

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 172**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 38/04 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2006 E 06704603 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 1853305**

54 Título: **Vacuna de péptido de survivina**

30 Prioridad:

04.02.2005 DK 200500173

07.02.2005 US 650751 P

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

21.11.2014

73 Titular/es:

**SURVAC APS
ALHAMBRAVEJ 3
1826 FREDERIKSBERG, DK**

72 Inventor/es:

ANDERSEN, MADS HALD

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 523 172 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

Vacuna de péptido de survivina

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una vacuna terapéutica que comprende uno o más fragmentos polipeptídicos de survivina. La vacuna se puede usar para el tratamiento profiláctico, de mejora y/o curativo de, por ejemplo enfermedades de cáncer. La memoria descriptiva describe además procedimientos de combinación del tratamiento.

Antecedentes de la invención

10 El sistema inmunitario de mamífero reconoce y reacciona a materiales exógenos o extraños. Una faceta importante del sistema es la respuesta a linfocitos T. Esta respuesta requiere que los linfocitos T reconozcan e interactúen con los complejos de las moléculas de la superficie celular, denominadas antígenos leucocitarios humanos (HLA) que constituyen el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) humano, y péptidos. Los péptidos se derivan de moléculas más grandes, que se procesan por las células, que también presentan la molécula HLA/MHC. La interacción de los linfocitos T y los complejos de HLA/péptido es restringida, lo que requiere un linfocito T sea específico para una combinación particular de una molécula de HLA y un péptido. Si no está presente un linfocito T específico, no se produce una respuesta del linfocito T aún cuando su compañero de complejo esté presente. De forma similar, no se produce una respuesta si el complejo específico está ausente, aunque el linfocito T esté presente.

15 Está bien establecido que los epítomos peptídicos derivados de antígenos asociados con tumores humanos (TAA) se pueden reconocer por los linfocitos T citotóxicos (CTL) en el contexto de moléculas MHC y que la mayoría, si no todos, los tumores expresan dichos antígenos. En consecuencia, se están llevando a cabo esfuerzos clínicos fascinantes para dirigir estos TAA en estrategias tales como la vacunación y el tratamiento con linfocitos T adoptivos con el fin de generar respuestas de CTL antitumorales eficaces en pacientes.

20 Sin embargo, la inmunoselección de variantes con pérdida de antígeno puede ser un serio obstáculo para el potencial curativo de la mayoría de los epítomos de CTL conocidos en oncología clínica, y la selección de tumores mutantes deficientes en antígenos es una limitación bien reconocida en las estrategias terapéuticas cuando se dirigen antígenos que no tienen un papel en el crecimiento del cáncer.

25 El motivo es que los péptidos más caracterizados se derivan en polipéptidos, que no son esenciales para la supervivencia de la célula tumoral. Por tanto, si se inducen respuestas de CTL potentes frente a estos antígenos peptídicos por medidas terapéuticas tales como vacunaciones, es muy probable que las células tumorales que carecen de la expresión del antígeno dirigido eludan las respuestas inmunitarias elevadas.

30 Existe una necesidad de obtener vacunas terapéuticas más eficaces y procedimientos de tratamiento mejorados de enfermedades de cáncer.

35 El mecanismo por el que los linfocitos T reconocen las anomalías celulares también ha estado implicado en el cáncer. En el documento W092/20356, se divulga una familia de genes que se procesan en péptidos que, a su vez, se expresan sobre superficies celulares, y pueden dar lugar a lisis de las células tumorales por CTL específicos. Estos genes se denominan familia MAGE y se dice que codifican "precursores de antígenos de rechazo de tumor" o moléculas "TRAP", y los péptidos derivados de éstos se denominan "antígenos de rechazo de tumor" o "TRA".

40 Sin embargo, aunque en general se acepta que la mayoría, si no todos, los tumores son antigénicos, sólo unos pocos son, de hecho, antigénicos en el sentido de que la progresión tumoral se controla fácilmente por el sistema inmunitario.

45 Para superar esto, se han iniciado varios ensayos inmunoterápicos usando vacunaciones con péptidos derivados de TAA. Para el melanoma, el tumor para el que se ha caracterizado el mayor número de TAA definidos por CTL, se han inducido respuestas de CTL potentes frente a antígenos por vacunación y algunos pacientes experimentaron una remisión completa de su enfermedad. Sin embargo, la mayoría de los epítomos peptídicos usados en estos ensayos de vacunación son específicos de melanocitos, y estos péptidos no se pueden aplicar para tumores de origen no melanocítico. Además, la expresión de estos TAA es heterogénea entre los tumores de diferentes pacientes e incluso puede variar entre las metástasis obtenidas a partir de un paciente. Sin embargo, durante los dos últimos años, se han identificado varios antígenos peptídicos específicos de tumor, que se expresan en varios cánceres diferentes, es decir, HER-2, Muc-1 y telomerasa.

50 También se ha demostrado que mediante manipulación apropiada los antígenos presentes en tumores se pueden exponer al sistema inmunitario. Los estudios han demostrado que el grupo de CD8+ CTL se puede exponer al sistema inmunitario. Los estudios han demostrado que el grupo de CD8+ CTL de la respuesta inmunitaria, solo o en combinación con linfocitos TH CD4+, constituye el grupo efector antitumoral primario de la respuesta inmunitaria adaptiva. Hasta ahora la atención se ha centrado principalmente en el grupo de CTL de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, está siendo más evidente que la respuesta de linfocitos T CD4 desempeña un papel esencial en el rechazo tumoral, en especial en la fase de inducción o en la prolongación de una respuesta de CTL in vivo. En consecuencia, la

incorporación de antígenos tumorales restringidos para clase 1 en protocolos de vacunación de tumor eficaces puede incrementar la eficacia de las vacunas.

La apoptosis es un programa genético de suicidio celular, y se ha sugerido que la inhibición de la apoptosis es un importante mecanismo implicado en la formación de cáncer prolongando la duración de las células que favorecen la acumulación de las mutaciones en transformación. La survivina es un miembro identificado recientemente de la familia de inhibidores de las proteínas apoptóticas (IAP). En un análisis de expresión génica global de aproximadamente 4 millones de transcritos, se identificó la survivina como uno de los genes principales que regulan por incremento de forma invariable en muchos tipos de cáncer pero no en tejido normal. Las neoplasias malignas sólidas que sobreexpresan la survivina incluyen cáncer de pulmón, colon, mama, páncreas y próstata, así como neoplasias malignas hematopoyéticas. Adicionalmente, se ha informado de una serie de cánceres cutáneos con melanoma y sin melanoma son positivos en survivina de forma invariable. La sobreexpresión de survivina en la mayoría de los cánceres humanos sugiere un papel general de inhibición de la apoptosis en la progresión tumoral, un concepto corroborado por la observación de que en el caso de cáncer colorrectal y de vejiga, así como neuroblastoma, la expresión de survivina estaba asociada con un pronóstico desfavorable. La survivina, como otros inhibidores de la apoptosis, se expresa en las células endoteliales durante la angiogénesis tumoral, y la dirección antisentido de la survivina durante la angiogénesis provoca la apoptosis de las células endoteliales, lo que promueve un rápido colapso de los vasos de tipo capilar *in vitro*. Por el contrario, la survivina es indetectable en tejidos adultos normales. Puesto que la survivina se sobreexpresa en la mayoría de los cánceres humanos y la inhibición de su función da como resultado un incremento en la apoptosis, esta proteína podría ser una diana para las respuestas de CTL terapéuticas. La proteína survivina y el uso diagnóstico y terapéutico potencial de la misma se divulgan en el documento US 6.245.523. La survivina es una proteína citoplásmica de 16,5 kDa que contiene una única BIR y una región de hélice carboxiterminal altamente cargada en lugar de un dedo de RING, que inhibe la apoptosis inducida por la retirada del factor de crecimiento (IL-3) cuando se transfiere en precursores de linfocitos B. El gen que codifica la survivina es casi idéntico a la secuencia del receptor de proteasa de células efectoras 1 (EPR-1), pero orientado en sentido opuesto, sugiriendo así la existencia de dos genes separados duplicados en una configuración de cabeza a cabeza. En consecuencia, la survivina se puede describir como un producto de EPR-1 antisentido. Debido a la orientación opuesta de los dos genes, las secuencias de aminoácidos de las proteínas codificadas son diferentes.

De manera funcional, la inhibición de la expresión de survivina por regulación por incremento de su transcrito de EPR-1 antisentido natural da como resultado la apoptosis masiva y la disminución del crecimiento celular.

El documento US 6.245.523 divulga el aislamiento de la survivina purificada y proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican la proteína survivina, y anticuerpos y otras moléculas que se unen a survivina. El documento US 6.245.523 también divulga fragmentos anti-apoptóticamente activos de la proteína survivina y variantes de la misma, en los que se ha insertado un residuo aminoacídico en el extremo N- o C-terminal a, o dentro de, la secuencia de survivina divulgada. Se divulga específicamente que dichos péptidos deben contener residuos funcionales clave requeridos para la apoptosis, es decir, Trp en la posición 67, Pro en la posición 73 y Cys en la posición 84.

Se ha divulgado previamente que se puede elevar una respuesta de linfocitos T específicos débil usando la vacunación con células dendríticas cargadas con péptidos de survivina, como se mide por el ensayo ELISPOT (documento WO2004/067023 y Otto, K. et al., J. Vaccine (2004)). La respuesta era menor de 30 por 10^4 células y la siguiente evaluación del resultado clínico mostró una enfermedad progresiva. Por lo tanto, esta vacuna sólo tiene un uso muy limitado. Por tanto, es de gran interés el desarrollo de vacunas que puedan inducir una respuesta de linfocitos T específicos muy fuerte y, en particular, que puedan inducir una respuesta clínica en la que se inhiba la progresión de la enfermedad.

Sumario de la invención

La presente invención se basa en el descubrimiento de que los péptidos restringidos para MHC de clase I derivados de la proteína survivina, se pueden unir a las moléculas de HLA - MHC clase I y, de este modo, provocar las respuestas inmunitarias de CTL tanto *ex vivo* como *in situ* en pacientes que padecen de una amplia variedad de enfermedades de cáncer. Antes de su uso en el tratamiento, es esencial analizar las respuestas inmunitarias en combinación con los resultados clínicos, para evaluar la utilidad de una composición de vacuna para el tratamiento de cáncer. Una respuesta de linfocitos T específicos después de la inmunización puede ser una prueba para los antígenos potenciales útiles en vacunas, es preferente que la composición de vacuna puede provocar una respuesta de linfocitos T muy fuerte, tal como más de 50 células liberadoras de INF- γ por 10^4 PBMC, ya que esto puede incrementar el éxito de la composición de vacuna para su uso en el tratamiento de cáncer. La presente invención divulga composiciones eficaces particulares de vacuna que pueden inducir la regresión tumoral parcial o completa. Evidentemente, estos hallazgos abren el camino para enfoques terapéuticos novedosos que, debido al hecho de que la survivina parece que se expresa universalmente por las células tumorales, en general, son aplicables en el control de enfermedades de cáncer.

Una composición de vacuna o composición inmunógena como se describe en el presente documento se puede considerar como una composición farmacéutica ya que los péptidos dan lugar a una respuesta de CTL que pueden combatir la neoplasia. Por lo tanto, la composición de vacuna se puede considerar como una vacuna terapéutica o una composición terapéutica o farmacéutica.

La presente invención se refiere a una composición de vacuna que comprende,

- 5 i. uno o más péptidos de survivina restringidos para HLA-A2 seleccionados del grupo que consiste en LLLGEFLKL (SEQ ID NO. 4) y LMLGEFLKL (SEQ ID NO 5) o variantes peptídicas que consisten en 5-20 residuos aminoacídicos, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23; y
- ii. un coadyuvante formulado para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en el que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo para su uso como medicamento.

10 En un aspecto, la memoria descriptiva se refiere a una composición de vacuna que comprende, uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y un coadyuvante formulado para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en el que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo para su uso como medicamento.

15 Un aspecto de la memoria descriptiva se refiere a una variante peptídica de survivina de como máximo 50 residuos aminoacídicos que se puede unir a HLA-B7 que comprende un péptido seleccionado del grupo de: APPAWQPFL (SEQ ID NO: 13) y RPPAWQPFL (SEQ ID NO: 14).

La memoria descriptiva también describe composiciones de vacuna que comprenden uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y en la que la composición comprende:

- 20 i. un péptido de unión a HLA-B7 y/o
un péptido restringido para HLA-A1 y para HLA-A2 y/o
un péptido restringido para HLA-A1 y para HLA-B35
- ii. y un coadyuvante.

25 La memoria descriptiva describe una composición de vacuna que comprende, tres o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23 y en la que,

- i. al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A1, y en la que
- ii. al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A2, y en la que,
- 30 iii. al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B35, y un coadyuvante.

La memoria descriptiva también describe una composición de vacuna que comprende siete o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23,

- i. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A1,
- 35 ii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A2,
- iii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A3,
- iv. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A24,
- v. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A11,
- vi. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B35,
- 40 vii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B7 y un coadyuvante.

45 El desarrollo de tumores sólidos es dependiente de la formación de vasos sanguíneos. La inhibición de la angiogénesis puede prevenir, de este modo, el desarrollo de tumores sólidos. La expresión de survivina, bcl-2 y Mcl-1 en las células endoteliales durante la angiogénesis tumoral, sugiere que las vacunaciones usando péptidos como se describen en el presente documento pueden tener un efecto antiangiogénico.

La memoria descriptiva también describe una vacuna que comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en

un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y un coadyuvante, que puede inducir la infiltración de linfocitos T específicos de antígeno en estroma tumoral en un sujeto para su uso como medicamento.

En un aspecto adicional, la memoria descriptiva se refiere a una composición de vacuna que comprende:

i. un ácido nucleico que codifica:

- 5 a) el polipéptido de survivina (SEQ ID NO: 23),
b) un péptido de survivina o
c) una variante peptídica de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23; y

ii. un adyuvante.

- 10 Un aspecto de la invención se refiere al uso de una composición de vacuna que comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina y un coadyuvante que puede provocar una respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos muy fuerte en un sujeto para la fabricación de un medicamento. Esto es relevante puesto que una respuesta de linfocitos T específicos muy fuerte se puede correlacionar con una mayor tasa de respuestas clínicas buenas. A este respecto, una respuesta de linfocitos T específicos muy fuerte equivale a una respuesta de más de 50
15 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC, cuando se mide por el ensayo de ELISPOT, antes y después de la administración de la composición de vacuna.

Un aspecto de la memoria descriptiva se refiere a un kit en partes que comprende:

i. una composición de vacuna que comprende;

- 20 a) uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23,

b) y un adyuvante,

y

ii. un medicamento secundario.

- 25 Un aspecto de la invención describe un procedimiento de estimulación de una respuesta de linfocitos T específicos fuerte frente a survivina en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento:

a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,

b) administrar dicha composición de vacuna al sujeto, en el que dicha composición de vacuna se puede administrar más de una vez; y

- 30 c) estimular de este modo una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en el sujeto, en el que la respuesta de linfocitos T específicos fuerte, cuando se mide por el ensayo de ELISPOT, antes y después de la administración de la composición de vacuna, es de más de 50 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC,

d) obtener una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en el sujeto.

- 35 Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende;

a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,

b) administrar dicha composición de vacuna a un sujeto, en el que dicha composición de vacuna se administra más de una vez.

- 40 En un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende;

a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,

b) administrar dicha composición de vacuna a un sujeto, en el que dicha composición de vacuna se administra más de una vez.

c) estimular de este modo una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en el sujeto, en el que la respuesta de linfocitos T específicos, cuando se mide por el ensayo de ELISPOT, antes y después de la administración de la composición de vacuna, es de más de 50 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC,

d) obtener una respuesta clínica en el sujeto.

5 En determinados aspectos, la memoria descriptiva se refiere a procedimientos de inducción de la infiltración de linfocitos T específicos de antígeno en estroma tumoral en un sujeto o inhibición de la angiogénesis en un sujeto que comprende;

a) proporcionar una vacuna de acuerdo con la invención,

b) administrar dicha composición de vacuna a un sujeto

10 c) obtener la infiltración de linfocitos T específicos de antígeno en estroma tumoral o la inhibición de la angiogénesis.

Un procedimiento de tratamiento de combinación que incluye la administración simultánea, secuencial o separada en cualquier orden, de:

a) una composición de vacuna de acuerdo con la invención y,

b) un medicamento secundario.

15 **Definiciones:**

AA: Véase "aminoácido".

Coadyuvante Un coadyuvante de vacuna es un componente que incrementa la respuesta inmunitaria específica para un antígeno.

20 Aminoácido: Entidad que comprende una parte aminoterminal (NH_2) y una parte carboxiterminal (COOH) separadas por una parte central que comprende un átomo de carbono, o una cadena de átomos de carbono, que comprende al menos una cadena lateral o grupo funcional. NH_2 se refiere al grupo amino presente en el extremo aminoterminal de un aminoácido o péptido, y COOH se refiere al grupo carboxi presente en el extremo carboxiterminal de un aminoácido o péptido. El término genérico aminoácido comprende aminoácidos tanto naturales como no naturales. Los aminoácidos naturales de nomenclatura estándar como se enumera en J. Biol. Chem., 243: 3552-59 (1969) y adoptados en 37 C.F.R., sección 1,822(b) (2) pertenecen al grupo de aminoácidos enumerados en la tabla 1 en el presente documento a continuación. Los aminoácidos no naturales son lo que no se enumeran en la tabla 1. Los ejemplos de aminoácidos no naturales son los que se enumeran, por ejemplo, en 37 C.F.R. sección 1,822(b) (4), de los que todos se incorporan en el presente documento por referencia. Los residuos aminoacídicos descritos en el presente documento pueden estar en la forma isómera "D" o "L".

Símbolos		Aminoácido
1 letra	3 letras	
Y	Tyr	tirosina
G	Gly	glicina
F	Phe	fenilalanina
M	Met	metionina
A	Ala	alanina
S	Ser	serina
I	He	isoleucina
L	Leu	leucina
T	Thr	treonina
V	Val	valina
P	Pro	prolina
K	Lys	lisina
H	His	histidina
Q	Gln	glutamina

30

(Continuación)

Símbolos		Aminoácido
1 letra	3 letras	
E	Glu	ácido glutámico
W	Trp	triptófano
R	Arg	arginina
D	Asp	ácido aspártico
N	Asn	asparagina
C	Cys	cisteína

Tabla 1. Aminoácidos naturales y sus respectivos códigos.

- 5 Residuo aminoacídico: el término "residuo aminoacídico" pretende englobar los aminoácidos, bien aminoácidos estándar, aminoácidos no estándar o bien pseudoaminoácidos, que se han hecho reaccionar con al menos una de otras especies, tales como 2, por ejemplo 3, tales como más de 3 de otras especies. En particular, los residuos aminoacídicos pueden comprender un enlace acilo en lugar de un grupo carboxilo libre y/o un enlace amina y/o enlace amida en lugar de un grupo amina libre. Además, los residuos aminoacídicos que han reaccionado pueden comprender un enlace éster o tioéster en lugar de un enlace amida.
- 10 Anticuerpo: Son moléculas de inmunoglobulina y porciones activas de moléculas de inmunoglobulina. Los anticuerpos son, por ejemplo, moléculas de inmunoglobulina intactas o fragmentos de las mismas que retienen la actividad inmunológica.
- Antígeno: La molécula reconocida por un anticuerpo. Normalmente un péptido, polipéptido o un polipéptido multímero. Preferentemente, los antígenos pueden provocar una respuesta inmunitaria.
- 15 Gravedad API: Un término usado por la industria del petróleo para expresar la densidad relativa de líquidos de petróleo de acuerdo con valores determinados por el API (American Petroleum Institute). La gravedad API se mide por un instrumento hidrómetro que tiene una escala graduada en grados API.
- CTL: Linfocitos T citotóxicos. Un subgrupo de linfocitos T que expresan CD8 junto con el receptor de linfocitos T y por tanto, pueden responder a los antígenos presentados por las moléculas de clase I.
- 20 Emulsión: Una suspensión de pequeños glóbulos de un líquido en un segundo líquido con el que el primero no se mezcla.
- Emulsionante: un agente tensioactivo que promueve la formación de una emulsión.
- HLA: Antígeno leucocitario humano, también denominado MHC. Las tres moléculas MHC de clase I diferentes, HLA-A, HLA-B y HLA-C se sintetizan por los seres humanos. Las moléculas MHC de clase II humanas se designan como HLA-D.
- 25 Inmunoglobulina: Los anticuerpos séricos, incluyendo IgG, IgM, IgA, IgE y IgD.
- Aislado: se usa para describir cualquiera de los diversos secretagogos, polipéptidos y nucleótidos divulgados en el presente documento, que se han identificado y separado y/o recuperado a partir de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que, típicamente, podrían interferir con usos de diagnóstico o terapéuticos para el polipéptido, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En modos de realización preferentes, se purificará el polipéptido.
- 30 Ligando: Una molécula, por ejemplo un péptido, que puede unirse de forma específica a uno o más receptores análogos. Un antígeno es, por ejemplo, un ligando para sus anticuerpos análogos. MHC: Complejo de histocompatibilidad principal, también denominado como HLA. Existen dos subclases principales de MHC, clase I y clase II.
- 35 Aceite mineral: Aceite derivado de una fuente mineral, tal como petróleo, al contrario que los aceites derivados de plantas y animales. Mezclas de hidrocarburos de composiciones variables. Montanide ISA (Coadyuvante incompleto de Seppic Montanide (*Montanide Incomplete Seppic Adjuvant*)): Un coadyuvante oleoso formulado para una emulsión de agua en aceite. Los coadyuvantes Montanide ISA son un grupo de coadyuvantes a base de aceite/tensioactivos en los que un aceite no metabolizable y/o metabolizable está combinado con tensioactivos (disponible de Seppic, Bélgica).
- 40 PBMC: Células mononucleares de sangre periférica.
- PBL: Leucocito de sangre periférica.

Péptido: Pluralidad de residuos aminoácidos unidos covalentemente que definen una secuencia y unidos por enlaces amida. El término se usa de forma análoga con oligopéptido y polipéptido. Los aminoácidos naturales y/o no naturales se pueden unir por enlaces peptídicos o por enlaces no peptídicos. El término péptido también engloba modificaciones postraduccionales introducidas por reacciones químicas o catalizadas por enzimas, como es conocido en la técnica.

5 Tensión de superficie: Tensión de superficie es la energía requerida para incrementar el área de superficie. Las fuerzas de cohesión entre moléculas de líquido son las responsables de la tensión de superficie y las moléculas en una superficie de líquido cohesionan fuertemente entre sí. Tensioactivo: Un agente activo en superficie que puede reducir la tensión de superficie de un líquido en el que está disuelto. Un tensioactivo es un compuesto que contiene un grupo polar que es hidrófilo y un grupo no polar que es hidrófobo y a menudo está compuesto de una cadena grasa.

10 TAA: Antígeno asociado a tumor.

Descripción detallada de la invención:

La presente invención hace referencia a composiciones de vacuna que comprenden péptidos de survivina y variantes peptídicas de survivina como se describe aquí a continuación.

Composiciones de vacuna

15 La composición de vacuna de acuerdo con la invención se puede formular de acuerdo con procedimientos conocidos tales como por la mezcla de uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables con el agente activo, preferentemente aceptable para su administración a seres humanos. Los ejemplos de dichos excipientes, vehículos y procedimientos de formulación se pueden encontrar, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co, Easton, PA). Para formular una composición farmacéuticamente aceptable adecuada para una
20 administración eficaz, dichas composiciones contendrán, de acuerdo con la invención, una cantidad eficaz de un polipéptido de survivina, un péptido de survivina o una variante peptídica de survivina como se describe en el presente documento.

Las composiciones de vacuna de acuerdo con la invención se pueden administrar a un individuo en cantidades terapéuticamente eficaces. La cantidad eficaz puede variar de acuerdo con una variedad de factores tales como el
25 estado, peso, sexo y edad del individuo. Otros factores incluyen el modo de administración.

A continuación, las composiciones de vacuna pretenden englobar composiciones útiles para un uso terapéutico, incluyendo estimular una respuesta inmunitaria en un paciente, tales como una respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos fuerte después de la administración de dicha composición, y en especial composiciones de vacuna que pueden inducir una respuesta clínica en la lesión diana. Se contempla adicionalmente que la composición de vacuna
30 de la invención no induce ninguna reacción sistémica de toxicidad local o ningún otro efecto secundario.

Para obtener vacunas o composiciones inmunógenas se puede requerir combinar el péptido de survivina relativo pequeño y moléculas de variantes peptídicas de survivina descritas en el presente documento con diversos materiales tales como coadyuvantes, componentes inmunoestimuladores y/o vehículos. Los coadyuvantes se incluyen en la
35 composición de vacuna para potenciar la respuesta inmunitaria específica. Por tanto, en particular es importante identificar un coadyuvante que, cuando se combina con el/los antígeno(s) dé como resultado una composición de vacuna que pueda inducir una respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos fuerte y lo más importante, una respuesta clínica en una lesión diana.

Coadyuvante

40 Se han descrito y usado un gran número de coadyuvantes para la generación de anticuerpos en animales de laboratorio, tales como ratón, ratas y conejos. En dicho entorno, la tolerancia del efecto secundario es más bien alta ya que el objetivo principal es obtener una respuesta de anticuerpo fuerte.

Para su uso y para la aprobación de su uso en fármacos, y en especial, para su uso en seres humanos, se requiere que los componentes de la composición de vacuna, incluyendo el coadyuvante, estén bien caracterizados. Se requiere
45 adicionalmente que la composición tenga un riesgo mínimo de cualquier reacción adversa, tal como granuloma, abscesos o fiebre.

En un modo de realización preferente, la composición de vacuna es adecuada para su administración a un sujeto humano, por tanto, un coadyuvante preferente es adecuado para su administración a un sujeto humano.

La elección del coadyuvante se puede seleccionar adicionalmente por su capacidad para estimular el tipo de respuesta inmunitaria deseada, activación de linfocitos B o/y linfocitos T y la composición de vacuna se puede formular para
50 optimizar la distribución y presentación a los tejidos linfáticos relevantes.

Recientemente, se han propuesto procedimientos que incluyen cargar células presentadoras de antígenos con péptidos antigénicos como un modo altamente eficaz de montar una respuesta inmunitaria dirigida frente a enfermedades de cáncer. Este procedimiento implica aislar las APC (PBL) o células precursoras de APC del paciente y cargar éstas con el péptido antigénico, de forma alternativa se pueden usar células dendríticas y diferenciarse in vitro

en APC y cargarse con el péptido antigénico antes de su inyección en el paciente. Este procedimiento es muy complicado y lleva mucho tiempo. El uso de cultivos celulares hace que sea una composición de vacuna muy inflexible, lo que requiere una preparación e instalaciones de almacenamiento especiales. La presente invención ayuda a identificar una composición de vacuna que se prepara y/o almacena fácilmente.

- 5 Los coadyuvantes útiles en vacunas terapéuticas pueden ser sales minerales, tales como geles de hidróxido de aluminio y fosfatos de aluminio o calcio, emulsiones de aceite y formulaciones a base de tensioactivo tales como MF59 (emulsión de aceite en agua estabilizada con detergente microfluidizado), QS21 (saponina purificada), AS02 (SBAS2, emulsión de aceite en agua + monofosforil lípido A (MPL) + QS21), Montanide ISA 51 y ISA-720 (emulsión de agua en aceite estabilizada), Adjuvant 65 (que contiene aceite de cacahuete, monooleato de manida y monoestearato de aluminio),
- 10 RIBI ImmunoChem Research Inc., Hamilton, Utah), coadyuvantes particulados, tales como virosomas (vehículos liposómicos unilamelares que incorporan hemaglutinina de la gripe), AS04 (sal de Al con MPL), ISCOMS (complejo estructurado de saponinas y lípidos (tales como colesterol), poli(láctido-co-glicólido (PLG), derivados microbianos (naturales y sintéticos) tales como monofosforil lípido A (MPL), Detox (MPL + esqueleto de la pared celular de *M. Phlei*), AGP (RC-529 (monosacárido acilado sintético)), DC_chol (inmunoestimuladores lipoidales que pueden autoorganizarse en liposomas), OM-174 (derivado de lípido A), motivos de CpG (oligonucleótidos sintéticos que contienen motivos de CpG inmunoestimuladores), toxinas bacterianas modificadas, LT y CT, con efectos coadyuvantes no tóxicos, inmunomoduladores humanos endógenos, por ejemplo, hGM-CSF o hIL-12 o Immudaptin (matriz en tándem de C3d), vehículos inertes tales como partículas de oro.
- 15

Se pueden proporcionar los coadyuvantes QS-21 y Montanide ISA-51 en viales estériles, de un solo uso.

- 20 En un modo de realización, la composición de vacuna comprende un coadyuvante y péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina como se describe aquí a continuación. En un modo de realización preferente, el coadyuvante puede ser un coadyuvante incompleto de Seppic Montanide (ISA) (Seppic, Bélgica) que incluye Montanide ISA-51, Montanide ISA 50, Montanide ISA 70, Montanide ISA 206, Montanide ISA 708, Montanide ISA-720, Montanide ISA 763A, Montanide ISA 207, Montanide ISA 264, Montanide ISA 27, Montanide ISA 35, Montanide ISA 740, Montanide ISA 773, Montanide ISA 266, Montanide ISA 267, Montanide ISA 28, Montanide ISA 51F, Montanide ISA 016D y Montanide IMS. Los tres últimos mencionados aún no están aprobados para su uso en seres humanos, pero son potencialmente útiles para la composición de vacuna de acuerdo con la invención.
- 25

Montanide ISA-51 y Montanide ISA-720 son, en especial, para su uso en seres humanos y, por tanto, son preferentes y son coadyuvantes a base de aceite que se deben administrar como emulsiones (véase a continuación).

- 30 En algunos modos de realización, la composición de vacuna puede comprender además uno o más componentes inmunoestimuladores adicionales. Estos incluyen, sin limitación, muramildipéptido (MDP); por ejemplo N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutamina (ala-MDP), N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-nor-muramil-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, nor-MDP) y N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxisforiloxi)-etilamina (CGP 19835A, MTP-PE), dimetilglicina, tuftsina, y trehalosa dimicolato. monofosforil lípido A (MPL), y formilmietionina que contienen tri-péptidos tales como N-formil-Met-Leu-Phe. Dichos compuestos están comercialmente disponibles de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) y RIBI immunoChem Research, Inc. (Hamilton, MT), por ejemplo.
- 35

- 40 Puede estar presente un vehículo independientemente de un coadyuvante. La función de un vehículo puede ser, por ejemplo, incrementar el peso molecular de, en particular, fragmentos de survivina con el fin de incrementar su actividad o inmunogenicidad, para conferir estabilidad, para incrementar la actividad biológica o para incrementar la semivida en suero. El vehículo puede ser cualquier vehículo adecuado conocido para el experto en la técnica. Una proteína transportadora podría ser, pero no se limita a, hemocianina de lapa californiana, proteínas séricas tales como transferrina, seroalbúmina bovina, seroalbúmina humana, tiroglobulina u ovoalbúmina, inmunoglobulinas, u hormonas, tales como insulina o ácido palmítico. Para la inmunización de seres humanos, el vehículo debe ser un vehículo fisiológicamente aceptable, aceptable para seres humanos y seguro. Sin embargo, el toxoide tetánico y/o toxoide diftérico son vehículos adecuados en un modo de realización de la invención. De forma alternativa, el vehículo puede ser dextranos, por ejemplo, sefarosa.
- 45

Las emulsiones de aceite y las vacunas a base de tensioactivo se pueden agrupar como formulaciones de agua en aceite, aceite en agua y agua en aceite en agua.

- 50 El coadyuvante usado para la formulación de aceite en agua puede ser un aceite mineral o/y un aceite no mineral y un tensioactivo/emulsionante. El coadyuvante se mezcla con la composición de antígeno acuosa proporcionando la formulación de vacuna.

- 55 De acuerdo con la invención, el aceite puede ser metabolizable o no metabolizable o una mezcla de aceites metabolizables y no metabolizables. Los aceites no minerales se metabolizan y se eliminan rápidamente del sitio de inyección, por tanto tienen muy pocos efectos secundarios pero de forma fluida, la respuesta inmunitaria es igualmente pequeña, mientras que los aceites minerales sólo se metabolizan en parte y tienen un mayor riesgo de inducir efectos indeseables junto con una buena respuesta inmunitaria.

Es preferente que el aceite esté premezclado con un agente emulsionante, tal como monooleato de manida, antes de la adición de la fase acuosa de la vacuna, y emulsionado por el uso de un molino coloidal o emulsionante mecánico continuo o ultrasónico de flujo.

5 Las emulsiones dobles más complejas (agua/aceite/agua) se pueden producir emulsionando una vez más en una fase acuosa que contiene una pequeña cantidad de Tween 80.

Se han realizado avances significativos en los últimos años que han observado la introducción de coadyuvantes de aceite "listos para su uso" alternativos. Los aceites que contienen ésteres de ácido octadecenoico y anhidromanitol, por ejemplo, forman fácilmente emulsiones dobles o mezcladas (agua/aceite/agua), que son tanto estables como de baja viscosidad, sin el requisito de un equipo de emulsificación sofisticado.

10 En un modo de realización, el coadyuvante preferente es para una formulación de vacuna de agua en aceite.

En un modo de realización, el componente de aceite preferente puede ser aceite no mineral. En un modo de realización preferente, el coadyuvante se selecciona del grupo de Montanide ISA (coadyuvante incompleto de Seppic) a base de aceite no mineral, tal como Montanide ISA 708, Montanide ISA-720, Montanide ISA 763A, Montanide ISA 207, Montanide ISA 264, Montanide ISA 27 y Montanide ISA 35.

15 De forma alternativa, el coadyuvante puede comprender aceite no mineral o/y aceite mineral. Por tanto, en un modo de realización preferente, el coadyuvante se selecciona del grupo de Montanide ISA (coadyuvante incompleto de Seppic) a base de aceite no mineral o/y aceite mineral, tal como Montanide ISA 740, Montanide ISA 773, Montanide ISA 266, Montanide ISA 267, Montanide ISA 28, y Montanide IMS, de los que el último aún no está aprobado para su uso en seres humanos.

20 En un modo de realización más preferente, el componente de aceite es un aceite mineral. En un modo de realización preferente, el coadyuvante se selecciona del grupo de Montanide ISA (coadyuvante incompleto de Seppic (Seppic, Bélgica)) a base de aceite mineral, tal como Montanide ISA 50, Montanide ISA-51, Montanide ISA 70, Montanide ISA 206, y Montanide ISA 51F y Montanide ISA 016D, de los que los dos últimos aún no están aprobados para su uso en seres humanos.

25 La composición del aceite mineral, por ejemplo, la longitud de las cadenas de carbonos, afecta a la eficacia del coadyuvante, las cadenas cortas inducen una respuesta inmunitaria fuerte pero confieren efectos secundarios locales mientras que la respuesta usando cadenas largas es menor pero sin ningún efecto secundario notable, por tanto, el aceite mineral debe estar bien caracterizado y tener una composición equilibrada de cadenas de carbono largas y cortas. Es preferente que el aceite mineral tenga menos de un 8 %, o tal como menos de un 7 %, o tal como menos de un 6 % y lo más preferentemente menos de un 5 % de hidrocarburos con una longitud de la cadena de menos de C14.

30 Es preferente que el aceite mineral no contenga hidrocarburos aromáticos o insaturados. Es preferente que el componente de aceite tenga una gravedad API de 32-40, o tal como 35-37 y en especial tal como 36,2-36,8.

Además, es preferente que el aceite mineral tenga una gravedad específica a 25 °C de 0,82-0,84 o tal como 0,83-0,84. Es más preferente que el aceite mineral tenga una gravedad específica a 25 °C de 0,834-0,838.

35 Es preferente un aceite mineral con una viscosidad a 37,8 °C (100 F) de 55-65 SSU, más preferentemente, se usa un aceite mineral con una viscosidad de 27-61 y es particularmente preferente que el aceite mineral tenga una viscosidad a 37,8 °C (100 F) de 59-61 SSU.

Es preferente que el aceite mineral tenga un índice de refracción a 25 °C de 1,2-1,6, o tal como 1,3-1,6 o tal como 1,4-1,5 y lo más preferentemente 1,458-0,463.

40 Es adicionalmente preferente que el aceite mineral tenga una o más de las siguientes características;

- a) una prueba de ácido mejor que mínima,
- b) negativo para fluorescencia a 360 nm,
- c) negativo para materia en suspensión visible,
- d) tenga un punto de inflamación ASTM mínimo de 295 F,

45 e) cumpla con todos los requisitos de RN para aceite mineral ligero y absorción ultravioleta.

El aceite mineral debe ser de calidad farmacéutica.

50 Drakeol 6 VR (Penreco, Texas) es un aceite mineral de calidad farmacéutica. Drakeol 6 VR no contiene hidrocarburos insaturados o aromáticos, y tiene una gravedad API de 36,2-36,8, una gravedad específica a 25 °C de 0,834-0,838, una viscosidad a 37,8 °C (100 F) de 59-61 SSU o 10,0-10,6 centistokes, un índice de refracción a 25 °C de 1,458-0,463, una prueba de ácido mejor que negativa, es negativo para fluorescencia a 360 nm, es negativo para

materia en suspensión visible, tiene un valor de prueba de fluidez ASTM de 0-15 F, tiene un punto de inflamación ASTM mínimo de 295 F, y cumple con todos los requisitos de RN para aceite mineral ligero y absorción ultravioleta. Menos de un 5 % del aceite mineral está constituido por hidrocarburos con cadenas cortas.

En el modo de realización más preferente, el aceite mineral es Drakeol 6 VR.

5 Tensioactivo

La tensión de superficie del coadyuvante se puede regular por un tensioactivo, que afecta por tanto a la viscosidad del coadyuvante y a la formulación de vacuna. El efecto tóxico de un tensioactivo está correlacionado con el nivel residual de ácidos grasos, por tanto se requiere un tensioactivo de alta calidad con un bajo nivel de ácidos grasos. El tensioactivo debe ser de calidad farmacéutica.

10 Un coadyuvante de acuerdo con la invención puede comprender un tensioactivo.

En un modo de realización, el coadyuvante se formula para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en la que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo.

15 Un aspecto de la memoria descriptiva se refiere a una composición de vacuna que comprende: i. uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y ii. un coadyuvante formulado para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en el que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo para su uso como medicamento.

20 En otro modo de realización, el coadyuvante comprende de un 2 a un 14 % vol. de dicho tensioactivo, tal como de un 5 a un 14 % vol. de dicho tensioactivo, tal como de un 6 a un 13 % vol. de dicho tensioactivo, tal como de un 7 a un 12 % vol. de dicho tensioactivo o tal como de un 8 a un 12 % vol. de dicho tensioactivo.

Es preferente que la especie de ácido graso predominante del tensioactivo sea C18' que constituye de un 65 a un 88 % de la composición.

Es adicionalmente preferente que el tensioactivo sea un aceite, tal como un líquido lipídico con un valor de ácido máximo de 1.

25 Además, es preferente que el tensioactivo tenga un valor de saponificación de 150-190, o tal como 160-170, o tal como 162-175, y lo más preferente un valor de saponificación de 164-172.

Además, es preferente que el tensioactivo tenga un valor hidroxilo de 70-120, o tal como 80-110, o tal como 80-110, 85-105, y lo más preferente un valor hidroxilo de 89-100.

30 Además, es preferente que el tensioactivo tenga un valor de yodo de 40-100 o tal como 50-90, o tal como 60-80, o tal como 65-78, y lo más preferente un valor de yodo de 67-75.

Además, es preferente que el tensioactivo tenga un valor de metales pesados de menos de 40 ppm o tal como 30 ppm, o tal como 25 ppm, o tal como 22 ppm, y lo más preferente un valor de metales pesados de menos de 20 ppm.

Además, es preferente que el tensioactivo tenga un contenido en agua máximo de un 50 %, o tal como un 45 %, o tal como un 40 %, o tal como un 37 %, y lo más preferente un contenido en agua máximo de un 0,35 %.

35 Además, es preferente que el tensioactivo tenga una viscosidad a 25 °C de tal como 200-400 mPaS, o tal como 225-375 mPaS, o tal como 250-350 mPaS, o tal como 275-325 mPaS, y lo más preferente una viscosidad a 25 °C de aproximadamente 300 mPaS.

En un modo de realización preferente, el tensioactivo es oleato de manida también conocido como octadecenoato de manitol.

40 El Montanide 80 se basa en ácido oleico (distribución de varios ácidos grasos) en el que la especie de ácido graso predominante es C18', que constituye de un 65 a un 88 % de la composición. El aceite es un líquido lipídico con un valor de ácido máximo de 1, un valor de saponificación de 164-172, un valor hidroxilo de 89-100, un valor de yodo de 67-75, un valor de peróxido máximo de 2, un valor de metales pesados de menos de 20 ppm, un contenido en agua máximo de un 0,35%, un valor de color máximo de 9 y una viscosidad a 25 °C de aproximadamente 300 mPaS.

45 En un modo de realización más preferente, el coadyuvante comprende el tensioactivo oleato de manida, Montanide 80 (Seppic, Bélgica).

En otro modo de realización preferente, el coadyuvante comprende el aceite mineral Drakeol 6VR y el tensioactivo oleato de manida (Montanide 80).

- En un modo de realización preferente, el coadyuvante comprende el aceite mineral Drakeol 6VR y el tensioactivo oleato de manida, en el que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % del tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro (Montanide 80).
- 5 En un modo de realización más preferente, el coadyuvante comprende de un 2 a un 14 % vol. de dicho tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro, tal como de un 5 a un 14 % vol. de dicho tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro, tal como de un 6 a un 13 % vol. de dicho tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro, tal como de un 7 a un 12 % vol. de dicho tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro o tal como de un 8 a un 12 % vol. de dicho tensioactivo octadecenoato de manitol anhidro.
- 10 En un modo de realización, el coadyuvante es un líquido amarillo claro con una densidad a 20 °C de aproximadamente 0,7-1,0 o 0,8-0,9 o preferentemente de aproximadamente 0,85.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene una viscosidad a 20 °C de menos de 500 mPaS, tal como menos de 250mPaS o tal como 25-150 mPaS o preferentemente de aproximadamente 150 mPaS.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene un valor ácido máximo de 0,5.
- 15 En un modo de realización, el coadyuvante tiene un valor de saponificación de 10-40, tal como 12-30, tal como 14-25 o preferentemente 16-20.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene un valor hidroxilo de 5-20, o tal como 6-18 o tal como 7-15 o preferentemente 9-13.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene un valor de peróxido máximo de 5 o 4 o 3 o preferentemente 2.
- 20 En un modo de realización, el coadyuvante tiene un valor de yodo de 1-20, tal como 2-15, tal como 3-12 o preferentemente tal como 5-9.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene un contenido en agua máximo de un 2 por ciento, tal como de un 1,5 por ciento, tal como de un 1 por ciento o tal como preferentemente 0,5 por ciento.
- En un modo de realización, el coadyuvante tiene un índice de refracción a 25 °C de entre 1,450 y 1,470 o de entre 1,455 y 1,465 o preferentemente de entre 1,461-1,463.
- 25 En un modo de realización, la conductividad de una mezcla 50: 50 de coadyuvante y solución salina es de menos de 20 μScm^{-1} , 15 μScm^{-1} , 12 μScm^{-1} o preferentemente de menos de 10 μScm^{-1} .
- 30 Montanide ISA 51 contiene oleato de manida (Montanide 80) en una solución de aceite mineral (Drakeol 6 VR). Montanide ISA 51 contiene aproximadamente de un 8 a un 12 por ciento de octadecenoato de manitol anhidro y aproximadamente de un 88 a un 92 por ciento de aceite mineral. Montanide ISA 51 es un líquido amarillo claro con una densidad a 20 °C de aproximadamente 0,85 y una viscosidad a 20 °C de aproximadamente 50 mPaS. Montanide ISA 51 se caracteriza por tener un valor de ácido máximo de 0,5, un valor de saponificación de 16-20, un valor hidroxilo de 9-13, un valor de peróxido máximo de 2, un valor de yodo de 5-9, un contenido en agua máximo de un 0,5 por ciento, un índice de refracción a 25 °C de entre 1,455 y 1,465 o preferentemente de entre 1,461 -1,463. La conductividad de una mezcla 50:50 de Montanide ISA 51 y solución salina es de menos de 10 μScm^{-1} .
- 35 En un modo de realización más preferente, el coadyuvante es un coadyuvante incompleto de Seppic Montanide.
- La memoria descriptiva describe una composición de vacuna que comprende:
- i. uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23; y
- 40 ii. un coadyuvante formulado para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en la que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo, en la que el coadyuvante es Montanide ISA 51.
- Péptido o variantes peptídicas de survivina
- 45 Las dianas ideales para inmunoterapia son productos génicos silenciados en tejidos normales, se sobreexpresan en células cancerosas y están implicados directamente en la supervivencia y progresión de las células tumorales. La survivina cumple potencialmente con estas características, debido a que suprime la apoptosis además de estar implicada en la regulación de la división celular. Por lo tanto, la survivina previene la muerte fisiológica de las células y, por tanto, prolonga la supervivencia celular.
- 50 La survivina es una proteína citoplásmica de 16, 5 kDa que contiene una única BIR y una región de hélice carboxiterminal altamente cargada en lugar de un dedo de RING. La secuencia codificante es de 429 nucleótidos de

largo (SEQ ID NO: 22) incluyendo codones de terminación y la proteína codificada survivina es de 142 aminoácidos de largo (SEQ ID NO: 23).

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina.

5 En un modo de realización, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina comprenden el polipéptido de survivina de longitud completa (SEQ ID NO: 23) que consiste en 142 residuos aminoácidos.

Preferentemente, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina comprenden al menos 5 residuos aminoácidos, y más preferentemente comprenden al menos 7 residuos aminoácidos, al menos 8 residuos aminoácidos, al menos 9 residuos aminoácidos, al menos 10 residuos aminoácidos, al menos 11 residuos aminoácidos, al menos 12 residuos aminoácidos, al menos 14 residuos aminoácidos, al menos 16 residuos aminoácidos, al menos 18 residuos aminoácidos o al menos 20 residuos aminoácidos.

En un modo de realización, es preferente además que uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina consisten en como máximo 142 residuos aminoácidos o tales como ,como máximo 120 residuos aminoácidos, o tales como, como máximo 100 residuos aminoácidos, y preferentemente como máximo 80 residuos aminoácidos o tales como, como máximo 50 residuos aminoácidos, y más preferentemente consisten en como máximo 20 residuos aminoácidos, tales como, como máximo 18, tales como, como máximo 16, tales como como máximo 14, tales como, como máximo 12, tales como, como máximo 11, tales como, como máximo 10 residuos aminoácidos.

En un modo de realización, la composición de vacuna comprende uno o más péptidos o variantes peptídicas que consisten en al menos 5 residuos aminoácidos y como máximo 20 residuos aminoácidos consecutivos de SEQ ID NO: 23.

En un modo de realización, es preferente además que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina consisten en como máximo 142 residuos aminoácidos consecutivos de SEQ ID NO 23 o tales como, como máximo 120 residuos aminoácidos consecutivos, o tales como, como máximo 100 residuos aminoácidos consecutivos, y preferentemente como máximo 80 residuos aminoácidos consecutivos o tales como, como máximo 50 residuos aminoácidos consecutivos, y más preferentemente consisten en como máximo 20 residuos aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 18 aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 16 aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 14 aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 12 aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 11 aminoácidos consecutivos, tales como, como máximo 10 residuos aminoácidos consecutivos de SEQ ID NO 23.

En modos de realización específicos, el péptido consiste en un heptapéptido, un octapéptido, un nonapéptido, un decapeptido o un undecapéptido, que consiste en 7, 8, 9, 10,11 residuos aminoácidos consecutivos de SEQ ID NO: 23, respectivamente.

La presente invención también engloba variantes y equivalentes funcionales de los péptidos de survivina como se divulga en el presente documento. "Equivalentes funcionales" como se usa en el presente contexto, se establece por medio de referencia a la funcionalidad correspondiente de un fragmento predeterminado de la secuencia en cuestión. Se puede establecer la equivalencia funcional, por ejemplo, por afinidades de unión similares a las moléculas HLA de clase I, o potencia similar demostrada por el ensayo de ELISPOT.

Se entenderá que los equivalentes funcionales o variantes de un péptido derivado de survivina, como se describe en el presente documento, presentan secuencias de aminoácidos que difieren gradualmente de las secuencias predeterminadas, preferentes, como el número y el alcance de las inserciones, deleciones y sustituciones incluyendo sustituciones conservadoras. Esta diferencia se puede medir como una reducción en la identidad entre una secuencia predeterminada, preferente, y la variante derivada de survivina o equivalente funcional derivado de survivina.

La identidad entre secuencias de aminoácidos se puede calcular usando algoritmos bien conocidos en la técnica. Los fragmentos que comparten homología con fragmentos que comprenden o que consisten en residuos aminoácidos derivados de survivina consecutivos se consideran que entran dentro del alcance de la presente invención cuando son, preferentemente, a lo largo de la longitud completa, idénticos tal como al menos un 75%, idénticos tal como al menos un 80 %, idénticos tal como al menos un 85 %, idénticos tal como al menos un 88 %, idénticos al menos un 90%, idénticos tal como al menos un 94%, incluyendo idénticos en un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% con un péptido derivado de survivina predeterminado.

La composición de vacuna de acuerdo con la invención comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23.

Un ejemplo de una variante peptídica de acuerdo con la invención es el péptido LLLGEFLKL (survivin_{96,104}L2,) (SEQ ID NO: 4) en la que la variante peptídica es idéntica en un 8/9 *100 % (89 %) con la secuencia de survivina "LTLGEFLKL".

5 La denominación usada anteriormente para describir variantes peptídicas se usa en toda la presente solicitud: Una letra seguida de un número, por ejemplo L2, indica el aminoácido de la variante (L) que ha reemplazado al aminoácido de otro modo presente en la posición 2 del péptido dado. El péptido dado está indicado por un número, indicando este número el número del primer aminoácido del péptido en relación con la secuencia de survivina de longitud completa (surviving₉₆ o Sur96 se inicia con el residuo número 96 de survivina) o dos números, en los que el segundo número da el residuo final del péptido con respecto a survivina.

10 Las variantes peptídicas se pueden derivar de la secuencia conocida de survivina, por ejemplo, la secuencia divulgada en el documento US 6.245. 523 (SEQ ID NO: 23 en el presente documento). La selección de péptidos que tienen potencialmente la capacidad para unirse a una molécula HLA particular se pueden preparar usando la alineación de secuencias conocidas que se unen a una molécula HLA particular para revelar la predominancia de unos pocos aminoácidos relacionados en posiciones particulares en los péptidos. Dichos residuos aminoacídicos predominantes también se denominan en el presente documento "residuos de anclaje" o "motivos de residuos de anclaje". Siguiendo un procedimiento relativamente sencillo de este tipo basado en datos de secuencias conocidas que se pueden encontrar en bases de datos accesibles, los péptidos se pueden derivar de la molécula de proteína survivina, que es probable que se unan a la molécula HLA particular. Los ejemplos representativos de dichos análisis para una gama de moléculas HLA se dan en la tabla 2 a continuación:

15

ES 2 523 172 T3

Tabla 2. Motivos de residuos de anclaje principales empleados.

Alelo HLA	Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 5	Posición 6	Posición 7	C-terminal
HLA-A1		T,S	D,E			L	Y
HLA-A2		L,M			V		L,V
HLA-A3		L,V,M	F,Y				K,Y,F
HLA-A11		V,I,F,Y	M,L,F,Y,				K, R
HLA-A23		I,Y					W,I
HLA-A24		Y		i,v	F		I,L,F
HLA-A25		M,A,T	I				W
HLA-A26	E,D	V,T,I,L,F			I.L.V		Y,F
HLA-A28	E,D	V,A,L					A,R
HLA-A29		E					Y,L
HLA-A30		Y,L,F,V					Y
HLA-A31			UM.F.Y				R
HLA-A32		I,L					W
HLA-A33		Y,I,L,V					R
HLA-A34		V,L					R
HLA-A66	E,D	T,V					R,K
HLA-A68	E.D	T,V					R,K
HLA-A69		V,T,A					V,L
HLA-A74		T					V,L
HLA-B5		A,P	F,Y				I,L
HLA-B7		P					L,F
HLA-B8			K	K,R			L
HLA-B14		R,K					L,V
HLA-B15 (B62)		Q,L,K,P, H,V,I,M, S,T					F,Y,W
HLA-B17							L,V
HLA-B27		R					Y, K,F,L
HLA-B35		P					I, L, M, Y
HLA-B37		D,E					I,L,M
HLA-B38		H	D.E				F,L
HLA-B39		R,H					L,F
HLA-B40 (B60,61)		E	F.I.V				L,V,A,W ,M,T,R
HLA-B42		UP					Y,L
HLA-B44		E					F,Y,W

(Continuación)

Alelo HLA	Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 5	Posición 6	Posición 7	C-terminal
HLA-B46		M,I,L,V					Y,F
HLA-B48		Q,K					L
HLA-B51		A,P,G					F,Y,I,V
HLA-B52		Q	F,Y				I,V
HLA-B53		P					W,F,L
HLA-B54		P					
HLA-B55		P					A,V
HLA-B56		P					A,V
HLA-B57		A,T,S					F,W,Y
HLA-B58		A,T,S					F,W,Y
HLA-B67		P					L
HLA-B73		R					P
HLA-Cw1		A,L					L
HLA-Cw2		A,L					F,Y
HLA-Cw3		A,L					L,M
HLA-Cw4		Y,P,F					L,M,F,Y
HLA-CW6							L,I,V,Y
HLA-Cw6		Y					L,Y,F
HLA-Cw8		Y					L,I
HLA-Cw16		A,L					L,V

5 Por tanto, como ejemplo, los nonapéptidos que tienen potencialmente la capacidad de unirse a HLA-A1 tendrían una de las siguientes secuencias: Xaa-T-D-Xaa-Xaa-Xaa-L-Xaa-Y, Xaa-T-E-Xaa-Xaa-Xaa-L-Xaa-Y, Xaa-S-D-Xaa-Xaa-Xaa-L-Xaa-Y o Xaa-S-E-Xaa-Xaa-Xaa-L-Xaa-Y (indicando Xaa cualquier residuo aminoácido). De manera similar, se pueden designar secuencias que tienen potencialmente la capacidad para unirse a cualquier otra molécula HLA.

Se apreciará que la persona experta en la técnica podrá identificar otros "motivos de residuos de anclaje" para una molécula HLA dada.

10 Por tanto, una variante peptídica de acuerdo con la invención incluye péptidos que comprenden una secuencia que incluye cualquiera de los residuos aminoácidos enumerados en la tabla 2 para cada HLA específico.

15 De forma alternativa, se pueden medir las diferencias directamente comparando el número de sustituciones en un péptido en comparación con una secuencia de aminoácidos consecutiva de survivina. Por lo tanto, en un modo de realización, la vacuna comprende una variante peptídica de survivina que consiste en 7-20 aminoácidos consecutivos que comprenden sustituciones de uno o dos aminoácidos en comparación con una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23. En un modo de realización más preferente, la composición de vacuna comprende una variante peptídica de survivina que consiste en 7-12 aminoácidos consecutivos que comprenden un sustituciones de un aminoácido en comparación con una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23.

20 El surco de unión de las moléculas MHC de clase 1 se ajusta perfectamente a un péptido de 9 o 10 aminoácidos. En un modo de realización más preferente, la composición de vacuna comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina que consisten en 9 o 10 residuos aminoácidos.

25 Basándose en la secuencia de la proteína survivina seleccionada, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se puede derivar por cualquier tratamiento químico o enzimático apropiado del material de partida de survivina que dé como resultado un péptido de un tamaño adecuado como se indica anteriormente, o se puede sintetizar por cualquier procedimiento de síntesis peptídica convencional con los que el experto en la técnica está familiarizado.

El péptido de la invención puede tener una secuencia que es una secuencia natural de la proteína survivina a partir de la que se deriva. Sin embargo, los péptidos que tiene una mayor afinidad por cualquier molécula HLA dada se pueden derivar de una secuencia natural de este tipo modificando la secuencia por sustitución, delección o adición de al menos

un residuo aminoacídico, por ejemplo, en base al procedimiento descrito anteriormente en el que se identifican los motivos de residuos de anclaje con respecto a la molécula HLA dada (véase la tabla 2).

5 Por tanto, en un modo de realización, la composición de vacuna comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas, en la que la secuencia de la(s) variante(s) peptídica(s) de survivina se pueden derivar de una secuencia natural por sustitución, delección o adición de al menos un residuo aminoacídico, en el que se obtiene un péptido que tiene motivos de residuos de anclaje para una molécula HLA dada.

10 En consecuencia, para incrementar la inmunogenicidad de péptidos derivados de survivina, se pueden introducir sustituciones de aminoácidos en las posiciones de anclaje, pero no en residuos de contacto de TCR, para incrementar la unión peptídica a la molécula HLA de clase I. Esto ha dado como resultado más epítomos inmunógenos, por ejemplo, esto ha potenciado la capacidad para inducir CTL positivo para cáncer y se ha demostrado que es más adecuado para la inducción de respuestas de CTL clínicamente significativas. De forma importante, sin embargo, las células cancerosas diana sólo expresan y presentan el péptido derivado de survivina natural sobre la superficie celular. A este respecto, es de crucial importancia que el CTL inducido por tratamiento específico para los péptidos derivados de survivina modificados reacciona de forma cruzada con los análogos naturales.

15 En un modo de realización, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a al menos una de las moléculas MHC de clase I seleccionadas del grupo de: HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A11, HLA-A23, HLA-A24, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A28, HLA-A29, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A32, HLA-A33, HLA-A34, HLA-A66, HLA-A68, HLA-A69, HLA-A74, HLA-B5, HLA-B7, HLA-B8, HLA-B14, HLA-B15 B62), HLA-B17, HLA-B27, HLA-B35, HLA-B37, HLA-B38, HLA-B39, HLA-B40 (B60,61), HLA-B42, HLA-B44, HLA-B46, HLA-B48, HLA-B51, HLA-B52, HLA-B53, HLA-B54, HLA-B55, HLA-B56, HLA-B57, HLA-B58, HLA-B67, HLA-B73, HLA-Cw1 HLA-Cw2, HLA-Cw3, HLA-Cw4, HLA-Cw6,HLA-Cw6.

20 Por tanto, aún en otro modo de realización, el uno o más péptidos se restringen a al menos una de las moléculas MHC clase I seleccionadas del grupo de: HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A11, HLA-A24, HLA-B7, HLA-B35, HLA-B44, HLA-B8, HLA-B15, HLA-B27 y HLA-B51, HLA-Cw1, HLA-Cw2, HLA-Cw3, HLA-Cw4, HLA-Cw5, HLA-Cw6, HLA-Cw7 y HLA-Cw16.

25 En un modo de realización específicamente preferente, el uno o más péptidos se restringen a al menos una de las moléculas MHC de clase I seleccionadas del grupo de: HLA-A1, HLA-A2, HLA-B7 y HLA-B35.

30 La vacuna de acuerdo con la invención puede comprender dos o más péptidos con la misma especificidad de tejido ya que la eficacia de los péptidos individuales puede variar en diferentes individuos. Por tanto, en un modo de realización, dos o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a una molécula MHC de clase I HLA seleccionada del grupo de: HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A11, HLA-A23, HLA-A24, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A28, HLA-A29, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A32, HLA-A33, HLA-A34, HLA-A66, HLA-A68, HLA-A69, HLA-A74, HLA-B5, HLA-B7, HLA-B8, HLA-B14, HLA-B15 B62), HLA-B17, HLA-B27, HLA-B35, HLA-B37, HLA-B38, HLA-B39, HLA-B40 (B60,61), HLA-B42, HLA-B44, HLA-B46, HLA-B48, HLA-B51, HLA-B52, HLA-B53, HLA-B54, HLA-B55, HLA-B56, HLA-B57, HLA-B58, HLA-B67, HLA-B73, HLA-Cw1, HLA-Cw2, HLA-Cw3, HLA-CW4, HLA-Cw6, HLA-Cw6.

35 En otro modo de realización, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a al menos una de las moléculas MHC de clase I HLA-A seleccionadas del grupo de: HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A9, HLA-A 10, HLA-A 11, HLR-Aw 19, HLA-A23 (9),HLA-A24 (9), HLA-A25 (10), HLA-A26(10), HLA-A28, HLA-A29(w19),HLAnA30 (w19), HLA-A31 (w19), HLA-A32 (w19), HLA-Aw33(w19), HLA-Aw34(10), HLA-Aw36, HLA-Aw43, HLA-Aw66 (10), HLA-Aw68(28), HLA-A69 (28). También se usan designaciones más sencillas en toda la literatura, en la que sólo se usa la designación numérica principal, por ejemplo, HLA-A19 o HLA-A24 en lugar de HLA-Aw19 y HLA-A24 (9), respectivamente. En modos de realización específicos, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a una especie MHC de clase I HLA seleccionada del grupo que consiste en; HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A11 y HLA-A24.

40 La memoria descriptiva describe que uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-A 1.

45 La memoria descriptiva describe que uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido restringido a HLA-A 1 que tiene una secuencia seleccionada del siguiente grupo; MAEAGFIHY (SEQ ID NO: 17) (survivin₃₈₋₄₆Y9, survivin₃₈₋₄₆ con una "Y" que sustituye a una "C" en la posición 9), PTENEPDLAY (SEQ ID NO: 18) (survivin₄₇₋₅₆Y10, survivin₄₇₋₅₆ con una "Y" que sustituye a una "Q" en la posición 10), QFEELTLGEF (SEQ ID NO: 15) (survivin₉₂₋₁₀₁) y FTEELTLGEF (SEQ ID NO: 16)(survivin₉₃₋₁₀₁T2, survivin₉₃₋₁₀₁ con una "T" que sustituye a una "E" en la posición 2). Las designaciones entre paréntesis indican las posiciones de los residuos en la proteína survivina como se divulga en el documento US6.245.523 y el cambio de aminoácido en el péptido.

50 En un modo de realización específico, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-A2.

55 En otros modos de realización específicos, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-A2 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes:

FLKLDLDRERA (survivin¹⁰¹⁻¹⁰⁸) (SEQ ID NO: 1), TLPPAWQPPL (survivin⁵⁻¹⁴) (SEQ ID NO: 2), ELTLGEFLKL (survivin⁹⁵⁻¹⁰⁴) (SEQ ID NO: 3), LLLGEFLKL (survivin⁹⁵⁻¹⁰⁴L2, survivin⁹⁶⁻¹⁰⁴ con una sustitución de una "T" por una "L" en la posición 2) (SEQ ID NO: 4) y LMLGEFLKL survivin⁹⁶⁻¹⁰⁴M2 (survivin⁹⁶⁻¹⁰⁴ con una sustitución de una "T" por una "M" en la posición 2) (SEQ ID NO: 5).

- 5 La memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina también pueden ser un péptido restringido a HLA-A3 tal como RISTFKNWP (Sur18K10) Survivin¹⁸⁻²⁷ con una "F" cambiada por una "K" en la posición 10, (SEQ ID NO: 20) y/o péptidos restringidos para HLA-A11 tales como DLAQCFFCFK (survivin⁵³⁻⁶²) (SEQ ID NO: 19), DVAQCFFCFK (Sur53/V2) (SEQ ID NO: 45), DFAQCFFCFK (Sur53/F2) (SEQ ID NO: 46), DIAQCFFCFK (Sur53/I2) (SEQ ID NO: 47), y/o un péptido restringido a HLA-A2 tal como RISTFKNWPFL (survivin¹⁸⁻²⁸) (SEQ ID NO: 21), y/o péptidos restringidos para HLA-A24 tales como STFKNWPFL (Sur20-28) (SEQ ID NO: 41), o con una "T" cambiada por una "Y" en la posición 2: SYFKNWPFL (Sur20-28/Y2) (SEQ ID NO: 48).

- 15 La memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a una molécula MHC de clase I HLA-B que incluye cualquiera de las siguientes: HLA-B5, HLA-B7, HLA-B8, HLA-B12, HLA-B13, HLA-B14, HLA-B15, HLA-B16, HLA-B17, HLA-B18, HLA-B21, HLA-Bw22, HLA-B27, HLA-B35, HLA-B37, HLA-B38, HLA-B39, HLA-B40, HLA-Bw41, HLA-Bw42, HLA-B44, HLA-B45, HLA-Bw46 y HLA-Bw47. En modos de realización específicos, la especie MHC de clase I HLA-B a las que se pueden unir el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se selecciona del grupo de: HLA-B7, HLA-B8, HLA-B15, HLA-B27, HLA-B35, HLA-B44, HLA-B51 y HLA-B58.

- 20 La memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B7 o HLA-B35.

La memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B7.

- 25 La memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina es un péptido derivado de survivina de unión a HLA-B7 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: LPPAWQPFL (survivin⁶⁻¹⁴) (SEQ ID NO:10), QPFLKDHRI (survivin¹¹⁻¹⁹) (SEQ ID NO: 11), CPTENEPDL (survivin⁵¹⁻⁵⁹) (SEQ ID NO: 6), TPERMAEAGF (survivin³⁴⁻⁴³) (SEQ ID NO: 12), APPAWQPFL (survivin⁶⁻¹⁴A1) (SEQ ID NO:13), RPPAWQPFL (survivin⁶⁻¹⁴R1) (SEQ ID NO:14). RAIEQLAAM (Sur133-141) (SEQ ID NO: 44), TAKKVRRAI (Sur127-135) (SEQ ID NO: 49), RPIEQLAAM (Sur133P2) (SEQ ID NO: 50) o TPKKVRRAI (Sur127P2) (SEQ ID NO: 51). APPAWQPFL (SEQ ID NO: 13) es una secuencia derivada de survivin⁸⁻¹⁴ por sustitución de "L" en la posición 1 del péptido con una "A" y RPPAWQPFL (SEQ ID NO: 14) se deriva de survivin⁸⁻¹⁴ por sustitución de una "L" en la posición 1 del péptido con una "R".

- 30 En un modo de realización específico, la memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B35.

- 35 En otros modos de realización específicos, la memoria descriptiva describe que el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido a HLA-B35 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: CPTENEPDL (survivin⁴⁸⁻⁶⁴) (SEQ ID NO: 6), EPDLAQCF (survivin⁵¹⁻⁵⁹) (SEQ ID NO: 7), CPTENEPDY (survivin⁴⁶⁻⁵⁴Y9) (SEQ ID NO: 8) y EPDLAQCFY (survivin⁵¹⁻⁵⁹Y9) (SEQ ID NO: 9). Las designaciones entre paréntesis indican las posiciones de los residuos en la proteína survivina como se divulga en el documento US6.245.523. CPTENEPDY (SEQ ID NO: 8) es una secuencia derivada de survivin⁴⁶⁻⁵⁴ por sustitución de una "L" en el extremo C-terminal del péptido con una "Y" y EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9) se deriva de survivin⁵¹⁻⁵⁹ por sustitución de un residuo "F" en el extremo C-terminal con una "Y".

- 40 En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B51. Específicamente, el péptido de survivina es un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B51 que tiene la secuencia: RAIEQLAAM (Sur133-141) (SEQ ID NO: 44). Este péptido también está restringido para HLA-B7.

En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B27.

- 45 En otros modos de realización específicos descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B27 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: ERMAEAGFI (Sur36-44) (SEQ ID NO: 43), ERAKNKI (Sur107-115) (SEQ ID NO: 52), DRERAKNKI (Sur105-113) (SEQ ID NO: 53), KEFEETAKK (Sur122-130) (SEQ ID NO: 54), ERMAEAGFL (Sur36/L9) (SEQ ID NO: 55), ERMAEAGFF (Sur36/F9) (SEQ ID NO: 56), ERMAEAGFR (Sur36/R9) (SEQ ID NO: 57), ERMAEAGFK (Sur36/K9) (SEQ ID NO: 58) o KRFEETAKK (Sur122/R2) (SEQ ID NO: 59).

- 55 En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B44.

En otros modos de realización específicos descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B44 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: KETNNKKKEY (Sur115Y10) (SEQ ID NO: 42), KETNNKKKEF (Sur115-124) (SEQ ID NO: 60), EELTLGEFL (Sur94-102) (SEQ ID NO: 61) o EELTLGEFY (Sur94Y9) (SEQ ID NO: 62).

En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B8.

En otros modos de realización específicos descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B8 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: ISTFKNWPFL (Sur19-28) (SEQ ID NO: 63), ISKFKNWPFL (Sur19/K3) (SEQ ID NO: 64), LSVKKQFEEL (Sur87-96) (SEQ ID NO: 65), LSKKKQFEEL (Sur87/K3) (SEQ ID NO: 66), RAKNKIAKET (Sur108-117) (SEQ ID NO: 67), RAKNKIAKEL (Sur108/L10) (SEQ ID NO: 68), NNKKKEFEET (Sur118) (SEQ ID NO: 69), NNKKKEFEEL (Sur118/L10) (SEQ ID NO: 70), QPKLKDHR (Sur11/K3) (SEQ ID NO: 71), FLKDHRIST (Sur13) (SEQ ID NO: 72), FLKDKRIST (Sur13/K5) (SEQ ID NO: 73), FLKDHRISL (Sur13/L9) (SEQ ID NO: 74), AFLSVKKQF (Sur85) (SEQ ID NO: 75), AFLSVKKQF (Sur867K3) (SEQ ID NO: 76), AFLSKKKQF (Sur857K5) (SEQ ID NO: 77), AFLSVKKQL (Sur85/L9) (SEQ ID NO: 78), FLSVKKQFE (Sur86) (SEQ ID NO: 79), FLSVKKQFL (Sur86/L9) (SEQ ID NO: 80), FLKVKKQFE (Sur86/K3) (SEQ ID NO: 81), SVKKQFEEL (Sur88) (SEQ ID NO: 82), SVKKKFEEL (Sur88/K5) (SEQ ID NO: 83), FLKLRERA (Sur101/K5) (SEQ ID NO: 84), FLKLRERL (Sur101/L9) (SEQ ID NO: 85), TAKKKRRAI (Sur127/K5) (SEQ ID NO: 86) o TAKKVRRAI (Sur127/L9) (SEQ ID NO: 87). o TAKKVRRAI (Sur127) (SEQ ID NO: 49, FLKLRERA(Sur101)(SEQ ID NO: 1) o QPFLKDHR (Sur11)(SEQ ID NO: 11).

En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B15.

En otros modos de realización específicos descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B15 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: TLPPAWQPF (Sur5) (SEQ ID NO: 88), TLPPAWQPY (Sur5/Y9) (SEQ ID NO: 89), WQPFLKDHR (Sur10) (SEQ ID NO: 90), WQPFLKDHR (Sur10/Y9) (SEQ ID NO: 91), FLKDHRISTF (Sur13) (SEQ ID NO: 92), FLKDHRISTY (Sur13/Y9) (SEQ ID NO: 93), RISTFKNWPF (Sur18) (SEQ ID NO: 94), RLSTFKNWPF (Sur18/L2) (SEQ ID NO: 95), DLAQCFFCF (Sur53) (SEQ ID NO: 96), DLAQCFFCY (Sur53/Y9) (SEQ ID NO: 97), ISTFKNWPF (Sur19) (SEQ ID NO: 98), IQTFKNWPF (Sur19/Q2) (SEQ ID NO: 99), ILTFKNWPF (Sur19/L2) (SEQ ID NO: 100), RMAEAGFIY (Sur37/Y9) (SEQ ID NO: 101), RMAEAGFIF (Sur37/F9) (SEQ ID NO: 102), RLAEAGFIY (Sur37/L2Y9) (SEQ ID NO: 103), KKHSSGCAF (Sur78) (SEQ ID NO: 104), KQHSSGCAF (Sur78/Q2) (SEQ ID NO: 105), KLHSSGCAF (Sur78/L2) (SEQ ID NO: 106), RAIEQLAAY (Sur133/Y9) (SEQ ID NO: 107) o RLIEQLAAM (Sur133/L2) (SEQ ID NO: 108) o RAIEQLAAM (Sur133) (SEQ ID NO: 44).

En un modo de realización específico descrito en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina se restringen a HLA-B58.

En otros modos de realización específicos descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido derivado de survivina restringido para HLA-B58 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: PTLPPAWQPF Sur5 (SEQ ID NO: 109), CTPERMAEAGF (Sur33) (SEQ ID NO: 110), ETNNKKKEF (Sur116) (SEQ ID NO: 111), ISTFKNWPF (Sur19) (SEQ ID NO: 98), GAPTLPPAW (Sur2) (SEQ ID NO: 112) o CAFLSVKKQF (Sur84) (SEQ ID NO: 113).

En otros modos de realización útiles descritos en la memoria descriptiva, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido, que se restringen a una molécula MHC de clase I HLA-C seleccionada del grupo de: HLA-Cw1, HLA-Cw2, HLA-Cw3, HLA-Cw4, HLA-Cw5, HLA-Cw6, HLA-Cw7 y HLA-Cw16.

Por tanto, en un modo de realización, el uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina son un péptido que comprende una o más modificaciones postraduccionales.

Los péptidos pueden comprender cualquier tipo de modificaciones. Hasta el momento se han identificado casi 200 modificaciones covalentes estructuralmente distintas, que varían en tamaño y complejidad de la conversión de amidas a ácidos carboxílicos, a la unión de múltiples oligosacáridos complejos. Dichas modificaciones incluyen fosforilación, acetilación, ubiquinación, lipidación (acetilación, prenilación, farnesilación, geranilación, palmitoilación, miristoilación), metilación, carboxilación, sulfonación y O- o N-glucosilaciones.

Se ha demostrado que la exposición de células MCF-7 de carcinoma de mama o HeLa de carcinoma de cuello uterino a agentes antineoplásicos incluyendo adriamicina, taxol, o UVB dio como resultado un incremento de 4-5 veces en la expresión de survivina. Los cambios en los niveles de survivina después del tratamiento antineoplásico no implicaron la modulación de la expresión de ARNm de survivina y fueron independientes de la transcripción génica *de novo*. Por el contrario, la inhibición de la fosforilación de survivina en Thr34 por el inhibidor de cinasas dependiente de ciclina flavopiridol dio como resultado la pérdida de la expresión de survivina, y el Thr₃₄ de survivina no fosforilable al mutante de Ala presentó un aclaramiento acelerado en comparación con la survivina natural. La ablación secuencial de la fosforilación de survivina en Thr34 potenció la apoptosis de células tumorales inducida por agentes antineoplásicos

independientemente de p53 y suprimió el crecimiento tumoral sin toxicidad en un modelo de xenoinjerto de cáncer de mama *in vivo*. Estos datos sugieren que la fosforilación de Thr34 regula de forma crítica los niveles de survivina en células tumorales y la ablación secuencial de la actividad cinasa p34 puede eliminar el punto de regulación de la viabilidad de survivina y potenciar la apoptosis en células tumorales.

5 En consecuencia, se contempla que la survivina y los péptidos derivados de survivina de la invención engloban péptidos fosforilados. Los antígenos de los fosfopéptidos de survivina natural se pueden identificar por cribado de la presencia de motivos de unión a péptidos de MHC alrededor del sitio de fosforilación de Thr34. Por tanto, las secuencias de fosfopéptidos derivados de survivina posibles incluyen TPERMAEAGF (SEQ ID NO: 114), un HLA-B35 y/o HLA-B7 putativo y/o un antígeno de péptido restringido para HLA-B51. Los fosfopéptidos naturales adicionales englobados en el presente documento incluyen: HLA-A2: CACTPERMA (SEQ ID NO.115), y CTPERMAEA (SEQ ID NO: 116),; HLA-A3: FLEGCACTP (SEQ ID NO: HLA-B7-y/o un antígeno de péptido restringido para HLA-B51. Los fosfopéptidos naturales adicionales englobados en el presente documento incluyen: HLA-A2: CACTPERMA (SEQ ID NO:115), y CTPERMAEA (SEQ ID NO: 116),; HLA-A3: FLEGCACTP (SEQ ID NO: 117),; HLA-B7/HLA-B35/HLA-B51: WPFLEGCACT (SEQ ID NO: 118), (residuo Thr fosforilado marcado en negrita).

15 Es bien conocido que las diferentes moléculas de HLA son de prevalencia diferente en las poblaciones humanas principales. En consecuencia, hay un requisito para identificar epítomos peptídicos restringidos a varias moléculas HLA de clase I para prolongar el cohorte de pacientes que se pueden tratar de acuerdo con los procedimientos de la presente invención. La caracterización de múltiples epítomos de survivina con diferentes elementos de restricción de HLA amplía el potencial clínico de este antígeno diana de dos formas importantes: (i) incrementa el número de pacientes elegibles para inmunoterapia basada en péptidos derivados de survivina. El antígeno HLA-A2 se expresa en alrededor de un 50 % de las poblaciones caucásica y asiática, los antígenos HLA-A1 y HLA-A3 se expresan ambos en alrededor de un 25 % de caucásicos y un 5 % de asiáticos, mientras que el antígeno HLA-A11 se expresa en alrededor de un 15 % de caucásicos y un 30 % de asiáticos. Aún cuando estos números no se puedan resumir debido a la coexpresión, una combinación de péptidos restringidos por una multiplicidad de estos englobaría ciertamente a la mayoría de los pacientes con cáncer, (ii) es probable que la dirección colectiva de varios elementos de restricción en cada paciente disminuya el riesgo de que se eluda la respuesta inmunitaria por pérdida del alelo de HLA. La pérdida de un único alelo de HLA es un componente significativo de las alteraciones del MHC descritas para las células cancerosas, mientras que la pérdida total de la expresión de clase I es más bien un acontecimiento infrecuente. Por tanto, con la identificación de epítomos de survivina restringidos para diferentes alelos de HLA, ahora es posible que dirija más de una molécula de HLA simultáneamente en pacientes con superposición alélica.

Aunque se pueden predecir muchos péptidos potenciales para su uso en composiciones de vacuna, la identificación real de los péptidos y la composición de vacuna que puede obtener una respuesta útil requiere la prueba de múltiples parámetros. La invención describe una composición de vacuna que es particularmente eficaz. La composición de vacuna de acuerdo con la invención incluye péptidos de survivina y variantes peptídicas de survivina.

35 Un ejemplo de una vacuna multiepítomo actualmente preferente descrita en la memoria descriptiva incluye combinaciones "preparadas a medida" de epítomos peptídicos derivados de survivina que dependen del tipo de tejido del paciente dado, por ejemplo, un sujeto que lleva los fenotipos HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3 y HLA-B35 se podría vacunar con una vacuna que comprende los siguientes péptidos, ELTLGEFLKL(survivin₉₅₋₁₀₄)(SEQ ID NO: 3), LMLGEFLKL survivin₉₈₋₁₀₄M2 ((SEQ ID NO: 5), CPTENEPDY (survivin₄₈₋₅₄) (SEQ ID NO: 8) y EPDLAQCFY (survivin₅₁₋₅₉Y9) (SEQ ID NO: 9) y/o RISTFKNWPK (Sur18K10) (SEQ ID NO: 20)

De forma alternativa, el epítomo se puede seleccionar en base a la prevalencia de los diversos fenotipos de HLA en una población dada. Como ejemplo, HLA-A2 es el fenotipo más prevalente en la población caucásica, y por lo tanto, un péptido de unión a HLA-A2 estará activo en una gran proporción de esa población.

45 Sin embargo, la composición de vacuna de acuerdo con la invención también puede contener una combinación de dos o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, cada una interaccionando específicamente con una molécula de HLA diferente con el fin de cubrir una mayor proporción de la población diana. Por tanto, como ejemplos, la composición de vacuna puede contener una combinación de un péptido restringido para una molécula de HLA-A y un péptido restringido para una molécula de HLA-B, por ejemplo, incluyendo las moléculas de HLA-A y HLA-B que corresponden a la prevalencia de los fenotipos de HLA en la población diana, tales como por ejemplo HLA-A2 y HLA-B35. Adicionalmente, la composición de vacuna puede comprender un péptido restringido para una molécula de HLA-C. Otras combinaciones de acuerdo con la invención incluyen el péptido restringido para HLA-A1 y HLA-A2, o el péptido restringido para HLA-A1 y HLA-B35. Adicionalmente, se pueden usar tres péptidos con diferente especificidad, una combinación de péptidos de este tipo restringidos para HLA-A1, HLA-A2 y HLA-B35.

55 Puede ser ventajoso incluir un péptido restringido para HLA-B7 o dos péptidos, tales como péptidos de unión a HLA-A1 y a HLA A2 o tales como un péptido de unión a HLA-A1 y a HLA-B35 en la composición de vacuna.

Un aspecto de la memoria descriptiva se refiere a un péptido restringido para HLA-B7, tal como LPPAWQPFL (survivin₆₋₁₄) (SEQ ID NO: 10), QPFLKDHRI (survivin₁₁₋₁₉) (SEQ ID NO: 11), CPTENEPDL (survivin₅₁₋₅₉) (SEQ ID NO: 6), TPERMAEAGF (survivin₃₄₋₄₃) (SEQ ID NO: 12), APPAWQPFL (survivin₈₋₁₄A1) (SEQ ID NO: 13) o RPPAWQPFL (survivin₆₋₁₄R1) (SEQ ID NO: 14).

En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, el péptido restringido para HLA-B7 es APPAWQPFL (survivin₆₋₁₄A1) (SEQ ID NO: 13) o RPPAWQPFL (survivin₆₋₁₄R1) (SEQ ID NO: 14). En un modo de realización específico, el péptido restringido para HLA-B7 es APPAWQPFL (survivin₆₋₁₄A1) (SEQ ID NO: 13). En un modo de realización específico diferente, el péptido restringido para HLA-B7 es RPPAWQPFL (survivin₆₋₁₄R1) (SEQ ID NO: 14).

5 Un aspecto de la memoria descriptiva se refiere a una composición de vacuna que comprende uno o más péptidos o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y en la que la composición comprende

i. un péptido de unión a HLA-B7 y/o

10 un péptido restringido para HLA-A1 y para HLA-A2 y/o

un péptido restringido para HLA-A1 y para HLA-B35

ii. y cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente, tales como Montanide ISA 51.

En modos de realización preferentes específicos descritos en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende:

15 i. un péptido que comprende APPAWQPFL (SEQ ID NO: 13) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos,

y/o un péptido que comprende RPPAWQPFL (SEQ ID NO: 14) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos,

20 y/o un péptido que comprende FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos y un péptido que comprende LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos,

y/o, un péptido que comprende FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos y un péptido que comprende EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos,

25 y/o un péptido que comprende LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos y un péptido que comprende EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9) y que consiste en como máximo 15, preferentemente 10 aminoácidos,

ii. cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente, tales como Montanide ISA 51.

30 Puede mejorar adicionalmente la eficacia de la composición de vacuna incluir tres o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina y en particular si los péptidos se restringen a diferentes moléculas de HLA.

En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende,

a) tres o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23,

35 i. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A1,

ii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A2,

iii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B35

b) y cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente, tales como Montanide ISA 51.

40 En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, el péptido de unión a HLA-A1, el péptido de unión a HLA-A2 y/o el péptido de unión a HLA-B35, preferentemente, consiste en como máximo 15, tal como, como máximo 14, 13, 12, 11, y lo más preferentemente como máximo 10 aminoácidos.

45 En un modo de realización particular descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende el péptido restringido para HLA-A1 FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16). En un segundo modo de realización específico, la composición de vacuna comprende el péptido de unión a HLA-A2 LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) y en un tercer modo de realización específico, la composición de vacuna comprende el péptido de unión a HLA-B35 EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9).

En el modo de realización más particular descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende el péptido restringido para HLA-A1 FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16), el péptido de unión a HLA-A2 LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) y el péptido de unión a HLA-B35 EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9).

5 En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, el péptido de unión a HLA-A1, el péptido de unión a HLA-A2 y/o el péptido de unión a HLA-B35 como se menciona aquí anteriormente, preferentemente, consiste en como máximo 15, tal como, como máximo 14, 13, 12, 11, y lo más preferentemente como máximo 10 aminoácidos.

Puede mejorar adicionalmente la eficacia de la composición de vacuna incluir siete o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina y en particular si los péptidos se restringen a diferentes moléculas de HLA.

En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende,

10 a) siete o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23,

viii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A1,

ix. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A2,

15 x. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A3

xi. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A24

xii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-A11

xiii. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B35

xiv. y en la que al menos un péptido o variante peptídica se selecciona del grupo de péptidos de unión a HLA-B7

20 b) y cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente, tales como Montanide ISA 51.

En un modo de realización descrito en la memoria descriptiva, el péptido de unión a HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A24, HLA-A11, HLA-B35 y/o HLA-B7 como se menciona aquí anteriormente, preferentemente, consiste en como máximo 15, tal como, como máximo 14, 13, 12, 11, y lo más preferentemente, como máximo 10 aminoácidos.

25 En un modo de realización preferente descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende el péptido de unión a HLA-A1 FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16), el péptido de unión a HLA-A2 LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5), el péptido de unión a HLA-A3 RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 20), el péptido de unión a HLA-A24 STFKNWPFL (SEQ ID NO: 41), el péptido de unión a HLA-A11 DLAQCFFCFK (SEQ ID NO: 19), el péptido de unión a HLA-B35 EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9) y el péptido de unión a HLA-B7 LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 10) y un coadyuvante tal como Montanide ISA 51.

30 En otro modo de realización preferente descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende adicionalmente

i. al menos un péptido o variante peptídica seleccionado del grupo de péptidos de unión a HLA-B44 y/o,

ii. al menos un péptido o variante peptídica seleccionado del grupo de péptidos de unión a HLA-B27 y/o,

iii. al menos un péptido o variante peptídica seleccionado del grupo de péptidos de unión a HLA-B51.

35 En una realización particularmente preferente descrito en la memoria descriptiva, la composición de vacuna comprende el péptido de unión a HLA-A1 FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16), el péptido de unión a HLA-A2 LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5), el péptido de unión a HLA-A3 RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 20), el péptido de unión a HLA-A24 STFKNWPFL (SEQ ID NO: 41), el péptido de unión a HLA-A11 DLAQCFFCFK (SEQ ID NO: 19), el péptido de unión a HLA-B35 EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9) y el péptido de unión a HLA-B7 LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 10) y uno
40 cualquiera o más del péptido de unión a HLA-B44 es KETNNKKKEY (SEQ ID NO: 42), el péptido de unión a HLA-B27 es ERMAEAGFI (SEQ ID NO: 43), y el péptido de unión a HLA-B51 es RAJEQLAAM (SEQ ID NO: 44) y un coadyuvante tales como Montanide ISA 51.

45 en cualquiera de los modos de realización anteriores descritos en la memoria descriptiva, el péptido de unión a HLA-A11 se puede seleccionar del grupo de DLAQCFFCFK (SEQ ID NO: 19), DVAQCFFCFK (SEQ ID NO: 45), DFAQCFFCFK (SEQ ID NO: 46) o DIAQCFFCFK (SEQ ID NO: 47).

En cualquiera de los modos de realización anteriores, es preferente que el número de péptidos multiplicado por como máximo 13, tal como 12, tal como 11 o preferentemente 10 o 9, sea el mayor número de aminoácidos en que consiste la vacuna. Por ejemplo, si una vacuna comprende 5 péptidos, es preferente, por tanto, que la vacuna consista en, como máximo, 65, tal como 60, tal como 55, tal como 50 o 45 aminoácidos.

Con el fin de seleccionar el péptido de survivina o variante peptídica de survivina para su uso en la composición de vacuna de acuerdo con la invención, se puede evaluar la capacidad del péptido de survivina y variantes peptídicas para unirse a una molécula HLA de clase uno. Además, se puede evaluar la capacidad del péptido de survivina o variante peptídica de survivina para provocar células productoras de INF- γ en una población de PBL de un paciente con cáncer.

Estas medidas pueden dar una indicación de la utilidad del péptido de survivina o variante peptídica de survivina para su uso en una composición de vacuna, pero es preferente que la composición de vacuna que comprende el péptido de survivina o variantes peptídicas de survivina pueda inducir una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en un paciente con cáncer después de su administración. Además, es preferente que la administración de la composición de vacuna induzca una respuesta clínica que se caracterice como se describe en la sección relativa a la evaluación de las lesiones diana. La respuesta clínica se puede caracterizar como una enfermedad al menos estable (un incremento de, como máximo, un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana) más preferentemente una disminución en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana, una respuesta parcial de este tipo o lo más preferentemente regresión completa.

La composición de vacuna comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas, en la que el uno o más péptidos o variantes peptídicas de survivina se restringen a una molécula HLA de clase uno, en la que un péptido o variantes peptídicas restringidas se caracteriza por tener al menos una de las siguientes características;

(i) que puede unirse a la molécula HLA de clase I con una afinidad, medida por la cantidad del péptido que permite la mitad de la recuperación máxima de la molécula HLA de clase I (valor C_{50}), que es como máximo 50 μM , como se determina por el ensayo de unión al ensamblaje como se describe en el documento WO 2004/067023.

(ii) que puede provocar células productoras de INF- γ en una población de PBL de un paciente con cáncer a una frecuencia de al menos 1 por 10^4 PBL como se determina por un ensayo de ELISPOT (como se describe en el documento WO 2004/067023).

El ensayo de unión al ensamblaje proporciona un medio sencillo de cribar péptidos candidatos por su capacidad para unirse a una molécula de alelo de HLA dada con la afinidad anterior. En modos de realización preferentes, los uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina tienen un valor de C_{50} , que es, como máximo, 30 μM , tal como, como máximo 20 μM incluyendo, tal como, como máximo 10 μM , como máximo 5 μM y como máximo 2 μM o como máximo 1 μM . Los valores de C_{50} de los péptidos seleccionados se muestran en la tabla 4 en el documento WO 2004/067023.

Una característica del uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina para su uso en una composición de vacuna de acuerdo con la invención es la capacidad para reconocer o provocar linfocitos T de respuesta productores de INF- γ , es decir, linfocitos T citotóxicos (CTL) que reconocen específicamente el péptido particular en una población de PBL o células tumorales en un paciente con cáncer (células diana). Esta actividad se determina fácilmente sometiendo los PBL o células tumorales de un paciente a un ensayo de ELISPOT como se describe en el documento WO2004/067023 y referencia en el mismo. Antes del ensayo, puede ser ventajoso estimular la población de PBL o las células tumorales que se van a someter a ensayo poniendo en contacto las células con el péptido que se va a someter a prueba. Preferentemente, el péptido puede provocar o reconocer los linfocitos T productores de INF- γ a una frecuencia de al menos 1 por 10^4 PBL como se determina por un ensayo de ELISPOT como se usa en el presente documento. Más preferentemente, la frecuencia es al menos de 5 por 10^4 PBL, lo más preferentemente al menos de 10 por 10^4 PBL, tal como al menos 50 o 100 por 10^4 PBL. En modos de realización preferentes específicos, la frecuencia es al menos de 200 por 10^4 PBL o tal como 250 por 10^4 PBL.

La producción de INF- γ en respuesta a antígenos específicos de melanoma, tales como péptidos MART-1 y gp100, se ha demostrado tras la vacunación de pacientes con cáncer con los péptidos indicados. Pero no se observó ninguna asociación significativa con respuestas clínicas (Hersey, P. *et al.*, Cancer Immunol. Immunother. 2004, Sep. 21).

Por tanto, después de la identificación de los inmunógenos putativos, es preferente la evaluación de la función *in vivo*. Es altamente preferente que la composición de vacuna que comprende uno o más péptido(s) o variante(s) peptídica(s) de survivina que pueden provocar una respuesta inmunológica muy fuerte, tal como una inducción de una respuesta de linfocitos T citotóxicos específica muy fuerte como se mide por ensayos de ELISPOT para INF- γ , antes y después de vacunación. Dichos ensayos implican probar la respuesta de linfocitos T citotóxicos en los pacientes analizando las PBMC obtenidas antes de y después de la administración de la composición de vacunación, para determinar la reactividad con el inmunógeno usado en la composición de vacuna, por, por ejemplo, ensayos de ELISPOT, como se describe en el ejemplo 1.

El uso de células dendríticas en composiciones de vacuna ha proporcionado en la técnica anterior una mayor eficacia en comparación con coadyuvantes a base de aceite (Schreurs MW *et al.*, Cancer Res. 2000 Dic. 15; 60(24):6995-7001). Por lo tanto, las células dendríticas son en la actualidad, el coadyuvante preferente.

Los sorprendentes resultados del procedimiento de ensayo clínico descrito en el ejemplo 1 mostraron que la administración de una composición de vacuna de acuerdo con la presente invención podía inducir un número sorprendentemente alto de células liberadoras de INF- γ específicas.

- Es preferente que la administración de una composición de vacuna de acuerdo con la invención pueda inducir una respuesta de linfocitos T específica fuerte en un sujeto medida por el número de células liberadoras de INF- γ , que es más de 50 por 10^4 células PBMC, o tal como más de 100 por 10^4 células PBMC, o tal como más de 150 por 10^4 PBMC, o tal como más de 200 por 10^4 células PBMC. Lo más preferente es que la respuesta de linfocitos T específica medida por el número de células liberadoras de INF- γ sea más de 250 por 10^4 PBMC.
- La respuesta de linfocitos T específica medida por ELISPOT puede depender del calendario de administración empleado, por ejemplo, el número de vacunación y la programación temporal de administración de la composición de vacuna (véase la descripción relacionada con el tratamiento). En un modo de realización, se puede detectar una respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos fuerte después de 12 meses, o tal como después de 10 meses, como después de 8 meses. En un modo de realización preferente, se puede detectar la respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos después de 6 meses. En el modo de realización más preferente adicional, se puede detectar la respuesta de linfocitos T citotóxicos específicos después de 4 o 3 meses.
- Además, puede ser relevante evaluar el efecto antiangiogénico de los péptidos, ya que la inhibición de la angiogénesis tiene un profundo efecto sobre el desarrollo de los tumores sólidos.
- Un indicador de un efecto antiangiogénico potencial, es la infiltración de estroma tumoral con linfocitos T específicos de antígeno. Se puede someter a prueba la presencia de linfocitos T específicos de antígeno en estroma tumoral usando un procedimiento de tinción tisular como se describe en el ejemplo 2, en el que se detectan linfocitos T específicos de antígeno *in situ* en lesiones tumorales de pacientes con cáncer usando complejos péptido/HLA multimerizados. Los linfocitos T específicos de antígeno pueden reconocer un péptido de survivina o variante peptídica de survivina de acuerdo con la invención, preferentemente en complejo con una molécula HLA de clase I.
- Es preferente que la administración de una composición de vacuna de acuerdo con la invención pueda inducir la infiltración de linfocitos T específicos de antígeno en el estroma tumoral, tales como linfocitos T específicos de survivina en el estroma tumoral.
- La evaluación de una composición de vacuna incluye además el examen de la capacidad de la composición de vacuna en la provocación de una respuesta clínica después de la administración. Con relación al tratamiento de cáncer, se puede medir la respuesta clínica usando los criterios Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) como se describe en la sección a continuación relativa a la evaluación de lesiones diana.
- En un modo de realización, la composición de vacuna de acuerdo con la invención puede provocar una respuesta clínica, referida como enfermedad estable, respuesta parcial o regresión completa, caracterizada por un incremento de como máximo un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana.
- Por tanto, un enfoque sencillo para identificar variantes peptídicas de uso potencial en una composición de vacuna de acuerdo con la invención incluye las siguientes etapas: seleccionar una molécula de HLA particular, por ejemplo, una que se produce a una tasa alta en una población dada, llevar a cabo un análisis de alineación como se describe anteriormente para identificar "motivos de residuos de anclaje" en la proteína survivina, aislar o construir péptidos de un tamaño adecuado que comprenden uno o más de los residuos de anclaje identificados y someter a prueba los péptidos resultantes para determinar (i) la capacidad de unirse a la molécula de HLA particular usando el ensayo de ensamblaje como se describe en el presente documento, y/o (ii) la capacidad de los péptidos para provocar células productoras de INF- γ en una población de PBL de un paciente con cáncer a una frecuencia de al menos 1 por 10^4 PBL como se describe por un ensayo de ELISPOT como se describe en el documento WO2004/067023.
- Para establecer si los péptidos o variantes peptídicas identificados son útiles en una composición de vacuna de acuerdo con la invención, se puede medir la capacidad de la composición de vacuna que comprende el péptido, de provocar una respuesta inmunológica, tal como una inducción de una respuesta de linfocitos T citotóxicos específica fuerte por ensayos de ELISPOT para determinar el INF- γ antes y después de vacunación (como se describe en el ejemplo 1 en el presente documento.)
- En el documento WO2004/067023, se demostró que las células reactivas a survivina aisladas por medio de complejos HLA/péptido poseen la capacidad funcional de lisar células diana. Adicionalmente, se demostró además que la vacuna de células dendríticas que usa péptidos de survivina y variantes peptídicas de survivina puede provocar respuestas inmunitarias semanales en líneas celulares cancerosas y en poblaciones de PBL de pacientes con cáncer, pero las respuestas clínicas en los pacientes con cáncer eran modestas a medida que se informó de la enfermedad progresiva.
- Se puede evaluar la respuesta inmunitaria específica relativa al número total de PBMC o al número de células CD8⁺ en la población. Se usó la última referencia de evaluación en el documento WO 2004/067023, mientras que el resultado descrito en el presente documento usa la referencia del número total de células PBM. Si los resultados descritos en la figura 17 del documento WO 2004/067023 habían usado la misma referencia el número de células reactivas habría sido de 8-30 por 10^4 células PBMC.
- Puesto que la potencia de la respuesta inmunitaria es un parámetro crítico en la evaluación de los inmunógenos potenciales, este análisis es una herramienta sólida en la evaluación de una composición de vacuna. De acuerdo con la invención, la capacidad de estimulación de una respuesta de linfocitos T específicos después de la administración a

- un paciente con cáncer es una característica importante. Se puede medir la respuesta por el número de células productoras de INF- γ en una población de PBMC antes y después de la inmunización con la composición de vacuna. En un modo de realización de la invención, la composición de vacuna puede estimular una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en un paciente con cáncer, en la que una respuesta de linfocitos T fuerte como se mide por un ensayo de ELISPOT después de la administración es de más de 50, tal como más de 100, tal como más de 150, tal como más de 200, tal como más de 225 o tal como más de 250 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBL.
- 5 Se puede usar la evaluación del efecto antiangiogénico para la selección de péptidos útiles ya que se cree que, sin quedar ligado a la teoría, una composición de vacuna que puede provocar un efecto antiangiogénico resultará que es muy eficaz en la inhibición del crecimiento tumoral. Si se combina con péptido(s) que puede(n) provocar una respuesta de linfocitos T específicos fuerte frente a survivina, se espera que la composición de vacuna que comprende dicho(s) péptido(s) tendrá una probabilidad muy alta de inducir una respuesta clínica buena.
- 10 Un aspecto de la invención se refiere a una composición de vacuna que comprende uno o más péptidos o variante(s) peptídica(s) de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23, y un coadyuvante que puede inducir la infiltración de linfocitos T específicos de antígeno en estroma tumoral en un sujeto.
- 15 En un modo de realización preferente, la composición de vacuna puede inhibir la angiogénesis en un sujeto.
- Además es esencial evaluar el efecto sobre las lesiones diana, por tanto la respuesta clínica después de la administración de la composición de vacuna se debe evaluar como se describe a continuación en la sección relativa a la evaluación de la lesión diana. Es preferente que la composición de vacuna pueda provocar una respuesta clínica, referida como enfermedad estable, respuesta parcial o regresión completa, caracterizada por un incremento de como máximo un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana, como se observa en el ejemplo 1. Una disminución en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana es más preferente (respuesta parcial) y la respuesta más preferente es la remisión completa.
- 20 Se contempla que los péptidos de survivina o variante peptídica de survivina además de su capacidad para unirse a moléculas de HLA, pueden formar complejos de HLA y péptidos sobre las superficies celulares, complejos que a su vez actúan como epítopos o dianas para los linfocitos T citotóxicos. Es posible que los péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina puedan provocar otros tipos de respuestas inmunitarias, tales como respuestas de linfocitos B que dan como resultado la producción de anticuerpos frente a los complejos y/o una reacción de hipersensibilidad de tipo retardado (Delayed Type Hypersensitivity, DTH).
- 25 El último tipo de respuesta inmunitaria se define como un eritema y una induración palpable en el sitio de la inyección de la composición de vacuna de la invención.
- Los efectos secundarios posibles de inmunización podrían ser toxicidad sistémica o local. Las alteraciones vasculares, tales como vasculitis o cicatrización alterada son efectos secundarios posibles. Las alteraciones en hemoglobina, leucocitos y trombocitos así como lactato deshidrogenasa, creatinina y colinesterasa son otros efectos no deseados.
- 30 En un modo de realización de la invención, la administración de la composición de vacuna no tiene alteración vascular. En un segundo modo de realización, la administración de la composición de vacuna no induce la cicatrización alterada.
- Por tanto, en el modo de realización más preferente de la invención, la administración de la composición de vacuna no tiene esencialmente ningún efecto secundario. En particular, la relevancia de los efectos secundarios se debe evaluar en relación con la gravedad de la enfermedad.
- 35 Además, como se describe previamente, ha habido un incremento en la atención sobre la provocación de la inmunidad de linfocitos T colaboradores específicos de tumor, es decir, la vacunación con epítopos restringidos de MHC clase II a pesar del hecho de que, en general, los tumores no expresan el MHC de clase II. Esto se basa en el reciente hallazgo de que la inducción y la eficacia de la respuesta antitumoral inducida por vacuna en muchos casos requieren la cooperación de linfocitos TH positivos para CD4 específicos de tumor.
- 40 Por tanto, un factor importante que conduce el desarrollo de vacunas que tienen una composición más compleja es el deseo de dirigir múltiples antígenos tumorales, por ejemplo diseñando vacunas que comprenden o codifican una colección de epítopos de linfocitos TH y CTL seleccionados cuidadosamente.
- 45
- Vacunas multiepítopo
- Obviamente, las vacunas multi-epítopo constituyen una forma eficaz de elevar la inmunidad frente a epítopos derivados de varios antígenos diferentes sin la necesidad de introducir (genes que codifican) proteínas potencialmente peligrosas tales como oncoproteínas. Dichas vacunas también permiten la inducción selectiva de inmunidad frente a epítopos de linfocitos T subdominantes y crípticos, que pueden ser especialmente importantes en el caso de autoantígenos asociados a tumor para los que puede existir tolerancia para los epítopos que se presentan prominentemente en tejidos normales.
- 50

Algunos problemas asociados con las vacunas de epítomos incluyen la ineficacia de las células presentadoras de antígenos en presentar determinados epítomos. En particular, los antígenos expresados en células tumorales se pueden presentar diferencialmente debido a diferencias funcionales entre las inmunoproteasomas de células presentadoras de antígenos y los proteasomas 'constitutivos' presentes en la mayoría de las células tumorales.

- 5 Por tanto, la identificación de péptidos adecuados para la composición de vacuna implica la prueba y la selección en base a la investigación experimental para evaluar la eficacia de los diferentes compuestos que se pueden incluir en la composición de vacuna, incluyendo tanto el antígeno como el componente coadyuvante de la composición de vacuna.

En consecuencia, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de vacuna que comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina solos o en combinación adecuada con otras proteínas o fragmentos peptídicos. En modos de realización específicos, dichas otras proteínas o fragmentos peptídicos incluyen pero no se limitan a proteínas implicadas en la regulación de la apoptosis celular o fragmentos peptídicos de las mismas. Se pueden seleccionar ejemplos adecuados de dichas proteínas de la familia de proteínas Bcl-2, por ejemplo, la proteína Bcl-2, la proteína Bcl-X_L, la proteína Bcl-w, la proteína Mcl-1, la proteína TRAG-3 y fragmentos peptídicos derivados de cualquiera de las proteínas. Otros inhibidores de apoptosis conocidos incluyen miembros de la familia de proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP) tales como X-IAP, C-IAP1 y C-IAP2 todas estas proteínas se expresan de forma relativamente ubicua mientras que el polipéptido inhibidor de apoptosis ML-IAP tiene una expresión más bien selectiva y se detecta predominantemente en melanomas. Por tanto, opcionalmente se pueden incluir fragmentos de ML-IAP que pueden provocar una respuesta de linfocitos T específicos, es decir, una respuesta de linfocitos T citotóxicos o una respuesta de linfocitos T colaboradores, en la composición de vacuna de la presente invención.

- 20 Los fragmentos peptídicos útiles de ML-IAP incluyen ML-IAP₂₄₅ (RLQEERTCKV) (SEQ ID NO: 24), ML-IAP₂₈₀ (QLCPICRAPV) (SEQ ID NO: 25), ML-IAP₉₀ (RLASFYDWPL) (SEQ ID NO: 26), ML-IAP₁₅₄ (LLRSKGRDFV) (SEQ ID NO: 27), ML-IAP₂₃₀ (VLEPPGARDV) (SEQ ID NO: 28), ML-IAP₉₈ (PLTAEVPPPEL) (SEQ ID NO: 29), ML-IAP₃₄ (SLGSPVLGL) (SEQ ID NO: 30), ML-IAP₅₄ (QILGQLRPL) (SEQ ID NO: 31), ML-IAP₉₉ (LTAEVPPPEL) (SEQ ID NO: 32), ML-IAP₈₃ (GMGSEELRL) (SEQ ID NO: 33) y ML-IAP₂₀₀ (ELPTPREV) (SEQ ID NO: 34).

- 25 Adicionalmente, la composición farmacéutica de la invención puede comprender ventajosamente al menos una proteína inmunógena adicional o fragmento peptídico de la misma que no pertenece a o se deriva de la proteína survivina. En modos de realización específicos, la proteína inmunógena o fragmento peptídico de la misma se deriva de la familia de proteínas Bcl-2 como se describe anteriormente y en el documento PCT/DK2004/000799. Otro péptido derivado de Bcl-2 inmunógeno es un péptido restringido para HLA-A2 que tiene una secuencia seleccionada de las siguientes: Bcl₁₇₂ (NIALWMTEYL) (SEQ ID NO: 35), Bcl₁₈₀ (YLNRLHTWI) (SEQ ID NO: 36), Bcl₂₀₈ (PLDFSWLSL) (SEQ ID NO: 37) y Bcl₂₁₄ (WLSLKTLLSL) (SEQ ID NO: 38), Bcl₂₁₈ (KTLLSLALV) (SEQ ID NO: 39) y Bcl₈₀ (AAAGPALSPV) (SEQ ID NO: 40).

- 35 Un modo de realización de la invención se refiere a una composición de vacuna de acuerdo con la invención que comprende además uno o más péptidos o variantes peptídicas seleccionados de los grupos de péptidos ML-IAP, BCL-2, BCL-X, MCL-1 o TRAG-3 (como se describe en el documento PCT/DK2004/000798) o variantes peptídicas de los mismos que se pueden unir a una molécula HLA de clase I.

Adicionalmente, la composición de acuerdo con la presente invención se puede proporcionar como una vacuna multiepítomo que comprende un epítomo restringido para clase I y/o epítomos restringidos para clase II como se define anteriormente en el presente documento.

- 40 Dosis

Se contempla que las composiciones de vacuna útiles de la invención comprende una cantidad inmunológicamente eficaz del péptido de survivina o variantes peptídicas de survivina.

- 45 La cantidad del péptido de survivina o variantes peptídicas de survivina en la composición de vacuna pueden variar dependiendo de la aplicación particular. Sin embargo, una única dosis del inmunógeno está preferentemente en cualquier parte de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 5000 µg más preferentemente de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 2500 µg, o tal como de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 1000 µg, o tal como de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 500 µg, o tal como de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 250 µg, o tal como de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 200 µg, o tal como de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 150 µg. En un modo de realización preferente, una dosis del inmunógeno es de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 150 µg. En un modo de realización más preferente, una dosis es de aproximadamente 100 µg.

Administración

- 55 Los modos de administración incluyen la administración intradérmica, subcutánea e intravenosa, implantación en forma de una formulación de liberación con el tiempo, etc., cualquiera y todas las formas de administración conocidas en la técnica se engloban en el presente documento. La administración subcutánea es preferente y en particular la administración subcutánea profunda. Además es preferente que la composición de vacuna de acuerdo con la invención se administre en extremidades alternas en estrecha proximidad del ganglio linfático de drenaje.

Además, cualquiera y todas las formas de dosificación convencionales que son conocidas en la técnica como apropiadas para formular una composición peptídica inmunógena inyectable están englobadas, tales como formas y soluciones liofilizadas, suspensiones y formas de emulsión que contienen, si se requiere, vehículos, diluyentes, conservantes, coadyuvantes, componentes tamponadores, etc., farmacéuticamente aceptables convencionales.

- 5 El efecto inmunológico de la composición de la invención se puede determinar usando varios enfoques como se conoce por un experto en la técnica y se describe en los ejemplos del documento WO 2004067023. Un ejemplo sobre cómo se determina una respuesta CTL provocada por la composición de vacuna se proporciona en el documento WO 97/28816. Una respuesta inmunitaria exitosa también se puede determinar por la aparición de reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) después de la inmunización y/o la detección de anticuerpos que reconocen específicamente el/los péptido(s) de la composición de vacuna.

En modos de realización preferentes, la composición farmacéutica de la invención es una composición inmunógena o vacuna que puede provocar una respuesta inmunitaria para una enfermedad de cáncer.

- 15 Como se usa en el presente documento, la expresión "composición inmunógena o vacuna" se refiere a una composición que provoca al menos un tipo de respuesta inmunitaria dirigida frente a células cancerosas. Por tanto, una respuesta inmunitaria de este tipo puede ser cualquiera de los tipos mencionados anteriormente: Una respuesta CTL en la que se generan CTL que pueden reconocer el complejo HLA/péptido presentado sobre las superficies celulares dando como resultado lisis celular, es decir, la vacuna provoca la producción en el sujeto vacunado de linfocitos T efectores que tienen un efecto citotóxico frente a las células cancerosas; una respuesta de linfocitos B que da lugar a la producción de anticuerpos antineoplásicos; y/o un tipo DTH de respuesta inmunitaria.

20 Vacunas de ácido nucleico

- La composición de vacuna de acuerdo con la presente memoria descriptiva puede comprender un ácido nucleico que codifica el polipéptido de survivina (SEQ ID NO: 23), un fragmento peptídico del mismo o una variante peptídica de survivina del mismo. Dicho ácido nucleico puede codificar, por tanto, cualquiera de los fragmentos de proteína y péptido mencionados anteriormente. El ácido nucleico puede ser, por ejemplo, ADN, ARN, ANB, ANH, ANP, preferentemente el ácido nucleico es ADN o ARN.

En un modo de realización, la memoria descriptiva describe una composición de vacuna que comprende:

i. un ácido nucleico que codifica:

- a) el polipéptido de survivina (SEQ ID NO: 23),
 b) un péptido de survivina o
 30 c) una variante peptídica de survivina. y

ii. cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente.

- Los ácidos nucleicos de la invención se pueden comprender dentro de cualquier vector adecuado, tal como un vector de expresión. Están disponibles numerosos vectores y el experto en la técnica podrá seleccionar un vector útil para el propósito específico. El vector puede estar, por ejemplo, en forma de un plásmido, cósmido, partícula vírica o cromosoma artificial. La secuencia de ácido nucleico apropiada se puede insertar en el vector por una variedad de procedimientos, por ejemplo, el ADN se puede insertar en un sitio(s) de endonucleasa de restricción apropiado(s) para el uso de técnicas bien conocidas en la técnica. Además de la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la invención, el vector puede comprender adicionalmente una o más de una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción. El vector también puede comprender secuencias adicionales. La construcción de vectores adecuados que contienen uno o más de estos componentes emplea técnicas de ligación estándar que son conocidas para un experto en la técnica. El vector es preferentemente un vector de expresión, que comprende el ácido nucleico unido de forma funcional a una secuencia de ácido nucleico reguladora que dirige la expresión del mismo en una célula adecuada. Dentro del alcance de la presente invención, dicha secuencia de ácido nucleico reguladora, en general, debe poder dirigir la expresión en una célula de mamífero, preferentemente una célula humana, más preferentemente en una célula presentadora de antígeno.

- En un modo de realización preferente, el vector es un vector vírico. Dicho vector vírico además del ácido nucleico que codifica survivina o fragmento peptídico de la misma comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido estimulador de linfocitos T. El polipéptido estimulador de linfocitos T se selecciona preferentemente del grupo que consiste en B7.1, ICAM-1 y LFA-3.

El vector también puede ser un vector bacteriano, tal como un vector bacteriano atenuado. Se pueden usar vectores bacterianos atenuados con el fin de inducir respuestas inmunitarias mucosas duraderas en los sitios de infección y persistencia. Se pueden usar diferentes bacterias recombinantes como vectores, por ejemplo, el vector bacteriano se puede seleccionar del grupo que consiste en *Salmonella*, *Lactococcus*, y *Listeria*. En general, se pudo demostrar la

inducción de la inmunidad para el antígeno heterólogo HPV16 L1 o E7, con una fuerte inducción de CTL y regresión tumoral en ratones.

Medicamento farmacéutico

5 Un aspecto de la invención se refiere a las composiciones de vacuna de acuerdo con la invención para su uso en la fabricación de un medicamento. En un modo de realización específico, el medicamento es para el tratamiento de enfermedades de cáncer.

En un modo de realización, el medicamento de acuerdo con la invención es para su administración subcutánea, por tanto el medicamento se puede formular como una solución o suspensión o de forma alternativa como un producto secado por congelación para suspensión antes de su administración.

10 La invención se refiere además a un medicamento para tratar un cáncer que comprende una composición de vacuna que comprende uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina y un coadyuvante como ingrediente activo.

Tratamiento

15 Se ha descubierto que la molécula de survivina se desregula en una gran población de enfermedades de cáncer. Se puede usar una composición de vacuna que comprende el péptido de survivina o variantes peptídicas de survivina para el tratamiento de afecciones clínicas tales como enfermedades de cáncer. De acuerdo con la invención, el tratamiento incluye la disminución de síntomas y la inhibición de la progresión de la enfermedad, dando como resultado por tanto una respuesta clínica como se describe aquí a continuación.

20 La composición de vacuna de acuerdo con la invención se puede administrar más de una vez, tal como dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, o tal como más de cinco veces, tal como más de 7 veces, tal como más de 10 veces, tal como más de 15 veces. La enfermedad tratada usando la composición de vacuna de la invención puede ser recurrente o crónica, por tanto, con el fin de minimizar los síntomas e inhibir la progresión o la reaparición de la enfermedad, se puede continuar el tratamiento con intervalos regulares durante un periodo prolongado. Por ejemplo, la enfermedad tratada puede ser una enfermedad de cáncer y el tratamiento se puede continuar hasta que o mientras la regresión completa o la enfermedad estable sea la respuesta clínica, o durante la vida del paciente.

25 La composición de vacuna se puede administrar tal como una vez cada 14 días, durante al menos un mes, tal como al menos dos meses, tal como al menos 3 meses, tal como al menos 5 meses, tal como al menos 8 meses, tal como al menos 12 meses, tal como al menos 20 meses. La composición de vacuna se puede administrar con intervalos regulares durante la vida del sujeto. La composición de vacuna se puede administrar cuando la enfermedad reaparece o cuando se detecta la progresión de la enfermedad.

30 En un modo de realización, la invención se refiere a un procedimiento de estimulación de una respuesta de linfocitos T específicos fuerte frente a survivina en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento:

- a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,
- 35 b) administrar dicha composición de vacuna al sujeto, en el que dicha composición de vacuna se puede administrar más de una vez; y
- c) estimular de este modo una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en el sujeto, en el que la respuesta de linfocitos T específicos, cuando se mide por el ensayo de ELISPOT, antes y después de la administración de la composición de vacuna, es de más de 50 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC.

40 En un modo de realización específico, la respuesta de linfocitos T específicos fuerte, cuando se mide por un ensayo ELISPOT antes y después de la administración de la composición de vacuna, es de más de 200 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC.

En otro modo de realización específico, el procedimiento de acuerdo con la invención puede incluir administrar dicha composición de vacuna una vez cada mes.

En un modo de realización preferente diferente, la composición de vacuna se administra una vez cada dos meses.

45 En un modo de realización, la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende;

- a) proporcionar una composición de vacuna que comprende cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente y opcionalmente cualquiera de los coadyuvantes mencionados anteriormente,
- 50 b) administrar dicha composición de vacuna al sujeto, en el que dicha composición de vacuna se puede administrar más de una vez; y

c) estimular de este modo una respuesta de linfocitos T específicos fuerte en el sujeto, en el que la respuesta de linfocitos T específicos fuerte, cuando se mide por el ensayo de ELISPOT, antes y después de la administración de la composición de vacuna, es de más de 50 manchas específicas de péptidos por 10^4 células PBMC.

d) obtener una respuesta clínica en el sujeto.

5 La respuesta clínica se evalúa como se describe en la sección concerniente a la evaluación de lesiones diana, a continuación.

En un modo de realización preferente, la composición de vacuna es para el tratamiento de una afección clínica.

En un modo de realización preferente de la invención, la afección clínica es un cáncer. El término "cáncer" como se usa en el presente documento se pretende que englobe cualquier enfermedad de cáncer, neoplásica y preneoplásica.

10 Dicho cáncer se puede seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en; carcinoma de colon, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer ovarico, cáncer prostático, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangeosarcoma, sarcoma linfangeoendotelial, sinovioma, mesotelioma, sarcoma de Ewing, liomiosarcoma, rabdomyosarcoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadecarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioblastomas, neuronomas, craneofaringiomas, schwannomas, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, 15 neurofibroma, neurofibrosarcoma, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemias y linfomas, leucemia linfocítica aguda y policitemia vera mielógena aguda, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, y enfermedad de la cadena pesada, leucemias no linfocíticas agudas, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, enfermedad de Hodgkin, linfomas no hodgkinianos, cáncer del recto, cánceres urinarios, cánceres uterinos, cánceres orales, cánceres cutáneos, cáncer de estómago, tumores cerebrales, cáncer de hígado, 20 cáncer laríngeo, cáncer esofágico, tumores mamarios, leucemia linfocítica aguda (ALL) nula infantil, ALL tímica, ALL de linfocitos B, leucemia mielógena aguda, leucemia mielomonocítica, leucemia megacariocítica aguda, linfoma de Burkitt, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, y leucemia de linfocitos T, carcinoma amicrocítico y no microcítico de pulmón, leucemia granulocítica aguda, tumores de células germinativas, cáncer endometrial, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas y cáncer de tiroides.

30 En un modo de realización, la composición de vacuna de acuerdo con la invención es para el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo de; melanoma maligno, cáncer pancreático, cáncer de cuello uterino o cáncer de colon.

En un modo de realización preferente, la composición de vacuna de acuerdo con la invención es para el tratamiento de melanoma maligno y cáncer pancreático.

Un aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de inhibición de angiogénesis que comprende;

- 35 a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,
b) administrar dicha composición de vacuna a un sujeto.

40 El individuo que necesita el tratamiento puede ser cualquier individuo, preferentemente un ser humano. En general, los péptidos tendrán diferentes afinidades para diferentes moléculas de HLA. Por tanto, en los modos de realización de la presente invención en la que la composición de vacuna o la composición farmacéutica comprende péptidos de survivina, es preferente que una composición de vacuna o una composición farmacéutica que se va a administrar a un individuo dado comprenda al menos un péptido que se puede asociar con moléculas de HLA de ese individuo particular.

Tratamiento de combinación

45 La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas y kit de partes para su uso en un tratamiento de combinación.

50 El tratamiento de combinación como se usa en el presente documento indica el tratamiento de un sujeto que lo necesita con más de un medicamento diferente. Por tanto, el tratamiento de combinación puede implicar en un aspecto la administración de composiciones farmacéuticas o un kit de partes que comprende una composición de vacuna como se describe en el presente documento anteriormente y para un medicamento secundario. Los medicamentos secundarios pueden ser cualquiera de los medicamentos descritos en el presente documento a continuación, por ejemplo un agente quimioterápico o inhibidores de la angiogénesis.

En particular el tratamiento de combinación puede implicar la administración a un individuo de un agente quimioterápico y/o un agente inmunoterápico en combinación con uno o más de i) los péptidos de survivina o variantes de péptidos de survivina de acuerdo con la invención, ii) composiciones de vacuna de acuerdo con la invención. Sin

embargo, el tratamiento de combinación también puede implicar tratamiento de radiación, tratamiento génico y/o intervención quirúrgica.

Un aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento de combinación que incluye la administración simultánea, secuencial o separada en cualquier orden, de:

- 5 i) una composición de vacuna de acuerdo con la invención
- ii) y un medicamento secundario.

En un modo de realización preferente, el medicamento secundario es un agente quimioterápico.

El agente quimioterápico puede ser, por ejemplo, metotrexato, vincristina, adriamicina, cisplatino, cloroetilnitrosoureas que no contienen azúcares, 5-fluorouracilo, mitomicina C, bleomicina, doxorubicina, dacarbazina, taxol, fragilina, Meglamina GLA, valrubicina, carmustaína y poliferposán, MM 1270, BAY 12-9566, inhibidor de fametil transferasa RAS, inhibidor de fametil transferasa, MMP, MTA/LY231514, LY264618/Lometexol, Glamolec, CI-994, TNP-470, Hycamtin/Topotecán, PKC412, Valspodar/PSC833, Novantrona/Mitroxantrona, Metaret/Suramina, Batimastat, E7070, BCH-4556, CS-682, 9-AC, AG3340, AG3433, IncelA/X-710, VX-853, ZD0101, ISI641, ODN 698, TA 2516/Marmistat, BB2516/Marmistat, CDP 845, D2163, PD183805, DX8951f, Lemonal DP 2202, FK 317, Picibanil/OK-432, AD 32/Valrubicina, Metastron/derivado de estroncio, Temodal/Temozolomida, Evacet/doxorubicina liposomal, Yewtaxan/Paclitaxel, Taxol/Paclitaxel, Xeload/Capecitabina, Furtulon/Doxifluridina, Cyclopax/paclitaxel oral, taxoide oral, SPU-077/Cisplatino, HMR 1275/Flavopiridol, CP-358 (774)/EGFR, CP-609 (754)/inhibidor de oncogén RAS, BMS-182751/platino oral, UFT(Tegafur/Uracilo), Ergamisol/Levamisol, Eniluracil/776C85/potenciador 5FU, Campto/Levamisol, Camptosar/Irinotecán, Tumodex/Ralitrexed, Leustatina/Cladribina, Paxex/Paclitaxel, Doxil/doxorubicina liposomal, Caelyx/doxorubicina liposomal, Fludara/Fludarabina, farmorubicina/Epirubicina, DepoCyt, ZD1839, LU 79553/Bis-Naftalimida, LU 103793/Dolastaina, Caetyx/doxorubicina liposomal, Gemzar/Gemcitabina, ZD 0473/Anormed, YM 116, semillas yodadas, inhibidores CDK4 y CDK2, inhibidores PARP, D4809/Dexifosamida, Ifes/Mesnex/lfosamida, Vumon/Teniposida, Paraplatino/Carboplatino, Plantinol/cisplatino, Vepeside/Etopósido, ZD 9331, Taxotere/Docetaxel, profármaco de guanina arabinósido, análogo de taxano, nitrosoureas, agentes alquilantes tales como melfalán y ciclofosfamida, aminoglutetiimida, asparaginasa, Busulfán, Carboplatino, Clorambucilo, Citarabina HCl, Dactinomicina, Daunorubicina HCl, Estramustina fosfato de sodio, Etopósido (VP16-213), Floxuridina, Fluorouracilo (5-FU), Flutamida, hidroxurea (hidroxicarbamida), Ifosfamida, Interferón Alfa-2a, Alfa-2b, Leuprolida acetato (análogo del factor de liberación LHRH), Lomustina (CCNU), Mecloretamina HCl (mecloretamina), Mercaptopurina, Mesna, Mitotano (o.p'-DDD), Mitoxantrona HCl, Octreótido, Plicamicina, Procarbazona HCl, estreptozocina, tamoxifeno citrato, tioguanina, tiotepa, vinblastina sulfato, amsacrina (m-AMSA), azacitidina, eritropoyetina, hexametilmelamina (HMM), interleucina 2, mitoguzona (metil-GAG; metil glioxal bis-guanilhidrazona; MGBG), Pentostatina (2'desoxicoformicina), Semustina (metil-CCNU), tenipósido (VM-26) y vindesina sulfato. Además, el agente quimioterápico puede ser cualquiera de los agentes quimioterápicos mencionados en la tabla 3 del documento US 6.482.843, columnas 13 a 18.

35 Las composiciones terapéuticas o composiciones de vacuna de la invención también se pueden usar en combinación con otras estrategias antineoplásicas, y dichos tratamientos de combinación son eficaces en la inhibición y/o eliminación de crecimiento tumoral y metástasis. Los procedimientos de la presente invención se pueden usar de forma ventajosa con otras modalidades de tratamiento, incluyendo, sin limitación, radiación, intervención quirúrgica, tratamiento génico y quimioterapia.

40 La survivina se expresa altamente en células endoteliales durante la angiogénesis y puede estar implicada en el efecto citoprotector del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), por tanto la dirección de las células que expresan survivina puede dirigir las células cancerosas directamente y además prevenir el crecimiento tumoral por la inhibición de la angiogénesis.

45 El efecto antiangiogénico se puede potenciar combinando el tratamiento con una vacuna de acuerdo con la invención con el tratamiento con inhibidores de la angiogénesis. El tratamiento antiangiogénico se dirige a la vasculatura tumoral y previene el crecimiento tumoral más allá de un determinado tamaño, por tanto, en un segundo modo de realización preferente, el medicamento secundario es un inhibidor de la angiogénesis.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser, pero no se limita a, por ejemplo BMS-275291, dalteparina (Fragmin®), suramina, 2-metoxiestradiol (2-ME), talidomida, CC-5013 (análogo de talidomida), combretastatina A4 fosfato, LY317615 (inhibidor beta de proteína cinasa C), isoflavona de soja (genisteína; aislado de proteína de soja), AE-941 (Neovastat™; GW786034), anticuerpo anti-VEGF (Bevacizumab; Avastin™), interferón alfa, PTK787/ZK 222584, VEGF-Trap, ZD6474, EMD 121974, Carboxiamidotriazol (CAI), Celecoxib (Celebrex®), bromhidrato de halofuginona (Tempostatin™), AdPEDF, Macugen, triptofanil-tRNA sintetasa (TrpRS), Rhufab V2 (aka lucentis), escualamina, Retaane 15 mg (acetato de anecortavo con suspensión en depósito) e interleucina 12.

55 "Tratamiento de combinación" puede incluir la introducción de ácidos nucleicos heterólogos en células adecuadas, en general conocido como tratamiento génico. Por ejemplo, el tratamiento génico puede implicar la introducción de genes supresores tumorales o genes promotores de apoptosis en células tumorales. De forma alternativa, las secuencias de ácido nucleico que inhiben la expresión de oncogenes o genes que inhiben la apoptosis se pueden introducir en

5 células tumorales. Además, se pueden introducir genes que codifican enzimas que pueden conferir a las células tumorales la sensibilidad a los agentes quimioterápicos. En consecuencia, la presente invención en un modo de realización proporciona un procedimiento que comprende la etapa de tratar el cáncer introduciendo un vector génico, que codifica una proteína que puede realizar la conversión enzimática de un profármaco, es decir, de un compuesto no tóxico, a un compuesto tóxico. En el procedimiento de la presente invención, la secuencia de ácido nucleico terapéutico es un ácido nucleico que codifica un producto, en la que el producto provoca la muerte celular por sí mismo o en presencia de otros fármacos. Un ejemplo representativo de un ácido nucleico terapéutico de este tipo es uno que codifica la timidina cinasa del virus del herpes simple. Ejemplos adicionales son timidina cinasa del virus varicella zóster y el gen bacteriano citosina desaminasa, que puede convertir 5-fluorocitosine al compuesto altamente tóxico 5-fluorouracilo.

Evaluación de lesiones diana

15 Se mide la respuesta del tratamiento usando los criterios RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) descritos en el original WHO Handbook for reporting results of cancer treatment (World Health Organization Offset Publication n.º 48; 1979) teniendo en cuenta la medida del diámetro más largo de las lesiones diana (Therasse P *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 2000 Feb 2;92(3): 205-16). La respuesta se divide en; respuesta completa, respuesta parcial, enfermedad progresiva y enfermedad estable. Una respuesta completa es la desaparición de todas las lesiones diana, mientras que una respuesta parcial se refiere a una disminución al menos en un 30 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana. La enfermedad progresiva representa un incremento de al menos un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana. La enfermedad estable se refiere a una situación en la que ninguna de las anteriores se aplica. La duración de la respuesta completa o la respuesta parcial se debe medir desde el momento en el que los criterios de medida se cumplen en primer lugar hasta el primer momento en el que se documenta la enfermedad recurrente o progresiva. El efecto se observa preferentemente en al menos un paciente.

25 Una respuesta parcial se refiere a una respuesta en la que se observa una disminución de al menos un 30 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana. La respuesta puede ser otro subgrupo, en el que una respuesta parcial de un 40 %, o una respuesta parcial de un 50 %, o una respuesta parcial de un 60 %, o una respuesta parcial de un 70 %, o una respuesta parcial de un 80 %, o una respuesta parcial de un 90 %, se refiere a un tratamiento en el que se ha observado una disminución en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana de al menos un 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %, respectivamente.

30 En un modo de realización, la composición de vacuna de acuerdo con la invención es para el tratamiento de un cáncer, en el que se obtiene una respuesta parcial de al menos un 30 %.

En un modo de realización, el procedimiento, que incluye administrar la composición de vacuna de acuerdo con la invención, es para el tratamiento de un cáncer, y en el que se obtiene una respuesta parcial de al menos un 40 %, tal como al menos un 50 %, tal como al menos un 60 %, tal como al menos un 70 %, tal como al menos un 80 % o tal como al menos un 90 %.

35 Enfermedad estable se refiere a respuestas en las que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana disminuye en un 30 % o menos y además incluye respuestas en las que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana se incrementa en un 20 % o menos. Este tipo de respuestas se puede subdividir en respuestas en las que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana disminuye en un 30 % o menos, tal como un 25 % o menos, tal como un 20 % o menos, tal como un 15 % o menos, tal como 10 % o tal como 5 % o menos y en subgrupos en los que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana se incrementa en un 20 % o menos, tal como un 15 % o menos, tal como un 10 % o tal como un 5 % o menos. Además, se incluyen los subgrupos en los que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana disminuye o bien se incrementa como máximo en un 1 %, tal como un 3 % o tal como, como máximo un 5 %.

45 La enfermedad progresiva representa un incremento de al menos un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana. Este tipo de respuesta se puede subdividir en respuestas en las que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana se incrementa en como máximo un 25 % tal como, como máximo un 30 %, tal como, como máximo un 35 %, tal como, como máximo un 40 %, tal como, como máximo un 45 % o tal como, como máximo un 50 %. De acuerdo con la invención un tratamiento que da lugar a una respuesta de enfermedad progresiva en la que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana se incrementa en como máximo un 30 % se puede considerar un resultado positivo si el diagnóstico predice un incremento de un 50 %. Por tanto, los modos de realización específicos incluyen tratamientos en los que la respuesta se caracteriza como respuestas de enfermedad progresiva y en la que la suma del diámetro más largo de las lesiones diana se incrementa en como máximo un 25 % tal como, como máximo un 30 %, tal como, como máximo un 35 %, tal como, como máximo un 40 %, tal como, como máximo un 45 % o tal como, como máximo un 50 %.

55 Un modo de realización de la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende;

- a) proporcionar una composición de vacuna de acuerdo con la invención,
- b) administrar dicha composición de vacuna a un sujeto

c) para el tratamiento de un cáncer, y

d) en la que la administración de dicha composición de vacuna da como resultado una enfermedad estable, respuesta parcial o regresión completa, caracterizada por un incremento de como máximo un 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana.

5 Los datos descritos en el ejemplo 1 demuestran que incluso en pacientes pretratados en gran medida con enfermedades muy avanzadas, se montaron respuestas a linfocitos T específicos de survivina extremadamente fuertes dentro del conjunto de linfocitos circulantes en todos los pacientes examinados. Como se observa en el ejemplo 1, tabla 3, dos sujetos, JUSC y OTSC experimentaron regresión completa, mientras que se observó enfermedad estable en algunos casos y se observó una respuesta parcial en un sujeto.

10 Kit de partes

El tratamiento de combinación implica la administración separada, secuencial o simultánea de dos o más ingredientes activos, formulados en uno o más medicamentos. Para un uso conveniente, dichos medicamentos se pueden incluir en un único producto combinado o un kit de partes.

Un aspecto de la invención se refiere a un kit de partes que comprende:

15 a) una composición de vacuna que comprende

i. uno o más péptidos de survivina o variantes peptídicas de survivina, en la que la secuencia de la variante peptídica, a lo largo de la longitud completa, es idéntica al menos en un 85 % a una secuencia de aminoácidos consecutiva de SEQ ID NO: 23,

ii. y un coadyuvante como se describe en el presente documento,

20 b) y un medicamento secundario.

Para el tratamiento de una enfermedad de cáncer con un kit de partes de acuerdo con la invención, el medicamento puede ser un agente quimioterápico. Con relación al tratamiento de una enfermedad inmunitaria, el medicamento puede ser un agente inmunoterápico.

25 En un modo de realización con el kit en partes de acuerdo con la invención, el medicamento comprende un agente quimioterápico o un agente inmunoterápico. En un modo de realización preferente, el medicamento comprende un agente quimioterápico. De acuerdo con la invención la composición de vacuna y el medicamento comprendido por el kit de partes son para administración separada, secuencial o simultánea. El kit de partes puede comprender además una nota que incluye información de uso/administración/dosificación apropiadas del medicamento y la composición de vacuna comprendidos.

30 Descripción de las figuras

Figura 1. Análisis cinético de la inmunidad en PBL de un paciente con cáncer pancreático para el péptido de survivina Sur1M2 evaluado por INF- γ ELISPOT. Se obtuvieron PBMC del paciente OTSC antes de la primera vacunación de surl M2/Montanide y uno, tres y seis meses después de esto. Se estimularon los linfocitos T una vez con el péptido antes de plaquearse a 10^5 células por pocillo por triplicado sin o bien con péptido. Se calculó el promedio en número de las manchas específicas de péptidos (después de la sustracción de las manchas sin péptido añadido) para cada paciente usando el analizador ImmunoSpot® Series 2.0 (CTL Analyzers, LLC, Cleveland, EE. UU.).

Figura 2. Análisis cinético de la inmunidad en PBL de un paciente con melanoma para el péptido de survivina Sur1M2 evaluado por INF- γ ELISPOT. Se obtuvieron PBMC del paciente JUST antes de la primera vacunación de surl M2/Montanide y uno, tres y seis meses después de esto. Se estimularon los linfocitos T una vez con el péptido antes de plaquearse a 10^5 células por pocillo por triplicado sin o bien con péptido. Se calculó el promedio en número de las manchas específicas de péptidos (después de la sustracción de las manchas sin péptido añadido) para cada paciente usando el analizador ImmunoSpot® Series 2.0 (CTL Analyzers, LLC, Cleveland, EE. UU.).

Figura 3. Análisis cinético de la inmunidad en PBL de un paciente con melanoma para el péptido de survivina Sur1M2 evaluado por INF- γ ELISPOT. Se obtuvieron PBMC del paciente SIST antes de la primera vacunación de surl M2/Montanide y uno y cuatro meses después de esto. Se estimularon los linfocitos T una vez con el péptido antes de plaquearse a 10^5 células por pocillo por triplicado sin o bien con péptido. Se calculó el promedio en número de las manchas específicas de péptidos (después de la sustracción de las manchas sin péptido añadido) para cada paciente usando el analizador ImmunoSpot® Series 2.0 (CTL Analyzers, LLC, Cleveland, EE. UU.).

Ejemplos

50 Ejemplo 1

Resultados clínicos usando composiciones de vacuna que comprenden epítomos derivados de survivina y Montanide ISA 51 como coadyuvante. Se realizaron los tratamientos en una serie de pacientes con cáncer en estadio tardío como se describe aquí a continuación.

5 Todos los procedimientos clínicos estaban de acuerdo con la Declaración de Helsinki y todos los pacientes proporcionaron el consentimiento informado antes del tratamiento. Se aprobó el estudio clínico por el Ethical review Boards de la Universidad de Wurzburg, Alemania (Studien-Nr. 7/03) y el Paul-Ehrlich-Institute, Langen, Alemania (Vorlagen-Nr 0899/01).

Pacientes

10 Para ser elegibles para participar en este estudio, los pacientes tuvieron que cumplir los siguientes criterios:

- cáncer de cuello uterino, de colon, pancreático o melanoma metastásico medible
- enfermedad progresiva confirmada
- fallo de al menos un tratamiento estándar
- esperanza de vida de al menos 3 meses
- 15 • sin tratamiento en las últimas 4 semanas
- sin insuficiencia orgánica manifiesta
- el tipo tisular de clase I HLA-A1, -A2 o -B35

Péptidos

20 Los péptidos incluidos en este estudio eran todos variantes peptídicas de survivina obtenidas por modificación de péptidos de survivina por sustitución de un aminoácido. De este modo, se obtuvieron mejores residuos de anclaje y una mejora en la afinidad de unión del péptido dado para la molécula MHC. Los péptidos usados incluyen:

- un epítomo restringido para HLA-A1 FTELTGGEF (SEQ ID NO: 16)(survivin₉₃₋₁₀₁2T, en el que la glutamina natural en la posición 2 se reemplazó con treonina).
- 25 • un epítomo restringido para HLA-A2, LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)(survivin₉₆₋₁₀₄2M, en el que la treonina natural en la posición 2 se reemplazó con metionina).
- un epítomo restringido para HLA-B35 EPDLAQCFY (SEQ ID NO: 9)(survivin₅₁₋₅₉9Y en el que la leucina en la posición 9 se reemplazó con tirosina).

30 Se mezclaron cien µg del péptido de survivina restringido para HLA-A1, HLA-A2 o HLA-B35 con 1 ml de Montanide ISA51 de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Seppic, Bruselas, Bélgica). Se administró la mezcla por inyección subcutánea profunda en extremidades alternas en estrecha proximidad del ganglio linfático de drenaje. Se vacunaron los pacientes a intervalos de 7 días para las dos primeras vacunaciones seguido de intervalos de 28 días para las otras vacunaciones.

Se evaluaron la toxicidad, eficacia clínica y respuestas inmunológicas.

35 Se evaluó la toxicidad por exploración física/antecedentes médicos, pruebas sanguíneas y bioquímica sérica. Se realizaron estos exámenes antes de cada vacunación. Se evaluó la eficacia clínica por exploración física y estudios de formación de imágenes apropiados (tales como TAC, RMN, radiografía de tórax, ecografía o gammagrafía ósea) antes de la iniciación del tratamiento y cada 3 meses después de esto.

40 Se monitorizaron las respuestas inmunológicas por el ensayo de ELISPOT, usando PBMC para detectar la liberación de INF-γ específico de survivin₉₆₋₁₀₄. Para prolongar la sensibilidad del ensayo de ELISPOT, se estimularon las PBMC una vez *in vitro* a una concentración de 1×10^6 células por ml en placas de 24 pocillos (Nunc, Dinamarca) en medio X-vivo (Bio Whittaker, Walkersville, Maryland), complementado con suero humano inactivado con calor al 5 % y 2 mM de L-glutamina en presencia de 10 µM de péptido. Dos días después, se añadieron 40 IU/ml de interleucina 2 (IL-2) recombinante (Chiron, Ratingen, Alemania). Después de 10 días, se sometieron a prueba las células para determinar su reactividad. En resumen, se recubrieron placas de 96 pocillos con fondo de nitrocelulosa (MultiScreen MAIP N45, Millipore, Hedehusene, Dinamarca) con anticuerpo anti-INF-γ (1-D1K, Mabtech, Nacka, Suecia). Se lavaron los pocillos, se bloquearon con medio X-vivo antes de la adición de 10^4 células T2 estimuladoras (con o sin péptido 10 µM) y células efectoras en diferentes concentraciones. Se incubaron las placas durante la noche. Al día siguiente, se desechó el medio y se lavaron los pocillos antes de la adición del anticuerpo secundario biotilado (7-B6-1-Biotin, Mabtech). Se incubaron las placas durante 2 horas, se lavaron y se añadió conjugado avidina-enzima (AP-Avidin, Calbiochem, Life Technologies) a cada pocillo. Se incubaron las placas a ta durante 1 hora y se añadió el

sustrato enzimático NBT/BCIP (Gibco, Life Technologies) a cada pocillo y se incubó a ta durante 5-10 min. Se terminó la reacción lavando con agua corriente después de la aparición de las manchas de color morado oscuro. Se contaron las manchas usando el analizador ImmunoSpot® Series 2.0 (CTL Analyzers, LLC, Cleveland, EE. UU.) y se pudo calcular la frecuencia de CTL específicos de péptidos a partir de los números de células formadoras de manchas.

5

Resultados

Una visión general de los resultados clínicos obtenidos usando péptidos de survivina incluyendo; abreviaturas de paciente, número de vacunaciones y la respuesta clínica se resumen en la tabla 3.

Paciente	Fecha de nacimiento	Diagnóstico	Tipo HLA	N.º de vac.	Estudio en curso	Fechas de finalización	Muertes	Respuesta clínica
AGSC	28.05.26	MM	A2	2	X			
ALKA	19.04.36	MM	A2	5		22.10.03	X	
BRHI	27.08.34	MM	A2	5	X			SD
CHPF	18.12.34	MM	A2	12	X			PR
CHPF	18.12.34	MM	B35	1	X			
EREI	04.05.55	MM	A2	5		08.10.03	X	
HAKO	27.02.63	MM	A1	2	X			
JUSC	03.01.57	MM	A2	16	X			CR
MAKR	20.08.40	MM	B35	3	X			
OSRO	11.07.35	MM	A2	4		05.08.04		
OTSC	10.05.29	PC	A2	15	X			CR
REPA	27.09.45	MM	A2	4		19.04.04		
SIST	08.02.34	MM	A2	7	-	30.03.04		SD
WESE	23.07.42	MM	A2	5	X			SD

Tabla 3. Resultados del ensayo clínico en marcha.

10 Melanoma metastásico (MM), cáncer pancreático (PC). Respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SD) y enfermedad progresiva (PD).

Toxicidad: No se observaron efectos secundarios inducidos por tratamiento. No se observaron signos de toxicidad sistémica o local en los sitios de inyección. Se dirigió una especial atención a los signos de alteración vascular, por ejemplo, vasculitis o cicatrización alterada. La hemoglobina, los leucocitos y trombocitos, así como la lactato deshidrogenasa, creatinina y colinesterasa no se vieron influenciados por el tratamiento de vacunación (datos no mostrados). Por tanto, no fueron detectables ni signos clínicos ni histológicos para las alteraciones vasculares. Además, no se produjeron signos de cicatrización alterada, trastornos hemorrágicos, disfunción cardíaca, vasculitis o enfermedad inflamatoria intestinal. La vacunación de survivina es tanto tolerable como segura para los pacientes con cáncer que mantienen una hematopoyesis normal.

15

20 Eficacia clínica: Se presentaron respuestas clínicas objetivas en este grupo de paciente con pronóstico más bien desfavorable. Las respuestas incluyeron una regresión tumoral completa de metástasis viscerales en unos pocos pacientes, pero la mayoría consistieron en una estabilización de la enfermedad. De forma remarcable, en dos pacientes diagnosticados con melanoma cutáneo (JuSc) y adenocarcinoma del páncreas (OtSc), respectivamente, se produjo una regresión tumoral completa (tabla 3) a pesar del hecho de que los pacientes no hayan respondido a quimioterapia previa (Temodal® o Gemzar®, respectivamente). Por lo tanto, los resultados clínicos demuestran un

25

Respuestas a linfocitos T CD8+ específicos de survivina.

Se siguió en los pacientes la cinética de las respuestas a linfocitos T citotóxicos. Se sometieron a prueba PBMC obtenidas antes de y después de la vacunación para determinar la reactividad al epítipo de survivin96-104 modificado por ELISPOT para INF- γ . En todos los pacientes sometidos a prueba, se evidenció una inducción de linfocitos T reactivos para survivina. Para los dos pacientes con respuesta completa OtSc (que padecen cáncer pancreático) y JuSc (que padecen melanoma), se analizaron los PBL antes de la vacunación y uno, tres y seis meses después de la iniciación de las vacunaciones. En pacientes OtSc ya se presentó una fuerte respuesta un mes después de la iniciación del ensayo de vacunación. Esta respuesta fue aún más fuertes después de tres y seis meses. Por tanto, se

30

35

podieron detectar más de 600 células específicas de survivina por 10^4 (figura 1). En pacientes JuSc, no se detectó la respuesta hasta después de seis meses (figura 2) sin embargo, en ese momento, era tan fuerte como en los pacientes OtSc. Además, se analizaron los PBL de un paciente SiSt con melanoma antes de la vacunación y uno y cuatro meses después de la iniciación del ensayo de vacunación. En pacientes SiSt, se detectó una fuerte respuesta después de cuatro meses de vacunaciones (figura 3). Finalmente, se analizaron los PBL de dos pacientes con melanoma en

- estadio tardío (AIKa y ErEi), en los que los pacientes sólo habían podido recibir cuatro vacunaciones antes de que murieran de su enfermedad. En ambos de estos pacientes, se introdujo una respuesta frente al péptido de survivina (datos no mostrados). Los datos demuestran que incluso en estos pacientes pretratados en gran medida con una enfermedad muy avanzada, se montó una respuestas a linfocitos T específicos de survivina extremadamente fuerte dentro del conjunto de linfocitos circulantes en todos los pacientes examinados. Por tanto, después de una estimulación *in vitro* de PBL obtenidos de pacientes vacunados se detectaron más de 250 células liberadoras de INF- γ y en ejemplos específicos más de 600 células liberadoras de INF- γ por 10^4 células.

Ejemplo 2

Tinción inmunohistoquímica

- 10 Los complejos de péptido/HLA biotinilados se multimerizan con moléculas de dextrano conjugadas con estreptavidina-FITC (DAKO, Glostrup, Dinamarca) para generar compuestos de HLA-dextrano multivalentes para inmunohistoquímica. Las secciones de tejido se secan durante la noche y posteriormente se fijan en acetona fría durante 5 min. Todas las etapas de incubación se realizan en la oscuridad a temperatura ambiente: (a) 45 min del anticuerpo primario (diluido 1:100) (b) anti-ratón de cabra conjugado con Cy 3 (diluido 1:500; código 115-165-100; Jackson immunoResearch, obtenido de Dianova, Hamburg, Alemania) durante 45 min; y finalmente (c) los multímeros durante 75 min. entre cada etapa, se lavan los portaobjetos dos veces durante 10 min en PBS/BSA al 0,1%. Se montan los portaobjetos en Vectashield y se mantienen en el refrigerador hasta el examen bajo microscopio confocal (Leica).

Listado de secuencias

<110> Survac ApS

5 <120 > Vacuna de péptidos de survivina

<130> P984PC00

<160> 118

10 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 9

15 <212> PRT

<213 > péptido sintético

<220>

<221> misc_feature

20 <222> (1)..(9)

<223> survivin101-109

<400> 1

Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala

1 5

25 <210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> péptido sintético

30 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(10)

<223> Survivin5-14

35 <400> 2

Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu

1 5 10

40 <210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> sintético

<220>

45 <221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> survivin95-104

<400> 3

Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu

1 5 10

50 <210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> péptido sintético

55 <220>

<221 > misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> survivin96-104L2

<400> 4
Leu Leu Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu
 1 5

5 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> survivin96-104M2

15 <400> 5
Leu Met Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu
 1 5

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 25 <223> survivin46-54

<400> 6
Cys Pro Thr Glu Asn Glu Pro Asp Leu
 1 5

30 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN51-59

40 <400> 7
Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe
 1 5

<210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 45 <213> péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 50 <223> SURVIVIN46-54Y9

<400> 8
Cys Pro Thr Glu Asn Glu Pro Asp Tyr
 1 5

<210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN51-59Y9
 10
 <400> 9
 Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Tyr
 1 5
 <210> 10
 <211 > 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 15
 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN6-14
 20
 <400> 10
 Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu
 1 5
 25
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 30
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN11-19
 35
 <400> 11
 Gln Pro Phe Leu Lys Asp His Arg Ile
 1 5
 40
 <210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> SURVIVIN34-43
 50
 <400> 12
 Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe
 1 5 10
 55
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 5 <223> SURVIVIN6-14A1

 <400> 13
Ala Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu
1 5

10 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN6-14R1

20 <400> 14
Arg Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu
1 5

25 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> SURVIVIN92-101

 <400> 15
Gln Phe Glu Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe
1 5 10

35 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN93-101T2

45 <400> 16
Phe Thr Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe
1 5

50 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> SURVIVIN38-46Y9

<400> 17
 Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Tyr
 1 5

5 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> SURVIVIN47-56Y10

15 <400> 18
 Pro Thr Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Tyr
 1 5 10

20 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> SURVIVIN53-62

<400> 19
 Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys
 1 5 10

30 <210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> Survivin18-27K10

40 <400> 20
 Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Lys
 1 5 10

45 <210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(11)
 <223> SURVIVIN18-28

<400> 21
 Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
 1 5 10

55

ES 2 523 172 T3

```

<210>      22
<211>      429
<212>      DNA
5  <213>      homo sapiens

<220>
<221>      CDS
<222>      (1)..(426)
10
<400>      22
atg ggt gcc ccg acg ttg ccc cct gcc tgg cag ccc ttt ctc aag gac    48
Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp
1      5      10      15

cac cgc atc tct aca ttc aag aac tgg ccc ttc ttg gag ggc tgc gcc    96
His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala
      20      25      30

tgc acc ccg gag cgg atg gcc gag gct ggc ttc atc cac tgc ccc act   144
Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr
      35      40      45

gag aac gag cca gac ttg gcc cag tgt ttc ttc tgc ttc aag gag ctg   192
Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu
      50      55      60

gaa ggc tgg gag cca gat gac gac ccc ata gag gaa cat aaa aag cat   240
Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His
      65      70      75      80

tcg tcc ggt tgc gct ttc ctt tct gtc aag aag cag ttt gaa gaa tta   288
Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
      85      90      95

acc ctt ggt gaa ttt ttg aaa ctg gac aga gaa aga gcc aag aac aaa   336
Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Arg Glu Ala Lys Asn Lys
      100     105     110

att gca aag gaa acc aac aat aag aag aaa gaa ttt gag gaa act gcg   384
Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala
      115     120     125

aag aaa gtg cgc cgt gcc atc gag cag ctg gct gcc atg gat tga     429
Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp
      130     135     140

15 <210>      23
    <211>      142
    <212>      PRT
    <213>      homo sapiens

20 <400>      23

```

Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp
 1 5 10 15

His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala
 20 25 30

Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr
 35 40 45

Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu
 50 55 60

Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His
 65 70 75 80

Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
 85 90 95

Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys
 100 105 110

Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala
 115 120 125

Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp
 130 135 140

5 <210> 24
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 24
 Arg Leu Gln Glu Glu Arg Thr Cys Lys Val
 1 5 10

10 <210> 25
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 25
 Gln Leu Cys Pro Ile Cys Arg Ala Pro Val
 1 5 10

15 <210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 26

Arg Leu Ala Ser Phe Tyr Asp Trp Pro Leu
 1 5 10

 <210> 27
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 27

 Leu Leu Arg Ser Lys Gly Arg Asp Phe Val
 1 5 10
 10

 <210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 28

 Val Leu Glu Pro Pro Gly Ala Arg Asp Val
 1 5 10
 20 <210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 25 <400> 29

 Pro Leu Thr Ala Glu Val Pro Pro Glu Leu
 1 5 10

 <210> 30
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213 > Homo sapiens

 <400> 30

 Ser Leu Gly Ser Pro Val Leu Gly Leu
 1 5
 35

 <210> 31
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40

 <400> 31

 Gln Ile Leu Gly Gln Leu Arg Pro Leu
 1 5

 <210> 32
 45 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 32

 Leu Thr Ala Glu Val Pro Pro Glu Leu
 1 5
 50

 <210> 33

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 33
 Gly Met Gly Ser Glu Glu Leu Arg Leu
 1 5

 <210> 34
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 34
 Glu Leu Pro Thr Pro Arg Arg Glu Val
 1 5
 15
 <210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética
 20
 <400> 35
 Asn Ile Ala Leu Trp Met Thr Glu Tyr Leu
 1 5 10

 <210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética
 25
 <400> 36
 30 **Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile**
 1 5 10

 <210> 37
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética
 35
 <400> 37
 Pro Leu Phe Asp Phe Ser Trp Leu Ser Leu
 1 5 10
 40
 <210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética
 45
 <400> 38
 Trp Leu Ser Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu
 1 5 10

 <210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética
 50
 <400> 39

Lys Thr Leu Leu Ser Leu Ala Leu Val
 1 5

5 <210> 40
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> secuencia sintética

<400> 40

Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val
 1 5 10

10 <210> 41
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> 0)..(9)
 <223> Sur20-28

20 <400> 41

Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
 1 5

25 <210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 <223> Sur115Y10

<400> 42

Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Tyr
 1 5 10

35 <210> 43
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(9)
 <223> Sur36-44

<400> 43

Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile
 1 5

50 <210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

55 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(9)
 <223> Surl33-141

 <400> 44
 Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met
 5 1 5

 <210> 45
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> péptido sintético

 <400> 45
 Asp Val Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys
 1 5 10

 15 <210> 46
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Péptido sintético

 20 <400> 46
 Asp Phe Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys
 1 5 10

 <210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> PÉPTIDO SINTÉTICO

 <400> 47
 Asp Ile Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys
 1 5 10

 30 <210> 48
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 35
 <400> 48
 Ser Tyr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
 1 5

 40 <210> 49
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

 <400> 49
 Thr Ala Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile
 45 1 5

 <210> 50
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> péptido sintético

 <400> 50
 Arg Pro Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met
 1 5

<210> 51
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 5
 <400> 51
 Thr Pro Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile
 1 5

<210> 52
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 10
 <400> 52
 15
 Glu Arg Ala Lys Asn Lys Ile Ala Lys
 1 5
 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 20
 <400> 53
 Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys Ile
 1 5

<210> 54
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 25
 <400> 54
 Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala Lys Lys
 1 5

<210> 55
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 35
 <400> 55
 Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Leu
 1 5

<210> 56
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 40
 <400> 56
 Glu Arg Ala Glu Ala Gly Phe Phe
 1 5

<210> 57
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 45
 <400> 57
 50
 <210> 57
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 57

Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Arg
 1 5

5 <210> 58
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 58
 Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Lys
 1 5

10 <210> 59
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

15 <400> 59
 Lys Arg Phe Glu Glu Thr Ala Lys Lys
 1 5

20 <210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 60
 Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe
 1 5 10

25 <210> 61
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

30 <400> 61
 Glu Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe Leu
 1 5

35 <210> 62
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 62
 Glu Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe Tyr
 1 5

40 <210> 63
 <211> 10
 <212> PRT

45 <213> péptido sintético

<400> 63
 Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
 1 5 10

50 <210> 64
 <211> 10
 <212> PRT

<213> péptido sintético

<400> 64
Ile Ser Lys Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
1 5 10

5

<210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

10

<400> 65
Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
1 5 10

15

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

20

<400> 66
Leu Ser Lys Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
1 5 10

25

<210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

30

<400> 67
Arg Ala Lys Asn Lys Ile Ala Lys Glu Thr
1 5 10

35

<210> 68
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

40

<400> 68
Arg Ala Lys Asn Lys Ile Ala Lys Glu Leu
1 5 10

45

<210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

50

<400> 69
Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr
1 5 10

55

<210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

60

<400> 70
Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Leu
1 5 10

- 5 <210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- <400> 71
Gln Pro Lys Leu Lys Asp His Arg Ile
 1 5
- 10 <210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- 15 <400> 72
Phe Leu Lys Asp His Arg Ile Ser Thr
 1 5
- 20 <210> 73
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- <400> 73
Phe Leu Lys Asp Lys Arg Ile Ser Thr
 1 5
- 25 <210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- 30 <400> 74
Phe Leu Lys Asp His Arg Ile Ser Leu
 1 5
- 35 <210> 75
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- <400> 75
Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe
 1 5
- 40 <210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
- <400> 76
Ala Phe Lys Ser Val Lys Lys Gln Phe
 1 5
- 50 <210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

	<400>	77
	Ala Phe Leu Ser Lys Lys Lys Gln Phe	
	1	5
5	<210>	78
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
10	<400>	78
	Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Leu	
	1	5
	<210>	79
	<211>	9
15	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	79
	Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu	
	1	5
20	<210>	80
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
25	<400>	80
	Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Leu	
	1	5
	<210>	81
30	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	81
	Phe Leu Lys Val Lys Lys Gln Phe Glu	
35	1	5
	<210>	82
	<211>	9
	<212>	PRT
40	<213>	péptido sintético
	<400>	82
	Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu	
	1	5
45	<210>	83
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
50	<400>	83

Ser Val Lys Lys Lys Phe Glu Glu Leu
1 5

5 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 84

Phe Leu Lys Leu Lys Arg Glu Arg Ala
1 5

10 <210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 15 <400> 85

Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Leu
1 5

20 <210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 86

Thr Ala Lys Lys Lys Arg Arg Ala Ile
1 5

25 <210> 87
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 30 <400> 87

Thr Ala Lys Lys Val Arg Arg Ala Leu
1 5

35 <210> 88
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 88

Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe
1 5

40 <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 45 <400> 89

Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Tyr
1 5

50 <210> 90

<211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 5 <400> 90
Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp His Arg Ile
1 5 10

<210> 91
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 91
Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp His Arg Tyr
1 5 10

15 <210> 92
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 20 <400> 92
Phe Leu Lys Asp His Arg Ile Ser Thr Phe
1 5 10

25 <210> 93
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 93
Phe Leu Lys Asp His Arg Ile Ser Thr Tyr
1 5 10

30 <210> 94
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 35 <400> 94
Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5 10

40 <210> 95
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 95
Arg Leu Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5 10

45 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> péptido sintético
 <400> 96

Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe
1 5

5 <210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 97

Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Tyr
1 5

10 <210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

15 <400> 98

Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5

20 <210> 99
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 99

Ile Gln Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5

25 <210> 100
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

30 <400> 100

Ile Leu Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5

35 <210> 101
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

40 <400> 101

Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile Tyr
1 5

45 <210> 102
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 102

Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile Phe
1 5

50

	<210>	103
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
5	<400>	103
		Arg Leu Ala Glu Ala Gly Phe Ile Tyr
	1	5
10	<210>	104
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	104
		Lys Lys His Ser Ser Gly Cys Ala Phe
15	1	5
20	<210>	105
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	105
		Lys Gln His Ser Ser Gly Cys Ala Phe
	1	5
25	<210>	106
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
30	<400>	106
		Lys Leu His Ser Ser Gly Cys Ala Phe
	1	5
35	<210>	107
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	107
		Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Tyr
40	1	5
45	<210>	108
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	108
		Arg Leu Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met
	1	5
50	<210>	109
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	péptido sintético
	<400>	109

Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe
1 5 10

5 <210> 110
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 110

Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe
1 5 10

10 <210> 111
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 15 <400> 111

Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe
1 5

20 <210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 112

Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp
1 5

25 <210> 113
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 30 <400> 113

Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe
1 5 10

35 <210> 114
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético
 <400> 114

Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe
1 5 10

40 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 45 <213> péptido sintético
 <400> 115

Cys Ala Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala
1 5

50 <210> 116
 <211> 9

<212> PRT
 <213> péptido sintético

<400> 116

Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala
1 5

5

<210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

10

<400> 117

Phe Leu Glu Gly Cys Ala Cys Thr Pro
1 5

15

<210> 118
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> péptido sintético

20

<400> 118

Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala Cys Thr
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Una composición de vacuna que comprende,
 - i. uno o más péptidos de survivina restringidos para HLA-A2 seleccionados del grupo que consiste en LLLGEFLKL (SEQ ID NO. 4) y LMLGEFLKL (SEQ ID NO 5), y
 - 5 ii. un coadyuvante formulado para una emulsión de agua en aceite que comprende un aceite mineral y un tensioactivo, en el que el coadyuvante comprende hasta un 14,5 % vol. de dicho tensioactivo para su uso como medicamento.
2. La composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el tensioactivo es oleato de manida.
3. La composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 1-2, en la que una variante peptídica de survivina
10 consiste en: LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5).
4. La composición de vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende además uno o más péptidos o variantes peptídicas seleccionadas de los grupos de péptidos ML-IAP, BCL-2, BCL-X, MCL-1 o TRAG-3 o variantes peptídicas de los mismos que se pueden unir a una molécula HLA de clase I.
5. La composición de vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende además uno o
15 más péptidos o variantes peptídicas seleccionados de los grupos de péptidos ML-IAP, BCL-X, MCL-1 o TRAG-3 o variantes peptídicas de los mismos que se pueden unir a una molécula HLA de clase I.
6. La composición de vacuna de acuerdo con las reivindicaciones 1-5, que comprende un ingrediente activo secundario, seleccionado del grupo que consiste en:
 - i. un medicamento antineoplásico
 - 20 ii. un agente quimioterápico y
 - iii. un inhibidor de la angiogénesis.
7. Uso de una composición de vacuna como se caracteriza por cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.
8. La composición de vacuna como se caracteriza por cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para su uso en un
25 procedimiento para el tratamiento de cáncer.
9. Uso de una composición de vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para la fabricación de un medicamento para la inhibición de la angiogénesis.
10. La composición de vacuna como se caracteriza por cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en un procedimiento para la inhibición de la angiogénesis.
- 30 11. Un kit en partes que comprende;
 - iv. una composición de vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y
 - v. un medicamento secundario, en el que dicho medicamento secundario es un agente quimioterápico o un inhibidor de la angiogénesis.

35

Fig. 1

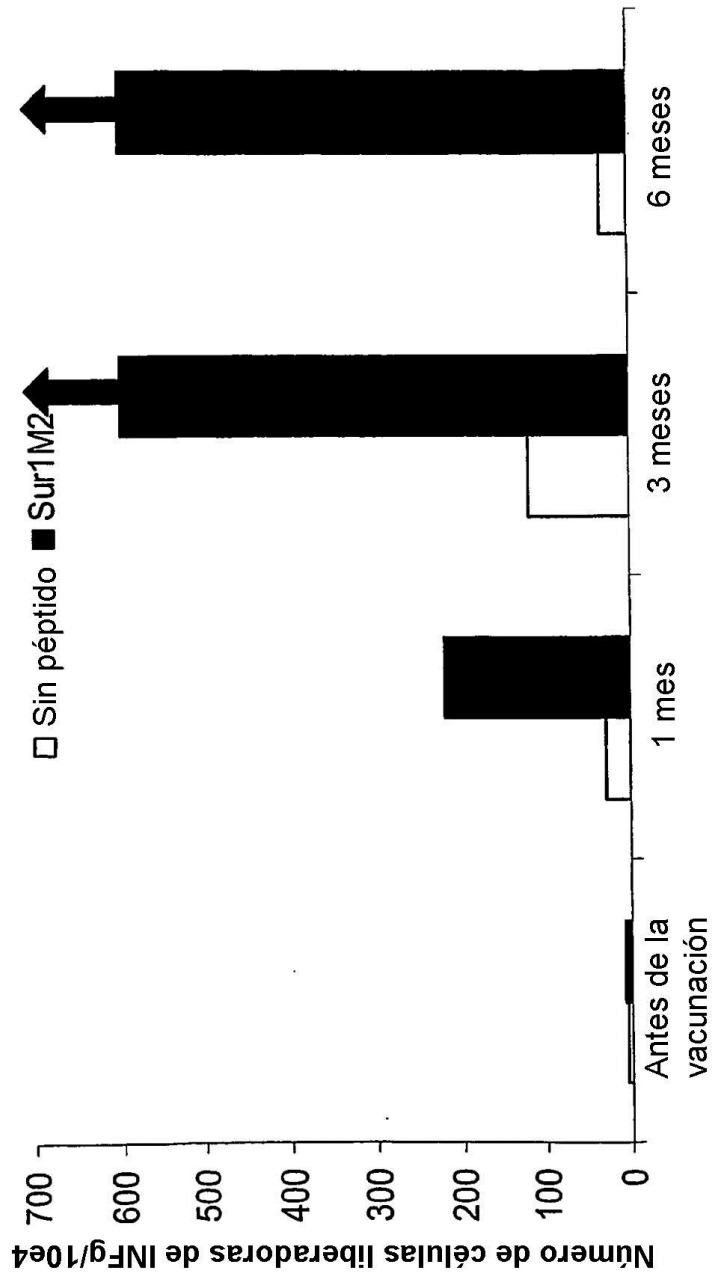


Fig. 2

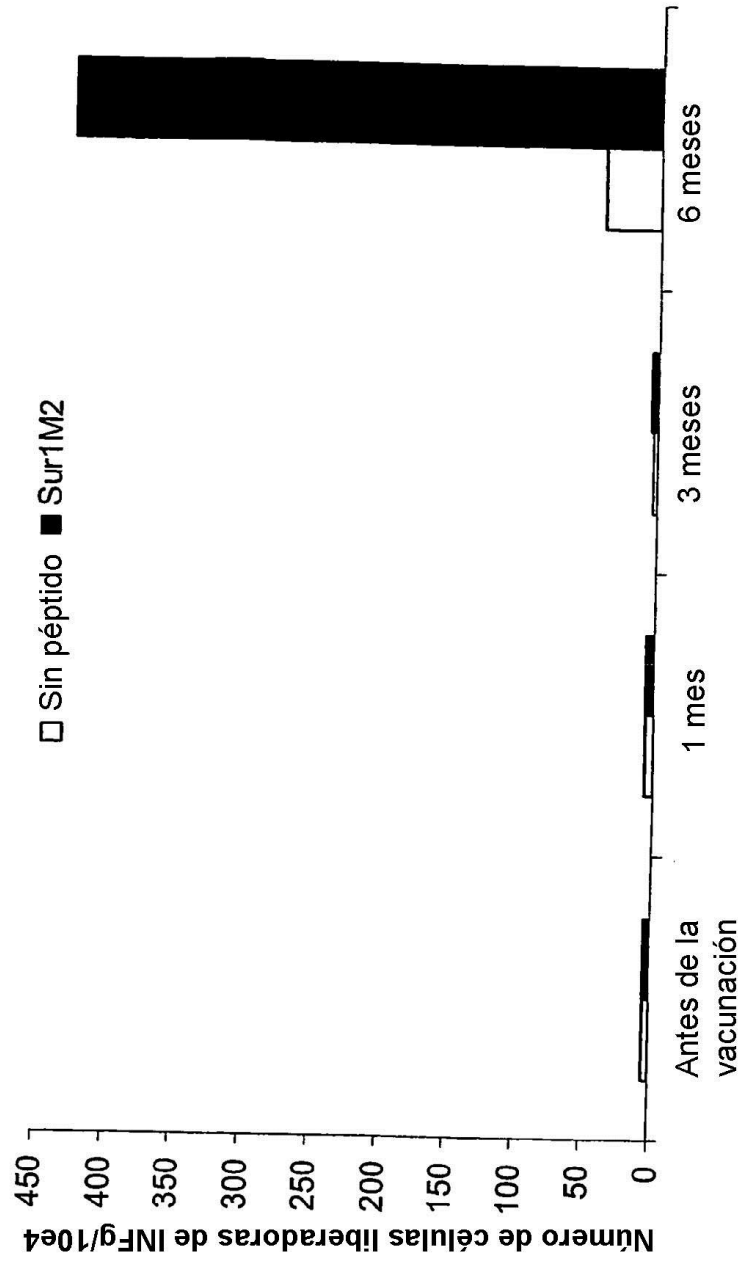


Fig. 3

