad a tratarse, la edad del paciente, el peso, el procedimiento de administración y similares. Aunque la dosificación es comúnmente de 0,001 mg a 1.000 mg, preferentemente de 0,01 mg a 100 mg, más preferentemente 0,1 mg a 10 mg, administrados preferentemente una vez de en unos pocos días a en unos pocos meses, un experto en la materia puede seleccionar fácilmente la dosis y el procedimiento de administración apropiados, ya que la selección y la optimización de estos parámetros están comprendidos en la técnica rutinaria.

La presente invención también proporciona vesículas intracelulares llamadas exosomas, que presentan complejos formados entre los péptidos de esta invención y antígenos HLA en su superficie. Los exosomas pueden prepararse,

por ejemplo, usando los procedimientos descritos en detalle en la Traducción Japonesa Publicada de las Publicaciones Internacionales n.º: Hei 11-510.507 y 2000-512.161 y se preparan preferentemente usando células presentadoras de antígeno obtenidas de sujetos que son diana para el tratamiento y/o prevención. Los exosomas divulgados en la presente memoria descriptiva pueden inocularse como vacunas contra el cáncer, de modo similar a los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva.

El tipo de antígenos HLA usados debe corresponderse con el del sujeto que requiere tratamiento y/o prevención. Por ejemplo, en la población japonesa, a menudo es apropiado HLA-A24, especialmente HLA-A2402.

En algunas realizaciones, las composiciones de vacunas divulgadas en la presente memoria descriptiva incluyen un componente que ceba linfocitos T citotóxicos. Los lípidos se han identificado como agentes capaces de ceba LTC *in vivo* frente a antígenos víricos. Por ejemplo, los residuos de ácido palmítico pueden fijarse a los grupos ϵ - y α -amino de un residuo de lisina y a continuación pueden unirse a un péptido inmunógeno de la invención. El péptido lipídado puede administrarse a continuación directamente, en una micela o partícula, incorporarse en un liposoma o emulsionarse en un adyuvante. Como otro ejemplo de cebado de lípidos de respuestas LTC, pueden usarse lipoproteínas de *E. coli*, como tripalmitoil-S-glicerilcisteinilseril-serina (P3CSS), para ceba LTC cuando se unen de forma covalente a un péptido apropiado (véase, por ejemplo, Deres K y col., (1989) Nature 342: 561-4).

Las composiciones inmunógenas divulgadas en la presente memoria descriptiva pueden comprender también ácidos nucleicos que codifican uno o más de los péptidos inmunógenos divulgados aquí. Véase, por ejemplo, Wolff JA y col., (1990) Science 247: 1465-8; patentes de EE.UU. n.ºs: 5.580.859; 5.589.466; 5.804.566; 5.739.118; 5.736.524; 5.679.647; y el documento WO-98/04.720. Los ejemplos de tecnologías de suministro basadas en ADN incluyen "ADN desnudo", suministro facilitado (bupivacaína, polímeros, mediado por péptidos), complejos de lípidos catiónicos y suministro mediado por partículas ("cañón de genes") o mediado por presión (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º: 5.922.687).

Los péptidos inmunógenos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden expresarse también por vectores víricos o bacterianos. Los ejemplos de vectores de expresión adecuados incluyen hospedadores víricos atenuados, tales como vaccinia o viruela aviar. Este enfoque implica el uso de virus vaccinia, por ejemplo, como un vector para expresar secuencias de nucleótidos que codifican el péptido. Tras la introducción en un hospedador, el virus vaccinia recombinante expresa el péptido inmunógeno y con ello desencadena una respuesta inmune. Se describen vectores de vaccinia y procedimientos útiles en protocolos de inmunización, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n.º: 4.722.848. Otro vector adecuado es BCG (Bacille Calmette Guérin). Los vectores BCG se describen en Stover CK y col., (1991) Nature 351: 456-60. En la técnica se conoce una amplia variedad de otros vectores útiles para administración terapéutica o inmunización, por ejemplo, vectores de adenovirus y vectores asociados a adenovirus, vectores retrovirales, vectores de Salmonella typhi, vectores de toxina de carbunco destoxificada y similares. Véanse, por ejemplo, Shata MT y col., (2000) Mol. Med. Today 6:66-71; Shedlock DJ y Weiner DB y col., (2000) J. Leukoc. Biol. 68:793-806; e Hipp JD y col., (2000) In Vivo 14:571-85.

La presente invención también proporciona procedimientos de inducción de células presentadoras de antígenos usando uno o más péptidos de esta invención. Las células presentadoras de antígeno pueden inducirse por inducción de células dendríticas a partir de monocitos de sangre periférica y por la puesta en contacto (estimulación) a continuación de las mismas con uno o más péptidos de esta invención *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. Cuando se administran péptidos a los sujetos, se inducen células presentadoras de antígenos que tienen los péptidos inmovilizados en ellas en el cuerpo del sujeto. Alternativamente, después de la inmovilización en las células presentadoras de antígeno, las células pueden administrarse al sujeto como una vacuna. Por ejemplo, la administración *ex vivo* puede comprender etapas de:

a: recogida de células presentadoras de antígeno a partir de un sujeto, y

b: puesta en contacto de las células presentadoras de antígeno de la etapa a con un péptido.

Las células presentadoras de antígenos obtenidas por la etapa b se pueden administrar al sujeto como una vacuna.

Esta invención proporciona también un procedimiento para inducir células presentadoras de antígeno que tienen un alto nivel de inducibilidad de linfocitos T citotóxicos, en el que el procedimiento comprende la etapa de transferencia de genes que comprende(n) polinucleótido(s) que codifica(n) uno o más péptidos de esta invención a células presentadoras de antígeno *in vitro*. Los genes introducidos pueden estar en forma de ADN o ARN. Para el procedimiento de introducción, sin limitaciones especiales, pueden usarse de forma adecuada diversos procedimientos realizados convencionalmente en este campo, tales como lipofección, electroporación y procedimiento de fosfato de calcio. Más específicamente, la transfección puede realizarse según se describe en Reeves ME y col., (1996) Cancer Res., 56: 5672-7; Butterfield LH y col., (1998) J. Immunol., 161: 5607-13; Boczkowski D y col., (1996) J. Exp. Med., 184: 465-72; la Traducción Japonesa Publicada de la Publicación Internacional n.º: 2000-509.281. Mediante la transferencia del gen en células presentadoras de antígeno, el gen experimenta transcripción, traducción y similares en la célula y a continuación la proteína obtenida se procesa mediante MHC de Clase I o Clase II y pasa a través de una vía de presentación hasta los péptidos parciales presentes.

La presente invención también proporciona un procedimiento *in vitro* para inducir LTC usando uno o más péptidos de esta invención. Cuando los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva se administran a un sujeto, se inducen LTC en el cuerpo del sujeto y con ello se potencia la fortaleza del sistema inmunitario dirigido a las células de cáncer de pulmón en los tejidos tumorales. Alternativamente, los péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva pueden usarse en el contexto de un procedimiento terapéutico *ex vivo*, en el que las células presentadoras de antígeno derivadas del sujeto y las células positivas para CD8 o leucocitos mononucleares de sangre periférica se ponen en contacto (estimulan) con uno o más péptidos divulgados en la presente memoria descriptiva *in vitro* y después de inducir LTC, las células se devuelven al sujeto. Por ejemplo, el procedimiento puede comprender las etapas de:

- 5 a: recogida de células presentadoras de antígeno a partir de un sujeto,
- b: puesta en contacto de las células presentadoras de antígeno de la etapa a con un péptido.
- c: mezclado de las células presentadoras de antígeno de la etapa b con linfocitos T CD⁸⁺ y cocultivo de manera que se induzcan linfocitos T citotóxicos y
- d: recogida de linfocitos T CD⁸⁺ del cocultivo de la etapa c.

- 15 Los linfocitos T CD⁸⁺ que tienen actividad citotóxica obtenidos por la etapa d pueden administrarse al sujeto como una vacuna.

La presente invención proporciona adicionalmente linfocitos T citotóxicos aislados inducidos usando los péptidos de esta invención, en la que la célula T citotóxica aislada actúa específicamente contra células diana que presentan el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67. Los linfocitos T citotóxicos, inducidos por estimulación con una célula presentadora de antígeno que presenta uno o más péptidos de esta invención, divulgados en la presente invención, se derivan preferentemente de sujetos que son la diana del tratamiento y/o la prevención y pueden administrarse en solitario o en combinación con otros fármacos, incluidos uno o más péptidos de esta invención o exosomas que tienen actividad antitumoral. Los linfocitos T citotóxicos obtenidos actúan específicamente frente a células diana que presentan los péptidos de esta invención, o preferentemente el o los mismos péptidos usados para inducción. Las células diana pueden ser células que expresan URLC10 endógenamente, o células que experimentan transfección con genes URLC10. Las células que presentan los péptidos divulgados en la presente invención en la superficie celular, debido a estimulación con estos péptidos, también pueden convertirse en objetivos de ataque.

La presente invención también proporciona células presentadoras de antígenos que presentan complejos formados entre antígenos HLA y uno o más péptidos de esta invención. Las células presentadoras de antígeno, obtenidas a través del contacto con los péptidos divulgados en la presente invención o de los nucleótidos que codifican dichos péptidos, se derivan preferentemente de sujetos que son la diana del tratamiento y/o prevención y pueden administrarse como vacunas, en solitario o en combinación con otros fármacos, incluyendo los péptidos, exosomas o linfocitos T citotóxicos de la presente divulgación.

En el contexto de la presente invención, el término “vacuna” (también referido como una composición inmunógena) se refiere a una sustancia que induce inmunidad antitumoral o suprime el cáncer de pulmón después de su inoculación en animales. Según la presente invención, se sugirió que los polipéptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67 eran péptidos de epítomos con restricción HLA-A24 que pueden inducir una respuesta inmunitaria potente y específica frente a células de cáncer de pulmón que expresan URLC10. Así, la presente invención también comprende un procedimiento de inducción de inmunidad antitumoral que usa polipéptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67 o una variante de la misma (es decir, incluyendo 1 o 2 sustituciones, delecciones o adiciones de aminoácidos). En general, la inmunidad antitumoral incluye respuestas inmunitarias tales como las siguientes:

- inducción de linfocitos citotóxicos contra tumores que comprenden células que expresan URLC10,
- 45 - inducción de anticuerpos que reconocen tumores que comprenden células que expresan URLC10 e
- inducción de producción de citocinas antitumorales.

Por tanto, cuando un cierto péptido induce una cualquiera de estas respuestas inmunitarias tras la inoculación en un animal, se decide que el péptido tiene un efecto inductor de inmunidad antitumoral. La inducción de la inmunidad antitumoral por un péptido puede detectarse observando *in vivo* o *in vitro* la respuesta del sistema inmunitario en el hospedador frente al péptido.

Por ejemplo, se conoce bien un procedimiento para detectar la inducción de linfocitos T citotóxicos. Una sustancia extraña que entra en el cuerpo vivo se presenta a los linfocitos T y los linfocitos B por la acción de células presentadoras de antígeno (CPA). Los linfocitos T que responden al antígeno presentado por CPA de forma específica del antígeno se diferencian en células T citotóxicas (también referidas como linfocitos T citotóxicos o LTC) debido a la estimulación por el antígeno y después experimentan proliferación; este procedimiento se refiere en la

presente memoria descriptiva como “activación” de linfocitos T. Por tanto, la inducción de LTC por un cierto péptido puede evaluarse mediante la presentación del péptido a un linfocito T por CPA y la detección de la inducción de LTC. Además, las CPA tienen el efecto de activar linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, macrófagos, eosinófilos y células NK. Como los linfocitos T CD4+ son importantes también en la inmunidad antitumoral, la inmunidad antitumoral que induce la acción del péptido puede evaluarse usando el efecto de activación de estas células como indicadores.

En la técnica se conoce bien un procedimiento para evaluar la acción de inducción de LTC usando células dendríticas (CD) como CPA. La CD es una CPA representativa que tiene la acción más intensa de inducción de LTC entre las CPA. En este procedimiento, el polipéptido de prueba se pone en contacto inicialmente con CD y a continuación esta CD se pone en contacto con linfocitos T. La detección de linfocitos T que tienen efectos citotóxicos contra las células de interés después del contacto con CD muestra que el polipéptido de prueba tiene una actividad de inducción de los linfocitos T citotóxicos. La actividad de LTC contra tumores puede detectarse, por ejemplo, usando la lisis de células tumorales marcadas con ⁵¹Cr como indicador. Alternativamente, se sabe bien evaluar el grado de daño de células tumorales usando actividad de captación de ³H-timidina o liberación de LDH (lactosa deshidrogenasa) como indicador.

Aparte de CD, pueden usarse también células mononucleares de sangre periférica (CMSP) como CPA. Se ha comunicado que la inducción de LTC se potencia mediante el cultivo de CMSP en presencia de GM-CSF e IL-4. Análogamente, se ha demostrado que los LTC se inducen mediante el cultivo de CMSP en presencia de hemocianina de lapa de california (KLH) e IL-7.

Los polipéptidos de prueba que confirmaron poseer actividad de inducción de LTC por estos procedimientos son polipéptidos que tienen efecto de activación de CD y actividad ulterior de inducción de LTC. Por tanto, los polipéptidos que inducen LTC frente a células tumorales son útiles como vacunas contra el cáncer de pulmón. Además, las CPA que han adquirido la capacidad de inducir LTC frente al cáncer de pulmón mediante la puesta en contacto con los polipéptidos son útiles como vacunas contra el cáncer de pulmón. Además, los LTC que han adquirido citotoxicidad debido a la presentación de antígenos polipeptídicos por CPA pueden usarse también como vacunas contra el cáncer de pulmón. Dichos procedimientos terapéuticos para el cáncer de pulmón, que usan inmunidad antitumoral debida a CPA y LTC, se refieren como inmunoterapia celular.

Generalmente, cuando se usa un polipéptido para inmunoterapia celular, la eficacia de la inducción de LTC puede incrementarse combinando una pluralidad de polipéptidos que tienen diferentes estructuras y poniéndolos en contacto con CD. Por tanto, cuando se estimulan CD con fragmentos de proteínas, es ventajoso usar una mezcla de múltiples tipos de fragmentos.

La inducción de inmunidad antitumoral por un polipéptido puede confirmarse adicionalmente observando la inducción de la producción de anticuerpos contra tumores. Por ejemplo, cuando se inducen anticuerpos contra un polipéptido en un animal de laboratorio inmunizado con el polipéptido y cuando el crecimiento, la proliferación y/o la metástasis de células tumorales se suprimen por esos anticuerpos, se determina que el polipéptido induce inmunidad antitumoral.

La inmunidad antitumoral puede inducirse administrando una vacuna de esta invención y la inducción de inmunidad antitumoral permite el tratamiento y la prevención de cáncer de pulmón. La terapia contra la prevención de la aparición de cáncer de pulmón puede incluir la inhibición del crecimiento de células de cáncer de pulmón, la involución de células de cáncer de pulmón y la supresión de la aparición de células de cáncer de pulmón. La disminución de la mortalidad de individuos que tienen cáncer de pulmón, la disminución de marcadores de cáncer de pulmón en la sangre, el alivio de síntomas detectables que acompañan al cáncer de pulmón y similares se incluyen también en la terapia o prevención de cáncer de pulmón. Dichos efectos terapéuticos y preventivos son preferentemente estadísticamente significativos, por ejemplo, observados con un nivel de significación del 5 % o menos, en los que el efecto terapéutico o preventivo de una vacuna contra el cáncer de pulmón se compara con un control sin administración de vacuna. Por ejemplo, pueden usarse la prueba t de Student, la prueba U de Mann-Whitney o ANOVA para determinar la significación estadística.

El péptido mencionado anteriormente, que tiene actividad inmunológica, o un polinucleótido o vector que codifica dicho péptido, puede combinarse con un adyuvante. Un adyuvante se refiere a un compuesto que mejora la respuesta inmunitaria contra el péptido cuando se administra de manera conjunta (o sucesiva) con el péptido que tiene actividad inmunológica. Entre los ejemplos de adyuvantes adecuados se incluyen toxina del cólera, toxina de salmonella, alumbre y similares, pero no están limitados a estos. Además, una vacuna de esta divulgación puede combinarse apropiadamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales vehículos son agua esterilizada, solución salina fisiológica, tampón de fosfato, fluido de cultivo y similares. Además, la vacuna puede contener, cuando sea necesario, estabilizantes, suspensiones, conservantes, tensioactivos y similares. La vacuna se administra de forma sistémica o local. La administración de la vacuna puede realizarse mediante administración única o con recuerdos con administraciones múltiples.

Cuando se usa CPA o LTC como vacuna de esta invención, el cáncer de pulmón puede tratarse o prevenirse, por ejemplo, mediante el procedimiento *ex vivo*. Más específicamente, las CMSP del sujeto que recibe tratamiento o

prevención se recogen, se ponen en contacto *ex vivo* con un péptido de la presente invención. Después de la inducción de CPA o LTC, es posible administrar las células al sujeto. La CPA puede inducirse también introduciendo un vector que codifica el péptido en CMSP *ex vivo*. La CPA o LTC inducida *in vitro* puede clonarse antes de la administración. Al clonar y hacer crecer células que tienen alta actividad para dañar las células diana, la inmunoterapia celular puede realizarse con más eficacia. Además, las CPA y los LTC aislados de esta manera pueden usarse para inmunoterapia celular no solo contra las personas de las que se obtienen las células, sino también contra tipos similares de enfermedades en otras personas.

En los siguientes ejemplos se describen aspectos de la presente invención, que se ofrecen solo para ilustrar la presente invención y para ayudar al experto en la materia a preparar y usar la misma.

Aunque en la práctica o la prueba de la presente invención pueden usarse procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria descriptiva, a continuación se describen procedimientos y materiales adecuados.

Ejemplos

La presente invención se ilustra mediante los siguientes Ejemplos, pero no está limitada a ellos.

Materiales y procedimientos

Líneas celulares

Las células A24LCL (HLA-A24/24) y las líneas celulares EHM (HLA-A3/3), de linfoblastoide B humano, fueron obsequios generosos recibidos de Takara Shuzo Co, Ltd. (Otsu, Japón). Las células A24LCL se usaron para ensayos de citotoxicidad mediados por péptidos. Las líneas celulares de carcinoma de pulmón TE1 (HLA-A2402+), TE13 (HLA-A2402-) y PC9 (HLA-A2402-) se adquirieron en ATCC. Los niveles de expresión de *TTK*, *URLC10* y *KOC1* en las líneas celulares de carcinoma de pulmón se determinaron mediante micromatriz de ADNc y RT-PCR que revelaron una intensa expresión de los tres genes en TE1, expresión de *TTK* y *KOC1* en PC9 y expresión de *URLC10* en TE13 (datos no mostrados).

Selección de candidatos de péptidos obtenidos de *TTK*, *URLC10* y *KOC1*

Se predijeron péptidos nonámeros y decámeros obtenidos de *TTK*, *URLC10* o *KOC1* que se unen a la molécula HLA-A24 mediante el software de predicción de unión "BIMAS" (http://bimas.dcrf.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_comboform) (Parker KC y col., (1994) J. Immunol; 152(1):163-75; Kuzushima K y col., (2001) Blood; 98(6):1872-81). Estos péptidos se sintetizaron por Mimotopes (San Diego, LA) según el procedimiento estándar de síntesis de fase sólida y se purificaron mediante HPLC de fase inversa. La pureza (> 90 %) y la identidad de los péptidos se determinaron por HPLC analítica y análisis de espectrometría de masas, respectivamente. Los péptidos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) a 20 mg/ml y se almacenaron a -80° C.

Inducción de LTC *in vitro*

Se usaron células dendríticas (CD) obtenidas de monocitos como células presentadoras de antígeno (CPA) para inducir respuestas de LTC frente a péptidos presentados en HLA. Las CD se generaron *in vitro* según se describe en otra parte (Nukaya I y col., (1999) Int. J. Cancer 80, 92-7., Tsai V y col., (1997) J. Immunol. 158:1796-802). Brevemente, las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) aisladas a partir de un voluntario normal (HLA-A*2402) por solución de Ficoll-Paque (Pharmacia) se separaron por adherencia a un matraz de cultivo tisular de plástico (Becton Dickinson) de manera que se enriquezcan para la fracción de monocitos. La población enriquecida con monocitos se puso en cultivo en presencia de 1.000 U/ml de GM-CSF (proporcionado por Kirin Brewery Company) y 1.000 U/ml de IL-4 (Genzyme) en AIM-V (Invitrogen) que contenía suero autólogo (SA) inactivado por calor al 2 %. Después de 7 días en el cultivo, las CD generadas por citocinas fueron pulsadas con 20 µg/ml de péptidos de unión a HLA-A24 en presencia de 3 µg/ml de β2-microglobulina durante 4 h a 20°C en AIM-V. A continuación estas CD pulsadas con péptidos se sometieron a irradiación (5.500 rad) y se mezclaron en una proporción de 1:20 con linfocitos T CD8+ autólogos, obtenidos por selección positiva con Dynabeads M-450 CD8 (Dyna) y DETACHa BEAD™ (Dyna). Estos cultivos se colocaron en placas de 48 pocillos (Corning); cada pocillo contenía 1,5 x 10⁴ CD pulsadas con péptidos, 3 x 10⁵ linfocitos T CD8⁺ y 10 ng/ml de IL-7 (Genzyme) en 0,5 ml de AIM-V/SA al 2 %. Tres días más tarde, estos cultivos se suplementaron con IL-2 (CHIRON) hasta una concentración final de 20 UI/ml. En los días 7 y 14, los linfocitos T se reestimularon adicionalmente con las CD pulsadas con péptidos autólogos. Las CD se prepararon cada vez de la misma forma descrita anteriormente. Se sometió a ensayo la citotoxicidad frente a células A24LCL pulsadas con péptidos después de la 3ª ronda de estimulación con péptidos el día 21.

Procedimiento de expansión de LTC

Los LTC se expandieron en cultivo usando el procedimiento similar al descrito por Riddell SR y col., (Walter EA y col., (1995) N Engl J Med 333:1038-44, Riddell y col., (1996) Nature Med. 2:216-23). Se resuspendió un total 5 x 10⁴ de LTC en 25 ml de AIM-V/SA al 5 % con 25 x 10⁶ CMSP irradiadas (3.300 rad) y 5 x 10⁶ células EHM irradiadas

(8.000 rad) en presencia de 40 ng/ml de anticuerpo monoclonal anti-CD3 (Pharmingen). Un día después de iniciar los cultivos, se añadieron 120 UI/ml de IL-2 a los cultivos. Los cultivos se nutrieron con AIM-V/SA al 5 % recién preparado que contenía 30 UI/ml de IL-2 en los días 5, 8 y 11.

Establecimiento de clones de LTC

- 5 Se prepararon las diluciones para tener 0,3, 1 y 3 LTC/pocillo en 96 placas de microvaloración de fondo redondo (Nalge Nunc International). Se cultivaron los LTC con 7×10^4 células/pocillo de CMSP alogénicas, 1×10^4 células/pocillo de EHM, 30 ng/ml de anticuerpo anti-CD3 y 125 U/ml de IL-2 en total de 150 μ l/pocillo de AIM-V que contenía SA al 5 %. Se añadieron 50 μ l/pocillo de IL-2 al medio 10 días después de manera que IL-2 pasó a tener 125 U/ml en la concentración final. Se sometió a ensayo la actividad citotóxica de los LTC en el día 14^o y los clones de LTC se expandieron usando el mismo procedimiento anterior.

Ensayo de citotoxicidad

- 15 Las células diana se marcaron con 100 μ Ci de $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ durante 1 h a 37°C en una incubadora de CO_2 (Perkin Elmer Life Sciences). Las dianas pulsadas con péptidos se prepararon incubando las células con 20 μ m/ml del péptido durante 16 h a 37°C antes del marcado. Las células diana marcadas se lavaron y se mezclaron con células efectoras en un volumen final de 0,2 ml en placas de microvaloración de fondo redondo. Las placas se centrifugaron (4 minutos a 800 x g) para aumentar el contacto entre células y se colocaron en una incubadora de CO_2 a 37°C. Después de 4 h de incubación, se recogieron 0,1 ml del sobrenadante de cada pocillo y se determinó la radioactividad con un contador gamma.

- 20 El porcentaje de citotoxicidad específica se determinó calculando el porcentaje de liberación de ^{51}Cr específica mediante la fórmula siguiente:

$$\left\{ \left(\text{cpm de la liberación de la muestra de prueba} - \text{cpm de la liberación espontánea} \right) / \left(\text{cpm de la liberación máxima} - \text{cpm de la liberación espontánea} \right) \right\} \times 100.$$

- 25 La liberación espontánea se determinó incubando las células diana en solitario, en ausencia de células efectoras y la liberación máxima se obtuvo incubando las células diana con HCl 1 N. Todas las medidas se realizaron por duplicado y los errores típicos de las medias estuvieron consistentemente por debajo del 10 % del valor de la media.

La especificidad de los antígenos se confirmó mediante el ensayo de inhibición de diana fría, que usó células A24LCL sin marcar que se sometieron a pulsos con o sin péptido (20 μ m/ml durante 16 h a 37°C) para competir por el reconocimiento de las células tumorales marcadas con ^{51}Cr .

- 30 Se realizó el ensayo de bloqueo de citotoxicidad mediante el uso de los anticuerpos monoclonales (AcM) (AcM anti-MHC-clase I de ratón, AcM anti-MHC-clase II, AcM anti-CD8 y AcM anti-CD4) para confirmar la forma de restricción de HLA. Los AcM de IgG1 antirratón, IgG2a antirratón se usaron como Isotipo.

Resultados

Predicción de péptidos de unión HLA-A24 obtenidos de TTK, URLC10 o KOC1

- 35 La Tabla 1 muestra los péptidos de unión HLA-A*2402 para *TTK* (Acceso GenBank n.º: NM_003318; SEC ID N.º: 1, 2) en orden de afinidad de unión. La Tabla 1A muestra péptidos noámeros derivados de *TTK* y la Tabla 1B muestra péptidos decámeros obtenidos de *TTK*. La Tabla 2 muestra los péptidos de unión HLA-A*2402 para *URLC10* (Acceso GenBank n.º: AB105187; SEC ID N.ºs: 3, 4) en orden de afinidad de unión. La Tabla 2A muestra péptidos noámeros obtenidos de *URLC10* y la Tabla 2B muestra péptidos decámeros obtenidos de *URLC10*. La Tabla 3 muestra los péptidos de unión HLA-A*2402 para *KOC1* (Acceso GenBank n.º: NM_006547; SEC ID N.ºs: 5, 6) en orden de afinidad de unión. La Tabla 3A muestra péptidos noámeros obtenidos de *KOC1* y la Tabla 3B muestra péptidos decámeros obtenidos de *KOC1*.

Tabla 1A Péptidos noámeros de unión HLA-A24 obtenidos de *TTK*

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
90	RYSQAIEAL	7	400	71	KLEKNSVPL	17	12	
567	SYRNEIAYL	8	200	201	KNLSASTVL	18	12	N.R
549	IYAIKYVNL	9	200	467	RTPVVKNDF	19	10,1	N.R
590	DYEITDQYI	10	90	102	KYGQNESFA	20	10	N.R
652	NFLIVDGML	11	42	19	KVRDIKNKF	21	8,9	N.R

141	KFAFVHISF	12	28	777	KQRISIPEL	22	8,8	N.R
214	SFSGSLGHL	13	20	75	NSVPLSDAL	23	8,6	N.R

(continuación)

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
28	KNEDLTDEL	14	19	605	GNIDLNSWL	24	8,6	N.R
111	RIQVRFAEL	15	15,8	596	QYIYMVMMEC	25	8,3	N.R
108	SFARIQVRF	16	14	535	GSSKVFQVL	26	8,1	N.R

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de TTK.

La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

N.R. indica "no realizado"

Tabla 1B Péptidos decámeros de unión HLA-A24 obtenidos de *TTK*

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión
810	KYVLGQLVGL	27	600	168	KAVERGAVPL	37	14,4
725	YYMTYGKTPF	28	150	232	RGQTTKARFL	38	12
598	IYMVMECGNI	29	75	185	RNLNLQKKQL	39	12
728	TYGKTPFQQI	30	72	777	KQRISIPELL	40	11,2
755	EFPDIPEKDL	31	36	573	AYLNKLQQHS	41	10,8
490	CFQQQQHQIL	32	36	373	EYQEPEVPES	42	9,9
143	AFVHISFAQF	33	18	74	KNSVPLSDAL	43	9,6
569	RNEIAYLNKL	34	15,8	315	KPSGNDSCCEL	44	8,8
359	KTESSLLAKL	35	15,8	61	NPEDWLSLLL	45	8,6
553	KYVNLEEADN	36	15	763	DLQDVLKCCL	46	8,6

- 5 La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de TTK. La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

Tabla 2A Péptidos nonámeros de unión HLA-A24 obtenidos de *URLC10*

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión
154	KPEEKRFLL	47	14,4	193	EYAGSMGES	57	5,5
48	RADPPWAPL	48	9,6	168	FFYLKCKKI	58	5,5
205	LWLAILLLL	49	8,4	128	AAVKIFPRF	59	5
57	GTMALLALL	50	7,2	58	TMALLALLL	60	4,8
203	GGLWLAILL	51	7,2	152	RPKPEEKRF	61	4,8
62	LALLLVVAL	52	7,2	197	SMGESCGGL	62	4,8
53	WAPLGTMAL	53	6	173	CCKIRYCNL	63	4
214	ASIAAGLSL	54	6	28	DPGRGARRL	64	4

(continuación)

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión		Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
54	APLGTMALL	55	6		31	RGARRLRRF	65	4	N.R
212	LLASIAAGL	56	5,6	N.R	202	CGGLWLAIL	66	4	N.R

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de *URLC10*.

La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

N.R. indica "no realizado"

5

Tabla 2B Péptidos decámeros de unión HLA-A24 obtenidos de *URLC10*

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión		Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
177	RYCNLEGPPI	67	100		196	GSMGESCGGL	77	6	N.R
159	RFLLEEMPMPF	68	30		204	GLWLAILLLL	78	5,6	N.R
152	RPKPEEKRF	69	9,6		123	PYCVIAAVKI	79	5,5	N.R
211	LLASIAAGL	70	8,4		193	EYAGSMGES	80	5	N.R
172	KCKKIRYCNL	71	8		61	LLALLLVVAL	81	4,8	N.S
169	FYLKCKKIRY	72	7,5		202	CGGLWLAILL	82	4,8	N.R
57	GTMALLALLL	73	7,2		56	LGTALLALL	83	4,8	N.R
53	WAPLGTALL	74	6		70	LPRVWTDANL	84	4	N.R
203	GGLWLAILLL	75	6	N.R	201	SCGGLWLAIL	85	4	N.R
198	MGESCGGLWL	76	6	N.R	213	LASIAAGLSL	86	4	N.R

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de *URLC10*.

La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

N.R. indica "no realizado". N.S. indica "no sintetizado"

Tabla 3A Péptidos nonámeros de unión HLA-A24 obtenidos de *KOC1*

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión		Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
350	SYENDIASM	87	37,5		4	LYIGNLSEN	97	8,25	
141	GFQLENFTL	88	30		423	KQGQHIKQL	98	8	N.R
508	KTVNELQNL	89	14,4		561	KQHQQQKAL	99	8	N.R
26	KIPVSGPFL	90	12		310	ITISPLQEL	100	7,9	N.R
192	KPCDLPLRL	91	11,5		470	IYGKIKEEN	101	7,7	N.R
433	RFAGASIKI	92	11		356	ASMNLQAH	102	7,2	N.R
505	KGGKTVNEL	93	10,6		93	QWEVLDSLL	103	7,2	N.R
190	KQKPCDLPL	94	9,6		43	DCPDESWAL	104	7,2	N.R
152	AYIPDEMAA	95	9		92	LQWEVLDSL	105	6,7	N.R

(continuación)

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
320	LYNPERTIT	96	9	55	EALSGKIEL	106	6,6	N.R

La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de KOC1.

La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

N.R. indica "no realizado"

Tabla 3B Péptidos decámeros de unión HLA-A24 obtenidos de KOC1

Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión		Posición de inicio	Secuencia de aminoácidos	SEC ID N.º:	Puntuación de unión	
470	IYGKIKEENF	107	100		91	HLQWEVLDSL	117	8,4	N.R
272	KFTEEIPLKI	108	18,5		359	NLQAHLPGL	118	7,2	N.R
290	RLIGKEGRNL	109	12		364	LIPGLNLNAL	119	7,2	N.R
309	KITISPLQEL	110	10,6		165	LQQPRGRRGL	120	7,2	N.R
350	SYENDIASMN	111	10,5		273	FTEEIPLKIL	121	7,2	N.R
192	KPCDLPLRL	112	9,6		406	ETVHLFIPAL	122	6	N.R
320	LYNPERTITV	113	9	N.R	138	KLNGFQLENF	123	6	N.R
4	LYIGNLSENA	114	9	N.R	9	LSENAAPSDL	124	6	N.R
548	VAQRKIQEIL	115	8,4	N.R	88	IPPHLQWEVL	125	6	N.R
83	LQIRNIPPHL	116	8,4	N.R	127	SSKDQARQAL	126	5,7	N.R

5 La posición de inicio indica el número de aminoácido desde el extremo N-terminal de KOC1.

La puntuación de unión se obtiene de "BIMAS" descrito en Materiales y procedimientos.

N.R. indica "no realizado"

Estimulación de los linfocitos T usando los péptidos predichos

10 Los LTC para los péptidos obtenidos de *TTK*, *URLC10* o *KOC1* se generaron de la manera descrita en la sección "Materiales y procedimientos" anterior. Los LTC resultantes que mostraron actividad citotóxica detectable se expandieron y se establecieron los clones de LTC que mostraron actividades citotóxicas elevadas frente a la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades frente a diana pulsada sin péptidos.

15 Los clones de LTC estimulados por los péptidos de unión HLA-A24 *TTK*-567 (SYRNEIAYL (SEC ID N.º: 8)) (fig. 1), *URLC10*-177 (RYCNLEGPPPI (SEC ID N.º: 67)) (fig. 2) o por *KOC1*-508 (KTVNELQNL (SEC ID N.º: 89)) (fig. 3) mostraron una actividad citotóxica potente frente a la diana pulsada con péptido sin mostrar ninguna actividad citotóxica significativa frente a dianas no pulsadas con ningún péptido.

Actividad citotóxica contra líneas celulares de cáncer de pulmón que expresan endógenamente *TTK*, *URLC10* o *KOC1*

20 Se examinó la capacidad de los clones de LTC establecidos descritos anteriormente para reconocer y destruir células tumorales que expresan endógenamente *TTK*, *URLC10* o *KOC1*. La actividad citotóxica contra células TE1, que expresan endógenamente *TTK* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de LTC obtenido por *TTK*-567. Se usaron células PC9 como las células diana que expresan endógenamente *TTK* pero no HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a las células TE1 que expresan tanto *TTK* como HLA-A24. Por otra parte, no mostró actividad citotóxica significativa frente a las células PC9 que expresan *TTK* pero no HLA-A24 (fig. 4). La actividad citotóxica frente a las células TE1, que expresan endógenamente *URLC10* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de LTC obtenido por *URLC10*-177. Se usaron células TE13 como las células diana que expresan endógenamente *URLC10* pero no HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a las células TE1 que expresan tanto *URLC10* como HLA-A24. Por otra parte,

no mostró actividad citotóxica significativa frente a las células TE13 que expresan *URLC10* pero no HLA-A24 (fig. 5). La actividad citotóxica frente a las células TE1, que expresan endógenamente *KOC1* y HLA-A24, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de LTC obtenido por KOC1-508. Las células PC9 se usaron como células diana que expresan endógenamente *KOC1* pero no HLA-A24. El clon de LTC mostró alta actividad citotóxica frente a las células TE1 que expresan *KOC1* y HLA-A24. Por otra parte, no mostró actividad citotóxica significativa frente a las células PC9 que expresan *KOC1* pero no HLA-A24 (fig. 6).

Los clones de LTC descritos anteriormente mostraron una potente actividad citotóxica frente a la línea celular de cáncer de pulmón TE1, una línea celular que expresa *TTK*, *URLC10* y *KOC1* y HLA-A24. Por otra parte, los clones de LTC frente a TTK-567 o KOC1-508 no mostraron actividad citotóxica contra la línea celular de cáncer de pulmón PC9, una línea celular que expresa *TTK* y *KOC1* pero no HLA-A24; análogamente, el clon de LTC obtenido contra URLC10-177 no mostró una actividad citotóxica frente a la línea celular de cáncer de pulmón TE13, una línea celular que expresa *URLC10* pero no HLA-A24. Estos clones de LTC no muestran tampoco actividad citotóxica contra células A24LCL, células que expresan HLA-A24, pero no expresan *TTK*, *URLC10* o *KOC1* (fig. 1, 2 y 3). Estos resultados demuestran claramente que TTK-567, URLC10-177 y KOC1-508 se expresaron de forma natural en la superficie de la célula tumoral con molécula HLA-A24 y reconocieron LTC.

Ensayo de inhibición de diana fría

El ensayo de inhibición de diana fría se realizó para confirmar la especificidad de los clones de LTC según se describe en la sección de "Materiales y procedimientos" anterior. Las células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ se prepararon como diana caliente, mientras que las células A24LCL pulsadas con péptido TTK-567 se usaron como diana fría (Inhibidor). La actividad citotóxica del clon de LTC TTK-567 frente a células TE1 se inhibió específicamente por la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico (fig. 7). Con respecto a *URLC10*, las células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ se prepararon como diana caliente, mientras que las células A24LCL pulsadas con péptido URLC10-177 se usaron como diana fría (Inhibidor). La actividad citotóxica del clon de LTC URLC10-177 frente a TE1 fue inhibida específicamente por la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico (fig. 8). Como antes, las células TE1 marcadas por $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ se prepararon como diana caliente, mientras que se usaron células A24LCL pulsadas con péptido KOC1-508 como diana fría (Inhibidor). La relación E/T se fijó en 20. La actividad citotóxica del clon de LTC KOC1-508 frente a células TE1 se inhibió específicamente por la adición de células A24LCL pulsadas con el péptido idéntico (fig. 9). La citotoxicidad específica frente a células TE1 diana se inhibió significativamente cuando se añadió diana fría pulsada con péptido en el ensayo en diversas proporciones pero no se inhibió en absoluto mediante la adición de diana fría. Estos resultados se indicaron como un porcentaje de inhibición de lisis específica en la relación E/T de 20.

Bloqueo de actividad LTC por anticuerpos que se unen a antígenos de superficie de linfocitos T

Para ver si la actividad destructiva observada está mediada por los linfocitos T citotóxicos, se investigaron los efectos de los anticuerpos en las actividades de destrucción, en las que se usaron anticuerpos que reconocen antígenos de superficie de linfocitos T relacionados con la función de LTC. Las actividades de LTC se bloquearon claramente con la adición de anticuerpos que reconocen HLA de Clase I y CD8 pero se ven afectadas escasamente por la adición de anticuerpos a HLA de Clase II o CD4, como el clon de LTC TTK-567 mostrado en la fig. 10, el clon de LTC URLC10-177 de la fig. 11 y el clon de LTC KOC1-508 de la fig. 12. Estos resultados muestran que las actividades citotóxicas de los clones de LTC contra las células de carcinoma de pulmón son la actividad citotóxica restringida por HLA de clase I y mediada por CD8.

Análisis de homología de los péptidos de antígenos

Los clones de LTC establecidos contra TTK-567, URLC10-177 o KOC1-508 mostraron una actividad citotóxica potente. Así, es posible que la secuencia de TTK-567, URLC10-177 o KOC1-508 sea homóloga a los péptidos obtenidos de otras moléculas, de las que se sabe que sensibilizan el sistema inmunitario humano. Para excluir esta posibilidad, se realizó un análisis de homología con las secuencias de péptidos como consultas usando el algoritmo BLAST (<http://ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>) (Altschul SF y col., (1997) *Nucleic Acids Res*; 25(17): 3389-402; Altschul SF y col., (1990) *J Mol. Biol*; 215(3): 403-10) y no revelaron ninguna secuencia con homología significativa. Estos resultados indican que las secuencias de TTK-567, URLC10-177 y KOC1-508 son únicas y que existe una posibilidad baja de que los péptidos provoquen respuestas inmunológicas no pretendidas en cualquier molécula no relacionada.

Discusión

La identificación de nuevos AAT, especialmente los que inducen respuestas inmunitarias antitumorales potentes y específicas, promete un desarrollo adicional de la aplicación clínica de estrategias de vacunación con péptidos en varios tipos de cáncer (Boon T. y col., (1996) *J Exp Med* 183: 725-9; van der Bruggen P y col., (1991) *Science* 254: 1643-7; Brichard V y col., (1993) *J Exp Med* 178: 489-95; Kawakami Y y col., (1994) *J Exp Med* 180: 347-52; Shichijo S y col., (1998) *J Exp Med* 187: 277-88; Chen Y.T. y col., (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 1914-8; Harris CC., (1996) *J Natl Cancer Inst* 88: 1442-5; Butterfield LH y col., (1999) *Cancer Res* 59: 3134-42; Vissers JL y col., (1999) *Cancer Res* 59: 5554-9; van der Burg SH y col., (1996) *J. Immunol.* 156: 3308-14; Tanaka F y col., (1997) *Cancer*

Res 57:4465-8; Fujie T y col., (1999) *Int J Cancer* 80: 169-72; Kikuchi M y col., (1999) *Int J Cancer* 81: 459-66; Oiso M y col., (1999) *Int J Cancer* 81: 387-94).

Las tecnologías de micromatriz de ADNc pueden divulgar perfiles extensos de expresión génica de células malignas (Okabe H. y col., (2001) *Cancer Res.*, 61, 2129-37; Lin Y-M. y col., (2002) *Oncogene*, 21; 4120-8; Hasegawa S. y col., (2002) *Cancer Res* 62: 7012-7) y encuentran utilidad en la identificación de AAT potenciales. Entre los transcritos que se regulan por incremento en cánceres de pulmón, se identificaron tres nuevos genes humanos, denominados *TTK*, *URLC10* y *KOC1*, respectivamente usando estas tecnologías.

Según se mostró anteriormente, *TTK*, *URLC10* y *KOC1* están sobreexpresados en cáncer de pulmón y muestran una expresión mínima en tejidos normales. Además, se ha demostrado que estos genes tienen una función importante en relación con la proliferación celular (véase el documento WO-2004/031.413). Así, los péptidos derivados de *TTK*, *URLC10* y *KOC1* pueden servir como epítomos de AAT, que, a su vez, pueden usarse induciendo respuestas inmunitarias importantes y específicas contra células cancerosas.

Así, como *TTK*, *URLC10* y *KOC1* es un AAT nuevo, las vacunas contra el cáncer que usan estos péptidos de epítomos pueden ser útiles como inmunoterapia contra carcinoma de pulmón u otro cáncer que exprese estas moléculas.

Aplicabilidad industrial

La presente divulgación identifica nuevos AAT, especialmente aquellos que inducen respuestas inmunitarias antitumorales potentes y específicas. Dichos AAT prometen un desarrollo adicional de la aplicación clínica de la estrategia de vacunación con péptidos en cáncer de pulmón.

Además, la presente invención se refiere a los siguientes puntos:

1. Un péptido aislado de menos de aproximadamente 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, 67, y 89.

2. Un péptido que tiene inducibilidad de linfocitos T citotóxicos, en donde dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 67 y 89, en donde 1, 2 o varios aminoácidos se sustituyen, delecionan o añaden.

3. El péptido del punto 2, en donde el segundo aminoácido a partir del extremo N es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano.

4. El péptido del punto 2, en donde el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.

5. Una composición farmacéutica para tratar o prevenir el cáncer de pulmón, dicha composición comprende uno o más péptidos de los puntos 1 o 2.

6. Un exosoma que presenta en su superficie un complejo que comprende un péptido del punto 1 o 2 y un antígeno HLA.

7. El exosoma del punto 6, en donde el antígeno HLA es HLA-A24.

8. El exosoma del punto 7, en donde el antígeno HLA es HLA-A2402.

9. Un método de inducir células presentadoras de antígeno que tienen una alta inducibilidad de linfocitos T citotóxicos que comprende el paso de poner en contacto una célula presentadora de

antígeno con un péptido del punto 1 o 2.

10. Un método de inducir linfocitos T citotóxicos poniendo en contacto un linfocito T citotóxico con un péptido del punto 1 o 2.

5

11. El método de inducir células presentadoras de antígeno que tienen alta inducibilidad de linfocitos T citotóxicos, dicho método comprende el paso de transferir un gen que comprende un polinucleótido que codifica un péptido de punto 1 o 2 a una célula presentadora de antígeno.

- 10 12. Un linfocito T citotóxico aislado se induce poniendo en contacto un linfocito T con un péptido del punto 1 o 2.

13. Una célula presentadora de antígeno, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido del punto 1 o 2.

15

14. La célula presentadora de antígeno del punto 13, inducida por el método de la reivindicación 9.

15. Una vacuna para inhibir la proliferación de células de cáncer de pulmón, en donde la vacuna comprende un péptido del punto 1 o 2 como el principio activo.

20

16. La vacuna del punto 15, formulada para la administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24.

17. La vacuna del punto 15, dicha vacuna es capaz de suprimir el crecimiento de células de cáncer de pulmón.

25

18. Un método de tratar o prevenir el cáncer de pulmón en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una vacuna que comprende un péptido del punto 1 o 2, un fragmento inmunológicamente activo del mismo, o un polinucleótido que codifica dicho péptido o fragmento inmunológicamente activo.

30

Listado de secuencias

<110> ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.

<120> Vacunas de péptidos para cánceres de pulmón que expresan polipéptidos TTK, URLC10 o KOC1

5

<130> N2624 EP/1 53

<150> Documento US 60/656.857

<151> 25-2-2005

10

<160> 126

<170> PatentIn version 3.1

15

<210> 1

<211> 2984

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20

<400> 1

```

ggaaattcaa acgtgtttgc ggaaaggagt ttgggttcca tcttttcatt tccccagcgc      60
agctttctgt agaaatggaa tccgaggatt taagtggcag agaattgaca attgattcca      120
taatgaacaa agtgagagac attaaaaata agtttaaaaa tgaagacctt actgatgaac      180
taagcttgaa taaaatttct gctgatacta cagataactc gggaactgtt aaccaaatta      240
tgatgatggc aaacaacca gaggactggt tgagtttggt gctcaaacta gagaaaaaca      300
gtgttccgct aagtgatgct cttttaataa aattgattgg tcgttacagt caagcaattg      360

```

ES 2 459 492 T3

aagcgcttcc cccagataaa tatggccaaa atgagagttt tgctagaatt caagtgagat 420
ttgctgaatt aaaagctatt caagagccag atgatgcacg tgactacttt caaatggcca 480
gagcaaaactg caagaaattt gcttttggtc atatatcttt tgcacaattt gaactgtcac 540
aaggtaatgt caaaaaaagt aaacaacttc ttcaaaaagc tgtagaacgt ggagcagtac 600
cactagaaat gctggaaatt gccctgcgga atttaaacct ccaaaaaaag cagctgcttt 660
cagaggagga aaagaagaat ttatcagcat ctacggtatt aactgccccaa gaatcathtt 720
ccggttcact tgggcattta cagaatagga acaacagttg tgattccaga ggacagacta 780
ctaaagccag gtttttatat ggagagaaca tgccaccaca agatgcagaa ataggttacc 840
ggaattcatt gagacaaact aacaaaacta aacagtcattg cccatttgga agagtcccag 900
ttaaccttct aaatagccca gattgtgatg tgaagacaga tgattcagtt gtacctgttt 960
ttatgaaaag acaaacctct agatcagaat gccgagattt ggttgtgcct ggatctaaac 1020
caagtggaaa tgattcctgt gaattaagaa atttaaagtc tgttcaaaat agtcatttca 1080
aggaacctct ggtgtcagat gaaaagagtt ctgaacttat tattactgat tcaataaccc 1140
tgaagaataa aacggaatca agtcttctag ctaaattaga agaaactaaa gagtatcaag 1200
aaccagaggt tccagagagt aaccagaaac agtggcaatc taagagaaaag tcagagtgt 1260
ttaaccagaa tcctgctgca tcttcaaac actggcagat tccggagtta gcccgaaaag 1320
ttaatacaga gcagaaacat accacttttg agcaacctgt cttttcagtt tcaaaacagt 1380
caccaccaat atcaacatct aaatggtttg acccaaaac tatttgtaag acaccaagca 1440

gcaatacctt ggatgattac atgagctgtt ttagaactcc agttgtaaag aatgactttc 1500

cacctgcttg tcagttgtca acaccttatg gccaacctgc ctgtttccag cagcaacagc 1560

atcaaatact tgccactcca cttcaaaatt tacaggtttt agcatcttct tcagcaaattg 1620

aatgcatttc ggttaaagga agaatttatt ccattttaaa gcagatagga agtggaggtt 1680

caagcaaggt atttcagtg ttaaatgaaa agaaacagat atatgctata aaatatgtga 1740

acttagaaga agcagataac caaactcttg atagttaccg gaacgaaata gcttatttga 1800

ataaactaca acaacacagt gataagatca tccgacttta tgattatgaa atcacggacc 1860

agtacatcta catggtaatg gagtgtggaa atattgatct taatagttgg cttaaaaaga 1920

aaaaatccat tgatccatgg gaacgcaaga gttactggaa aaatatgtta gaggcagttc 1980

acacaatcca tcaacatggc attgttcaca gtgatcttaa accagctaac tttctgatag 2040

ttgatggaat gctaaagcta attgattttg ggattgcaaa ccaaattgcaa ccagatacaa 2100

caagtgttgt taaagattct caggttggca cagttaatta tatgccacca gaagcaatca 2160

aagatatgtc ttctccaga gagaatggga aatctaagtc aaagataagc cccaaaagt 2220

atgtttggtc cttaggatgt attttgtact atatgactta cgggaaaaca ccatttcagc 2280

agataattaa tcagatttct aaattacatg ccataattga tcctaatcat gaaattgaat 2340

ttcccgatat tccagagaaa gatcttcaag atgtgttaaa gtgttgttta aaaagggacc 2400

caaaacagag gatatccatt cctgagctcc tggctcatcc ctatgttcaa attcaaactc 2460

ES 2 459 492 T3

atccagttaa ccaaatggcc aagggaacca ctgaagaaat gaaatatgtt ctgggccaac 2520
 ttgttggctt gaattctcct aactccattt tgaaagctgc taaaacttta tatgaacact 2580
 atagtgggtg tgaaagtcac aattcttcat cctccaagac ttttgaaaaa aaaaggggaa 2640
 aaaaatgatt tgcagttatt cgtaatgtca aataccacct ataaaatata ttggactgtt 2700
 atactcttga atccctgtgg aaatctacat ttgaagacaa catcactctg aagtgttata 2760
 agcaaaaaaa attcagtaga ttatctttta aagaaaactg taaaaatagc aaccacttat 2820
 ggtactgtat atattgtaga ctgttttctt ctgttttatg ctcttgtgta atctacttga 2880
 catcatttta ctcttggaat agtgggtgga tagcaagtat attctaaaaa actttgtaaa 2940
 taaagttttg tggctaaaat gacactaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2984

<210> 2

<211> 857

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Ser Glu Asp Leu Ser Gly Arg Glu Leu Thr Ile Asp Ser Ile
 1 5 10 15

Met Asn Lys Val Arg Asp Ile Lys Asn Lys Phe Lys Asn Glu Asp Leu
 20 25 30

Thr Asp Glu Leu Ser Leu Asn Lys Ile Ser Ala Asp Thr Thr Asp Asn
 35 40 45

Ser Gly Thr Val Asn Gln Ile Met Met Met Ala Asn Asn Pro Glu Asp

ES 2 459 492 T3

50	55	60
Trp Leu Ser Leu Leu Leu Lys Leu Glu Lys Asn Ser Val Pro Leu Ser		
65	70	75 80
Asp Ala Leu Leu Asn Lys Leu Ile Gly Arg Tyr Ser Gln Ala Ile Glu		
85	90	95
Ala Leu Pro Pro Asp Lys Tyr Gly Gln Asn Glu Ser Phe Ala Arg Ile		
100	105	110
Gln Val Arg Phe Ala Glu Leu Lys Ala Ile Gln Glu Pro Asp Asp Ala		
115	120	125
Arg Asp Tyr Phe Gln Met Ala Arg Ala Asn Cys Lys Lys Phe Ala Phe		
130	135	140
Val His Ile Ser Phe Ala Gln Phe Glu Leu Ser Gln Gly Asn Val Lys		
145	150	155 160
Lys Ser Lys Gln Leu Leu Gln Lys Ala Val Glu Arg Gly Ala Val Pro		
165	170	175
Leu Glu Met Leu Glu Ile Ala Leu Arg Asn Leu Asn Leu Gln Lys Lys		
180	185	190
Gln Leu Leu Ser Glu Glu Glu Lys Lys Asn Leu Ser Ala Ser Thr Val		
195	200	205
Leu Thr Ala Gln Glu Ser Phe Ser Gly Ser Leu Gly His Leu Gln Asn		
210	215	220
Arg Asn Asn Ser Cys Asp Ser Arg Gly Gln Thr Thr Lys Ala Arg Phe		
225	230	235 240

ES 2 459 492 T3

Leu Tyr Gly Glu Asn Met Pro Pro Gln Asp Ala Glu Ile Gly Tyr Arg			
	245	250	255
Asn Ser Leu Arg Gln Thr Asn Lys Thr Lys Gln Ser Cys Pro Phe Gly			
	260	265	270
Arg Val Pro Val Asn Leu Leu Asn Ser Pro Asp Cys Asp Val Lys Thr			
	275	280	285
Asp Asp Ser Val Val Pro Cys Phe Met Lys Arg Gln Thr Ser Arg Ser			
	290	295	300
Glu Cys Arg Asp Leu Val Val Pro Gly Ser Lys Pro Ser Gly Asn Asp			
305	310	315	320
Ser Cys Glu Leu Arg Asn Leu Lys Ser Val Gln Asn Ser His Phe Lys			
	325	330	335
Glu Pro Leu Val Ser Asp Glu Lys Ser Ser Glu Leu Ile Ile Thr Asp			
	340	345	350
Ser Ile Thr Leu Lys Asn Lys Thr Glu Ser Ser Leu Leu Ala Lys Leu			
	355	360	365
Glu Glu Thr Lys Glu Tyr Gln Glu Pro Glu Val Pro Glu Ser Asn Gln			
	370	375	380
Lys Gln Trp Gln Ser Lys Arg Lys Ser Glu Cys Ile Asn Gln Asn Pro			
385	390	395	400
Ala Ala Ser Ser Asn His Trp Gln Ile Pro Glu Leu Ala Arg Lys Val			
	405	410	415
Asn Thr Glu Gln Lys His Thr Thr Phe Glu Gln Pro Val Phe Ser Val			
	420	425	430

ES 2 459 492 T3

Ser Lys Gln Ser Pro Pro Ile Ser Thr Ser Lys Trp Phe Asp Pro Lys
 435 440 445

Ser Ile Cys Lys Thr Pro Ser Ser Asn Thr Leu Asp Asp Tyr Met Ser
 450 455 460

Cys Phe Arg Thr Pro Val Val Lys Asn Asp Phe Pro Pro Ala Cys Gln
 465 470 475 480

Leu Ser Thr Pro Tyr Gly Gln Pro Ala Cys Phe Gln Gln Gln Gln His
 485 490 495

Gln Ile Leu Ala Thr Pro Leu Gln Asn Leu Gln Val Leu Ala Ser Ser
 500 505 510

Ser Ala Asn Glu Cys Ile Ser Val Lys Gly Arg Ile Tyr Ser Ile Leu
 515 520 525

Lys Gln Ile Gly Ser Gly Gly Ser Ser Lys Val Phe Gln Val Leu Asn
 530 535 540

Glu Lys Lys Gln Ile Tyr Ala Ile Lys Tyr Val Asn Leu Glu Glu Ala
 545 550 555 560

Asp Asn Gln Thr Leu Asp Ser Tyr Arg Asn Glu Ile Ala Tyr Leu Asn
 565 570 575

Lys Leu Gln Gln His Ser Asp Lys Ile Ile Arg Leu Tyr Asp Tyr Glu
 580 585 590

Ile Thr Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Val Met Glu Cys Gly Asn Ile Asp
 595 600 605

Leu Asn Ser Trp Leu Lys Lys Lys Lys Ser Ile Asp Pro Trp Glu Arg

ES 2 459 492 T3

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

ES 2 459 492 T3

Met Ala Lys Gly Thr Thr Glu Glu Met Lys Tyr Val Leu Gly Gln Leu
805 810 815

Val Gly Leu Asn Ser Pro Asn Ser Ile Leu Lys Ala Ala Lys Thr Leu
820 825 830

Tyr Glu His Tyr Ser Gly Gly Glu Ser His Asn Ser Ser Ser Ser Lys
835 840 845

Thr Phe Glu Lys Lys Arg Gly Lys Lys
850 855

<210> 3

<211> 1214

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 3

aacggcccag gcaggggcct tactagtaag cacgttttgg gaagtcctca gggcacgcag	60
gcaccgtgac ctcacacact agtgcgctgg agtgtgtcat tagcatctgg aatctctccc	120
cagggatgtg gtttttgttt gttttttttt ttttttttgg tattataatg agctaaaagc	180
tattcagggg cgagttatca gaggtgagcc cgtgctcttc agcggagaag atcccctacc	240
tggccgccgg ccactttctg tgggccgtgg ggtcctcaag gagacggccc ttgggctcag	300
gggctgcgtt tccacacgag cctttcccag ggctcccgcg cccgttcctg cctggccgcc	360
ggccgctcca acagcagcac aaggcgggac tcagaaccgg cgttcagggc cgccagcggc	420
cgcgaggccc tgagatgagg ctccaaagac cccgacaggc cccggcgggt gggaggcgcg	480

ES 2 459 492 T3

```

cgccccgggg cgggcggggc tccccctacc ggccagaccc ggggagaggg gcgcggaggc 540

tgccaaggtt ccagaagggc ggggaggggg cgccgcgcgc tgaccctccc tgggcaccgc 600

tggggacgat ggcgctgctc gccttgctgc tggtcgtggc cctaccgcgg gtgtggacag 660

acgccaacct gactgcgaga caacgagatc cagaggactc ccagcgaacg gacgagggtg 720

acaatagagt gtggtgtcat gtttgtgaga gagaaaacac tttcgagtgc cagaacccaa 780

ggaggtgcaa atggacagag ccatactgcg ttatagcggc cgtgaaaata tttccacgtt 840

ttttcatggt tgogaagcag tgctccgctg gttgtgcagc gatggagaga cccaagccag 900

aggagaagcg gtttctcctg gaagagccca tgcccttctt ttacctcaag tgttgtaaaa 960

ttcgtactg caatttagag gggccaccta tcaactcatc agtgttcaaa gaatatgctg 1020

ggagcatggg tgagagctgt ggtgggctgt ggctggccat cctcctgctg ctggcctcca 1080

ttgcagccgg cctcagcctg tcttgagcca cgggactgcc acagactgag cttccggag 1140

catggactcg ctccagaccg ttgtcacctg ttgcattaaa cttgttttct gttgaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaa 1214

```

<210> 4

<211> 223

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

```

Met Arg Leu Gln Arg Pro Arg Gln Ala Pro Ala Gly Gly Arg Arg Ala
1           5           10           15

```

ES 2 459 492 T3

Pro Arg Gly Gly Arg Gly Ser Pro Tyr Arg Pro Asp Pro Gly Arg Gly
20 25 30

Ala Arg Arg Leu Arg Arg Phe Gln Lys Gly Gly Glu Gly Ala Pro Arg
35 40 45

Ala Asp Pro Pro Trp Ala Pro Leu Gly Thr Met Ala Leu Leu Ala Leu
50 55 60

Leu Leu Val Val Ala Leu Pro Arg Val Trp Thr Asp Ala Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ala Arg Gln Arg Asp Pro Glu Asp Ser Gln Arg Thr Asp Glu Gly Asp
85 90 95

Asn Arg Val Trp Cys His Val Cys Glu Arg Glu Asn Thr Phe Glu Cys
100 105 110

Gln Asn Pro Arg Arg Cys Lys Trp Thr Glu Pro Tyr Cys Val Ile Ala
115 120 125

Ala Val Lys Ile Phe Pro Arg Phe Phe Met Val Ala Lys Gln Cys Ser
130 135 140

Ala Gly Cys Ala Ala Met Glu Arg Pro Lys Pro Glu Glu Lys Arg Phe
145 150 155 160

Leu Leu Glu Glu Pro Met Pro Phe Phe Tyr Leu Lys Cys Cys Lys Ile
165 170 175

Arg Tyr Cys Asn Leu Glu Gly Pro Pro Ile Asn Ser Ser Val Phe Lys
180 185 190

Glu Tyr Ala Gly Ser Met Gly Glu Ser Cys Gly Gly Leu Trp Leu Ala

ES 2 459 492 T3

195

200

205

Ile Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ile Ala Ala Gly Leu Ser Leu Ser

210

215

220

<210> 5

<211> 4168

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 5

aagacttagg aagactgggtg gatgcgtttg ggttgtagct aggccttttc tttctttct 60

cttttaaaac acatctagac aaggaaaaaa caagcctcgg atctgatttt tcaactcctcg 120

ttcttgtgct tggttcttac tgtgtttgtg tattttaaaag gcgagaagac gaggggaaca 180

aaaccagctg gatccatcca tcaccgtggg tggttttaat ttttcgtttt ttctcgttat 240

ttttttttaa acaaccactc ttcacaatga acaaactgta tatcggaac ctcagcgaga 300

acgccgcccc ctcgaccta gaaagtatct tcaaggacgc caagatcccg gtgtcgggac 360

ccttcctggt gaagactggc tacgcgttcg tggactgccc ggacgagagc tgggccctca 420

aggccatcga ggcgctttca ggtaaaatag aactgcacgg gaaaccata gaagttgagc 480

actcgggtccc aaaaaggcaa aggattcgga aacttcagat acgaaatata ccgcctcatt 540

tacagtggga ggtgctggat agtttactag tccagtatgg agtggtggag agctgtgagc 600

aagtgaacac tgactcgga actgcagttg taaatgtaac ctattccagt aaggaccaag 660

ctagacaagc actagacaaa ctgaatggat ttcagttaga gaatttcacc ttgaaagtag 720

cctatatccc tgatgaaatg gccgcccagc aaaacccctt gcagcagccc cgaggtcgcc	780
gggggcttgg gcagaggggc tectcaaggc aggggtctcc aggatccgta tccaagcaga	840
aaccatgtga tttgcctctg cgctgctgg tccccacca atttggttga gccatcatag	900
gaaaagaagg tgccaccatt cggaacatca ccaaacagac ccagtctaaa atcgatgtcc	960
accgtaaaga aaatgcgggg gctgctgaga agtcgattac tatcctctct actcctgaag	1020
gcacctctgc ggcttgtaag tctattctgg agattatgca taaggaagct caagatataa	1080
aattcacaga agagatcccc ttgaagattt tagctcataa taactttgtt ggacgtctta	1140
ttggtaaaga aggaagaaat cttaaaaaaa ttgagcaaga cacagacact aaaatcacga	1200
tatctccatt gcaggaattg acgctgtata atccagaacg cactattaca gttaaaggca	1260
atgttgagac atgtgccaaa gctgaggagg agatcatgaa gaaaatcagg gagtcttatg	1320
aaaatgatat tgcttctatg aatcttcaag cacatttaat tcctggatta aatctgaacg	1380
ccttgggtct gtccccacc acttcaggga tgccacctcc cacctcaggg ccccttcag	1440
ccatgactcc tccctaccg cagtttgagc aatcagaaac ggagactgtt catctgttta	1500
tcccagctct atcagtcggt gccatcatcg gcaagcaggg ccagcacatc aagcagcttt	1560
ctcgctttgc tggagcttca attaagattg ctccagcgga agcaccagat gctaaagtga	1620
ggatggtgat tatcactgga ccaccagagg ctgagttcaa ggctcaggga agaatttatg	1680
gaaaaattaa agaagaaaac ttgttagtc ctaaagaaga ggtgaaactt gaagctcata	1740

ES 2 459 492 T3

cctatatccc tgatgaaatg gccgcccagc aaaacccctt gcagcagccc cgaggtcgcc 780

gggggcttgg gcagaggggc tcctcaaggc aggggtctcc aggatccgta tccaagcaga 840

aaccatgtga tttgcctctg cgctgctgg ttcccacca atttgttgga gccatcatag 900

gaaaagaagg tgccaccatt cggaacatca ccaaacagac ccagtctaaa atcgatgtcc 960

accgtaaaga aaatgcgggg gctgctgaga agtcgattac taccctctct actcctgaag 1020

gcacctctgc ggcttgtaag tctattctgg agattatgca taaggaagct caagatataa 1080

aattcacaga agagatcccc ttgaagattt tagctcataa taactttgtt ggacgtctta 1140

ttggtaaaga aggaagaaat cttaaaaaaa ttgagcaaga cacagacact aaaatcacga 1200

tatctccatt gcaggaattg acgctgtata atccagaacg cactattaca gttaaaggca 1260

atgttgagac atgtgccaaa gctgaggagg agatcatgaa gaaaatcagg gagtcttatg 1320

aaaatgatat tgcttctatg aatcttcaag cacatttaat tcctggatta aatctgaacg 1380

ccttggtctt gttcccaccc acttcaggga tgccacctcc cacctcaggg ccccttcag 1440

ccatgactcc tccctacccg cagtttgagc aatcagaaac ggagactgtt catctgttta 1500

tcccagctct atcagtcggt gccatcatcg gcaagcaggg ccagcacatc aagcagcttt 1560

ctcgtttgc tggagcttca attaagattg ctccagcgga agcaccagat gctaaagtga 1620

ggatggtgat tatcactgga ccaccagagg ctgagttcaa ggctcaggga agaatttatg 1680

gaaaaattaa agaagaaaac tttgttagtc ctaaagaaga ggtgaaactt gaagctcata 1740

ES 2 459 492 T3

tcagagtgcc atcctttgct gctggcagag ttattggaaa aggaggcaaa acggtgaatg 1800

aacttcagaa tttgtcaagt gcagaagttg ttgtccctcg tgaccagaca cctgatgaga 1860

atgaccaagt ggttgtcaaa ataactggtc acttctatgc ttgccagggt gccagagaa 1920

aaattcagga aattctgact caggtaaagc agcaccaaca acagaaggct ctgcaaagtg 1980

gaccacctca gtcaagacgg aagtaaaggc tcaggaaaca gccaccaca gaggcagatg 2040

ccaaacaaaa gacagattgc ttaaccaaca gatgggcgct gaccccctat ccagaatcac 2100

atgcacaagt tttacctag ccagttgttt ctgaggacca ggcaactttt gaactcctgt 2160

ctctgtgaga atgtatactt tatgtctctt gaaatgtatg acaccagct ttaaaacaaa 2220

caaacaacaa aacaaaaaaa gggtagggga gggagggaaa gagaagagct ctgcacttcc 2280

ctttgttgta gtctcacagt ataacagata ttctaattct tcttaatat ccccataat 2340

gccagaaatt ggcttaatga tgctttcact aaattcatca aatagattgc tcctaaatcc 2400

aattgttaaa attggatcag aataattatc acaggaactt aaatgttaag ccattagcat 2460

agaaaaactg ttctcagttt tatttttacc taacactaac atgagtaacc taagggaagt 2520

gctgaatggg gttggcaggg gtattaaacg tgcattttta ctcaactacc tcaggtattc 2580

agtaatacaa tgaaaagcaa aattgttcct ttttttgaa aattttatat actttataat 2640

gatagaagtc caaccgtttt ttaaaaaata aattttaaata ttaacagcaa tcagctaaca 2700

ggcaaattaa gatttttact tctggctggg gacagtaaag ctggaaaatt aatttcaggg 2760

ttttttgagg cttttgacac agttattagt taaatcaaat gttcaaaaat acggagcagt 2820

gcctagtatc tggagagcag cactaccatt tattctttca tttatagttg ggaaagtttt 2880

tgacggtact aacaaagtgg tcgcaggaga ttttgaacg gctggtttaa atggcttcag 2940

gagacttcag ttttttgttt agctacatga ttgaatgcat aataaatgct ttgtgcttct 3000

gactatcaat acctaaagaa agtgcattcag tgaagagatg caagactttc aactgactgg 3060

caaaaagcaa gctttagctt gtcttatagg atgcttagtt tgccactaca cttcagacca 3120

atgggacagt catagatggt gtgacagtgt ttaaacgcaa caaaaggcta catttccatg 3180

gggccagcac tgtcatgagc ctactaagc tattttgaag atttttaagc actgataaat 3240

taaaaaaaaa aaattagact ccaccttaag tagtaaagta taacaggatt tctgtatact 3300

gtgcaatcag ttctttgaaa aaaaagtcaa aagatagaga atacaagaaa agtttttggg 3360

atataatttg aatgactgtg aaaacatatg accttgata acgaactcat ttgctcactc 3420

cttgacagca aagcccagta cgtacaattg tgttgggtgt ggggtggtctc caaggccacg 3480

ctgctctctg aattgatttt ttgagttttg ttgttaagat gatcacagtc atgttacact 3540

gatctaaagg acatatatat aaccctttaa aaaaaaaatc actgcctcat tcttatttca 3600

agatgaattt ctatacagac tagatgtttt tctgaagatc aattagacat ttgaaaatg 3660

atttaaagtg ttttccttaa tgttctctga aaacaagttt cttttgtagt ttttaacaaa 3720

aaagtgcctt ttttgtcact ggattctcct agcattcatg atttttttt catacaatga 3780

attaaaattg ctaaaatcat ggactggctt tctggttgga tttcaggtaa gatgtgttta 3840

ES 2 459 492 T3

```

aggccagagc ttttctcagt atttgatttt tttccccaat atttgatttt ttaaaaatat 3900

acacataggt gctgcattta tatctgctgg tttaaattct gtcataattc acttctagcc 3960

ttttagtatg gcaaatcata ttttactttt acttaagcat ttgtaatttg gagtatctgg 4020

tactagctaa gaaataattc tataattgag tttgtactc accatatatg gatcattcct 4080

catgtataat gtgccccaaa tgcagcttca tttccagat accttgacgc agaataaatt 4140

ttttcatcat ttaggtgcaa aaaaaaaaaa 4168

```

<210> 6

<211> 579

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

```

Met Asn Lys Leu Tyr Ile Gly Asn Leu Ser Glu Asn Ala Ala Pro Ser
1           5           10           15

```

```

Asp Leu Glu Ser Ile Phe Lys Asp Ala Lys Ile Pro Val Ser Gly Pro
          20           25           30

```

```

Phe Leu Val Lys Thr Gly Tyr Ala Phe Val Asp Cys Pro Asp Glu Ser
          35           40           45

```

```

Trp Ala Leu Lys Ala Ile Glu Ala Leu Ser Gly Lys Ile Glu Leu His
          50           55           60

```

```

Gly Lys Pro Ile Glu Val Glu His Ser Val Pro Lys Arg Gln Arg Ile
65           70           75           80

```

```

Arg Lys Leu Gln Ile Arg Asn Ile Pro Pro His Leu Gln Trp Glu Val

```

ES 2 459 492 T3

85	90	95
Leu Asp Ser Leu Leu Val Gln Tyr Gly Val Val Glu Ser Cys Glu Gln		
100	105	110
Val Asn Thr Asp Ser Glu Thr Ala Val Val Asn Val Thr Tyr Ser Ser		
115	120	125
Lys Asp Gln Ala Arg Gln Ala Leu Asp Lys Leu Asn Gly Phe Gln Leu		
130	135	140
Glu Asn Phe Thr Leu Lys Val Ala Tyr Ile Pro Asp Glu Met Ala Ala		
145	150	155
Gln Gln Asn Pro Leu Gln Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gly Leu Gly Gln		
165	170	175
Arg Gly Ser Ser Arg Gln Gly Ser Pro Gly Ser Val Ser Lys Gln Lys		
180	185	190
Pro Cys Asp Leu Pro Leu Arg Leu Leu Val Pro Thr Gln Phe Val Gly		
195	200	205
Ala Ile Ile Gly Lys Glu Gly Ala Thr Ile Arg Asn Ile Thr Lys Gln		
210	215	220
Thr Gln Ser Lys Ile Asp Val His Arg Lys Glu Asn Ala Gly Ala Ala		
225	230	235
Glu Lys Ser Ile Thr Ile Leu Ser Thr Pro Glu Gly Thr Ser Ala Ala		
245	250	255
Cys Lys Ser Ile Leu Glu Ile Met His Lys Glu Ala Gln Asp Ile Lys		
260	265	270

ES 2 459 492 T3

Phe Thr Glu Glu Ile Pro Leu Lys Ile Leu Ala His Asn Asn Phe Val
275 280 285

Gly Arg Leu Ile Gly Lys Glu Gly Arg Asn Leu Lys Lys Ile Glu Gln
290 295 300

Asp Thr Asp Thr Lys Ile Thr Ile Ser Pro Leu Gln Glu Leu Thr Leu
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Glu Arg Thr Ile Thr Val Lys Gly Asn Val Glu Thr Cys
325 330 335

Ala Lys Ala Glu Glu Glu Ile Met Lys Lys Ile Arg Glu Ser Tyr Glu
340 345 350

Asn Asp Ile Ala Ser Met Asn Leu Gln Ala His Leu Ile Pro Gly Leu
355 360 365

Asn Leu Asn Ala Leu Gly Leu Phe Pro Pro Thr Ser Gly Met Pro Pro
370 375 380

Pro Thr Ser Gly Pro Pro Ser Ala Met Thr Pro Pro Tyr Pro Gln Phe
385 390 395 400

Glu Gln Ser Glu Thr Glu Thr Val His Leu Phe Ile Pro Ala Leu Ser
405 410 415

Val Gly Ala Ile Ile Gly Lys Gln Gly Gln His Ile Lys Gln Leu Ser
420 425 430

Arg Phe Ala Gly Ala Ser Ile Lys Ile Ala Pro Ala Glu Ala Pro Asp
435 440 445

Ala Lys Val Arg Met Val Ile Ile Thr Gly Pro Pro Glu Ala Gln Phe
450 455 460

ES 2 459 492 T3

Lys Ala Gln Gly Arg Ile Tyr Gly Lys Ile Lys Glu Glu Asn Phe Val
465 470 475 480

Ser Pro Lys Glu Glu Val Lys Leu Glu Ala His Ile Arg Val Pro Ser
485 490 495

Phe Ala Ala Gly Arg Val Ile Gly Lys Gly Gly Lys Thr Val Asn Glu
500 505 510

Leu Gln Asn Leu Ser Ser Ala Glu Val Val Val Pro Arg Asp Gln Thr
515 520 525

Pro Asp Glu Asn Asp Gln Val Val Val Lys Ile Thr Gly His Phe Tyr
530 535 540

Ala Cys Gln Val Ala Gln Arg Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val
545 550 555 560

Lys Gln His Gln Gln Gln Lys Ala Leu Gln Ser Gly Pro Pro Gln Ser
565 570 575

Arg Arg Lys

<210> 7

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10

<400> 7

Arg Tyr Ser Gln Ala Ile Glu Ala Leu

1

5

<210> 8

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

5

<400> 8

Ser Tyr Arg Asn Glu Ile Ala Tyr Leu
1 5

<210> 9

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

15

<400> 9

Ile Tyr Ala Ile Lys Tyr Val Asn Leu
1 5

<210> 10

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

25

<400> 10

Asp Tyr Glu Ile Thr Asp Gln Tyr Ile
1 5

<210> 11

<211> 9

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 11

Asn Phe Leu Ile Val Asp Gly Met Leu

1

5

5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 12

Lys Phe Ala Phe Val His Ile Ser Phe

1

5

15

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 13

Ser Phe Ser Gly Ser Leu Gly His Leu

1

5

25

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 14

Lys Asn Glu Asp Leu Thr Asp Glu Leu
1 5

<210> 15

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 15

Arg Ile Gln Val Arg Phe Ala Glu Leu
1 5

<210> 16

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 16

Ser Phe Ala Arg Ile Gln Val Arg Phe
1 5

<210> 17

25 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 17

Lys Leu Glu Lys Asn Ser Val Pro Leu
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 18

Lys Asn Leu Ser Ala Ser Thr Val Leu
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 19

Arg Thr Pro Val Val Lys Asn Asp Phe
1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 20

Lys Tyr Gly Gln Asn Glu Ser Phe Ala
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 21

Lys Val Arg Asp Ile Lys Asn Lys Phe
1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 22

Lys Gln Arg Ile Ser Ile Pro Glu Leu
1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 23

Asn Ser Val Pro Leu Ser Asp Ala Leu
1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 24

Gly Asn Ile Asp Leu Asn Ser Trp Leu
1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 25

Gln Tyr Ile Tyr Met Val Met Glu Cys
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 26

Gly Ser Ser Lys Val Phe Gln Val Leu
1 5

<210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 27

	Lys	Tyr	Val	Leu	Gly	Gln	Leu	Val	Gly	Leu
10	1				5					10

<210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 28

	Tyr	Tyr	Met	Thr	Tyr	Gly	Lys	Thr	Pro	Phe
20	1				5					10

<210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

25

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 29

	Ile	Tyr	Met	Val	Met	Glu	Cys	Gly	Asn	Ile
30	1				5					10

<210> 30
 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 30

Thr	Tyr	Gly	Lys	Thr	Pro	Phe	Gln	Gln	Ile
1				5					10

<210> 31

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 31

Glu	Phe	Pro	Asp	Ile	Pro	Glu	Lys	Asp	Leu
1				5					10

<210> 32

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 32

Cys	Phe	Gln	Gln	Gln	Gln	His	Gln	Ile	Leu
1				5					10

<210> 33

30 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

5 <400> 33

Ala	Phe	Val	His	Ile	Ser	Phe	Ala	Gln	Phe
1				5					10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

15 <400> 34

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

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

25 <400> 35

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

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 36

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

5 <210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 37

Lys	Ala	Val	Glu	Arg	Gly	Ala	Val	Pro	Leu
1				5					10

15 <210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 38

Arg	Gly	Gln	Thr	Thr	Lys	Ala	Arg	Phe	Leu
1				5					10

25 <210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 39

Arg Asn Leu Asn Leu Gln Lys Lys Gln Leu
1 5 10

<210> 40

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10

<400> 40

Lys Gln Arg Ile Ser Ile Pro Glu Leu Leu
1 5 10

<210> 41

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20

<400> 41

Ala Tyr Leu Asn Lys Leu Gln Gln His Ser
1 5 10

<210> 42

<211> 10

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30

<400> 42

Glu Tyr Gln Glu Pro Glu Val Pro Glu Ser

<210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 43

Lys	Asn	Ser	Val	Pro	Leu	Ser	Asp	Ala	Leu
1				5					10

10

<210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 44

Lys	Pro	Ser	Gly	Asn	Asp	Ser	Cys	Glu	Leu
1				5					10

20

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

25

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 45

Asn	Pro	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Leu	Leu	Leu
1				5					10

30

<210> 46
 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 46

Asp	Leu	Gln	Asp	Val	Leu	Lys	Cys	Cys	Leu
1				5					10

<210> 47

10 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 47

Lys	Pro	Glu	Glu	Lys	Arg	Phe	Leu	Leu
1				5				

<210> 48

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 48

Arg	Ala	Asp	Pro	Pro	Trp	Ala	Pro	Leu
1				5				

<210> 49

30 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

5 <400> 49

Leu Trp Leu Ala Ile Leu Leu Leu Leu
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

15 <400> 50

Gly Thr Met Ala Leu Leu Ala Leu Leu
1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

25 <400> 51

Gly Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu Leu
1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 52

Leu Ala Leu Leu Leu Val Val Ala Leu
1 5

5 <210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 53

Trp Ala Pro Leu Gly Thr Met Ala Leu
1 5

15 <210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 54

Ala Ser Ile Ala Ala Gly Leu Ser Leu
1 5

25 <210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 55

Ala Pro Leu Gly Thr Met Ala Leu Leu
1 5

<210> 56

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10

<400> 56

Leu Leu Ala Ser Ile Ala Ala Gly Leu
1 5

<210> 57

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20

<400> 57

Glu Tyr Ala Gly Ser Met Gly Glu Ser
1 5

<210> 58

<211> 9

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30

<400> 58

Phe Phe Tyr Leu Lys Cys Cys Lys Ile

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 59

Ala Ala Val Lys Ile Phe Pro Arg Phe

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 60

Thr Met Ala Leu Leu Ala Leu Leu Leu

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 61

Arg Pro Lys Pro Glu Glu Lys Arg Phe

1 5

<210> 62
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 62

Ser Met Gly Glu Ser Cys Gly Gly Leu

1 5

10

<210> 63
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 63

Cys Cys Lys Ile Arg Tyr Cys Asn Leu

1 5

20

<210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

25

<220>
 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 64

Asp Pro Gly Arg Gly Ala Arg Arg Leu

1 5

30

<210> 65
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 65

Arg Gly Ala Arg Arg Leu Arg Arg Phe
1 5

<210> 66

10 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 66

Cys Gly Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu
1 5

<210> 67

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 67

Arg Tyr Cys Asn Leu Glu Gly Pro Pro Ile
1 5 10

<210> 68

30 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

5 <400> 68

Arg	Phe	Leu	Leu	Glu	Glu	Pro	Met	Pro	Phe
1				5					10

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

15 <400> 69

Arg	Pro	Lys	Pro	Glu	Glu	Lys	Arg	Phe	Leu
1				5					10

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

25 <400> 70

Leu	Leu	Leu	Ala	Ser	Ile	Ala	Ala	Gly	Leu
1				5					10

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 71

Lys	Cys	Cys	Lys	Ile	Arg	Tyr	Cys	Asn	Leu
1				5					10

5 <210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 72

Phe	Tyr	Leu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ile	Arg	Tyr
1				5					10

15 <210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 73

Gly	Thr	Met	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5					10

25 <210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

<400> 74

Trp Ala Pro Leu Gly Thr Met Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 75

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10

<400> 75

Gly Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu Leu Leu
1 5 10

<210> 76

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20

<400> 76

Met Gly Glu Ser Cys Gly Gly Leu Trp Leu
1 5 10

<210> 77

<211> 10

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30

<400> 77

Gly Ser Met Gly Glu Ser Cys Gly Gly Leu

1 5 10

<210> 78

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10

<400> 78

Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 79

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20

<400> 79

Pro Tyr Cys Val Ile Ala Ala Val Lys Ile

1 5 10

<210> 80

<211> 10

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30

<400> 80

Glu Tyr Ala Gly Ser Met Gly Glu Ser Cys
1 5 10

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 81

Leu Leu Ala Leu Leu Leu Val Val Ala Leu
1 5 10

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 82

Cys Gly Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu Leu
1 5 10

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 83

Leu Gly Thr Met Ala Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 84

Leu Pro Arg Val Trp Thr Asp Ala Asn Leu
1 5 10

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 85

Ser Cys Gly Gly Leu Trp Leu Ala Ile Leu
1 5 10

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 86

Leu Ala Ser Ile Ala Ala Gly Leu Ser Leu
1 5 10

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 87

Ser Tyr Glu Asn Asp Ile Ala Ser Met
1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 88

Gly Phe Gln Leu Glu Asn Phe Thr Leu
1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 89

Lys Thr Val Asn Glu Leu Gln Asn Leu
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 90

Lys Ile Pro Val Ser Gly Pro Phe Leu
1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 91

Lys Pro Cys Asp Leu Pro Leu Arg Leu
1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 92

Arg Phe Ala Gly Ala Ser Ile Lys Ile

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 93

Lys Gly Gly Lys Thr Val Asn Glu Leu

1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 94

Lys Gln Lys Pro Cys Asp Leu Pro Leu

1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 95

Ala Tyr Ile Pro Asp Glu Met Ala Ala
1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 96

Leu Tyr Asn Pro Glu Arg Thr Ile Thr
1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 97

Leu Tyr Ile Gly Asn Leu Ser Glu Asn
1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 98

Lys Gln Gly Gln His Ile Lys Gln Leu
1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 99

Lys Gln His Gln Gln Gln Lys Ala Leu
1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 100

Ile Thr Ile Ser Pro Leu Gln Glu Leu
1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 101

Ile Tyr Gly Lys Ile Lys Glu Glu Asn
1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 102

Ala Ser Met Asn Leu Gln Ala His Leu
1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 103

Gln Trp Glu Val Leu Asp Ser Leu Leu
1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 104

Asp Cys Pro Asp Glu Ser Trp Ala Leu
1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 105

Leu Gln Trp Glu Val Leu Asp Ser Leu
1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 106

Glu Ala Leu Ser Gly Lys Ile Glu Leu
1 5

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 107

Ile Tyr Gly Lys Ile Lys Glu Glu Asn Phe
1 5 10

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 108

Lys Phe Thr Glu Glu Ile Pro Leu Lys Ile
1 5 10

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 109

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

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 110

Lys Ile Thr Ile Ser Pro Leu Gln Glu Leu
1 5 10

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 111

Ser Tyr Glu Asn Asp Ile Ala Ser Met Asn
1 5 10

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 112

Lys Pro Cys Asp Leu Pro Leu Arg Leu Leu
1 5 10

<210> 113

<211> 10

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30

<400> 113

Leu Tyr Asn Pro Glu Arg Thr Ile Thr Val
1 5 10

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 114

Leu Tyr Ile Gly Asn Leu Ser Glu Asn Ala
1 5 10

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 115

Val Ala Gln Arg Lys Ile Gln Glu Ile Leu
1 5 10

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 116

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

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 117

His Leu Gln Trp Glu Val Leu Asp Ser Leu
1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 118

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

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 119

Leu Ile Pro Gly Leu Asn Leu Asn Ala Leu
1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 120

Leu Gln Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gly Leu
1 5 10

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 121

Phe Thr Glu Glu Ile Pro Leu Lys Ile Leu
1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 122

Glu Thr Val His Leu Phe Ile Pro Ala Leu
1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 123

Lys Leu Asn Gly Phe Gln Leu Glu Asn Phe
1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

20 <400> 124

Leu Ser Glu Asn Ala Ala Pro Ser Asp Leu
1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

30 <400> 125

ES 2 459 492 T3

Ile Pro Pro His Leu Gln Trp Glu Val Leu
1 5 10

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de péptidos sintetizada artificialmente.

10 <400> 126

Ser Ser Lys Asp Gln Ala Arg Gln Ala Leu
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un péptido de los siguientes (A) o (B):
(A) un péptido de menos de 15 aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67;
(B) un péptido de menos de 15 aminoácidos que tiene inducibilidad de linfocitos T citotóxicos en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67, en el que 1 o 2 aminoácidos están sustituidos, eliminados, o añadidos.
2. El péptido de la reivindicación 1, en el que dicho péptido es el siguiente (A) o (B):
(A) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67;
(B) un péptido que tiene inducibilidad de linfocitos T citotóxicos en el que dicho péptido consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67, en el que 1 o 2 aminoácidos están sustituidos, eliminados, o añadidos.
3. El péptido de la reivindicación 1 o 2, en el que el segundo aminoácido del extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano.
4. El péptido de la reivindicación 1 o 2, en el que el aminoácido del extremo C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina.
5. Una composición farmacéutica que comprende uno o más péptidos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
6. Una composición farmacéutica para usar en tratar o evitar cáncer de pulmón, comprendiendo dicha composición uno o más péptidos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
7. Un exosoma que presenta en su superficie un complejo que comprende un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un antígeno HLA.
8. El exosoma según la reivindicación 7, en el que el antígeno HLA es HLA-A24.
9. El exosoma según la reivindicación 8, en el que el antígeno HLA es HLA-A2402.
10. Un procedimiento *in vitro* para inducir células presentadoras de antígenos que tienen una alta inducibilidad de linfocitos T citotóxicos que comprende la etapa de puesta en contacto de una célula presentadora de antígenos con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
11. Un procedimiento *in vitro* para inducir linfocitos T citotóxicos mediante la puesta en contacto de un linfocito T con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
12. El procedimiento para inducir células presentadoras de antígeno que tienen una alta inducibilidad de linfocitos T citotóxicos según la reivindicación 10, en el que dicho procedimiento comprende la etapa de transferencia de un gen que comprende un polinucleótido que codifica un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a una célula presentadora de antígeno.
13. Un linfocito T citotóxico, inducido poniendo en contacto una célula T con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que actúa específicamente contra células diana que presentan el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º: 67.
14. Una célula presentadora de antígenos, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
15. La célula presentadora de antígenos de la reivindicación 14, inducida por el procedimiento de la reivindicación 10.
16. Una vacuna que comprende uno o más péptidos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o un polinucleótido codificante del/de los mismo(s) como el ingrediente activo.
17. Una vacuna para usar en inhibir proliferación de células de cáncer de pulmón, en la que la vacuna comprende uno o más péptidos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o un polinucleótido codificante del/de los mismo(s) como el ingrediente activo.
18. Una vacuna para usar en tratar o evitar cáncer de pulmón, en la que dicha vacuna comprende uno o más péptidos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o un polinucleótido que codifica dicho péptido o agente inmunológicamente activo.
19. La vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, o la composición farmacéutica de una cualquiera

de las reivindicaciones 5 o 6, en la que dicha vacuna o composición farmacéutica está formulada para administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24.

20. La vacuna de la reivindicación 19, o la composición farmacéutica de la reivindicación 19, en la que dicha vacuna o composición farmacéutica está formulada para administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A2402.

Fig. 1

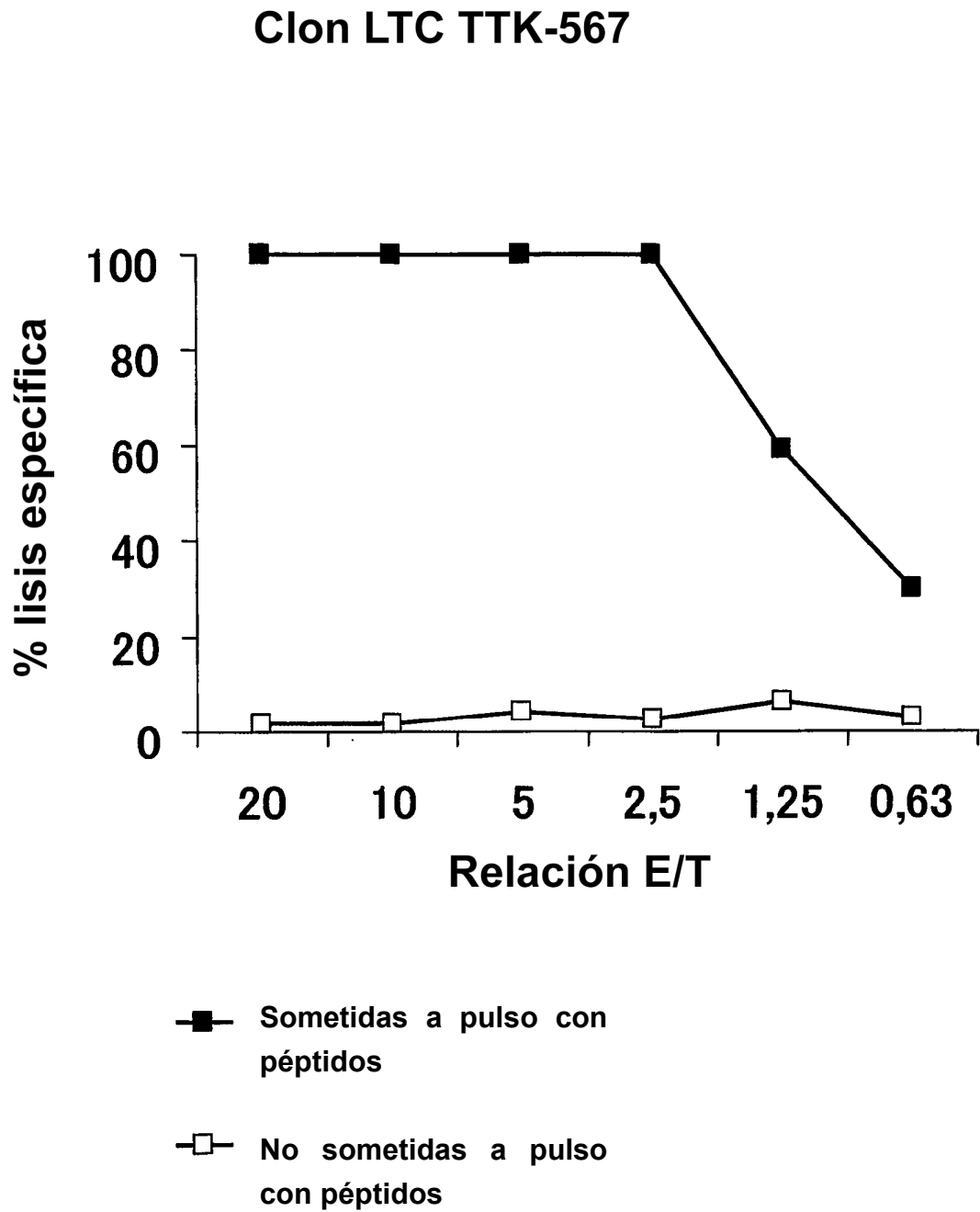


Fig. 2

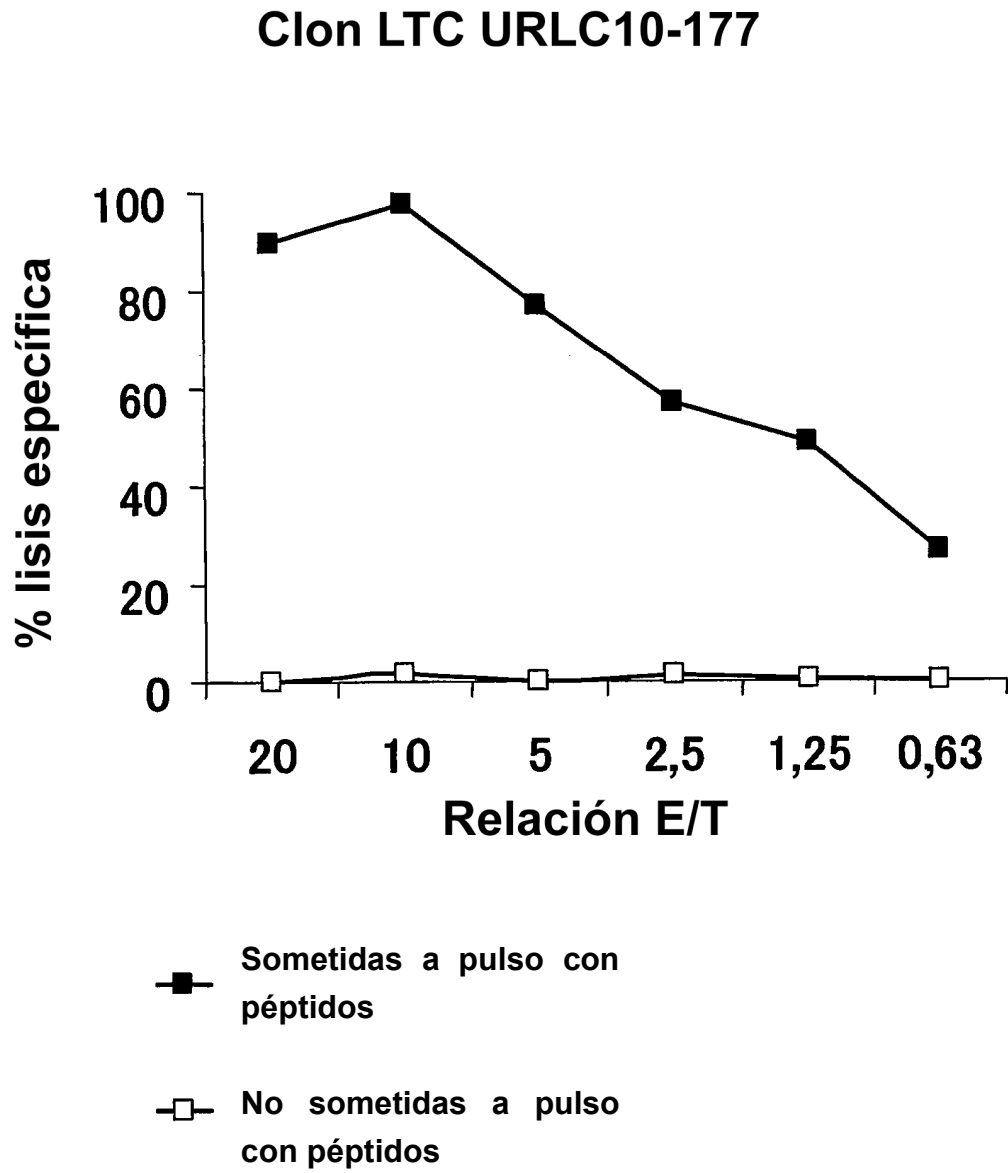


Fig. 3

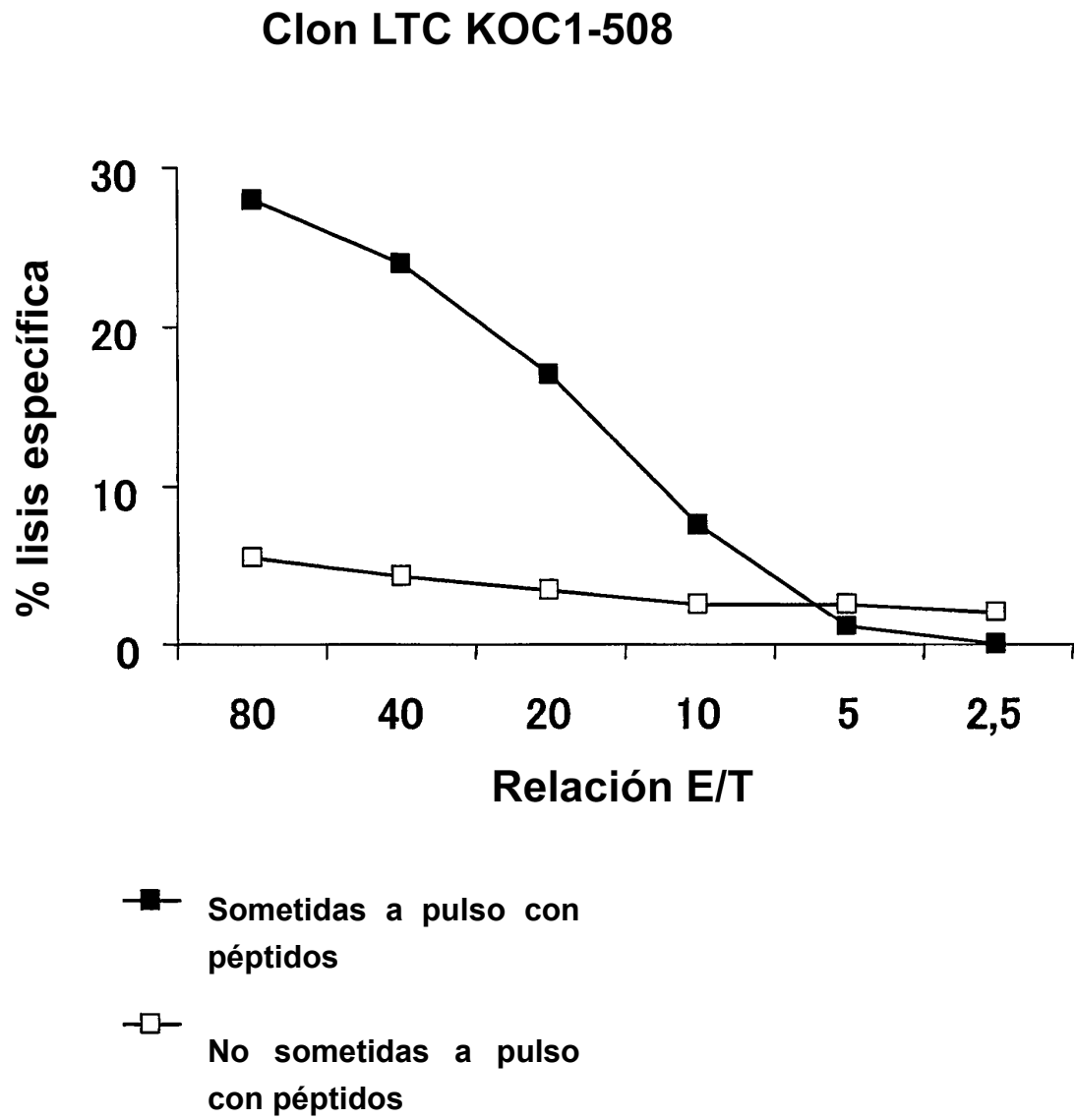


Fig. 4

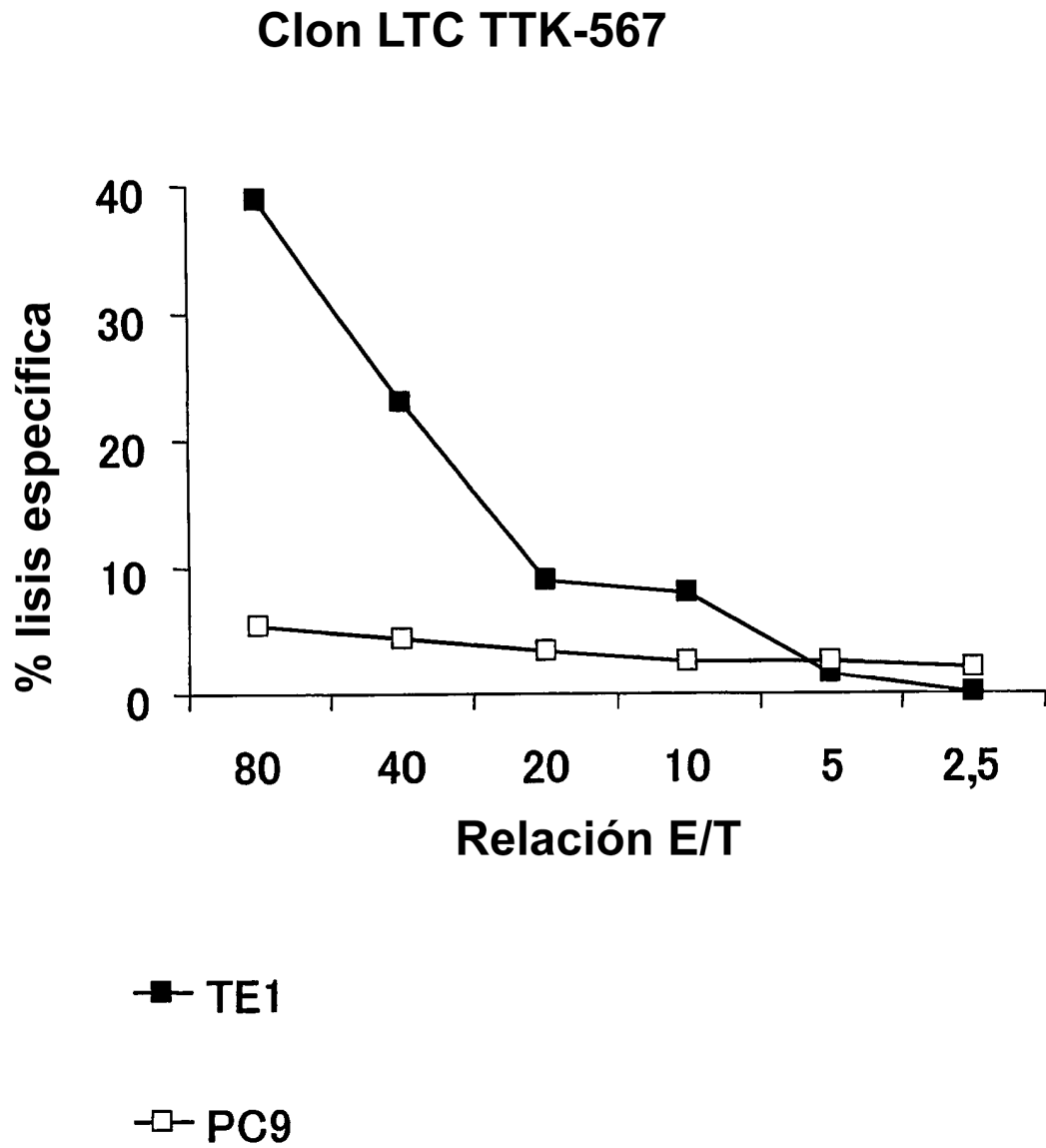


Fig. 5

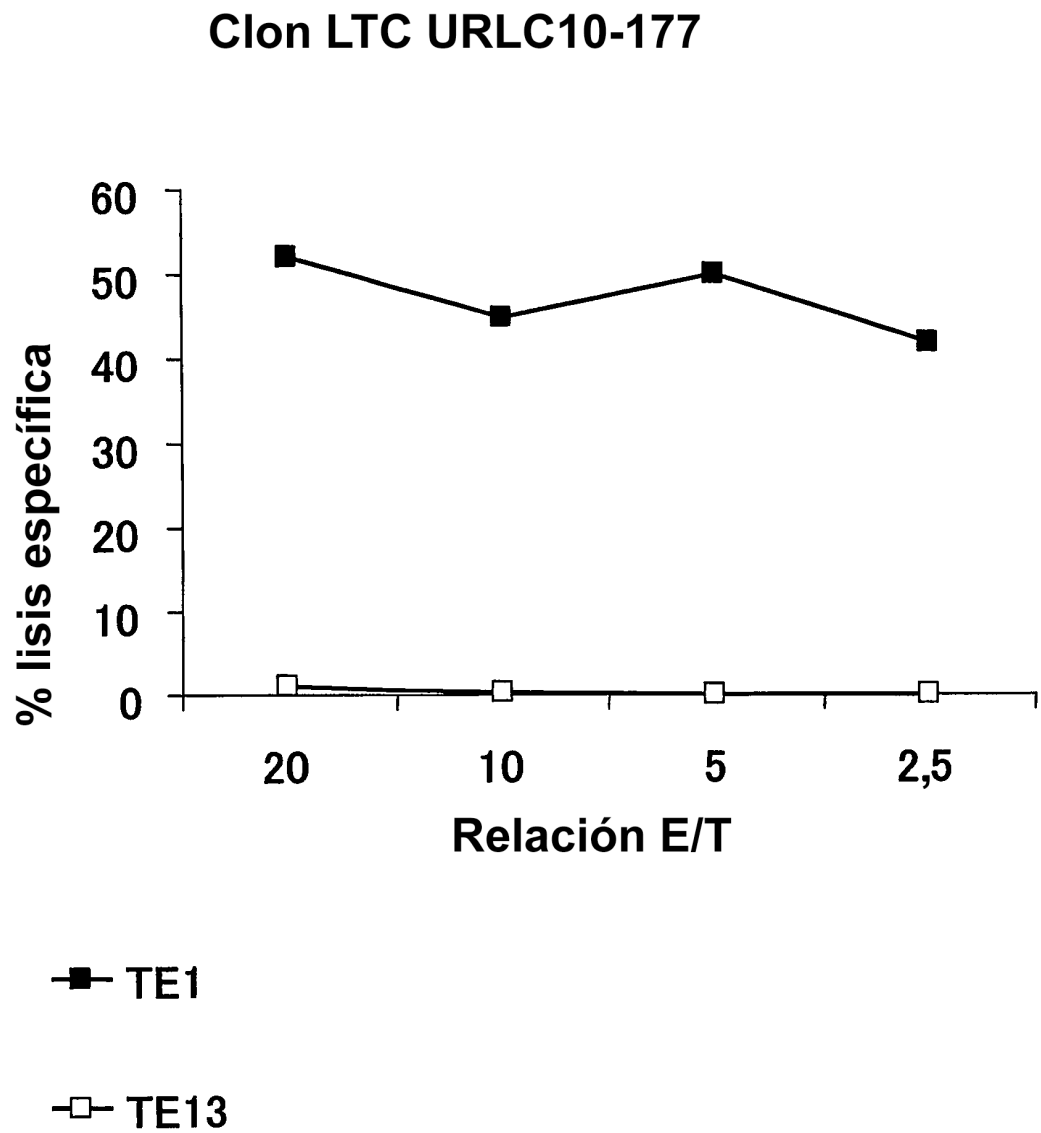


Fig. 6

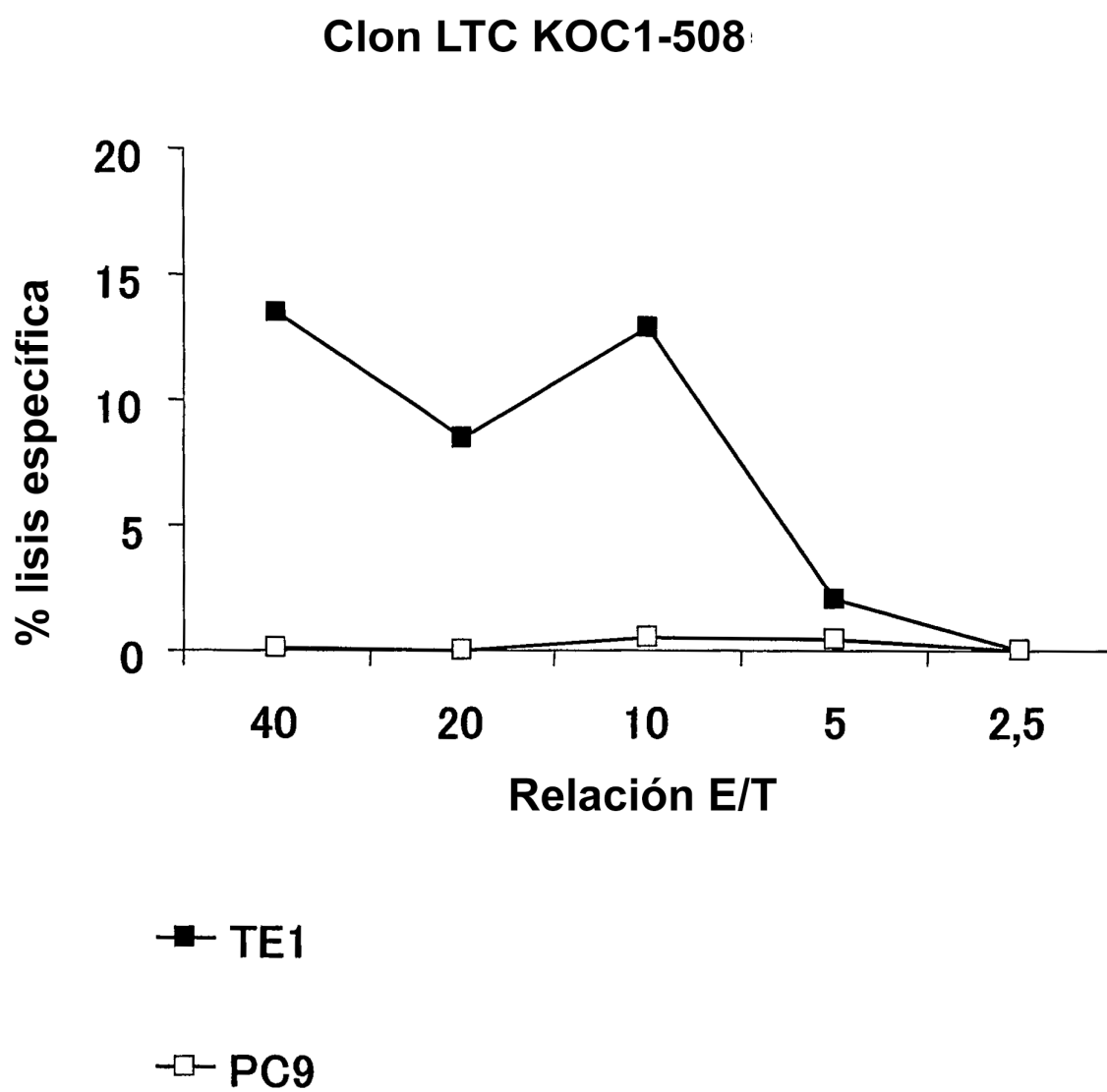


Fig. 7

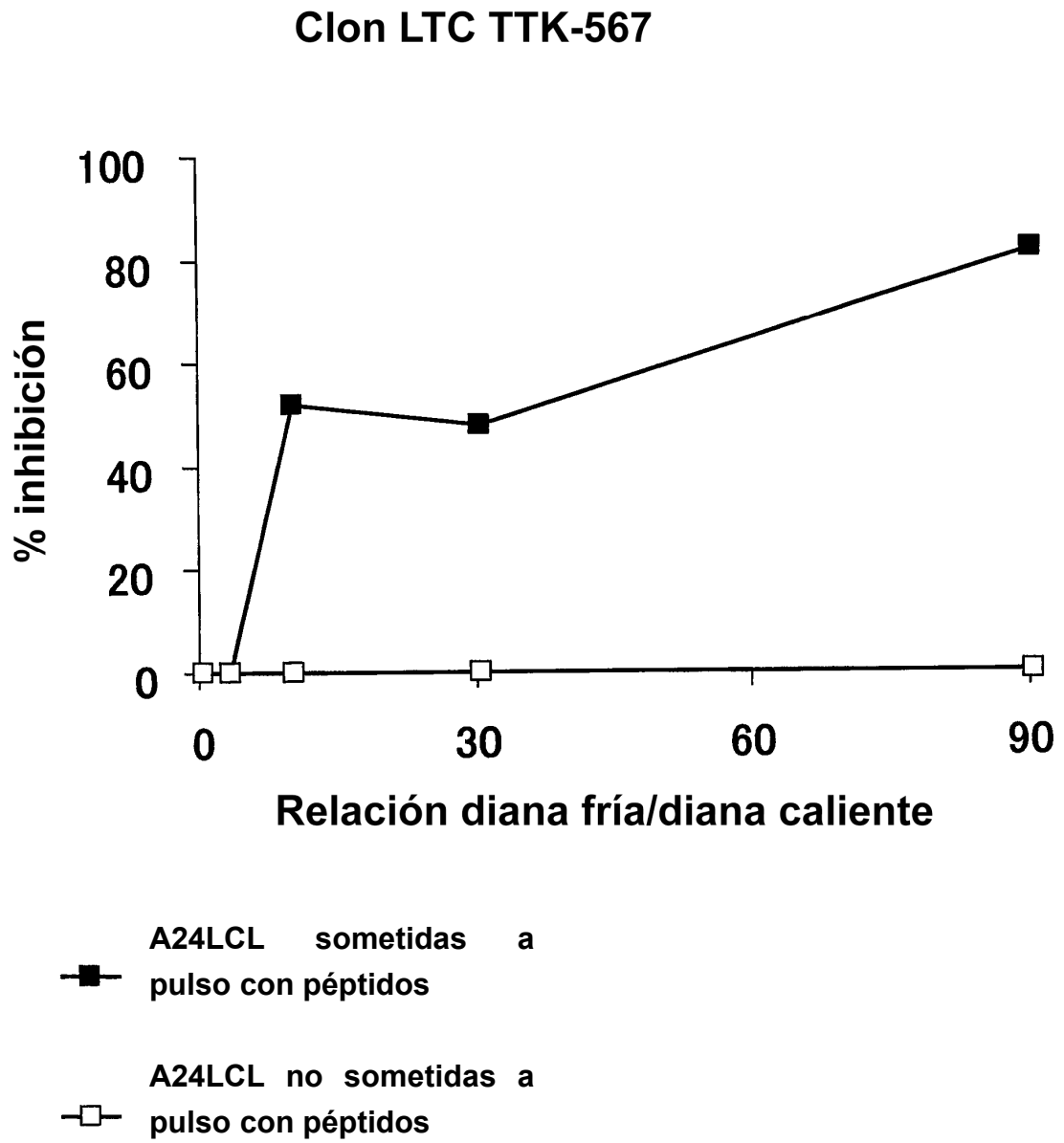


Fig. 8

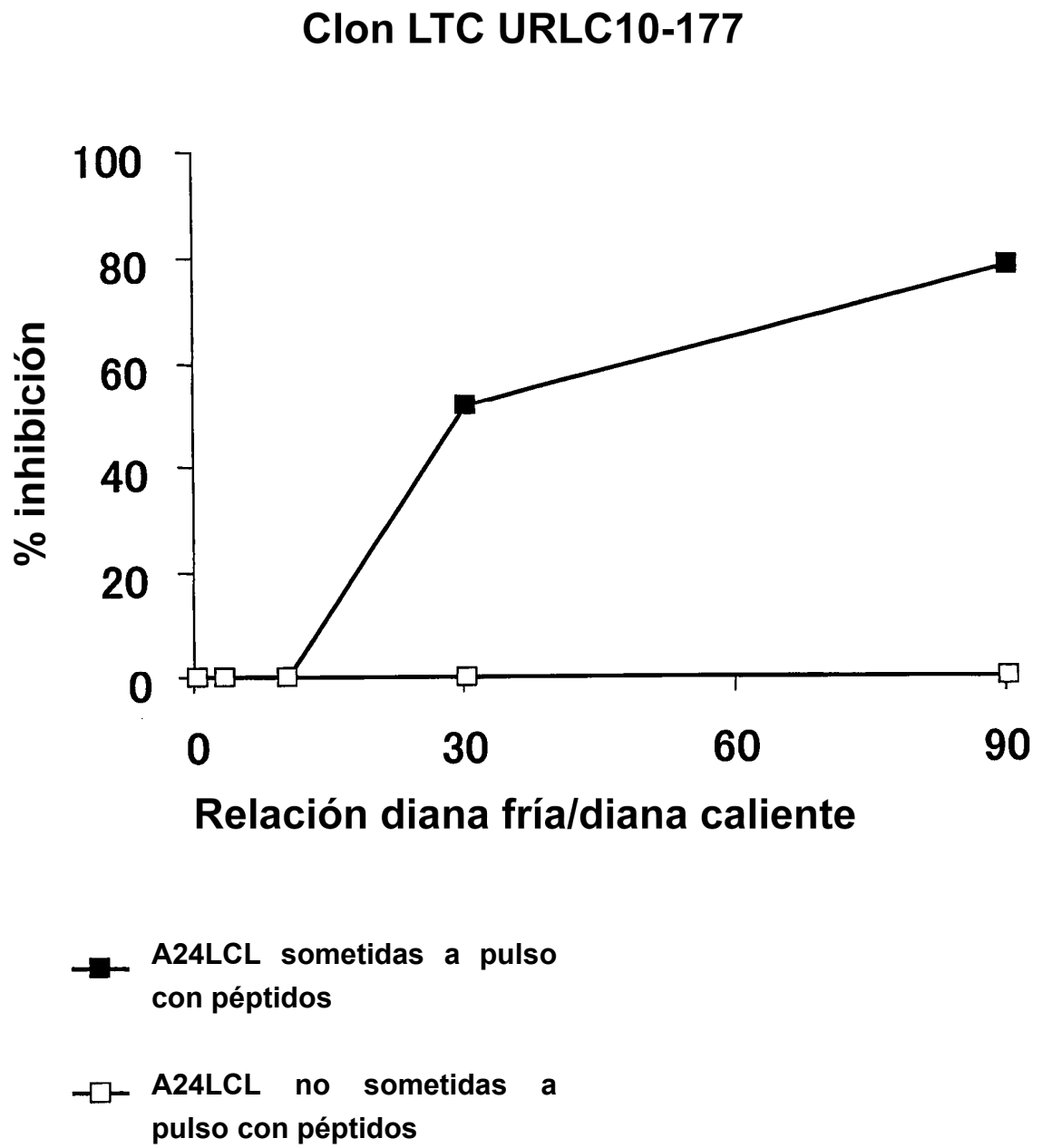


Fig. 9

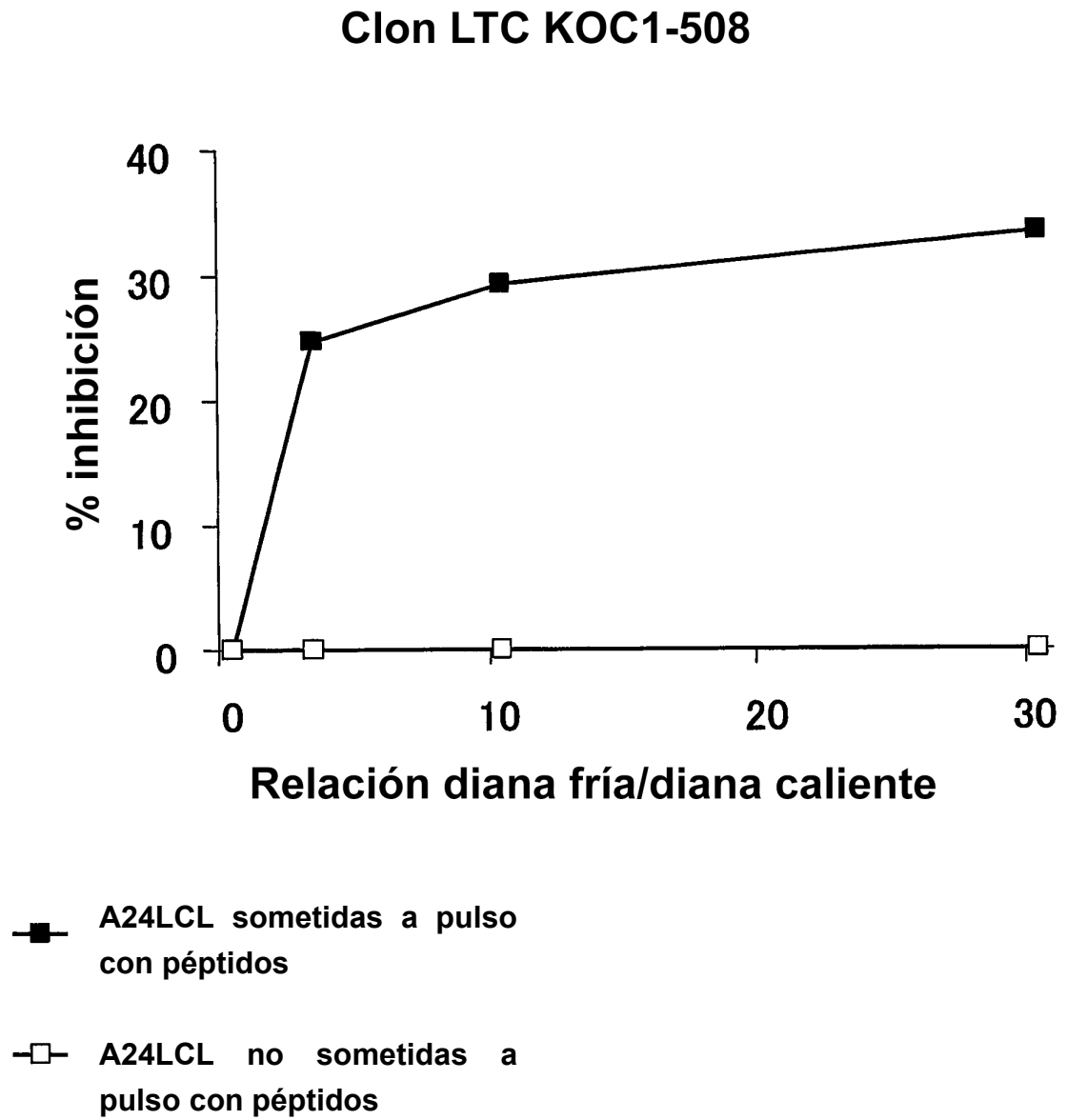


Fig. 10

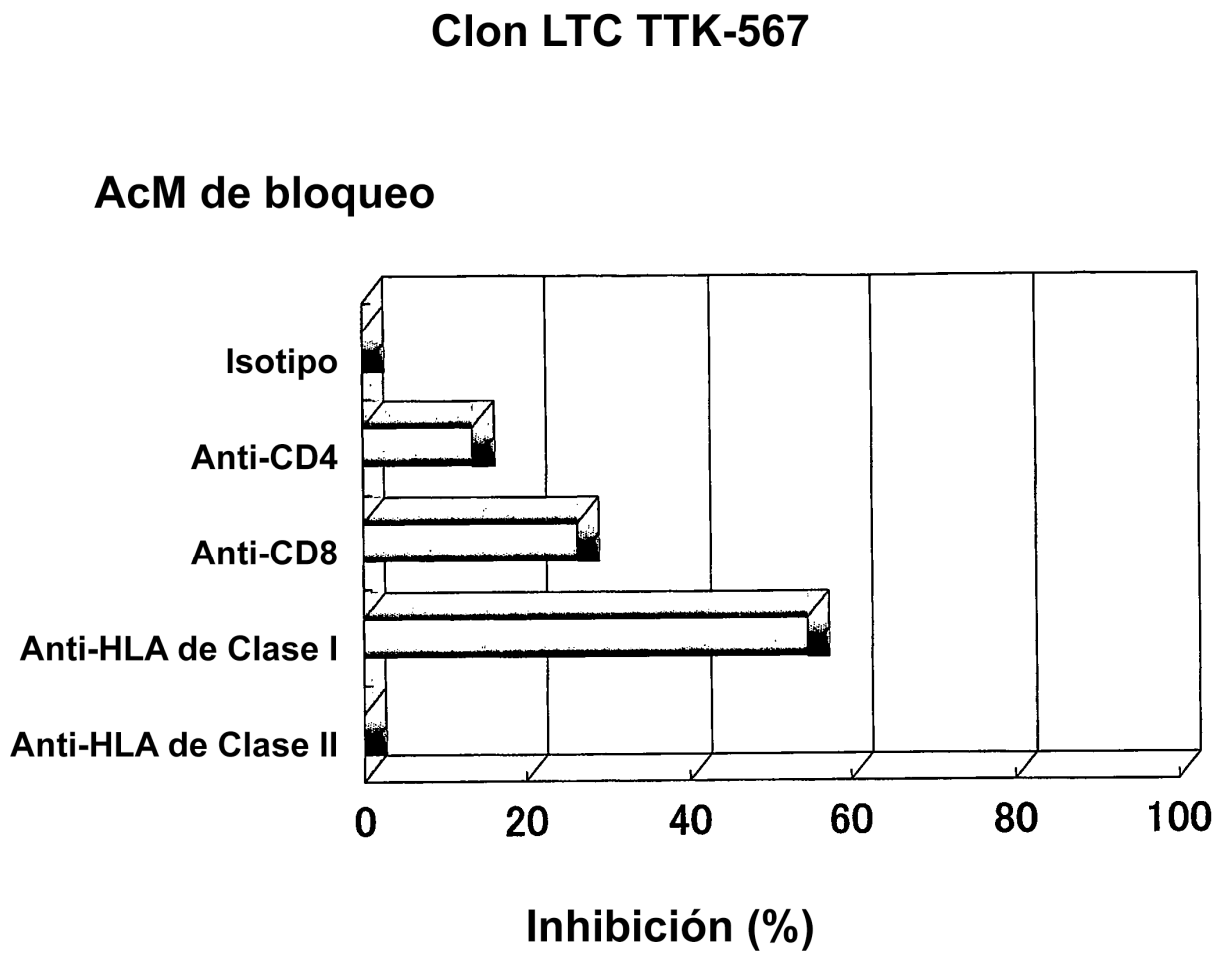


Fig. 11

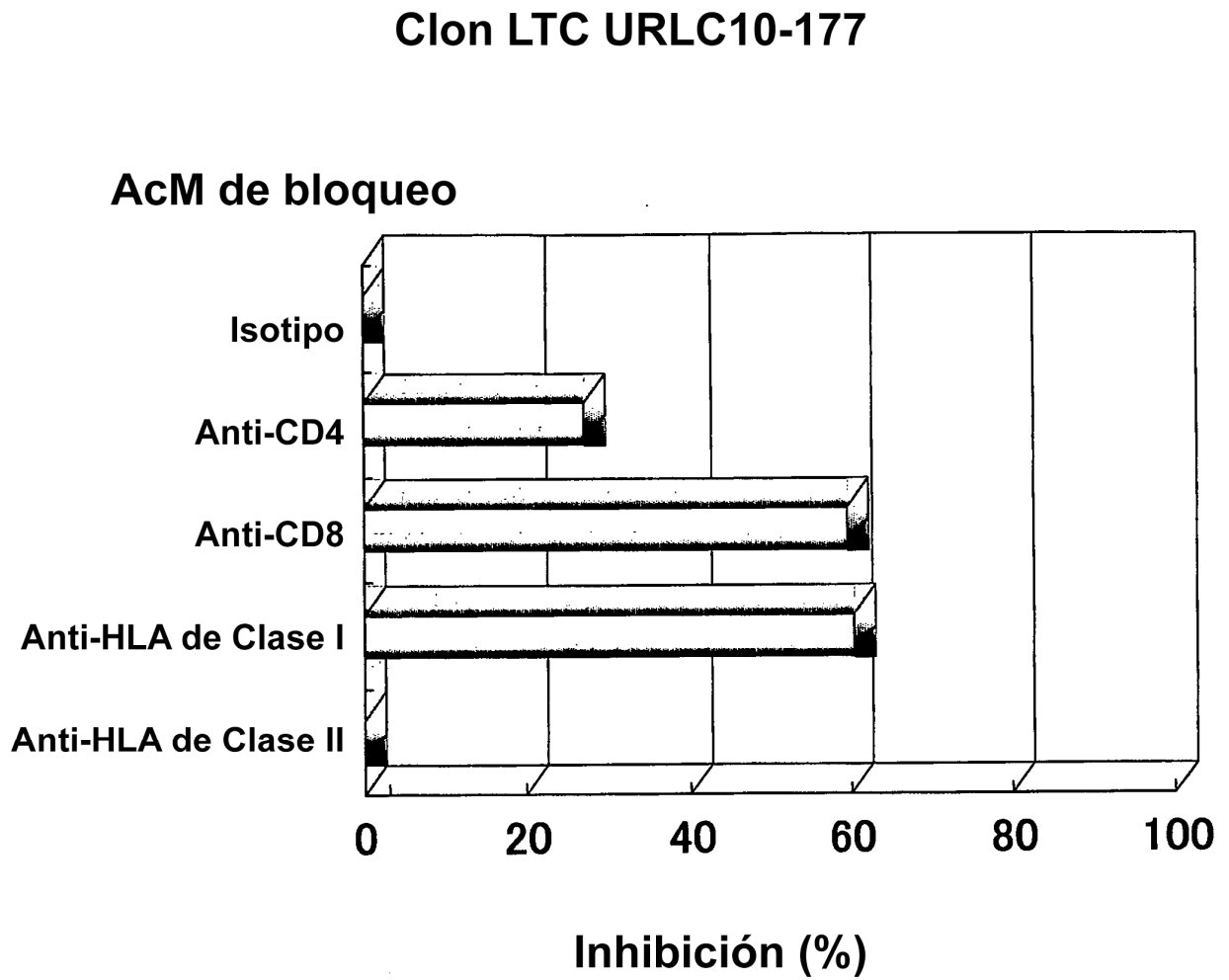


Fig. 12

