

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 079**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**G01N 33/574** (2006.01)  
**C07K 16/30** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 48/00** (2006.01)  
**C07K 14/47** (2006.01)  
**C12Q 1/68** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2003 E 03714811 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 1483389**

54 Título: **Productos génicos expresados de manera diferencial en tumores y utilización de los mismos**

30 Prioridad:

**13.03.2002 DE 10211088**

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

**10.02.2016**

73 Titular/es:

**GANYMED PHARMACEUTICALS AG (100.0%)  
An der Goldgrube 12  
55131 Mainz, DE**

72 Inventor/es:

**SAHIN, UGUR;  
TÜRECI, ÖZLEM y  
KOSLOWSKI, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 559 079 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

Productos génicos expresados de manera diferencial en tumores y utilización de los mismos.

5 A pesar de los enfoques interdisciplinarios y de la utilización exhaustiva de los procedimientos terapéuticos clásicos, el cáncer se encuentra todavía entre las principales causas de muerte. Los conceptos terapéuticos más recientes tienen como objetivo la incorporación del sistema inmunitario del paciente en el concepto terapéutico global mediante la utilización de vacunas tumorales recombinantes y otras medidas específicas tales como la terapia con anticuerpos. Un requisito previo para el éxito de una estrategia de este tipo es el reconocimiento de antígenos o epítomos específicos de tumores o asociados a tumores por el sistema inmunitario del paciente cuyas funciones efectoras van a potenciarse de manera intervencionista. Las células tumorales biológicamente difieren sustancialmente de sus células de origen no malignas. Estas diferencias se deben a alteraciones genéticas adquiridas durante el desarrollo tumoral y también dan como resultado, entre otros, la formación de estructuras moleculares alteradas de manera cualitativa o cuantitativa en las células cancerosas. Las estructuras asociadas a tumores de este tipo, que se reconocen por el sistema inmunitario específico del huésped que porta el tumor, se denominan como antígenos asociados a tumores. El reconocimiento específico de los antígenos asociados a tumores implica mecanismos celulares y humorales que son dos unidades funcionalmente interconectadas: los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> reconocen los antígenos procesados presentados en las moléculas de las clases II y I del CMH (complejo mayor de histocompatibilidad), respectivamente, mientras que los linfocitos B producen moléculas de anticuerpos circulantes que se unen directamente a antígenos no procesados. La potencial importancia clínico-terapéutica de los antígenos asociados a tumores resulta del hecho de que el reconocimiento de antígenos en células neoplásicas por el sistema inmunitario conduce a la iniciación de mecanismos efectores citotóxicos y, en presencia de células T cooperadoras, pueden provocar la eliminación de las células cancerosas (Pardoll, *Nat. Med.* 4: 525-31, 1998). Por consiguiente, un objetivo central de la inmunología tumoral consiste en definir molecularmente estas estructuras. La naturaleza molecular de estos antígenos ha sido enigmática durante mucho tiempo. Sólo tras el desarrollo de técnicas de clonación apropiadas ha sido posible examinar sistemáticamente bibliotecas de expresión de ADNc de tumores para determinar antígenos asociados a tumores analizando las estructuras diana de los linfocitos T citotóxicos (CTL) (van der Bruggen *et al.*, *Science* 254: 1643-7, 1991) o utilizando autoanticuerpos circulantes (Sahin *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.* 9: 709-16, 1997) como sondas. Para este fin, se prepararon bibliotecas de expresión de ADNc a partir de tejido tumoral reciente y se expresaron de manera recombinante como proteínas en sistemas adecuados. Se utilizaron inmunoelectores aislados de pacientes, concretamente clones de CTL con patrones de lisis específicos de tumores, o autoanticuerpos circulantes para clonar los antígenos respectivos.

35 En los últimos años, se ha definido una multiplicidad de antígenos en diversas neoplasias mediante estos enfoques. En este caso, la clase de antígenos cáncer/testículo (CTA) es de gran interés. Los CTA y los genes que codifican para los mismos (genes cáncer/testículo o CTG) se definen por su patrón de expresión característico [Tureci *et al.*, *Mol Med Today.* 3:342-9, 1997]. No se encuentran en tejidos normales, excepto en el testículo y las células germinales, pero se expresan en varios malignomas humanos, no específicamente del tipo tumoral sino con diferente frecuencia en entidades tumorales de orígenes muy diferentes (Chen & Old, *Cancer J. Sci. Am.* 5:16-7, 1999). Las reactividades de suero contra CTA no se encuentran en controles sanos sino únicamente en pacientes con tumores. Esta clase de antígenos, en particular debido a su distribución tisular, es particularmente valiosa para proyectos inmunoterapéuticos y se somete a prueba en estudios clínicos con pacientes actuales (Marchand *et al.*, *Int. J. Cancer* 80:219-30, 1999; Knuth *et al.*, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 46: págs. 46-51, 2000).

45 Sin embargo, los procedimientos clásicos expuestos anteriormente para la identificación de antígenos utilizan inmunoelectores (autoanticuerpos circulantes o clones de CTL) de pacientes que habitualmente presentan ya cáncer avanzado como sondas. Varios datos indican que los tumores pueden conducir, por ejemplo a la tolerización y anergización de células T y que, durante la evolución de la enfermedad, especialmente las especificidades que podrían provocar un reconocimiento inmunitario eficaz se pierden del repertorio inmunoelector. Los estudios con pacientes actuales aún no han producido ninguna prueba sólida de una acción real de los antígenos asociados a tumores hallados anteriormente y que se han utilizado. Por consiguiente, no puede descartarse que las proteínas que provocan respuestas inmunitarias espontáneas sean las estructuras diana erróneas.

55 El objetivo de la presente invención es proporcionar estructuras diana para un diagnóstico de cánceres.

Según la invención, este objetivo se alcanza mediante el objeto de las reivindicaciones.

60 Según la invención, se siguió una estrategia para identificar y proporcionar antígenos expresados en asociación con tumores y los ácidos nucleicos que codifican para los mismos. Esta estrategia se basa en el hecho de que en realidad genes específicos de testículo y por tanto genes específicos de células germinales, que normalmente están silenciados en tejidos adultos, se reactivan de manera ectópica y sin permiso en las células tumorales. En primer lugar, la minería de datos produce una lista que es tan completa como sea posible de todos los genes específicos de testículo conocidos y estos genes luego se evalúan mediante análisis de expresión por medio de RT-PCR específica para determinar su activación aberrante en tumores. La minería de datos es un procedimiento conocido de identificación de genes asociados a tumores. Sin embargo, en las estrategias convencionales, habitualmente se

sustraen electrónicamente los transcriptomas de bibliotecas de tejidos normales de bibliotecas de tejidos tumorales, suponiendo que los genes restantes son específicos de tumor (Schmitt *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 27:4251-60, 1999; Vasmatazis *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:300-4, 1998; Scheurle *et al.*, *Cancer Res.* 60:4037-43, 2000).

5 Sin embargo, el concepto de la invención, que ha demostrado ser mucho más satisfactorio, se basa en utilizar la minería de datos para extraer electrónicamente todos los genes específicos de testículo y entonces evaluar dichos genes para determinar su expresión ectópica en tumores.

10 Por tanto, en la presente memoria se describe una estrategia para identificar genes expresados de manera diferencial en tumores. Esta combina la minería de datos de bibliotecas de secuencias públicas ("*in silico*") con posteriores estudios experimentales de laboratorio de evaluación ("*wet bench*", banco de trabajo para ensayo por vía húmeda).

15 Una estrategia combinada basada en dos comandos bioinformáticos diferentes permitió según la invención que se identificaran nuevos miembros de la clase de genes cáncer/testículo. Estos se clasifican hasta ahora como puramente específicos de testículos, células germinales o espermatozoides. El conocimiento de que estos genes se activan de forma aberrante en las células tumorales, permite que se asigne una calidad sustancialmente nueva con implicaciones funcionales. La identificación y facilitación de esos genes asociados a tumores y los productos génicos codificados por los mismos tuvo lugar según la invención independientemente de una acción inmunogénica.

20 Los antígenos asociados a tumores identificados según la invención presenta una secuencia de aminoácidos que se codifica por un ácido nucleico, que se selecciona de entre el grupo constituido por (a) un ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y (b) un ácido nucleico que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a). En una forma de realización preferida, un antígeno asociado a tumores identificado según la invención presenta una secuencia de aminoácidos, que se codifica por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57. En una forma de realización preferida adicional, un antígeno asociado a tumores identificado según la invención comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

30 La presente invención se refiere en general a la utilización de antígenos asociados a tumores identificados según la invención o de partes de los mismos, de ácidos nucleicos que codifican para los mismos o de ácidos nucleicos que se dirigen contra los ácidos nucleicos codificantes, o de anticuerpos que se dirigen contra los antígenos asociados a tumores identificados según la invención o partes de los mismos, para el diagnóstico del cáncer. Esta utilización puede afectar a elementos individuales, pero también a combinaciones de varios de estos antígenos, fragmentos funcionales, ácidos nucleicos, anticuerpos, etc., en una forma de realización también en combinación con otros antígenos y genes asociados a tumores para un diagnóstico y seguimiento.

40 Las enfermedades preferidas para un diagnóstico son cánceres en los que existe una expresión selectiva del antígeno asociado a tumores identificado según la invención.

45 La invención se refiere a ácidos nucleicos y productos génicos, que se expresan de manera asociada a células tumorales y que se producen mediante un corte y empalme modificado (variantes de corte y empalme) de genes conocidos o mediante la traducción modificada utilizando marcos de lectura abiertos alternativos. Estos ácidos nucleicos comprenden las secuencias según (SEC ID NO: 20, 21 y 54 a 57) del protocolo de secuencias. Las variantes de corte y empalme según la invención pueden utilizarse como dianas para el diagnóstico y la terapia de enfermedades tumorales.

50 La causa de la preparación de variantes de corte y empalme pueden ser los mecanismos más diversos, por ejemplo

- la utilización de sitios de iniciación de la transcripción variables
- la utilización de exones adicionales
- 55 - corte y empalme completo o incompleto de exones individuales o varios exones,
- a través de la mutación de secuencias reguladoras de corte y empalme modificadas (delección o creación de nuevas secuencias donadoras/aceptoras),
- 60 - la eliminación incompleta de secuencias intrónicas.

El corte y empalme modificado de un gen conduce a una secuencia del transcrito modificada (variante de corte y empalme). Si se traduce una variante de corte y empalme en la región de su secuencia modificada, se obtiene como resultado una proteína modificada, que puede diferenciarse claramente de la original en su estructura y función. En el caso de variantes de corte y empalme asociadas a tumores pueden producirse transcritos asociados a tumores y proteínas/antígenos asociados a tumores. Estos pueden utilizarse como marcadores moleculares tanto para la

detección de células tumorales como para la selección terapéutica como diana de tumores. La detección de células tumorales por ejemplo en sangre, suero, médula ósea, esputo, lavado bronquial, secreciones corporales y biopsias de tejido puede tener lugar según la invención, por ejemplo, tras la extracción de ácidos nucleicos mediante amplificación por PCR con oligonucleótidos específicos de variantes de corte y empalme. Para la detección son adecuados según la invención todos los sistemas de detección dependientes de secuencia. Además de la PCR estos son, por ejemplo, sistemas de chip génico/microalineamiento, transferencia de tipo Northern, ensayos de protección con ARNasa (RDA) y otros. Todos los sistemas de detección tienen en común que la detección se basa en una hibridación específica con por lo menos una secuencia de ácido nucleico específica de variantes de corte y empalme. Sin embargo, la detección de células tumorales también puede tener lugar según la invención mediante anticuerpos, que reconocen un epítipo específico codificado por la variante de corte y empalme. Para la preparación de los anticuerpos pueden utilizarse péptidos para la inmunización, que son específicos para esta variante de corte y empalme. Para la inmunización son adecuados especialmente los aminoácidos que presentan claras diferencias de epítipos con respecto a la variante/las variantes del producto génico, que se forma(n) preferiblemente en células sanas. A este respecto, la detección de las células tumorales con anticuerpos puede tener lugar en una muestra aislada del paciente o como formación de imágenes con anticuerpos aplicados por vía intravenosa. Además de la utilidad diagnóstica, las variantes de corte y empalme, que presentan epítipos nuevos o modificados, representan dianas atractivas para la terapia inmunitaria. Los epítipos según la invención pueden utilizarse para seleccionar como diana linfocitos T o anticuerpos monoclonales terapéuticamente eficaces. En este sentido, en la terapia inmunitaria pasiva se transfieren de manera adoptiva anticuerpos o linfocitos T, que reconocen epítipos específicos de variantes de corte y empalme. La generación de anticuerpos puede tener lugar, como en el caso de otros antígenos, también utilizando tecnologías convencionales (inmunización de animales, estrategias de cribado para el aislamiento de anticuerpos recombinantes) utilizando polipéptidos, que contienen estos epítipos. Alternativamente, para la inmunización pueden utilizarse ácidos nucleicos, que codifican para oligo- o polipéptidos, que contienen estos epítipos. Se conocen diferentes técnicas para la generación *in vitro* o *in vivo* de linfocitos T específicos de epítipo y se describen detalladamente, por ejemplo, (Kessler JH, *et al.* 2001, Sahin *et al.*, 1997) y se basan igualmente en la utilización de oligo- o polipéptidos, que contienen los epítipos específicos de las variantes de corte y empalme o ácidos nucleicos, que codifican para los mismos. También pueden utilizarse oligo- o polipéptidos, que contienen los epítipos específicos de las variantes de corte y empalme, o ácidos nucleicos, que codifican para estos polipéptidos también pueden utilizarse para su uso como sustancias farmacéuticamente activas en la terapia inmunitaria activa (vacunación, terapia con vacuna).

En un aspecto, la invención se refiere a la utilización de

- (i) una sonda polinucleotídica, que se hibrida específicamente con un ácido nucleico que codifica para un antígeno asociado a tumores, y/o
  - (ii) un anticuerpo, que se une específicamente a un antígeno asociado a tumores, y/o
  - (iii) una proteína o péptido, que se une específicamente a un anticuerpo contra un antígeno asociado a tumores,
- para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico o a la monitorización de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores, en una muestra biológica aislada de un paciente, en la que
- el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:
- (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
  - (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

En un aspecto, la invención se refiere a la utilización de un anticuerpo, que se une a un antígeno asociado a tumores y está acoplado con un agente de diagnóstico, para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico o a la monitorización de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores, en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:

- (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
- (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

En una forma de realización según la invención, el anticuerpo, que se une a un antígeno asociado a tumores, es un

anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado, o un fragmento de un anticuerpo.

En una forma de realización según la invención, el antígeno asociado a tumores comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

5 En un aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo, que se une específicamente a un antígeno asociado a tumores, en el que el antígeno asociado a tumores se codifica por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:

10 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

(b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a),

15 para su utilización en un procedimiento destinado al diagnóstico de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores.

20 En una forma de realización según la invención, la proteína o polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

En una forma de realización según la invención, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo.

25 En una forma de realización según la invención, el anticuerpo está acoplado a un agente de diagnóstico.

En una forma de realización según la invención, el agente de diagnóstico es una toxina.

30 En un aspecto, la invención se refiere a la utilización de un kit para el diagnóstico de un cáncer caracterizado por la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende agentes para la detección de

(i) el ácido nucleico que codifica para el antígeno asociado a tumores,

35 (ii) el antígeno asociado a tumores,

(iii) de anticuerpos que se unen al antígeno asociado a tumores, y/o

(iv) de células T, que son específicas para un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, y una molécula del CMH,

40 en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:

45 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

(b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

50 En una forma de realización según la invención, los agentes para la detección del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, son moléculas de ácido nucleico para la amplificación selectiva del ácido nucleico.

55 En un aspecto, la invención se refiere a la utilización de un anticuerpo, que se une a TPTE y está acoplado con un agente de diagnóstico, para la preparación de una composición farmacéutica para el diagnóstico o la monitorización de un tumor metastásico, caracterizado por la expresión de TPTE, en la que la TPTE presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico, que consiste en:

(a) un ácido nucleico que comprende la secuencia de ácido nucleico según SEC ID NO: 19, y

60 (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

65 En una forma de realización según la invención, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado, o un fragmento de un anticuerpo.

En un aspecto, la invención se refiere a un procedimiento *in vitro* para el diagnóstico de un cáncer, caracterizado por

la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende

(i) la detección de un ácido nucleico, que codifica para un antígeno asociado a tumores, y/o

5 (ii) la detección de un antígeno asociado a tumores y/o

(iii) la detección de un anticuerpo contra un antígeno asociado a tumores y/o

10 (iv) la detección de células T cooperadoras o citotóxicas, que son específicas para un antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, en una muestra biológica aislada de un paciente, en el que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:

15 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

(b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

20 En una forma de realización según la invención, la detección comprende

(i) poner en contacto la muestra biológica con un agente, que se une específicamente al ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, al antígeno asociado a tumores, al anticuerpo o a las células T cooperadoras o citotóxicas, y

25 (ii) detectar la formación de complejo entre el agente y el ácido nucleico, el antígeno asociado a tumores, el anticuerpo o las células T cooperadoras o citotóxicas, en la que la detección se compara preferiblemente con la detección en una muestra biológica normal comparable.

30 En un aspecto, la invención se refiere a un procedimiento *in vitro* para determinar la regresión, la evolución o la aparición de un cáncer, que se caracteriza por la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende la monitorización de una muestra de un paciente, que presenta cáncer o del que se sospecha que puede padecer cáncer, con respecto a uno o varios parámetros, seleccionados de entre el grupo constituido por:

35 (i) la cantidad de un ácido nucleico que codifica para el antígeno asociado a tumores,

(ii) la cantidad del antígeno asociado a tumores,

40 (iii) la cantidad de anticuerpos, que se unen al antígeno asociado a tumores, y

(iv) la cantidad de células T que secretan citocinas o citolíticas, que son específicas para un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, y una molécula del CMH, en el que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado del grupo que consiste en:

45 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

50 (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

En una forma de realización según la invención, el procedimiento comprende determinar el o los parámetros en un primer momento en una primera muestra y en un segundo momento en una muestra adicional, en el que mediante una comparación de ambas muestras se determina la evolución de la enfermedad.

55 En una forma de realización según la invención, la detección del ácido nucleico o la monitorización de la cantidad del ácido nucleico tiene lugar con una sonda polinucleotídica, que se hibrida específicamente con el ácido nucleico.

60 En una forma de realización según la invención, la sonda polinucleotídica comprende una secuencia de 6 a 50 nucleótidos contiguos del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores.

En una forma de realización según la invención, la detección del ácido nucleico o la monitorización de la cantidad del ácido nucleico tiene lugar mediante la amplificación selectiva del ácido nucleico.

65 En una forma de realización según la invención, la detección del antígeno asociado a tumores o la monitorización de la cantidad del antígeno asociado a tumores tiene lugar con un anticuerpo, que se une específicamente al antígeno

asociado a tumores.

En una forma de realización según la invención, la detección del anticuerpo o la monitorización de la cantidad de anticuerpos tiene lugar con una proteína o péptido, que se une específicamente al anticuerpo.

5 En una forma de realización según la invención, la detección de las células T o la monitorización de la cantidad de células T tiene lugar con una célula, que presenta el complejo entre el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo y una molécula del CMH.

10 En una forma de realización según la invención, la sonda polinucleotídica, el anticuerpo, la proteína o péptido o la célula están marcados de manera detectable.

En una forma de realización según la invención, el marcador detectable es un marcador radiactivo o un marcador enzimático.

15 En una forma de realización según la invención, la muestra comprende fluido corporal y/o tejido corporal.

En una forma de realización según la invención, el antígeno asociado a tumores comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

20 Una composición farmacéutica puede comprender un portador farmacéuticamente compatible y/o un adyuvante. El adyuvante puede seleccionarse de entre saponina, GM-CSF, nucleótidos de CpG, ARN, una citocina o una quimiocina. Una composición farmacéutica según la invención se utiliza preferiblemente para el tratamiento de una enfermedad, que se caracteriza por la expresión selectiva o expresión anómala de un antígeno asociado a tumores.  
25 En una forma de realización preferida, la enfermedad es cáncer.

Por lo demás la invención se refiere a los procedimientos y utilizaciones definidos más detalladamente en las reivindicaciones para el diagnóstico de un cáncer, que se caracteriza por la expresión de uno o varios antígenos asociados a tumores.

30 En la presente memoria se describen utilizaciones y un procedimiento para el diagnóstico de un cáncer, que se caracterizan por la expresión del antígeno asociado a tumores identificado según la invención. El procedimiento comprende (i) detectar un ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, o una parte del mismo, y/o (ii) detectar el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, y/o (iii) detectar un anticuerpo contra el  
35 antígeno asociado a tumores o una parte del mismo y/o (iv) detectar linfocitos T cooperadores o citotóxicos, que son específicos para el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, en una muestra biológica aislada de un paciente. En determinadas formas de realización la detección comprende (i) poner en contacto la muestra biológica con un agente, que se une específicamente al ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, o la parte del mismo, al antígeno asociado a tumores o la parte del mismo, al anticuerpo o a linfocitos T cooperadores o  
40 citotóxicos, que son específicos para el antígeno asociado a tumores o parte de los mismos, y (ii) detectar la formación de complejo entre el agente y el ácido nucleico o la parte del mismo, el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo, el anticuerpo o los linfocitos T cooperadores o citotóxicos. En una forma de realización, la enfermedad se caracteriza por la expresión o expresión anómala de varios antígenos diferentes asociados a tumores y la detección comprende detectar varios ácidos nucleicos, que codifican para los diversos antígenos  
45 asociados a tumores diferentes, o partes de los mismos, detectar los diversos antígenos asociados a tumores diferentes o partes de los mismos, detectar varios anticuerpos, que se unen a los diversos antígenos asociados a tumores diferentes o a partes de los mismos, o detectar varios linfocitos T cooperadores o citotóxicos, que son específicos para los diversos antígenos asociados a tumores diferentes. En una forma de realización adicional, la muestra biológica aislada del paciente se compara con una muestra biológica normal comparable.

50 En la presente memoria se describe además un procedimiento para determinar la regresión, la evolución o la aparición de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores identificado según la invención, que comprende la monitorización de una muestra de un paciente que presenta la enfermedad o del que se sospecha que puede padecer la enfermedad, con respecto a uno o varios parámetros seleccionados de entre el  
55 grupo constituido por (i) la cantidad del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, o una parte del mismo, (ii) la cantidad del antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, (iii) la cantidad de anticuerpos, que se unen al antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, y (iv) la cantidad de células T citolíticas o células T cooperadoras, que son específicas para un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo y una molécula del CMH. Preferiblemente, el procedimiento comprende determinar el o los parámetros en un primer momento en una primera muestra y en un segundo momento en una muestra adicional, determinándose mediante una comparación de ambas muestras la evolución de la enfermedad. En determinadas formas de realización, la enfermedad se caracteriza por la expresión o expresión anómala de varios antígenos asociados a tumores diferentes y la monitorización comprende una monitorización de (i) la cantidad de varios ácidos nucleicos, que codifican para los diversos antígenos asociados a tumores diferentes, o de partes de los mismos, y/o (ii) la cantidad de los diversos antígenos asociados a tumores diferentes o de partes de los mismos y/o (iii) la cantidad de  
60 varios anticuerpos, que se unen a los diversos antígenos asociados a tumores diferentes o a partes de los mismos,

y/o (iv) la cantidad de varias células T citolíticas o células T cooperadoras, que son específicas para complejos entre los diversos antígenos asociados a tumores diferentes o de partes de los mismos y moléculas del CMH.

5 Una detección de un ácido nucleico o de una parte del mismo o una monitorización de la cantidad de un ácido nucleico o de una parte del mismo puede tener lugar según la invención con una sonda polinucleotídica, que se hibrida específicamente con el ácido nucleico o la parte del mismo, o puede tener lugar mediante la amplificación selectiva del ácido nucleico o de la parte del mismo. En una forma de realización, la sonda polinucleotídica comprende una secuencia de 6 a 50, por ejemplo 10 a 30, 15 a 30 y 20 a 30 nucleótidos contiguos del ácido nucleico.

10 En determinadas formas de realización, el antígeno asociado a tumores que debe detectarse o la parte del mismo está presente de manera intracelular o sobre la superficie celular. Una detección de un antígeno asociado a tumores o de una parte del mismo, o una monitorización de la cantidad de un antígeno asociado a tumores o de una parte del mismo puede tener lugar con un anticuerpo, que se une específicamente al antígeno asociado a tumores o la parte del mismo.

15 En formas de realización adicionales, el antígeno asociado a tumores que debe detectarse o la parte del mismo está presente en un complejo con una molécula del CMH, en particular una molécula de HLA.

20 Una detección de un anticuerpo o la monitorización de la cantidad de anticuerpos puede tener lugar con una proteína o péptido, que se une específicamente al anticuerpo.

25 Una detección de células T citolíticas o células T cooperadoras o la monitorización de la cantidad de células T citolíticas o células T cooperadoras, que son específicas para complejos entre un antígeno o una parte del mismo y moléculas del CMH, puede tener lugar con una célula, que presenta el complejo entre el antígeno o la parte del mismo y una molécula del CMH.

30 La sonda polinucleotídica utilizada para una detección o para una monitorización, el anticuerpo, la proteína o péptido o la célula están, por ejemplo, marcados de manera detectable, siendo por ejemplo el marcador detectable un marcador radiactivo o un marcador enzimático. La detección de linfocitos T puede tener lugar adicionalmente mediante la detección de su proliferación, su preparación de citocinas, así como su actividad citotóxica, que se desencadena mediante la estimulación específica con el complejo del CMH y antígeno asociado a tumores o partes del mismo. La detección de linfocitos T puede tener lugar además mediante una molécula del CMH recombinante o también un complejo de varias moléculas del CMH, que están cargadas con el respectivo fragmento inmunogénico de uno o varios de los antígenos asociados a tumores y mediante la puesta en contacto del receptor de células T específico que puede identificar linfocitos T específicos.

35 En un aspecto adicional, la invención se refiere en general a un procedimiento y a diferentes utilizaciones para el diagnóstico o la monitorización de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores identificado según la invención. Tales procedimientos y utilizaciones pueden comprender la administración de un anticuerpo, que se une al antígeno asociado a tumores o una parte del mismo y está acoplado con un agente de diagnóstico. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal. En formas de realización adicionales, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo natural.

40 Por lo demás, la invención se refiere a un ácido nucleico, seleccionado de entre el grupo constituido por (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 20 a 21 y 54 a 57 y (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a). Por lo demás, la invención se refiere a un ácido nucleico, que codifica para una proteína o polipéptido, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 23 a 24 y 58 a 61.

45 Es concebible, por ejemplo, una molécula de ácido nucleico recombinante, en particular una molécula de ADN o de ARN, que comprende un ácido nucleico según la invención.

50 La invención se refiere también a células huésped, que contienen un ácido nucleico según la invención o una molécula de ácido nucleico recombinante, que comprende un ácido nucleico según la invención.

55 La célula huésped puede comprender además un ácido nucleico, que codifica para una molécula de HLA. Por ejemplo, la célula huésped expresa la molécula de HLA de manera endógena. Alternativamente, la célula huésped expresa la molécula de HLA y/o el ácido nucleico según la invención o una parte del mismo de manera recombinante. Por ejemplo, la célula huésped no es proliferativa. En una forma de realización, la célula huésped es una célula presentadora de antígeno, por ejemplo una célula dendrítica, un monocito o un macrófago.

60 En una forma de realización adicional, la invención se refiere a oligonucleótidos, que se hibridan con un ácido nucleico identificado según la invención y pueden utilizarse como sondas genéticas. Moléculas de ácido nucleico en forma de cebadores oligonucleotídicos o muestras competentes, que se hibridan con un ácido nucleico identificado

según la invención o partes del mismo, pueden utilizarse para encontrar ácidos nucleicos, que son homólogos al ácido nucleico identificado según la invención. Pueden utilizarse amplificación por PCR, hibridación de tipo Southern y Northern para encontrar ácidos nucleicos homólogos. La hibridación puede tener lugar en condiciones poco rigurosas, mejor de rigurosidad media y lo mejor en condiciones muy rigurosas. El término "condiciones rigurosas" se refiere a condiciones según la invención, que permiten una hibridación específica entre polinucleótidos.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una proteína o polipéptido, que se codifica por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 20 a 21, 54 a 57 y (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a). En una forma de realización preferida, la invención se refiere a una proteína o polipéptido, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 23 a 24 y 58 a 61.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una parte o fragmento inmunogénico del antígeno asociado a tumores identificado según la invención. El fragmento se une preferiblemente a un receptor de HLA humano o anticuerpo humano. Preferiblemente, un fragmento según la invención comprende una secuencia de por lo menos 6, por ejemplo, por lo menos 8, por lo menos 10, por lo menos 12, por lo menos 15, por lo menos 20, por lo menos 30 o por lo menos 50 aminoácidos.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un agente que se une a un antígeno asociado a tumores identificado según la invención o a la parte del mismo. En una forma de realización preferida, el agente es un anticuerpo. En formas de realización adicionales, el anticuerpo es un anticuerpo o un fragmento de un anticuerpo quimérico, humanizado o producido con técnicas combinatorias. Por lo demás, la invención se refiere a un anticuerpo, que se une de manera selectiva a un complejo de (i) un antígeno asociado a tumores identificado según la invención o una parte del mismo y (ii) una molécula del CMH, a la que se une el antígeno asociado a tumores identificado según la invención o la parte del mismo, en el que el anticuerpo no se une solo a (i) o (ii). Un anticuerpo según la invención puede ser un anticuerpo monoclonal. En formas de realización adicionales, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo natural.

Por lo demás, la invención se refiere a un conjugado entre un agente según la invención, que se une a un antígeno asociado a tumores identificado según la invención o a una parte del mismo, o un anticuerpo según la invención y un agente de diagnóstico. En una forma de realización, el agente de diagnóstico es una toxina.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un kit para detectar la expresión del antígeno asociado a tumores identificado según la invención, que comprende agentes para detectar (i) el ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, (ii) el antígeno asociado a tumores, (iii) anticuerpos, que se unen al antígeno asociado a tumores, y/o (iv) células T, que son específicas de un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo y una molécula del CMH. En una forma de realización, los agentes para detectar el ácido nucleico o la parte del mismo son moléculas de ácido nucleico para la amplificación selectiva del ácido nucleico, que comprenden en particular una secuencia de 6 a 50, en particular 10 a 30, 15 a 30 y 20 a 30 nucleótidos contiguos del ácido nucleico.

### Descripción detallada de la invención

Según la invención se describe un gen, que se expresa de manera selectiva o se expresa de manera aberrante en células tumorales y representa un antígeno asociado a tumores.

Los antígenos asociados a tumores son estructuras diana preferidas para enfoques terapéuticos. Concepcionalmente, los enfoques terapéuticos pueden tener como objetivo una inhibición de la actividad del producto génico asociado a tumores expresado de manera selectiva. Esto es útil cuando la expresión aberrante o selectiva es funcionalmente importante desde el punto de vista de la patogénesis tumoral y su supresión va acompañada de un daño selectivo de las células correspondientes. Otros conceptos terapéuticos consideran antígenos asociados a tumores como marcas, que reclutan mecanismos efectores con potencial de daño celular de manera selectiva para células tumorales. En este sentido, la función de la propia molécula diana y su papel en la aparición del tumor es totalmente insignificante.

Con "derivado" de un ácido nucleico quiere decirse que están presentes sustituciones, deleciones y/o adiciones de nucleótidos individuales o múltiples en el ácido nucleico. Además, el término "derivado" comprende también una derivatización química de un ácido nucleico en una base de nucleótido, en el azúcar o en el fosfato. El término "derivado" comprende también ácidos nucleicos, que contienen nucleótidos y análogos de nucleótidos que no se producen de manera natural.

Un ácido nucleico es, por ejemplo, un ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN). Los ácidos nucleicos comprenden ADN genómico, ADNc, ARNm, moléculas producidas de manera recombinante y sintetizadas químicamente. Un ácido nucleico puede estar presente como molécula monocatenaria o bicatenaria y lineal o cerrada covalentemente de manera circular.

Los ácidos nucleicos descritos están, por ejemplo, aislados. El término "ácido nucleico aislado" significa que el ácido nucleico (i) se amplificó *in vitro*, por ejemplo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), (ii) se produjo de manera recombinante mediante clonación, (iii) se purificó, por ejemplo mediante escisión y separación mediante electroforesis en gel o (iv) se sintetizó, por ejemplo mediante síntesis química. Un ácido nucleico aislado es un ácido nucleico, que está disponible para una manipulación mediante técnicas de ADN recombinante.

Entonces, un ácido nucleico es "complementario" a otro ácido nucleico, cuando las dos secuencias se hibridan una con otra y pueden formar un dúplex estable, teniendo lugar la hibridación preferiblemente en condiciones que permiten una hibridación específica entre polinucleótidos (condiciones rigurosas). Las condiciones rigurosas se describen, por ejemplo, en *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook *et al.*, Ed., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1989 o *Current Protocols in Molecular Biology*, F.M. Ausubel *et al.*, Ed., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York y hacen referencia por ejemplo a la hibridación a 65°C en tampón de hibridación (3,5 x SSC, Ficoll al 0,02%, polivinilpirrolidona al 0,02%, albúmina sérica bovina al 0,02%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,5 mM (pH7), SDS al 0,5%, EDTA 2 mM). SSC es cloruro de sodio 0,15 M/citrato de sodio 0,15 M, pH 7. Tras la hibridación se lava la membrana, a la que se transfirió el ADN, por ejemplo en 2 x SSC a temperatura ambiente y después en 0,1 - 0,5 x SSC/0,1 x SDS a temperaturas de hasta 68°C.

Los ácidos nucleicos complementarios presentan una identidad de los nucleótidos de por ejemplo por lo menos el 40%, en particular por lo menos el 50%, por lo menos el 60%, por lo menos el 70%, por lo menos el 80%, por lo menos el 90% y preferiblemente por lo menos el 95%, por lo menos el 98 o por lo menos el 99%.

Los ácidos nucleicos, que codifican para antígenos asociados a tumores, pueden estar presentes solos o en combinación con otros ácidos nucleicos, en particular ácidos nucleicos heterólogos. Un ácido nucleico puede estar presente unido funcionalmente con secuencias de control de expresión o secuencias reguladoras, que pueden ser homólogas o heterólogas con respecto al ácido nucleico. Una secuencia codificante y una secuencia reguladora están entonces unidas "funcionalmente" entre sí, si están enlazadas covalentemente entre sí de tal manera que la expresión o transcripción de la secuencia codificante está bajo el control o bajo la influencia de la secuencia reguladora. En caso de que la secuencia codificante deba traducirse a una proteína funcional, en el caso de una unión funcional de una secuencia reguladora con la secuencia codificante, una inducción de la secuencia reguladora conduce a una transcripción de la secuencia codificante, sin que se produzca un desplazamiento del marco de lectura en la secuencia codificante o una incapacidad de la secuencia codificante de traducirse a la proteína o péptido deseado.

El término "secuencia de control de expresión" o "secuencia reguladora" comprende promotores, potenciadores y otros elementos de control, que controlan la expresión de un gen. Por ejemplo, las secuencias de control de expresión son regulables. La estructura exacta de secuencias reguladoras puede variar en función de la especie o en función del tipo celular, pero comprende en general secuencias no transcritas en 5' y no traducidas en 5', que participan en la iniciación de la transcripción o traducción, como caja TATA, secuencia de ocupación de extremos, secuencia CAAT y similares. En particular, las secuencias de regulación no transcritas en 5' comprenden una región promotora, que incluye una secuencia promotora para un control transcripcional del gen unido funcionalmente. Las secuencias reguladoras también pueden comprender secuencias potenciadoras o secuencias activadoras en el sentido de 5'.

Por tanto, por un lado, el antígeno asociado a tumores expuesto en este caso puede combinarse con cualquier secuencia de control de expresión y promotor. Sin embargo, por otro lado, los promotores de los productos génicos asociados a tumores expuestos en este caso pueden combinarse con cualquier otro gen. Esto permite aprovechar la actividad selectiva de estos promotores.

Por lo demás, un ácido nucleico puede estar presente en unión con otro ácido nucleico, que codifica para un polipéptido, que controla una secreción de la proteína o polipéptido codificado por el ácido nucleico a partir de una célula huésped. Un ácido nucleico también puede estar presente en unión con otro ácido nucleico, que codifica para un polipéptido, que provoca un anclaje de la proteína o polipéptido codificado sobre la membrana celular de la célula huésped o su compartimentalización en determinados orgánulos de esta célula.

Una molécula de ADN recombinante es por ejemplo un vector, dado el caso con un promotor, que controla la expresión de un ácido nucleico, por ejemplo de un ácido nucleico que codifica para un antígeno asociado a tumores según la invención. A este respecto, el término "vector" se utiliza en su significado más general y comprende cualquier vehículo intermediario para un ácido nucleico, que por ejemplo permite introducir el ácido nucleico en células procariotas y/o en células eucariotas y dado el caso integrarlo en un genoma. Tales vectores se replican y/o se expresan preferiblemente en la célula. Un vehículo intermediario puede estar adaptado, por ejemplo, para la utilización en la electroporación, en el bombardeo con microproyectiles, en la administración liposómica, en la transferencia con ayuda de agrobacterias o en la inserción a través de virus de ADN o ARN. Los vectores comprenden plásmidos, fagémidos o genomas virales.

Los ácidos nucleicos, que codifican para el antígeno asociado a tumores identificado según la invención, pueden

utilizarse para una transfección de células huésped. A este respecto, por ácido nucleico quiere decirse tanto ADN recombinante como ARN. Puede producirse ARN recombinante mediante la transcripción *in vitro* de una matriz de ADN. Por lo demás puede modificarse antes de la aplicación mediante secuencias estabilizadoras, ocupación de expresión y poliadenilación. El término "célula huésped" se refiere a cualquier célula, que puede transformarse o a la que puede transfectarse un ácido nucleico exógeno. El término "células huésped" comprende procariontes (por ejemplo *E. coli*) o eucariotas (por ejemplo células dendríticas, células B, células CHO, células COS, células K562, células de levadura y células de insecto). Son concebibles células de mamífero tales como células de ser humano, ratón, hámster, cerdo, cabra, primates. Las células pueden derivarse de un gran número de tipos de tejidos y comprenden líneas celulares y células primarias. Los ejemplos específicos comprenden queratinocitos, leucocitos sanguíneos periféricos, células madre de la médula ósea y células madre embrionarias. En formas de realización adicionales, la célula huésped es una célula presentador de antígeno, en particular una célula dendrítica, monocito o un macrófago. Un ácido nucleico puede estar presente en la célula huésped en una única o en varias copias y se expresa en una forma de realización en la célula huésped.

El término "expresión" se utiliza en la presente memoria en su significado más general y comprende la preparación de ARN o de ARN y proteína. También comprende una expresión parcial de ácidos nucleicos. Por lo demás, la expresión puede tener lugar de manera transitoria o estable. Los sistemas de expresión preferidos en células de mamífero comprenden pcDNA3.1 y pRc/CMV (Invitrogen, Carlsbad, CA), que contienen un marcador selectivo tal como un gen, que confiere resistencia frente a G418 (y por consiguiente posibilita una selección de líneas celulares transfectadas de manera estable) y las secuencias potenciadoras-promotoras de citomegalovirus (CMV).

En los casos de la invención, en los que una molécula de HLA presenta un antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, un vector de expresión también puede contener una secuencia de ácido nucleico, que codifica para la molécula de HLA. La secuencia de ácido nucleico, que codifica para la molécula de HLA, puede estar presente en el mismo vector de expresión que el ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo, o ambos ácidos nucleicos pueden estar presentes en diferentes vectores de expresión. En el último caso, ambos vectores de expresión pueden cotransfectarse en una célula. En el caso de que una célula huésped no exprese ni el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo ni la molécula de HLA, ambos ácidos nucleicos que codifican para ello se transfectan o bien en el mismo vector de expresión o bien en diferentes vectores de expresión en la célula. En el caso de que la célula ya exprese la molécula de HLA, puede transfectarse sólo la secuencia de ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo, en la célula.

Son concebibles también kits para la amplificación de un ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores según la invención. Tales kits comprenden, por ejemplo, un par de cebadores de amplificación, que se hibridan al ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores. Los cebadores comprenden preferiblemente una secuencia de 6 a 50, por ejemplo 10 a 30, 15 a 30 y 20 a 30 nucleótidos contiguos del ácido nucleico y no son solapantes, para evitar la formación de dímeros de cebadores. Uno de los cebadores se hibridará a una cadena del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, y el otro cebador se hibridará a la cadena complementaria en una disposición que permite una amplificación del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores.

Un oligonucleótido utilizado según la invención está compuesto, por ejemplo, por ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos o una combinación de los mismos. A este respecto, el extremo 5' de un nucleótido y el extremo 3' de otro nucleótido están enlazados entre sí mediante un enlace fosfodiéster. Estos oligonucleótidos pueden sintetizarse de manera convencional o producirse de manera recombinante.

Alternativamente, un oligonucleótido según la invención es un oligonucleótido "modificado". A este respecto, el oligonucleótido, para aumentar por ejemplo su estabilidad, puede estar modificado de las maneras más diversas sin que su capacidad de unirse a su diana se vea perjudicada. El término "oligonucleótido modificado" significa un oligonucleótido en el que (i) por lo menos dos de sus nucleótidos están enlazados entre sí mediante un enlace internucleosídico sintético (es decir un enlace internucleosídico, que no es un enlace fosfodiéster) y/o (ii) un grupo químico está unido covalentemente con el oligonucleótido, que normalmente no aparece en el caso de los ácidos nucleicos. Enlaces internucleosídicos sintéticos preferidos son fosforotioatos, alquilfosfonatos, fosforoditioatos, ésteres de fosfato, alquilfosfonotioatos, fosforoamidatos, carbamatos, carbonatos, triésteres de fosfato, acetamidas, ésteres carboximetílicos y péptidos.

El término "oligonucleótido modificado" comprende también oligonucleótidos con un azúcar y/o una base modificada covalentemente. Los "oligonucleótidos modificados" comprenden por ejemplo oligonucleótidos con restos de azúcar, que están unidos covalentemente a grupos orgánicos con un peso molecular menor, que no son un grupo hidroxilo en la posición 3' ni un grupo fosfato en la posición 5'. Los oligonucleótidos modificados pueden comprender por ejemplo un resto ribosa 2'-O-alquilado u otro azúcar en lugar de ribosa tal como arabinosa.

Las proteínas y polipéptidos descritos pueden estar presentes de manera aislada. Los términos "proteína aislada" o "polipéptido aislado" significan que la proteína o polipéptido está separado de su entorno natural. Una proteína o polipéptido aislado puede estar presente en un estado esencialmente purificado. El término "esencialmente purificado" significa que la proteína o polipéptido está esencialmente libre de otras sustancias, con las que está

presente en la naturaleza o *in vivo*.

Tales proteínas y polipéptidos sirven, por ejemplo, para producir anticuerpos y pueden utilizarse en un ensayo inmunológico o de diagnóstico o como productos terapéuticos. Las proteínas y polipéptidos descritos pueden aislarse de muestras biológicas tales como homogeneizados tisulares o celulares y también pueden expresarse de manera recombinante en un gran número de sistemas de expresión pro- o eucariotas.

Los “derivados” de una proteína o polipéptido o de una secuencia de aminoácidos comprenden variantes de inserción de aminoácidos, variantes de delección de aminoácidos y/o variantes de sustitución de aminoácidos.

Las variantes de inserción de aminoácidos comprenden fusiones amino- y/o carboxiterminales, así como inserciones de aminoácidos individuales o múltiples aminoácidos en una determina secuencia de aminoácidos. En las variantes de secuencia de aminoácidos con una inserción se introducen uno o varios restos de aminoácido en un sitio predeterminado de una secuencia de aminoácidos, aunque también es posible una inserción aleatoria con examen adecuado del producto resultante. Las variantes de delección de aminoácidos se caracterizan por la eliminación de uno o varios aminoácidos de la secuencia. Las variantes de sustitución de aminoácidos se caracterizan porque por lo menos un resto se elimina de la secuencia y otro resto se inserta en su sitio. Preferiblemente, las modificaciones se encuentran en posiciones en la secuencia de aminoácidos, que no están conservadas entre proteínas o péptidos homólogos. Preferiblemente se reemplazan aminoácidos por otros con propiedades similares, tales como hidrofobicidad, hidrofiliidad, electronegatividad, volumen de la cadena lateral y similares (sustitución conservativa). Las sustituciones conservativas hacen referencia, por ejemplo, al intercambio de un aminoácido por otro aminoácido expuesto a continuación en el mismo grupo que el aminoácido sustituido:

1. pequeños restos alifáticos, apolares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr (Pro, Gly)
2. restos cargados negativamente y sus amidas: Asn, Asp, Glu, Gln
3. restos cargados positivamente: His, Arg, Lys
4. grandes restos alifáticos, apolares: Met, Leu, Ile, Val (Cys)
5. grandes restos aromáticos: Phe, Tyr, Trp.

Tres restos se ponen entre paréntesis debido a su papel particular para la arquitectura proteica. Gly es el único resto sin una cadena lateral y por consiguiente confiere flexibilidad a la cadena. Pro presenta una geometría poco frecuente, que limita enormemente la cadena. Cys puede formar un puente disulfuro.

Las variantes de aminoácido descritas anteriormente pueden prepararse fácilmente con ayuda de técnicas de síntesis de péptidos conocidas, como por ejemplo mediante “síntesis en fase sólida” (Merrifield, 1964) y procedimientos similares o mediante manipulación de ADN recombinante. Las técnicas para introducir mutaciones de sustitución en sitios predeterminados en ADN, que presenta una secuencia conocida o parcialmente conocida, se conocen bien y comprenden por ejemplo mutagénesis de M13. La manipulación de secuencias de ADN para la preparación de proteínas con sustituciones, inserciones o delecciones se describe detalladamente, por ejemplo, en Sambrook *et al.* (1989).

Los “derivados” de proteínas o polipéptidos comprenden según la invención también sustituciones, delecciones y/o adiciones individuales o múltiples de cualquier molécula que esté asociada con la enzima, tal como hidratos de carbono, lípidos y/o proteínas o polipéptidos. Además, el término “derivado” se extiende también a todos los equivalentes químicos funcionales de las proteínas o polipéptidos.

Una parte o fragmento de un antígeno asociado a tumores presenta a menudo una propiedad funcional del polipéptido, del que se derivan. Tales propiedades funcionales comprenden la interacción con anticuerpos, la interacción con otros polipéptidos o proteínas, la unión selectiva de ácidos nucleicos y una actividad enzimática. Una propiedad significativa es la capacidad de formar un complejo con HLA y dado el caso generar una reacción inmunitaria. Esta reacción inmunitaria puede basarse en la estimulación de células T cooperadoras o citotóxicas. Preferiblemente, una parte o fragmento según la invención de un antígeno asociado a tumores comprende una secuencia de por lo menos 6, por ejemplo por lo menos 8, por lo menos 10, por lo menos 12, por lo menos 15, por lo menos 20, por lo menos 30 o por lo menos 50 aminoácidos consecutivos del antígeno asociado a tumores.

Una parte o un fragmento de un ácido nucleico, que codifica para un antígeno asociado a tumores, se refiere según la invención a la parte del ácido nucleico, que por lo menos codifica para el antígeno asociado a tumores y/o codifica para una parte o un fragmento del antígeno asociado a tumores tal como se definió anteriormente.

El aislamiento y la identificación del gen según la invención, que codifica para el antígeno asociado a tumores TPTE, también posibilita el diagnóstico de un cáncer, que se caracteriza por la expresión de uno o varios antígenos asociados a tumores. Estos procedimientos o utilidades comprenden la determinación de uno o varios ácidos nucleicos, que codifican para un antígeno asociado a tumores, y/o la determinación de los antígenos asociados a tumores codificados y/o de péptidos derivados de los mismos. Una determinación del ácido nucleico puede tener lugar de manera convencional, incluyendo mediante la reacción en cadena de la polimerasa o hibridación con una sonda marcada. Una determinación de antígenos asociados a tumores o péptidos derivados de los mismos puede

tener lugar mediante un examen de antisueros de pacientes con respecto a un reconocimiento del antígeno y/o de los péptidos. También puede tener lugar mediante un examen de células T del paciente para determinar la especificidad para el antígeno asociado a tumores correspondiente.

5 Según la invención están comprendidas sustancias de unión como por ejemplo anticuerpos o fragmentos de anticuerpo, que presentan la capacidad de unirse selectivamente al antígeno asociado a tumores según la invención. Los anticuerpos comprenden anticuerpos policlonales y monoclonales, que se producen de manera convencional.

10 Se sabe que sólo una pequeña parte de la molécula de anticuerpo, el parátipo, está implicado en la unión del anticuerpo a su epítipo (véase Clark, W.R (1986), The Experimental Foundations of Modern Immunology, Wiley & Sons, Inc., Nueva York; Roitt, I. (1991), Essential Immunology, 7ª edición, Blackwell Scientific Publications, Oxford). Las regiones pFc' y Fc son por ejemplo efectores de la cascada del complemento, pero no están implicadas en la unión a antígeno. Un anticuerpo, del que se escindió enzimáticamente la región pFc' o que se produjo sin la región pFc', denominado fragmento F(ab')<sub>2</sub>, porta ambos sitios de unión a antígeno de un anticuerpo completo. De manera  
15 similar, un anticuerpo, del que se escindió enzimáticamente la región Fc o que se produjo sin la región Fc, denominado fragmento Fab, porta un sitio de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo intacta. Por lo demás, los fragmentos Fab están compuestos por una cadena ligera unida covalentemente de un anticuerpo y una parte de la cadena pesada del anticuerpo, denominada Fd. Los fragmentos Fd son los determinantes principales de la especificidad de anticuerpo (un único fragmento Fd puede asociarse con hasta diez cadenas ligeras diferentes, sin  
20 modificar la especificidad del anticuerpo) y los fragmentos Fd conservan, en caso de aislamiento, la capacidad de unirse a un epítipo.

Dentro de la parte de unión a antígeno de un anticuerpo se encuentran regiones determinantes de complementariedad (CDR), que interaccionan directamente con el epítipo del antígeno, y regiones de entramado (FR), que mantienen la estructura terciaria del parátipo. Tanto en el fragmento Fd de la cadena pesada como en la  
25 cadena ligera de inmunoglobulinas IgG se encuentran cuatro regiones de entramado (FR1 a FR4), que están separadas en cada caso por tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3). Las CDR y en particular las regiones CDR3 y todavía más las regiones CDR3 de la cadena pesada son responsables en gran medida de la especificidad del anticuerpo.

30 Se sabe que las regiones que no son CDR de un anticuerpo de mamífero pueden reemplazarse por regiones similares de anticuerpos con la misma especificidad o una especificidad diferente, manteniéndose la especificidad para el epítipo del anticuerpo original. Esto hizo posible el desarrollo de denominados anticuerpos "humanizados", en los que las CDR no humanas están unidas covalentemente con regiones FR y/o Fc/pFc' humanas para la  
35 preparación de un anticuerpo funcional.

Por ejemplo, el documento WO 92/04381 describe la preparación y utilización de anticuerpos anti-VRS humanizados de ratón, en los que por lo menos una parte de las regiones FR de ratón se reemplazaron por regiones FR de origen humano. Tales anticuerpos, incluyendo fragmentos de anticuerpos intactos con una capacidad de unión a antígeno se denominan a menudo anticuerpos "quiméricos".

40 Según la invención se exponen también fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, Fab, Fv y Fd de anticuerpos, anticuerpos quiméricos, en los que las regiones Fc y/o FR y/o CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se reemplazaron por secuencias humanas o no humanas homólogas, anticuerpos de fragmentos F(ab')<sub>2</sub> quiméricos, en los que las regiones FR y/o CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se reemplazaron por secuencias humanas o no humanas homólogas, anticuerpos de fragmentos Fab quiméricos, en los que las regiones FR y/o CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se reemplazaron por secuencias humanas o no humanas homólogas, y anticuerpos de fragmentos Fd quiméricos, en los que las regiones FR y/o CDR1 y/o CDR2 se reemplazaron por secuencias humanas o no humanas homólogas. Según la invención también son concebibles los denominados anticuerpos de cadena sencilla.

50 Son concebibles también polipéptidos, que se unen específicamente a antígenos asociados a tumores. Por ejemplo, tales sustancias de unión polipeptídicas pueden proporcionarse mediante bibliotecas de péptidos degeneradas, que pueden proporcionarse fácilmente en disolución en forma inmovilizada o pueden producirse como bibliotecas de exposición en fago. Igualmente pueden producirse bibliotecas combinatorias de péptidos con uno o varios aminoácidos. Además pueden producirse bibliotecas de peptoides y restos sintéticos no peptídicos.

La exposición en fago puede ser especialmente eficaz en la identificación de péptidos de unión según la invención. A este respecto, se produce por ejemplo una biblioteca de fagos (mediante la utilización por ejemplo del fago m13, fd o lambda), que presenta insertos de desde 4 hasta aproximadamente 80 restos de aminoácido de longitud. Después  
60 se seleccionan fagos, que portan insertos que se unen al antígeno asociado a tumores. Este proceso puede repetirse a lo largo de varios ciclos de una nueva selección de fagos, que se unen al antígeno asociado a tumores. Rondas repetidas conducen a un enriquecimiento de fagos, que portan determinadas secuencias. Puede tener lugar un análisis de secuencias de ADN, para identificar las secuencias de los polipéptidos expresados. Puede determinarse la parte lineal más pequeña de la secuencia, que se une al antígeno asociado a tumores. El "sistema de dos híbridos" de levadura también puede utilizarse para la identificación de polipéptidos, que se unen a un  
65 antígeno asociado a tumores. Pueden utilizarse antígenos asociados a tumores o fragmentos de los mismos

descritos según la invención para examinar bibliotecas de péptidos, incluyendo bibliotecas de exposición en fago, para identificar y seleccionar parejas de unión peptídicas de los antígenos asociados a tumores. Tales moléculas pueden utilizarse, por ejemplo, para ensayos de examen, protocolos de purificación, para una interferencia con la función del antígeno asociado a tumores y para otros fines conocidos por el experto.

5 Los anticuerpos descritos anteriormente y otras moléculas de unión pueden utilizarse, por ejemplo, para la identificación de tejido que expresa un antígeno asociado a tumores. Los anticuerpos también pueden acoplarse a sustancias de diagnóstico específicas para una representación de células y tejidos, que expresan antígenos asociados a tumores. Además pueden acoplarse a sustancias terapéuticamente útiles. Las sustancias de diagnóstico comprenden de manera no limitativa sulfato de bario, ácido iocetámico, ácido iopanoico, ipodato de calcio, diatrizoato de sodio, diatrizoato de meglumina, metrizamida, tiropanoato de sodio y agentes de radiodiagnóstico, incluyendo emisores de positrones tales como flúor-18 y carbono-11, emisores gamma tales como yodo-123, tecnicio-99m, yodo-131 e indio-111, nucleidos para resonancia magnética nuclear tales como flúor y gadolinio. El término "sustancia terapéuticamente útil" quiere decir según la invención cualquier molécula terapéutica, que se conduce de manera deseable selectivamente a una célula, que expresa uno o varios antígenos asociados a tumores, incluyendo agentes anticancerígenos, compuestos dotados de yodo radiactivo, toxinas, fármacos citostáticos o citolíticos, etc. Los agentes anticancerígenos comprenden, por ejemplo, aminoglutetimida, azatioprina, sulfato de bleomicina, busulfano, carmustina, clorambucilo, cisplatino, ciclofosfamida, ciclosporina, citarabidina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubina, doxorubicina, taxol, etopósido, fluoruracilo, interferón- $\alpha$ , lomustina, mercaptopurina, metotrexato, mitotano, procarbazona-HCl, tioguanina, sulfato de vinblastina y sulfato de vincristina. Agentes anticancerígenos adicionales se describen, por ejemplo, en Goodman y Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8ª edición, 1990, McGraw-Hill, Inc., en particular capítulo 52 (Antineoplastic Agents (Paul Calabresi y Bruce A. Chabner). Las toxinas pueden ser proteínas tales como proteína antiviral de hierba carmín, toxina del cólera, toxina de la tos ferina, ricina, gelonina, abrina, exotoxina de la difteria o exotoxina de *Pseudomonas*. Los restos de toxina también pueden ser radionucleidos emisores de alta energía tales como cobalto-60.

El término "paciente" significa según la invención un ser humano, un primate no humano u otro animal, en particular un mamífero tal como vaca, caballo, cerdo, oveja, cabra, perro, gato o roedor tal como ratón y rata. En una forma de realización especialmente preferida, el paciente es un ser humano.

El término "enfermedad" se refiere según la invención a cualquier estado patológico, en el que se expresan antígenos asociados a tumores. "Expresión anómala" significa que la expresión con respecto al estado en un individuo sano está modificada, preferiblemente aumentada. Un aumento de la expresión se refiere a un aumento de por lo menos el 10%, en particular por lo menos el 20%, por lo menos el 50% o por lo menos el 100%. Es concebible que el antígeno asociado a tumores se exprese sólo en tejido de un individuo enfermo, mientras que la expresión en un individuo sano está reprimida. Un ejemplo de una enfermedad de este tipo es cáncer, en particular seminomas, melanomas, teratomas, gliomas, cáncer colorrectal, de mama, de próstata, de útero, ovárico y pulmonar.

Una muestra biológica puede ser según la invención una muestra de tejido y/o celular, y puede obtenerse de manera convencional para una utilización en los diferentes procedimientos descritos en la presente memoria, tal como mediante biopsia de tejido, incluyendo biopsia en sacabocados, y extracción de sangre, aspirado bronquial, orina, heces u otros fluidos corporales.

El término "célula inmunorreactiva" significa según la invención una célula que puede madurar en una célula inmunitaria (tal como célula B, célula T cooperadora o célula T citolítica) en el caso de una estimulación adecuada. Las células inmunorreactivas comprenden células madre hematopoyéticas CD34<sup>+</sup>, células T maduras e inmaduras así como células B maduras e inmaduras. Si se desea la preparación de células T cooperadoras o citolíticas, que reconocen un antígeno asociado a tumores, se pone en contacto la célula inmunorreactiva con una célula, que expresa un antígeno asociado a tumores, en condiciones que favorecen una preparación, diferenciación y/o selección de células T cooperadoras así como citolíticas. La diferenciación de precursores de células T en una célula T citolítica en el caso de una exposición a un antígeno es similar a la selección clonal del sistema inmunitario.

Las composiciones farmacéuticas según la invención se administran en general en cantidades farmacéuticamente compatibles y se administran en composiciones farmacéuticamente compatibles. El término "farmacéuticamente compatible" se refiere a un material no tóxico, que no interacciona con el efecto del componente activo de la composición farmacéutica. Tales preparaciones pueden contener habitualmente sales, sustancias tampón, conservantes, portadores y dado el caso otros principios activos terapéuticos. En el caso de una utilización en medicina, las sales deben ser farmacéuticamente compatibles. Sin embargo, pueden utilizarse sales farmacéuticamente no compatibles para la preparación de sales farmacéuticamente compatibles de las mismas y están comprendidas según la invención. Tales sales farmacológicamente y farmacéuticamente compatibles comprenden de manera no limitativa aquellas producidas a partir de los siguientes ácidos: ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, cítrico, fórmico, malónico, succínico y similares. Las sales farmacéuticamente compatibles también pueden producirse como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos tales como sales de sodio, potasio o calcio.

Una composición farmacéutica según la invención puede comprender un portador farmacéuticamente compatible. El término "portador farmacéuticamente compatible" se refiere según la invención a una o varias cargas sólidas o líquidas compatibles, diluyentes o sustancias de encapsulación, que son adecuados para una administración a un ser humano. El término "portador" se refiere a un componente orgánico o inorgánico, de naturaleza natural o sintética, en el que se combina el componente activo, para facilitar su aplicación. Los componentes de la composición farmacéutica según la invención son habitualmente de tal manera que no se produce ninguna interacción, que perjudique esencialmente la eficacia farmacéutica deseada.

Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden contener sustancias tampón adecuadas tales como ácido acético en una sal, ácido cítrico en una sal, ácido bórico en una sal y ácido fosfórico en una sal.

Las composiciones farmacéuticas también pueden contener dado el caso conservantes adecuados tales como cloruro de benzalconio, clorobutanol, parabenos y timerosal.

Las composiciones farmacéuticas se proporcionan habitualmente en una forma farmacéutica uniforme y pueden producirse de manera en sí conocida. Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden estar presentes por ejemplo en forma de cápsulas, comprimidos, pastillas para chupar, suspensiones, jarabes, elixires o como emulsión.

Las composiciones, que son adecuadas para una administración parenteral, comprenden habitualmente una preparación acuosa o no acuosa estéril del principio activo, que preferiblemente es isotónica con la sangre del receptor. Portadores y disolventes compatibles son, por ejemplo, solución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente se utilizan habitualmente aceites fijos, estériles como medio de disolución o suspensión.

La presente invención se describe en detalle mediante las siguientes figuras y ejemplos, que sirven exclusivamente a modo de explicación y no deben entenderse de manera limitativa. Debido a la descripción y a los ejemplos, formas de realización adicionales son accesibles para el experto.

#### Figuras

**Figura 1:** Representación esquemática de la clonación de eCT. La estrategia comprende la identificación de genes candidatos (GOI = "*gens of interest*") en bases de datos y someter a prueba este gen mediante RT-PCR.

**Figura 2:** Composición de exones de las variantes de TPTE. Según la invención se identificaron variantes de corte y empalme (SEC ID NO: 20, SEC ID NO: 21, SEC ID NO: 54, SEC ID NO: 55, SEC ID NO: 56, SEC ID NO: 57), que se expresan en tejido testicular y tumores, y presentan desplazamientos del marco de lectura y por consiguiente regiones de secuencia modificadas.

**Figura 3:** Alineamiento de las posibles proteínas TPTE. Acontecimientos de corte y empalme alternativos dan como resultado modificaciones de la proteína codificada, conservándose básicamente el marco de lectura. Los dominios transmembrana putativos están en negrita, los dominios catalíticos están en un recuadro.

**Figura 4:** Topología predicha de TPTE y localización subcelular en la superficie celular de células MCF-7. El esquema izquierdo muestra los 4 dominios transmembrana putativos (flechas) de TPTE. Se transfectaron células MCF-7 de manera transitoria con un plásmido de expresión de TPTE. Se detectó el antígeno con anticuerpos específicos de TPTE y mostró una localización conjunta clara con moléculas de clase I del CMH localizadas en la superficie celular.

#### Ejemplos:

##### Material y métodos

Los términos "*in silico*", "electrónicamente" y "clonar virtualmente" se refieren meramente a la utilización de procedimientos basados en bases de datos, con los que también pueden simularse operaciones experimentales de laboratorio.

A menos que se defina explícitamente lo contrario, todos los demás términos se utilizan de modo que los entienda el experto. Dichas técnicas y métodos se llevan a cabo de manera en sí conocida y se describen por ejemplo en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª edición (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. Todos los procedimientos, incluyendo la utilización de kits y reactivos, se llevan a cabo de manera correspondiente a la información del fabricante.

Estrategia basada en minería de datos para determinar eCT (genes cáncer/testículo clonados electrónicamente)

Se combinaron dos estrategias *in silico* concretamente búsqueda de palabras clave en GenBank y el cDNAxProfiler (figura 1). Utilizando el sistema de búsqueda y recuperación ENTREZ del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) se llevó a cabo una búsqueda de genes candidatos en GenBank, para los que se indica que se expresan específicamente en tejido testicular (Wheeler *et al.*, Nucleic Acids Research 28:10-14, 2000).

Mediante consultas de búsqueda con las palabras clave “gen específico de testículos” (“*testis-specific gene*”), “gen específico de esperma” (“*sperm-specific gene*”), “gen específico de espermatogonios” (“*spermatogonia-specific gene*”) se extrajeron los genes candidatos (GOI, *genes of interest*) de las bases de datos. La búsqueda se limitó a una parte de toda la información de estas bases de datos, utilizando como límites “*homo sapiens*” para el organismo y “ARNm” para el tipo de molécula.

Se supervisó la lista de los GOI encontrados, detectando diferentes denominaciones para la misma secuencia y eliminando tales redundancias.

Todos los genes candidatos, que se obtuvieron mediante la búsqueda de palabras clave, se estudiaron a su vez mediante el procedimiento del “Northern electrónico” (eNorthern) con respecto a su distribución tisular. El eNorthern se basa en que se compara la secuencia de un GOI con una base de datos de EST (*expressed SEquence tag*, etiqueta de secuencia expresada) (Adams *et al.*, Science 252:1651, 1991) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Para cada EST, que se obtiene como resultado que es homóloga al GOI introducido, puede determinarse el origen del tejido y mediante la suma de todas las EST conseguirse de esta manera una estimación provisional de la distribución tisular del GOI. Sólo se suministraron a estudios adicionales aquellos GOI que no presentaban ninguna homología con EST de tejidos normales no testiculares con excepción de la placenta y el tejido fetal. Para esta evaluación también se tuvo en cuenta que hay bases de datos de ADNc con anotaciones incorrectas en el dominio público (Scheurle *et al.*, Cancer Res. 60:4037-4043, 2000) ([www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenes6.htm](http://www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenes6.htm)).

Como segundo procedimiento de minería de datos se utilizó el cDNA xProfiler del proyecto de Anatomía del genoma del cáncer del NCBI (<http://cgap.nci.nih.gov/Tissues/xProfiler>) (Hillier *et al.*, Genome Research 6:807-828, 1996; Pennisi, Science 276:1023-1024, 1997). Este permite relacionar entre sí conjuntos de transcriptomas depositados en bases de datos mediante operadores lógicos. Se definió un conjunto A, al que se asociaron todas las bibliotecas de expresión producidas a partir de testículos, excluyendo bibliotecas mixtas. Al conjunto B se asociaron todas las bibliotecas de ADNc, que se habían producido de tejidos normales excluyendo tejido testicular, ovárico y fetal. En general se utilizaron todas las bases de datos de ADNc independientemente de los procedimientos de preparación subyacentes, sin embargo sólo se autorizaron aquellos con una potencia > 1000. Por medio del operador PERO NO se restó el conjunto B digitalmente del conjunto A. También se sometió el conjunto de GOI encontrados de esta manera a estudios de tipo eNorthern, y se protegió mediante una búsqueda de bibliografía. Esta minería de datos combinada incluye todos los aproximadamente 13000 genes de longitud completa en el dominio público y predice de estos un total de 140 genes con una expresión específica de testículos potencial. De estos, 25 eran genes ya conocidos de la clase génica CT, lo que refuerza la eficacia de esta estrategia.

Todos los demás genes se evaluaron en primer lugar mediante RT-PCR específica en tejidos normales. Todos los GOI, que demostraron que se expresaban en tejidos normales no testiculares, tuvieron que considerarse falsos positivos y se excluyeron de los estudios adicionales. Los restantes se estudiaron en un gran panel de los más diversos tejidos tumorales. A este respecto, los antígenos expuestos más adelante demostraron estar activados ectópicamente en células tumorales.

Extracción de ARN, preparación de ADNc cebado con poli-d(T) y análisis mediante RT-PCR

Se extrajo el ARN total de material tisular nativo utilizando isotiocianato de guanidinio como agente caotrópico (Chomczynski y Sacchi, Anal. Biochem. 162:156-9, 1987). Tras la extracción con fenol ácido y precipitación con isopropanol se disolvió el ARN en agua tratada con DEPC.

A partir de 2-4 µg de ARN total en una mezcla básica de reacción de 20 µl por medio de Superscript II (Invitrogen) de manera correspondiente a la información del fabricante se llevó a cabo una síntesis de ADNc de primera cadena. Como cebador se utilizó un oligonucleótido dT(18). Se comprobaron la integridad y la calidad del ADNc mediante la amplificación de p53 en una PCR de 30 ciclos (sentido CGTGAGCGCTTCGAGATGTTCCG, antisentido CCTAACCAGCTGCCAACTGTAG, temperatura de hibridación 67°C).

Se produjo un archivo de ADNc de primera cadena a partir de una serie de tejidos normales y entidades tumorales. Para estudios de expresión se amplificaron 0,5 µl de estos ADNc en una mezcla básica de reacción de 30 µl con cebadores específicos de GOI (véase más adelante) y 1 U ADN polimerasa HotStarTaq (Qiagen). La mezcla básica de reacción contenía en cada caso dNTP 0,3 mM, por cada 0,3 µM de cada cebador y 3 µl de 10 x tampón de reacción.

Los cebadores se seleccionaron de tal manera que se encuentran en 2 exones diferentes y la eliminación de la

interferencia mediante ADN genómico contaminante como motivo para resultados falsos positivos se confirmó mediante pruebas de ADN no transcrito de manera inversa como matriz. Tras 15 minutos a 95°C para la activación de la ADN polimerasa HotStarTaq se llevaron a cabo 35 ciclos de PCR (1 min 94°C, 1 min respectiva temperatura de hibridación, 2 min 72°C y elongación final a 72°C durante 6 min). Se separaron 20 µl de esta reacción en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio y se analizaron.

Se utilizaron los siguientes cebadores para el análisis de expresión de TPTE a la temperatura de hibridación indicada.

10 TPTE (64°C)  
sentido TGGATGTCACCTCTCATCCTTG, antisentido CCATAGTTCCTGTTCTATCTG

Clonación y análisis de secuencias

15 La clonación de longitudes completas o fragmentos génicos tuvo lugar según los métodos habituales. Para la determinación de la secuencia se amplificaron los antígenos correspondientes por medio de polimerasa de lectura de comprobación pfu (Stratagene). Tras finalizar la PCR se ligó adenosina por medio de ADN polimerasa HotStarTaq a los extremos del amplicón para clonar los fragmentos de manera correspondiente a la información del fabricante en el vector TOPO-TA. La secuenciación se llevó a cabo mediante un servicio comercial. Las secuencias se analizaron mediante programas de predicción y algoritmos habituales.

**Ejemplo 1: Identificación de TPTE como nuevo antígeno tumoral**

25 Las secuencias del transcrito de TPTE (SEC ID NO: 19) y su producto de traducción (SEC ID NO: 22) están publicadas en GenBank con el número de registro NM\_013315 (Walker, S.M. *et al.*, Biochem. J. 360(Pt 2):277-83, 2001; Guipponi M. *et al.*, Hum. Genet. 107(2):127-31, 2000; Chen H. *et al.*, Hum. Genet. 105(5):399-409, 1999). TPTE se describió como gen, que codifica para una posible tirosina fosfatasa transmembrana, con expresión específica de testículos, que se encuentra en la región pericentromérica de los cromosomas 21, 13, 15, 22 e Y (Chen, H. *et al.*, Hum. Genet. 105:399-409, 1999). Estudios de comparación según la invención muestran adicionalmente secuencias genómicas homólogas en los cromosomas 3 y 7.

35 Basándose en la secuencia de TPTE (SEC ID NO: 19) se generaron según la invención cebadores de PCR (5'-TGGATGTCACCTCTCATCCTTG-3' (SEC ID NO: 27) y 5'-CCATAGTTCCTGTTCTATCTG-3' (SEC ID NO: 28)) y se utilizaron para análisis de RT-PCR (95° 15 min; 94° 1 min; 63° 1 min; 72° 1 min; 35 ciclos) en una serie de tejidos humanos. Se mostró que la expresión en tejidos normales está limitada al testículo. Como se describió para los demás eCT, pudo mostrarse según la invención que se activan variantes de TPTE de manera ectópica en una serie de tejidos tumorales; véase la tabla 1. Según la invención, para TPTE se identificaron variantes de corte y empalme adicionales (SEC ID NO: 20, SEC ID NO: 21, SEC ID NO: 54, SEC ID NO: 55, SEC ID NO: 56, SEC ID NO: 57), que se expresan en tejido testicular y tumores y presentan desplazamientos del marco de lectura y con ello zonas de secuencia modificadas (figura 2).

Tabla 2. Expresión de TPTE en tumores

Tejido	Sometido a prueba en total	Positivo	%
Melanoma	18	9	50
Carcinoma de mama	20	4	20
Tumores colorrectales	20	0	0
Carcinomas de próstata	8	3	38
Carcinomas bronquiales	23	9	39
Carcinomas de células renales	7	0	0
Carcinomas ováricos	7	2	29
Carcinomas de tiroides	4	0	0
Carcinomas del cérvix	6	1	17
Líneas celulares de melanoma	8	4	50
Líneas celulares de carcinoma bronquial	6	2	33
Líneas celulares de carcinoma de mama	5	4	80

45 La secuencia genómica de TPTE está compuesta por 24 exones (número de registro NT\_029430). El transcrito mostrado en SEC ID NO: 19 contiene todos estos exones. La variante de corte y empalme mostrada en SEC ID NO: 20 se produce mediante corte y empalme del exón 7. La variante de corte y empalme mostrada en SEC ID NO: 21 muestra una incorporación parcial de un intrón, que sigue al exón 15. Como resulta evidente por las variantes SEC ID NO: 54, SEC ID NO: 55, SEC ID NO: 56, SEC ID NO: 57, alternativamente también pueden cortarse y empalmarse los exones 18, 19, 20 y 21.

Estos acontecimientos de corte y empalme alternativos dan como resultado modificaciones de la proteína codificada,

conservándose fundamentalmente el marco de lectura (figura 3). Por ejemplo, el producto de traducción, que se codifica por la secuencia mostrada en SEC ID NO: 20 (SEC ID NO: 23) presenta una delección de 13 aminoácidos en comparación con la secuencia mostrada en SEC ID NO: 22. El producto de traducción, que se codifica por la secuencia mostrada en SEC ID NO: 21 (SEC ID NO: 24) lleva una inserción adicional en la zona central de la molécula y se diferencia de este modo en 14 aminoácidos de las otras variantes. Los productos de traducción de las variantes SEC ID NO: 44, SEC ID NO: 55, SEC ID NO: 56, SEC ID NO: 57 concretamente las proteínas SEC ID NO: 58, SEC ID NO: 59, SEC ID NO: 60, SEC ID NO: 61 también se han modificado.

Análisis para la predicción de dominios funcionales dan lugar para SEC ID NO: 22, SEC ID NO: 23, SEC ID NO: 24, SEC ID NO: 58, SEC ID NO: 60, pero no para SEC ID NO: 59, SEC ID NO: 61, la existencia de un dominio de tirosina fosfatasa. Para todas las variantes se predicen 3-4 dominios transmembrana (figura 3).

El análisis de la expresión de antígeno de TPTE con anticuerpos específicos confirmó la expresión selectiva en testículos así como en una serie de diferentes tumores. Mediante estudios de localización conjunta se mostró además que TPTE según la invención se localiza con inmunoglobulinas de clase I en la superficie celular de células tumorales. Hasta ahora, TPTE sólo se había descrito como proteína asociada a Golgi. Debido a la expresión de TPTE sobre la superficie celular de células tumorales este antígeno tumoral es adecuado según la invención como diana excelente para el desarrollo de anticuerpos monoclonales de diagnóstico y terapéuticos. Debido a la topología de membrana predicha de TPTE son adecuadas para este fin según la invención en particular las zonas expuestas de manera extracelular. Esto comprende según la invención los péptidos FTDSKLYIPLEYRS (SEC ID NO: 81) y FDIKLLRNIPRWT (SEC ID NO: 82). Además pudo mostrarse que TPTE promueve la migración de células tumorales. Para ello se investigó en células tumorales, que se transfectaron bajo control de un promotor eucariota con TPTE, y células de control en denominados ensayos de migración Boyden Chamber, si mostraban una migración dirigida. Las células transfectadas con TPTE presentaron a este respecto en 4 ensayos independientes según la invención una migración aumentada claramente (por tres veces). Estos datos funcionales indican que TPTE en la metastatización de tumores desempeña un papel importante. Así los procedimientos, que según la invención inhiben la actividad endógena de TPTE en células tumorales, por ejemplo mediante el uso de ARN antisentido, de diferentes métodos de interferencia de ARN (ARNi) por medio de vectores de expresión o retrovirus, así como mediante la utilización de pequeñas moléculas, podrían llevar a una metastatización reducida y con ello ser terapéuticamente muy importantes. Recientemente pudo establecerse una relación causal entre la actividad de una fosfatasa en tumores y la migración aumentada y la formación de metástasis elevada para la tirosina fosfatasa PTEN (Iijima y Devreotes Cell 109:599-610, 2002).

#### Lista de secuencias

<110> Sahin Dr., Ugur  
Türeci Dr., Özlem  
Koslowski Dr., Michael

<120> Productos génicos expresados de manera diferencial en tumores y su utilización

<130> Documento 342-3PCT

<160> 100

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 19

<211> 2168

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 19

gaatccgcyg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgacca acagttaccc 60  
 agcgcgggac tcgctcgcc ccggcggctc tagggacccc cggcgccac acttagctcc 120  
 gcgcccgaga gaatgttga ccgacgacac aagacctcag acttgtgtta ttctagcagc 180  
 tgaacacacc ccaggctctt ctgaccggca gtggctctgg aagcagtctg gtgtatagag 240  
 ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatgggtcca 300  
 cccacaaatg aattatcagg agtgaaccca gaggcacgta tgaatgaaag tcttgatccg 360  
 actgacctgg cgggagtcac cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtgaa 420  
 ttaaaggag caaccgagga ggcacctgcy aaagaaagcc cacacacaag tgaatttaa 480  
 ggagcagccc ggggtgcacc tatcagtgaa agtgtgttag cagcacttcc caagtttgaa 540  
 gttgaagatg ctgaaaatgt tgcttcatat gacagcaaga ttaagaaaat tgtgcattca 600  
 attgtatcat cctttgcatt tggactatit ggagtittcc tggcttact ggatgtcact 660  
 ctcatcctg ccgacctaat tttcactgac agcaacttt atattcctt ggagtatcgt 720  
 tctatttctc tagctattgc cttatttttt ctcattggatg ttcttcttcg agtatttga 780  
 gaaaggagac agcagtatit ttctgactta ttaacattt tagatactgc cattattgtg 840  
 attcttctgc tggttgatgt cgtttacatt tttttgaca ttaagttgct taggaatatt 900  
 cccagatgga cacatttact tgcacttcta cgacttatta ttctgttaag aatttttcat 960  
 ctgtttcate aaaaaagaca acttgaaaag ctgataagaa ggcgggttcc agaaaacaaa 1020  
 aggcgataca caagggatgg atttgaccta gacctcactt acgttacaga acgtattatt 1080  
 gctatgtcat ttccatctc tggaaaggcag tctttctata gaaatccaat caaggaagt 1140  
 gtgcggttcc tagataagaa acaccgaaac cactatcgag tctacaatct atgcagtga 1200  
 agagcttacg atcctaagca cttccataat agggctcgtta gaatcatgat tgatgatcat 1260  
 aatgtcccca ctctacatca gatgggtggtt ttcaccaagg aagtaaatga gtggatggct 1320  
 caagatctg aaaacatcgt agcgattcac tgtaaaggag gcacagatag aacaggaact 1380  
 atggtttgtg ctttcttat tgcctctgaa atatgttcaa ctgcaaagga aagcctgtat 1440  
 tattttggag aaaggcgaac agataaaaacc cacagcgaaa aatttcaggg agtagaaact 1500  
 cttctcaga agagatatgt tgcataatit gcacaagtga aacatctcta caactggaat 1560  
 ctccctcaa gacggatact cttataaaa cacttatta ttatttcgat tctctgttat 1620  
 gtacgtgatc taaaaatcca aatagaaatg gagaanaagg ttgtctttc cactatttca 1680  
 ttaggaaaat gttcggatct tgataacatt acaacagaca aaatattaat tgatgtattc 1740  
 gacgggtccac ctctgtatga tgatgtgaaa gtgcagtttt tctattcgaa tcttctaca 1800  
 tactatgaca attgctcatt ttacttctgg ttgcacacat cttttattga aaataacagg 1860  
 ctttatctac caaaaaatga attggataat ctacataaac aaaaagcag gagaatttat 1920  
 ccacagatt ttgccgtgga gatacttttt ggcgagaaaa tgacttccag tgatgttga 1980  
 gctggatccg attaagtata gctccccctt ccccttctgg gaaagaatta tgttctttcc 2040  
 aacctgccca catgttcata tatcctaat ctatcctaaa fgttccctg aagtatttat 2100  
 ttatgtttat atatgtttat acatgttctt caataaatct attacatata tataaaaaa 2160  
 aaaaaaa 2168

- <210> 20
- 5 <211> 2114
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 20

gaatccgcyg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgacca acagttaccc 60  
 agtgcceggac tgcctgcgc ccggcggctc tagggacccc cggcgctac acttagctcc 120  
 gcgcccgaga gaatgttga ccgacgacac aagacctcag acttgtgta ttctagcagc 180  
 tgaacacacc ccaggtctt ctgaccggca gtggctctgg aagcagtctg gtgtatagag 240  
 ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatggcca 300  
 cccacaaatg aattatcagg agtgaaccca gaggcacgta tgaatgaaag tcctgatccg 360  
 actgacctgg cgggagtcac cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtgaa 420  
 tttaaaggag caaccgagga ggcacctgcy aaagaagtg tgttagcacg actttccaag 480  
 tttgaagttg aagatgctga aaatgttgc tcatatgaca gcaagattaa gaaaattgtg 540  
 cattcaattg tatcatcctt tgcatttggc ctatttggag ttttctggt cttactggat 600  
 gtcactctca tccttgccga cctaatttc actgacagca aactttatat tcctttggag 660  
 tatcgttcta tttctctagc tattgcctta tttttctca tggatgttct tcttcgagta 720  
 tttgtagaaa ggagacagca gtattttct gacttatta acattttaga tactgccatt 780  
 attgtgattc ttctgctggt tgatgtcgtt tacattttt ttgacattaa gttgcttagg 840  
 aatattccca gatggacaca tttacttga cttctacgac ttattattct gttagaatt 900  
 tttcatctgt ttcataaaa aagacaactt gaaaagctga taagaaggcg ggttcagaa 960  
 aacaaaaggc gatacacaag ggatggattt gacctagacc tcacttacgt tacagaaagt 1020  
 attattgcta tgcatttcc atcttctgga aggcagtctt tctatagaaa tccaatcaag 1080  
 gaagttgtgc ggtttctaga taagaacac cgaaccact atcgagtcta caatctatgc 1140  
 agtgaaagag cttacgatcc taagcactc cataataggg tcgttagaat catgattgat 1200  
 gatcataatg tccccactct acatcagatg gtggtttca ccaaggaagt aaatgagtgg 1260  
 atggctcaag atcttgaaaa catcgtagcg attcactgta aaggaggcac agatagaaca 1320  
 ggaactatgg tttgtgcctt ccttattgcc tctgaaatat gttcaactgc aaaggaaagc 1380  
 ctgtattatt ttggagaaa gcgaacagat aaaaccaca gcgaaaaatt tcagggagta 1440  
 gaaactcctt ctcagaagag atatgttgca tattttgcac aagtgaaca tctctacaac 1500  
 tggaatctcc ctccaagacg gatactctt ataaaacact tcattattta ttcgattcct 1560  
 cgttatgtac gtgatctaaa aatccaaata gaaatggaga aaaaggttgt cttttcact 1620  
 atttcattag gaaaaatgtc ggtacttgat aacattaca cagacaaaat attaattgat 1680  
 gtattcgacg gtccacctct gtatgatgat gtgaaagtgc agtttttcta ttcgaatctt 1740  
 cctacatact atgacaattg ctcatcttac ttctggttgc acacatctt tattgaaaat 1800  
 aacaggcttt atctaccaaa aatgaattg gataatctac ataaacaaa agcacggaga 1860  
 atttatccat cagattttgc cgtggagata ctttttggcg agaaaatgac ttccagtgat 1920  
 gttgtagctg gatccgatta agtatagctc ccccttccc ttctgggaaa gaattatggt 1980  
 cttccaacc ctgccacatg ttcataatc cttaaactat cctaaatggt ccttgaagt 2040  
 atttatttat gtttatatat gttatacat gttcttcaat aaatctatta catatatata 2100  
 aaaaaaaaaa aaaa 2114

- <210> 21
- <211> 2222
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 21

gaatccgagg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgaccca acagttaccc 60  
 agcgccggac tcgctgcgcc ccggcggtc tagggacccc cggcgctac acttagctcc 120  
 gcgcccgaga gaatgttga cgcagcac aagacctag acttgtgta ttctagcagc 180  
 tgaacacacc ccaggctctt ctgaccggca gtggtctctg aagcagctc gtgtatagag 240  
 ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatggcca 300  
 cccacaaatg aattatcagg agtgaacca gaggcacgta tgaatgaaag tctgatccg 360  
 actgacctg cgggagtcatt cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtga 420  
 ttaaggag caaccgagga ggcacctgc aaagaaagc cacacacaag tgaatttaa 480  
 ggagcagccc ggggtgcacc tatcagtga agtgtgtag cagcacttc caagtttga 540  
 gttgaagatg ctgaaaatgt tgcctcatat gacagcaaga ttaagaaat tgtgcattca 600  
 attgtatcat cctttgcatt tggactatt ggagtttcc tggcttact ggatgtcact 660  
 ctctccttg ccgacctaat tttcactgac agcaaactt atattcctt ggagtatct 720  
 tctatttctc tagctattgc cttattttt ctcattggatg ttcttcttc agtatttga 780  
 gaaaggagac agcagtattt ttctgactta ttaacattt tagatactgc cattattgtg 840  
 attcttctgc tggttgatgt cgtttacatt tttttgaca ttaagttgct taggaatatt 900  
 cccagatgga cacatttact tgcacttcta cacttatta ttctgttaag aatttttcat 960  
 ctgtttcatc aaaaagaca acttgaag ctgataagaa ggcgggttc agaaaacaaa 1020  
 aggcgataca caagggatgg atttgacct gacctactt acgttacaga acgtattatt 1080  
 gctatgtcat ttccatctc tggaaaggcag tcttctata gaaatccaat caaggaagt 1140  
 gtgcggttc tagataagaa acaccgaaac cactatcgag tctacaatct atgcagtatg 1200  
 tacattactc tatattgtgc tactgtagat agaaaacaga ttactgcacg tgaagagct 1260  
 tacgatccta agcacttcca taatagggc gttagaatca tgattgatga tcataatgtc 1320  
 cccactctac atcagatggg ggtttcacc aaggaaagta atgagtgat ggcacaagat 1380  
 cttgaaaaca tcgtagcgat tcaactgtaa ggaggcacag atagaacagg aactatggtt 1440  
 tgtgccttc ttattgctc tgaatatgt tcaactgca aggaaagcct gtattatttt 1500  
 ggagaaagc gaacagataa aaccacagc gaaaaattc agggagtaga aactccttct 1560  
 cagaagagat atgttcata tttgcacaa gtgaaacatc tctacaactg gaatctcct 1620  
 ccaagacgga tactctttat aaaacactt attatttatt cgattcctc ttatgtacgt 1680  
 gatctaaaaa tccaataga aatggagaaa aaggttctt tttccactat ttcattagga 1740  
 aatgttcg tacttgataa cattacaaca gacaaaat taattgatgt attcagcgt 1800  
 ccacctctgt atgatgatgt gaaagtgcag ttttctatt cgaatcttc tacatactat 1860  
 gacaattgt cattttact ctggttcac acatcttta ttgaaaata caggctttat 1920  
 ctacaaaaa atgaattgga taatctacat aaacaaaag cacggagaat ttatccatca 1980  
 gatttgccc tggagatact tttggcgag aaaatgact ccagtgatgt ttagctgga 2040  
 tccgattaag ttagctccc cttccctt ctgggaaaga attatgttct ttccaacct 2100  
 gccacatgt cataratct aatctatcc taaatgtcc cttgaagtat ttatttatgt 2160  
 ttatatatgt ttatacatgt tcttcaata atctattaca tatatataa aaaaaaaaaa 2220  
 aa 2222

<210> 22  
 <211> 551  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 22

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30  
 Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly  
 35 40 45  
 Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser  
 50 55 60  
 Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys  
 65 70 75 80  
 Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu  
 85 90 95  
 Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp  
 100 105 110  
 Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser  
 115 120 125  
 Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg  
 130 135 140  
 Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr  
 165 170 175  
 Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His  
 180 185 190  
 Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu  
 195 200 205  
 Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser  
 210 215 220  
 Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr  
 225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg  
 245 250 255  
 Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp  
 260 265 270  
 Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg  
 275 280 285  
 Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile  
 290 295 300  
 Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile  
 325 330 335  
 His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe  
 340 345 350  
 Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr  
 355 360 365  
 Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly  
 370 375 380  
 Val Glu Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala Gln Val  
 385 390 395 400  
 Lys His Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu Phe Ile  
 405 410 415  
 Lys His Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp Leu Lys  
 420 425 430  
 Ile Gln Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu  
 435 440 445  
 Gly Lys Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile  
 450 455 460  
 Asp Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe  
 485 490 495  
 Trp Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys  
 500 505 510

Asn Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro  
 515 520 525

Ser Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser  
 530 535 540

Asp Val Val Ala Gly Ser Asp  
 545 550

<210> 23  
 <211> 533  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 23

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe  
 35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys  
 50 55 60

Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu Phe Gly  
 65 70 75 80

Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp Leu Ile  
 85 90 95

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser Ile Ser  
 100 105 110

Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg Val Phe  
 115 120 125

Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile Leu Asp  
 130 135 140

Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr Ile Phe  
 145 150 155 160

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His Leu Leu  
 165 170 175

10

Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu Phe His  
 180 185 190  
 Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser Glu Asn  
 195 200 205  
 Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr Tyr Val  
 210 215 220  
 Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg Gln Ser  
 225 230 235  
 Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp Lys Lys  
 245 250 255  
 His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg Ala Tyr  
 260 265 270  
 Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile Asp Asp  
 275 280 285  
 His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys Glu Val  
 290 295 300  
 Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile His Cys  
 305 310 315  
 Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe Leu Ile  
 325 330 335  
 Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr Phe Gly  
 340 345 350  
 Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly Val Glu  
 355 360 365  
 Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala Gln Val Lys His  
 370 375 380  
 Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu Phe Ile Lys His  
 385 390 395 400  
 Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp Leu Lys Ile Gln  
 405 410 415  
 Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys  
 420 425 430  
 Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val  
 435 440 445

Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr  
 450 455 460

Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu  
 465 470 475 480

His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu  
 485 490 495

Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp  
 500 505 510

Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val  
 515 520 525

Val Ala Gly Ser Asp  
 530

<210> 24  
 <211> 569  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 24

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly  
 35 40 45

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser  
 50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys  
 65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu  
 85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp  
 100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser  
 115 120 125

10

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg  
 130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile  
 145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr  
 165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His  
 180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu  
 195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser  
 210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr  
 225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg  
 245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp  
 260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Met Tyr  
 275 280 285

Ile Thr Leu Tyr Cys Ala Thr Val Asp Arg Lys Gln Ile Thr Ala Arg  
 290 295 300

Glu Arg Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile  
 305 310 315 320

Met Ile Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe  
 325 330 335

Thr Lys Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val  
 340 345 350

Ala Ile His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys  
 355 360 365

Ala Phe Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu  
 370 375 380

Tyr Tyr Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe  
 385 390 395 400

Gln Gly Val Glu Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala  
 405 410 415  
 Gln Val Lys His Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu  
 420 425 430  
 Phe Ile Lys His Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp  
 435 440 445  
 Leu Lys Ile Gln Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile  
 450 455 460  
 Ser Leu Gly Lys Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile  
 465 470 475 480  
 Leu Ile Asp Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val  
 485 490 495  
 Gln Phe Phe Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe  
 500 505 510  
 Tyr Phe Trp Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu  
 515 520 525  
 Pro Lys Asn Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile  
 530 535 540  
 Tyr Pro Ser Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr  
 545 550 555 560  
 Ser Ser Asp Val Val Ala Gly Ser Asp  
 565

<210> 27  
 <211> 21  
 <212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<400> 27

10 tggatgtcac tctcatcct g 21

<210> 28  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15 <400> 28

ccatagttcc tgttctatct g 21

20 <210> 54  
 <211> 1550  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 54

atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat 60  
 gacagtcac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagc 120  
 ccacacacaa gtgaatttaa aggagcagcc cgggtgtcac ctatcagtga aagtgtgta 180  
 gcacgacttt ccaagtttga agttgaagat gctgaaaatg ttgcttcata tgacagcaag 240  
 attaagaaaa ttgtgcattc aattgtatca tcctttgcat ttggactatt tggagttttc 300  
 ctggtcttac tggatgtcac tctcatcctt gccgacctaa tttcactga cagcaaactt 360  
 tatattcctt tggagtatcg ttctatttct ctagctattg ccttattttt tctcatggat 420  
 gttcttcttc gagtatttgt agaaaggaga cagcagtatt tttctgactt atttaacatt 480  
 ttagatactg ccattattgt gattcttctg ctggttgatg tcgtttacat ttttttgac 540  
 attaagttgc ttaggaatat tcccagatgg acacatttac ttcgacttct acgacttatt 600  
 attctgttaa gaatttttca tctgtttcat caaaaaagac aacttgaaaa gctgataaga 660  
 agggcgggtt cagaaaacaa aaggcgatac acaagggatg gatttgacct agacctcact 720  
 tacgttacag aacgtattat tgctatgtca tttccatcct ctggaaggca gtctttctat 780  
 agaaatccaa tcaaggaagt tgtgcgggtt ctagataaga aacaccgaaa ccactatcga 840  
 gtctacaatc tatgcagtga aagagcttac gatcctaagc acttcataa tagggtcgtt 900  
 agaatcatga ttgatgatca taatgtcccc actctacatc agatggtggt ttcaccaag 960  
 gaagtaaatg agtggatggc tcaagatcct gaaaacatcg tagcgattca ctgtaaagga 1020  
 ggacagata gaacaggaac tatggtttgt gccttcctta ttgcctctga aatatgttca 1080  
 actgcaaagg aaagcctgra ttattttgga gaaaggcgaa cagataaaac ccacagcgaa 1140  
 aaatttcagg gagttagaac tccttctcag gttatgtacg tgatctaaaa atccaaatag 1200  
 aaatggagaa aaaggtgtc ttttccacta tttcattagg aaaatgttcg gtacttgata 1260  
 acattacaac agacaaaata ttaattgatg tattcgacgg tccacctctg tatgatgatg 1320  
 tgaaagtgca gtttttctat tcgaatcttc ctacatacta tgacaattgc tcattttact 1380  
 tctggttgca cacatctttt attgaaaata acaggcttta tctaccaaaa aatgaattgg 1440  
 ataatctaca taaacaaaaa gcacggagaa tttatccatc agattttgcc gtggagatac 1500  
 tttttggcga gaaaatgact tccagtgatg ttgtagctgg atccgattaa 1550

<210> 55  
 <211> 1407  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 55

5

10

atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat 60  
 gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagc 120  
 ccacacacaa gtgaatttaa aggagcagcc cgggtgtcac ctatcagtga aagtgtgtta 180  
 gcacgacttt ccaagtttga agttgaagat gctgaaaatg ttgcttcata tgacagcaag 240  
 attaagaaaa ttgtgcattc aattgtatca tcttttgcac ttggactatt tggagttttc 300  
 ctggctttac tggatgtcac tctcatcctt gccgacctaa ttttcactga cagcaaaactt 360  
 tatattcctt tggagtatcg ttctatttct ctagtattg ccttattttt tctcatggat 420  
 gttcttcttc gagtatttgt agaaaggaga cagcagtatt tttctgactt attraacatt 480  
 ttagatactg ccattattgt gattcttctg ctggttgatg tcgtttacat tttttttgac 540  
 attaagttgc ttaggaatat tcccagatgg acacatttac ttcgacttct acgacttatt 600  
 attctgttaa gaatttttca tctgtttcat caaaaagac aacttgaaaa gctgataaga 660  
 agggggggtt cagaaaacaa aaggcgatac acaagggatg gatttgacct agacctcact 720  
 tacgtracag aacgtattat tgctatgtca tttccatctt ctggaaggca gtctttctat 780  
 agaaatccaa tcaaggaagt tgtgcgggtt ctagataaga aacaccgaaa ccactatcga 840  
 gtctacaatc tatgcagtga aagagcttac gatcctaagc acttccataa tagggctcgtt 900  
 agaatcatga ttgatgatca taatgtcccc actctacatc agatggtggt tttcaccaag 960  
 gaagtaaagtg agtggatggc tcaagatctt gaaaacatcg tagcgattca ctgtaaagga 1020  
 ggcacaggtt atgtacgtga tctaaaaatc caaatagaaa tggagaaaaa ggttgtcttt 1080  
 tccactattt cattagaaa atgttcggtc cttgataaca ttacaacaga caaaatatta 1140  
 attgatgtat tcgacgggtc acctctgtat gatgatgtga aagtgcagtt tttctattcg 1200  
 aatcttctca catactatga caattgctca ttttacttct ggttgcacac atcttttatt 1260  
 gaaaataaca ggctttatct accaaaaaat gaattggata atctacataa acaaaaagca 1320  
 cggagaattt atccatcaga ttttgcctg gagatacttt ttggcgagaa aatgacttcc 1380  
 agtgatgttg tagctggatc cgattaa 1407

- 5 <210> 56
- <211> 1413
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- 10 <400> 56

atgaatgaaa gtccgatcc gactgacctg gcgggagtc tcatgagct cggccccaat 60  
 gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagt. 120  
 gtgtagcac gactttccaa gtttgaagt gaagatgctg aaaatgttgc ttcatatgac 180  
 agcaagatta agaaaattgt gcattcaatt gtatcatcct ttgcatttg actatttgg 240  
 gtttccctgg tcttactgga tgcactctc atccttgccg acctaatttt cactgacagc 300  
 aaactttata ttcctttgga gtatcgttct atttctctag ctattgcctt artttttctc 360  
 atggatgttc tcttcgagt attttagaaa aggagacagc agtatitttc tgacttattt 420  
 aacattttag atactgccat tattgtgatt cttctgctgg ttgatgtcgt ttacattttt 480  
 tttgacatta agttgcttag gaatattccc agatggacac atttacttcg acttctacga 540  
 cttattattc tgtaagaat tttcatctg tttcatcaaa aaagacaact tgaaaagctg 600  
 ataagaaggc gggtttcaga aaacaaaagg cgatacacia gggatggatt tgacctagac 660  
 ctcaattacg ttacagaacg tattattgct atgtcatttc catcttctgg aaggcagtct 720  
 ttctatagaa atccaatcaa ggaagtgtg cggtttctag ataagaaaca ccgaaaccac 780  
 tatcgagtct acaatctatg cagtgaaga gcttacgac ctaagcactt ccataatagg 840  
 gtcgttagaa tcatgattga tgatcataat gtccccactc tacatcagat ggtggttttc 900  
 accaaggaag taaatgagtg gatggctcaa gatcttgaaa acatcgtagc gattcactgt 960  
 aaaggaggca cagatagaac aggaactatg gtttgtgctt tccttattgc ctctgaaata 1020  
 ,tgttcaactg caaaggaaag cctgtattat tttggagaaa ggcgaacaga taaaaccac 1080  
 agcgaaaaat ttcagggagt agaaactcct tctgtacttg ataacattac aacagacaaa 1140  
 atattaattg atgtattcga cggccacct ctgtatgatg atgtgaaagt gcagttttc 1200  
 tattcgaatc ttcctacata ctatgacaat tgctcatttt acttctgggt gcacacatct 1260  
 tttattgaaa ataacaggct ttatctacca aaaaatgaat ,tggataatct acataaacia 1320  
 aaagcacgga gaatttatcc atcagatttt gccgtggaga tactttttgg cgagaaaatg 1380  
 acttccagtg atgtttagc tggatccgat taa 1413

<210> 57  
 <211> 1353  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 57

5

10

atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat 60  
 gacagtcac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagt 120  
 gtgttagcac gactttccaa gtttgaagt gaagatgctg aaaatggtgc ttcatatgac 180  
 agcaagatta agaaaattgt gcattcaatt gtatcatcct ttgcatttgg actatttggg 240  
 gtttccttgg tcttacttga tgtcactctc atccttgccg acctaatttt cactgacagc 300  
 aaactttata ttcttttggg gtatcgttct atttctctag ctattgcctt attttttctc 360  
 atggatgttc ttcttcgagt atttgtagaa aggagacagc agtatttttc tgacttattt 420  
 aacattttag atactgccat tattgtgatt cttctgctgg ttgatgtcgt ttacattttt 480  
 ttgacatta agttgcttag gaatattccc agatggacac atttacttcg acttctacga 540  
 ctattatttc tgtaagaat ttttcatctg ttcatcaaa aaagacaact tgaaaagctg 600  
 ataagaaggc gggtttcaga aaacaaaagg cgatacaciaa gggatggatt tgacctagac 660  
 ctcacttacg ttacagaacg tattattgct atgtcatttc catcttctgg aaggcagctc 720  
 ttctatagaa atccaatcaa ggaagtgtg cggtttctag ataagaaaca ccgaaaccac 780  
 tatcgagtct acaatctatg cagtgaaga gcttacgatc ctaagcactt ccataatagg 840  
 gtcgttagaa tcatgattga tgatcataat gtccccactc tacatcagat ggtggtttct 900  
 accaaggaag taaatgagtg gatggctcaa gatcttgaaa acatcgtagc gattcactgt 960  
 aaaggaggca caggttatgt acgtgatcta aaaatccaaa tagaaatgga gaaaaaggtt 1020  
 gtcttttcca ctatttcatt aggaaaatgt tcggtacttg ataacattac aacagacaaa 1080  
 atattaattg atgtattcga cgggccacct ctgtatgatg atgtgaaagt gcagtttttc 1140  
 tattcgaatc ttctacata ctatgaat tgctcatttt acttctggtt gcacacatct 1200  
 ttattgaaa ataacaggct ttatctacca aaaaatgaat tggataatct acataaacia 1260  
 azagcacgga gaatttatcc atcagatttt gccgtggaga tactttttgg cgagaaaatg 1320  
 acttccagtg atgttgtagc tggatccgat taa 1353

<210> 58  
 <211> 395  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 58

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly  
35 40 45

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser  
50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys  
65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu  
85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp  
100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser  
115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg  
130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile  
145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr  
165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His  
180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu  
195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser  
210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr  
 225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg  
 245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp  
 260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg  
 275 280 285

Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile  
 290 295 300

Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys  
 305 310 315 320

Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile  
 325 330 335

His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe  
 340 345 350

Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr  
 355 360 365

Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly  
 370 375 380

Val Glu Thr Pro Ser Gln Val Met Tyr Val Ile  
 385 390 395

<210> 59  
 <211> 468  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 59

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly  
 35 40 45

10

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser  
50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys  
65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu  
85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp  
100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser  
115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg  
130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile  
145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr  
165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His  
180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu  
195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser  
210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr  
225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg  
245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp  
260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg  
275 280 285

Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile  
290 295 300

Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys  
305 310 315 320

Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile  
 325 330 335

His Cys Lys Gly Gly Thr Gly Tyr Val Arg Asp Leu Lys Ile Gln Ile  
 340 345 350

Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys Cys  
 355 360 365

Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val Phe  
 370 375 380

Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr Ser  
 385 390 395 400

Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu His  
 405 410 415

Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu Leu  
 420 425 430

Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp Phe  
 435 440 445

Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val Val  
 450 455 460

Ala Gly Ser Asp  
 465

<210> 60

<211> 470

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 60

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe  
 35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys  
 50 55 60

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

Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr Phe Gly  
 340 345 350

Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly Val Glu  
 355 360 365

Thr Pro Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp  
 370 375 380

Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe  
 385 390 395 400

Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp  
 405 410 415

Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn  
 420 425 430

Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser  
 435 440 445

Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp  
 450 455 460

Val Val Ala Gly Ser Asp  
 465 470

- <210> 61
- <211> 450
- 5 <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*

<400> 61

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu  
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr  
 20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe  
 35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys  
 50 55 60

Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu Phe Gly  
 65 70 75 80

10

Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp Leu Ile  
 85 90 95  
 Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser Ile Ser  
 100 105 110  
 Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg Val Phe  
 115 120 125  
 Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile Leu Asp  
 130 135 140  
 Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr Ile Phe  
 145 150 155 160  
 Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His Leu Leu  
 165 170 175  
 Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu Phe His  
 180 185 190  
 Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser Glu Asn  
 195 200 205  
 Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr Tyr Val  
 210 215 220  
 Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg Gln Ser  
 225 230 235 240  
 Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp Lys Lys  
 245 250 255  
 His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg Ala Tyr  
 260 265 270  
 Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile Asp Asp  
 275 280 285  
 His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys Glu Val  
 290 295 300  
 Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile His Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Gly Gly Thr Gly Tyr Val Arg Asp Leu Lys Ile Gln Ile Glu Met  
 325 330 335  
 Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys Cys Ser Val  
 340 345 350

Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val Phe Asp Gly  
 355 360 365

Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr Ser Asn Leu  
 370 375 380

Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu His Thr Ser  
 385 390 395 400

Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu Leu Asp Asn  
 405 410 415

Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp Phe Ala Val  
 420 425 430

Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val Val Ala Gly  
 435 440 445

Ser Asp  
 450

<210> 81  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 5 <213> *Homo sapiens*

<400> 81

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser  
 1 5 10

10 <210> 82  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*

<400> 82

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr  
 1 5 10

20 <210> 83  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

**REIVINDICACIONES**

1. Utilización de

- 5 (i) una sonda polinucleotídica, que se hibrida específicamente con un ácido nucleico que codifica para un antígeno asociado a tumores, y/o
  - (ii) un anticuerpo, que se une específicamente a un antígeno asociado a tumores, y/o
  - 10 (iii) una proteína o péptido, que se une específicamente a un anticuerpo contra un antígeno asociado a tumores,
- para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico o a la monitorización de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores, en una muestra biológica aislada de un paciente, en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico, que se selecciona de entre el grupo constituido por:
- 15 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
  - 20 (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

2. Utilización de un anticuerpo, que se une a un antígeno asociado a tumores y que está acoplado con un agente de diagnóstico, para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico o a la monitorización de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores, en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico seleccionado de entre el grupo constituido por:

- 25 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
- 30 (b) un ácido nucleico que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

3. Utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que el anticuerpo, que se une a un antígeno asociado a tumores, es un anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo.

4. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el antígeno asociado a tumores comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

5. Anticuerpo que se une específicamente a un antígeno asociado a tumores, en el que el antígeno asociado a tumores se codifica por un ácido nucleico que se selecciona de entre el grupo constituido por:

- 40 (a) un ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
- 45 (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a), para su utilización en un procedimiento destinado al diagnóstico de un cáncer, que se caracteriza por la expresión del antígeno asociado a tumores.

6. Anticuerpo según la reivindicación 5, en el que la proteína o polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.

7. Anticuerpo según la reivindicación 5 o 6, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo.

8. Anticuerpo según una de las reivindicaciones 5 a 7, en el que el anticuerpo está acoplado con un agente de diagnóstico.

9. Anticuerpo según la reivindicación 8, en el que el agente de diagnóstico es una toxina.

10 Utilización de un kit destinado al diagnóstico de un cáncer, caracterizado por la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende unos agentes para la detección

- 65 (i) del ácido nucleico, que codifica el antígeno asociado a tumores,
- (ii) del antígeno asociado a tumores,

(iii) de los anticuerpos, que se unen al antígeno asociado a tumores, y/o

5 (iv) de las células T, que son específicas para un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, y una molécula del CMH,

en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico que se selecciona de entre el grupo constituido por:

10 (a) un ácido nucleico, que comprende la secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

(b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

15 11. Utilización según la reivindicación 10, en el que los medios para la detección del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, son moléculas de ácido nucleico para la amplificación selectiva del ácido nucleico.

20 12. Utilización de un anticuerpo, que se une a TPTE y que está acoplado con un agente de diagnóstico para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico o a la monitorización de un tumor metastásico, que se caracteriza por la expresión de TPTE, en el que la TPTE presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico, que consiste en:

25 (a) un ácido nucleico, que comprende la secuencia de ácido nucleico según SEC ID NO: 19, y

(b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

30 13. Utilización según la reivindicación 12, en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, quimérico o humanizado o un fragmento de un anticuerpo.

35 14. Procedimiento *in vitro* destinado al diagnóstico de un cáncer, caracterizado por la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende

(i) detectar un ácido nucleico, que codifica para un antígeno asociado a tumores, y/o

(ii) detectar un antígeno asociado a tumores, y/o

40 (iii) detectar un anticuerpo contra un antígeno asociado a tumores y/o

(iv) detectar células T cooperadoras o citotóxicas, que son específicas para un antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, en una muestra biológica aislada de un paciente, en el que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico, que se selecciona de entre el grupo constituido por:

45 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y

50 (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).

15. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que la detección comprende

55 (i) poner en contacto la muestra biológica con un agente, que se une específicamente al ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores, al antígeno asociado a tumores, al anticuerpo o a las células T cooperadoras o citotóxicas, y

60 (ii) detectar la formación de complejo entre el agente y el ácido nucleico, el antígeno asociado a tumores, el anticuerpo o las células T cooperadoras o citotóxicas.

16. Procedimiento según la reivindicación 14 o 15, en el que se compara la detección con la detección en una muestra biológica normal comparable.

65 17. Procedimiento *in vitro* para determinar la regresión, la evolución o la aparición de un cáncer, que se caracteriza por la expresión de un antígeno asociado a tumores, que comprende la monitorización de una muestra de un paciente, que tiene cáncer o del que se sospecha que puede padecer cáncer, con respecto a uno o más parámetros

seleccionados de entre el grupo constituido por:

- (i) la cantidad de un ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores,
- 5 (ii) la cantidad del antígeno asociado a tumores,
- (iii) la cantidad de anticuerpos, que se unen al antígeno asociado a tumores, y
- 10 (iv) la cantidad de células T citolíticas o que secretan citocinas, que son específicas para un complejo entre el antígeno asociado a tumores o una parte del mismo, que comprende por lo menos 6 aminoácidos consecutivos, y una molécula del CMH, en la que el antígeno asociado a tumores presenta una secuencia codificada por un ácido nucleico, que se selecciona de entre el grupo constituido por:
  - 15 (a) un ácido nucleico, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 19 a 21 y 54 a 57, y
  - (b) un ácido nucleico, que presenta una identidad de secuencia de por lo menos el 98% con el ácido nucleico de (a).
- 20 18. Procedimiento según la reivindicación 17, en el que el procedimiento comprende determinar el o los parámetros en un primer momento en una primera muestra y en un segundo momento en una muestra adicional, y mediante una comparación de ambas muestras se detecta la evolución de la enfermedad.
- 25 19. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 18, en el que la detección de ácido nucleico o la monitorización de la cantidad del ácido nucleico tiene lugar con una sonda polinucleotídica, que se hibrida específicamente con el ácido nucleico.
- 30 20. Procedimiento según la reivindicación 19, en el que la sonda polinucleotídica comprende una secuencia de 6 a 50 nucleótidos contiguos del ácido nucleico, que codifica para el antígeno asociado a tumores.
- 35 21. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 18, en el que la detección del ácido nucleico o la monitorización de la cantidad del ácido nucleico tiene lugar mediante la amplificación selectiva del ácido nucleico.
- 40 22. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 18, en el que la detección del antígeno asociado a tumores o la monitorización de la cantidad del antígeno asociado a tumores tiene lugar con un anticuerpo, que se une específicamente al antígeno asociado a tumores.
- 45 23. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 18, en el que la detección del anticuerpo o la monitorización de la cantidad de anticuerpos tiene lugar con una proteína o un péptido, que se une específicamente al anticuerpo.
- 50 24. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 18, en el que la detección de las células T o la monitorización de la cantidad de células T tiene lugar con una célula, que presenta el complejo entre el antígeno asociado a tumores o la parte del mismo y una molécula del CMH.
- 55 25. Procedimiento según una de las reivindicaciones 19, 20 y 22 a 24, en el que la sonda polinucleotídica, el anticuerpo, la proteína o péptido o la célula están marcados de forma detectable.
- 26. Procedimiento según la reivindicación 25, en el que el marcador detectable es un marcador radiactivo o un marcador enzimático.
- 27. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 26, en el que la muestra comprende un fluido corporal y/o un tejido corporal.
- 28. Procedimiento según una de las reivindicaciones 14 a 27, en el que el antígeno asociado a tumores comprende una secuencia de aminoácidos, seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID NO: 22 a 24, 58 a 61, 81 y 82.



Variantes de corte y empalme de TPTE

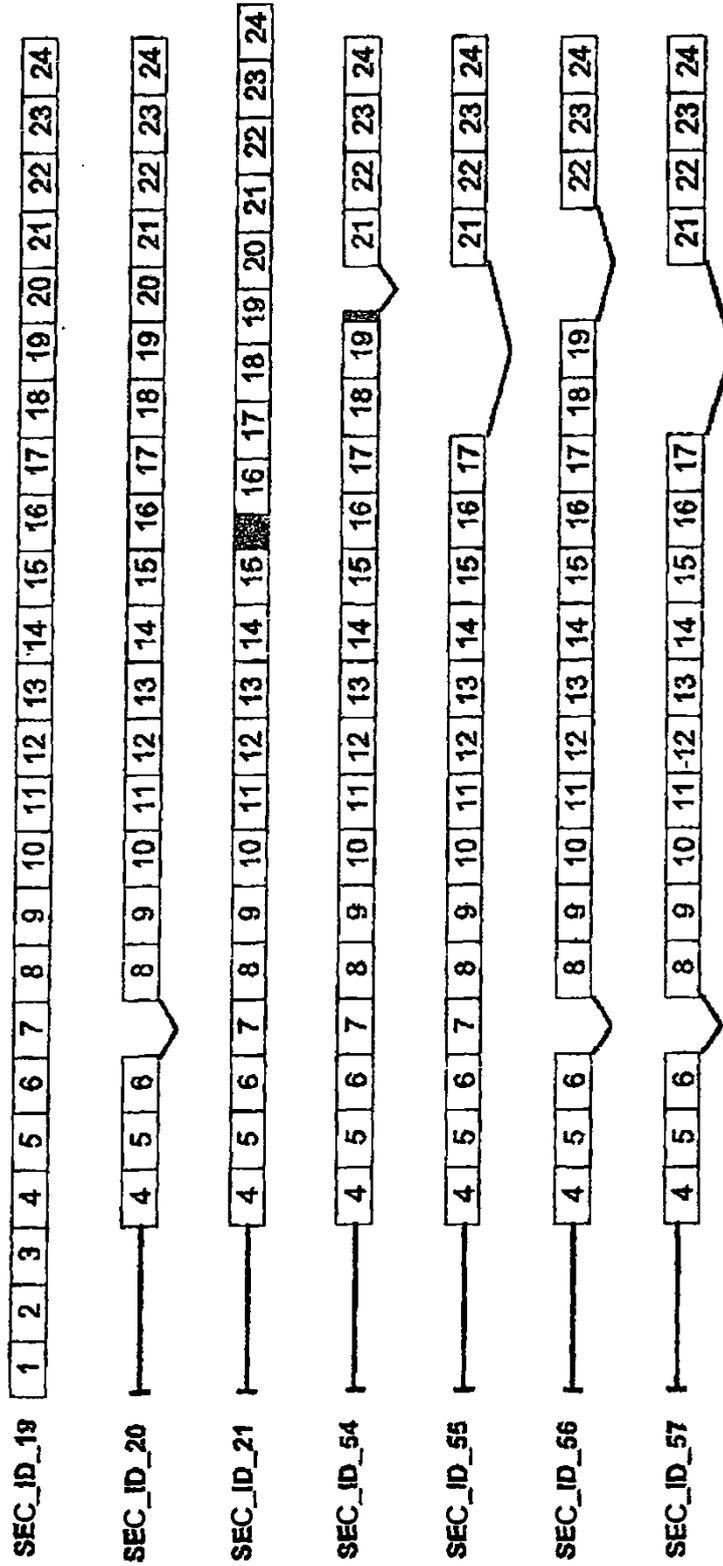


Figura 2

SEC_ID_19	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	60
SEC_ID_20	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	60
SEC_ID_21	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	60
SEC_ID_58	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	60
SEC_ID_59	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	60
SEC_ID_60	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	42
SEC_ID_61	MNESPDPFDLAGVI IELGPNDSPTSEPKGATEAPARESPHTSEYKGAARVSPITESEVL	43
SEC_ID_19	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	120
SEC_ID_20	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	102
SEC_ID_21	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	120
SEC_ID_58	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	120
SEC_ID_59	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	120
SEC_ID_60	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	102
SEC_ID_61	ARLSKFEVEDAEHVASVDSKIKKIVRSIVSSFAFGLFCVFLVLLDVTLLADLIPTOSKL	102
SEC_ID_19	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	180
SEC_ID_20	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	162
SEC_ID_21	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	180
SEC_ID_58	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	180
SEC_ID_59	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	180
SEC_ID_60	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	162
SEC_ID_61	YTFLEYSISLALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	162
SEC_ID_19	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	240
SEC_ID_20	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	222
SEC_ID_21	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	240
SEC_ID_58	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	240
SEC_ID_59	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	240
SEC_ID_60	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	222
SEC_ID_61	IKLLRNTFRPTHELRALALFTINDVLRVVERRQOYFSDLFNKLDTALIVILLVDDVVTTFD	222
SEC_ID_19	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	286
SEC_ID_20	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	268
SEC_ID_21	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	300
SEC_ID_58	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	286
SEC_ID_59	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	286
SEC_ID_60	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	268
SEC_ID_61	YVTERI IAMSFPSSGRQSTYRHPFKVVRFLDKRKRHHYRVYNLCS	268
SEC_ID_19	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	342
SEC_ID_20	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	324
SEC_ID_21	YFARERA YDPKHTYRNVVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	340
SEC_ID_58	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	342
SEC_ID_59	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	342
SEC_ID_60	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	324
SEC_ID_61	-----ERAYDPRKPRKVRVRLIMDDHVVFTLQGVVFTKEVNRWMAQOLENIVALCKGGT	324
SEC_ID_19	DRGTGDCAPLIAEYCSIAKESLMTFGERBTDKTHSEKFGQVSTFSQKRIYVYPAQVH	402
SEC_ID_20	DRGTGDCAPLIAEYCSIAKESLMTFGERBTDKTHSEKFGQVSTFSQKRIYVYPAQVH	384
SEC_ID_21	DRGTGDCAPLIAEYCSIAKESLMTFGERBTDKTHSEKFGQVSTFSQKRIYVYPAQVH	420
SEC_ID_58	DRGTGDCAPLIAEYCSIAKESLMTFGERBTDKTHSEKFGQVSTFSQKRIYVYPAQVH	395
SEC_ID_59	-----	343
SEC_ID_60	DRGTGDCAPLIAEYCSIAKESLMTFGERBTDKTHSEKFGQVSTFSQKRIYVYPAQVH	370
SEC_ID_61	-----	325
SEC_ID_19	LYNHLFPFRILFIRHFTIYSLFAYVRDLKIQIENGSKVVFSTISLGCQSVLONIITDGI	462
SEC_ID_20	LYNHLFPFRILFIRHFTIYSLFAYVRDLKIQIENGSKVVFSTISLGCQSVLONIITDGI	444
SEC_ID_21	LYNHLFPFRILFIRHFTIYSLFAYVRDLKIQIENGSKVVFSTISLGCQSVLONIITDGI	480
SEC_ID_58	-----	379
SEC_ID_59	-----	391
SEC_ID_60	-----	391
SEC_ID_61	-----	361
SEC_ID_19	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	522
SEC_ID_20	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	504
SEC_ID_21	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	540
SEC_ID_58	-----	435
SEC_ID_59	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	443
SEC_ID_60	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	443
SEC_ID_61	LIDVFDGPPFYDDVKVQVFTYRHLPTTYRCSFTYVWLSFTIENRNLVLPKNELDNLBRQK	421
SEC_ID_19	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	551
SEC_ID_20	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	533
SEC_ID_21	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	569
SEC_ID_58	-----	468
SEC_ID_59	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	470
SEC_ID_60	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	470
SEC_ID_61	ARRIYPSDFAVEILFGERMITSDDVAGSD	450

Figura 3

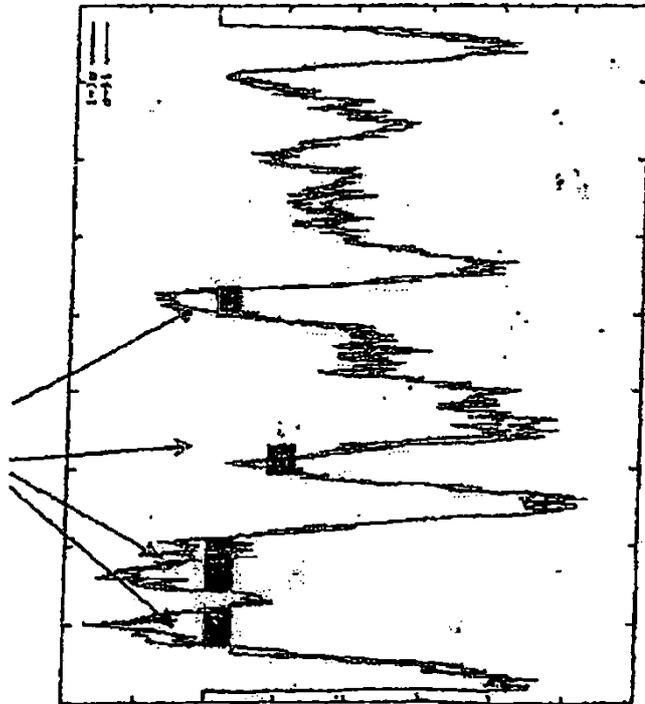
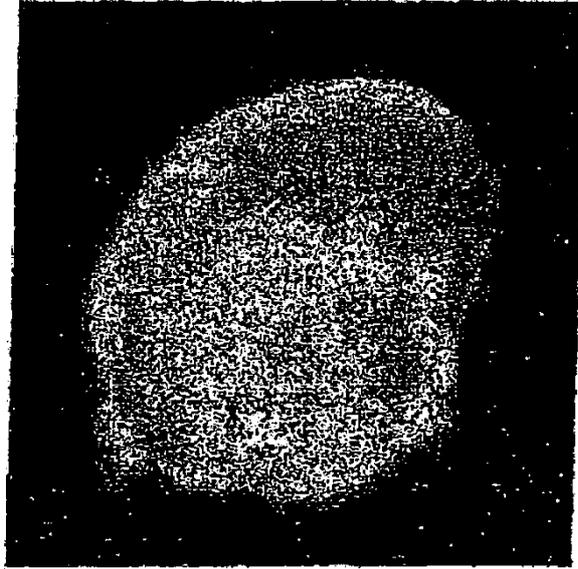


Figura 4