

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 457**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2007 E 12155448 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2476699**

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

30 Prioridad:

17.10.2006 US 852575 P

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

11.09.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 545 457 T3

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

DESCRIPCIÓN

Vacunas de péptidos para cánceres que expresan los polipéptidos DEPDC1

Campo técnico

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE.UU. nº 60/852.575, presentada el 17 de octubre de 2006.

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

Antecedentes de la técnica

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

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

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

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

Debido a que los fármacos citotóxicos, tales como M-VAC, provocan a menudo reacciones adversas graves, está claro que la selección concienzuda de nuevas moléculas diana en base a mecanismos de acción bien caracterizados es importante en el desarrollo de fármacos contra el cáncer eficaces que tienen riesgo mínimo de efectos secundarios negativos. Con este objetivo, los inventores previamente llevaron a cabo el análisis del perfil de

expresión en diversos cánceres y tejido humano normal, y descubrieron múltiples genes que están sobreexpresados específicamente en el cáncer (Lin YM, et al., *Oncogene*. 13 de junio de 2002 13; 21:4120-8.; Kitahara O, et al., *Cancer Res*. 1 de mayo de 2001; 61:3544-9.; Suzuki C, et al., *Cancer Res*. 1 de noviembre de 2003; 63:7038-41.; Ashida S, *Cancer Res*. 1 de septiembre de 2004; 64:5963-72.; Ochi K, et al., *Int J Oncol*. marzo de 2004; 24(3):647-55.; Kaneta Y, et al., *Int J Oncol*. septiembre de 2003; 23:681-91.; Obama K, *Hepatology*. Junio de 2005; 41:1339-48.; Kato T, et al., *Cancer Res*. 1 de julio de 2005; 65:5638-46.; Kitahara O, et al., *Neoplasia*. julio-agosto de 2002; 4:295-303.; Saito-Hisaminato A et al., *DNA Res* 2002, 9: 35-45.). De éstos, MPHOSPH1 (nº interno C2093) y DEPDC1 (nº interno B5860N) fueron identificados como genes sobreexpresados en diversos cánceres. En particular, se identificó MPHOSPH1 como sobreexpresado en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal y tumor de tejido blando. De manera similar, se identificó DEPDC1 como sobreexpresado en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, SCLC y tumor de tejido blando.

MPHOSPH1 se identificó anteriormente como una de las proteínas fosforilada específicamente en la transición G2/M y caracterizada como una proteína relacionada con kinesina dirigida al extremo (+) (Abaza A et al., *J Biol Chem* 2003, 278: 27844-52.). Más particularmente, se ha documentado previamente que MPHOSPH1 es un motor molecular dirigido al extremo (+) que desempeña una función crucial en la citocinesis y se acumula en la zona intermedia del huso entre la anafase y la telofase en las células HeLa (Abaza A et al., *J Biol Chem* 2003, 278: 27844-52; Kamimoto T et al., *J Biol Chem* 2001, 276: 37520-8). El ADNc de MPHOSPH1 codifica una proteína de 1780 aminoácidos que está compuesta de tres dominios: un dominio motor de NH2-quinasa, un dominio de tallo de espiral superenrollada central y un dominio de cola C-globular. En conjunto, estos datos sugieren que MPHOSPH1 es una proteína relacionada con kinesina de tipo NH2.

En cuanto a DEPDC1, su función sigue siendo incierta. El dominio DEP contenido en esta proteína también se encuentra en Dishevelled, Egl-10 y Pleckstrina. El dominio DEP en Dishevelled de *Drosophila* desempeña un papel esencial en el rescate de defectos de polaridad plana e induce señalización de JNK; no obstante, su función en seres humanos todavía no se ha aclarado. Sin embargo, tal como se describe en el documento PCT/JP2006/302684, los ARNip de DEPDC1 pueden suprimir el crecimiento de las células cancerosas. Estos resultados demuestran que DEPDC1 desempeña un papel importante en el crecimiento de la mayoría de las células cancerosas.

La invención se refiere a las realizaciones como se definen en las reivindicaciones.

Sumario de la invención

Como se ha señalado anteriormente, se ha identificado que MPHOSPH1 (fosfoproteína 1 de la fase M) y DEPDC1 (dominio DEP que contiene 1) se encuentran regulados positivamente en diversos cánceres. Más particularmente, los genes se identificaron usando el perfil de expresión génica con una micromatriz de ADNc para todo el genoma. Como se ha explicado anteriormente, se ha mostrado que la expresión de MPHOSPH1 y DEPDC1 se encuentra específicamente regulada positivamente en diversas células tumorales, incluyendo el cáncer de pulmón y el cáncer de vejiga. Como se describe en la Tabla 1, se ha mostrado que la expresión de MPHOSPH1 se encuentra válidamente elevada en 30 de 31 cánceres de vejiga, 8 de 36 cánceres de mama, 18 de 18 cánceres cervicales, 5 de 17 carcinomas colangiocelulares, 25 de 31 CMLs, 6 de 11 cánceres colorrectales, 6 de 14 cánceres gástricos, 5 de 5 NSCLCs, 7 de 7 linfomas, 6 de 10 osteosarcomas, 7 de 22 cánceres de próstata, 10 de 18 carcinomas renales y 15 de 21 tumores de tejido blando. Al mismo tiempo, se mostró que la expresión de DEPDC1 está válidamente elevada en 23 de 25 cánceres de vejiga, 6 de 13 cánceres de mama, 12 de 12 cánceres cervicales, 6 de 6 carcinomas colangiocelulares, 3 de 4 CMLs, 2 de 4 cánceres colorrectales, 6 de 6 NSCLCs, 7 de 7 linfomas, 10 de 14 osteosarcomas, 11 de 24 cánceres de próstata, 14 de 14 SCLCs y 22 de 31 tumores de tejido blando, como se indica en la Tabla 1.

La presente descripción se basa, al menos en parte, en la identificación de péptidos epitópicos específicos de los productos génicos de estos genes (MPHOSPH1 y DEPDC1) que presentan la capacidad de inducir linfocitos T citotóxicos (CTLs) específicos de las moléculas correspondientes. Como se explica con detalle más abajo, se estimularon células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes sanos usando péptidos candidatos que se unen a HLA-A*2402 y HLA-A*0201 derivados de MPHOSPH1 o DEPDC1. Después, se establecieron clones y/o líneas de CTL con citotoxicidad específica para las células diana positivas para HLA-A24 o HLA-A2 pulsadas con cada uno de los péptidos candidatos. Estos resultados demuestran que estos péptidos son péptidos epitópicos restringidos a HLA-A24 o HLA-A2 que pueden inducir respuestas inmunológicas potentes y específicas contra células que expresan MPHOSPH1 o DEPDC1.

En consecuencia, la presente invención proporciona métodos para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cáncer. Tales métodos implican la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita un polipéptido de MPHOSPH1 y/o DEPDC1 de la descripción. La administración de dicho péptido o péptidos da como resultado la inducción de inmunidad antitumoral. De este modo, la presente descripción proporciona métodos para inducir inmunidad antitumoral en un sujeto, implicando dichos métodos la etapa de administrar al sujeto un polipéptido de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, así como composiciones farmacéuticas para tratar

o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cáncer, que incluyen los polipéptidos de MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Los cánceres ejemplares incluyen, aunque no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC, y tumor de tejido blando.

5 Esto es, la presente descripción incluye las siguientes realizaciones, y cualesquiera combinaciones de las mismas.

[1] Un péptido aislado que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido deriva de la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 2, 4 o 6.

10 [2] Un péptido aislado de menos de alrededor de 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEC ID NO: 7, 8 y 12, o un péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 7, 8 y 12, en la que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos, o añadidos.

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

15 [4] El péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas de [2], en el que el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano, o metionina.

20 [5] Un péptido aislado de menos de alrededor de 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEC ID NO: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 y 255, o un péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 y 255, en la que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos, o añadidos.

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

25 [7] El péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas de [5], en el que el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

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

30 [9] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de los genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5, comprendiendo dicha composición uno o más péptidos de uno cualquiera de [1] y [7].

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

35 [11] La composición farmacéutica de [10], en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

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

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

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

40 [15] El exosoma de [12], en el que el antígeno HLA es HLA-A2.

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

[17] Un método para inducir células presentadoras de antígeno que tienen una inducibilidad de células T citotóxicas elevada, que comprende la etapa de poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido de uno cualquiera de [1] a [7].

45 [18] Un método para inducir células T citotóxicas poniendo en contacto una célula T con un péptido de uno cualquiera de [1] a [7].

[19] Un método para inducir células presentadoras de antígeno que tienen una inducibilidad de células T citotóxicas elevada, comprendiendo dicho método la etapa de transferir un gen que comprende un polinucleótido que codifica un péptido de uno cualquiera de [1] a [7] a una célula presentadora de antígeno.

[20] Una célula T citotóxica aislada, que se induce poniendo en contacto una célula T con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o que se transduce con los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de las subunidades de TCR que se unen con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el contexto de HLA-A24 o HLA-A2.

5 [21] Una célula presentadora de antígeno, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido de uno cualquiera de [1] a [7].

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

[23] Una vacuna para inhibir la proliferación de células que expresan genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5, en la que la vacuna comprende un péptido de uno cualquiera de [1] a [7] como ingrediente activo.

10 [24] La vacuna de [23], en la que la célula es una célula cancerosa.

[25] La vacuna de [24], en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

15 [26] La vacuna de [23], formulada para la administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24 o HLA-A2.

[27] Un método para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de los genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5 en un sujeto, que comprende administrar a dicho sujeto una vacuna que comprende uno o más péptidos de uno cualquiera de [1] a [7], un fragmento inmunológicamente activo de los mismos, o un polinucleótido que codifica dicho péptido o fragmento inmunológicamente activo.

20 [28] El método de [27], en el que la enfermedad es cáncer.

[29] El método de [28], en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

25 Como alternativa, la presente descripción también se refiere a un método para inducir células T citotóxicas, que comprende la etapa de poner en contacto una célula T con una célula presentadora de antígeno producida mediante el método de [19].

30 Estos y otros objetos y características de la descripción serán mucho más manifiestos cuando se lea la descripción detallada conjuntamente con las figuras y ejemplos que se acompañan. Sin embargo, se ha de entender que tanto el sumario anterior como la siguiente descripción detallada son de realizaciones preferidas, y no son restrictivos de la descripción u otras realizaciones alternativas de la descripción.

Breve descripción de los dibujos

35 [fig. 1] La Figura 1A representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de péptidos epitópicos que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) es un potente productor de IFN-gamma. Los CTLs para esos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos más abajo. Se muestran CTL resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable. En particular, las células en el pocillo número #4 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-278 mostraron una potente producción de IFN-gamma para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La Figura 1B representa los resultados del ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de clones de CTL tras dilución limitante (clon de CTL MPHOSPH1-A24-9-278). Las células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como demuestran los resultados representados, se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con péptido, en comparación con las actividades frente a la diana sin pulso de péptido.

45 [fig. 2] La Figura 2A representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de la citotoxicidad de péptidos epitópicos, que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID NO: 8) es un potente productor de IFN-gamma. Los CTLs para esos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos más abajo. Se muestran los CTLs resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable. En particular, las células en el pocillo número #8 estimuladas con MPHOSPH1-A24-10-278 mostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. La Figura 2B representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de clones de CTL tras dilución limitante (clon de CTL MPHOSPH1-A24-10-278). Las células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como demuestran los resultados representados, se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades de

CTL específicas frente a la diana pulsada con MPHOSPH1-A24-10-278, en comparación con las actividades frente a la diana sin pulso de péptido.

[fig. 3] La Figura 3A representa el establecimiento de clones de CTL estimulados con MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7). Este clon de CTL demostró actividad de CTL específica elevada frente a células diana (A24LCL) pulsadas con MPHOSPH1-A24-9-278, pero no mostró actividad de CTL significativa frente a las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. La Figura 3B representa el establecimiento de clones de CTL estimulados con MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID NO: 8). Este clon de CTL demostró actividad de CTL específica elevada frente a células diana (A24LCL) pulsadas con MPHOSPH1-A24-10-278, mientras que no mostró actividad de CTL significativa frente a las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. R significa Respondedor: clon de CTL. S significa Estimulador: A24-LCL pulsada con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 4] La Figura 4 representa la expresión de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) sobre la superficie de células diana con HLA-A24. La actividad específica de CTL frente a COS7 transfectada tanto con el gen MPHOSPH1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402 se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de CTL generado por MPHOSPH1-A24-9-278. Como controles, se prepararon COS7 transfectada con MPHOSPH1 de longitud completa pero no HLA-A*2402, y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con MPHOSPH1 de longitud completa. El clon de CTL demostró actividad de CTL específica elevada frente a COS7 transfectada tanto con MPHOSPH1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad de CTL específica significativa frente a COS7 no transfectada con MPHOSPH1 ni con HLA-A24. R significa Respondedor: clon de CTL. S significa Estimulador: transfectante de COS7 (1×10^4 /pocillo).

[fig. 5] La Figura 5 representa la actividad de CTL frente a líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan de manera endógena MPHOSPH1. El clon de CTL establecido inducido con el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 reconoció células tumorales que expresan de manera endógena MPHOSPH1. Células HT1376, RT-4 y J82 expresaron MPHOSPH1 de manera endógena, respectivamente. El clon de CTL mostró producción de IFN-gamma frente a HT1376 que tiene genotipo HLA-A*2402, pero que no muestra respuesta frente a RT-4 y J82, que no tienen el genotipo HLA-A*2402.

[fig. 6] La Figura 6 representa el análisis de inmunogenicidad in vivo usando el péptido MPHOSPH1-A24-9-278. Se inyectó subcutáneamente péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c en los días 0 y 7. En el día 14, se recolectaron los esplenocitos de los ratones vacunados y se usaron como células respondedoras, y como células estimuladoras se usaron 1×10^4 células RLmale1 pulsadas con el péptido MPHOSPH1-A24-9-278, para el ensayo ELISPOT de IFN-gamma. En los casos de cada ratón, se indicaron los recuentos formadores de puntos (SFC); a cinco ratones (Ani1~Ani5) se les vacunó con el péptido epitópico, y a tres ratones (nega1~nega3) se les inyectó emulsión de IFA de tratamiento simulado como control negativo.

[fig. 7] La Figura 7 representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de péptidos epitópicos que, a su vez, demuestran que MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID NO: 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID NO: 10) y MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID NO: 11) poseen actividad potente de producción de IFN-gamma. Los CTLs para esos péptidos derivados de MPHOSPH1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos expuestos más abajo. Se muestran los CTLs resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable. En particular, la Figura 7A demuestra que las células en los pocillos n^{os} #1 y #5, estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-282 mostraron una potente producción de IFN-gamma suficiente para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La Figura 7B demuestra que las células en el pocillo n^o #8 estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-638 mostraron una potente producción de IFN-gamma suficiente para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La Figura 7C demuestra que las células en el pocillo n^o #4 estimuladas con MPHOSPH1-A2-10-1714 mostraron una potente producción de IFN-gamma para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control.

[fig. 8] La Figura 8 representa el establecimiento de líneas de CTL estimuladas con MPHOSPH1-A02-9-282 (SEC ID NO: 9), MPHOSPH1-A02-9-638 (SEC ID NO: 10) y MPHOSPH1-A02-10-1714 (SEC ID NO: 11). Las células en el pocillo positivo se expandieron, y, como demuestran los resultados representados, se establecieron líneas de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-9-282 (A), la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-9-638 (B) o la diana pulsada con MPHOSPH1-A02-10-1714 (C), en comparación con las actividades frente a la diana sin pulso de péptido. R significa Respondedor: líneas de CTL. S significa Estimulador: T2 pulsada con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 9] La Figura 9A representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de clones de CTL tras dilución limitante (clon de CTL MPHOSPH1-A2-9-282). Las células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como demuestran los resultados representados, se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades específicas de CTL frente a la diana pulsada con MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID NO: 9) en comparación con las actividades frente a la diana sin pulso de péptido. La Figura 9B representa el establecimiento de clones de CTL estimulados con MPHOSPH1-A02-9-282. El clon de CTL demostró actividad de CTL específica elevada frente a células diana (T2) pulsadas con MPHOSPH1-A2-9-282, pero no posee actividad de CTL significativa frente a las mismas células diana (T2).

pulsadas sin ningún péptido. R significa Respondedor: clon de CTL. S significa Estimulador: T2 pulsada con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 10] La Figura 10A representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de péptidos epitópicos, que, a su vez, demuestran que DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID NO: 12) es un potente productor de IFN-gamma. Los CTLs para esos péptidos derivados de DEPDC1 se generaron según los protocolos descritos en la sección de "Materiales y métodos" de los ejemplos expuestos más abajo. Se muestran los CTLs resultantes que muestran actividad de CTL específica detectable. Las células en el pocillo número #10 estimuladas con DEPDC1-A24-9-294 mostraron una potente producción de IFN-gamma para reconocer células diana pulsadas con péptido, en comparación con el control. La Figura 10B representa los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de clones de CTL tras dilución limitante (clon de CTL DEPDC1-A24-9-294). Las células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como demuestran los resultados representados, se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con DEPDC1-A24-9-294 en comparación con las actividades frente a la diana sin pulso de péptido.

[fig. 11] La Figura 11 representa el establecimiento de clones de CTL estimulados con DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID NO: 12). El clon de CTL mostró actividad de CTL específica elevada frente a células diana (A24LCL) pulsadas con DEPDC1-A24-9-294, mientras que no mostró actividad de CTL significativa frente a las mismas células diana (A24LCL) pulsadas sin péptidos. R significa Respondedor: clon de CTL DEPDC-A24-9-294. S significa Estimulador: A24-LCL pulsada con péptido (1×10^4 /pocillo).

[fig. 12] La Figura 12 representa la expresión de DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID NO: 12) sobre la superficie de células diana con HLA-A24. La actividad de CTL específica frente a COS7 transfectada tanto con el gen DEPDC1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402 se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de CTL generado por DEPDC1-A24-9-294. Como controles, se prepararon COS7 transfectada con DEPDC1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402, y COS7 transfectada con HLA-A*2402 pero no con DEPDC1 de longitud completa. El clon de CTL establecido demostró actividad de CTL específica elevada frente a COS7 transfectada tanto con DEPDC1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad de CTL específica significativa frente a COS7 no transfectada ni con DEPDC1 ni con HLA-A24. R significa Respondedor: Clon de CTL DEP-A24-9-294. S significa Estimulador: transfectante de COS7 (1×10^4 /pocillo).

[fig. 13] La Figura 13 representa la actividad de CTL frente a líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan de manera endógena DEPDC1. El clon de CTL establecido inducido con el péptido DEPDC1-A24-9-294 reconoció células tumorales que expresan de manera endógena DEPDC1. Las células HT1376, RT-4 y J82 expresaron DEPDC1 de manera endógena, respectivamente. El clon de CTL mostró producción de IFN-gamma frente a HT1376 que tiene genotipo HLA-A*2402, pero no muestra respuesta frente a RT-4 y J82, que no tienen el genotipo HLA-A*2402.

[fig. 14] La Figura 14 representa el análisis de inmunogenicidad in vivo usando el péptido DEPDC1-A24-9-294. Se inyectó subcutáneamente péptido conjugado con IFA a ratones BALB/c en los días 0 y 7. En el día 14, se recolectaron esplenocitos de ratones vacunados y se usaron como células respondedoras, y se usaron como células estimuladoras 1×10^4 células RLmale1 pulsadas con el péptido DEPDC1-A24-9-294, para el ensayo ELISPOT de IFN-gamma. En los casos de cada ratón se indicaron los recuentos formadores de puntos (SFC); a cinco ratones (Ani1~Ani5) se les vacunó el péptido epitópico, y a dos ratones (nega1 y nega2) se les inyectó la emulsión IFA de tratamiento simulado como control negativo.

[fig. 15] La Figura 15 representa la potente producción de IFN-gamma de DEPDC1-A02-10-644, -10-575, -10-506, -10-765, -10-395, -10-224, -9-297, -10-296 y -10-302 mediante ensayo ELISPOT de IFN-gamma para la identificación de péptidos epitópicos. Los CTLs para esos péptidos derivados de DEPDC1 se generaron de la manera descrita en "Materiales y métodos". Las células en los pocillos n° #4 y #7 estimuladas con DEPDC1-A02-10-644, #2 con DEPDC1-A02-10-575, #7 con DEPDC1-A02-10-506, #1 con DEPDC1-A02-10-765 y #1 con DEPDC1-A02-10-395, #1 y #2 con DEPDC1-A02-10-224, #4 con DEPDC1-A02-9-297, #3 y #4 con DEPDC1-A02-10-296 y #2, #3, #5, y #7 con DEPDC1-A02-10-302 mostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control.

[fig. 16] La Figura 16 representa la producción de IFN-gamma de la línea de CTL generada con el péptido DEPDC1-A02-10-296. Las líneas de CTL establecidas generadas con el péptido DEPDC1-A02-10-296 tienen una potente actividad productora de IFN-gamma. Se mostró producción de IFN-gamma frente a células diana pulsadas con péptido, pero no se mostró aquella frente a células diana sin pulso de péptido. Las células diana usadas fueron células T2, que expresaron la molécula HLA-A2 en la superficie celular.

[fig. 17] La Figura 17 representa la actividad de CTL frente a dianas que expresan de manera endógena las moléculas DEPDC1 y HLA-A2. Se mostró en el panel superior que la línea de CTL establecida generada con el péptido DEPDC1-A02-10-296 poseyó actividad productora de IFN-gamma frente a células diana que expresaron de manera endógena DEPDC1V2 y HLA-A2. El caso del uso del péptido DEPDC1-A02-10-296 se

mostró en el panel inferior. Como control negativo, se prepararon células diana que expresan solamente DEPDC1V2 y que expresaban solamente HLA-A2 con tratamiento de pulso de péptido DEPDC1V1-9-674 o DEP-9-462. Las células diana se prepararon a partir de transfectante de HEK293, que expresó de forma estable HLA-A2 o el tratamiento simulado.

5 [fig. 18] La Figura 18 representa la expresión antigénica en el Caso 2. En el Caso 2, tanto MPHOSPH1 como DEPDC1 fueron expresados fuertemente. Por lo tanto, se han vacunado dos tipos de péptidos epitópicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

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

10 [fig. 20] La Figura 20 representa la expresión antigénica en el Caso 3. En el Caso 3, DEPDC1 se expresó fuertemente. Por lo tanto, se ha vacunado el péptido epitópico derivado de DEPDC1 solo.

[fig. 21] La Figura 21 representa la evaluación clínica del lóbulo derecho de pulmón metastásico en el Caso 3. La tasa de progresión se redujo tras la vacunación. Especialmente, el tamaño del tumor se redujo después de la tercera tanda de vacunaciones.

15 [fig. 22] La Figura 22 representa la evaluación clínica del lóbulo izquierdo de pulmón metastásico en el Caso 3. La tasa de progresión se redujo tras la vacunación. Especialmente, el tamaño del tumor se redujo después de la tercera tanda de vacunaciones.

[fig. 23] La Figura 23 representa el efecto antitumoral en el Caso 3. La tasa de progresión de tumor metastásico se redujo tras la vacunación.

20 [fig. 24] La Figura 24 representa la respuesta de TCL específica en el Caso 3. Se mostró una fuerte respuesta de TCL específica tras la vacunación.

[fig. 25] La Figura 25 representa la expresión antigénica en el Caso 4. En el Caso 4, se expresaron MPHOSPH1 y DEPDC1. Por lo tanto, se han vacunado dos tipos de péptidos epitópicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

25 [fig. 26] La Figura 26 representa la evaluación clínica de la recurrencia local de cáncer de vejiga en el Caso 4. El tamaño del tumor se redujo 20% según los criterios RECIST después de la primera tanda de vacunaciones.

Descripción detallada de la invención

Los términos “un”, “una” y “el” o “la”, como se usan aquí, significan “al menos uno”, excepto que se indique específicamente de otro modo.

30 A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que el entendido habitualmente por el experto normal en la técnica a la que pertenece esta descripción.

La identificación de nuevos TAAs, particularmente aquellos que inducen respuestas inmunitarias antitumorales potentes y específicas, garantiza el desarrollo posterior de la aplicación clínica de la estrategia de la vacunación con péptidos en diversos tipos de cáncer (Boon T et al., (1996) J Exp Med 183: 725-9.; van der Bruggen P et al., (1991) Science 254: 1643-7.; Brichard V et al., (1993) J Exp Med 178: 489-95.; Kawakami Y et al., (1994) J Exp Med 180: 347-52.; Shichijo S et al., (1998) J Exp Med 187:277-88.; Chen YT et al., (1997) Proc. Natl. Acd. Sci. USA, 94: 1914-8.; Harris CC, (1996) J Natl Cancer Inst 88:1442-55.; Butterfield LH et al., (1999) Cancer Res 59:3134-42.; Vissers JL et al., (1999) Cancer Res 59: 5554-9.; van der Burg SH et al., (1996) J. Immunol 156:3308-14.; Tanaka F et al., (1997) Cancer Res 57:4465-8.; Fujie T et al., (1999) Int J Cancer 80:169-72.; Kikuchi M et al., (1999) Int J Cancer 81: 459-66.; Oiso M et al., (1999) Int J Cancer 81:387-94.). Como se señala anteriormente, se identificó previamente usando tecnologías de micromatrices de ADNc que MPHOSPH1 (fosfoproteína 1 de la fase M; n° de acceso de GenBank NM_016195; SEC ID Nos: 1, 2) y DEPDC1 (dominio DEP que contiene 1; n° de acceso de GenBank BM683578), más particularmente sus dos variantes DEPDC1V1 (SEC ID Nos: 3, 4) y DEPDC1V2 (SEC ID Nos: 5, 6), estaban sobreexpresados en diversos cánceres. MPHOSPH1 se identificó previamente como una de las proteínas fosforiladas específicamente en la transición G2/M, y se caracterizó como una proteína relacionada con kinesina dirigida al extremo (+) (Abaza A et al., J Biol Chem 2003, 278: 27844-52.). Más particularmente, se documentó previamente que MPHOSPH1 es un motor molecular dirigido al extremo (+) que desempeña un papel crucial en la citocinesis, y se acumula en la zona media del husillo durante la anafase a la telofase en células HeLa (Abaza A et al., J Biol Chem 2003, 278: 27844-52; Kamimoto T et al., J Biol Chem 2001, 276: 37520-8.). El ADNc de MPHOSPH1 codifica una proteína de 1780 aminoácidos que está compuesta de tres dominios: un dominio motor de NH2-quinasina, un dominio de tallo de espiral superenrollada central y un dominio de cola C-globular. Estos datos sugieren que MPHOSPH1 es una proteína relacionada con kinesina de tipo NH2.

La función de la proteína DEPDC1 sigue sin estar clara. El dominio DEP incluido en esta proteína se encuentra en Dishevelled, Egl-10 y Pleckstrina. En particular, el dominio DEP en Dishevelled de Drosophila es esencial para

rescatar defectos de polaridad plana e induce la señalización de JNK; no obstante, su función en el ser humano todavía no se ha aclarado. Sin embargo, como describe en el documento PCT/JP2006/302684, DEPDC1 (nº interno B5860N) tiene dos variantes transcripcionales diferentes que consisten en 12 y 11 exones, que corresponden a DEPDC1 V1 y V2, respectivamente. Se observaron variaciones alternativas en el exón 8 de V1, y se encontró que los otros exones restantes son comunes a ambas variantes. La variante V2 no tiene el exón 8 del V1, pero genera el mismo codón de parada en el último exón. Las secuencias de ADNc de longitud completa de las variantes B5860NV1 y B5860NV2 consisten en 5318 y 4466 nucleótidos, respectivamente. El ORF de estas variantes comienza dentro de cada exón 1. Eventualmente, los transcritos de V1 y V2 codifican 811 y 527 aminoácidos, respectivamente; los ARNip suprimieron el crecimiento de células cancerosas. Estos resultados demuestran que DEPDC1 desempeña papeles importantes en el crecimiento de la mayoría de las células cancerosas.

Como se describe en el documento PCT/JP2006/302684, MPHOSPH1 y DEPDC1 están sobreexpresados en cáncer de vejiga, pero muestran una expresión mínima en tejidos normales. Además, se encontró que estos genes tienen una función significativa relacionada con la proliferación celular.

En la presente descripción, se muestra que los péptidos derivados de MPHOSPH1 o DEPDC1 son epítomos de TAA restringidos por HLA-A24 y HLA-A2, un alelo de HLA encontrado habitualmente en las poblaciones japonesa y caucásica. Específicamente, usando sus afinidades de unión por HLA-A24 y a HLA-A2, se identificaron candidatos de péptidos de unión a HLA-A24 y HLA-A2 derivados de MPHOSPH1 o DEPDC1. Tras la estimulación in vitro de células T por células dendríticas (DCs) cargadas con estos péptidos, los CTLs se establecieron con éxito usando MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID NO: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID NO: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID NO: 11)). DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID NO: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID NO: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID NO: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID NO: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID NO: 249)), DEPDC1-A02-10-234 (NMANTSKRGV (SEC ID NO: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNTLGL (SEC ID NO: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)), DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID NO: 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID NO: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID NO: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID NO: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID NO: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID NO: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID NO: 228)) y DEPDC1-A2-10-302 (ILVVCYITV (SEC ID NO: 230)). Estos CTLs demostraron una potente actividad citotóxica frente a células A24LCL y T2 pulsadas con péptido. Además, clones de CTL derivados de estas células también demostraron citotoxicidad específica frente a células positivas para HLA-A24 o HLA-A2 que expresan MPHOSPH1 o DEPDC1, respectivamente. Sin embargo, estos clones de CTL no expresaron actividad citotóxica frente a células que tienen expresión de uno solo de los péptidos, incluyendo HLA-A24, HLA-A2, MPHOSPH1 y DEPDC-1. Juntos, estos resultados sugieren la utilidad de MPHOSPH-1 y DEPDC1 como TAAs para células cancerosas, y que MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID NO: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID NO: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID NO: 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIHTFSRC (SEC ID NO: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID NO: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID NO: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID NO: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID NO: 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID NO: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID NO: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)), DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID NO: 255)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID NO: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID NO: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID NO: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID NO: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID NO: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID NO: 228)) y DEPDC1-A2-10-302 (ILVVCYITV (SEC ID NO: 230)) son péptidos epítomos de cada TAA restringidos por HLA-A24 o HLA-A2. Puesto que estos antígenos están sobreexpresados en la mayoría de los cánceres y están asociados con proliferación de células tumorales, encuentran utilidad como dianas inmunoterapéuticas frente a cánceres. Los cánceres ejemplares incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

En consecuencia, la presente descripción proporciona además métodos para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC-1, por ejemplo cánceres, en un sujeto, incluyendo dichos métodos las etapas de administrar a un sujeto que lo necesite un péptido inmunogénico de menos de alrededor de 40 aminoácidos, a menudo menos de alrededor de 20 aminoácidos, habitualmente menos de alrededor de 15 aminoácidos, y que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255. Como alternativa, el péptido inmunogénico puede estar compuesto de una secuencia de SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255 en la que 1, 2 o varios (por ejemplo, hasta 5) aminoácidos están sustituidos, suprimidos o añadidos, con la condición de que el péptido variante resultante retenga la actividad inmunogénica (es decir, la capacidad para inducir CTLs específicos para células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres). El número de restos a sustituir, suprimir, o añadir es generalmente 5 aminoácidos o menos, preferiblemente 4 aminoácidos o menos, más preferiblemente 3 aminoácidos o menos, incluso más preferiblemente

uno o dos aminoácidos. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

Se sabe que los péptidos variantes (es decir, péptidos que tienen una secuencia de aminoácidos modificada sustituyendo, suprimiendo o añadiendo uno, dos o varios restos aminoácidos a una secuencia de aminoácidos original) retienen la actividad biológica original (Mark DF et al., (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81: 5662-6.; Zoller MJ y Smith M, (1982) Nucleic Acids Res 10:6487-500.; Dalbadie-McFarland G et al., (1982) Proc Natl Acad Sci USA 79: 6409-13.). En el contexto de la presente descripción, es preferible que la modificación de aminoácidos dé como resultado la conservación de las propiedades de la cadena lateral de aminoácidos original (un proceso conocido como sustitución conservativa de aminoácidos). Los ejemplos de propiedades de cadenas laterales de aminoácidos incluyen los aminoácidos hidrófobos (A, I, L, M, F, P, W, Y, V), aminoácidos hidrófilos (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T), y cadenas laterales que tienen los siguientes grupos funcionales o características en común: una cadena lateral alifática (G, A, V, L, I, P); una cadena lateral que contiene grupo hidroxilo (S, T, Y); una cadena lateral que contiene un átomo de azufre (C, M); una cadena lateral que contiene un ácido carboxílico y una amida (D, N, E, Q); una cadena lateral que contiene una base (R, K, H); y una cadena lateral que contiene un grupo aromático (H, F, Y, W). Obsérvese que las letras entre paréntesis indican los códigos de una letra de aminoácidos.

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

La presente descripción proporciona además un método para inducir inmunidad antitumoral frente a una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, en un sujeto, incluyendo dicho método las etapas de administrar a un sujeto que lo necesite un péptido inmunogénico de la presente descripción, a saber, uno que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255, o una variante de los mismos (es decir, que incluye 1, 2, o varias sustituciones, supresiones o adiciones de aminoácidos). Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

En el contexto de la presente descripción, el sujeto es preferiblemente un mamífero. Los mamíferos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, un ser humano, un primate no humano, un ratón, una rata, un perro, un gato, un caballo, o una vaca.

En la presente descripción, el péptido se puede administrar a un sujeto vía un protocolo in vivo o ex vivo. Además, la presente descripción también proporciona el uso de nonapéptido o decapeptido seleccionado de péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255 (y sus variantes) para fabricar una composición inmunogénica para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

Los análisis de homología de MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7)), MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID NO: 8)), MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9)), MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID NO: 10)), MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID NO: 11)), DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)), DEPDC1-A2-9-589 (LLQPHLERV (SEC ID NO: 192)), DEPDC1-A2-9-619 (LLMRMISRM (SEC ID NO: 195)), DEPDC1-A2-9-290 (LLTFEYYEL (SEC ID NO: 197)), DEPDC1-A2-9-563 (RLCKSTIEL (SEC ID NO: 209)), DEPDC1-A2-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID NO: 225)), DEPDC1-A2-10-674 (FLMDHHQEIL (SEC ID NO: 228)), DEPDC1-A2-10-302 (ILVVCYITV (SEC ID NO: 230)), DEPDC1-A02-10-644 (SLMIhTFSRC (SEC ID NO: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID NO: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID NO: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID NO: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID NO: 249)), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID NO: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID NO: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)) y DEPDC1-A02-10-301 (NILGLLQPHL (SEC ID NO: 255)) demuestran que no tienen homología significativa con los péptidos derivados de ninguno de los productos génicos humanos conocidos. En consecuencia, la posibilidad de respuestas inmunitarias desconocidas o indeseables con inmunoterapia frente a estas moléculas está significativamente reducida.

Con respecto a los antígenos HLA, los datos presentados aquí demuestran que los usos de antígenos de tipo A-24 o de tipo A-2 (que se afirma que están muy expresados entre los japoneses) son favorables para obtener resultados eficaces. Los usos de subtipos tales como A-2402 y A-0201 son incluso más preferibles. Típicamente, en la clínica, el tipo de antígeno HLA del paciente que requiere tratamiento se investiga previamente, lo que permite, a su vez, la selección de péptidos apropiados que tienen niveles elevados de afinidad de unión por el antígeno del paciente, o que tienen inducibilidad de células T citotóxicas (CTL) mediante presentación de antígeno. Además, a el fin de obtener péptidos que tienen elevada afinidad de unión e inducibilidad de CTL, se puede llevar a cabo la sustitución, supresión, o adición de 1, 2, o varios aminoácidos basándose en la secuencia de aminoácidos del péptido parcial MPHOSPH1 y DEPDC1 de origen natural. Aquí, el término "varios" significa 5 o menos, más preferentemente 3 o

menos. Adicionalmente, además de los péptidos que se presentan de forma natural, puesto que ya se conoce la regularidad de las secuencias de péptidos presentados mediante la unión a antígenos HLA (Kubo RT, et al., (1994) J. Immunol., 152, 3913-24.; Rammensee HG, et al., (1995) Immunogenetics. 41:178-228.; Kondo A, et al., (1995) J. Immunol. 155:4307-12.), se pueden llevar a cabo modificaciones basadas en tal regularidad en los péptidos inmunogénicos de la descripción. Por ejemplo, se pueden usar de forma favorable péptidos que poseen una afinidad de unión a HLA-24 elevada, en los que el segundo aminoácido desde el término N se ha sustituido por fenilalanina, tirosina, metionina, o triptófano. Igualmente, también se pueden usar de forma favorable péptidos cuyo aminoácido C-terminal está sustituido por fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano, o metionina. Por otro lado, se pueden usar de forma favorable péptidos que poseen afinidad de unión a HLA-A2 elevada que tienen su segundo aminoácido desde el término N sustituido por leucina o metionina, y péptidos cuyo aminoácido C-terminal está sustituido por valina o leucina. Adicionalmente, se pueden añadir 1 a 2 aminoácidos al término N y/o al término C del péptido.

Sin embargo, cuando la secuencia peptídica es idéntica a una porción de la secuencia de aminoácidos de una proteína endógena o exógena que tiene una función diferente, se pueden inducir efectos secundarios tales como trastornos autoinmunitarios o síntomas alérgicos frente a sustancias específicas. Por lo tanto, es preferible evitar la situación en la que la secuencia inmunogénica se corresponde con la secuencia de aminoácidos de una proteína conocida. Esta situación se puede evitar llevando a cabo una búsqueda de homología usando bases de datos disponibles. Si las búsquedas de homología confirman que los péptidos en los que 1, 2 o varios aminoácidos diferentes no existen en la naturaleza, entonces se puede evitar el peligro de que las modificaciones de la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente incrementen, por ejemplo, la afinidad de unión con antígenos HLA, y/o incrementen la inducibilidad de CTL.

Aunque se espera que los péptidos que tienen afinidad de unión elevada por los antígenos HLA como se describe anteriormente sean muy eficaces como vacunas contra el cáncer, los péptidos candidatos, que se seleccionan según la presencia de afinidad de unión elevada como indicador, se deben de examinar en busca de la presencia real de inducibilidad de CTL. La inducibilidad de CTL se puede confirmar de forma habitual induciendo células presentadoras de antígeno que poseen antígenos del MHC humano (por ejemplo linfocitos B, macrófagos, y células dendríticas), o más específicamente células dendríticas derivadas de leucocitos mononucleares de sangre periférica humana, y, tras la estimulación con el péptido de interés, mezclándolas con células positivas para CD8 y midiendo la actividad citotóxica frente a las células diana. Como sistema de reacción, se pueden usar animales transgénicos producidos para que expresen un antígeno HLA humano (por ejemplo los descritos en BenMohamed L, et al., (2000) Hum. Immunol.; 61(8):764-79 artículos y libros relacionados, Linkout.). Por ejemplo, las células diana se pueden radiomarcarse con ⁵¹Cr y similares, y la actividad citotóxica se puede calcular a partir de la radioactividad liberada de las células diana. Como alternativa, se puede examinar midiendo IFN-gamma producido y liberado por CTL en presencia de células presentadoras de antígeno que portan péptidos inmovilizados, y visualizando la zona de inhibición en el medio usando anticuerpos monoclonales anti-IFN-gamma.

Como resultado de examinar de la inducibilidad de CTL de los péptidos como se describe anteriormente, se descubrió que aquellos péptidos que tienen afinidad de unión elevada a un antígeno HLA no tienen necesariamente inducibilidad elevada. Sin embargo, los nonapéptidos o decapeptidos seleccionados del grupo de péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos indicadas por IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7), IYNEYIYDLF (SEC ID NO: 8), YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9), RLAIKDLV (SEC ID NO: 10), TMSSSKLSNV (SEC ID NO: 11), EYYELFVNI (SEC ID NO: 12), LLQPHLERV (SEC ID NO: 192), LLMRMISRM (SEC ID NO: 195), LLTFEYYEL (SEC ID NO: 197), RLCKSTIEL (SEC ID NO: 209), CVLCCAEV (SEC ID NO: 225), FLMDHHQEIL (SEC ID NO: 228), ILVVCGYITV (SEC ID NO: 230), DEPDC1-A02-10-644 (SLMLHTFSRC (SEC ID NO: 240)), DEPDC1-A02-10-575 (SLLPASSMLT (SEC ID NO: 241)), DEPDC1-A02-10-506 (QLCRSQSLLL (SEC ID NO: 243)), DEPDC1-A02-10-765 (KQFQKEYPLI (SEC ID NO: 244)), DEPDC1-A02-10-395 (IMGGSCHNLI (SEC ID NO: 249), DEPDC1-A02-10-224 (NMANTSKRGV (SEC ID NO: 253)), DEPDC1-A02-9-297 (ELFVNILGL (SEC ID NO: 226)), DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)) y DEPDC1-A02-10-301 (NILGILQPHL (SEC ID NO: 255)) mostraron una inducibilidad de CTL particularmente elevada.

Como se señala anteriormente, la presente descripción proporciona péptidos que tienen inducibilidad de células T citotóxicas, a saber, aquellos que tienen la secuencia de aminoácidos SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255, o una variante de las mismas (es decir, aquellos en los que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos o añadidos). Es preferible que las secuencias de aminoácidos compuestas de 9 o 10 aminoácidos indicadas en SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255, o una variante de las mismas, no coincida con una secuencia de aminoácidos asociada con otra proteína endógena. En particular, la sustitución de aminoácidos a leucina o metionina en el segundo aminoácido desde el término N, la sustitución de aminoácidos a valina o leucina en el aminoácido C-terminal, y la adición de aminoácidos de 1 a 2 aminoácidos en el término N y/o término C son ejemplos de variantes preferidas. Un experto en la técnica reconocerá que, además de sustituciones y adiciones de aminoácidos, también se pueden usar en los métodos de la descripción fragmentos inmunológicamente activos de los péptidos. Los métodos para determinar fragmentos activos son bien conocidos de la técnica. Los clones de CTL obtenidos mediante estimulación de estos péptidos modificados pueden reconocer los péptidos originales y provocar daño para células que expresan los péptidos originales.

Los péptidos de la presente descripción se pueden preparar usando técnicas bien conocidas. Por ejemplo, los péptidos se pueden preparar sintéticamente, usando tecnología de ADN recombinante o síntesis química. Los péptidos de la presente descripción se pueden sintetizar individualmente, o como polipéptidos más largos que comprenden dos o más péptidos. Los péptidos de la presente descripción están preferiblemente aislados, es decir, sustancialmente libres de otras proteínas de origen natural de la célula hospedante y fragmentos de las mismas.

Los péptidos de la presente descripción pueden contener modificaciones, tales como glicosilación, oxidación de la cadena lateral o fosforilación, con la condición de que las modificaciones no destruyan la actividad biológica de los péptidos como se describe aquí, a saber, la capacidad para unirse a un antígeno HLA e inducir CTL. Otras modificaciones incluyen la incorporación de D-aminoácidos u otros miméticos de aminoácidos que se pueden usar, por ejemplo, para incrementar la semivida sérica de los péptidos.

Los péptidos de esta descripción se pueden preparar como una combinación, que incluye dos o más péptidos de la descripción, para uso como una vacuna para una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, tal como una vacuna que induce CTL in vivo. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando. Los péptidos pueden estar en un cóctel, o se pueden conjugar entre sí usando técnicas estándar. Por ejemplo, los péptidos se pueden expresar como una única secuencia polipeptídica. Los péptidos en la combinación pueden ser iguales o diferentes. Administrando los péptidos de esta descripción, los péptidos se presentan a una densidad elevada en los antígenos HLA de células presentadoras de antígeno, que, a su vez, inducen CTLs que reaccionan específicamente frente al complejo formado entre el péptido presentado y el antígeno HLA. Como alternativa, las células presentadoras de antígeno, que tienen inmovilizados los péptidos de esta descripción sobre su superficie celular, obtenidas retirando células dendríticas de los sujetos, pueden ser estimuladas por los péptidos de esta descripción. La readministración de estas células a los sujetos respectivos induce CTL y, como resultado, se puede incrementar la agresividad frente a las células diana.

Más específicamente, la presente descripción proporciona fármacos para tratar y/o prevenir la proliferación, metástasis, y similar de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, que incluyen uno o más de los péptidos de esta descripción. Los péptidos de esta descripción encuentran utilidad particular en el tratamiento de una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

Los péptidos de esta descripción se pueden administrar a un sujeto directamente, como una composición farmacéutica que se puede formular mediante métodos de formulación convencionales. En tales casos, además de los péptidos de esta descripción, se pueden incluir, según sea apropiado, portadores, excipientes, y similares que se usan normalmente para fármacos, sin limitaciones particulares. Las composiciones inmunogénicas de esta descripción se pueden usar para el tratamiento y prevención de una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

Las composiciones inmunogénicas para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, que comprenden como ingrediente activo uno o más péptidos de la presente descripción, pueden incluir además un adyuvante de manera que se establecerá de forma eficaz la inmunidad celular. Como alternativa, se pueden administrar con otros ingredientes activos, tales como agentes contra el cáncer. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando. Las formulaciones adecuadas incluyen gránulos. Los adyuvantes adecuados se describen en la bibliografía (Johnson AG. (1994) Clin. Microbiol. Rev., 7:277-89.). Los adyuvantes ejemplares incluyen, pero no se limitan a, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, y alumbre. Además, se pueden usar convenientemente formulaciones liposómicas, formulaciones granulares en las que el fármaco está unido a perlas de unos pocos micrómetros de diámetro, y formulaciones en las que un lípido está unido al péptido. El método de administración puede ser oral, inyección intradérmica, subcutánea, intravenosa, o similar, y puede incluir administración sistémica o administración local en la vecindad del tumor seleccionado como diana. La dosis del péptido o péptidos de esta descripción se puede ajustar apropiadamente según la enfermedad a tratar, la edad del paciente, el peso, el método de administración, y similar. Aunque la dosis es normalmente 0,001 mg a 1000 mg, preferentemente 0,01 mg a 100 mg, más preferentemente 0,1 mg a 10 mg, administrada preferiblemente una vez en unos pocos días a unos pocos meses, el experto en la técnica puede seleccionar fácilmente la dosis apropiada y el método de administración, ya que la selección y optimización de estos parámetros está perfectamente dentro de la pericia habitual.

La presente descripción proporciona además vesículas intracelulares denominadas exosomas, que presentan complejos formados entre los péptidos de esta invención y antígenos HLA en su superficie. Los exosomas se pueden preparar, por ejemplo, usando de los métodos descritos con detalle en la traducción japonesa publicada de

las publicaciones internacionales n^{os} Hei 11-510507 y 2000-512161, y se preparan preferiblemente usando células presentadoras de antígeno obtenidas a partir de sujetos que son dianas de tratamiento y/o prevención. Los exosomas de esta descripción se pueden inocular como vacunas del cáncer, de forma similar a los péptidos de esta descripción.

- 5 El tipo de antígenos HLA usados debe de coincidir con el del sujeto que requiera tratamiento y/o prevención. Por ejemplo, en la población japonesa, a menudo es apropiado HLA-A24 o HLA-A2, particularmente HLA-A2402 o HLA-A0201.

En algunas realizaciones, las composiciones de vacuna de la presente descripción incluyen un componente que estimula linfocitos T citotóxicos. Los lípidos se han identificado como agentes capaces de estimular CTL in vivo
10 frente a antígenos víricos. Por ejemplo, los restos de ácido palmítico se pueden unir a los grupos épsilon- y alfa-amino de un resto de lisina y después se pueden enlazar a un péptido inmunogénico de la descripción. El péptido lipidado se puede administrar entonces ya sea directamente, en una micela o partícula, se puede incorporar en un liposoma, o se puede emulsionar en un adyuvante. Como otro ejemplo de un cebado lipídico de respuestas de CTL, se pueden usar lipoproteínas de *E. coli*, tal como tripalmitoil-S-glicerilcisteinilseril-serina (P3CSS), para cebar CTL
15 cuando se unen covalentemente a un péptido apropiado (véase, por ejemplo, Deres K, et al., (1989) *Nature* 342:561-4.).

Las composiciones inmunogénicas de la presente descripción también pueden incluir ácidos nucleicos que codifican uno o más de los péptidos inmunogénicos descritos aquí. Véanse, por ejemplo, Wolff JA et al., (1990) *Science* 247:1465-8; patente de EE.UU. n^{os} 5.580.859; 5.589.466; 5.804.566; 5.739.118; 5.736.524; 5.679.647; y el
20 documento WO 98/04720. Los ejemplos de tecnologías de suministro basadas en ADN incluyen "ADN desnudo", suministro facilitado (bupivacaína, polímeros, mediado por péptidos), complejos de lípidos catiónicos, y suministro mediado por partículas ("pistola génica") o mediado por presión (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n^o 5.922.687).

Los péptidos inmunogénicos de la descripción también se pueden expresar por vectores víricos o bacterianos. Los
25 ejemplos de vectores de expresión adecuados incluyen hospedantes víricos atenuados, tales como el virus de la vacuna o el virus de la viruela aviar. Este enfoque implica el uso del virus de la vacuna, por ejemplo como un vector para expresar secuencias nucleotídicas que codifican el péptido. Al introducirlo en un hospedante, el virus de la vacuna recombinante expresa el péptido inmunogénico, y de ese modo provoca una respuesta inmunitaria. Los vectores del virus de la vacuna y métodos útiles en protocolos de inmunización se describen, por ejemplo, la patente de EE.UU. n^o 4.722.848. Otro vector adecuado es BCG (Bacilo de Calmette Guérin). Los vectores de BCG se describen en Stover CK, et al., (1991) *Nature* 351:456-60. En la técnica se conoce una amplia variedad de otros
30 vectores útiles para la administración terapéutica o inmunización, por ejemplo vectores de adenovirus y virus adenoasociados, vectores retrovíricos, vectores de *Salmonella typhi*, vectores de la toxina del carbunco destoxificado, y similares. Véanse, por ejemplo, Shata MT, et al., (2000) *Mol. Med. Today* 6:66-71; Shedlock DJ y Weiner DB., et al., (2000) *J. Leukoc. Biol.* 68:793-806; e Hipp JD, et al., (2000) *In Vivo* 14:571-85.

La presente descripción también proporciona métodos para inducir células presentadoras de antígeno usando uno o más péptidos de esta descripción. Las células presentadoras de antígeno se pueden inducir induciendo células dendríticas de los monocitos de sangre periférica, y poniéndolos entonces en contacto (estimulándolos) con uno o
40 más péptidos descritos in vitro, ex vivo o in vivo. Cuando los péptidos de la presente descripción se administran a los sujetos, las células presentadoras de antígeno que tienen los péptidos esta descripción inmovilizados a ellas son inducidas en el cuerpo del sujeto. Como alternativa, tras inmovilizar los péptidos de esta descripción a las células presentadoras de antígeno, las células se pueden administrar al sujeto como una vacuna. Por ejemplo, la administración ex vivo puede incluir las etapas de:

- a: recolectar células presentadoras de antígeno de un sujeto, y
45 b: poner en contacto las células presentadoras de antígeno de la etapa a con un péptido de la presente descripción.

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

La descripción también proporciona un método para inducir células presentadoras de antígeno que tienen un nivel
50 elevado de inducibilidad de células T citotóxicas, en el que el método incluye la etapa de transferir in vitro genes compuestos de polinucleótido o polinucleótidos que codifican uno o más péptidos de esta descripción a células presentadoras de antígeno. Los genes introducidos pueden estar en forma de ADN o de ARN. Para el método de introducción, se pueden usar de forma adecuada, sin limitaciones particulares, diversos métodos llevados a cabo convencionalmente en este campo, tales como lipofección, electroporación y método de fosfato de calcio. Más específicamente, la transfección se puede llevar a cabo como se describe en Reeves ME, et al., (1996) *Cancer Res.*, 56:5672-7.; Butterfield LH, et al., (1998) *J. Immunol.*, 161:5607-13.; Boczkowski D, et al., (1996) *J. Exp. Med.*, 184:465-72.; traducción japonesa publicada de la publicación internacional n^o 2000-509281. Al transferir el gen a las
55 células presentadoras de antígeno, el gen sufre la transcripción, la traducción, y similar, en la célula, y entonces la

proteína obtenida se procesa mediante MHC de Clase I o de Clase II, y continúa a través de una ruta de presentación para presentar péptidos parciales.

La presente descripción proporciona además métodos para inducir CTL usando uno o más péptidos de esta descripción. Cuando los péptidos de esta descripción se administran a un sujeto, se inducen CTL en el cuerpo del sujeto, y de ese modo se potencia la resistencia del sistema inmunitario dirigido contra las células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células cancerosas en los tejidos tumorales. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando. Como alternativa, los péptidos de la presente descripción se pueden usar en el contexto de un método terapéutico ex vivo, en el que células presentadoras de antígeno derivadas y células positivas para CD8 o leucocitos mononucleares de sangre periférica derivados del sujeto se ponen en contacto (son estimulados) con uno o más péptidos de esta descripción in vitro, y, tras inducir CTL, las células se devuelven al sujeto. Por ejemplo, el método puede incluir las etapas de:

a: recolectar células presentadoras de antígeno del sujeto,

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

c: mezclar las células presentadoras de antígeno de la etapa b con células T CD⁸⁺ y cocultivar para inducir células T citotóxicas; y

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

Las células T CD⁸⁺ que tienen actividad citotóxica obtenidas mediante la etapa d se pueden administrar al sujeto como una vacuna.

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

a: recolectar células T de un sujeto, y

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

(1) un péptido aislado de menos de alrededor de 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos de SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255.

(2) Un péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 y 255, en la que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos o añadidos.

La presente descripción también proporciona un método para producir APC que tienen inducibilidad de células T activadas, usando los péptidos de la presente invención. Por ejemplo, el método puede incluir la etapa de poner en contacto células presentadoras de antígeno con los péptidos para producir células presentadoras de antígeno que presentan el péptido y el antígeno HLA en la superficie.

En el contexto de la presente descripción, la "célula T citotóxica activada" induce producción de IFN-gamma, liberación de IFN-gamma y muerte de células tumorales.

La presente descripción proporciona además células T citotóxicas aisladas inducidas usando los péptidos de esta descripción. Las células T citotóxicas, inducidas mediante estimulación con una célula presentadora de antígeno que presenta uno o más péptidos de esta descripción, derivan preferiblemente de sujetos que son la diana de tratamiento y/o prevención, y se pueden administrar solos o en combinación con otros fármacos, incluyendo uno o más péptidos de esta descripción o exosomas que tienen actividad antitumoral. Las células T citotóxicas obtenidas actúan específicamente contra células diana que presentan los péptidos de esta descripción, o preferiblemente el mismo péptido o péptidos usados para la inducción. Las células diana pueden ser células que expresan de manera endógena MPHOSPH1 y/o DEPDC1, o células que son transfectadas con genes MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Las células que presentan los péptidos de esta descripción sobre la superficie celular, debido a estimulación con estos péptidos, también pueden convertirse en dianas de ataque.

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

La presente descripción también proporciona una composición que comprende ácidos nucleicos que codifican polipéptidos que son capaces de formar una subunidad de un receptor de célula T (TCR,) y métodos para usarlos. Las subunidades de TCR tienen la capacidad de formar TCRs que confieren especificidad a células T por células tumorales que presentan MPHOSPH1 o DEPDC1. Usando el método conocido en la técnica, se pueden identificar los ácidos nucleicos de la cadena alfa y beta como las subunidades de TCR del CTL inducidos con uno o más péptidos de esta descripción (documento WO2007/032255 y Morgan et al., J Immunol, 171, 3288 (2003)). Los TCRs derivados se unen preferiblemente con avidez elevada a células diana que presentan el péptido de MPHOSPH1 o DEPDC1, y opcionalmente median la muerte eficiente de células diana que presentan el péptido MPHOSPH1 o DEPDC1 in vivo e in vitro.

Los ácidos nucleicos que codifican las subunidades de TCR se pueden incorporar en vectores adecuados, por ejemplo vectores retroviricos. Estos vectores son bien conocidos de la técnica. Los ácidos nucleicos o los vectores que los comprenden de forma útil se pueden transferir a una célula T, célula T la cual procede preferiblemente de un paciente. Ventajosamente, la descripción proporciona una composición disponible en el mercado que permite la modificación rápida de las células T del propio paciente (o las de otro mamífero) para producir rápida y fácilmente células T modificadas que tienen excelentes propiedades exterminadoras de células cancerosas.

También, la presente descripción proporciona CTLs que se preparan mediante transducción con los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de las subunidades de TCR que se unen con el péptido MPHOSPH1 o DEPDC1, por ejemplo SEC ID NOs: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255 en el contexto de HLA-A24 o HLA-A2. Los CTLs transducidos son capaces de encontrar el camino hacia las células cancerosas in vivo, y de expandirse mediante método de cultivo bien conocido in vitro (por ejemplo Kawakami et al., J Immunol., 142, 3452-3461 (1989)). Las células T de la descripción se pueden usar para formar una composición inmunogénica útil para tratar o prevenir cáncer en un paciente que necesite terapia o protección (documento WO2006/031221).

En el contexto de la presente descripción, el término “vacuna” (también denominada como composición inmunogénica) se refiere a una sustancia que induce inmunidad antitumoral o suprime cánceres al inocularla en animales. Según la presente descripción, se sugirió que los polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 7, 8 o 12 son péptidos epitópicos restringidos por HLA-A24, y se sugirió que aquellos de SEC ID NO: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255 son péptidos epitópicos restringidos a HLA-A2 que pueden inducir respuesta inmunitaria potente y específica frente a células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células cancerosas que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando. De este modo, la presente invención también engloba un método para inducir inmunidad antitumoral usando polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos SEC ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 249, 253, 254 o 255 o una variante de la misma (es decir, que incluye 1, 2, o varias sustituciones, supresiones, o adiciones de aminoácidos). En general, la inmunidad antitumoral incluye respuestas inmunitarias tales como las siguientes:

- una inducción de linfocitos citotóxicos frente a tumores que contienen células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1,
- una inducción de anticuerpos que reconocen tumores que contienen células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, y
- una inducción de la producción de citocinas antitumorales.

Por lo tanto, cuando un determinado péptido induce una cualquiera de estas respuestas inmunitarias al inocularlo en un animal, se afirma que el péptido tiene efecto inductor de inmunidad antitumoral. La inducción de la inmunidad antitumoral por un péptido se puede detectar observando in vivo o in vitro la respuesta del sistema inmunitario en el hospedante frente al péptido.

Por ejemplo, es bien conocido un método para detectar la inducción de linfocitos T citotóxicos. Una sustancia extraña que entra en el cuerpo vivo se presenta a células T y células B mediante la acción de las células presentadoras de antígeno (APCs). Las células T que responden al antígeno presentado por APC de una manera específica del antígeno se diferencian en células T citotóxicas (también denominadas linfocitos T citotóxicos o CTLs) debido a la estimulación por el antígeno, y entonces proliferan; este proceso se denomina aquí como “activación” de células T. Por lo tanto, la inducción de CTL por un determinado péptido se puede evaluar presentando el péptido a una célula T por la APC, y detectando la inducción de CTL. Además, las APCs tienen el efecto de activar células T CD4+, células T CD8+, macrófagos, eosinófilos y células NK. Puesto que las células T CD4+ son también importantes en la inmunidad antitumoral, la acción inductora de la inmunidad antitumoral del péptido se puede evaluar usando el efecto de activación de estas células como indicadores.

Un método para evaluar la acción inductora de CTL usando células dendríticas (DCs) como APC es bien conocido en la técnica. DC es una APC representativa que tiene la acción inductora de CTL más potente de entre las APCs.

En este método, el polipéptido de ensayo se pone en contacto inicialmente con DC, y entonces estas DC se pone en contacto con células T. La detección de células T que tienen efectos citotóxicos frente a las células de interés tras el contacto con DC muestra que el polipéptido de ensayo tiene una actividad induciendo las células T citotóxicas. La actividad de CTL frente a tumores se puede detectar, por ejemplo, usando como indicador la lisis de células tumorales marcadas con ⁵¹Cr. Como alternativa, es bien conocido cómo evaluar el grado de daño de las células tumorales usando la actividad de incorporación de ³H-timidina o la liberación de LDH (lactosa deshidrogenasa) como indicador. Además, también se puede examinar midiendo IFN-gamma producido y liberado por CTL en presencia de células presentadoras de antígeno que portan péptidos inmovilizados mediante la visualización usando anticuerpos anti-IFN-gamma, tal como un ensayo ELISPOT.

Aparte de DC, también se pueden usar como la APC células mononucleares de sangre periféricas (PBMCs). Se da a conocer que la inducción de CTL está potenciada al cultivar PBMC en presencia de GM-CSF e IL-4. De forma similar, se ha mostrado que CTL es inducido al cultivar PBMC en presencia de hemocianina de lapa californiana (KLH) e IL-7.

Los polipéptidos de ensayo que se confirmó que poseen actividad inductora de CTL por estos métodos son polipéptidos que tienen efecto de activación de DC y actividad inductora de CTL subsiguiente. Por lo tanto, los polipéptidos que inducen CTL frente a células tumorales son útiles como vacunas frente a enfermedades asociadas con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Además, las APC que han adquirido la capacidad para inducir CTL frente a una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, mediante la puesta en contacto con los polipéptidos son útiles como vacunas frente a la enfermedad. Además, los CTL que han adquirido citotoxicidad debido a la presentación de los antígenos polipeptídicos mediante APC también se pueden usar como vacunas frente a una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. Tales métodos terapéuticos para una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, usando inmunidad antitumoral debido a APC y CTL, se denominan como inmunoterapia celular. Los cánceres contemplados incluyen, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

Generalmente, cuando se usa un polipéptido para inmunoterapia celular, la eficiencia de la inducción de CTL se puede incrementar combinando una pluralidad de polipéptidos que tienen diferentes estructuras y poniéndolos en contacto con DC. Por lo tanto, cuando se estimulan DC con fragmentos proteicos, es ventajoso usar una mezcla de múltiples tipos de fragmentos.

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

La inmunidad antitumoral se puede inducir administrando una vacuna de esta descripción, y la inducción de inmunidad antitumoral permite el tratamiento y prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres. La terapia contra o la prevención del comienzo de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, puede incluir la inhibición del crecimiento de células que expresan MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo células cancerosas, involución de esas células y supresión de la aparición de esas células, por ejemplo células cancerosas. La disminución de la mortalidad de individuos que tienen una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, la disminución de los marcadores de la enfermedad en la sangre, el alivio de síntomas detectables que acompañan a la enfermedad, y similares, también están incluidos en la terapia o prevención de la enfermedad, por ejemplo cánceres. Tales efectos terapéuticos y preventivos son preferiblemente estadísticamente significativos, por ejemplo observados a un nivel de significancia de 5% o menos, en el que el efecto terapéutico o preventivo de una vacuna contra una enfermedad asociada a MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, se compara con un control sin la administración de la vacuna. Por ejemplo, para determinar la significancia estadística, se puede usar la prueba de la t de Student, la prueba de la U de Mann-Whitney o ANOVA.

Ya que la presente descripción proporciona un método para tratar, o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, los compuestos o composiciones terapéuticas se pueden administrar profiláctica o terapéuticamente a sujetos que sufren o tienen riesgo de (o son susceptibles a) desarrollar la enfermedad. Tales sujetos se pueden identificar usando métodos clínicos estándar. En el contexto de la presente descripción, la administración profiláctica se produce antes de la manifestación de síntomas clínicos manifiestos de la enfermedad, de manera que se previene o como alternativa se retrasa el avance de una enfermedad o trastorno. En el contexto del campo de la medicina, el término "prevenir" engloba cualquier actividad que reduzca la carga de mortalidad o morbilidad de la enfermedad. La prevención se puede producir a los niveles de prevención primaria, secundaria y terciaria. Mientras que la prevención primaria evita el desarrollo de una enfermedad, los niveles secundario y terciario de prevención engloban actividades destinadas a prevenir el avance de una enfermedad y la aparición de síntomas, así como a reducir el impacto negativo de una enfermedad ya establecida restaurando la función y reduciendo las complicaciones relacionadas con la enfermedad.

En el contexto del tratamiento del cáncer el término “eficaz” se refiere a un tratamiento que conduce a una disminución del tamaño, prevalencia o potencial metastásico de cáncer en un sujeto. Cuando un tratamiento se aplica profilácticamente, “eficaz” significa que el tratamiento retrasa o previene la aparición de cáncer o alivia un síntoma clínico de cáncer. La evaluación de cáncer se puede realizar usando protocolos clínicos estándar. Además, la eficacia de un tratamiento se puede determinar junto con cualquier método conocido para diagnosticar o tratar cáncer. Por ejemplo, el cáncer se puede diagnosticar histopatológicamente, o identificando anomalías sintomáticas.

El péptido mencionado anteriormente, que tiene actividad inmunológica, o un polinucleótido o vector que codifica tal péptido, se puede combinar con un adyuvante. Un adyuvante se refiere a un compuesto que potencia la respuesta inmunitaria frente al péptido cuando se administra junto (o sucesivamente) con el péptido que tiene actividad inmunológica. Los ejemplos de adyuvantes adecuados incluyen toxina colérica, toxina de Salmonella, alumbre y similar, pero no se limitan a ellos. Además, una vacuna de esta descripción se puede combinar apropiadamente con un portador farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales portadores son agua esterilizada, disolución salina fisiológica, tampón de fosfato, fluido de cultivo, y similar. Además, la vacuna puede contener, según sea necesario, estabilizantes, suspensiones, conservantes, tensioactivos y similares. La vacuna se administra sistémica o localmente. La administración de la vacuna se puede llevar a cabo mediante administración única o se puede revacunar mediante múltiples administraciones.

Cuando se usa APC o CTL como la vacuna de esta descripción, una enfermedad asociada con la sobreexpresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres, se puede tratar o prevenir, por ejemplo, mediante el método ex vivo. Más específicamente, se recolectan PBMCs del sujeto que recibe tratamiento o prevención, y se ponen en contacto ex vivo con un péptido de la presente descripción. Tras la inducción de APC o CTL, las células se pueden administrar al sujeto. Las APC también se pueden inducir introduciendo un vector que codifica el péptido en PBMCs ex vivo. APC o CTL inducidos in vitro se pueden clonar antes de la administración. La inmunoterapia celular se puede llevar a cabo de forma más eficaz clonando y cultivando células que tienen actividad elevada de producción de daño a células diana. Además, APC y CTL aislados de esta manera se pueden usar para la inmunoterapia celular no solo frente a individuos de los que derivan las células, sino también frente a tipos de enfermedades similares en otros individuos.

Los aspectos de la presente descripción se describen en los siguientes ejemplos, que se presentan solamente para ilustrar la presente descripción y para ayudar a un experto normal en la realización y uso de la misma. Los ejemplos no pretenden de ninguna manera limitar de otro modo el alcance de la descripción.

Aunque en la práctica o ensayo de la presente descripción se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí, a continuación se describen métodos y materiales adecuados.

EJEMPLOS

En lo sucesivo, la presente descripción se ejemplifica, pero no se restringe, mediante los siguientes Ejemplos. Sin embargo, los materiales, métodos, y similares descritos aquí solo ilustran aspectos de la descripción y de ningún modo están destinados a limitar el alcance de presente descripción. Como tal, en la práctica o ensayo de la presente descripción se pueden usar materiales, métodos y demás similares o equivalentes a los descritos aquí.

EJEMPLO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

Líneas celulares

Las células A24LCL (HLA-A24/24), las líneas celulares linfoblastoides B humanas, células T2 y COS7 se adquirieron de ATCC.

Selección de péptidos candidatos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1

Los péptidos 9-meros y 10-meros derivados de MPHOSPH1 o DEPDC1 que se unen a una molécula HLA-A*2402 y HLA-A*0201 se predijeron usando el software de predicción de unión “BIMAS” (bimas.dcrt.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_comboform) (Parker KC, et al., (1994) J Immunol.; 152(1):163-75.; Kuzushima K, et al., (2001) Blood.; 98(6):1872-81.). Estos péptidos se sintetizaron por Sigma (Sapporo, Japón) según el método de síntesis en fase sólida estándar, y se purificaron mediante HPLC de fase inversa. La pureza (>90%) y la identidad de los péptidos se determinaron mediante HPLC analítica y análisis de espectrometría de masas, respectivamente. Los péptidos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) a 20 mg/ml y se almacenaron a -80 grados C.

Inducción de CTL in vitro

Como células presentadoras de antígenos (APCs), se usaron células dendríticas (DCs) derivadas de monocitos para inducir respuestas de CTL frente a péptidos presentados sobre HLA. Las DCs se generaron in vitro como se describió en otra parte (Nukaya I et al., (1999) Int. J. Cancer 80, 92-7.; Tsai V et al., (1997) J. Immunol 158:1796-802.). De forma breve, células mononucleares de sangre periférica (PBMC) aisladas de un voluntario normal (HLA-

A*2402 y/o HLA- A*0201) mediante disolución de Ficoll-Paque (Pharmacia) se separaron mediante adherencia a un matraz de cultivo tisular de plástico (Becton Dickinson) para enriquecerlas en la fracción monocítica. La población enriquecida en monocitos se cultivó en presencia de 1000 U/ml de GM-CSF (Genzyme) y 1000 U/ml de IL-4 (Genzyme) en AIM-V (Invitrogen) que contiene suero autólogo (AS) inactivado por calor al 2%. Después de 7 días en el cultivo, las DCs generadas con citocinas se pulsaron con 20 mcg/ml de los péptidos sintetizados en presencia de 3 mcg/ml de beta 2-microglobulina durante 4 h a 20 grados C en AIM-V. Estas DCs pulsadas con péptido se inactivaron entonces mediante MMC (30 mcg/ml durante 30 min.) y se mezclaron en una relación 1:20 con células T CD8⁺ autólogas, obtenidas mediante selección positiva con Dynabeads M-450 CD8 (Dyna) y DETACHa BEAD™ (Dyna). Estos cultivos se montaron en placas de 48 pocillos (Corning); cada pocillo contenía 1,5x10⁴ DCs pulsadas con péptido, 3x10⁵ células T CD8⁺ y 10 ng/ml de IL-7 (Genzyme) en 0,5 ml de AIM-V/AS al 2%. Tres días más tarde, estos cultivos se suplementaron con IL-2 (CHIRON) hasta una concentración final de 20 IU/ml. En los días 7 y 14, las células T se volvieron a estimular adicionalmente con las DCs pulsadas con péptido autólogas. Las DCs se prepararon cada vez de la misma manera como se describió anteriormente. CTL se sometió a ensayo frente a células A24LCL pulsadas con péptido o células T2 después de la tercera ronda de estimulación peptídica el día 21.

Procedimiento de expansión de CTL

Los CTLs se expandieron en cultivo usando el método similar al descrito por Riddell SR, et al., (Walter EA et al., (1995) N Engl J Med 333:1038-44.; Riddell SR, et al., (1996) Nature Med. 2:216-23.). Un total de 5x10⁴ de CTLs se resuspendieron en 25 ml de AIM-V/AS al 5% con 2 tipos de líneas celulares linfoblastoides B humanas, inactivadas mediante MMC, en presencia de 40 ng/ml de anticuerpo monoclonal anti-CD3 (Pharmingen). Un día después de iniciar los cultivos, se añadieron 120 IU/ml de IL-2 a los cultivos. Los cultivos se alimentaron con AIM-V/AS al 5% reciente que contiene 30 IU/ml de IL-2 en los días 5, 8 y 11.

Establecimiento de clones de CTL

Se realizaron diluciones para obtener 0,3, 1 y 3 CTLs/pocillo en una placa de microtitulación de fondo redondo de 96 pocillos (Nalge Nunc International). Los CTLs se cultivaron con 7x10⁴ células/pocillo de 2 tipos de líneas celulares linfoblastoides B humanas, 30 ng/ml de anticuerpo anti-CD3, y 125 U/ml de IL-2 en total de 150 mcl/pocillo de AIM-V que contenía AS al 5%. 10 días más tarde, se añadieron al medio 50 mcl/pocillo de IL-2, de manera que IL-2 alcanzase 125 U/ml en la concentración final. La actividad de CTL de los CTL se sometió a ensayo en el día 14, y los clones de CTL se expandieron usando el mismo método anterior.

Actividad específica de CTL

Para examinar la actividad específica de CTL, se llevaron a cabo el ensayo ELISPOT de IFN-gamma y el ELISA de IFN-gamma.

De forma breve, se preparó célula A24-LCL o T2 pulsada con péptido (1x10⁴/pocillo) como célula estimuladora. Como células respondedoras, se usaron células cultivadas en 48 pocillos, o clones de CTL tras dilución limitante. El ensayo ELISPOT de IFN-gamma y el ELISA se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento del fabricante.

Cultivo celular y transfección

Se establecieron B-LCLs HLA-A24 (A24LCL), transformadas con virus de Epstein-Barr. Jiyoye, EB-3, COS7, HT1376, RT-4 y J82 se adquirieron de la American Type Culture Collection (Rockville, MD). A24LCL, Jiyoye y EB-3 se mantuvieron en RPMI1640 que contenía suero fetal bovino al 10% (GEMINI Bio-products) y disolución de antibiótico al 1% (Sigma). COS7, HT1376, RT-4 y J82 se mantuvieron en medio apropiado y antibióticos. La transfección de COS7 y HEK se realizó usando FUGENE6 (Roche). La célula HEK-A2, un clon estable que expresa la molécula HLA-A*0201, se estableció mediante transfección del plásmido pcDNA6.2-HLA-A2 y se aisló mediante el método de dilución limitante en presencia de 5 mcg/ml de blasticidina S.

Inmunogenicidad de péptidos epitópicos en ratones BALB/c

Para la inducción de los CTLs específicos de péptido, la inmunización se proporcionó usando 100 ml de mezcla de vacuna, que contiene 50 mcl (100 mcg) de péptido restringido por HLA-A24 y 50 mcl de IFA por ratón. La vacuna se inyectó subcutáneamente en el flanco derecho para la primera inmunización en el día 0, y en el flanco izquierdo para la segunda en el día 7. En el día 14, los esplenocitos de los ratones vacunados, sin ninguna estimulación in vitro, se usaron como células respondedoras, y como células estimuladoras para el ensayo ELISPOT de IFN-gamma se usaron las células RLmale1 pulsadas con o sin péptidos.

RESULTADOS

Expresión potenciada de MPHOSPH1 y DEPDC1 en cánceres

Los datos globales del perfil de expresión génica obtenidos de diversos cánceres usando micromatrices de ADNc revelaron que la expresión de MPHOSPH1 (nº de acceso de GenBank NM_016195; SEC ID No. 1) y DEPDC1 (nº de acceso de GenBank BM683578), que tuvo dos variantes: DEPDC1 V1 (SEC ID Nos. 3) y DEPDC1 V2 (SEC ID No.

- 5), era elevada. La expresión de MPHOSPH1 era válidamente elevada en 30 de 31 cánceres de vejiga, 8 de 36 cánceres de mama, 18 de 18 cánceres cervicales, 5 de 17 carcinomas colangiocelulares, 25 de 31 CMLs, 6 de 11 cánceres colorrectales, 6 de 14 cánceres gástricos, 5 de 5 NSCLCs, 7 de 7 linfomas, 6 de 10 osteosarcomas, 7 de 22 cánceres de próstata, 10 de 18 carcinomas renales y 15 de 21 tumores de tejido blando, en comparación con tejido normal correspondiente. La expresión de DEPDC1 era válidamente elevada en 23 de 25 cánceres de vejiga, 6 de 13 cánceres de mama, 12 de 12 cánceres cervicales, 6 de 6 carcinomas colangiocelulares, 3 de 4 CMLs, 2 de 4 cánceres colorrectales, 6 de 6 NSCLCs, 7 de 7 linfomas, 10 de 14 osteosarcomas, 11 de 24 cánceres de próstata, 14 de 14 SCLCs y 22 de 31 tumores de tejido blando, en comparación con tejido normal correspondiente (Tabla 1).

[Tabla 1]

Relación de casos observados de regulación positiva de <i>MPHOSPH1</i> o <i>DEPDC1</i> en tejido canceroso en comparación con tejido normal correspondiente							
	Cáncer de vejiga	Cáncer de mama	Cáncer cervical	Carcinoma colangiocelular	CML	Cáncer colorrectal	Cáncer gástrico
MPHOSPH1	30/31	8/36	18/18	5/17	25/31	6/11	6/14
DEPDC1	23/25	6/13	12/12	6/6	3/4	2/4	-

	NSCLC	Linfoma	Osteosarcoma	Cáncer de próstata	Cáncer renal	SCLC	Tumor de tejido blando
MPHOSPH1	5/5	7/7	6/10	7/22	10/18	-	15/21
DEPDC1	6/6	7/7	10/14	11/24	-	14/14	22/31

10

Predicción de péptidos derivados de MPHOSPH1 o DEPDC1 que se unen a HLA-A24 y HLA-A2

La Tabla 2 expone los péptidos de unión a HLA-A*2402 para MPHOSPH1 en orden de afinidad de unión. La Tabla 2A expone péptidos 9-meros derivados de MPHOSPH1, y la Tabla 2B expone péptidos 10-meros derivados de MPHOSPH1.

- 15 La Tabla 3 expone los péptidos de unión a HLA-A*0201 para MPHOSPH1 en orden de afinidad de unión. La Tabla 3A expone péptidos 9-meros derivados de MPHOSPH1, y la Tabla 3B expone péptidos 10-meros derivados de MPHOSPH1.

- 20 La Tabla 4 expone los péptidos de unión a HLA-A*2402 para DEPDC1 V1 y V2 en orden de afinidad de unión. La Tabla 4A expone péptidos 9-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2, y la Tabla 4B expone péptidos 10-meros derivados de DEPDC1 V1.

La Tabla 5 expone los péptidos de unión de HLA-A*0201 para DEPDC1 V1 y V2. La Tabla 5A expone péptidos 9-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2, y la Tabla 5B expone péptidos 10-meros derivados de DEPDC1 V1 y V2.

[Tabla 2A]

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

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión
278	IYNEYIYDL	7	360	179	LFDSLQERL	29	24
1244	DYADLKEKL	13	316.8	268	KFSVWVSFF	30	20
1319	QYERACKDL	14	300	575	KLLDLIEDL	31	17,28
459	CYLAYDETL	15	300	1577	RFPKPELEI	32	16,5
462	AYDETLNVL	16	288	1414	KYNADRKKW	33	16,5
1054	GYKDENNRL	17	288	1230	RTQNLKADL	34	14,4

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión
236	LYGSLTNSL	18	288	1421	KWLEEKMML	35	14,4
1446	KYAEDRERF	19	240	1617	KSNEMEEDL	36	14,4
899	NYDLAIAEL	20	220	1555	KIEDGSVVL	37	14,4
1118	CYKAKIKEL	21	220	1456	KQQNEMEIL	38	12
57	DYLQVCLRI	22	105	389	KTQNEGERL	39	12
676	KFNQIKAEL	23	92,4	1371	KWKEKCNDL	40	11,52
14	SYVFSADPI	24	75	1122	KIKELETIL	41	11,52
326	AYRLLKLG	25	60	850	FLLTIENEL	42	11,088
255	DYEQANLNM	26	37,5	763	SSLIINNKL	43	11,088
29	NFDGIKLDL	27	28	1400	KLTNLQDEL	44	10,56
286	LFVPVSSKF	28	27,72	133	IMQPVKDLL	45	10,08

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de MPHOSPH1. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 2B]

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

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

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de MPHOSPH1. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 3A]

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

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión
575	KLLDLIEDL	31	1278,29	1184	KLKEEITQL	93	24,677
282	YIYDLFVPV	9	1096,62	888	TLSKEVQQI	94	23,995
298	KMLRLSQDV	67	650,504	280	NEYIYDLFV	95	23,802
218	ALLRQIKEV	68	591,888	552	LLDEDLDKT	96	23,415
850	FLLTIENEL	42	363,588	461	LAYDETLNV	97	21,546
1108	ALSELTQGV	69	285,163	980	NLPNTQLDL	98	21,362
331	KLGIKHQSV	70	243,432	409	TLGKCINVL	99	20,145
1689	TLQKFGDFL	71	218,772	175	TLNVLFDSL	100	19,888
1251	KLTDAAKKQI	72	149,711	923	KLSNEIETA	101	19,596
638	RLAIFKDLV	10	129,506	1389	KEHENNTDV	102	19,407
1467	QLTEKDSDL	73	87,586	987	DLLGNDYLV	103	19,301
1195	NLQDMKHLL	74	87,586	920	KIMKLSNEI	104	18,577
270	SVWVSFFEI	75	83,497	1703	ILQSKAKKI	105	17,736
129	FQGCIMQPV	76	74,608	512	ILNVKRATI	106	17,736
839	VLQENNEGL	77	72,959	1124	KELETILET	107	17,695
1094	TLDVQIQHV	78	63,988	453	IVNISQCYL	108	17,477
1019	AIWEECKEI	79	48,816	771	LICNETVEV	109	16,258
1696	FLQHSPSIL	80	40,289	623	TLLQEREIL	110	15,879
528	DLMEDEDLV	81	38,775	560	TLEENKAFI	111	15,057
406	SLLTLGKCI	82	38,601	1415	YNADRKKWL	112	14,465
1400	KLTNLQDEL	44	36,637	307	KGYSFIKDL	113	13,65
170	GILPRTLNV	83	35,385	133	IMQPVKDLL	45	12,852
171	ILPRTLNVL	84	34,246	1594	KMAVKHPGC	114	12,558
786	KICSERKRV	85	33,472	365	SEMSRVIRV	115	11,509
880	SLSEKKNLT	86	30,553	1191	QLTNNLQDM	116	11,426
944	LMHTKIDEL	87	29,559	871	QIVHFQQEL	117	11,162
1422	WLEEKMMLI	88	28,963	245	NISEFEESI	118	10,951
466	TLNVLFKFA	89	28,814	484	TLNSSQEKL	119	10,468
1539	KLQTEPLST	90	26,082	764	SLIINNCLI	120	10,433
132	CIMQPVKDL	91	24,997	587	LINEKKEKL	121	10,032
1260	KQVQKEVSV	92	24,681				

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de MPHOSPH1. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 3B]

Péptidos 10-meros de unión a HLA-A*0201 derivados de *MPHOSPH1*

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

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de MPHOSPH1. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 4A]

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

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

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de *DEPDC1*. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 4B]

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

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

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de *DEPDC1*. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

5

[Tabla 5A]

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

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión
674	FLMDHHQEI	191	728,022	563	RLCKSTIEL	209	21,362
589	LLQPHLERV	192	133,255	506	QLCRSQSLL	210	21,362
575	SLLPASSML	193	79,041	193	VILIYLQTI	211	20,753
246	WVLSAMKCL	194	73,172	297	ELFVNILVV	212	18,201
619	LLMRMISRM	195	71,872	235	ILQNKSDDL	213	17,795

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión
581	SMLTGTQSL	196	57,085	616	KLQLLMRMI	214	16,797
290	LLTFEYYEL	197	54,474	623	MISRMSQNV	215	16,258
220	YIMYNMANT	198	40,111	72	TIQLLRKFL	216	16,155
283	FLDLPEPLL	199	39,307	421	CSLEGIVDV	217	15,841
787	ALFGDKPTI	200	38,601	303	LVVCGYITV	218	15,519
582	MLTGTQSLL	201	36,316	524	YINTPVAEI	219	15,177
773	LIYQKRFPPT	202	32,33	194	ILIYLTQIL	220	14,89
114	TLPRRYPEL	203	32,044	239	KSDDLPHWV	221	14,333
505	KQLCRSQSL	167	28,049	576	LLPASSMLT	222	12,668
765	KQFQKEYPL	204	28,049	646	MIHTFSRCV	223	12,356
395	IMGGSCHNL	205	26,228	645	LMIHTFSRC	224	11,589
296	YELFVNILV	206	23,018	653	CVLCCAEEV	225	11,034
278	TIADYFLDL	207	22,882	297	ELFVNILGL	226	13,635
601	ALQLCCLLL	208	21,362				

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de DEPDC1. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

[Tabla 5B]

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

Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Puntuación de unión	Posición de partida	Secuencia de aminoácidos	SEC ID NO.	Unión
666	LLAGRLVSFL	227	459,398	575	LLPASSMLT	241	27,572
674	FLMDHHQEIL	228	299,484	296	YELFVNILVV	242	21,706
588	SLLQPHLERV	229	290,025	506	QLCRSQSLLL	243	21,362
302	ILVVCYITV	230	177,358	765	KQFQKEYPLI	244	20,547
291	LTFEYYELFV	231	137,017	682	ILQVPSYLQT	245	19,003
201	ILGVPSLEEV	232	133,255	269	VGFERDVFRT	246	16,735
195	LIYLTQILGV	233	119,657	381	QLVNLRNRRV	247	13,91
688	YLQTAVEKHL	234	98,267	283	FLDLPEPLLT	248	13,712
645	LMIHTFSRCV	235	64,9	395	IMGGSCHNLI	249	12,809
581	SMLTGTQSLL	236	57,085	403	LIGLSNMHDL	250	11,485
622	RMISRMSQNV	237	50,232	773	LIYQKRFPPT	251	10,591
618	QLLMRMISRM	238	42,278	488	TLTVQDQEEL	252	10,468
654	VLCCAEEVDL	239	36,316	224	NMANTSKRGV	253	10,046
644	SLMIHTFSRC	240	34,925	296	YELFVNILGL	254	16,26

505	KQLCRSQSL	187	28,049	301	NILGLLQPHL	255	10,868
-----	-----------	-----	--------	-----	------------	-----	--------

La posición de partida indica el número de aminoácido desde el término N de DEPDCL. La puntuación de unión deriva de "BIMAS" descrita en Materiales y Métodos

Estimulación de las células T usando los péptidos predichos de MPHOSPH1 restringidos con HLA-A*2402

Los CTLs para aquellos péptidos derivados de MPHOSPH1 (SEC ID No: 2) se generaron según los protocolos expuestos en la sección "Materiales y métodos" anterior. Los CTLs resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable, según se evalúa mediante el ensayo ELISPOT de IFN-gamma, se muestran en la Figura 1A y 2A. En la Figura 1A, las células en el pocillo número #4 estimuladas con MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. En la Figura 2A, las células en el pocillo número #8 estimuladas con MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID NO: 8) demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. A continuación, estas células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como se muestra en la Figura 1B (MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7)) y en la Figura 2B (MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID NO: 8)), se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades frente a la diana sin el pulso de péptido.

Los clones de CTL estimulados mediante el MPHOSPH1-A24-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7)) (Figura 3A) y MPHOSPH1-A24-10-278 (IYNEYIYDLF (SEC ID NO: 8)) (Figura 3B) demostraron una potente actividad de CTL específica frente a la diana pulsada con péptido sin mostrar ninguna actividad de CTL específica significativa frente a dianas no pulsadas con ningún péptido. Esto sugiere que el clon de CTL tiene citotoxicidad específica de péptido.

Actividad de CTL específica frente a las células diana que expresan MPHOSPH1

Los clones de CTL establecidos generados frente a estos péptidos se examinaron para determinar su capacidad para reconocer las células diana que expresan de manera endógena MPHOSPH1 y HLA-A*2402. La actividad de CTL específica frente a COS7 transfectadas tanto con el gen MPHOSPH1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402, que es un modelo específico para las células diana que expresan de manera endógena MPHOSPH1 y HLA-A*2402, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de CTL generado por MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7). Como controles, se prepararon COS7 transfectadas con MPHOSPH1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402, y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con MPHOSPH1 de longitud completa. El clon de CTL que tiene la actividad de CTL específica más elevada frente a COS7 fue el transfectado tanto con MPHOSPH1 como con HLA-A24. Sin embargo, no mostró actividad de CTL específica significativa frente a COS7 no transfectadas con MPHOSPH1 ni con HLA-A24 (Figura 4).

Estos resultados demuestran claramente que MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) se expresó de forma natural en la superficie de las células diana con molécula HLA-A24, y fue reconocido por CTL.

Actividad de CTL frente a líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan de manera endógena MPHOSPH1

El clon de CTL establecido que se había generado frente al péptido de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) se examinó para determinar su capacidad de reconocer las células tumorales que expresan de manera endógena MPHOSPH1. La actividad de CTL frente a células HT1376, que expresan de manera endógena MPHOSPH1 y HLA-A24, se sometió a ensayo usando el clon de CTL generado por MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) como células efectoras. Como células diana, se usaron células J82 y células RT-4 que expresan de manera endógena MPHOSPH1 pero que no expresan HLA-A24. El clon de CTL establecido mostró una producción elevada de IFN-gamma frente a células HT1376 que expresan tanto MPHOSPH1 como HLA-A24. Por otro lado, el CTL no mostró actividad de CTL significativa frente a células J82 y RT-4 que expresan MPHOSPH1 pero no HLA-A24 (Figura 5). Demostró claramente que el péptido de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7) se procesó de forma natural hacia la superficie de células tumorales con la molécula HLA-A24 y fue reconocido por CTL.

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

Es sabido que la molécula H-2Kd, una molécula del MHC clase I de ratón, tiene un motivo de anclaje peptídico parecido para la molécula HLA-A24 y reacciona parcialmente de forma cruzada con el péptido restringido por HLA-A24. Los presentes inventores examinaron entonces si el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 induce el CTL in vivo mediante vacunación con este péptido usando ratones BALB/c (H-2Kd). El péptido conjugado con IFA se inyectó subcutáneamente en ratones BALB/c en los días 0 y 7. En el día 14, se recolectaron los esplenocitos y se usaron como las células respondedoras para el ensayo ELISPOT. Los esplenocitos de todos los ratones a los que se les inyectó péptido (Anil-5) mostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con ratones de control, a los que se les inyectó IFA solo (negal-3) (Figura 6). Este dato indicó que el péptido MPHOSPH1-A24-9-278 pudo provocar respuesta de CTL incluso in vivo.

Estimulación de las células T usando los péptidos predichos de MPHOSPH1 restringidos con HLA-A*0201

Los CTLs resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable, según se evalúa mediante ensayo ELISPOT de IFN-gamma, se muestran en la Figura 7. Como se muestra en la Figura 7A, las células en el pocillo nº #1 y #5, estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9)), demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. Como se muestra en la Figura 7B, las células en el pocillo número #8

5 estimuladas con MPHOSPH1-A2-9-638 (RLAIFKDLV (SEC ID NO: 10)) demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. Como se muestra en la Figura 7C, las células en el pocillo número #4 estimuladas con MPHOSPH1-A2-10-1714 (TMSSSKLSNV (SEC ID NO: 11)) demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control.

10 Como se muestra en las figuras 8A (MPHOSPH1-A24-9-282 (SEC ID NO: 9), figura 8B (MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID NO: 10) y figura 8C (MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID NO: 9)), estas células en el pocillo positivo se expandieron, y se establecieron líneas de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades frente a la diana sin el pulso de péptido.

15 Los clones de CTL estimulados mediante el MPHOSPH1-A2-9-282 (YIYDLFVPV (SEC ID NO: 9)) (Figuras 9A y 9B) demostraron una potente actividad de CTL específica frente a la diana pulsada con péptido, sin ninguna actividad de CTL específica significativa frente a dianas no pulsadas con ningún péptido.

Estimulación de las células T usando los péptidos predichos de DEPDC1 restringidos con HLA-A*2402

Los CTL para esos péptidos derivados de DEPDC1 se generaron según el protocolo descrito en la sección "Materiales y métodos", anterior. Los CTL resultantes que tienen actividad de CTL específica detectable, según se evalúa mediante el ensayo ELISPOT de IFN-gamma, se muestran en la Figura 10. Como se muestra en la Figura 10A, las células en el pocillo nº #10 estimuladas con DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12))

20 demostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con el control. En consecuencia, estas células en el pocillo positivo se expandieron, y se llevó a cabo la dilución limitante. Como se muestra en la Figura 10B (DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID nº 12)), se establecieron clones de CTL que tienen mayores actividades de CTL específicas frente a la diana pulsada con péptido en comparación con las actividades frente a la diana sin el pulso de péptido. Los clones de CTL estimulados mediante el DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID nº 12)) (Figura 11)

25 demostraron una potente actividad de CTL específica frente a la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de CTL específica significativa frente a dianas no pulsadas con ningún péptido. Los resultados sugieren que el clon de CTL tiene citotoxicidad específica del péptido.

Actividad de CTL específica frente a las células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A*2402

30 Los clones de CTL establecidos generados contra estos péptidos se examinaron para determinar su capacidad para reconocer las células diana que expresaban de manera endógena DEPDC1 y HLA-A*2402. La actividad de CTL específica frente a COS7 transfectadas tanto con el gen DEPDC1 de longitud completa como con la molécula HLA-A*2402, que sirve como un modelo específico para las células diana que expresan de manera endógena DEPDC1 y HLA-A*2402, se sometió a ensayo usando como células efectoras el clon de CTL generado por DEPDC1-A24-9-294

35 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)). Como controles, se prepararon COS7 transfectadas con DEPDC1 de longitud completa pero no con HLA-A*2402, y COS7 transfectadas con HLA-A*2402 pero no con DEPDC1 de longitud completa. El clon de CTL demostró una elevada actividad de CTL específica frente a COS7 transfectadas tanto con DEPDC1 como con HLA-A24. Sin embargo, no demostró actividad de CTL específica significativa frente a COS7 no transfectadas con DEPDC1 ni con HLA-A24 (Figura 12).

40 Estos resultados demuestran claramente que DEPDC1-A24-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)) es expresado de forma natural hacia la superficie de la célula diana con la molécula HLA-A24, y es reconocido por CTL.

Actividad de CTL frente a líneas celulares de cáncer de vejiga que expresan de manera endógena DEPDC1

El clon de CTL establecido generado contra el péptido DEPDC1-A24-9-294 se examinó para determinar su capacidad para reconocer las células tumorales que expresan de manera endógena DEPDC1. La actividad de CTL

45 frente a células HT1376, que expresan de manera endógena DEPDC1 y HLA-A24, se sometió a ensayo usando el clon de CTL generado por DEPDC1-A24-9-294 como células efectoras. Las células J82 y células RT-4 se usaron como las células diana que expresan de manera endógena DEPDC1 pero que no expresan HLA-A24. El clon de CTL establecido mostró una producción elevada de IFN-gamma frente a células HT1376 que expresan tanto DEPDC1 como HLA-A24. Por otro lado, no mostró actividad de CTL significativa frente a células J82 y RT-4 que expresan DEPDC1 pero no HLA-A24 (Figura 13). Se demuestra claramente que DEPDC1-A24-9-294 se procesó de

50 forma natural hacia la superficie de células tumorales con la molécula HLA-A24, y que es reconocido por CTL.

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

Se ha sabido que la molécula H-2Kd, una molécula del MHC clase I, tiene un motivo de anclaje peptídico similar para la molécula HLA-A24 y reacciona parcialmente de forma cruzada con el péptido restringido por HLA-A24. Los

55 presentes inventores examinaron entonces si el péptido DEPDC1-A24-9-294 induce el CTL in vivo mediante vacunación de este péptido usando ratones BALB/c (H-2Kd). Se inyectó subcutáneamente péptido conjugado con IFA en ratones BALB/c en los días 0 y 7. En el día 14, se recolectaron esplenocitos y se usaron como las células

respondedoras para el ensayo ELISPOT. Los esplenocitos de todos los ratones a los que se les inyectó péptido (Ani1~5) mostraron una potente producción de IFN-gamma en comparación con los ratones de control, a los que se les inyectó IFA solo (nega1, 2) (Figura 14). Este dato indica que el péptido DEPDC1-A24-9-294 pudo provocar respuesta de CTL incluso in vivo.

5 Estimulación de las células T usando los péptidos predichos de DEPDC1 restringidos con HLA-A*0201

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

35 Las líneas de CTL estimuladas mediante el DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAEEV (SEC ID NO: 225)) (Figura 16) mostraron una potente actividad de CTL específica frente a la diana pulsada con péptido, sin mostrar ninguna actividad de CTL específica significativa frente a dianas no pulsadas con ningún péptido. Se demuestra que el clon de CTL tiene la citotoxicidad específica del péptido.

[Tabla 6]

Péptidos candidatos de DEPDC1 restringidos con HLA-A*0201		
nombre del péptido	SEC ID NO.	Pocillo nº
DEPDC1-A02-9-589	192	#6
DEPDC1-A02-9-619	195	#6
DEPDC1-A02-9-290	197	#2
DEPDC1-A02-9-563	209	#5
DEPDC1-A02-9-653	225	#1
DEPDC1-A02-9-653	225	#3
DEPDC1-A02-10-674	228	#1
DEPDC1-A02-10-302	230	#2
DEPDC1-A02-10-302	230	#6

Actividad de CTL específica frente a las células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A*0201

Las líneas de CTL establecidas generadas contra el péptido DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID NO: 225)) se examinaron para determinar su capacidad para reconocer las células diana que expresan de manera endógena DEPDC1 y HLA-A2. En primer lugar, establecimos la línea celular HEK293 que expresó constitutivamente HLA-A*0201 (HEK-A2), para determinar eficientemente la respuesta de CTL específica. La actividad de CTL específica frente a células HEK-A2 transfectadas con la longitud completa del gen DEPDC1, que es un modelo específico para las células diana que expresan DEPDC1 y HLA-A2, se sometió a ensayo usando las líneas de CTL establecidas generadas por DEPDC1-A02-10-296 (YELFVNILGL (SEC ID NO: 254)) y DEPDC1-A02-9-653 (CVLCCAEV (SEC ID NO: 225)) como células efectoras. Para el control negativo, se prepararon HEK-A2 transfectada con vector de expresión simulada y HEK-A2 no pulsada con péptido correspondiente derivado de DEPDC1. Las líneas de CTL establecidas mostraron actividad de CTL específica frente a HEK-A2 transfectada con DEPDC1. Por otro lado, las líneas de CTL no mostraron actividad de CTL específica significativa frente a HEK-A2 transfectada con el vector de expresión simulada y que se había pulsado con el péptido DEPDC1-A02-9-674 o con el péptido DEPDC1-A02-9-462 (Figura 17). Se demostró claramente que los péptidos DEPDC1-A02-10-296 y DEPDC1-A02-9-653 se procesaron de forma natural hacia la superficie de las células diana con la molécula HLA-A2, y fueron reconocidos por CTL.

Análisis de homología de los péptidos antigénicos

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

Estos resultados sugieren que las secuencias de MPHOSPH1-A24-9-278 (SEC ID NO: 7), MPHOSPH1-A24-10-278 (SEC ID NO: 8), MPHOSPH1-A2-9-282 (SEC ID NO: 9), MPHOSPH1-A2-9-638 (SEC ID NO: 10), MPHOSPH1-A2-10-1714 (SEC ID NO: 11), DEPDC1-A24-9-294 (SEC ID NO: 12), DEPDC1-A2-9-589 (SEC ID NO: 192), DEPDC1-A2-9-619 (SEC ID NO: 195), DEPDC1-A2-9-290 (SEC ID NO: 197), DEPDC1-A2-9-563 (SEC ID NO: 209), DEPDC1-A2-9-653 (SEC ID NO: 225), DEPDC1-A2-10-674 (SEC ID NO: 228), DEPDC1-A2-10-302 (SEC ID NO: 230), DEPDC1-A02-10-644 (SEC ID NO: 240), DEPDC1-A02-10-575 (SEC ID NO: 241), DEPDC1-A02-10-506 (SEC ID NO: 243), DEPDC1-A02-10-765 (SEC ID NO: 244), DEPDC1-A02-10-395 (SEC ID NO: 249), DEPDC1-A02-10-224 (SEC ID NO: 253), DEPDC1-A02-9-297 (SEC ID NO: 226), DEPDC1-A02-10-296 (SEC ID NO: 254) y DEPDC1-A02-10-301 (SEC ID NO: 255) son únicas, y de este modo poseen un bajo riesgo de generar respuesta inmunológica no pretendida frente a cualquier molécula no relacionada.

DISCUSIÓN

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

Las tecnologías de micromatrices de ADNc pueden describir perfiles completos de expresión génica de células malignas (Lin YM, et al., Oncogene. 13 de junio de 2002; 21:4120-8.; Kitahara O, et al., Cancer Res. 1 de mayo de 2001; 61:3544-9.; Suzuki C, et al., Cancer Res. 1 de noviembre de 2003; 63:7038-41.; Ashida S, Cancer Res. 1 de septiembre de 2004; 64:5963-72.; Ochi K, et al., Int J Oncol. marzo de 2004; 24(3):647-55.; Kaneta Y, et al., Int J Oncol. septiembre de 2003; 23:681-91.; Obama K, Hepatology, junio de 2005; 41:1339-48.; Kato T, et al., Cancer Res. 1 de julio de 2005; 65:5638-46.; Kitahara O, et al., Neoplasia. julio-agosto de 2002; 4:295-303.; Saito-Hisaminato A et al., DNA Res 2002, 9:35-45.), y encuentran utilidad en la identificación de TAAs potenciales. Entre los transcritos que se encuentran regulados positivamente en diversos cánceres, se identificaron dos nuevos genes humanos, denominados MPHOSPH1 y DEPDC1, respectivamente, usando estas tecnologías.

Como se demuestra anteriormente, MPHOSPH1 y DEPDC1 están sobreexpresados en diversos cánceres pero muestran una expresión mínima en tejidos normales. Además, se ha mostrado que estos genes tienen una función

significativa relacionada con la proliferación celular (véase el documento PCT/JP2006/302684). De este modo, los péptidos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1 pueden servir como epítomos de TAA que, a su vez, se pueden usar para inducir respuestas inmunitarias significativas y específicas frente a células cancerosas.

- 5 De este modo, puesto que MPHOSPH1 y DEPDC1 son nuevos TAAs, las vacunas que usan estos péptidos epítomos encuentran utilidad como sustancias inmunoterapéuticas frente a diversos carcinomas y otras enfermedades que expresan estas moléculas.

EJEMPLO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

Péptidos y adyuvante

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

Expresión antigénica

- 15 Los presentes inventores llevaron a cabo un análisis inmunohistoquímico. Las células tumorales o tejidos tumorales procedentes de cánceres de vejiga que se obtuvieron de cirugía o biopsia se tiñeron con cada anticuerpos policlonal específico de MPHOSPH1 y de DEPDC1. El protocolo de tinción fue el establecido en el Human Genome Center, Institute for Medical Science, the University of Tokyo como se describió previamente (Kanehira M et al. Cancer Res.; 67(7):3276-3285, 2007., Kanehira M et al. Oncogene. 23 de abril de 2007 [publicación electrónica previa a la impresa]). La expresión de HLA-A*2402 se sometió a ensayo en SRL (Tachikawa, Japón).

20 Pacientes enrolados

Los criterios de enrolamiento fueron los siguientes:

1. Pacientes con cáncer de vejiga recurrente no operable previamente tratados con quimioterapia estándar que resultó fallida.
2. Pacientes con un estado funcional 0 o 1 en los criterios japoneses.
- 25 3. Pacientes de 20 años de edad a 80 años de edad.
4. Pacientes con tumor primario o metástasis que se puede reconocer mediante inspección de imágenes (CT/MRI) antes del tratamiento, independientemente de la directriz RECIST.
5. Pacientes con más de 4 semanas después del tratamiento previo (cirugía, quimioterapia, radioterapia, termoterapia, otra inmunoterapia, etc.).
- 30 6. Pacientes con pronóstico esperado de más de 3 meses.
7. Pacientes con función de la médula ósea (WBC de más de 2000, 15000 menos que, placa más de 50000), función hepática (GOT menor que 150, GTP menor que 150, T-bil menor que 3,0), función renal (Cr menor que 3,0).
8. Pacientes con HLA-A*2402.
- 35 9. Tumor de los pacientes con expresión de MPHOSPH1 y/o DEPDC1.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

1. Pacientes embarazadas.
2. Pacientes lactantes.
3. Pacientes con deseo de gestación.
- 40 4. Pacientes con infección incontrolable.
5. Pacientes con necesidad de seguimiento médico durante el periodo de ensayo clínico, administración sistémica de esteroides, administración sistémica de inmunosupresores.
6. Pacientes que el médico o investigador principal considera que no deben incluirse en el ensayo.

Protocolo

5 Los pacientes enrolados con cáncer de vejiga con HLA-A*2402, cuyos tumores expresan fosfoproteína 1 de fase M (MPHOSPH1) y/o dominio DEP que contiene 1 (DEPDC1), se inmunizaron con los péptidos epitópicos restringido por HLA-A*2402 MPHOSPH1-9-278 (IYNEYIYDL (SEC ID NO: 7)) y/o DEPDC1-9-294 (EYYELFVNI (SEC ID NO: 12)). Cada péptido se combinó con 1 ml de adyuvante incompleto de Freund (IFA, (MONTANIDE *ISA51) y se inyectó subcutáneamente en una lesión axilar o inguinal una vez a la semana. Una inyección durante cuatro veces se define como una tanda, y tras 1 tanda para la evaluación inmunológica y clínica, se extrajo sangre y se llevó a cabo CT/MRI.

Evaluación de seguridad

10 La evaluación del efecto adverso se llevó a cabo junto con los criterios de toxicidad comunes del National Cancer Institute, versión 3 (NCI-CTC ver. 3).

Evaluación inmunológica

15 Éste es un criterio de evaluación secundario en este estudio, y confirmamos si la respuesta de CTL específica del péptido se produjo o no. La respuesta de CTL específica se midió según lo siguiente: se recolectaron células mononucleares de sangre periférica, y se reestimularon mediante los péptidos apropiados. La respuesta de CTL se sometió a ensayo en el día 14º mediante el ensayo ELISPOT de IFN-g.

Evaluación de efectos antitumorales

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

RESULTADOS

20 La Tabla 7 muestra el sumario de este ensayo clínico. No hubo efectos secundarios graves, excepto exantema de grado 2 del Caso 3. Se obtuvo una respuesta menor (Caso 3) y una respuesta mixta (Caso 4). La expresión de MPHOSPH1 se produjo en 4 de 5 casos, mientras que la de DEPDC1 se produjo en 5 de 5 casos, respectivamente.

[Tabla 7]

Sumario de este ensayo clínico

Caso	Edad/Sexo	Vacunación	Efecto adv.	DTH	Eval. lesión	Eval.	Estado actual	Expresión del antígeno		CTL
								MPHOSPH1	DEPDC1	
1	79/H	1 tanda	No	No	LN, cerebro	PD	1,8 mes, muerto	o	o	No
2	72/M	en 3 tandas	No	No	Rec. local	SD (4,5 meses)	5,0 meses, vivo	o	o	NT
3	49/H	en 4 tandas	exantema	No	Metást. pulm.	Respuesta menor	3,7 meses, vivo	x	o	Sí
4	74/H	en 2 tandas	No	No	Local	Respuesta menor	1,4 meses, vivo	o	o	NT
5	78/M	en 2 tandas	No	No	Rec. local	SD	1,4 meses, vivo	o	o	NT

NT: no sometido a ensayo

Caso 2

En el Caso 2, se enroló en este ensayo clínico una mujer de 72 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado con fracaso de la quimioterapia estándar. En la figura 18, la expresión antigénica de su tumor reveló que tanto MPHOSPH1 como DEPDC1 estaban fuertemente expresados. Por lo tanto, vacunamos dos tipos de péptidos epitópicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1. El Caso 2 tuvo recurrencia local del cáncer de vejiga. Se evaluó como enfermedad estable (SD) según los criterios RECIST (Figura 19).

Caso 3

En el Caso 3, se enroló en este ensayo clínico un hombre de 49 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado con fracaso de la quimioterapia estándar. Solamente DEPDC1 estaba expresado fuertemente (Figura 20). Por lo tanto, vacunamos el péptido epitópico derivado de DEPDC1 solo. El Caso 3 tuvo múltiples metástasis pulmonares del cáncer de vejiga. En los lóbulos derecho (Figura 21) e izquierdo (Figura 22) de las metástasis pulmonares, la tasa de progresión disminuyó tras la vacunación. Especialmente, el tamaño del tumor disminuyó después de la 3ª tanda. La Figura 23 muestra el efecto antitumoral según los criterios RECIST. Estaba claro que la tasa de progresión del tumor metastásico disminuyó tras la vacunación. Se manifiesta que se obtuvo una respuesta menor mediante la vacunación usando péptido epitópico derivado de DEPDC1. En términos de evaluación inmunológica del Caso 3, la respuesta de CTL específica se midió antes y después de la vacunación. Se observó fuertemente una respuesta de CTL específica tras la vacunación (Figura 24). Se manifiesta claramente que CTL inducido por el péptido epitópico derivado de DEPDC1 puede mostrar efecto antitumoral.

Caso 4

En el Caso 4, se enroló en este ensayo clínico un hombre de 74 años de edad con cáncer de vejiga muy avanzado con fracaso de la quimioterapia estándar. MPHOSPH1 y DEPDC1 se expresaron a partir de este tumor (Figura 25). Por lo tanto, vacunamos dos tipos de péptidos epitópicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1. El Caso 4 tuvo recurrencia local del cáncer de vejiga. Tras 1 tanda de vacunaciones, el tamaño del tumor se redujo 20% según los criterios RECIST (Figura 26). Sin embargo, aparecieron nuevas lesiones metastásicas en el pulmón. Se manifiesta que se obtuvo respuesta mixta mediante la vacunación usando dos tipos de péptidos epitópicos derivados de MPHOSPH1 y DEPDC1.

DISCUSIÓN

A continuación se describe el fundamento de este ensayo clínico:

1. Puesto que MPHOSPH1 y DEPDC1 no se expresan en tejidos normales excepto en los testículos, ambos antígenos son muy específicos de tumores.
2. Se considera que estos péptidos tienen una fuerte inmunogenicidad, puesto que se establecieron CTL potentes y específicos por estos péptidos epitópicos.
3. Hay un 60% de la población japonesa con HLA-A*2402.
4. Estos péptidos son suficientemente estables desde el punto de vista químico para aplicarlos al ensayo clínico.

El fin de este estudio es obtener información clínica de su toxicidad, respuesta inmunológica y actividad antitumoral.

Los efectos adversos previamente dados a conocer del ensayo clínico de vacunas que usan péptidos son síntomas similares a la gripe, tales como fiebre, cefalea y malestar. En casos raros, se ha informado de una reacción radical de la piel con ampollas, considerada como reactividad cruzada transitoria en el sitio de inyección. En este estudio, no hubo efectos adversos graves, excepto exantema de grado 2 en el Caso 3. Este paciente tuvo una historia clínica de exantema durante la quimioterapia. Se manifiesta que este efecto adverso no se origina de esta vacunación, y por lo tanto este protocolo puede ser seguro.

Se llevó a cabo un análisis inmunológico mediante inducción de una respuesta de CTL específica frente a la vacunación. En el Caso 1, no se obtuvo respuesta de CTL específica tras la vacunación (datos no mostrados). En el Caso 3, se obtuvo claramente una respuesta de CTL específica frente a péptido derivado de DEPDC1 tras la 1ª y la 2ª tanda de vacunaciones. En el Caso 3, se obtuvo un efecto antitumoral mediante la vacunación. Se demuestra claramente que este péptido derivado de DEPDC1 mostró efecto antitumoral frente a cáncer de vejiga al inducir CTL específicos.

En el Caso 4, solamente después de la 1ª tanda de vacunaciones, se obtuvo claramente un efecto antitumoral frente a la recurrencia local del cáncer de vejiga. Estas pruebas apoyan fuertemente que estos péptidos epitópicos muestran efecto antitumoral frente a cáncer de vejiga.

En conclusión, estaba claro que esta terapia epitópica era segura, y además mostró un fuerte efectos antitumoral sin efectos secundarios graves.

Aplicabilidad industrial

La presente descripción identifica nuevos TAAs, particularmente aquellos que inducen respuestas inmunitarias antitumorales potentes y específicas. Dichos TAAs justifican el desarrollo posterior como vacunas peptídicas frente a enfermedades asociadas con MPHOSPH1 y/o DEPDC1, por ejemplo cánceres.

- 5 Aunque la descripción se ha descrito con detalle y con referencia a sus realizaciones específicas, se ha de entender que la descripción anterior es de naturaleza ejemplar y explicativa, y está destinada a ilustrar la descripción y sus realizaciones preferidas. Mediante experimentación habitual, un experto en la técnica reconocerá fácilmente que se pueden realizar en ellas diversos cambios y modificaciones sin separarse del espíritu ni del alcance de la descripción. De este modo, la descripción está destinada a estar definida no por la descripción anterior sino por las
- 10 siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

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

- [1] Un péptido aislado que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido deriva de la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 2, 4 o 6.
- 15 [2] Un péptido aislado de menos de alrededor de 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEC ID NO: 7, 8 y 12, o un péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 7, 8 y 12, en la que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos, o añadidos.
- 20 [3] El péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas del apartado 2, en el que el segundo aminoácido desde el término N es fenilalanina, tirosina, metionina, o triptófano.
- [4] El péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas del apartado 2, en el que el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano, o metionina.
- 25 [5] Un péptido aislado de menos de alrededor de 15 aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEC ID NO: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 y 255, o un péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 9, 10, 11, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 230, 240, 241, 243, 244, 253, 254 y 255, en la que 1, 2, o varios aminoácidos están sustituidos, suprimidos, o añadidos.
- 30 [6] El péptido que tiene inducibilidad de linfocitos T citotóxicos del apartado 5, en el que el segundo aminoácido desde el término N es leucina o metionina.
- [7] El péptido que tiene inducibilidad de células T citotóxicas del apartado 5, en el que el aminoácido C-terminal es valina o leucina.
- [8] Un vector en el que el ADN codifica péptidos de uno cualquiera de los apartados 1 a 7.
- 35 [9] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de los genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5, comprendiendo dicha composición uno o más péptidos del apartado 2 o 5.
- [10] La composición farmacéutica del apartado 9, en la que la enfermedad es cáncer.
- 40 [11] La composición farmacéutica del apartado 10, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.
- [12] Un exosoma que presenta sobre su superficie un complejo que comprende un péptido del apartado 2 o 5 y un antígeno HLA.
- [13] El exosoma del apartado 12, en el que el antígeno HLA es HLA-A24.
- 45 [14] El exosoma del apartado 13, en el que el antígeno HLA es HLA-A2402.
- [15] El exosoma del apartado 12, en el que el antígeno HLA es HLA-A2.
- [16] El exosoma del apartado 13, en el que el antígeno HLA es HLA-A0201.
- 50 [17] Un método para inducir células presentadoras de antígeno que tienen una inducibilidad de células T citotóxicas elevada, que comprende la etapa de poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido del apartado 2 o 5.

- [18] Un método para inducir células T citotóxicas poniendo en contacto una célula T con un péptido del apartado 2 o 5.
- 5 [19] Un método para inducir células presentadoras de antígeno que tienen una inducibilidad de células T citotóxicas elevada, comprendiendo dicho método la etapa de transferir un gen que comprende un polinucleótido que codifica un péptido del apartado 2 o 5 a una célula presentadora de antígeno.
- [20] Una célula T citotóxica aislada, que se induce poniendo en contacto una célula T con un péptido de uno cualquiera de los apartados 1 a 8, o que se transduce con los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de las subunidades de TCR que se unen con un péptido de uno cualquiera de los apartados 1 a 8 en el contexto de HLA-A24 o HLA-A2.
- 10 [21] Una célula presentadora de antígeno, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido del apartado 2 o 5.
- [22] La célula presentadora de antígeno del apartado 21, inducida por el método del apartado 17.
- [23] Una vacuna para inhibir la proliferación de células que expresan genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5, en la que la vacuna comprende un péptido del apartado 2 o 5 como ingrediente activo.
- 15 [24] La vacuna del apartado 23, en la que la célula es una célula cancerosa.
- [25] La vacuna del apartado 24, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.
- 20 [26] La vacuna del apartado 23, formulada para la administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A24 o HLA-A2.
- [27] Un método para tratar o prevenir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de los genes de SEC ID NO: 1, 3 y/o 5 en un sujeto, que comprende administrar a dicho sujeto una vacuna que comprende uno o más péptidos del apartado 2 o 5, un fragmento inmunológicamente activo de los mismos, o un polinucleótido que codifica dicho péptido o fragmento inmunológicamente activo.
- 25 [28] El método del apartado 27, en el que la enfermedad es cáncer.
- [29] El método del apartado 28, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 30 <110> ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.
THE UNIVERSITY OF TOKYO
FUJIOKA, Tomoaki
- <120> VACUNAS DE PÉPTIDOS PARA CÁNCERES QUE EXPRESAN LOS POLIPÉPTIDOS MPHOSPH1 O DEPDC1
- 35 <130> ONC-A0618P
<150> US 60/852,575
<151> 2006-10-17
<160> 255
<170> PatentIn version 3.1
- 40 <210> 1
<211> 6319
<212> ADN
<213> Homo sapiens
<220>

<221> CDS

<222> (73)..(5415)

<400> 1

```

attgttttgaa tttgaaaacg gtaacatcgc agtgctgctc gcgggtctgg ctagtcaggc      60
gaagtttgca ga atg gaa tct aat ttt aat caa gag gga gta cct cga cca      111
          Met Glu Ser Asn Phe Asn Gln Glu Gly Val Pro Arg Pro
          1          5          10
tct tat gtt ttt agt gct gac cca att gca agg cct tca gaa ata aat      159
Ser Tyr Val Phe Ser Ala Asp Pro Ile Ala Arg Pro Ser Glu Ile Asn
15          20          25
ttc gat ggc att aag ctt gat ctg tct cat gaa ttt tcc tta gtt gct      207
Phe Asp Gly Ile Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu Val Ala
30          35          40          45
cca aat act gag gca aac agt ttc gaa tct aaa gat tat ctc cag gtt      255
Pro Asn Thr Glu Ala Asn Ser Phe Glu Ser Lys Asp Tyr Leu Gln Val
50          55          60
tgt ctt cga ata aga cca ttt aca cag tca gaa aaa gaa ctt gag tct      303
Cys Leu Arg Ile Arg Pro Phe Thr Gln Ser Glu Lys Glu Leu Glu Ser
65          70          75
gag ggc tgt gtg cat att ctg gat tca cag act gtt gtg ctg aaa gag      351
Glu Gly Cys Val His Ile Leu Asp Ser Gln Thr Val Val Leu Lys Glu
80          85          90
cct caa tgc atc ctt ggt cgg tta agt gaa aaa agc tca ggg cag atg      399
Pro Gln Cys Ile Leu Gly Arg Leu Ser Glu Lys Ser Ser Gly Gln Met
95          100          105
gca cag aaa ttc agt ttt tcc aag gtt ttt ggc cca gca act aca cag      447
Ala Gln Lys Phe Ser Phe Ser Lys Val Phe Gly Pro Ala Thr Thr Gln
110          115          120          125
aag gaa ttc ttt cag ggt tgc att atg caa cca gta aaa gac ctc ttg      495
Lys Glu Phe Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu
130          135          140
aaa gga cag agt cgt ctg att ttt act tac ggg cta acc aat tca gga      543
Lys Gly Gln Ser Arg Leu Ile Phe Thr Tyr Gly Leu Thr Asn Ser Gly

```

ES 2 545 457 T3

145						150						155						
aaa Lys	aca Thr	tat Tyr 160	aca Thr	ttt Phe	caa Gln	ggg Gly	aca Thr 165	gaa Glu	gaa Glu	aat Asn	att Ile	ggc Gly 170	att Ile	ctg Leu	cct Pro	591		
cga Arg	act Thr 175	ttg Leu	aat Asn	gta Val	tta Leu	ttt Phe 180	gat Asp	agt Ser	ctt Leu	caa Gln	gaa Glu 185	aga Arg	ctg Leu	tat Tyr	aca Thr	639		
aag Lys 190	atg Met	aac Asn	ctt Leu	aaa Lys	cca Pro 195	cat His	aga Arg	tcc Ser	aga Arg	gaa Glu 200	tac Tyr	tta Leu	agg Arg	tta Leu	tca Ser 205	687		
tca Ser	gaa Glu	caa Gln	gag Glu	aaa Lys 210	gaa Glu	gaa Glu	att Ile	gct Ala	agc Ser 215	aaa Lys	agt Ser	gca Ala	ttg Leu	ctt Leu 220	cgg Arg	735		
caa Gln	att Ile	aaa Lys	gag Glu 225	gtt Val	act Thr	gtg Val	cat His	aat Asn 230	gat Asp	agt Ser	gat Asp	gat Asp	act Thr 235	ctt Leu	tat Tyr	783		
gga Gly	agt Ser	tta Leu 240	act Thr	aac Asn	tct Ser	ttg Leu	aat Asn 245	atc Ile	tca Ser	gag Glu	ttt Phe	gaa Glu 250	gaa Glu	tcc Ser	ata Ile	831		
aaa Lys	gat Asp 255	tat Tyr	gaa Glu	caa Gln	gcc Ala	aac Asn 260	ttg Leu	aat Asn	atg Met	gct Ala	aat Asn 265	agt Ser	ata Ile	aaa Lys	ttt Phe	879		
tct Ser 270	gtg Val	tggt Trp	gtt Val	tct Ser	ttc Phe 275	ttt Phe	gaa Glu	att Ile	tac Tyr	aat Asn 280	gaa Glu	tat Tyr	att Ile	tat Tyr	gac Asp 285	927		
tta Leu	ttt Phe	gtt Val	cct Pro	gta Val 290	tca Ser	tct Ser	aaa Lys	ttc Phe	caa Gln 295	aag Lys	aga Arg	aag Lys	atg Met	ctg Leu 300	cgc Arg	975		
ctt Leu	tcc Ser	caa Gln	gac Asp 305	gta Val	aag Lys	ggc Gly	tat Tyr	tct Ser 310	ttt Phe	ata Ile	aaa Lys	gat Asp	cta Leu 315	caa Gln	tggt Trp	1023		
att Ile	caa Gln	gta Val 320	tct Ser	gat Asp	tcc Ser	aaa Lys	gaa Glu 325	gcc Ala	tat Tyr	aga Arg	ctt Leu	tta Leu 330	aaa Lys	cta Leu	gga Gly	1071		
ata Ile	aag Lys 335	cac His	cag Gln	agt Ser	gtt Val	gcc Ala 340	ttc Phe	aca Thr	aaa Lys	ttg Leu	aat Asn 345	aat Asn	gct Ala	tcc Ser	agt Ser	1119		
aga Arg 350	agt Ser	cac His	agc Ser	ata Ile	ttc Phe 355	act Thr	gtt Val	aaa Lys	ata Ile	tta Leu 360	cag Gln	att Ile	gaa Glu	gat Asp	tct Ser 365	1167		
gaa Glu	atg Met	tct Ser	cgt Arg	gta Val 370	att Ile	cga Arg	gtc Val	agt Ser	gaa Glu 375	tta Leu	tct Ser	tta Leu	tgt Cys	gat Asp 380	ctt Leu	1215		
gct Ala	ggt Gly	tca Ser	gaa Glu 385	cga Arg	act Thr	atg Met	aag Lys	aca Thr 390	cag Gln	aat Asn	gaa Glu	ggt Gly	gaa Glu 395	agg Arg	tta Leu	1263		
aga Arg	gag Glu	act Thr 400	ggg Gly	aat Asn	atc Ile	aac Asn	act Thr 405	tct Ser	tta Leu	ttg Leu	act Thr	ctg Leu 410	gga Gly	aag Lys	tgt Cys	1311		
att Ile	aac Asn	gtc Val	ttg Leu	aag Lys	aat Asn	agt Ser	gaa Glu	aag Lys	tca Ser	aag Lys	ttt Phe	caa Gln	cag Gln	cat His	gtg Val	1359		

ES 2 545 457 T3

415	420	425	
cct ttc cgg gaa agt Pro Phe Arg Glu Ser 430	aaa ctg act cac tat Lys Leu Thr His Tyr 435	ttt caa agt ttt ttt aat Phe Gln Ser Phe Phe Asn 440 445	1407
ggt aaa ggg aaa att Gly Lys Gly Lys Ile 450	tgt atg att gtc Cys Met Ile Val 455	aat atc agc caa tgt tat tta Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu 460	1455
gcc tat gat gaa aca ctc aat gta ttg aag ttc tcc gcc att gca caa Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile Ala Gln 465 470 475			1503
aaa gtt tgt gtc cca gac act tta aat tcc tct caa gag aaa tta ttt Lys Val Cys Val Pro Asp Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu Phe 480 485 490			1551
gga cct gtc aaa tct tct caa gat gta tca cta gag agt aat tca aac Gly Pro Val Lys Ser Ser Gln Asp Val Ser Leu Asp Ser Asn Ser Asn 495 500 505			1599
agt aaa ata tta aat gta aaa aga gcc acc att tca tgg gaa aat agt Ser Lys Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile Ser Trp Glu Asn Ser 510 515 520 525			1647
cta gaa gat ttg atg gaa gac gag gat ttg gtt gag gag cta gaa aac Leu Glu Asp Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val Glu Glu Leu Glu Asn 530 535 540			1695
gct gaa gaa act caa aat gtg gaa act aaa ctt ctt gat gaa gat cta Ala Glu Glu Thr Gln Asn Val Glu Thr Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu 545 550 555			1743
gat aaa aca tta gag gaa aat aag gct ttc att agc cac gag gag aaa Asp Lys Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile Ser His Glu Glu Lys 560 565 570			1791
aga aaa ctg ttg gac tta ata gaa gac ttg aaa aaa ctg ata aat Arg Lys Leu Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu Lys Lys Lys Leu Ile Asn 575 580 585			1839
gaa aaa aag gaa aaa tta acc ttg gaa ttt aaa att cga gaa gaa gtt Glu Lys Lys Glu Lys Leu Thr Leu Glu Phe Lys Ile Arg Glu Glu Val 590 595 600 605			1887
aca cag gag ttt act cag tat tgg gct caa cgg gaa gct gac ttt aag Thr Gln Glu Phe Thr Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp Phe Lys 610 615 620			1935
gag act ctg ctt caa gaa cga gag ata tta gaa gaa aat gct gaa cgt Glu Thr Leu Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu Glu Glu Asn Ala Glu Arg 625 630 635			1983
cgt ttg gct atc ttc aag gat ttg gtt ggt aaa tgt gac act cga gaa Arg Leu Ala Ile Phe Lys Asp Leu Val Gly Lys Cys Asp Thr Arg Glu 640 645 650			2031
gaa gca gcg aaa gac att tgt gcc aca aaa gtt gaa act gaa gaa gct Glu Ala Ala Lys Asp Ile Cys Ala Thr Lys Val Glu Thr Glu Glu Ala 655 660 665			2079
act gct tgt tta gaa cta aag ttt aat caa att aaa gct gaa tta gct Thr Ala Cys Leu Glu Leu Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu Ala 670 675 680 685			2127
aaa acc aaa gga gaa tta atc aaa acc aaa gaa gag tta aaa aag aga Lys Thr Lys Gly Glu Leu Ile Lys Thr Lys Glu Glu Leu Lys Lys Arg 685			2175

ES 2 545 457 T3

690								695					700					
gaa Glu	aat Asn	gaa Glu	tca Ser 705	gat Asp	tca Ser	ttg Leu	att Ile	caa Gln 710	gag Glu	ctt Leu	gag Glu	aca Thr	tct Ser 715	aat Asn	aag Lys	2223		
aaa Lys	ata Ile	att Ile 720	aca Thr	cag Gln	aat Asn	caa Gln	aga Arg 725	att Ile	aaa Lys	gaa Glu	ttg Leu	ata Ile 730	aat Asn	ata Ile	att Ile	2271		
gat Asp	caa Gln 735	aaa Lys	gaa Glu	gat Asp	act Thr	atc Ile 740	aac Asn	gaa Glu	ttt Phe	cag Gln	aac Asn 745	cta Leu	aag Lys	tct Ser	cat His	2319		
atg Met 750	gaa Glu	aac Asn	aca Thr	ttt Phe	aaa Lys 755	tgc Cys	aat Asn	gac Asp	aag Lys	gct Ala 760	gat Asp	aca Thr	tct Ser	tct Ser	tta Leu 765	2367		
ata Ile	ata Ile	aac Asn	aat Asn	aaa Lys 770	ttg Leu	att Ile	tgt Cys	aat Asn	gaa Glu 775	aca Thr	gtt Val	gaa Glu	gta Val	cct Pro 780	aag Lys	2415		
gac Asp	agc Ser	aaa Lys	tct Ser 785	aaa Lys	atc Ile	tgt Cys	tca Ser	gaa Glu 790	aga Arg	aaa Lys	aga Arg	gta Val	aat Asn 795	gaa Glu	aat Asn	2463		
gaa Glu	ctt Leu	cag Gln 800	caa Gln	gat Asp	gaa Glu	cca Pro	cca Pro 805	gca Ala	aag Lys	aaa Lys	ggg Gly	tct Ser 810	atc Ile	cat His	gtt Val	2511		
agt Ser	tca Ser 815	gct Ala	atc Ile	act Thr	gaa Glu	gac Asp 820	caa Gln	aag Lys	aaa Lys	agt Ser	gaa Glu 825	gaa Glu	gtg Val	cga Arg	ccg Pro	2559		
aac Asn 830	att Ile	gca Ala	gaa Glu	att Ile	gaa Glu 835	gac Asp	atc Ile	aga Arg	gtt Val	tta Leu 840	caa Gln	gaa Glu	aat Asn	aat Asn	gaa Glu 845	2607		
gga Gly	ctg Leu	aga Arg	gca Ala	ttt Phe 850	tta Leu	ctc Leu	act Thr	att Ile	gag Glu 855	aat Asn	gaa Glu	ctt Leu	aaa Lys	aat Asn 860	gaa Glu	2655		
aag Lys	gaa Glu	gaa Glu	aaa Lys 865	gca Ala	gaa Glu	tta Leu	aat Asn	aaa Lys 870	cag Gln	att Ile	gtt Val	cat His	ttt Phe 875	cag Gln	cag Gln	2703		
gaa Glu	ctt Leu	tct Ser 880	ctt Leu	tct Ser	gaa Glu	aaa Lys	aag Lys 885	aat Asn	tta Leu	act Thr	tta Leu	agt Ser 890	aaa Lys	gag Glu	gtc Val	2751		
caa Gln	caa Gln 895	att Ile	cag Gln	tca Ser	aat Asn	tat Tyr 900	gat Asp	att Ile	gca Ala	att Ile	gct Ala 905	gaa Glu	tta Leu	cat His	gtg Val	2799		
cag Gln 910	aaa Lys	agt Ser	aaa Lys	aat Asn	caa Gln 915	gaa Glu	cag Gln	gag Glu	gaa Glu	aag Lys 920	atc Ile	atg Met	aaa Lys	ttg Leu	tca Ser 925	2847		
aat Asn	gag Glu	ata Ile	gaa Glu	act Thr 930	gct Ala	aca Thr	aga Arg	agc Ser	att Ile 935	aca Thr	aat Asn	aat Asn	gtt Val	tca Ser 940	caa Gln	2895		
ata Ile	aaa Lys	tta Leu	atg Met 945	cac His	acg Thr	aaa Lys	ata Ile	gac Asp 950	gaa Glu	cta Leu	cgt Arg	act Thr	ctt Leu 955	gat Asp	tca Ser	2943		
gtt Val	tct Ser	cag Gln	att Ile	tca Ser	aac Asn	ata Ile	gat Asp	ttg Leu	ctc Leu	aat Asn	ctc Leu	agg Arg	gat Asp	ctg Leu	tca Ser	2991		

ES 2 545 457 T3

960	965	970	
aat ggt tct gag gag gat aat ttg cca aat aca cag tta gac ctt tta Asn Gly Ser Glu Glu Asp Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu Leu 975 980 985			3039
ggt aat gat tat ttg gta agt aag caa gtt aaa gaa tat cga att caa Gly Asn Asp Tyr Leu Val Ser Lys Gln Val Lys Glu Tyr Arg Ile Gln 990 995 1000 1005			3087
gaa ccc aat agg gaa aat tct ttc cac tct agt att gaa gct att Glu Pro Asn Arg Glu Asn Ser Phe His Ser Ser Ile Glu Ala Ile 1010 1015 1020			3132
tgg gaa gaa tgt aaa gag att gtg aag gcc tct tcc aaa aaa agt Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile Val Lys Ala Ser Ser Lys Lys Ser 1025 1030 1035			3177
cat cag att gag gaa ctg gaa caa caa att gaa aaa ttg cag gca His Gln Ile Glu Glu Leu Glu Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala 1040 1045 1050			3222
gaa gta aaa ggc tat aag gat gaa aac aat aga cta aag gag aag Glu Val Lys Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu Lys Glu Lys 1055 1060 1065			3267
gag cat aaa aac caa gat gac cta cta aaa gaa aaa gaa act ctt Glu His Lys Asn Gln Asp Asp Leu Leu Lys Glu Lys Glu Thr Leu 1070 1075 1080			3312
ata cag cag ctg aaa gaa gaa ttg caa gaa aaa aat gtt act ctt Ile Gln Gln Leu Lys Glu Glu Leu Gln Glu Lys Asn Val Thr Leu 1085 1090 1095			3357
gat gtt caa ata cag cat gta gtt gaa gga aag aga gcg ctt tca Asp Val Gln Ile Gln His Val Val Glu Gly Lys Arg Ala Leu Ser 1100 1105 1110			3402
gaa ctt aca caa ggt gtt act tgc tat aag gca aaa ata aag gaa Glu Leu Thr Gln Gly Val Thr Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu 1115 1120 1125			3447
ctt gaa aca att tta gag act cag aaa gtt gaa tgt agt cat tca Leu Glu Thr Ile Leu Glu Thr Gln Lys Val Glu Cys Ser His Ser 1130 1135 1140			3492
gcc aag tta gaa caa gac att ttg gaa aag gaa tct atc atc tta Ala Lys Leu Glu Gln Asp Ile Leu Glu Lys Glu Ser Ile Ile Leu 1145 1150 1155			3537
aag cta gaa aga aat ttg aag gaa ttt caa gaa cat ctt cag gat Lys Leu Glu Arg Asn Leu Lys Glu Phe Gln Glu His Leu Gln Asp 1160 1165 1170			3582
tct gtc aaa aac acc aaa gat tta aat gta aag gaa ctc aag ctg Ser Val Lys Asn Thr Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Leu Lys Leu 1175 1180 1185			3627
aaa gaa gaa atc aca cag tta aca aat aat ttg caa gat atg aaa Lys Glu Glu Ile Thr Gln Leu Thr Asn Asn Leu Gln Asp Met Lys 1190 1195 1200			3672
cat tta ctt caa tta aaa gaa gaa gaa gaa gaa acc aac agg caa His Leu Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu Glu Glu Thr Asn Arg Gln 1205 1210 1215			3717
gaa aca gaa aaa ttg aaa gag gaa ctc tct gca agc tct gct cgt Glu Thr Glu Lys Leu Lys Glu Glu Leu Ser Ala Ser Ser Ala Arg			3762

ES 2 545 457 T3

1220	1225	1230	
acc cag aat ctg aaa gca gat ctt cag agg aag gaa gaa gat tat Thr Gln Asn Leu Lys Ala Asp Leu Gln Arg Lys Glu Glu Asp Tyr 1235 1240 1245			3807
gct gac ctg aaa gag aaa ctg act gat gcc aaa aag cag att aag Ala Asp Leu Lys Glu Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile Lys 1250 1255 1260			3852
caa gta cag aaa gag gta tct gta atg cgt gat gag gat aaa tta Gln Val Gln Lys Glu Val Ser Val Met Arg Asp Glu Asp Lys Leu 1265 1270 1275			3897
ctg agg att aaa att aat gaa ctg gag aaa aag aaa aac cag tgt Leu Arg Ile Lys Ile Asn Glu Leu Glu Lys Lys Lys Asn Gln Cys 1280 1285 1290			3942
tct cag gaa tta gat atg aaa cag cga acc att cag caa ctc aag Ser Gln Glu Leu Asp Met Lys Gln Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys 1295 1300 1305			3987
gag cag tta aat aat cag aaa gtg gaa gaa gct ata caa cag tat Glu Gln Leu Asn Asn Gln Lys Val Glu Glu Ala Ile Gln Gln Tyr 1310 1315 1320			4032
gag aga gca tgc aaa gat cta aat gtt aaa gag aaa ata att gaa Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Lys Ile Ile Glu 1325 1330 1335			4077
gac atg cga atg aca cta gaa gaa cag gaa caa act cag gta gaa Asp Met Arg Met Thr Leu Glu Glu Gln Glu Gln Thr Gln Val Glu 1340 1345 1350			4122
cag gat caa gtg ctt gag gct aaa tta gag gaa gtt gaa agg ctg Gln Asp Gln Val Leu Glu Ala Lys Leu Glu Glu Val Glu Arg Leu 1355 1360 1365			4167
gcc aca gaa ttg gaa aaa tgg aag gaa aaa tgc aat gat ttg gaa Ala Thr Glu Leu Glu Lys Trp Lys Glu Lys Cys Asn Asp Leu Glu 1370 1375 1380			4212
acc aaa aac aat caa agg tca aat aaa gaa cat gag aac aac aca Thr Lys Asn Asn Gln Arg Ser Asn Lys Glu His Glu Asn Asn Thr 1385 1390 1395			4257
gat gtg ctt gga aag ctc act aat ctt caa gat gag tta cag gag Asp Val Leu Gly Lys Leu Thr Asn Leu Gln Asp Glu Leu Gln Glu 1400 1405 1410			4302
tct gaa cag aaa tat aat gct gat aga aag aaa tgg tta gaa gaa Ser Glu Gln Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu Glu Glu 1415 1420 1425			4347
aaa atg atg ctt atc act caa gcg aaa gaa gca gag aat ata cga Lys Met Met Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Arg 1430 1435 1440			4392
aat aaa gag atg aaa aaa tat gct gag gac agg gag cgt ttt ttt Asn Lys Glu Met Lys Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe Phe 1445 1450 1455			4437
aag caa cag aat gaa atg gaa ata ctg aca gcc cag ctg aca gag Lys Gln Gln Asn Glu Met Glu Ile Leu Thr Ala Gln Leu Thr Glu 1460 1465 1470			4482
aaa gat agt gac ctt caa aag tgg cga gaa gaa cga gat caa ctg Lys Asp Ser Asp Leu Gln Lys Trp Arg Glu Glu Arg Asp Gln Leu			4527

ES 2 545 457 T3

1475										1480										1485												
ggt	gca	gct	tta	gaa	ata	cag	cta	aaa	gca	ctg	ata	tcc	agt	aat																	4572	
Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Ile	Gln	Leu	Lys	Ala	Leu	Ile	Ser	Ser	Asn																		
				1490					1495					1500																		
gta	cag	aaa	gat	aat	gaa	att	gaa	caa	cta	aaa	agg	atc	ata	tca																	4617	
Val	Gln	Lys	Asp	Asn	Glu	Ile	Glu	Gln	Leu	Lys	Arg	Ile	Ile	Ser																		
				1505					1510					1515																		
gag	act	tct	aaa	ata	gaa	aca	caa	atc	atg	gat	atc	aag	ccc	aaa																	4662	
Glu	Thr	Ser	Lys	Ile	Glu	Thr	Gln	Ile	Met	Asp	Ile	Lys	Pro	Lys																		
				1520					1525					1530																		
cgt	att	agt	tca	gca	gat	cct	gac	aaa	ctt	caa	act	gaa	cct	cta																	4707	
Arg	Ile	Ser	Ser	Ala	Asp	Pro	Asp	Lys	Leu	Gln	Thr	Glu	Pro	Leu																		
				1535					1540					1545																		
tcg	aca	agt	ttt	gaa	att	tcc	aga	aat	aaa	ata	gag	gat	gga	tct																	4752	
Ser	Thr	Ser	Phe	Glu	Ile	Ser	Arg	Asn	Lys	Ile	Glu	Asp	Gly	Ser																		
				1550					1555					1560																		
gta	gtc	ctt	gac	tct	tgt	gaa	gtg	tca	aca	gaa	aat	gat	caa	agc																	4797	
Val	Val	Leu	Asp	Ser	Cys	Glu	Val	Ser	Thr	Glu	Asn	Asp	Gln	Ser																		
				1565					1570					1575																		
act	cga	ttt	cca	aaa	cct	gag	tta	gag	att	caa	ttt	aca	cct	tta																	4842	
Thr	Arg	Phe	Pro	Lys	Pro	Glu	Leu	Glu	Ile	Gln	Phe	Thr	Pro	Leu																		
				1580					1585					1590																		
cag	cca	aac	aaa	atg	gca	gtg	aaa	cac	cct	ggt	tgt	acc	aca	cca																	4887	
Gln	Pro	Asn	Lys	Met	Ala	Val	Lys	His	Pro	Gly	Cys	Thr	Thr	Pro																		
				1595					1600					1605																		
gtg	aca	gtt	aag	att	ccc	aag	gct	cgg	aag	agg	aag	agt	aat	gaa																	4932	
Val	Thr	Val	Lys	Ile	Pro	Lys	Ala	Arg	Lys	Arg	Lys	Ser	Asn	Glu																		
				1610					1615					1620																		
atg	gag	gag	gac	ttg	gtg	aaa	tgt	gaa	aat	aag	aag	aat	gct	aca																	4977	
Met	Glu	Glu	Asp	Leu	Val	Lys	Cys	Glu	Asn	Lys	Lys	Asn	Ala	Thr																		
				1625					1630					1635																		
ccc	aga	act	aat	ttg	aaa	ttt	cct	att	tca	gat	gat	aga	aat	tct																	5022	
Pro	Arg	Thr	Asn	Leu	Lys	Phe	Pro	Ile	Ser	Asp	Asp	Arg	Asn	Ser																		
				1640					1645					1650																		
tct	gtc	aaa	aag	gaa	caa	aag	gtt	gcc	ata	cgt	cca	tca	tct	aag																	5067	
Ser	Val	Lys	Lys	Glu	Gln	Lys	Val	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Ser	Lys																		
				1655					1660					1665																		
aaa	aca	tat	tct	tta	cgg	agt	cag	gca	tcc	ata	att	ggt	gta	aac																	5112	
Lys	Thr	Tyr	Ser	Leu	Arg	Ser	Gln	Ala	Ser	Ile	Ile	Gly	Val	Asn																		
				1670					1675					1680																		
ctg	gcc	act	aag	aaa	aaa	gaa	gga	aca	cta	cag	aaa	ttt	gga	gac																	5157	
Leu	Ala	Thr	Lys	Lys	Lys	Glu	Gly	Thr	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Asp																		
				1685					1690					1695																		
ttc	tta	caa	cat	tct	ccc	tca	att	ctt	caa	tca	aaa	gca	aag	aag																	5202	
Phe	Leu	Gln	His	Ser	Pro	Ser	Ile	Leu	Gln	Ser	Lys	Ala	Lys	Lys																		
				1700					1705					1710																		
ata	att	gaa	aca	atg	agc	tct	tca	aag	ctc	tca	aat	gta	gaa	gca																	5247	
Ile	Ile	Glu	Thr	Met	Ser	Ser	Ser	Lys	Leu	Ser	Asn	Val	Glu	Ala																		
				1715					1720					1725																		
agt	aaa	gaa	aat	gtg	tct	caa	cca	aaa	cga	gcc	aaa	cgg	aaa	tta																	5292	
Ser	Lys	Glu	Asn	Val	Ser	Gln	Pro	Lys	Arg	Ala	Lys	Arg	Lys	Leu																		

ES 2 545 457 T3

```

1730          1735          1740
tac aca agt gaa att tca tct cct att gat ata tca ggc caa gtg 5337
Tyr Thr Ser Glu Ile Ser Ser Pro Ile Asp Ile Ser Gly Gln Val
1745          1750          1755

att tta atg gac cag aaa atg aag gag agt gat cac cag att atc 5382
Ile Leu Met Asp Gln Lys Met Lys Glu Ser Asp His Gln Ile Ile
1760          1765          1770

aaa cga cga ctt cga aca aaa aca gcc aaa taa atcacttatg 5425
Lys Arg Arg Leu Arg Thr Lys Thr Ala Lys
1775          1780

gaaatgttta atataaattt tatagtcata gtcattggaa cttgcatcct gtattgtaaa 5485
tataaatgta tatattatgc attaaatcac tctgcatata gattgctgtt ttatacatag 5545
tataatttta attcaataaa tgagtcaaaa ttgtatatatt ttataaggc tttttataa 5605
tagcttcttt caaactgtat ttcctatta tctcagacat tggatcagtg aagatcctag 5665
gaaagaggct gttattctca tttattttgc tatacaggat gtaataggtc aggtatttgg 5725
tttacttata tttacaatg tcttatgaat ttttttact ttatctgtta tacaactgat 5785
tttacaatc tgtttggatt atagctagga ttggagaat aagtgtgtac agatcacaaa 5845
acatgtatat acattattta gaaaagatct caagtcttta attagaatgt ctacttatt 5905
ttgtaaacat ttgtgggta catagtacat gtatatattt acgggggatg tgagatgttt 5965
tgacacaggc atgcaatgtg aaatacgtgt atcatggaga atgaggatc catccctca 6025
agcatttttc ctttgaatta cagataatcc aattacattc ttagatcat ttaaaaatat 6085
acaagtaagt tattattgat tatagtcact ctattgtgct atcagatagt agatcattct 6145
ttttatctta ttgtttttg tacccattaa ccatcccccac ctcccctgc aaccgtcagt 6205
acccttacca gccactggta accattcttc tactctgtat gccatgagg tcaattgatt 6265
ttatttttag atcccataaa taaatgagaa catgcagtct ttgtcaaaaa aaaa 6319

```

<210> 2

<211> 1780

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

Met Glu Ser Asn Phe Asn Gln Glu Gly Val Pro Arg Pro Ser Tyr Val
1      5      10      15

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

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

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

```

ES 2 545 457 T3

Ile Arg Pro Phe Thr Gln Ser Glu Lys Glu Leu Glu Ser Glu Gly Cys
 65 70 75 80
 Val His Ile Leu Asp Ser Gln Thr Val Val Leu Lys Glu Pro Gln Cys
 85 90 95
 Ile Leu Gly Arg Leu Ser Glu Lys Ser Ser Gly Gln Met Ala Gln Lys
 100 105 110
 Phe Ser Phe Ser Lys Val Phe Gly Pro Ala Thr Thr Gln Lys Glu Phe
 115 120 125
 Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu Lys Gly Gln
 130 135 140
 Ser Arg Leu Ile Phe Thr Tyr Gly Leu Thr Asn Ser Gly Lys Thr Tyr
 145 150 155 160
 Thr Phe Gln Gly Thr Glu Glu Asn Ile Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu
 165 170 175
 Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu Tyr Thr Lys Met Asn
 180 185 190
 Leu Lys Pro His Arg Ser Arg Glu Tyr Leu Arg Leu Ser Ser Glu Gln
 195 200 205
 Glu Lys Glu Glu Ile Ala Ser Lys Ser Ala Leu Leu Arg Gln Ile Lys
 210 215 220
 Glu Val Thr Val His Asn Asp Ser Asp Asp Thr Leu Tyr Gly Ser Leu
 225 230 235 240
 Thr Asn Ser Leu Asn Ile Ser Glu Phe Glu Glu Ser Ile Lys Asp Tyr
 245 250 255
 Glu Gln Ala Asn Leu Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val Trp
 260 265 270
 Val Ser Phe Phe Glu Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val
 275 280 285
 Pro Val Ser Ser Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu Ser Gln
 290 295 300
 Asp Val Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Ser Asp Ser Lys Glu Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile Lys His
 325 330 335

ES 2 545 457 T3

Gln Ser Val Ala Phe Thr Lys Leu Asn Asn Ala Ser Ser Arg Ser His
 340 345 350
 Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile Glu Asp Ser Glu Met Ser
 355 360 365
 Arg Val Ile Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu Cys Asp Leu Ala Gly Ser
 370 375 380
 Glu Arg Thr Met Lys Thr Gln Asn Glu Gly Glu Arg Leu Arg Glu Thr
 385 390 395 400
 Gly Asn Ile Asn Thr Ser Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val
 405 410 415
 Leu Lys Asn Ser Glu Lys Ser Lys Phe Gln Gln His Val Pro Phe Arg
 420 425 430
 Glu Ser Lys Leu Thr His Tyr Phe Gln Ser Phe Phe Asn Gly Lys Gly
 435 440 445
 Lys Ile Cys Met Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu Ala Tyr Asp
 450 455 460
 Glu Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala Ile Ala Gln Lys Val Cys
 465 470 475 480
 Val Pro Asp Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu Phe Gly Pro Val
 485 490 495
 Lys Ser Ser Gln Asp Val Ser Leu Asp Ser Asn Ser Asn Ser Lys Ile
 500 505 510
 Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile Ser Trp Glu Asn Ser Leu Glu Asp
 515 520 525
 Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val Glu Glu Leu Glu Asn Ala Glu Glu
 530 535 540
 Thr Gln Asn Val Glu Thr Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr
 545 550 555 560
 Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile Ser His Glu Glu Lys Arg Lys Leu
 565 570 575
 Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu Lys Lys Lys Leu Ile Asn Glu Lys Lys
 580 585 590
 Glu Lys Leu Thr Leu Glu Phe Lys Ile Arg Glu Glu Val Thr Gln Glu
 595 600 605

ES 2 545 457 T3

Phe Thr Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp Phe Lys Glu Thr Leu
 610 615 620
 Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu Glu Glu Asn Ala Glu Arg Arg Leu Ala
 625 630 635 640
 Ile Phe Lys Asp Leu Val Gly Lys Cys Asp Thr Arg Glu Glu Ala Ala
 645 650 655
 Lys Asp Ile Cys Ala Thr Lys Val Glu Thr Glu Glu Ala Thr Ala Cys
 660 665 670
 Leu Glu Leu Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu Ala Lys Thr Lys
 675 680 685
 Gly Glu Leu Ile Lys Thr Lys Glu Glu Leu Lys Lys Arg Glu Asn Glu
 690 695 700
 Ser Asp Ser Leu Ile Gln Glu Leu Glu Thr Ser Asn Lys Lys Ile Ile
 705 710 715 720
 Thr Gln Asn Gln Arg Ile Lys Glu Leu Ile Asn Ile Ile Asp Gln Lys
 725 730 735
 Glu Asp Thr Ile Asn Glu Phe Gln Asn Leu Lys Ser His Met Glu Asn
 740 745 750
 Thr Phe Lys Cys Asn Asp Lys Ala Asp Thr Ser Ser Leu Ile Ile Asn
 755 760 765
 Asn Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val Pro Lys Asp Ser Lys
 770 775 780
 Ser Lys Ile Cys Ser Glu Arg Lys Arg Val Asn Glu Asn Glu Leu Gln
 785 790 795 800
 Gln Asp Glu Pro Pro Ala Lys Lys Gly Ser Ile His Val Ser Ser Ala
 805 810 815
 Ile Thr Glu Asp Gln Lys Lys Ser Glu Glu Val Arg Pro Asn Ile Ala
 820 825 830
 Glu Ile Glu Asp Ile Arg Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu Arg
 835 840 845
 Ala Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu Lys Asn Glu Lys Glu Glu
 850 855 860
 Lys Ala Glu Leu Asn Lys Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu Ser
 865 870 875 880

ES 2 545 457 T3

Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr Leu Ser Lys Glu Val Gln Gln Ile
 885 890 895
 Gln Ser Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu His Val Gln Lys Ser
 900 905 910
 Lys Asn Gln Glu Gln Glu Glu Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Glu Ile
 915 920 925
 Glu Thr Ala Thr Arg Ser Ile Thr Asn Asn Val Ser Gln Ile Lys Leu
 930 935 940
 Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu Arg Thr Leu Asp Ser Val Ser Gln
 945 950 955 960
 Ile Ser Asn Ile Asp Leu Leu Asn Leu Arg Asp Leu Ser Asn Gly Ser
 965 970 975
 Glu Glu Asp Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu Leu Gly Asn Asp
 980 985 990
 Tyr Leu Val Ser Lys Gln Val Lys Glu Tyr Arg Ile Gln Glu Pro Asn
 995 1000 1005
 Arg Glu Asn Ser Phe His Ser Ser Ile Glu Ala Ile Trp Glu Glu
 1010 1015 1020
 Cys Lys Glu Ile Val Lys Ala Ser Ser Lys Lys Ser His Gln Ile
 1025 1030 1035
 Glu Glu Leu Glu Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala Glu Val Lys
 1040 1045 1050
 Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu Lys Glu Lys Glu His Lys
 1055 1060 1065
 Asn Gln Asp Asp Leu Leu Lys Glu Lys Glu Thr Leu Ile Gln Gln
 1070 1075 1080
 Leu Lys Glu Glu Leu Gln Glu Lys Asn Val Thr Leu Asp Val Gln
 1085 1090 1095
 Ile Gln His Val Val Glu Gly Lys Arg Ala Leu Ser Glu Leu Thr
 1100 1105 1110
 Gln Gly Val Thr Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr
 1115 1120 1125
 Ile Leu Glu Thr Gln Lys Val Glu Cys Ser His Ser Ala Lys Leu
 1130 1135 1140

ES 2 545 457 T3

Glu Gln Asp Ile Leu Glu Lys Glu Ser Ile Ile Leu Lys Leu Glu
 1145 1150 1155
 Arg Asn Leu Lys Glu Phe Gln Glu His Leu Gln Asp Ser Val Lys
 1160 1165 1170
 Asn Thr Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Leu Lys Leu Lys Glu Glu
 1175 1180 1185
 Ile Thr Gln Leu Thr Asn Asn Leu Gln Asp Met Lys His Leu Leu
 1190 1195 1200
 Gln Leu Lys Glu Glu Glu Glu Glu Thr Asn Arg Gln Glu Thr Glu
 1205 1210 1215
 Lys Leu Lys Glu Glu Leu Ser Ala Ser Ser Ala Arg Thr Gln Asn
 1220 1225 1230
 Leu Lys Ala Asp Leu Gln Arg Lys Glu Glu Asp Tyr Ala Asp Leu
 1235 1240 1245
 Lys Glu Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile Lys Gln Val Gln
 1250 1255 1260
 Lys Glu Val Ser Val Met Arg Asp Glu Asp Lys Leu Leu Arg Ile
 1265 1270 1275
 Lys Ile Asn Glu Leu Glu Lys Lys Lys Asn Gln Cys Ser Gln Glu
 1280 1285 1290
 Leu Asp Met Lys Gln Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln Leu
 1295 1300 1305
 Asn Asn Gln Lys Val Glu Glu Ala Ile Gln Gln Tyr Glu Arg Ala
 1310 1315 1320
 Cys Lys Asp Leu Asn Val Lys Glu Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg
 1325 1330 1335
 Met Thr Leu Glu Glu Gln Glu Gln Thr Gln Val Glu Gln Asp Gln
 1340 1345 1350
 Val Leu Glu Ala Lys Leu Glu Glu Val Glu Arg Leu Ala Thr Glu
 1355 1360 1365
 Leu Glu Lys Trp Lys Glu Lys Cys Asn Asp Leu Glu Thr Lys Asn
 1370 1375 1380
 Asn Gln Arg Ser Asn Lys Glu His Glu Asn Asn Thr Asp Val Leu
 1385 1390 1395

ES 2 545 457 T3

Gly Lys Leu Thr Asn Leu Gln Asp Glu Leu Gln Glu Ser Glu Gln
 1400 1405 1410
 Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu Glu Glu Lys Met Met
 1415 1420 1425
 Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Arg Asn Lys Glu
 1430 1435 1440
 Met Lys Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe Phe Lys Gln Gln
 1445 1450 1455
 Asn Glu Met Glu Ile Leu Thr Ala Gln Leu Thr Glu Lys Asp Ser
 1460 1465 1470
 Asp Leu Gln Lys Trp Arg Glu Glu Arg Asp Gln Leu Val Ala Ala
 1475 1480 1485
 Leu Glu Ile Gln Leu Lys Ala Leu Ile Ser Ser Asn Val Gln Lys
 1490 1495 1500
 Asp Asn Glu Ile Glu Gln Leu Lys Arg Ile Ile Ser Glu Thr Ser
 1505 1510 1515
 Lys Ile Glu Thr Gln Ile Met Asp Ile Lys Pro Lys Arg Ile Ser
 1520 1525 1530
 Ser Ala Asp Pro Asp Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr Ser
 1535 1540 1545
 Phe Glu Ile Ser Arg Asn Lys Ile Glu Asp Gly Ser Val Val Leu
 1550 1555 1560
 Asp Ser Cys Glu Val Ser Thr Glu Asn Asp Gln Ser Thr Arg Phe
 1565 1570 1575
 Pro Lys Pro Glu Leu Glu Ile Gln Phe Thr Pro Leu Gln Pro Asn
 1580 1585 1590
 Lys Met Ala Val Lys His Pro Gly Cys Thr Thr Pro Val Thr Val
 1595 1600 1605
 Lys Ile Pro Lys Ala Arg Lys Arg Lys Ser Asn Glu Met Glu Glu
 1610 1615 1620
 Asp Leu Val Lys Cys Glu Asn Lys Lys Asn Ala Thr Pro Arg Thr
 1625 1630 1635
 Asn Leu Lys Phe Pro Ile Ser Asp Asp Arg Asn Ser Ser Val Lys
 1640 1645 1650

Lys Glu Gln Lys Val Ala Ile Arg Pro Ser Ser Lys Lys Thr Tyr
1655 1660 1665

Ser Leu Arg Ser Gln Ala Ser Ile Ile Gly Val Asn Leu Ala Thr
1670 1675 1680

Lys Lys Lys Glu Gly Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu Gln
1685 1690 1695

His Ser Pro Ser Ile Leu Gln Ser Lys Ala Lys Lys Ile Ile Glu
1700 1705 1710

Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val Glu Ala Ser Lys Glu
1715 1720 1725

Asn Val Ser Gln Pro Lys Arg Ala Lys Arg Lys Leu Tyr Thr Ser
1730 1735 1740

Glu Ile Ser Ser Pro Ile Asp Ile Ser Gly Gln Val Ile Leu Met
1745 1750 1755

Asp Gln Lys Met Lys Glu Ser Asp His Gln Ile Ile Lys Arg Arg
1760 1765 1770

Leu Arg Thr Lys Thr Ala Lys
1775 1780

<210> 3

<211> 5318

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (79)..(2511)

<400> 3

gagactcgcc actgccgagg ccgctggggc tgagtgtcgc ctccgccgcc atggacgcca 60

ccgggagctg acagacct atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat 111
Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr
1 5 10

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

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

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

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

10

ES 2 545 457 T3

ttg agg aaa ttt ctt aag aat cat gta att gaa gat atc aaa ggg agg	351
Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg	
80 85 90	
tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctg ttc aga ttt cct	399
Trp Gly Ser Glu Asn Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro	
95 100 105	
gca act tcg cca ctt aaa act cta cca cga agg tat cca gaa ttg aga	447
Ala Thr Ser Pro Leu Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg	
110 115 120	
aaa aac aac ata gag aac ttt tcc aaa gat aaa gat agc att ttt aaa	495
Lys Asn Asn Ile Glu Asn Phe Lys Ser Lys Asp Lys Ser Ile Phe Lys	
125 130 135	
tta cga aac tta tct cgt aga act cct aaa agg cat gga tta cat tta	543
Leu Arg Asn Leu Ser Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu	
140 145 150 155	
tct cag gaa aat ggc gag aaa ata aag cat gaa ata atc aat gaa gat	591
Ser Gln Glu Asn Gly Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp	
160 165 170	
caa gaa aat gca att gat aat aga gaa cta agc cag gaa gat gtt gaa	639
Gln Glu Asn Ala Ile Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu	
175 180 185	
gaa gtt tgg aga tat gtt att ctg atc tac ctg caa acc att tta ggt	687
Glu Val Trp Arg Tyr Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly	
190 195 200	
gtg cca tcc cta gaa gaa gtc ata aat cca aaa caa gta att ccc caa	735
Val Pro Ser Leu Glu Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln	
205 210 215	
tat ata atg tac aac atg gcc aat aca agt aaa cgt gga gta gtt ata	783
Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile	
220 225 230 235	
cta caa aac aaa tca gat gac ctg cct cac tgg gta tta tct gcc atg	831
Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met	
240 245 250	
aag tgc cta gca aat tgg cca aga agc aat gat atg aat aat cca act	879
Lys Cys Leu Ala Asn Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr	
255 260 265	
tat gtt gga ttt gaa cga gat gta ttc aga aca atc gca gat tat ttt	927
Tyr Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe	
270 275 280	
cta gat ctg cct gaa cct cta ctt act ttt gaa tat tac gaa tta ttt	975
Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe	
285 290 295	
gta aac att ttg gtt gtt tgt ggc tac atc aca gtt tca gat aga tcc	1023
Val Asn Ile Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser	
300 305 310 315	
agt ggg ata cat aaa att caa gat gat cca cag tct tca aaa ttc ctt	1071
Ser Gly Ile His Lys Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu	
320 325 330	
cac tta aac aat ttg aat tcc ttc aaa tca act gag tgc ctt ctt ctg	1119
His Leu Asn Asn Leu Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu	
335 340 345	

ES 2 545 457 T3

agt Ser	ctg Leu	ctt Leu	cat His	aga Arg	gaa Glu	aaa Lys	aac Asn	aaa Lys	gaa Glu	gaa Glu	tca Ser	gat Asp	tct Ser	act Thr	gag Glu	1167
	350						355					360				
aga Arg	cta Leu	cag Gln	ata Ile	agc Ser	aat Asn	cca Pro	gga Gly	ttt Phe	caa Gln	gaa Glu	aga Arg	tgt Cys	gct Ala	aag Lys	aaa Lys	1215
	365					370					375					
atg Met	cag Gln	cta Leu	gtt Val	aat Asn	tta Leu	aga Arg	aac Asn	aga Arg	aga Arg	gtg Val	agt Ser	gct Ala	aat Asn	gac Asp	ata Ile	1263
	380				385					390					395	
atg Met	gga Gly	gga Gly	agt Ser	tgt Cys	cat His	aat Asn	tta Leu	ata Ile	ggg Gly	tta Leu	agt Ser	aat Asn	atg Met	cat His	gat Asp	1311
				400					405					410		
cta Leu	tcc Ser	tct Ser	aac Asn	agc Ser	aaa Lys	cca Pro	agg Arg	tgc Cys	tgt Cys	tct Ser	ttg Leu	gaa Glu	gga Gly	att Ile	gta Val	1359
			415					420					425			
gat Asp	gtg Val	cca Pro	ggg Gly	aat Asn	tca Ser	agt Ser	aaa Lys	gag Glu	gca Ala	tcc Ser	agt Ser	gtc Val	ttt Phe	cat His	caa Gln	1407
		430					435					440				
tct Ser	ttt Phe	ccg Pro	aac Asn	ata Ile	gaa Glu	gga Gly	caa Gln	aat Asn	aat Asn	aaa Lys	ctg Leu	ttt Phe	tta Leu	gag Glu	tct Ser	1455
	445					450					455					
aag Lys	ccc Pro	aaa Lys	cag Gln	gaa Glu	ttc Phe	ctg Leu	ttg Leu	aat Asn	ctt Leu	cat His	tca Ser	gag Glu	gaa Glu	aat Asn	att Ile	1503
	460				465					470					475	
caa Gln	aag Lys	cca Pro	ttc Phe	agt Ser	gct Ala	ggt Gly	ttt Phe	aag Lys	aga Thr	acc Thr	tct Ser	act Thr	ttg Leu	act Thr	gtt Val	1551
				480					485					490		
caa Gln	gac Asp	caa Gln	gag Glu	gag Glu	ttg Leu	tgt Cys	aat Asn	ggg Gly	aaa Lys	tgc Cys	aag Lys	tca Ser	aaa Lys	cag Gln	ctt Leu	1599
			495					500					505			
tgt Cys	agg Arg	tct Ser	cag Gln	agt Ser	ttg Leu	ctt Leu	tta Leu	aga Arg	agt Ser	agt Ser	aca Thr	aga Arg	agg Arg	aat Asn	agt Ser	1647
		510					515					520				
tat Tyr	atc Ile	aat Asn	aca Thr	cca Pro	gtg Val	gct Ala	gaa Glu	att Ile	atc Ile	atg Met	aaa Lys	cca Pro	aat Asn	gtt Val	gga Gly	1695
	525					530					535					
caa Gln	ggc Gly	agc Ser	aca Thr	agt Ser	gtg Val	caa Gln	aca Thr	gct Ala	atg Met	gaa Glu	agt Ser	gaa Glu	ctc Leu	gga Gly	gag Glu	1743
	540				545					550					555	
tct Ser	agt Ser	gcc Ala	aca Thr	atc Ile	aat Asn	aaa Lys	aga Arg	ctc Leu	tgc Cys	aaa Lys	agt Ser	aca Thr	ata Ile	gaa Glu	ctt Leu	1791
				560					565					570		
tca Ser	gaa Glu	aat Asn	tct Ser	tta Leu	ctt Leu	cca Pro	gct Ala	tct Ser	tct Ser	atg Met	ttg Leu	act Thr	ggc Gly	aca Thr	caa Gln	1839
			575					580					585			
agc Ser	ttg Leu	ctg Leu	caa Gln	cct Pro	cat His	tta Leu	gag Glu	agg Arg	gtt Val	gcc Ala	atc Ile	gat Asp	gct Ala	cta Leu	cag Gln	1887
		590					595					600				
tta Leu	tgt Cys	tgt Cys	ttg Leu	tta Leu	ctt Leu	ccc Pro	cca Pro	cca Pro	aat Asn	cgt Arg	aga Arg	aag Lys	ctt Leu	caa Gln	ctt Leu	1935
	605					610					615					

tta atg cgt atg att tcc cga atg agt caa aat gtt gat atg ccc aaa Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val Asp Met Pro Lys 620 625 630 635	1983
ctt cat gat gca atg ggt acg agg tca ctg atg ata cat acc ttt tct Leu His Asp Ala Met Gly Thr Arg Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser 640 645 650	2031
cga tgt gtg tta tgc tgt gct gaa gaa gtg gat ctt gat gag ctt ctt Arg Cys Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu Asp Glu Leu Leu 655 660 665	2079
gct gga aga tta gtt tct ttc tta atg gat cat cat cag gaa att ctt Ala Gly Arg Leu Val Ser Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu 670 675 680	2127
caa gta ccc tct tac tta cag act gca gtg gaa aaa cat ctt gac tac Gln Val Pro Ser Tyr Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu Asp Tyr 685 690 695	2175
tta aaa aag gga cat att gaa aat cct gga gat gga cta ttt gct cct Leu Lys Lys Gly His Ile Glu Asn Pro Gly Asp Gly Leu Phe Ala Pro 700 705 710 715	2223
ttg cca act tac tca tac tgt aag cag att agt gct cag gag ttt gat Leu Pro Thr Tyr Ser Tyr Cys Lys Gln Ile Ser Ala Gln Glu Phe Asp 720 725 730	2271
gag caa aaa gtt tct acc tct caa gct gca att gca gaa ctt tta gaa Glu Gln Lys Val Ser Thr Ser Gln Ala Ala Ile Ala Glu Leu Leu Glu 735 740 745	2319
aat att att aaa aac agg agt tta cct cta aag gag aaa aga aaa aaa Asn Ile Ile Lys Asn Arg Ser Leu Pro Leu Lys Glu Lys Arg Lys Lys 750 755 760	2367
cta aaa cag ttt cag aag gaa tat cct ttg ata tat cag aaa aga ttt Leu Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe 765 770 775	2415
cca acc acg gag agt gaa gca gca ctt ttt ggt gac aaa cct aca atc Pro Thr Thr Glu Ser Glu Ala Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile 780 785 790 795	2463
aag caa cca atg ctg att tta aga aaa cca aag ttc cgt agt cta aga Lys Gln Pro Met Leu Ile Leu Arg Lys Pro Lys Phe Arg Ser Leu Arg 800 805 810	2511
taactaactg aattaaat tatgtaatac ttgtggaact ttgataaatg aagccatatac	2571
tgagaatgta gctactcaaa aggaagtctg tcattaataa ggtatttcta aataaacaca	2631
ttatgtaagg aagtgccaaa atagttatca atgtgagact cttaggaaac taactagatc	2691
tcaattgaga gcacataaca atagatgata ccaataactt tttgttttta acacagctat	2751
ccagtaaggc tatcatgatg tgtgctaaaa ttttatttac ttgaattttg aaaactgagc	2811
tgtgttaggg attaaactat aattctgttc ttaaaagaaa atttatctgc aaatgtgcaa	2871
gttctgagat attagctaata gaattagtgt tttgggggtta cttctttgtt tctaagtata	2931
agaatgtgaa gaatattttga aaactcaatg aaataattct cagctgccaa atgttgcaact	2991
cttttatata ttctttttcc acttttgatc tatttatata tatgtatgtg tttttaaaat	3051
atgtgtatat tttatcagat ttggttttgc cttaaatatt atccccaatt gcttcagtca	3111

ES 2 545 457 T3

```

ttcatttgtt cagtatatat attttgaatt ctagttttca taatctatta gaagatggg 3171
atataaaaga agtataaggc aatcatatat tcattcaaaa gatatttatt tagcaactgc 3231
tatgtgcctt tcgttggtcc agatatgcag agacaatgat aaataaaaca tataatctct 3291
tccataaggt atttattttt taatcaaggg agatacacct atcagatgtt taaaataaca 3351
acactaccca ctgaaatcag ggcataataga atcattcagc taaagagtga cttctatgat 3411
gatggaacag gtctctaagc tagtggtttt caaactggta cacattagac tcacccgagg 3471
aattttaaaa cagcctatat gcccagggcc taacttacac taattaaatc tgaattttgg 3531
ggatgttgta tagggattag tatttttttt aatctagggt attccaatat tcagccaact 3591
gtgagaatca atggcctaaa tgctttttat aaacattttt ataagtgta agataatggc 3651
acattgactt tattttttca ttggaagaaa atgcctgcca agtataaatg actctcatct 3711
taaaacaagg ttcttcagggt ttctgcttga ttgacttggg acaaacttga agcaagttgc 3771
cttctaattt ttactccaag attgtttcat atctattcct taagtgtaaa gaaatatata 3831
atgcatgggt tgtaataaaa tcttaatgtt taatgactgt tctcatttct caatgtaatt 3891
tcatactgtt tctctataaa atgatatgat tccatttaac attactgatt tttattaaaa 3951
acctggacag aaaattataa attataaata tgactttatc ctggctataa aattattgaa 4011
ccaaaatgaa ttctttctaa ggcatttgaa tactaaaacg tttattgttt atagatatgt 4071
aaaatgtgga ttatgttgca aattgagatt aaaattatct ggggttttgt aacaatataa 4131
ttttgctttt gtattataga caaatatata aataataaag gcaggcaact ttcatttgca 4191
ctaattgtaca tgcaattgag attacaaaat acatgggtaca atgctttaat aacaaactct 4251
gccagtcagg tttgaatcct actgtgctat taactagcta gtaaactcag acaagttact 4311
taacttctct aagccccagt ttgtttatct ataaaatgaa tattataata gtacctcttt 4371
ttaggattgc gaggattaag caggataatg catgtaaaag gttagcacag tgtctcacat 4431
agaataagca ctctataaat attttactag aatcacctag gattatagca ctagaagaga 4491
tcttagcaaa aatgtggtcc ttctgttggt tttggacaga catgaaccaa aacaaaatta 4551
cggacaattg atgagcctta ttaactatct ttccattatg agacaaagggt tctgattatg 4611
cctactgggt gaaatttttt aatctagtca agaaggaaaa tttgatgagg aaggaaggaa 4671
tggatatctt cagaagggct tcgcctaagc tggaacatgg atagattcca ttctaacata 4731
aagatcttta agttcaaata tagatgagtt gactggtaga tttgggtggt gttgctttct 4791
cgggatataa gaagcaaaat caactgctac aagtaaagag gggatgggga aggtgttgca 4851
catttaaaga gagaaagtgt gaaaaagcct aattgtggga atgcacaggt ttcaccagat 4911
cagatgatgt ctggttattc tgtaaatat agttcttatt ccagaaatta ctgcctccac 4971
catcccta atcttctaat tggatcata taatgacca ctcttcttat gttatccaaa 5031
cagttatgtg gcatttagta atggaatgta catggaattt cccactgact tacctttctg 5091
tccttgggaa gcttaaaact tgaatcttct catctgtaaa atgtgaatta aagtatctac 5151
ctaactgagt tgtgattgta gtgaaagaaa ggcaatatat ttaaactctg aatttagcaa 5211
gcccacgctc gatttttatg tcctttcctc ttgccttgta ttgagtttaa gatctctact 5271
gattaaaact cttttgctat caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 5318

```

<210> 4

<211> 811

5 <212> PRT

ES 2 545 457 T3

<213> Homo sapiens

<400> 4

```

Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr Arg Ala Thr Lys Leu
1      5      10      15
Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys
20      25      30
His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe Thr Ala Gly Glu
35      40      45
Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn Asn Ser Asn Phe Gly
50      55      60
Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu
65      70      75      80
Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg Trp Gly Ser Glu Asn
85      90      95
Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
100     105     110
Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile Glu
115     120     125
Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys Leu Arg Asn Leu Ser
130     135     140
Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu Ser Gln Glu Asn Gly
145     150     155     160
Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp Gln Glu Asn Ala Ile
165     170     175
Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu Glu Val Trp Arg Tyr
180     185     190
Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu
195     200     205
Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln Tyr Ile Met Tyr Asn
210     215     220

```

ES 2 545 457 T3

Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile Leu Gln Asn Lys Ser
 225 230 235 240
 Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu Ala Asn
 245 250 255
 Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr Tyr Val Gly Phe Glu
 260 265 270
 Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu
 275 280 285
 Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 290 295 300
 Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
 305 310 315 320
 Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu
 325 330 335
 Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Arg
 340 345 350
 Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser
 355 360 365
 Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn
 370 375 380
 Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Cys
 385 390 395 400
 His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser
 405 410 415
 Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val Pro Gly Asn
 420 425 430
 Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln Ser Phe Pro Asn Ile
 435 440 445
 Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser Lys Pro Lys Gln Glu
 450 455 460
 Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile Gln Lys Pro Phe Ser
 465 470 475 480
 Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu
 485 490 495

ES 2 545 457 T3

Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser
 500 505 510
 Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser Tyr Ile Asn Thr Pro
 515 520 525
 Val Ala Glu Ile Ile Met Lys Pro Asn Val Gly Gln Gly Ser Thr Ser
 530 535 540
 Val Gln Thr Ala Met Glu Ser Glu Leu Gly Glu Ser Ser Ala Thr Ile
 545 550 555 560
 Asn Lys Arg Leu Cys Lys Ser Thr Ile Glu Leu Ser Glu Asn Ser Leu
 565 570 575
 Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu Gln Pro
 580 585 590
 His Leu Glu Arg Val Ala Ile Asp Ala Leu Gln Leu Cys Cys Leu Leu
 595 600 605
 Leu Pro Pro Pro Asn Arg Arg Lys Leu Gln Leu Leu Met Arg Met Ile
 610 615 620
 Ser Arg Met Ser Gln Asn Val Asp Met Pro Lys Leu His Asp Ala Met
 625 630 635 640
 Gly Thr Arg Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val Leu Cys
 645 650 655
 Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu Asp Glu Leu Leu Ala Gly Arg Leu Val
 660 665 670
 Ser Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile Leu Gln Val Pro Ser Tyr
 675 680 685
 Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu Asp Tyr Leu Lys Lys Gly His
 690 695 700
 Ile Glu Asn Pro Gly Asp Gly Leu Phe Ala Pro Leu Pro Thr Tyr Ser
 705 710 715 720
 Tyr Cys Lys Gln Ile Ser Ala Gln Glu Phe Asp Glu Gln Lys Val Ser
 725 730 735
 Thr Ser Gln Ala Ala Ile Ala Glu Leu Leu Glu Asn Ile Ile Lys Asn
 740 745 750
 Arg Ser Leu Pro Leu Lys Glu Lys Arg Lys Lys Leu Lys Gln Phe Gln
 755 760 765
 Lys Glu Tyr Pro Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr Thr Glu Ser
 770 775 780
 Glu Ala Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile Lys Gln Pro Met Leu
 785 790 795 800
 Ile Leu Arg Lys Pro Lys Phe Arg Ser Leu Arg
 805 810

<210> 5

<211> 8666

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

5 <221> CDS

<222> (79)..(1659)

<400> 5

```

gagactcgcc actgccgcgg ccgctggggc tgagtgtcgc cttcgccgcc atggacgcca      60
ccgggcgctg acagacct atg gag agt cag ggt gtg cct ccc ggg cct tat      111
                        Met Glu Ser Gln Gly Val Pro Pro Gly Pro Tyr
                        1          5          10

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

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

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

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

ttg agg aaa ttt ctt aag aat cat gta att gaa gat atc aaa ggg agg      351
Leu Arg Lys Phe Leu Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg
                        80          85          90

tgg gga tca gaa aat gtt gat gat aac aac cag ctc ttc aga ttt cct      399
Trp Gly Ser Glu Asn Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro
                        95          100          105

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

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

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

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

```

ES 2 545 457 T3

160															165															170														
caa	gaa	aat	gca	att	gat	aat	aga	gaa	cta	agc	cag	gaa	gat	ggt	gaa	639																												
Gln	Glu	Asn	Ala	Ile	Asp	Asn	Arg	Glu	Leu	Ser	Gln	Glu	Asp	Val	Glu																													
			175					180					185																															
gaa	ggt	tgg	aga	tat	ggt	att	ctg	atc	tac	ctg	caa	acc	att	tta	ggt	687																												
Glu	Val	Trp	Arg	Tyr	Val	Ile	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gln	Thr	Ile	Leu	Gly																													
		190					195					200																																
gtg	cca	tcc	cta	gaa	gaa	gtc	ata	aat	cca	aaa	caa	gta	att	ccc	caa	735																												
Val	Pro	Ser	Leu	Glu	Glu	Val	Ile	Asn	Pro	Lys	Gln	Val	Ile	Pro	Gln																													
		205				210					215																																	
tat	ata	atg	tac	aac	atg	gcc	aat	aca	agt	aaa	cgt	gga	gta	ggt	ata	783																												
Tyr	Ile	Met	Tyr	Asn	Met	Ala	Asn	Thr	Ser	Lys	Arg	Gly	Val	Val	Ile																													
		220			225					230					235																													
cta	caa	aac	aaa	tca	gat	gac	ctc	cct	cac	tgg	gta	tta	tct	gcc	atg	831																												
Leu	Gln	Asn	Lys	Ser	Asp	Asp	Leu	Pro	His	Trp	Val	Leu	Ser	Ala	Met																													
				240					245					250																														
aag	tgc	cta	gca	aat	tgg	cca	aga	agc	aat	gat	atg	aat	aat	cca	act	879																												
Lys	Cys	Leu	Ala	Asn	Trp	Pro	Arg	Ser	Asn	Asp	Met	Asn	Asn	Pro	Thr																													
			255					260				265																																
tat	ggt	gga	ttt	gaa	cga	gat	gta	ttc	aga	aca	atc	gca	gat	tat	ttt	927																												
Tyr	Val	Gly	Phe	Glu	Arg	Asp	Val	Phe	Arg	Thr	Ile	Ala	Asp	Tyr	Phe																													
		270				275						280																																
cta	gat	ctc	cct	gaa	cct	cta	ctt	act	ttt	gaa	tat	tac	gaa	tta	ttt	975																												
Leu	Asp	Leu	Pro	Glu	Pro	Leu	Leu	Thr	Phe	Glu	Tyr	Tyr	Glu	Leu	Phe																													
		285			290					295																																		
gta	aac	att	ttg	ggt	ggt	tgt	ggc	tac	atc	aca	ggt	tca	gat	aga	tcc	1023																												
Val	Asn	Ile	Leu	Val	Val	Cys	Gly	Tyr	Ile	Thr	Val	Ser	Asp	Arg	Ser																													
		300			305				310					315																														
agt	ggg	ata	cat	aaa	att	caa	gat	gat	cca	cag	tct	tca	aaa	ttc	ctt	1071																												
Ser	Gly	Ile	His	Lys	Ile	Gln	Asp	Asp	Pro	Gln	Ser	Ser	Lys	Phe	Leu																													
				320					325					330																														
cac	tta	aac	aat	ttg	aat	tcc	ttc	aaa	tca	act	gag	tgc	ctt	ctt	ctc	1119																												
His	Leu	Asn	Asn	Leu	Asn	Ser	Phe	Lys	Ser	Thr	Glu	Cys	Leu	Leu	Leu																													
			335					340					345																															
agt	ctg	ctt	cat	aga	gaa	aaa	aac	aaa	gaa	gaa	tca	gat	tct	act	gag	1167																												
Ser	Leu	Leu	His	Arg	Glu	Lys	Asn	Lys	Glu	Glu	Ser	Asp	Ser	Thr	Glu																													
		350				355						360																																
aga	cta	cag	ata	agc	aat	cca	gga	ttt	caa	gaa	aga	tgt	gct	aag	aaa	1215																												
Arg	Leu	Gln	Ile	Ser	Asn	Pro	Gly	Phe	Gln	Glu	Arg	Cys	Ala	Lys	Lys																													
		365				370					375																																	
atg	cag	cta	ggt	aat	tta	aga	aac	aga	aga	gtg	agt	gct	aat	gac	ata	1263																												
Met	Gln	Leu	Val	Asn	Leu	Arg	Asn	Arg	Arg	Val	Ser	Ala	Asn	Asp	Ile																													
		380			385					390					395																													
atg	gga	gga	agt	tgt	cat	aat	tta	ata	ggg	tta	agt	aat	atg	cat	gat	1311																												
Met	Gly	Gly	Ser	Cys	His	Asn	Leu	Ile	Gly	Leu	Ser	Asn	Met	His	Asp																													
				400					405					410																														
cta	tcc	tct	aac	agc	aaa	cca	agg	tgc	tgt	tct	ttg	gaa	gga	att	gta	1359																												
Leu	Ser	Ser	Asn	Ser	Lys	Pro	Arg	Cys	Cys	Ser	Leu	Glu	Gly	Ile	Val																													
			415					420					425																															
gat	gtg	cca	ggg	aat	tca	agt	aaa	gag	gca	tcc	agt	gtc	ttt	cat	caa	1407																												
Asp	Val	Pro	Gly	Asn	Ser	Ser	Lys	Glu	Ala	Ser	Ser	Val	Phe	His	Gln																													

ES 2 545 457 T3

430	435	440	
tct ttt ccg aac ata gaa gga caa aat aat aaa ctg ttt tta gag tct Ser Phe Pro Asn Ile Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser 445 450 455			1455
aag ccc aaa cag gaa ttc ctg ttg aat ctt cat tca gag gaa aat att Lys Pro Lys Gln Glu Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile 460 465 470 475			1503
caa aag cca ttc agt gct ggt ttt aag aga acc tct act ttg act gtt Gln Lys Pro Phe Ser Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val 480 485 490			1551
caa gac caa gag gag ttg tgt aat ggg aaa tgc aag tca aaa cag ctt Gln Asp Gln Glu Glu Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu 495 500 505			1599
tgt agg tct cag agt ttg ctt tta aga agt agt aca aga agg aat agt Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser 510 515 520			1647
tat atc aat aca ccagtggctg aaattatcat gaaaccaaatt gttggacaag Tyr Ile Asn Thr 525			1699
gcagcacaag tgtgcaaaca gctatggaaa gtgaactcgg agagtctagt gccacaatca			1759
ataaaagact ctgcaaaagt acaatagaac tttcagaaaa ttctttactt ccagcttctt			1819
ctatgttgac tggcacacaa agcttgctgc aacctcattt agagaggggt gccatcgatg			1879
ctctacagtt atgttgtttg ttacttcccc caccaaactg tagaaagctt caacttttaa			1939
tgcgtatgat ttcccgaatg agtcaaaatg ttgatatgcc caaacttcat gatgcaatgg			1999
gtacgaggtc actgatgata catacctttt ctcatgtgt gttatgctgt gctgaagaag			2059
tggatcttga tgagcttctt gctggaagat tagtttcttt cttaatggat catcatcagg			2119
aaattcttca agtaccctct tacttacaga ctgcagtgga aaaacatctt gactacttaa			2179
aaaaggagaca tattgaaaat cctggagatg gactatttgc tcctttgcca acttactcat			2239
actgtaagca gattagtgtc caggagtgtg atgagcaaaa agtttctacc tctcaagctg			2299
caattgcaga acttttagaa aatattatta aaaacaggag tttacctcta aaggagaaaa			2359
gaaaaaaact aaaacagttt cagaaggaat atcctttgat atatcagaaa agatttccaa			2419
ccacggagag tgaagcagca ctttttggtg acaaacctac aatcaagcaa ccaatgctga			2479
ttttaagaaa accaaagtgc cgtagtctaa gataactaac tgaattaaaa attatgtaat			2539
acttgtggaa ctttgataaa tgaagccata tctgagaatg tagctactca aaaggaagtc			2599
tgtcattaat aagggtatttc taaataaaca cattatgtaa ggaagtgcc aaatagttat			2659
caatgtgaga ctcttaggaa actaactaga tctcaattga gagcacataa caatagatga			2719
taccaaatac tttttgtttt taacacagct atccagtaag gctatcatga tgtgtgctaa			2779
aattttattt acttgaattt tgaaaactga gctgtgttag ggattaaact ataattctgt			2839
tcttaaaaga aaatttatct gcaaatgtgc aagttctgag atattagcta atgaattagt			2899
tgtttggggt tacttctttg tttctaagta taagaatgtg aagaatattt gaaaactcaa			2959

tgaaataatt	ctcagctgcc	aaatggttgc	ctctttttata	tattcttttt	ccacttttga	3019
tctatttata	tatatgtatg	tgtttttaaa	atatgtgtat	attttatcag	atttggtttt	3079
gccttaata	ttatcccaa	ttgcttcagt	cattcatttg	ttcagtatat	atattttgaa	3139
ttctagtttt	cataatctat	tagaagatgg	ggatataaaa	gaagtataag	gcaatcatat	3199
attcattcaa	aagatattta	tttagcaact	gctatgtgcc	tttcgttggt	ccagatatgc	3259
agagacaatg	ataaataaaa	catataatct	cttcataaag	gtattttatt	tttaatcaag	3319
ggagatacac	ctatcagatg	tttaaaataa	caacactacc	cactgaaatc	agggcatata	3379
gaatcattca	gctaaagagt	gacttctatg	atgatggaac	aggtctctaa	gctagtgggt	3439
ttcaaactgg	tacacattag	actcaccgga	ggaattttta	aacagcctat	atgcccaggg	3499
cctaacttac	actaattaaa	tctgaatttt	ggggatgttg	tatagggatt	agtatttttt	3559
ttaatctagg	tgattccaat	attcagccaa	ctgtgagaat	caatggccta	aatgcttttt	3619
ataaacattt	ttataagtgt	caagataatg	gcacattgac	tttatttttt	cattggaaga	3679
aaatgcctgc	caagtataaa	tgactctcat	cttaaaacaa	ggttcttcag	gtttctgctt	3739
gattgacttg	gtacaaactt	gaagcaagtt	gccttcta	tttactcca	agattgtttc	3799
atatctattc	cttaagtgtg	aagaaatata	taatgcatgg	tttgaataa	aatcttaatg	3859
tttaatgact	gttctcattt	ctcaatgtaa	tttcatactg	tttctctata	aaatgatagt	3919
attccattta	acattactga	tttttattaa	aaacctggac	agaaaattat	aaattataaa	3979
tatgacttta	tcttggtat	aaaattattg	aaccaaaatg	aattctttct	aaggcatttg	4039
aatactaaaa	cgtttattgt	ttatagatat	gtaaaatgtg	gattatgttg	caaattgaga	4099
ttaaaattat	ttggggtttt	gtaacaatat	aattttgctt	ttgtattata	gacaaatata	4159
taaataataa	aggcaggcaa	ctttcatttg	cactaatgta	cgagactcgc	cactgccgcg	4219
gccgctgggc	ctgagtgtcg	ccttcgccgc	catggacgcc	accgggcgct	gacagaccta	4279
tggagagtca	gggtgtgctt	cccgggcctt	atcgggccac	caagctgtgg	aatgaagtta	4339
ccacatcttt	tcgagcagga	atgcctctaa	gaaaacacag	acaacacttt	aaaaaatatg	4399
gcaattgttt	cacagcagga	gaagcagtg	attggcttta	tgacctatta	agaaataata	4459
gcaattttgg	tctgaagtt	acaaggcaac	agactatcca	actgttgagg	aaatttctta	4519
agaatcatgt	aattgaagat	atcaaaggga	ggtggggatc	agaaaatggt	gatgataaca	4579
accagctctt	cagatttcct	gcaacttcgc	cacttaaaac	tctaccacga	aggtatccag	4639
aattgagaaa	aaacaacata	gagaactttt	ccaaagataa	agatagcatt	tttaaattac	4699
gaaacttata	tcgtagaact	cctaaaaggc	atggattaca	tttatctcag	gaaaatggcg	4759
agaaaataaa	gcatgaaata	atcaatgaag	atcaagaaaa	tgcaattgat	aatagagaac	4819
taagccagga	agatgttgaa	gaagtttgga	gatatgttat	tctgatctac	ctgcaaacca	4879
ttttaggtgt	gccatcccta	gaagaagtca	taaatccaaa	acaagtaatt	ccccaatata	4939
taatgtacaa	catggccaat	acaagtaaac	gtggagtagt	tatactacaa	aacaaatcag	4999

atgacctccc tcaactgggta ttatctgccca tgaagtgcct agcaaattgg ccaagaagca 5059
 atgatatgaa raatccaact tatgttggat ttgaacgaga tgtattcaga acaatcgag 5119
 attattttct agatctccct gaacctctac ttacttttga atattacgaa ttatttgtaa 5179
 acattttggg cttgctgcaa cctcatttag agaggggtgc catcgatgct ctacagttat 5239
 gttgtttgtt acttccccca ccaaatcgta gaaagcttca acttttaatg cgtatgattt 5299
 cccgaatgag tcaaaatggt gatatgccca aacttcatga tgcaatgggt acgaggtcac 5359
 tgatgataca taccttttct cgatgtgtgt tatgctgtgc tgaagaagtg gatcttgatg 5419
 agcttcttgc tggagatta gtttctttct taatggatca tcatcaggaa attcttcaag 5479
 taccctctta cttacagact gcagtggaaa aacatcttga ctacttaaaa aaggacata 5539
 ttgaaaatcc tggagatgga ctatttgctc ctttgccaac ttactcatac tgtaagcaga 5599
 ttagtgctca ggagtttgat gagcaaaaag tttctacctc tcaagctgca attgcagaac 5659
 ttttagaaaa tattattaaa aacaggagtt tacctctaaa ggagaaaaga aaaaaactaa 5719
 aacagtttca gaaggaatat ctttgatat atcagaaaag atttccaacc acggagagtg 5779
 aagcagcact ttttggtgac aaacctacaa tcaagcaacc aatgctgatt ttaagaaaac 5839
 caaagtccg tagtctaaga taactaactg aattaaaaat tatgtaatac ttgtggaact 5899
 ttgataaatg aagccatata tgagaatgta gctactcaaa aggaagtctg tcattaataa 5959
 ggtattttcta aataaacaca ttatgtaagg aagtgccaaa atagttatca atgtgagact 6019
 cttaggaac taactagatc tcaattgaga gcacataaca atagatgata ccaaatactt 6079
 tttgttttta acacagctat ccagtaaggc tatcatgatg tgtgctaaaa ttttatttac 6139
 ttgaattttg aaaactgagc tgtgttaggg attaaactat aattctgttc ttaaaagaaa 6199
 atttatctgc aaatgtgcaa gttctgagat attagctaag gaattagttg tttggggtta 6259
 cttctttgtt tctaagtata agaattgtga gaattttga aaactcaatg aaataattct 6319
 cagctgccaa atgttgcaact cttttatata ttctttttcc acttttgatc tttttatata 6379
 tatgtatgtg tttttaaaat atgtgtatat ttatcagat ttggttttgc cttaaattat 6439
 atccccaatt gcttcagtc ttcatttgtt cagtatatat attttgaatt ctagttttca 6499
 taatctatta gaagatgggg atataaaaga agtataaggc aatcatatat tcattcaaaa 6559
 gatattttatt tagcaactgc tatgtgcctt tcgttggtcc agatatgcag agacaatgat 6619
 aaataaaaca tataatctct tccataagggt atttattttt taatcaaggg agatacacct 6679
 atcagatgtt taaaataaca aactaccca ctgaaatcag ggcataataga atcattcagc 6739
 taaagagtga cttctatgat gatggaacag gtctctaagc tagtggtttt caaactggta 6799
 cacattagac tcacccgagg aattttaaaa cagcctatat gccagggcc taacttacac 6859
 taattaaatc tgaatttttg ggatgttgta tagggattag tttttttttt aatctaggtg 6919
 attccaatat tcagccaact gtgagaatca atggcctaaa tgctttttat aaacattttt 6979
 ataagtgtca agataatggc acattgactt ttttttttca ttggaagaaa atgcctgcca 7039

ES 2 545 457 T3

```

agtataaatg actctcatct taaaacaagg ttcttcaggt ttctgcttga ttgacttggt 7099
acaaacttga agcaagttgc cttctaattt ttactccaag attgtttcat atctattcct 7159
taagtgtaaa gaaatatata atgcatgggt tgtaataaaa tcttaatgtt taatgactgt 7219
tctcatttct caatgtaatt tcatactggt tctctataaa atgatagtat tccatttaac 7279
attactgatt ttattataaa acctggacag aaaattataa attataaata tgactttatc 7339
ctggctataa aattattgaa ccaaaatgaa ttctttctaa ggcatttgaa tactaaaacg 7399
tttattgttt atagatatgt aaaatgtgga ttatgttgca aattgagatt aaaattatct 7459
gggggtttgt aacaatataa ttttgctttt gtattataga caaatatata aataataaag 7519
gcaggcaact ttcatttgca ctaatgtaca tgcaattgag attacaaaat acatggtaca 7579
atgctttaat aacaaactct gccagtcagg tttgaatcct actgtgctat taactagcta 7639
gtaaactcag acaagttact taacttctct aagccccagt tttgttatct ataaaaatgaa 7699
tattataata gtacctcttt ttaggattgc gaggattaag caggataatg catgtaaagt 7759
gttagcacag tgtctcacat agaataagca ctctataaat attttactag aatcacctag 7819
gattatagca ctagaagaga tcttagcaaa aatgtggtcc tttctgttgc ttgggacaga 7879
catgaaccaa aacaaaatta cggacaattg atgagcctta ttaactatct tttcattatg 7939
agacaaagggt tctgattatg cctactgggt gaaatctttt aatctagtca agaaggaaaa 7999
tttgatgagg aaggaaggaa tggatatctt cagaagggct tcgcctaagc tggaacatgg 8059
atagattcca ttctaacata aagatcttta agttcaaata tagatgagtt gactggtaga 8119
tttgggtgga gttgctttct cgggatataa gaagcaaaat caactgctac aagtaaagag 8179
gggatgggga aggtgttgca catttaaaga gagaaagtgt gaaaaagcct aattgtggga 8239
atgcacaggt ttcaccagat cagatgatgt ctggttatct tgtaaattat agttcttatc 8299
ccagaaatta ctgcctccac catccctaatt atcttctaatt tggtatcata taatgaccca 8359
ctcttcttat gttatccaaa cagttatgtg gcatttagta atggaatgta catggaattt 8419
cccactgact tacctttctg tccttgggaa gcttaaaact tgaatcttct catctgtaaa 8479
atgtgaatta aagtatctac ctaactgagt tgtgattgta gtgaaagaaa ggcaatatat 8539
ttaaactctg aatttagcaa gccacgctc gatctttatg tcctttcctc ttgccttgta 8599
ttgagtttaa gatctctact gattaaaact cttttgctat caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 8659
aaaaaaaa 8666

```

<210> 6

<211> 527

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

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

ES 2 545 457 T3

Trp Asn Glu Val Thr Thr Ser Phe Arg Ala Gly Met Pro Leu Arg Lys
 20 25 30
 His Arg Gln His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe Thr Ala Gly Glu
 35 40 45
 Ala Val Asp Trp Leu Tyr Asp Leu Leu Arg Asn Asn Ser Asn Phe Gly
 50 55 60
 Pro Glu Val Thr Arg Gln Gln Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Asn His Val Ile Glu Asp Ile Lys Gly Arg Trp Gly Ser Glu Asn
 85 90 95
 Val Asp Asp Asn Asn Gln Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
 100 105 110
 Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile Glu
 115 120 125
 Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe Lys Leu Arg Asn Leu Ser
 130 135 140
 Arg Arg Thr Pro Lys Arg His Gly Leu His Leu Ser Gln Glu Asn Gly
 145 150 155 160
 Glu Lys Ile Lys His Glu Ile Ile Asn Glu Asp Gln Glu Asn Ala Ile
 165 170 175
 Asp Asn Arg Glu Leu Ser Gln Glu Asp Val Glu Glu Val Trp Arg Tyr
 180 185 190
 Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu
 195 200 205
 Glu Val Ile Asn Pro Lys Gln Val Ile Pro Gln Tyr Ile Met Tyr Asn
 210 215 220
 Met Ala Asn Thr Ser Lys Arg Gly Val Val Ile Leu Gln Asn Lys Ser
 225 230 235 240
 Asp Asp Leu Pro His Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu Ala Asn
 245 250 255
 Trp Pro Arg Ser Asn Asp Met Asn Asn Pro Thr Tyr Val Gly Phe Glu
 260 265 270
 Arg Asp Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu
 275 280 285

ES 2 545 457 T3

Pro Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
290 295 300

Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser Ser Gly Ile His Lys
305 310 315 320

Ile Gln Asp Asp Pro Gln Ser Ser Lys Phe Leu His Leu Asn Asn Leu
325 330 335

Asn Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Ser Leu Leu His Arg
340 345 350

Glu Lys Asn Lys Glu Glu Ser Asp Ser Thr Glu Arg Leu Gln Ile Ser
355 360 365

Asn Pro Gly Phe Gln Glu Arg Cys Ala Lys Lys Met Gln Leu Val Asn
370 375 380

Leu Arg Asn Arg Arg Val Ser Ala Asn Asp Ile Met Gly Gly Ser Cys
385 390 395 400

His Asn Leu Ile Gly Leu Ser Asn Met His Asp Leu Ser Ser Asn Ser
405 410 415

Lys Pro Arg Cys Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val Pro Gly Asn
420 425 430

Ser Ser Lys Glu Ala Ser Ser Val Phe His Gln Ser Phe Pro Asn Ile
435 440 445

Glu Gly Gln Asn Asn Lys Leu Phe Leu Glu Ser Lys Pro Lys Gln Glu
450 455 460

Phe Leu Leu Asn Leu His Ser Glu Glu Asn Ile Gln Lys Pro Phe Ser
465 470 475 480

Ala Gly Phe Lys Arg Thr Ser Thr Leu Thr Val Gln Asp Gln Glu Glu
485 490 495

Leu Cys Asn Gly Lys Cys Lys Ser Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser
500 505 510

Leu Leu Leu Arg Ser Ser Thr Arg Arg Asn Ser Tyr Ile Asn Thr
515 520 525

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 7

Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu
1 5

10 <210> 8

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 8
 Ile Tyr Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe
 1 5 10
 <210> 9
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 9
 Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val
 1 5
 15 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 10
 Arg Leu Ala Ile Phe Lys Asp Leu Val
 1 5
 <210> 11
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 11
 Thr Met Ser Ser Ser Lys Leu Ser Asn Val
 1 5 10
 <210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 12

Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile
1 5

5 <210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 13

Asp Tyr Ala Asp Leu Lys Glu Lys Leu
1 5

<210> 14

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 14

Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu
20 1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 15

Cys Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu
1 5

<210> 16

30 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 16
 Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val Leu
 1 5

<210> 17

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 17

10 Gly Tyr Lys Asp Glu Asn Asn Arg Leu
 1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 18

Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu
 1 5

<210> 19

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25 <400> 19

Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe
 1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 20

Asn Tyr Asp Ile Ala Ile Ala Glu Leu
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 21
 Cys Tyr Lys Ala Lys Ile Lys Glu Leu
 1 5
 <210> 22
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 22
 Asp Tyr Leu Gln Val Cys Leu Arg Ile
 1 5
 <210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 23
 Lys Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Leu
 1 5
 25 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 24
 Ser Tyr Val Phe Ser Ala Asp Pro Ile
 1 5
 <210> 25
 <211> 9
 35 <212> PRT

<213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 25
 5 Ala Tyr Arg Leu Leu Lys Leu Gly Ile
 1 5
 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 26
 Asp Tyr Glu Gln Ala Asn Leu Asn Met
 1 5
 <210> 27
 15 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 20 <400> 27
 Asn Phe Asp Gly Ile Lys Leu Asp Leu
 1 5
 <210> 28
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 28
 Leu Phe Val Pro Val Ser Ser Lys Phe
 1 5
 30 <210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 29
 Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu
 1 5
 <210> 30
 <211> 9
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 30
 Lys Phe Ser Val Trp Val Ser Phe Phe
 1 5
 10 <210> 31
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 31
 Lys Leu Leu Asp Leu Ile Glu Asp Leu
 1 5
 <210> 32
 20 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 32
 Arg Phe Pro Lys Pro Glu Leu Glu Ile
 1 5
 <210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 33
 Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp
 1 5

<210> 34
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 34
 Arg Thr Gln Asn Leu Lys Ala Asp Leu
 1 5
 <210> 35
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 35
 Lys Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu
 1 5
 <210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 36
 Lys Ser Asn Glu Met Glu Glu Asp Leu
 1 5
 25 <210> 37
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 37
 Lys Ile Glu Asp Gly Ser Val Val Leu
 1 5
 <210> 38
 <211> 9
 35 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 38

5 Lys Gln Gln Asn Glu Met Glu Ile Leu
1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 39

Lys Thr Gln Asn Glu Gly Glu Arg Leu
1 5

<210> 40

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 40

Lys Trp Lys Glu Lys Cys Asn Asp Leu
1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 41

Lys Ile Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu
1 5

30 <210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 42

Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu
1 5

<210> 43

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 43

Ser Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu
1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 44

Lys Leu Thr Asn Leu Gln Asp Glu Leu
1 5

20 <210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 45

Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu Leu
1 5

<210> 46

<211> 10

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 46

Lys Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu
1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 47

Lys Tyr Ala Glu Asp Arg Glu Arg Phe Phe
1 5 10

10 <210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 48

Gln Tyr Trp Ala Gln Arg Glu Ala Asp Phe
1 5 10

<210> 49

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 49

Leu Tyr Thr Ser Glu Ile Ser Ser Pro Ile
1 5 10

25 <210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 50

Lys Phe Gln Lys Arg Lys Met Leu Arg Leu
1 5 10

<210> 51

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 51
 Ala Phe Leu Leu Thr Ile Glu Asn Glu Leu
 1 5 10
 <210> 52
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 52
 Thr Tyr Ser Leu Arg Ser Gln Ala Ser Ile
 1 5 10
 15 <210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 53
 Asp Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu
 1 5 10
 <210> 54
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 54
 Arg Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu
 1 5 10
 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 55
 Lys Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu
 1 5 10
 5 <210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 56
 Lys Leu Leu Arg Ile Lys Ile Asn Glu Leu
 1 5 10
 <210> 57
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 57
 Lys Ile Ile Glu Asp Met Arg Met Thr Leu
 1 5 10
 20 <210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 58
 Arg Thr Ile Gln Gln Leu Lys Glu Gln Leu
 1 5 10
 <210> 59
 30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 35 <400> 59

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

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 60

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

10 <210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 61

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

<210> 62

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 62

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

25 <210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 63

Arg Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu
1 5 10

<210> 64

- <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
- 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 64
- Arg Val Ile Arg Val Ser Glu Leu Ser Leu
 1 5 10
- <210> 65
 <211> 10
- 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 65
- Arg Asn Leu Lys Glu Phe Gln Glu His Leu
 1 5 10
- <210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 20 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 66
- Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val Pro Val
 1 5 10
- <210> 67
- 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
- <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
- 30 <400> 67
- Lys Met Leu Arg Leu Ser Gln Asp Val
 1 5
- <210> 68
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 68

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

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

10 $\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 69

Ala Leu Ser Glu Leu Thr Gln Gly Val
1 5

<210> 70

15 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> Artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 70

Lys Leu Gly Ile Lys His Gln Ser Val
1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 71

Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu
1 5

30 <210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 72

Lys Leu Thr Asp Ala Lys Lys Gln Ile
1 5

<210> 73

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

10 <400> 73

Gln Leu Thr Glu Lys Asp Ser Asp Leu
1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 74

Asn Leu Gln Asp Met Lys His Leu Leu
1 5

20 <210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 75

Ser Val Trp Val Ser Phe Phe Glu Ile
1 5

<210> 76

<211> 9

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 76

Phe Gln Gly Cys Ile Met Gln Pro Val
1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 77

Val Leu Gln Glu Asn Asn Glu Gly Leu
1 5

10 <210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 78

Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val
1 5

<210> 79

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 79

Ala Ile Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile
1 5

25 <210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 80

Phe Leu Gln His Ser Pro Ser Ile Leu
1 5

<210> 81

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 81
 Asp Leu Met Glu Asp Glu Asp Leu Val
 1 5
 <210> 82
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 82
 Ser Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile
 1 5
 15 <210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 83
 Gly Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val
 1 5
 <210> 84
 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 84
 Ile Leu Pro Arg Thr Leu Asn Val Leu
 1 5
 <210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 85
 Lys Ile Cys Ser Glu Arg Lys Arg Val
 1 5

5 <210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 86
 Ser Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr
 1 5

<210> 87
 <211> 9

15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 87

20 Leu Met His Thr Lys Ile Asp Glu Leu
 1 5

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

25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 88

Trp Leu Glu Glu Lys Met Met Leu Ile
 1 5

<210> 89

30 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

35 <400> 89

Thr Leu Asn Val Leu Lys Phe Ser Ala
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 90

Lys Leu Gln Thr Glu Pro Leu Ser Thr
1 5

10 <210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 91

Cys Ile Met Gln Pro Val Lys Asp Leu
1 5

<210> 92

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 92

Lys Gln Val Gln Lys Glu Val Ser Val
1 5

25 <210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 93

Lys Leu Lys Glu Glu Ile Thr Gln Leu
1 5

<210> 94

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 94
 Thr Leu Ser Lys Glu Val Gln Gln Ile
 1 5
 <210> 95
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 95
 15 Asn Glu Tyr Ile Tyr Asp Leu Phe Val
 1 5
 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 96
 Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr
 1 5
 <210> 97
 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 97
 Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val
 1 5
 <210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 98

Asn Leu Pro Asn Thr Gln Leu Asp Leu
1 5

5 <210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 99

Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val Leu
1 5

<210> 100

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 100

20 Thr Leu Asn Val Leu Phe Asp Ser Leu
1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 101

Lys Leu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala
1 5

<210> 102

30 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 102
 Lys Glu His Glu Asn Asn Thr Asp Val
 1 5

<210> 103

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 103

10 Asp Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu Val
 1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 104

Lys Ile Met Lys Leu Ser Asn Glu Ile
 1 5

<210> 105

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

25 <400> 105

Ile Leu Gln Ser Lys Ala Lys Lys Ile
 1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 106

Ile Leu Asn Val Lys Arg Ala Thr Ile
 1 5

<210> 107
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 107
 Lys Glu Leu Glu Thr Ile Leu Glu Thr
 1 5
 <210> 108
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 108
 Ile Val Asn Ile Ser Gln Cys Tyr Leu
 1 5
 <210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 109
 Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val
 1 5
 25 <210> 110
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 110
 Thr Leu Leu Gln Glu Arg Glu Ile Leu
 1 5
 <210> 111
 <211> 9
 35 <212> PRT

<213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 111
 5 Thr Leu Glu Glu Asn Lys Ala Phe Ile
 1 5
 <210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 112
 Tyr Asn Ala Asp Arg Lys Lys Trp Leu
 1 5
 <210> 113
 15 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 20 <400> 113
 Lys Gly Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu
 1 5
 <210> 114
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 114
 Lys Met Ala Val Lys His Pro Gly Cys
 1 5
 30 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 115
 Ser Glu Met Ser Arg Val Ile Arg Val
 1 5

<210> 116
 <211> 9
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 116
 10 Gln Leu Thr Asn Asn Leu Gln Asp Met
 1 5

<210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 117
 Gln Ile Val His Phe Gln Gln Glu Leu
 1 5

<210> 118
 20 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 118
 Asn Ile Ser Glu Phe Glu Glu Ser Ile
 1 5

<210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 119
 Thr Leu Asn Ser Ser Gln Glu Lys Leu
 1 5

<210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 120
 Ser Leu Ile Ile Asn Asn Lys Leu Ile
 1 5
 <210> 121
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 121
 Leu Ile Asn Glu Lys Lys Glu Lys Leu
 1 5
 <210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 122
 Lys Leu Leu Asp Glu Asp Leu Asp Lys Thr
 1 5 10
 25 <210> 123
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 123
 Tyr Leu Ala Tyr Asp Glu Thr Leu Asn Val
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 5 <400> 124
 Asn Met Ala Asn Ser Ile Lys Phe Ser Val
 1 5 10
 <210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 125
 Val Leu Phe Asp Ser Leu Gln Glu Arg Leu
 1 5 10
 15 <210> 126
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 126
 Lys Leu Ile Cys Asn Glu Thr Val Glu Val
 1 5 10
 <210> 127
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 127
 30 Lys Leu Asp Leu Ser His Glu Phe Ser Leu
 1 5 10
 <210> 128
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 128
 Leu Leu Thr Leu Gly Lys Cys Ile Asn Val
 1 5 10
 <210> 129
 5 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 10 <400> 129
 Gln Val Leu Glu Ala Lys Leu Glu Glu Val
 1 5 10
 <210> 130
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 130
 Ser Leu Ser Glu Lys Lys Asn Leu Thr Leu
 1 5 10
 20 <210> 131
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 131
 Thr Leu Tyr Gly Ser Leu Thr Asn Ser Leu
 1 5 10
 <210> 132
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 132

Ala Ile Trp Glu Glu Cys Lys Glu Ile Val
1 5 10

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 133

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

10 <210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 134

Val Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val
1 5 10

<210> 135

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 135

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

25 <210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 136

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

<210> 137

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 137
 Asn Ile Ala Glu Ile Glu Asp Ile Arg Val
 1 5 10
 <210> 138
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 138
 Ser Leu Gln Glu Arg Leu Tyr Thr Lys Met
 1 5 10
 <210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 139
 Gln Gln Ile Glu Lys Leu Gln Ala Glu Val
 1 5 10
 <210> 140
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 140
 Gln Gln Tyr Glu Arg Ala Cys Lys Asp Leu
 1 5 10
 <210> 141
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 141

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

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 142

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

<210> 143

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 143

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

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 144

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

30 <210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 145
 Gln Leu Asp Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Leu
 1 5 10
 <210> 146
 5 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 10 <400> 146
 Met Met Leu Ile Thr Gln Ala Lys Glu Ala
 1 5 10
 <210> 147
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 147
 Gln Ile Met Asp Ile Lys Pro Lys Arg Ile
 1 5 10
 20 <210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 148
 Gln Leu val Ala Ala Leu Glu Ile Gln Leu
 1 5 10
 <210> 149
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 149

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

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 150

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

10 <210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 151

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

<210> 152

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 152

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

25 <210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 153

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

<210> 154

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 154
 Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile
 1 5 10
 <210> 155
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 155
 Ser Ile Phe Thr Val Lys Ile Leu Gln Ile
 1 5 10
 <210> 156
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 156
 Thr Leu Asp Val Gln Ile Gln His Val Val
 1 5 10
 <210> 157
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 157
 Gly Thr Leu Gln Lys Phe Gly Asp Phe Leu
 1 5 10
 <210> 158
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 158
 Phe Ile Lys Asp Leu Gln Trp Ile Gln Val
 1 5 10
 5 <210> 159
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 159
 Thr Leu Ile Gln Gln Leu Lys Glu Glu Leu
 1 5 10
 <210> 160
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 160
 Thr Ile Leu Glu Thr Gln Lys Val Glu Cys
 1 5 10
 20 <210> 161
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 161
 Ala Ala Leu Glu Ile Gln Leu Lys Ala Leu
 1 5 10
 <210> 162
 30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 35 <400> 162

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

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 163

Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu
1 5

10 <210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 164

Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu
1 5

<210> 165

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 165

Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn
1 5

25 <210> 166

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 166

Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu
1 5

<210> 167

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 167
 Lys Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu
 1 5
 <210> 168
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 168
 Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe
 1 5
 15 <210> 169
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 169
 His Phe Lys Lys Tyr Gly Asn Cys Phe
 1 5
 <210> 170
 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 170
 Gly Tyr Ile Thr Val Ser Asp Arg Ser
 1 5
 <210> 171
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 171
 Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu Leu
 1 5

5 <210> 172
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 172
 Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu
 1 5 10
 <210> 173
 <211> 10

15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 173
 Asp Tyr Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu
 1 5 10

20 <210> 174
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 174
 Arg Tyr Pro Glu Leu Arg Lys Asn Asn Ile
 1 5 10
 <210> 175

30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

35 <400> 175

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

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 176

Thr Tyr val Gly Phe Glu Arg Asp val Phe
1 5 10

10 <210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 177

Ser Tyr Ile Asn Thr Pro val Ala Glu Ile
1 5 10

<210> 178

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 178

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

25 <210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 179

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

<210> 180

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 180
 Ser Phe Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Leu
 1 5 10
 <210> 181
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 181
 15 Leu Phe Arg Phe Pro Ala Thr Ser Pro Leu
 1 5 10
 <210> 182
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 182
 Val Phe Arg Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu
 1 5 10
 <210> 183
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 183
 Lys Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu
 1 5 10
 <210> 184
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 184

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

5 <210> 185

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 185

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

<210> 186

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 186

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

<210> 187

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 187

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

<210> 188

30 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 188
 Lys Ser Thr Glu Cys Leu Leu Ser Leu
 1 5 10
 <210> 189
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 189
 Tyr Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
 1 5 10
 10 <210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 190
 Asn Phe Ser Lys Asp Lys Asp Ser Ile Phe
 1 5 10
 <210> 191
 20 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 191
 Phe Leu Met Asp His His Gln Glu Ile
 1 5
 <210> 192
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 192
 Leu Leu Gln Pro His Leu Glu Arg Val
 1 5

<210> 193
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 193
 Ser Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu
 1 5
 <210> 194
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 194
 Trp Val Leu Ser Ala Met Lys Cys Leu
 1 5
 <210> 195
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 195
 Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met
 1 5
 25 <210> 196
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 196
 Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu
 1 5
 <210> 197
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 5 <400> 197
 Leu Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu
 1 5
 <210> 198
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 198
 Tyr Ile Met Tyr Asn Met Ala Asn Thr
 1 5
 15 <210> 199
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 199
 Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu
 1 5
 <210> 200
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 200
 30 Ala Leu Phe Gly Asp Lys Pro Thr Ile
 1 5
 <210> 201
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 201
 Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu
 1 5
 <210> 202
 5 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 10 <400> 202
 Leu Ile Tyr Gln Lys Arg Phe Pro Thr
 1 5
 <210> 203
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 203
 Thr Leu Pro Arg Arg Tyr Pro Glu Leu
 1 5
 20 <210> 204
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 204
 Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu
 1 5
 <210> 205
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 205

Ile Met Gly Gly Ser Cys His Asn Leu
1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 206

Tyr Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val
1 5

10 <210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 207

Thr Ile Ala Asp Tyr Phe Leu Asp Leu
1 5

<210> 208

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 208

Ala Leu Gln Leu Cys Cys Leu Leu Leu
1 5

25 <210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 209

Arg Leu Cys Lys Ser Thr Ile Glu Leu
1 5

<210> 210

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 210
 Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu
 1 5
 <210> 211
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 211
 Val Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile
 1 5
 15 <210> 212
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 212
 Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Val Val
 1 5
 <210> 213
 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 213
 Ile Leu Gln Asn Lys Ser Asp Asp Leu
 1 5
 <210> 214
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 214
 Lys Leu Gln Leu Leu Met Arg Met Ile
 1 5

5 <210> 215
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>

10 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 215
 Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val
 1 5
 <210> 216
 <211> 9

15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 216
 Thr Ile Gln Leu Leu Arg Lys Phe Leu
 1 5

20 <210> 217
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 217
 Cys Ser Leu Glu Gly Ile Val Asp Val
 1 5
 <210> 218

30 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

35 <400> 218

Leu Val Val Cys Gly Tyr Ile Thr Val
1 5

<210> 219

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 219

Tyr Ile Asn Thr Pro Val Ala Glu Ile
1 5

10 <210> 220

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 220

Ile Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu
1 5

<210> 221

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 221

Lys Ser Asp Asp Leu Pro His Trp Val
1 5

25 <210> 222

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 222

Leu Leu Pro Ala Ser Ser Met Leu Thr
1 5

<210> 223

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 223
 Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val
 1 5
 <210> 224
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 224
 Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys
 1 5
 15 <210> 225
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 225
 Cys Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val
 1 5
 <210> 226
 25 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 30 <400> 226
 Glu Leu Phe Val Asn Ile Leu Gly Leu
 1 5
 <210> 227
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 227

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

<210> 228

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 $\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 228

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

<210> 229

15 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> Artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 229

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

$\langle 210 \rangle$ 230

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 230

Ile Leu val val Cys Gly Tyr Ile Thr val
1 5 10

30 $\langle 210 \rangle$ 231

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

35 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 231
 Leu Thr Phe Glu Tyr Tyr Glu Leu Phe Val
 1 5 10
 <210> 232
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 232
 10 Ile Leu Gly Val Pro Ser Leu Glu Glu Val
 1 5 10
 <210> 233
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 233
 Leu Ile Tyr Leu Gln Thr Ile Leu Gly Val
 1 5 10
 <210> 234
 20 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 234
 Tyr Leu Gln Thr Ala Val Glu Lys His Leu
 1 5 10
 <210> 235
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 235
 Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys Val
 1 5 10

<210> 236
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 236
 Ser Met Leu Thr Gly Thr Gln Ser Leu Leu
 1 5 10
 <210> 237
 10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 15 <400> 237
 Arg Met Ile Ser Arg Met Ser Gln Asn Val
 1 5 10
 <210> 238
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 238
 Gln Leu Leu Met Arg Met Ile Ser Arg Met
 1 5 10
 25 <210> 239
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 239
 Val Leu Cys Cys Ala Glu Glu Val Asp Leu
 1 5 10
 <210> 240
 <211> 10
 35 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 240

5 Ser Leu Met Ile His Thr Phe Ser Arg Cys
1 5 10

<210> 241

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 241

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

<210> 242

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 242

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

<210> 243

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 243

Gln Leu Cys Arg Ser Gln Ser Leu Leu Leu
1 5 10

30 <210> 244

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

35 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 244
 Lys Gln Phe Gln Lys Glu Tyr Pro Leu Ile
 1 5 10
 <210> 245
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 245
 Ile Leu Gln Val Pro Ser Tyr Leu Gln Thr
 1 5 10
 10 <210> 246
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 246
 Val Gly Phe Glu Arg Asp Val Phe Arg Thr
 1 5 10
 <210> 247
 20 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 25 <400> 247
 Gln Leu Val Asn Leu Arg Asn Arg Arg Val
 1 5 10
 <210> 248
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 248
 Phe Leu Asp Leu Pro Glu Pro Leu Leu Thr
 1 5 10

<210> 249
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 249

Ile	Met	Gly	Gly	Ser	Cys	His	Asn	Leu	Ile
1				5					10

<210> 250

10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

15 <400> 250

Leu	Ile	Gly	Leu	Ser	Asn	Met	His	Asp	Leu
1				5					10

<210> 251
 <211> 10
 <212> PRT

20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 251

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

25 <210> 252
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>

30 <223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente
 <400> 252

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

<210> 253
 <211> 10

35 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 253

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

<210> 254

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

<400> 254

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

<210> 255

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia peptídica sintetizada artificialmente

20 <400> 255

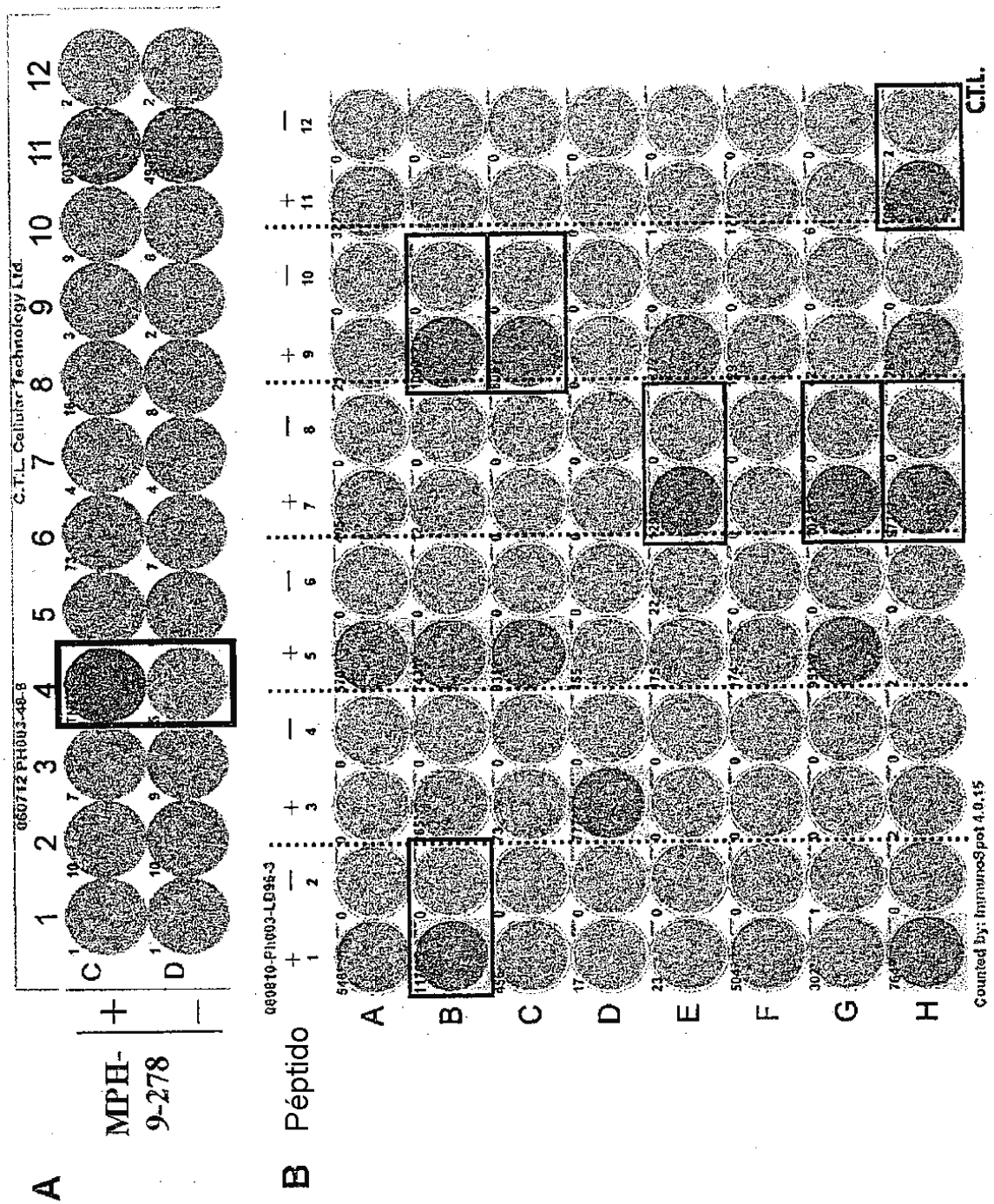
 Asn Ile Leu Gly Leu Leu Gln Pro His Leu
 1 5 10

REIVINDICACIONES

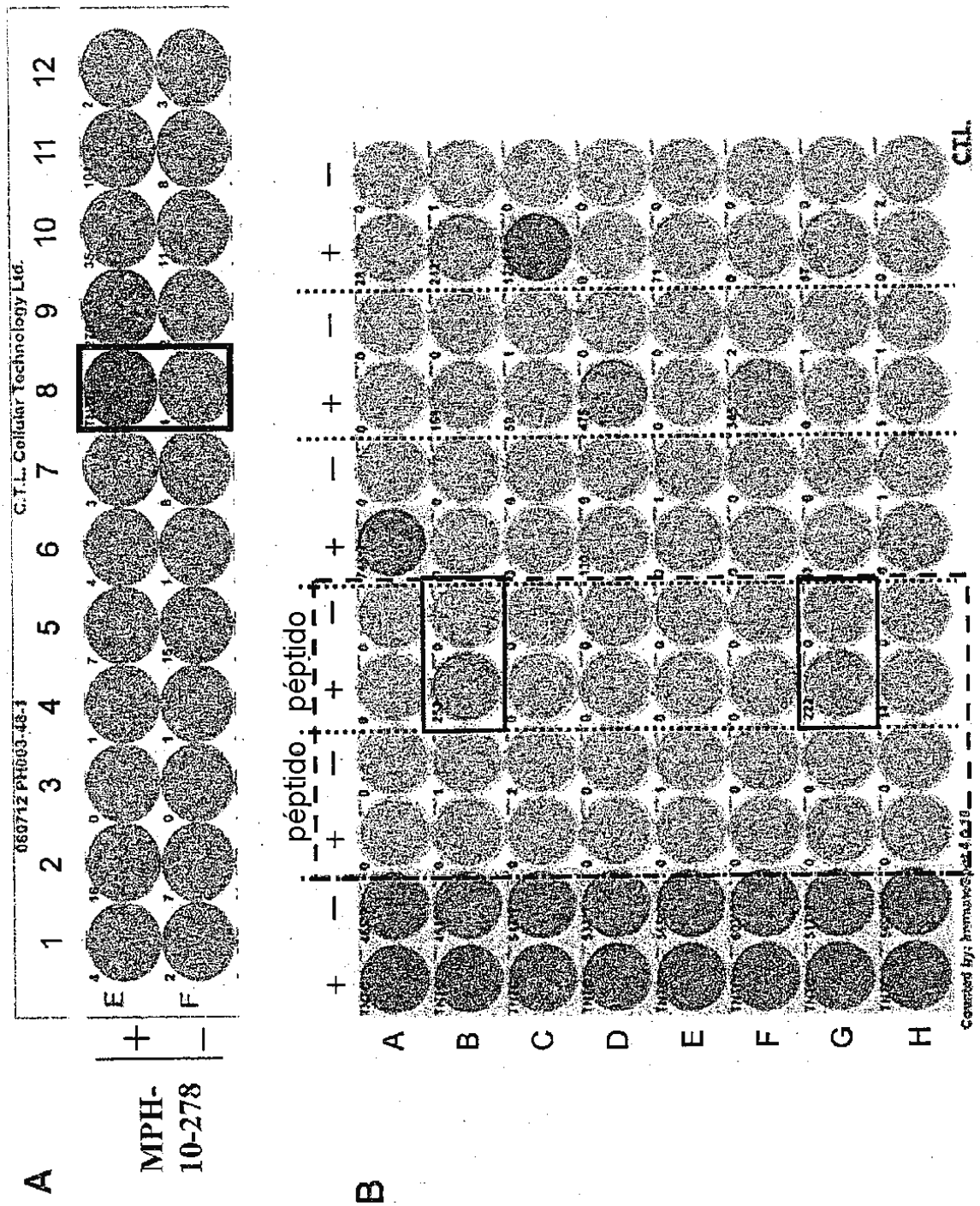
- 5 1. Un péptido de menos de alrededor de 15 aminoácidos, en el que dicho péptido comprende las secuencias de aminoácidos de SEC ID NO: 230, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 240, 241, 243, 244, 249, 253, o 254, o un péptido de menos de alrededor de 15 aminoácidos que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 230, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 240, 241, 243, 244, 249, 253, y 254, en la que 1 o 2 aminoácidos están sustituidos, suprimidos, o añadidos.
- 10 2. El péptido de la reivindicación 1, en el que el segundo aminoácido desde el término N de la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 230, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 240, 241, 243, 244, 249, 253, o 254 está sustituido por leucina o metionina.
3. El péptido de la reivindicación 1 o 2, en el que el aminoácido C-terminal de la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 230, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 240, 241, 243, 244, 249, 253, o 254 está sustituido por valina o leucina.
- 15 4. El péptido de la reivindicación 1, en el que el péptido consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 230, 192, 195, 197, 209, 225, 226, 228, 240, 241, 243, 244, 249, 253, o 254.
5. Un vector en el que el ADN codifica un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
6. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, comprendiendo dicha composición al menos un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 20 7. Un exosoma que presenta sobre su superficie un complejo que comprende un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un antígeno HLA.
8. El exosoma de la reivindicación 7, en el que el antígeno HLA es HLA-A2.
9. El exosoma de la reivindicación 8, en el que el antígeno HLA es HLA-A0201.
- 25 10. Un método in vitro para inducir una célula presentadora de antígeno que tiene inducibilidad de células T citotóxicas, que comprende la etapa de:
 - (a) poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o
 - (b) transferir un gen que comprende un polinucleótido que codifica un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a una célula presentadora de antígeno.
- 30 11. Un método in vitro para inducir una célula T citotóxica poniendo en contacto una célula T con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
12. Un método in vitro para inducir una célula T citotóxica, que comprende las etapas de:
 - (i) poner en contacto una célula presentadora de antígeno con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y
 - 35 (ii) mezclar la célula presentadora de antígeno de la etapa (i) con una célula T CD8⁺ y cocultivar.
13. Una célula T citotóxica aislada, que es inducida por el método de la reivindicación 11 o 12, o que es transducida con los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de las unidades de TCR que se unen con un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el contexto de HLA-A2.
- 40 14. Una célula presentadora de antígeno, que comprende un complejo formado entre un antígeno HLA y un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
15. La célula presentadora de antígeno de la reivindicación 14, inducida por el método de la reivindicación 10.
16. Una vacuna para uso en la inhibición de la proliferación de células que expresan cualquiera o ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, en la que la vacuna comprende un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como ingrediente activo.
- 45 17. La vacuna de la reivindicación 16, en la que las células que expresan cualquiera o ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5 son células cancerosas.
18. La vacuna de la reivindicación 16, formulada para administración a un sujeto cuyo antígeno HLA es HLA-A2.

19. Un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o un polinucleótido que codifica dicho péptido, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5.
- 5 20. La composición farmacéutica de la reivindicación 6 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, y el péptido o el polinucleótido de la reivindicación 19 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, en el que la enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5 es cáncer.
- 10 21. La composición farmacéutica de la reivindicación 20 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, la vacuna de la reivindicación 17, y el péptido o polinucleótido de la reivindicación 20 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con la sobreexpresión de cualquiera o de ambos genes de SEC ID NO: 3 y 5, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, carcinoma colangiocelular, CML, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, NSCLC, linfoma, osteosarcoma, cáncer de próstata, carcinoma renal, SCLC y tumor de tejido blando.
- 15

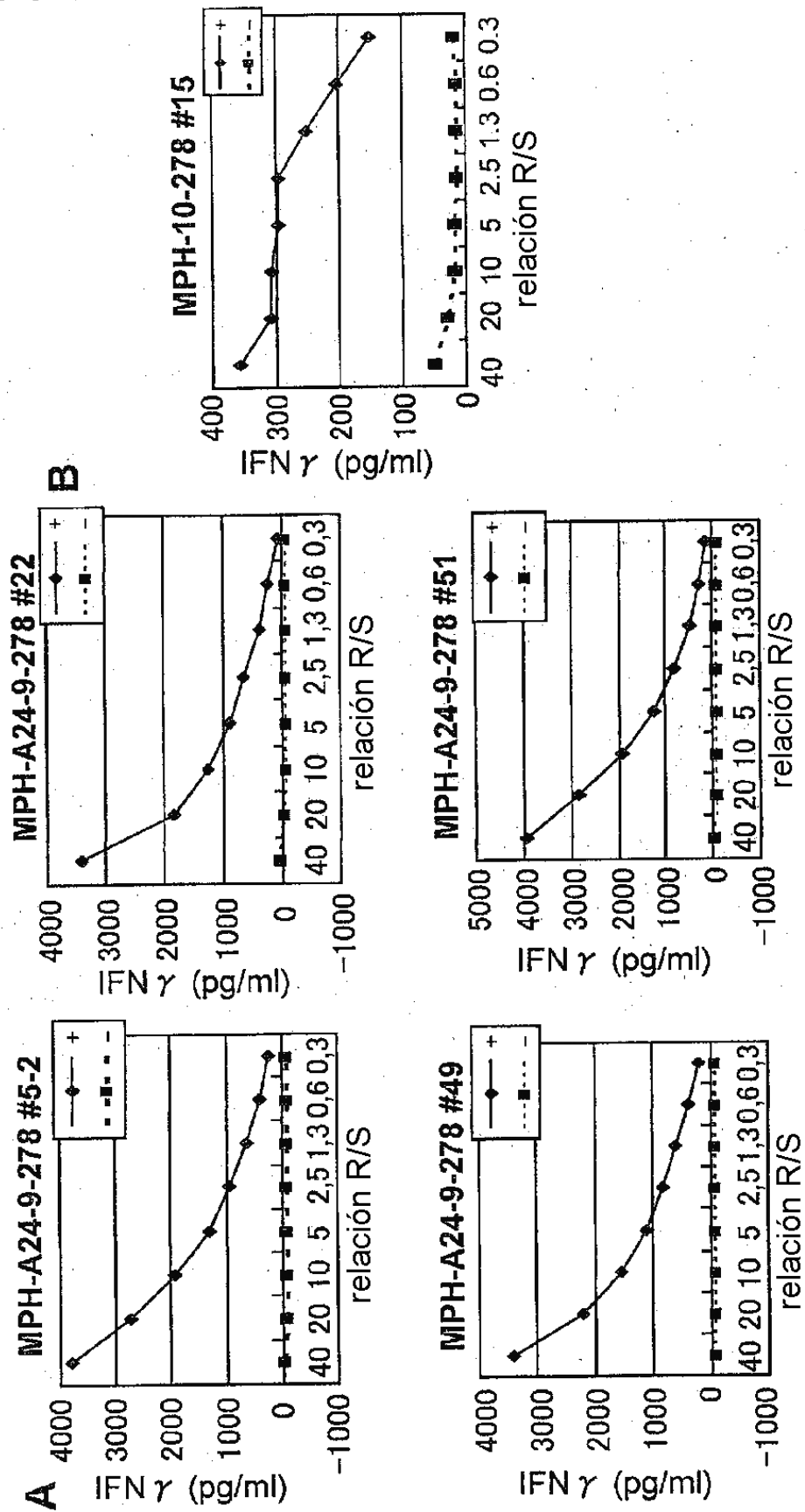
[Fig. 1]



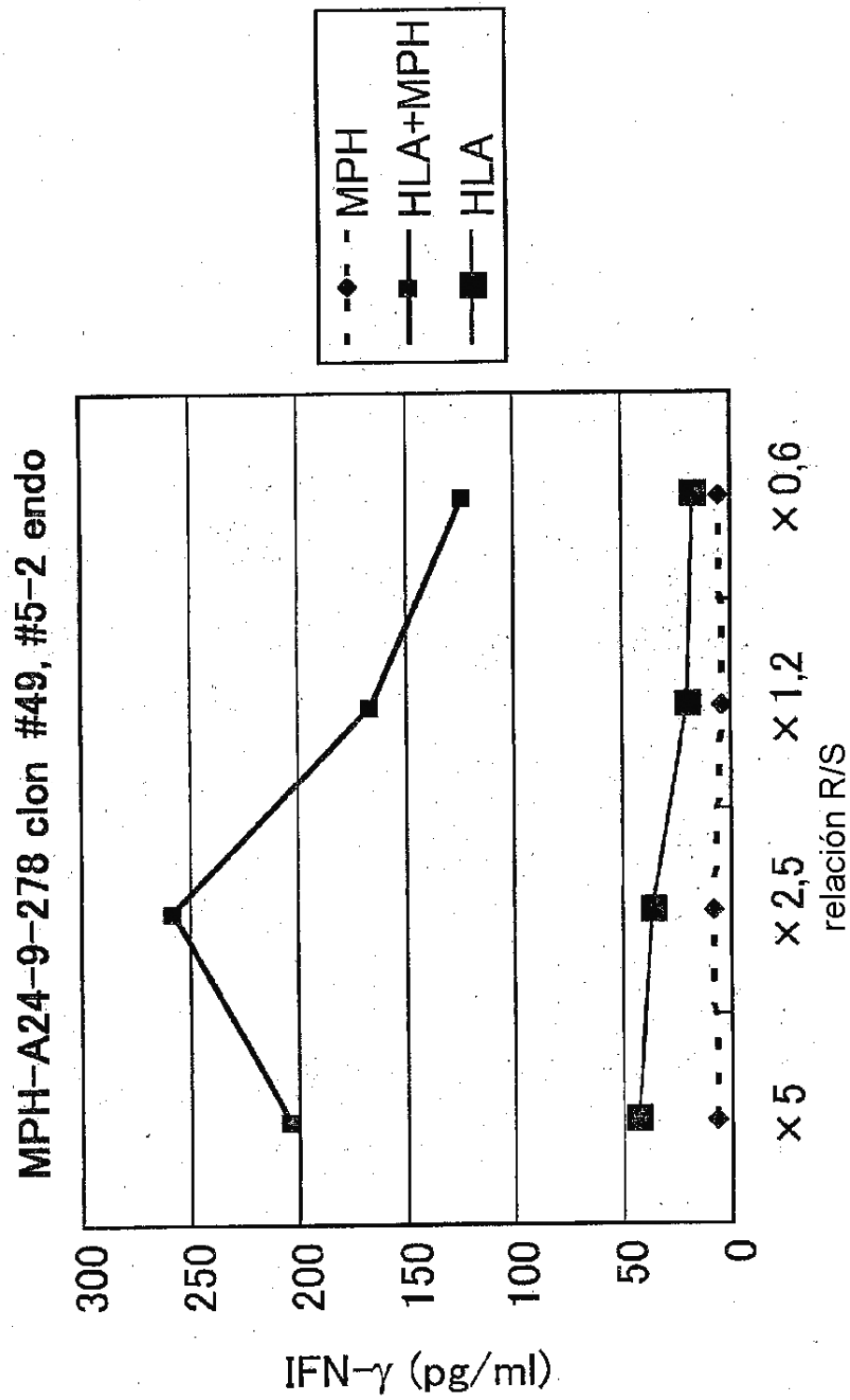
[Fig. 2]



[Fig. 3]

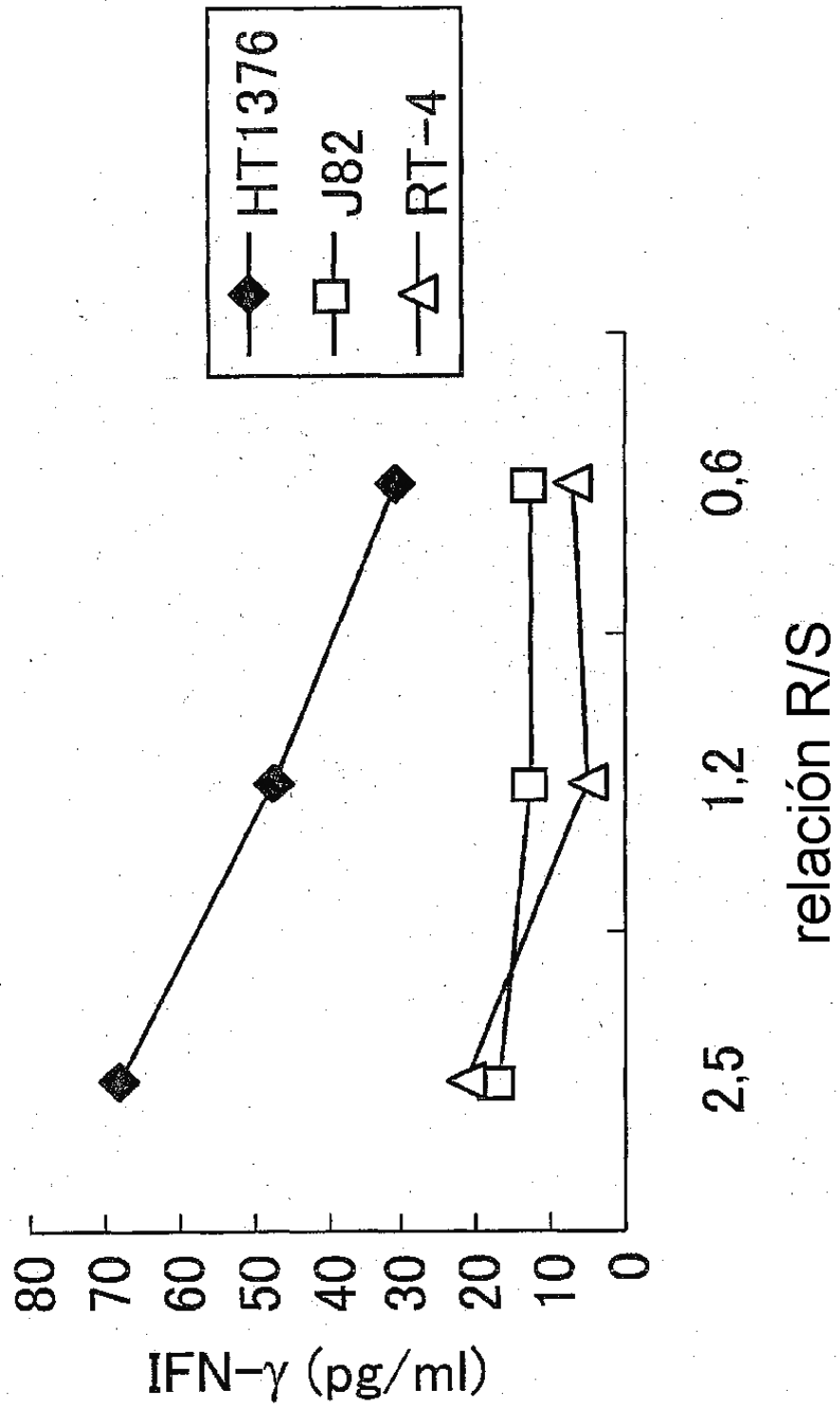


[Fig. 4]

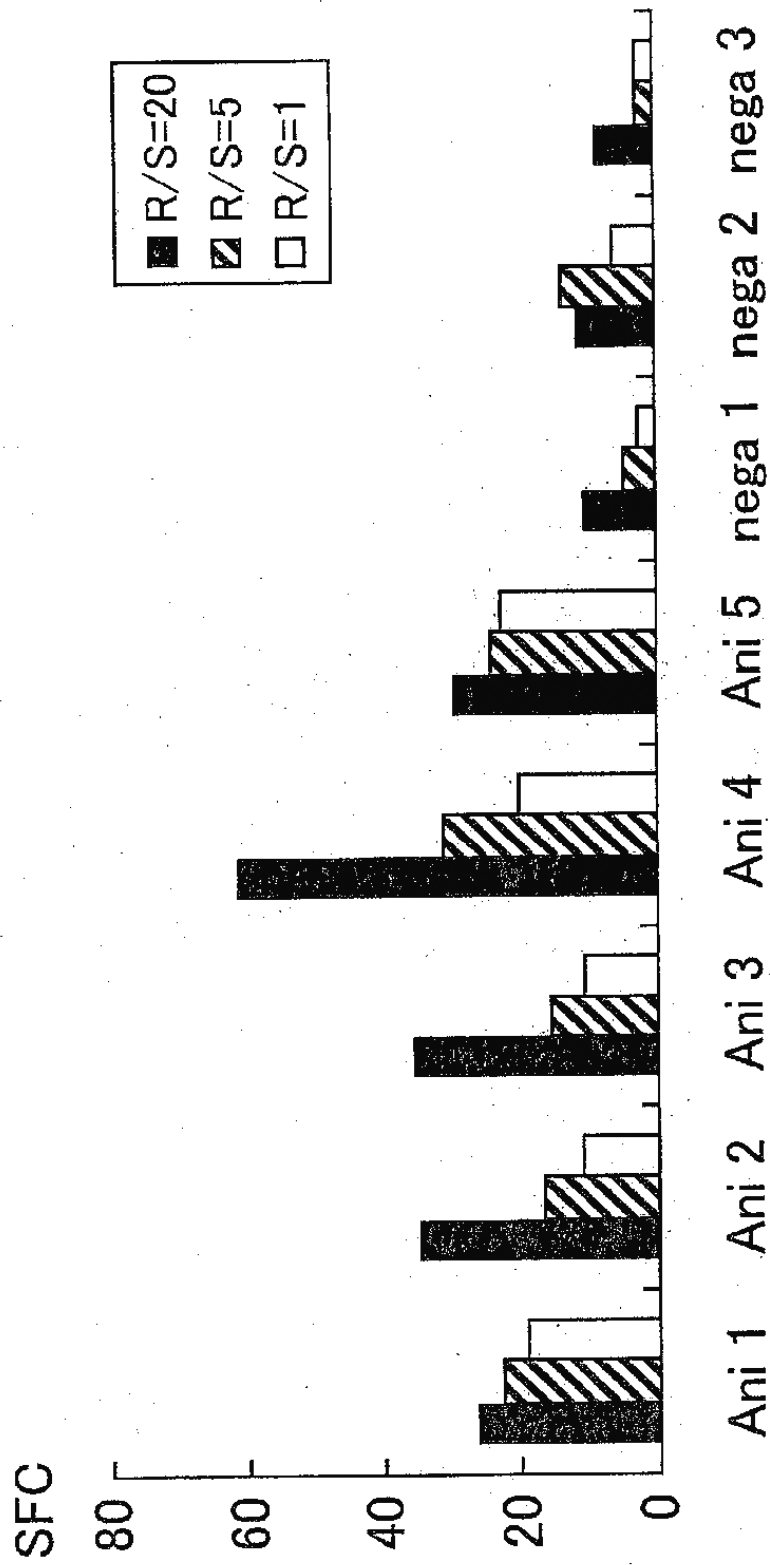


[Fig. 5]

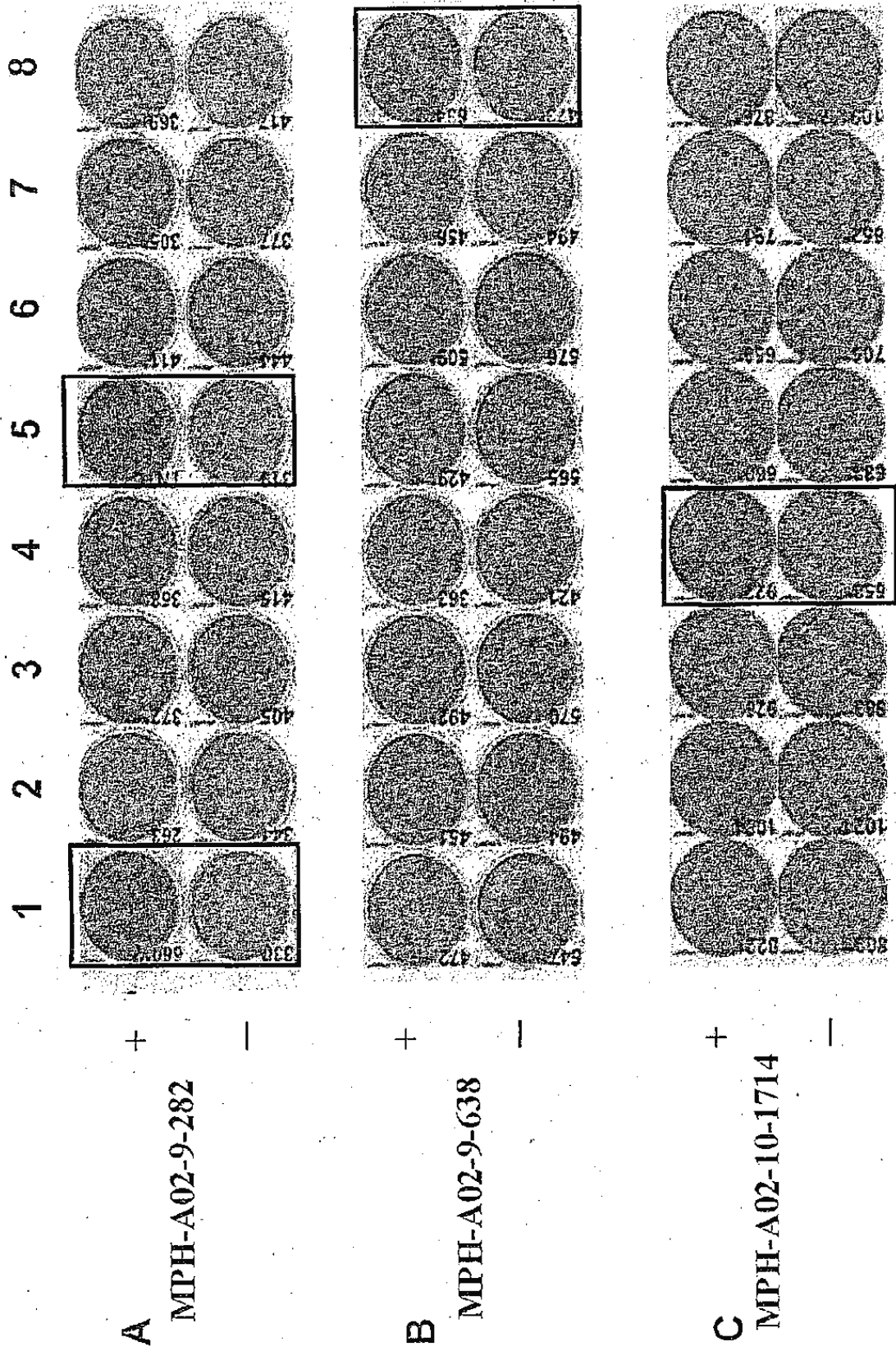
MPH-A24-9-278



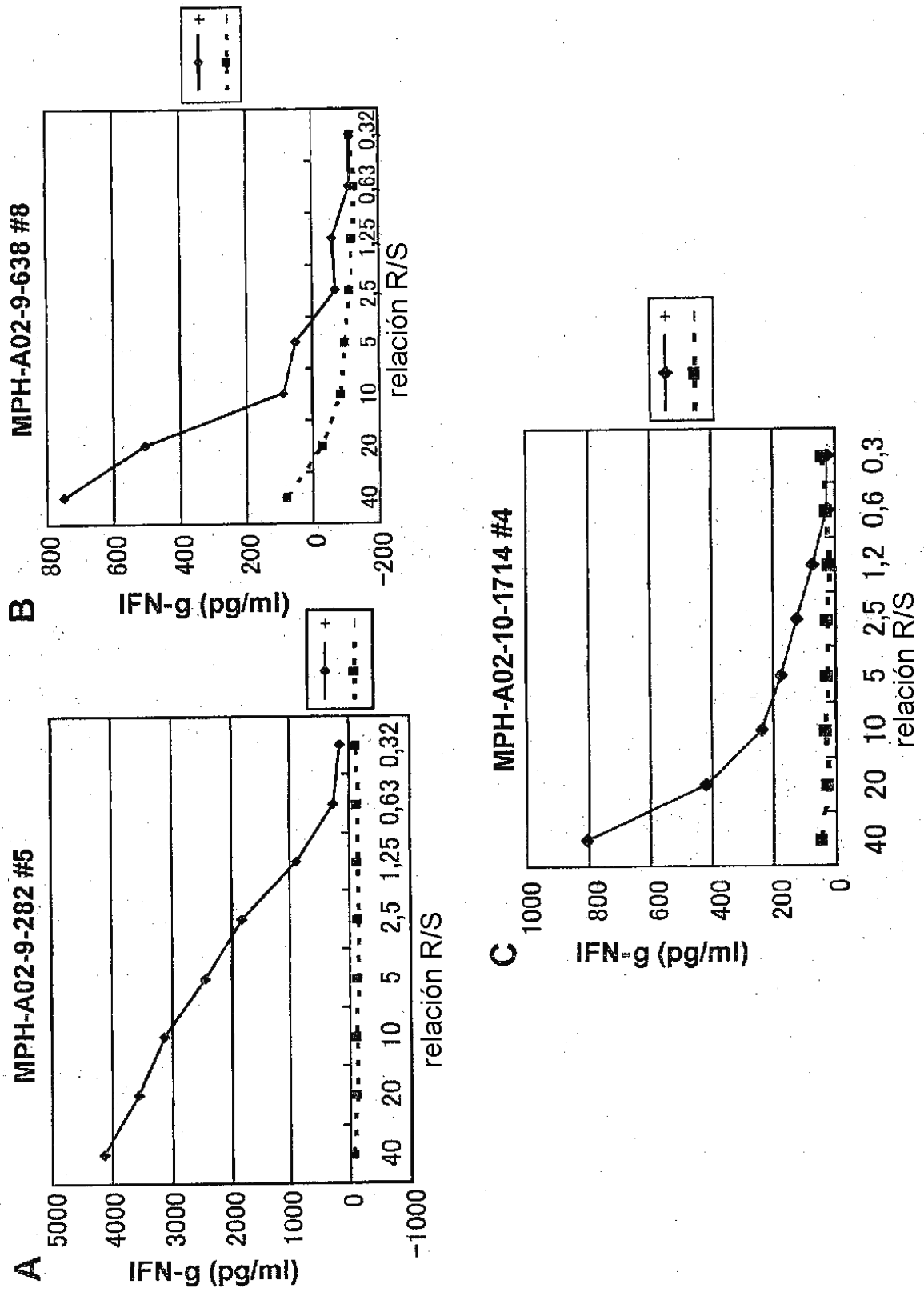
[Fig. 6]



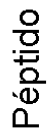
[Fig. 7]



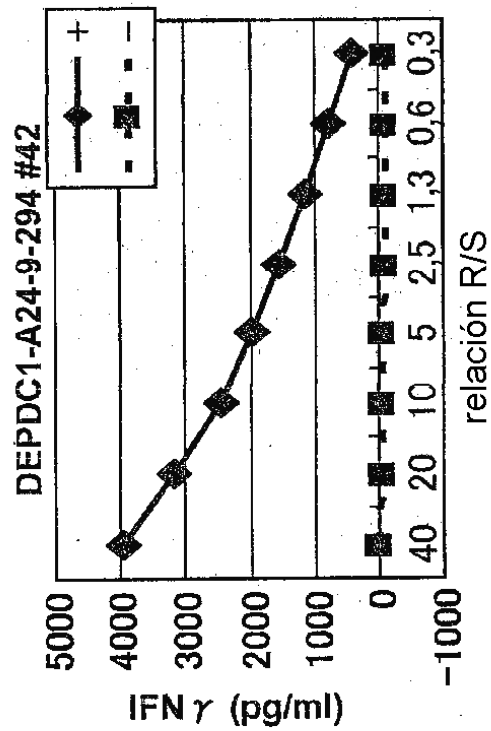
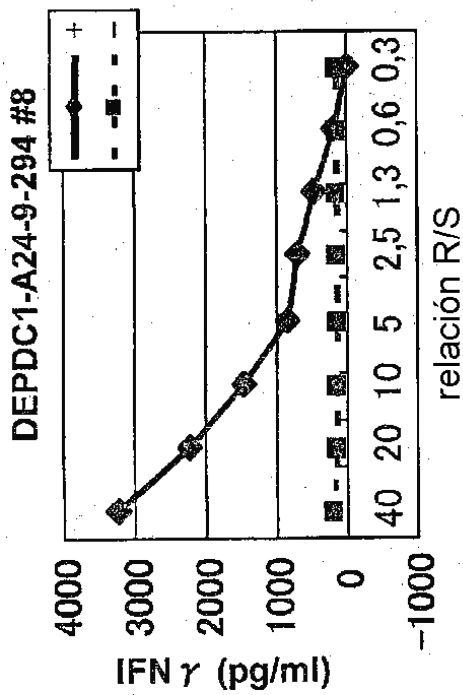
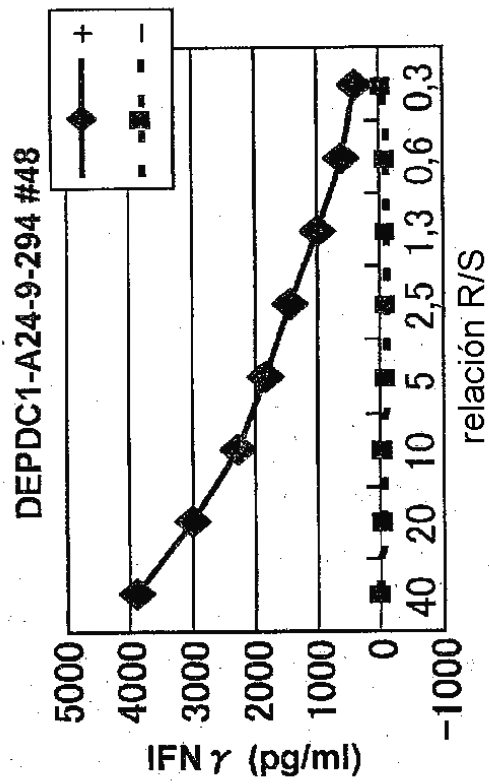
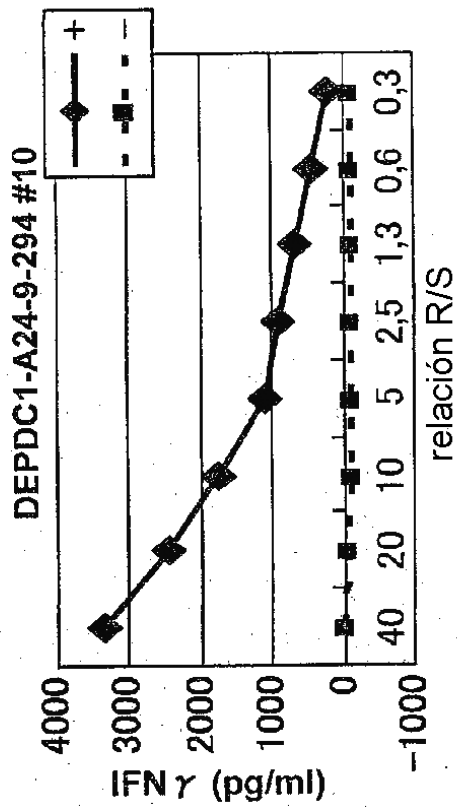
[Fig. 8]



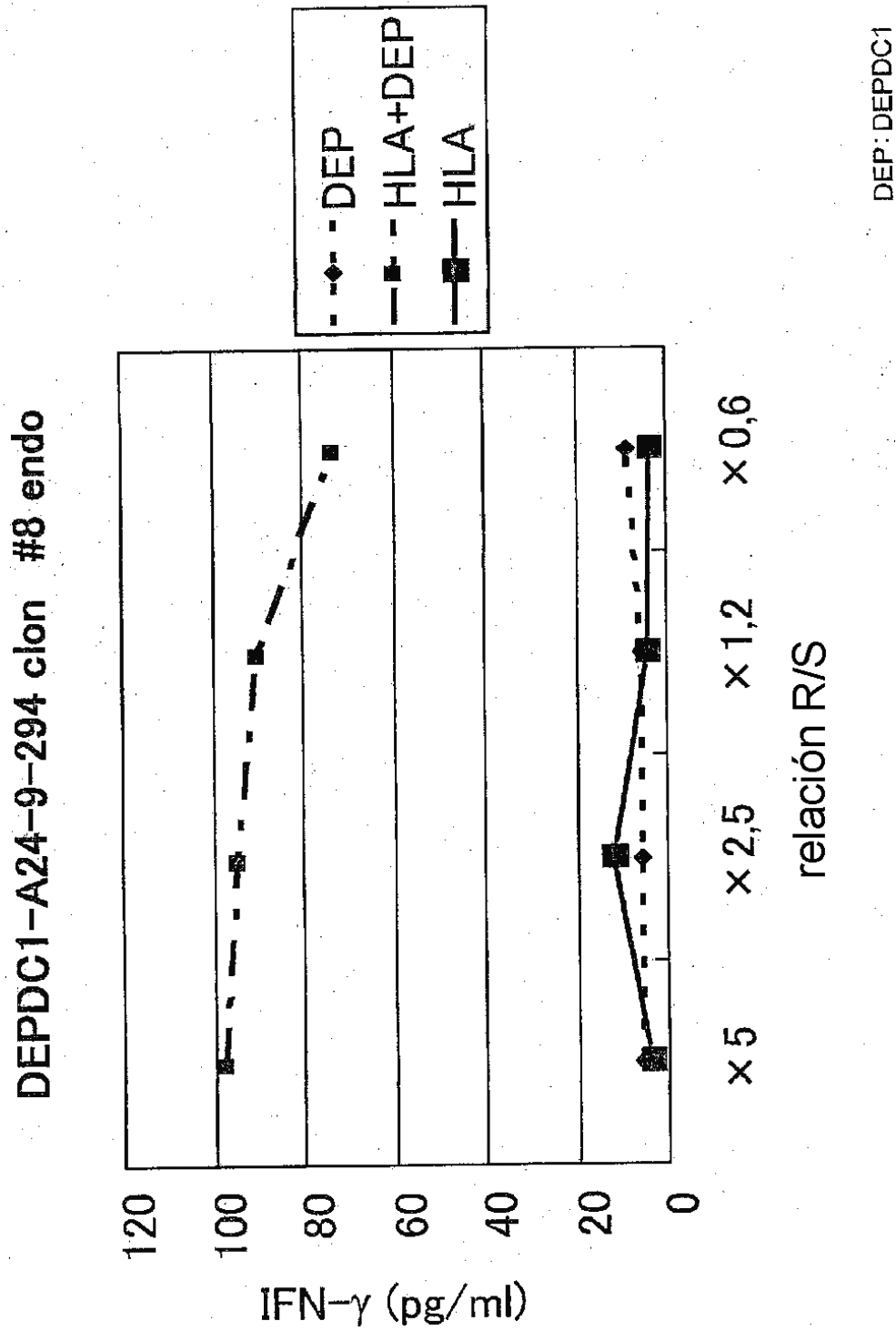
△

Counted by: Thomas Spot 4.0.15

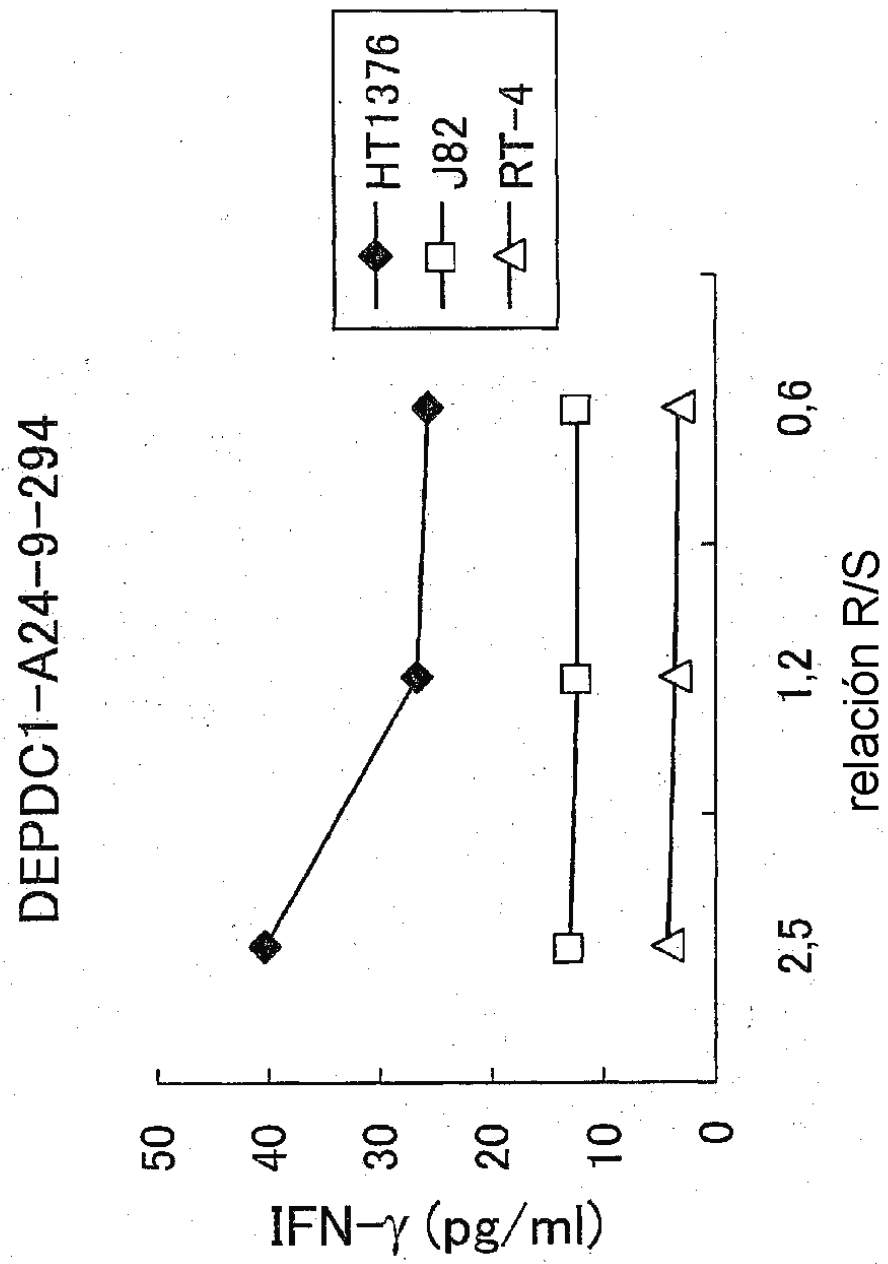
[Fig. 11]



[Fig. 12]



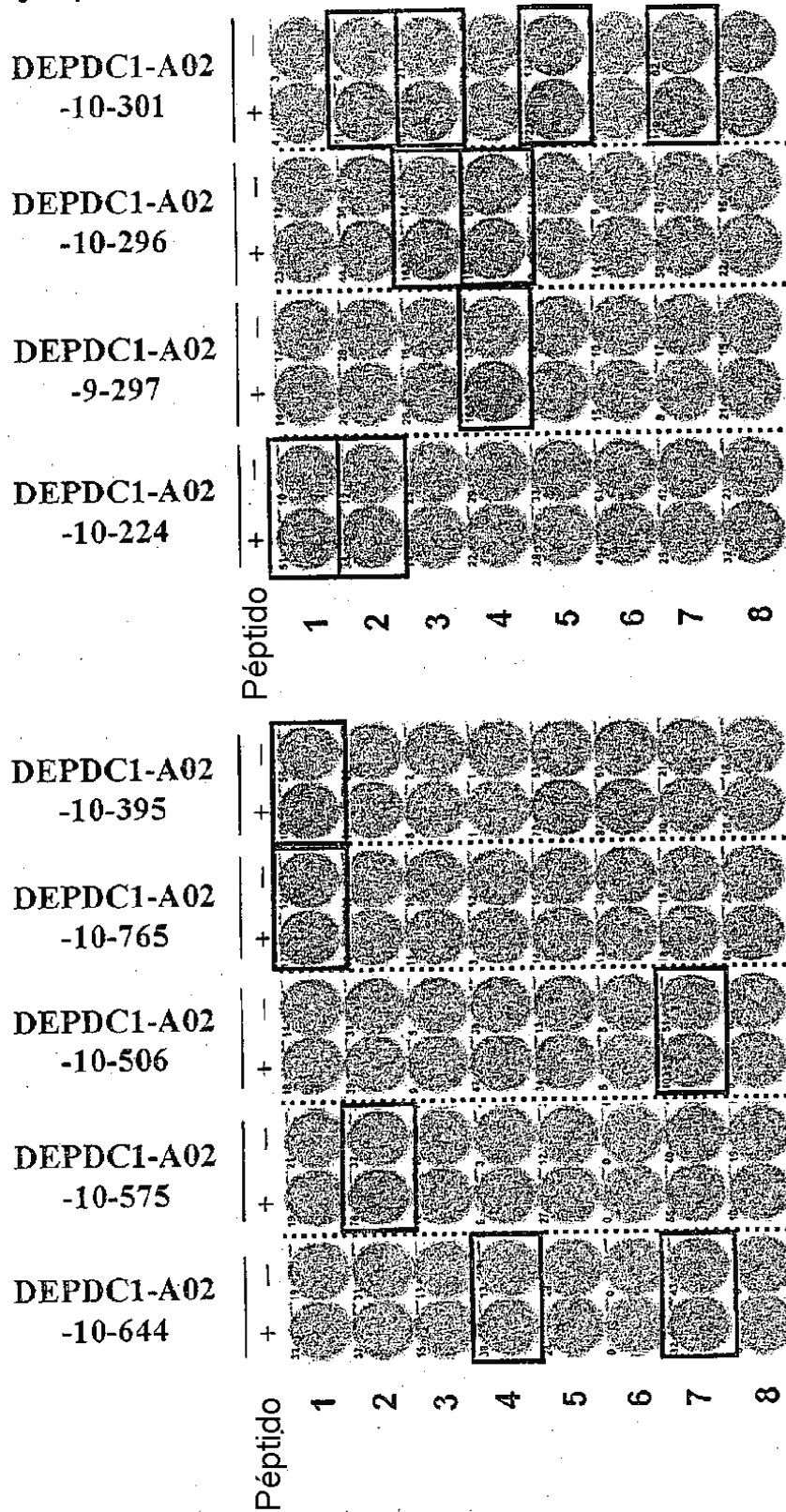
[Fig. 13]



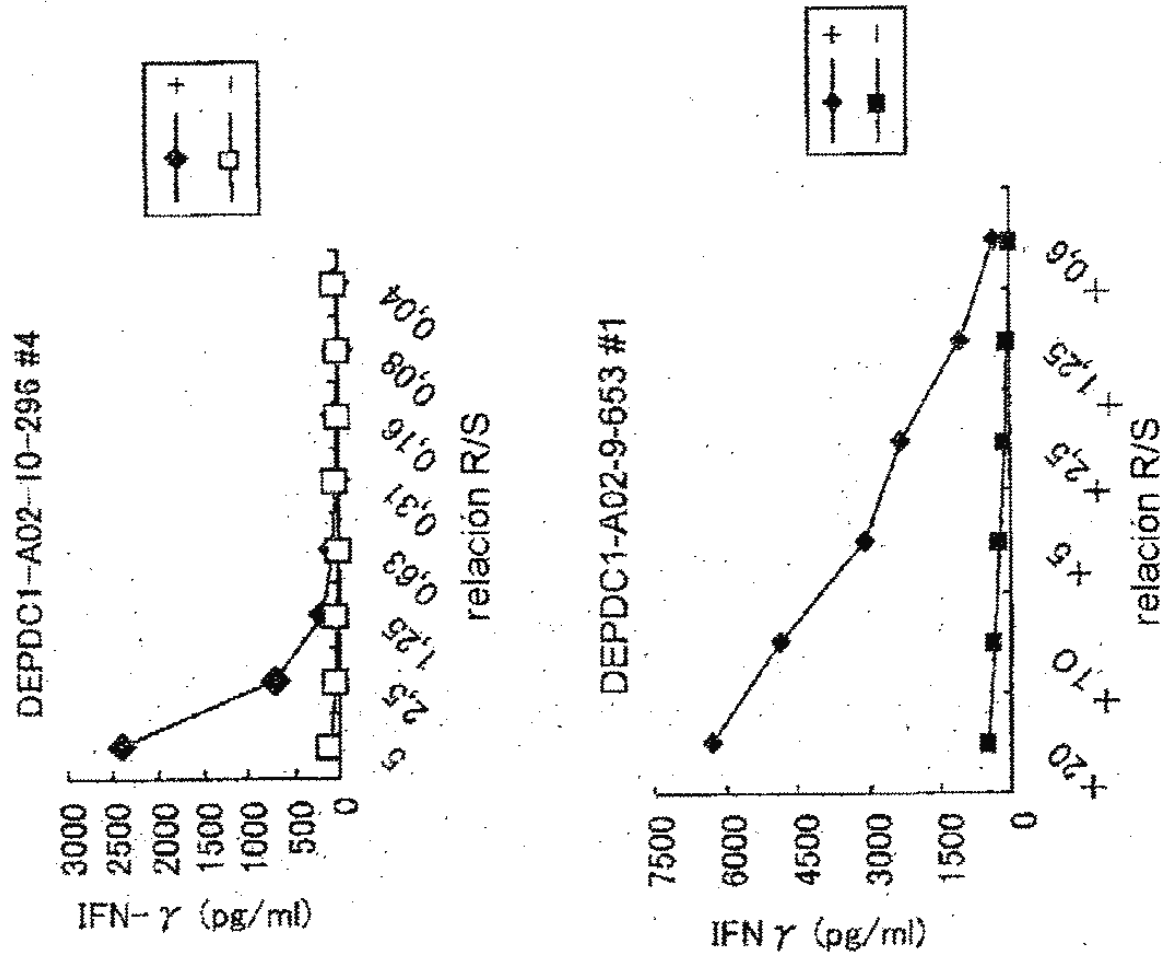
[Fig. 14]



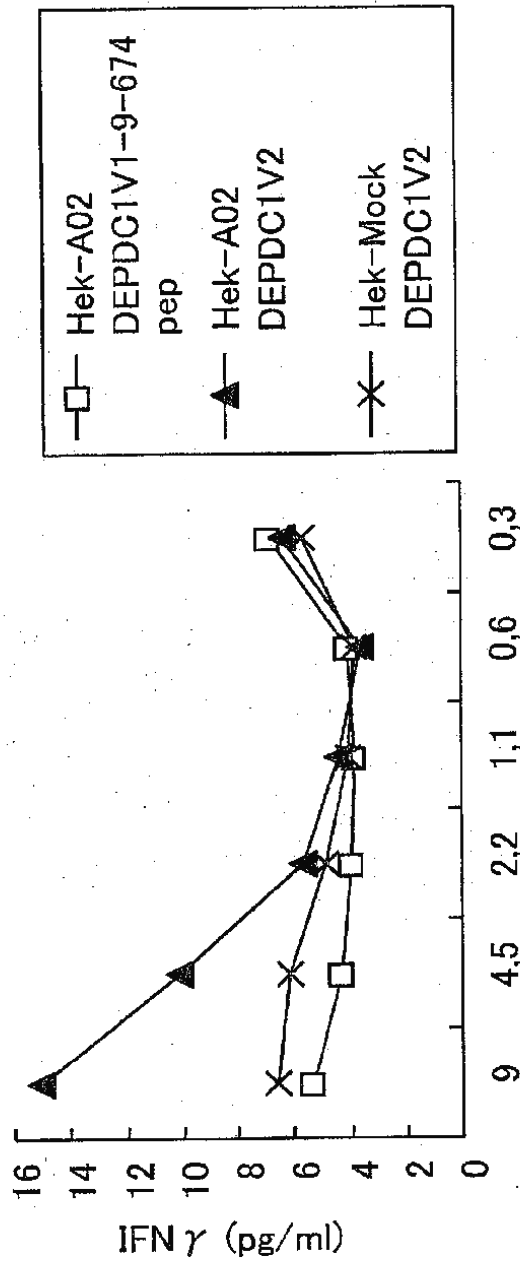
[Fig. 15]



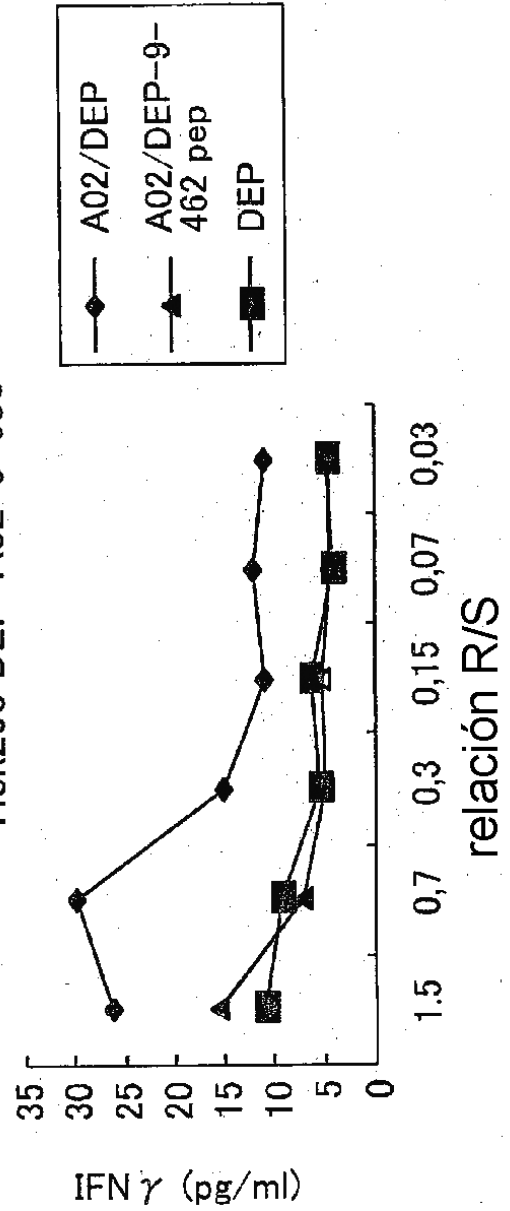
[Fig. 16]



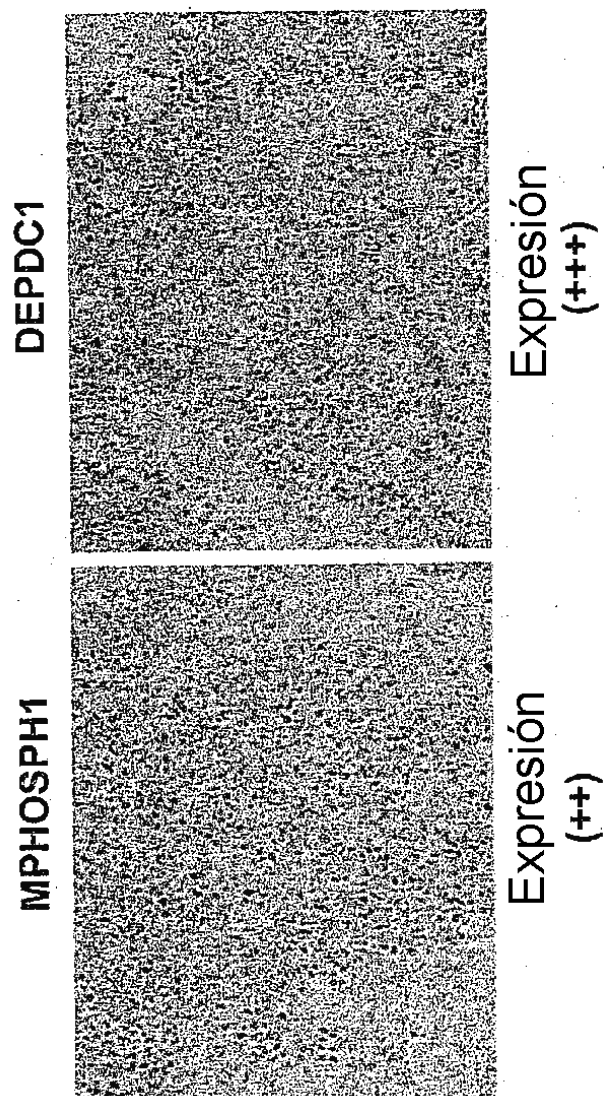
[Fig. 17]



Hek293 DEP-A02-9-653

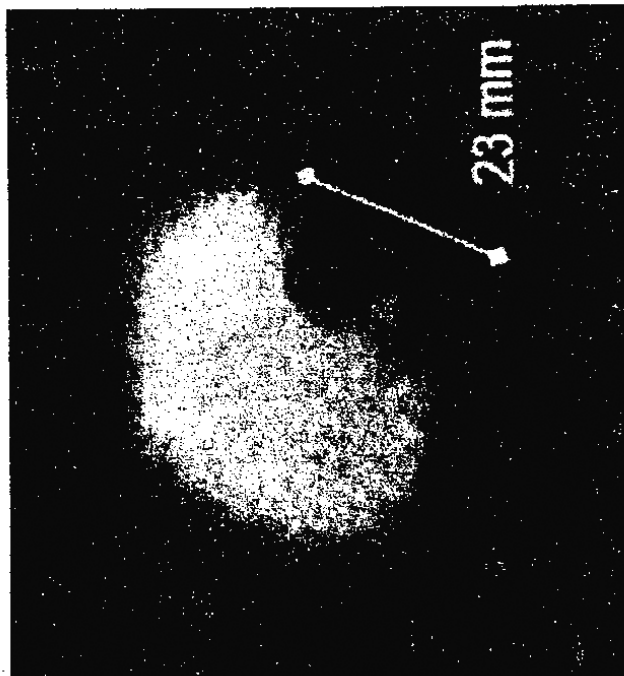


[Fig. 18]



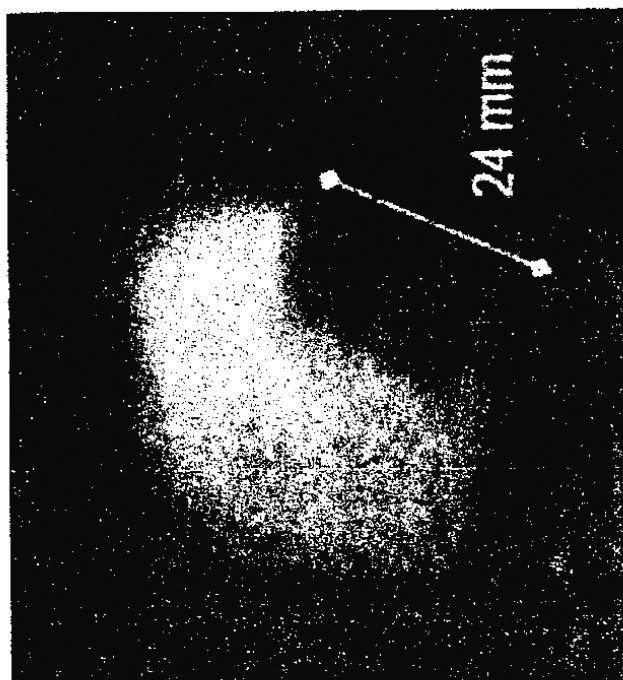
[Fig. 19]

Vejiga



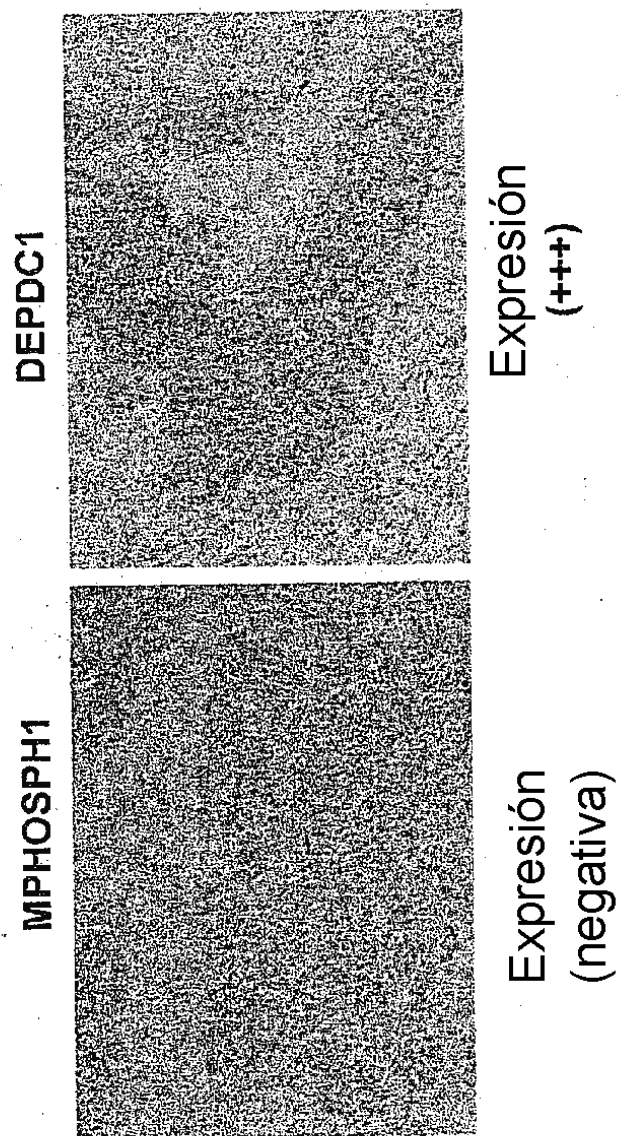
Después de la vacunación

Vejiga



Antes de la vacunación

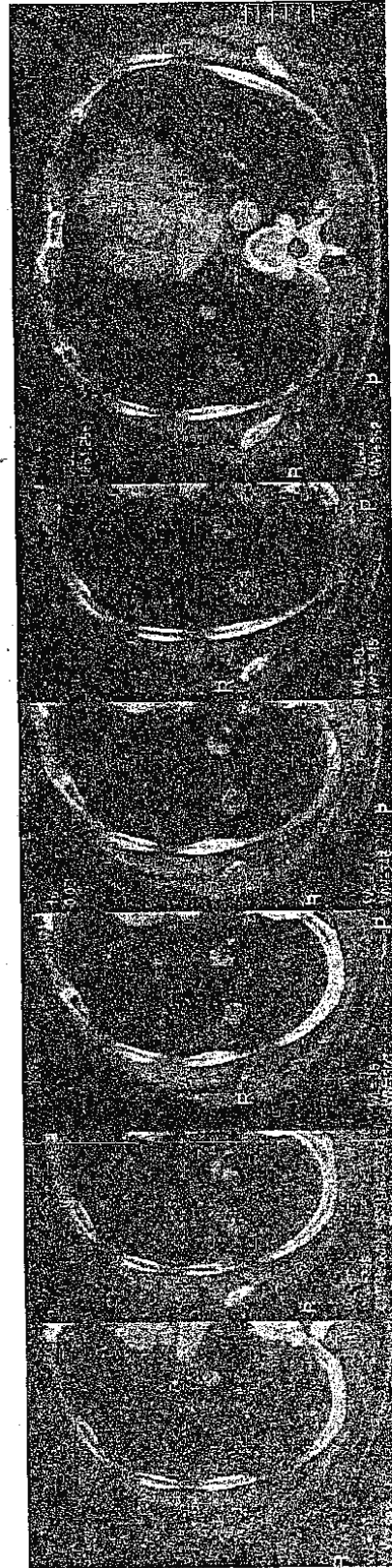
[Fig. 20]



[Fig. 21]

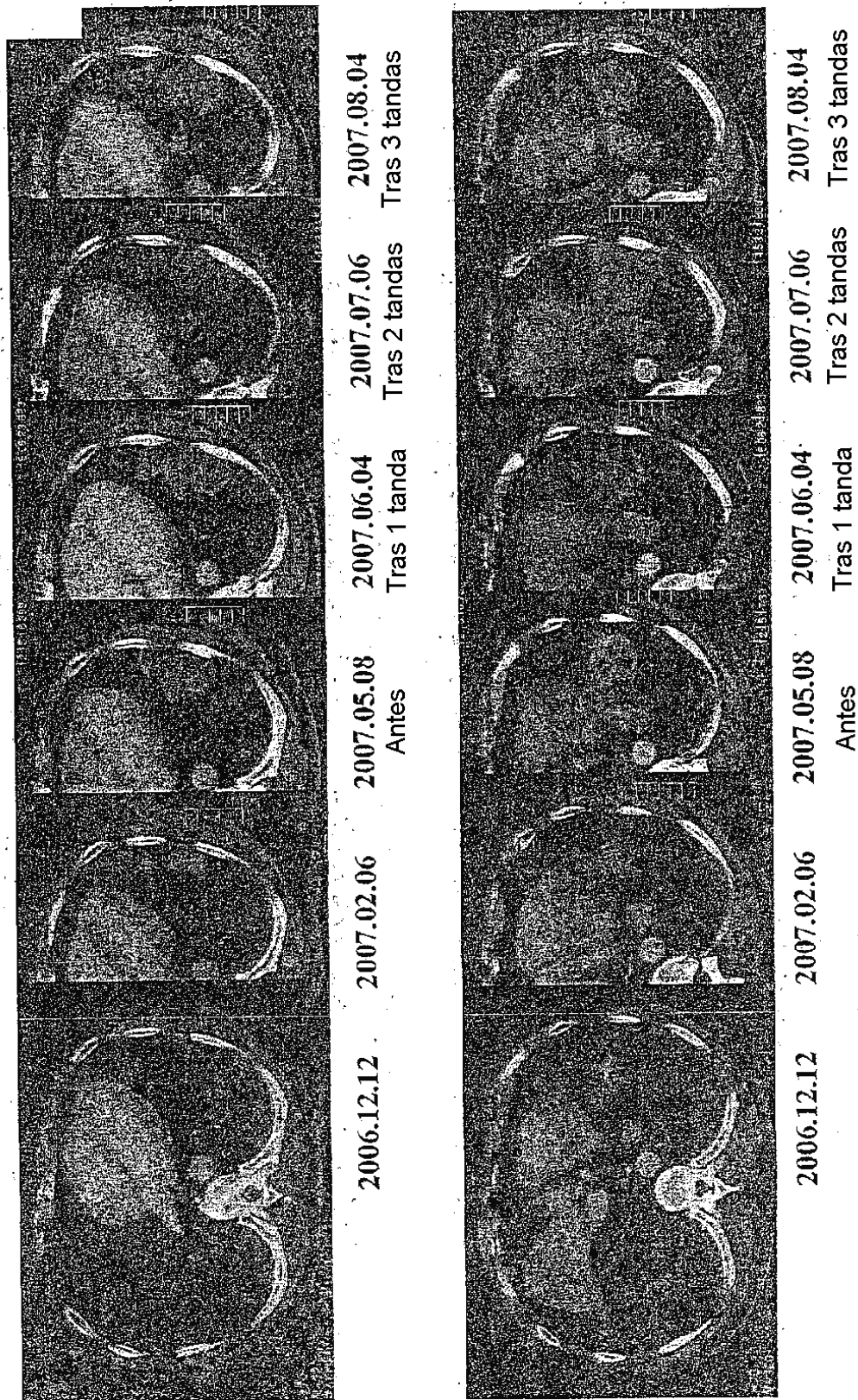


2006.12.12	2007.02.06	2007.05.08	2007.06.04	2007.07.06	2007.08.04
		Antes	Tras 1 tanda	Tras 2 tandas	Tras 3 tandas

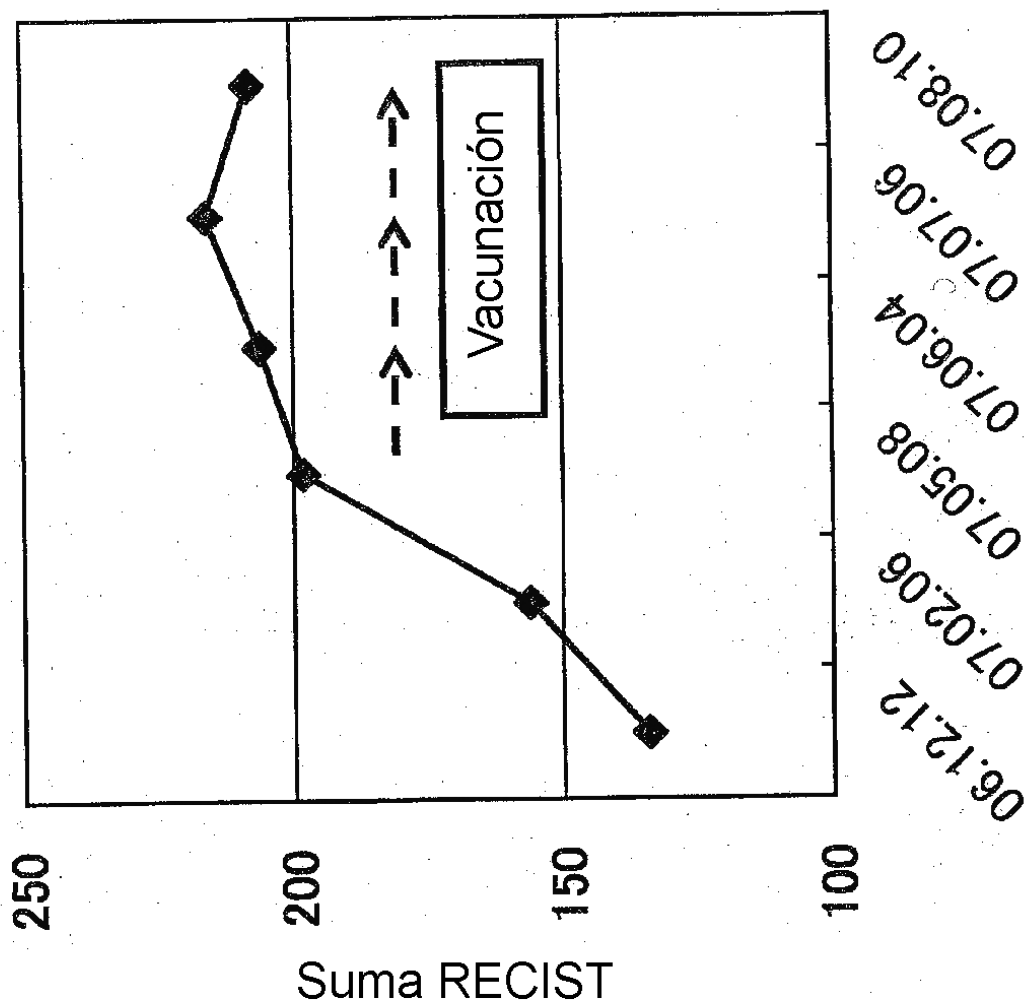


2006.12.12	2007.02.06	2007.05.08	2007.06.04	2007.07.06	2007.08.04
		Antes	Tras 1 tanda	Tras 2 tandas	Tras 3 tandas

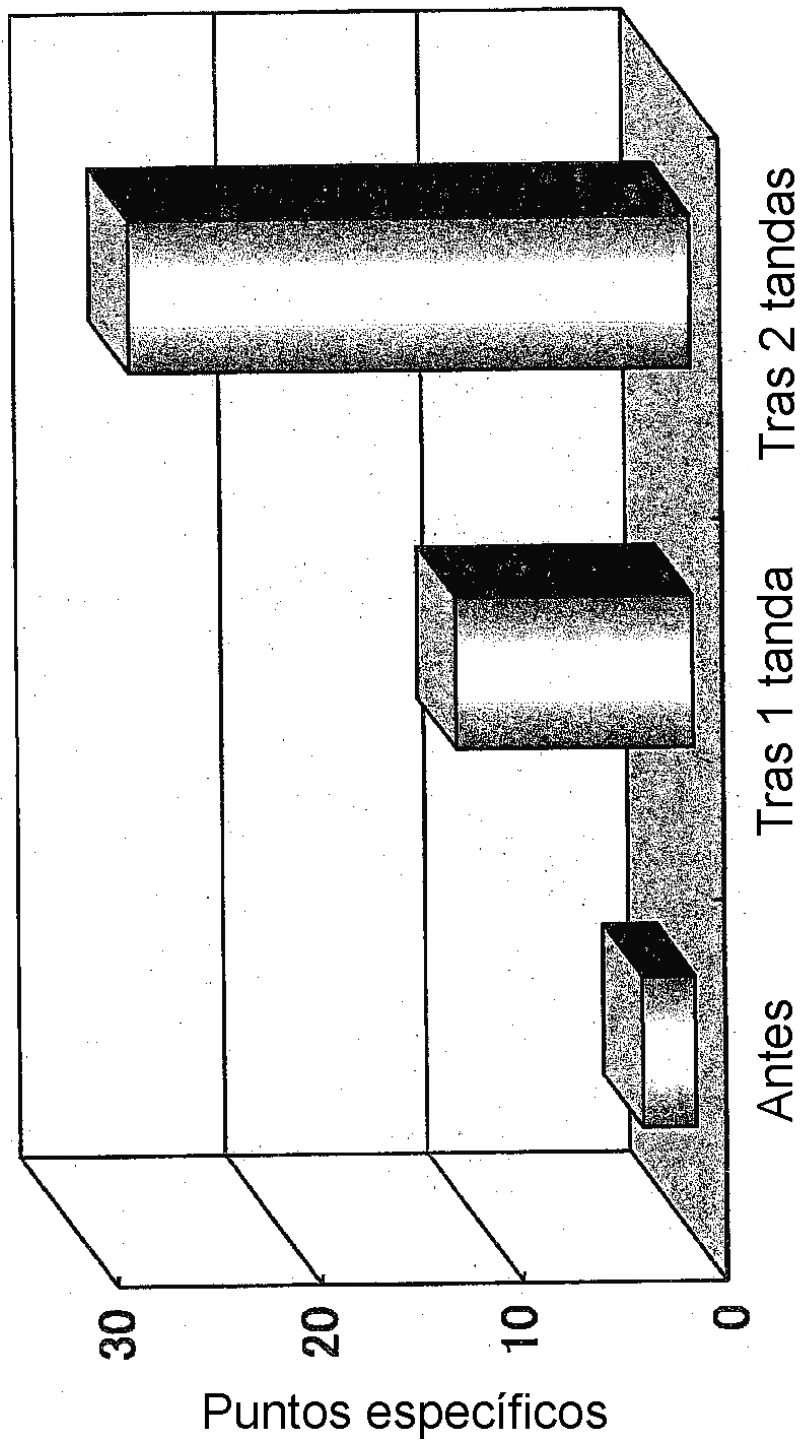
[Fig. 22]



[Fig. 23]

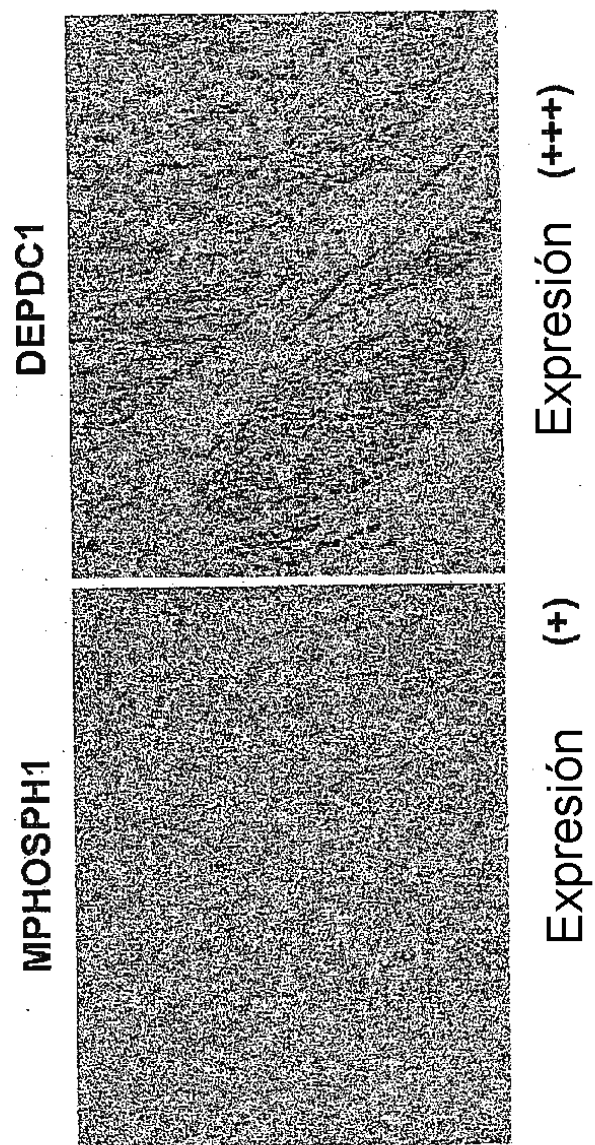


[Fig. 24]



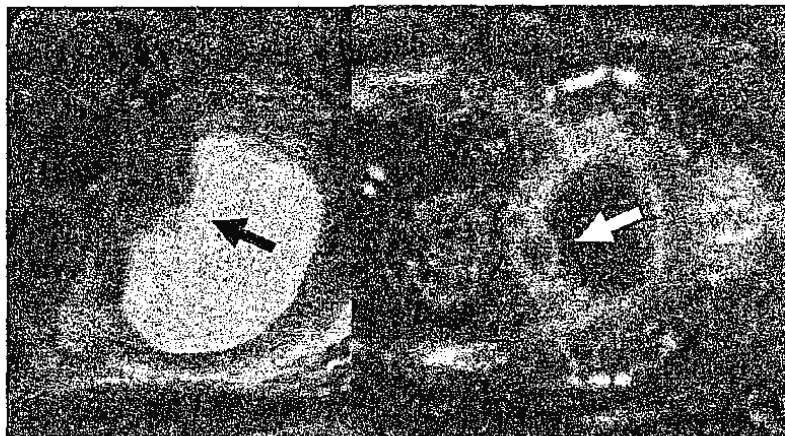
Puntos específicos = Puntos (DEPSC1 pep) - Puntos (VIH pep)

[Fig. 25]



[Fig. 26]

Tras 1 tanda
07.08.17



Antes
07.07.11

