

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 599**

51 Int. Cl.:

C07K 14/82 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009 E 09810692 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015 EP 2318435**

54 Título: **Moduladores de MYC, métodos de uso de los mismos, y métodos para identificar agentes que modulan MYC**

30 Prioridad:

28.08.2008 US 92708 P

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

29.02.2016

73 Titular/es:

**TAIGA BIOTECHNOLOGIES, INC. (100.0%)
12635 East Montview Boulevard
Aurora, CO 80045-7336, US**

72 Inventor/es:

**REFAELI, YOSEF y
TURNER, BRIAN CURTIS**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 561 599 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

Moduladores de MYC, métodos de uso de los mismos, y métodos para identificar agentes que modulan MYC

5 Antecedentes de la invención

Existen múltiples tipos de vacunas: vacunas que contienen microorganismos muertos (por ejemplo las vacunas de la gripe y del cólera); vacunas que contienen microorganismos atenuados (por ejemplo, la vacuna MMR); vacunas que contienen toxoides (por ejemplo la vacuna DPT); vacunas que contienen subunidades del patógeno (por ejemplo la vacuna HPV); y vacunas de ácido nucleico (por ejemplo ARN y ADN) (por ejemplo la vacuna de la gripe aviar, la vacuna del virus del Nilo occidental y vacunas contra el cáncer múltiple). Los adyuvantes de vacunas son agentes que estimulan al sistema inmunitario y aumentan la respuesta del mismo frente a una vacuna.

15 Sumario de invención

Existe una necesidad de adyuvantes de vacunas que potencien una respuesta inmunológica contra un antígeno. Los autores de la invención han descubierto que aumentando la expresión de MYC o la actividad de un péptido de MYC se potencian las respuestas inmunológicas contra antígenos. Para aumentar las concentraciones de MYC en el núcleo de las células con efectos secundarios mínimos, los autores de la invención han diseñado un péptido de fusión que puede introducirse en el núcleo de las células. Este péptido puede administrarse por vía tópica para disminuir los efectos sistémicos. Este péptido también aumenta la viabilidad de leucocitos, incluyendo linfocitos T y linfocitos B. Además, los autores de la invención han diseñado diversos ensayos para identificar otros agentes que cumplen esta necesidad insatisfecha.

25 También hay una necesidad de métodos para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios. Los autores de la invención han descubierto que disminuyendo la expresión de MYC o la actividad de un péptido de MYC se tratan trastornos autoinmunitarios. Para cumplir esta necesidad insatisfecha, los autores de la invención han diseñado diversos ensayos para identificar agentes que inhiban (parcial o completamente) la actividad de un sistema inmunitario. En determinados casos, los agentes que inhiben el sistema inmunitario disminuyen la viabilidad de los leucocitos o aumentan la proporción de linfocitos B anérgicos.

35 Por consiguiente, la invención proporciona una composición vacunal, que comprende: (a) un resto antigénico derivado de un patógeno; (b) un péptido de fusión que comprende: (i) una secuencia peptídica transportadora que promueve la penetración de péptidos en células y tejidos; y (ii) una secuencia polipeptídica de MYC; y (c) un excipiente farmacológicamente aceptable.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (I):

40 secuencia peptídica transportadora-secuencia MYC.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (II):

45 secuencia peptídica transportadora-X-secuencia MYC,

en la que X es una molécula que se une a la secuencia peptídica transportadora y a la secuencia MYC.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (II):

50 secuencia peptídica transportadora-X-secuencia MYC,

en la que X es al menos un aminoácido.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEE
 NFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGD
 NDGGGGSFMRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQ
 PYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYV
 AVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNIIIQD
 CMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASE
 CIDPSVVPYPLNDSSSPKSCASQDSSAFSPSSDLSSTESSPQGSPEPLVLHEE
 TPPTSSDSEEEQEDEEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPSAGGHKPPHSPLVLK
 RCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDVSVLRQISNNRKCTSPRSSDTEEN
 VKRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVILKKATAYILSVQAAE
 QKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLEGKPIPPLLGLDSTRTGHHHHHH

5 La invención también proporciona un péptido de fusión para su uso en el aumento de una respuesta inmunitaria en un individuo, comprendiendo el péptido de fusión: (a) una secuencia peptídica transportadora que promueve la penetración de péptidos en una secuencia de células y tejidos y (b) una secuencia polipeptídica de MYC; en el que el péptido de fusión se administra antes, después o durante la administración de una vacuna, en el que la vacuna se selecciona del grupo que consiste en: vacuna de la hepatitis A; vacuna de la hepatitis B; vacuna de la polio; vacuna del sarampión; vacuna de las paperas; vacuna de la rubéola; vacuna de la difteria; vacuna de tos ferina; vacuna del tétanos; vacuna de la gripe; vacuna del virus de la varicela zóster; vacuna de rotavirus; vacuna meningocócica;
 10 vacuna de la neumonía; vacuna de la viruela; vacuna del cólera; vacuna de la peste bubónica; vacuna de la fiebre amarilla; vacuna de la tuberculosis; vacuna del papilomavirus humano; una vacuna contra el cáncer; o combinaciones de las mismas.

15 En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (I):
 secuencia peptídica transportadora-secuencia MYC.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (II)
 20 secuencia peptídica transportadora-X-secuencia MYC,
 en la que X es una molécula que une la secuencia peptídica transportadora y la secuencia MYC.

En algunas realizaciones, el péptido tiene la Fórmula (II):
 25 secuencia peptídica transportadora-X-secuencia MYC,
 en la que X es al menos un aminoácido.

30 En algunas realizaciones, el péptido tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEE
 NFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGD
 NDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNIIIQDCMWGFSAA
 AKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVPY
 PLNDSSSPKSCASQDSSAFSPSSDLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTSSDSE
 EEQEDEEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPSAGGHKPPHSPLVLKRCHVSTHQH
 YAAPPSTRKDYPAAKRVKLDVSVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHNVLER
 QRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVILKKATAYILSVQAAEQKLISEEDLLRK
 RREQLKHKLEQLRKGELNSKLEGKPIPPLLGLDSTRTGHHHHHH.

35 En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un antígeno, un resto antigénico o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el antígeno es un microorganismo muerto, un microorganismo atenuado, un toxoide, una subunidad de un patógeno, un ácido nucleico, un polímero de ácidos

nucleicos o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el antígeno deriva de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de la varicela zóster; rotavirus; meningococo; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos.

5 En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un resto antigénico derivado de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de la varicela zóster; rotavirus; meningococo; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos.

10 En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un resto antigénico derivado de una célula neoplásica.

15 En algunas realizaciones, la composición se formula para administración tópica.

Descripción detallada de la invención

20 En el presente documento se desvelan, en determinadas realizaciones, métodos para identificar agentes capaces de modular (por ejemplo, activar, aumentar, inducir, complementar, disminuir o inhibir) un sistema inmunitario. En algunas realizaciones, los agentes se utilizan para aumentar una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, los agentes se usan para disminuir una respuesta inmunitaria. Además, en el presente documento se desvelan métodos para modular un sistema inmunitario usando agentes identificados por cualquiera de los medios desvelados en el presente documento.

25 Determinadas definiciones

A menos que se indique de otra manera, los siguientes términos tienen los siguientes significados cuando se usan en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas.

30 El término “vacuna” significa una composición que comprende antígenos y/o restos antigénicos administrados a un mamífero para suscitar una respuesta inmunitaria. El antígeno o resto antigénico es un microorganismo vivo o atenuado, un producto natural purificado de un microorganismo (por ejemplo una subunidad de una proteína, péptido, polisacárido y un ácido nucleico), un producto sintético diseñado para imitar un componente del microorganismo, una proteína, un péptido o un polisacárido modificado genéticamente, propias células tumorales de un paciente, un producto natural purificado de una célula tumoral (por ejemplo, Antígeno Específico Prostático, gp96, GM2, GD2, GD3, antígeno carcinoembrionario, MART-1 y tirosinasa), una molécula sintética diseñada para imitar un componente de una célula tumoral (por ejemplo sialil Tn), o combinaciones de los mismos. Además, el término vacuna incluye vacunas actuales y cualquier vacuna nueva y/o modificada desarrollada.

40 La expresión “tejido linfóide” significa tejido asociado con el sistema linfático. A modo de ejemplo no limitante, el tejido linfóide incluye tejido obtenido de los ganglios linfáticos, anginas, bazo, médula ósea y timo.

45 El término “linfocito” se refiere a todas las poblaciones de linfocitos blancos inmaduros, maduros, no diferenciados y diferenciados que incluyen variedades tisulares específicas y especializadas. Incluye, a modo de ejemplo no limitante, linfocitos B, linfocitos T, células NKT y células NK. En algunas realizaciones, los linfocitos incluyen todas las líneas de linfocitos B incluyendo pre-linfocitos B, linfocitos B Progenitores, linfocitos Pro-B Tempranos, linfocitos Pro-B Tardíos, linfocitos Pre-B Grandes, linfocitos Pre-B Pequeños, linfocitos B Inmaduros, linfocitos B Maduros, linfocitos B Plasmáticos, linfocitos B de Memoria, linfocitos B-1, linfocitos B-2 y poblaciones de células anérgicas AN1/T3.

50 El término linfocito B se refiere, a modo de ejemplo no limitante, a un linfocito pre-B, linfocito B Progenitor, linfocito Pro-B Temprano, linfocito Pro-B Tardío, linfocito Pre-B Grande, linfocito Pre-B Pequeño, linfocito B Inmaduro, linfocito B Maduro, linfocito B Plasmático, linfocito B de Memoria, linfocito B-1, linfocitos B-2 y poblaciones de células anérgicas AN1/T3. En algunas realizaciones, la expresión linfocito B incluye un linfocito B que expresa una cadena pesada de inmunoglobulina y/o una cadena ligera de inmunoglobulina en su superficie celular. En algunas realizaciones, la expresión linfocito B incluye un linfocito B que expresa y secreta una cadena pesada y/o cadena ligera de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, la expresión linfocito B incluye una célula que se une a un antígeno en su superficie celular. En algunas realizaciones desveladas en el presente documento, se utilizan linfocitos B o células AN1/T3 en los procesos descritos. En determinadas realizaciones, dichas células se sustituyen opcionalmente por cualquier célula animal adecuada para expresar, capaz de expresar (por ejemplo expresión inducible) o capaz de diferenciarse en una célula adecuada para expresar un anticuerpo incluyendo, por ejemplo, una célula madre hematopoyética, un linfocito B, un linfocito pre-B, un linfocito B Progenitor, un linfocito Pro-B Temprano, un linfocito Pro-B Tardío, un linfocito Pre-B Grande, un linfocito Pre-B Pequeño, un linfocito B Inmaduro, un linfocito B Maduro, un linfocito B Plasmático, un linfocito B de Memoria, un linfocito B-1, un linfocito B-2, un linfocito B anérgico o una célula anérgica AN1/T3.

La expresión "respuesta inmunitaria" incluye la identificación y neutralización de patógenos y/o células tumorales. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria es una respuesta inmunitaria adaptativa. A modo de ejemplo no limitante, la respuesta inmunitaria adaptativa incluye el desarrollo de memoria inmunológica.

5 Los términos "anticuerpo" y "anticuerpos" también se refieren a cualquier forma de un anticuerpo de origen natural (aunque aislado y/o purificado), modificado genéticamente o sintético, incluyendo anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos injertados, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos sintéticos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos camelizados, Fv monocatenarios (sdFv), anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv unidos a disulfuro
 10 (sdFv), intracuerpos y anticuerpos anti-idiotípicos (anti-Id) y fragmentos de unión a antígeno de cualquiera de los anteriores. En particular, los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina y fragmentos inmunológicamente activos de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina son de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂) o subclase. Los términos "anticuerpo" e inmunoglobulina se usan
 15 indistintamente en el sentido más amplio. En algunas realizaciones, un anticuerpo es parte de una molécula más grande, formada por la asociación covalente o no covalente del anticuerpo con una o más proteínas o péptidos adicionales.

Los anticuerpos del presente documento incluyen anticuerpos monoclonales, policlonales, recombinantes, quiméricos, humanizados, biespecíficos, injertados, humanos y fragmentos de los mismos que incluyen anticuerpos alterados mediante cualquier medio para que sean menos inmunogénicos en seres humanos. Por lo tanto, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales y fragmentos, etc., en el presente documento incluyen anticuerpos "quiméricos" y anticuerpos "humanizados". En general, los anticuerpos quiméricos incluyen una parte de la cadena pesada y/o ligera que es idéntica con u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, aunque las restantes una o más cadenas son idénticas a u homólogas de las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de otras especies o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (Patente de Estados Unidos n.º 4.816.567); Morrison *et al.* Proc. Natl Acad. Sci. 81: 6851-6855 (1984). Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico contiene regiones variables derivadas de un de ratón y regiones constantes derivadas de ser humano en el que la región constante contiene secuencias homólogas tanto de IgG2 humana como de IgG4 humana. Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) o fragmentos son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de las mismas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión antígeno de anticuerpos) que contienen secuencias mínimas derivadas de inmunoglobulina no humana. Los anticuerpos humanizados incluyen anticuerpos injertados o anticuerpos injertados con CDR en el que parte o toda la secuencia de aminoácidos de una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) derivadas de un anticuerpo animal no humano se injerta en una posición apropiada de un anticuerpo humano manteniendo al mismo tiempo la especificidad de unión deseada y/o afinidad del anticuerpo no humano original. En algunas realizaciones, restos no humanos correspondientes reemplazan los restos de la región marco FV de la inmunoglobulina humana. En algunas realizaciones, los anticuerpos humanizados comprenden residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las CDR importadas o secuencias marco conservadas. Estas modificaciones se realizan para refinar adicionalmente y optimizar el comportamiento del anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo humanizado comprende sustancialmente todos de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas de las regiones FR son las de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véase, por ejemplo: Jones *et al.*, Nature 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, Nature 332: 323-329 (1988) y Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992).

El término "antígeno" se refiere a una sustancia que suscita la producción de un anticuerpo.

La expresión "resto antigénico" significa la parte de una molécula, organismo (por ejemplo, una bacteria, virus), o célula a la cual se une un anticuerpo (o se complementa).

La expresión "autoantígeno" se refiere a un antígeno que se origina dentro de un tejido o célula animal. En algunas realizaciones, un autoantígeno comprende un antígeno endógeno. En algunas realizaciones un autoantígeno comprende un antígeno endógeno producido por un retrovirus endógeno. En algunas realizaciones los autoantígenos comprenden neo-autoantígenos, neo-autoantígenos codificados por microbios o parásitos, u otros neo-autoantígenos expresados como resultado de la alteración genética de un animal o una célula después de una irradiación de todo el cuerpo, y trasplante de HSC (que reinicia el sistema inmunitario y permite que el nuevo antígeno se considere "autoantígeno"). En algunas realizaciones, un ratón quimérico expresa un neo-autoantígeno.

La expresión "autoantígeno" se refiere a un antígeno que comprende un epítipo de un autoantígeno o un epítipo inmunológicamente reactivo que imita el de un autoantígeno. En algunas realizaciones el término autoantígeno comprende antígenos para los que se producen autoanticuerpos. En algunas realizaciones, un autoantígeno comprende un antígeno endógeno en el que el animal del que se origina el antígeno endógeno es o fue tolerante inmunológicamente contra el antígeno.

El término “anergia” se refiere a un estado en el que los linfocitos están inactivos (por ejemplo, no responden a la unión de un antígeno). En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito B. En algunas realizaciones, un linfocito B se convierte en anérgico tras la exposición a un autoantígeno soluble en circulación. En algunas realizaciones, un linfocito B se vuelve anérgico después de exposición a un antígeno en circulación soluble. En algunas realizaciones, el antígeno es lisozima de huevo de gallina soluble (sHEL).

El término “aminoácido” se refiere a aminoácidos de origen natural y de origen no natural, así como análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a la de los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos codificados naturalmente son los 20 aminoácidos habituales (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina) y pirolisina y selenocisteína. Los análogos de aminoácidos se refieren a agentes que tienen la misma estructura química básica que la de un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino, y un grupo R, tal como, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metil sulfonio de metionina. Dichos análogos tienen grupos R modificados (tales como norleucina) o cadenas principales peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que la de un aminoácido de origen natural.

Se hace referencia a los aminoácidos en el presente documento mediante su símbolo de tres letras habitualmente conocido o mediante los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de la Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Del mismo modo, se hace referencia a los nucleótidos mediante sus códigos de una sola letra normalmente aceptados.

Los términos “polipéptido”, “péptido” y “proteína” se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos de origen natural así como a polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos es un aminoácido de origen no natural, por ejemplo, un análogo de aminoácido. Los términos incluyen cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo proteínas de longitud completa, en las que los restos de aminoácidos están unidos mediante enlaces peptídicos covalentes.

Las expresiones “proteína Myc” y “polipéptido Myc” son sinónimos que se usan y se refieren al polímero de los restos de aminoácidos desvelados en el Número de Referencia de NCBI NP002458.2 y homólogos funcionales, análogos o fragmentos de los mismos. En algunas realizaciones, un polipéptido Myc comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 40 % al 100 % idéntica, por ejemplo, al menos 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 40 % a aproximadamente 100 % idéntica a la secuencia de los Números de Referencia de NCBI NP002458.2. En algunas realizaciones, un polipéptido Myc comprende una secuencia polipeptídica de 40 aminoácidos o más de longitud que es al menos 50 % al 100 % idéntica, por ejemplo, al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % idéntica a la secuencia de los Números de Referencia de NCBI NP002458.2. En algunas realizaciones, un polipéptido Myc comprende una secuencia polipeptídica de 40 aminoácidos o más de longitud que es al menos 50 % a 100 % idéntica, por ejemplo, al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % idéntica a la secuencia de los Números de Referencia de NCBI NP002458.2. En algunas realizaciones, el polipéptido Myc significa un polímero de 439 aminoácidos, un polipéptido Myc que no se ha sometido a ninguna modificación postraducciona y/o un polipéptido Myc que se ha sometido a modificaciones postraduccionales. En algunos casos, el polipéptido Myc es de 48.804 kDa. En determinadas casos, el polipéptido Myc contiene un dominio de Cremallera de Leucina básico Hélice-Bucle-Hélice (bHLH/LZ). En determinados casos, el polipéptido Myc es un factor de transcripción (por ejemplo, el factor de transcripción 64). En determinados casos, el polipéptido Myc se une a una secuencia que comprende CACGTG (es decir, una secuencia de caja E).

La expresión “ácido nucleico” se refiere a desoxirribonucleótidos, desoxirribonucleósidos, ribonucleósidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en cualquier forma mono o bicatenaria. A menos que se limite específicamente, el término incluye ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleósidos naturales que tienen similares propiedades de unión a las del ácido nucleico de referencia y se metabolizan de una manera similar a la de los nucleótidos de origen natural. A menos que se limite específicamente de otra manera, el término también se refiere a análogos de oligonucleótidos incluyendo PNA (ácido peptidonucleico), análogos de ADN usados en tecnología antisentido (fosforotioatos, fosforamidatos y similares). A menos que se identifique de otra manera, una secuencia de ácido nucleico particular también incluye implícitamente variantes modificadas de manera conservativa de las mismas (incluyendo, pero sin limitación, sustituciones de codón degeneradas) y secuencias complementarias así como la secuencia explícitamente indicada. Específicamente, las sustituciones de codones degeneradas se consiguen generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más (o todos) de los codones seleccionados se sustituye con restos de desoxinosina y/o bases mixtas (Batzer *et al.*, Nucleic Acid Res. 19: 5081 (1991); Ohtsuka *et al.*, J. Biol. Chem. 260: 2605-2608 (1985); y Cassol *et al.* (1992); Rossolini *et al.*, Mol. Cell. Probes 8: 91-98 (1994)).

El término "MYC" y la expresión "gen MYC" son sinónimos. Se refieren a una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido Myc. Un gen MYC comprende una secuencia de nucleótidos de al menos 120 nucleótidos que es al menos 60 % a 100 % idéntica u homóloga, por ejemplo, al menos 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 % idéntica a la secuencias del Número de Referencia de NCBI NM_002467. En algunas realizaciones, el gen del MYC es un proto-oncogén. En determinados casos, un gen MYC se encuentra en el cromosoma 8, en 8q24.21. En determinados casos, un gen MYC comienza en 128.816.862 pb de *pter* y acaba en 128.822.856 pb de *pter*. En determinados casos, un gen MYC tiene aproximadamente 6 kb. En determinados casos, un gen MYC codifica al menos ocho secuencias de ARNm distintas - 5 variantes de corte y empalme alternativas y 3 variantes que no son de corte y empalme.

Para determinar el porcentaje de homología de dos secuencias de aminoácidos o de dos ácidos nucleicos, las secuencias pueden alinearse con objeto de realizar comparaciones óptimas (por ejemplo, se introducen huecos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico para un alineamiento óptimo con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico). Los restos de aminoácidos o de nucleótidos en las posiciones correspondientes de aminoácidos o posiciones de nucleótidos pueden compararse después. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo resto de aminoácido o nucleótido que en la posición correspondiente de la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El porcentaje de homología entre las dos secuencias está en función del número de posiciones idénticas compartidas por la secuencias (es decir, % de identidad = $n.^{\circ}$ de posiciones idénticas/ $n.^{\circ}$ total de posiciones (por ejemplo, posiciones solapantes) x 100). En algunas realizaciones, las dos secuencias tienen la misma longitud.

Para determinar el porcentaje de homología entre dos secuencias, el algoritmo de Karlin y Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268, modificado como en Karlin y Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877 se usa. Dicho algoritmo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul, *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410. Se realizan búsquedas de nucleótidos BLAST con el programa NBLAST, puntuación = 100, longitud de palabra = 12 para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a unas moléculas de ácido nucleico descritas o desveladas en el presente documento. Se realizan búsquedas de la proteína BLAST con el programa XBLAST, puntuación = 50, longitud de palabra = 3. Para obtener alineamientos con huecos para fines de comparación, se utiliza Gapped BLAST como se describe en Altschul *et al.* (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, se usan los parámetros por defecto de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). Véase la página web del Centro Nacional para la Información Biotecnológica para detalles adicionales (en la web en ncbi.nlm.nih.gov). Las proteínas adecuadas para su uso en los métodos descritos en el presente documento también incluyen proteínas que tienen entre 1 a 15 cambios de aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos, en comparación con la secuencia de aminoácidos de cualquier proteína descrita en el presente documento. En otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos alterada es al menos 75 % idéntica, por ejemplo, 77 %, 80 %, 82 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de cualquier inhibidor de proteína descrito en el presente documento. Dichas proteínas variantes de secuencia son adecuadas para los métodos descritos en el presente documento siempre y cuando la secuencia de aminoácidos alterada conserve la suficiente actividad biológica para que sea funcional en las composiciones y métodos descritos en el presente documento. Cuando se realizan sustituciones de aminoácidos, las sustituciones deben ser sustituciones de aminoácidos conservativas. Entre los aminoácidos comunes, por ejemplo, una "sustitución de aminoácido conservativa" se ilustra mediante una sustitución entre aminoácidos en los que cada uno de los siguientes grupos: 1) glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina, (2) fenilalanina, tirosina y triptófano, (3) serina y treonina, (4) aspartato y glutamato, (5) glutamina y asparagina y (6) lisina, arginina e histidina. La tabla BLOSUM62 es una matriz de sustitución de aminoácidos derivada de aproximadamente 2000 alineamientos múltiples locales de segmentos de secuencias de proteínas, representando regiones altamente conservadas de más de 500 grupos de proteínas relacionadas (Henikoff *et al.* (1992), Proc. Natl Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919). Por consiguiente, las frecuencias de sustitución BLOSUM62 se usan para definir sustituciones de aminoácidos conservativas que, en algunas realizaciones, se introducen en las secuencias de aminoácidos descritas o desveladas en el presente documento. Aunque es posible diseñar sustituciones de aminoácidos basadas exclusivamente en las propiedades químicas (como se ha indicado anteriormente), la expresión "sustitución de aminoácidos conservativa" se refiere preferentemente a una sustitución representada por un valor BLOSUM62 de más de -1. Por ejemplo, una sustitución de aminoácidos es conservativa si la sustitución se caracteriza por un valor BLOSUM62 de 0, 1, 2 o 3. De acuerdo con este sistema, las sustituciones de aminoácidos preferidas conservativas se caracterizan por un valor BLOSUM62 de al menos 1 (por ejemplo, 1, 2, o 3), aunque las sustituciones de aminoácidos conservativas más preferidas se caracterizan por un valor BLOSUM62 de al menos 2 (por ejemplo, 2 o 3).

La expresión "actividad Myc" se refiere a la unión de un polipéptido Myc con una secuencia de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la actividad MYC incluye adicionalmente la regulación MYC de la actividad transcripcional de genes sensibles a Myc. En algunas realizaciones, la actividad Myc induce proliferación celular y/o producción de anticuerpos.

Los términos “activación de Myc” y “activación Myc” se refieren a la inducción de la actividad Myc. En algunas realizaciones, la activación de Myc se induce por sobreexpresión de un polipéptido Myc. En algunas realizaciones la activación de Myc se induce por el transporte de un polipéptido Myc en el núcleo de una célula. En algunas realizaciones, la activación de Myc se induce por transporte de un polipéptido Myc en una célula.

El término “expresión” refiere a uno o más de los siguientes acontecimientos: (1) producción de un molde ARN a partir de una secuencia de ADN (por ejemplo, por transcripción) dentro de una célula; (2) procesamiento de un transcrito de ARN (por ejemplo, mediante corte y empalme, edición, formación de extremo 5' y/o formación 3' final) dentro de una célula; (3) traducción de una secuencia de ARN en un polipéptido o proteína dentro de una célula; (4) modificación postraduccional de un polipéptido o proteína dentro de una célula; (5) presentación de un polipéptido o proteína en la superficie celular; (6) secreción o liberación de un polipéptido o proteína de una célula.

El término “endógena” en el contexto de una proteína celular se refiere a una proteína de origen natural y/o expresada por la célula en ausencia de manipulación recombinante; por consiguiente, las expresiones “proteína endógenamente expresada” o “proteína endógena” excluyen proteínas celulares expresadas por medio de tecnología recombinante.

La expresión “célula dependiente de factor” significa una célula que no es capaz de sobrevivir y/o proliferar sin contacto con un factor de crecimiento exógeno (por ejemplo una citocina). Cuando se pone en contacto con los factores de crecimiento necesarios, una célula dependiente de factor es capaz de sobrevivir y/o proliferar. En ausencia de los factores de crecimiento necesarios, una célula dependiente de factor no puede sobrevivir (por ejemplo experimentará apoptosis) y/o proliferar.

La expresión “expansión” se usa en el presente documento para referirse a un agrandamiento del tamaño del cultivo debido a la proliferación (es decir división) de las células en el cultivo celular. En algunas realizaciones, el cultivo celular presenta expansión (es decir, alcanza un tamaño más grande y/o la concentración de la célula en el cultivo aumenta). En algunas realizaciones, el cultivo celular presenta una expansión negativa (es decir consigue un tamaño más pequeño o la concentración de la célula en el cultivo disminuye). En determinados casos, la expansión de un cultivo celular es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, tinción, citometría de flujo, microscopía con fluorescencia, HPLC, microscopía confocal, espectroscopía infrarroja, autorradiografía).

Las frases “secuencia de caja E” y “secuencia de caja potenciadora” se usan indistintamente en el presente documento y significan la secuencia nucleotídica CANNTG, en la que N es cualquier nucleótido. En determinados casos, la secuencia de caja E comprende CACGTG. En determinados casos, el dominio básico hélice-bucle-hélice de un factor de transcripción codificado por MYC se une a la secuencia de la caja E. En determinados casos, la secuencia de la caja E está localizada cadena arriba de un gen (por ejemplo, p21, Bcl-2 u ornitina descarboxilasa). En determinados casos, la unión del factor de transcripción codificado por MYC con respecto a la secuencia de la caja E permite que la ARN polimerasa transcriba el gen cadena abajo de la secuencia de la caja E.

Métodos de modulación de la viabilidad de una célula

En el presente documento se desvelan, en algunas realizaciones, métodos de modulación de la viabilidad de una célula. Como se usa en el presente documento, “viabilidad” significa la duración de tiempo que sobrevive la célula, la tasa (o cantidad) de proliferación celular o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula aumenta. En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula disminuye.

En algunas realizaciones, la modulación se produce *in vivo*. En algunas realizaciones, la modulación se produce *in vitro*. En algunas realizaciones, un método de modulación de la viabilidad de una célula comprende modular la viabilidad de un leucocito. En algunas realizaciones, el leucocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el leucocito es un linfocito T CD4+. En algunas realizaciones, el leucocito es un linfocito T de memoria.

En algunas realizaciones, la modulación de la viabilidad de una célula comprende modular la expresión de un gen MYC y/o la actividad de un polipéptido Myc. En algunas realizaciones, la modulación de la expresión de un gen MYC y/o la actividad de un polipéptido Myc directamente o indirectamente da como resultado la modulación de un gen o polipéptido regulado por MYC. En algunas realizaciones, el gen o polipéptido regulado directa o indirectamente por un factor de transcripción MYC es: neurogranina, MEF-2c, gfi-1, ciclina D2, CDK4, Egr-2, Nab-2, TGIF, NF-kB p105, Carma-1, A1 o Bcl-2.

Aumento de viabilidad de una célula

En algunas realizaciones, la modulación de la viabilidad de una célula significa aumentar la viabilidad de una célula. En algunas realizaciones, el aumento de la viabilidad de una célula significa: aumentar la duración de tiempo que sobrevive la célula (por ejemplo en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo), aumentar la tasa o cantidad de proliferación celular (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo), o una combinación de las mismas.

5 En algunas realizaciones, el aumento de la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con un agente que aumente la concentración nucleica de un polipéptido Myc. En algunas realizaciones, el aumento de la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con: un polipéptido Myc exógeno, un agente que aumente la expresión de un gen MYC, y un agente que aumente la actividad de un polipéptido Myc, o una combinación de los mismos (el "Agente de Aumento de MYC"). En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es una molécula pequeña, un péptido, un anticuerpo o una combinación de los mismos.

10 En algunas realizaciones, un método de aumentar la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un polipéptido Myc exógeno. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; (b) una secuencia MYC; y opcionalmente (c) una o más moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia TAT; y (b) una secuencia MYC.

15 En algunas realizaciones, un método de aumento de la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen de MAD-1. En determinados casos, la regulación negativa de un gen y/o polipéptido MAD-1 regula positivamente la expresión de un gen y/o un polipéptido MYC codificado por un gen MYC.

20 En algunas realizaciones, un método para aumentar la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen Mxi-1. En determinados casos, la regulación negativa de un gen y/o polipéptido Mxi-1 regula positivamente la expresión de un gen y/o un polipéptido MYC codificado por un gen MYC.

25 En algunas realizaciones, un método para aumentar la viabilidad de una célula comprende adicionalmente identificar el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el método de identificar el Agente de Aumento de MYC comprende identificar un agente que invierta la anergia en un linfocito B. En algunas realizaciones el método de identificación del Agente Modulador de MYC comprende identificar un agente que aumente la viabilidad de una célula dependiente de factor en ausencia de un factor de crecimiento necesario. En algunas realizaciones, el método de identificación del Agente de Aumento de MYC comprende identificar un agente que induzca la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo, una secuencia de caja E).

35 En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC la viabilidad de una célula aumenta en de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo).

50 En algunas realizaciones, la célula es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En algunas realizaciones, la modulación de la viabilidad de un linfocito T significa extender la vida útil de un linfocito T. En algunas realizaciones, la extensión de la vida útil de un linfocito T de memoria da como resultado una mayor concentración de linfocitos T de memoria en un organismo. En determinados casos, la mayor concentración de los linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada contra el antígeno. En determinados casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una disminución en los linfocitos T anérgicos. En determinados casos, la disminución en los linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada contra el antígeno. En determinados casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una disminución en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En determinados casos, la disminución del tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria contra el antígeno.

60 *Disminución de la viabilidad de una célula*

65 En algunas realizaciones, la modulación de la viabilidad de una célula significa disminuir la viabilidad de una célula. En algunas realizaciones, la disminución de la viabilidad de una célula significa: disminuir el periodo de tiempo que sobrevive la célula y disminuir la tasa o cantidad de proliferación celular (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la disminución de la viabilidad de

una célula significa disminuir el periodo de tiempo que sobrevive la célula y la disminución de la tasa o cantidad de la proliferación celular (por ejemplo en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo).

En algunas realizaciones, la disminución de la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con un agente que disminuya la concentración nucleica de MYC. En algunas realizaciones, la disminución de la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con: un agente que disminuye la expresión de un gen MYC, un agente que disminuye la actividad de un polipéptido Myc, o una combinación de los mismos (el "Agente de Disminución de MYC"). En algunas realizaciones, el Agente de Disminución de MYC es una molécula pequeña, una molécula biológica, un péptido, un anticuerpo o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, un método para disminuir la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Disminución de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Disminución de MYC es un agonista de un gen MAD-1, un polipéptido de MAD-1, o una combinación de los mismos. En determinados casos, la regulación positiva de un gen y/o polipéptido MAD-1 regula negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC. En algunas realizaciones, un método para modular la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Disminución de MYC.

En algunas realizaciones, el método para disminuir la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente de Disminución de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Disminución de MYC es: Mxi-1, un agonista de un gen Mxi-1 y un polipéptido Mxi-1 o una combinación de los mismos. En determinados casos, la regulación positiva de un gen y/o polipéptido Mxi-1 regulan negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente de Disminución de MYC comprende identificar un agente que disminuye la viabilidad de una célula dependiente de factor cuando la célula dependiente de factor se pone en contacto con el factor de crecimiento necesario. En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente de Disminución de MYC comprende identificar un agente que inhiba la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo una secuencia de caja E).

En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo). En algunas realizaciones, la viabilidad de una célula se disminuye en de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo).

En algunas realizaciones, la célula es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En determinados casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado una vida útil disminuida para el linfocito T. En determinados casos, la vida útil disminuida de un linfocito T de memoria da como resultado una menor concentración de linfocitos T de memoria en un organismo. En determinados casos, la menor concentración de linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada contra el antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En determinados casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en linfocitos T anérgicos. En determinados casos, el aumento de linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada contra el antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En determinados casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En determinados casos, el aumento en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada contra el antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión.

Métodos para modular una respuesta inmunitaria

Se desvela en el presente documento, en ciertas realizaciones, un método para modular una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria es una respuesta inmunitaria adaptativa (por ejemplo linfocitos B de memoria y linfocitos T de memoria). En algunas realizaciones, modular una respuesta inmunitaria significa aumentar (por ejemplo, inducir, complementar, amplificar) una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, modular una respuesta inmunitaria significa reducir (por ejemplo, inhibir o suprimir) una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vitro*. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vivo*.

En algunas realizaciones, un método para modular una respuesta inmunitaria comprende modular la viabilidad de un linfocito. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T CD4+. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria.

5 En algunas realizaciones, modular una respuesta inmunitaria comprende modular la expresión de un gen MYC y/o la actividad de un polipéptido Myc. En algunas realizaciones, modular la expresión de un gen MYC, y/o la actividad de un polipéptido Myc directa o indirectamente da como resultado la modulación de un gen o polipéptido regulado por MYC. En algunas realizaciones, el gen o el polipéptido regulado directa o indirectamente por un factor de transcripción de MYC es neurogranina, MEF-2c, gfi-1, ciclina D2, CDK4, Egr-2, Nab-2, TGIF, NF-kB p105, Carma-1,
10 A1 o Bcl-2.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Inducción de una respuesta inmunitaria

15 En algunas realizaciones, la modulación de una respuesta inmunitaria significa aumentar (por ejemplo, inducir, complementar, amplificar) una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, aumentar una respuesta inmunitaria incluye aumentar la vida útil de un linfocito T, aumentar la tasa de proliferación por un linfocito T, aumentar la tasa a la que un linfocito T de memoria responde a un antígeno, reducir el número de células anérgicas, y/o aumentar la
20 tasa a la que una célula termina la anergia (por ejemplo, en comparación con una célula idéntica o similar no modulada del mismo tipo).

En algunas realizaciones, el aumento de una respuesta inmunitaria comprende administrar a un individuo que lo necesite un agente que aumente la concentración nucleica de MYC. En algunas realizaciones, el aumento de una
25 respuesta inmunitaria comprende administrar a un individuo que lo necesite: MYC exógeno, un agente que aumente la expresión de un gen MYC y un agente que aumente la actividad de MYC (el "Agente de Aumento de MYC"). En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es una molécula pequeña, un producto biológico, un péptido, un anticuerpo o una combinación de los mismos.

30 En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende poner en contacto una célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un polipéptido Myc exógeno. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; (b) una secuencia de MYC; y opcionalmente (c) una o más
35 moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia de TAT; y (b) una secuencia MYC.

En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende poner en contacto una
40 célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen MAD-1. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen y/o polipéptido MAD-1 regula positivamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende poner en contacto una
45 célula con el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen Mxi.1. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen y/o polipéptido Mxi-1 regula positivamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria
50 aumenta en más de 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo).
60 En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente de Aumento de MYC, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo).

En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende administrar un Agente de
65 Aumento de MYC a un individuo que lo necesite. En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a

- aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración del Agente de Aumento de MYC a un individuo que lo necesite, una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo).
- En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende además coadministrar una vacuna. En algunas realizaciones, la vacuna se administra antes, después o simultáneamente con un Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC estimula el sistema inmunitario y aumenta la respuesta del sistema inmunitario a una vacuna. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC aumenta una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC actúa de forma sinérgica con la vacuna. En algunas realizaciones, el agente es un adyuvante de vacuna.
- En algunas realizaciones, una vacuna comprende microorganismos muertos, microorganismos atenuados, toxoides, subunidades del patógeno, ácidos nucleicos o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna para hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria, tos ferina, tétanos, gripe, virus de varicela zóster; rotavirus, gripe, trastorno meningocócico; neumonía, viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano (PVH); malaria; leishmania; *Candida albicans*; un alérgeno; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna para un cáncer (por ejemplo, Linfoma No de Hodgkin de linfocitos B folicular, cáncer de próstata, mieloma múltiple, cáncer de riñón, melanoma cutáneo y melanoma ocular). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer es una vacuna específica de paciente (por ejemplo, la vacuna comprende células tumorales propias de un paciente). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende Antígeno Específico de Próstata (PSA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende sialil Tn (STn). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende Proteínas de Choque Térmico (HSP) (por ejemplo, gp96). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende moléculas de gangliósido (por ejemplo, GM2, GD2 y GD3). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende antígeno carcinoembrionario (CEA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende MART-1 (también conocida como Melan-A). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende tirosinasa. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna de ADN.
- En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende un resto antigénico. En algunas realizaciones, el resto antigénico es un toxoide, un péptido, una secuencia de ácido nucleico, un polisacárido, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el resto antigénico deriva de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; meningococos; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el resto antigénico deriva de una célula neoplásica. En algunas realizaciones, el resto antigénico es un ácido nucleico o un polímero de ácidos nucleicos.
- En algunas realizaciones, el aumento de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado un aumento de la viabilidad (y por lo tanto, concentración) de linfocitos T de memoria, linfocitos B, o una combinación de los mismos contra ese antígeno. En ciertos casos, el aumento de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado activación acelerada del linfocito T por el antígeno. En ciertos casos, aumentar una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado una reducción en los linfocitos T anérgicos.
- En algunas realizaciones, un método para aumentar una respuesta inmunitaria comprende además identificar el Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente de Aumento de MYC comprende identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B. En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente de Aumento de MYC comprende identificar un agente que aumenta la viabilidad de una célula dependiente de factor en ausencia de un factor de crecimiento requerido. En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente de Aumento de MYC comprende identificar un agente que induce la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo, una secuencia de caja E).

Reducción de una respuesta inmunitaria

5 En algunas realizaciones, modular una respuesta inmunitaria significa reducir (por ejemplo, inhibir o suprimir) una respuesta inmunitaria. En algunas realización, la reducción de una respuesta inmunitaria incluye reducir la vida útil de un linfocito T, reducir la proliferación por un linfocito T, reducir la velocidad a la que un linfocito T de memoria responde a un antígeno, aumentar el número de células anérgicas, y/o reducir la velocidad a la que una célula termina la anergia (por ejemplo en comparación con una célula no modulada idéntica o similar del mismo tipo).

10 En algunas realizaciones, la reducción de una respuesta inmunitaria comprende administrar a un individuo que lo necesite un agente que reduzca la concentración nucleica de MYC. En algunas realizaciones, la reducción de una respuesta inmunitaria comprende administrar a un individuo que lo necesite: un agente que reduzca la expresión de un gen MYC y un agente que reduzca la actividad de un polipéptido Myc (el "Agente Reductor de MYC"). En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es una molécula pequeña, un producto biológico, un péptido, un anticuerpo, o una combinación de los mismos.

15 En algunas realizaciones, un método para reducir una respuesta inmunitaria comprende poner en contacto una célula con el agente reductor de MYC. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es: un agonista de un gen MAD-1, un polipéptido MAD-1, o una combinación de los mismos. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen y/o polipéptido de MAD-1 regula negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

20 En algunas realizaciones, un método para reducir una respuesta inmunitaria comprende poner en contacto una célula con el agente reductor de MYC. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es: Mxi-1, un agonista de un gen Mxi-1 y un polipéptido Mxi-1, o una combinación de los mismos. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen Mxi-1 y/o un polipéptido regula negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

25 En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 25 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo).

30 En algunas realizaciones, después del contacto con el Agente Reductor de MYC una respuesta inmunitaria se reduce en más de 1 a aproximadamente 25 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 25 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 20 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 15 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 10 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 5 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 4 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo). En algunas realizaciones, después de la administración de Agente Reductor de MYC a un individuo que lo necesite una respuesta inmunitaria aumenta en más de 1 a aproximadamente 2 veces (por ejemplo, en comparación con una respuesta inmunitaria no modulada idéntica o similar del mismo tipo).

En algunas realizaciones, un método para reducir una respuesta inmunitaria comprende administrar el Agente Reductor de MYC a un individuo con un trastorno autoinmunitario. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC reduce una respuesta inmunitaria. En ciertos casos, la reducción de una respuesta inmunitaria en un individuo con un trastorno autoinmunitario alivia y/o previene una respuesta inmunitaria contra autoantígenos por el sistema inmunitario del sujeto. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmunitario es trastorno de Castleman, lupus, esclerosis múltiple, esclerodermia pigmentosa, Síndrome Linfoproliferativo Autoinmunitario (ALPS), miastenia grave, diabetes, asma, artritis reumatoide, vitiligo, síndrome de diGeorge, trastorno de Grave, trastorno de Crohn, trastorno inflamatorio del intestino, colitis, orquitis, esclerodermia pigmentosa, uveítis, Trastorno Linfoproliferativo después del Trasplante (PTLD), o Linfadenopatía Asociada con Trastorno Autoinmunitario (ADAL).

En algunas realizaciones, un método para reducir una respuesta inmunitaria comprende administrar el Agente Reductor de MYC a un individuo que recibe, recibirá o ha recibido un trasplante de órgano o de médula ósea (el "Trasplante"). En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC reduce una respuesta inmunitaria. En ciertos casos, la reducción de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe, recibirá o ha recibido un trasplante de órgano, o un trasplante de médula ósea, alivia y/o previene una respuesta inmunitaria contra el Trasplante.

En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente Reductor de MYC comprende identificar un agente que reduce la viabilidad de una célula dependiente de factor cuando la célula dependiente de factor se pone en contacto con el factor de crecimiento necesario. En algunas realizaciones, el método para identificar el Agente Reductor de MYC comprende identificar un agente que inhibe la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo, una secuencia de caja E).

Métodos para modular un trastorno caracterizado por la expresión aberrante de un gen MYC o la actividad aberrante de un polipéptido MYC

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, métodos para tratar un trastorno caracterizado por una sobreexpresión de MYC o un exceso de la actividad de polipéptido Myc. Se desvelan además en el presente documento, en ciertas realizaciones, métodos para tratar un trastorno caracterizado por una Infra-expresión de MYC o una escasez de actividad de polipéptido MYC. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un agente que modula la expresión de un gen MYC y/o la actividad de un polipéptido Myc.

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, métodos para tratar un trastorno caracterizado por una infraexpresión de MYC o una escasez de actividad de polipéptido Myc. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es una molécula pequeña, un producto biológico, un péptido, un anticuerpo o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un polipéptido Myc exógeno. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; (b) una secuencia de MYC; y opcionalmente (c) una o más moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia TAT; y (b) una secuencia MYC.

En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen de MAD-1. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen y/o un polipéptido de MAD-1 regula positivamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente de Aumento de MYC. En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC es un antagonista de un gen Mxi-1. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen y/o polipéptido Mxi-1 regula positivamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, métodos para tratar un trastorno caracterizado por una sobreexpresión de MYC o un exceso de actividad de polipéptido Myc. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente Reductor de MYC. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es una molécula pequeña, un producto biológico, un péptido, un anticuerpo o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente Reductor de MYC. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es: un agonista de un gen de MAD-1, un polipéptido MAD-1, o una combinación de los mismos. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen y/o polipéptido MAD-1 regulan negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un Agente Reductor de MYC. En algunas realizaciones, un método para modular la viabilidad de una célula comprende poner en contacto una célula con el Agente Reductor de MYC. En algunas realizaciones, el Agente Reductor de MYC es: Mxi-1, un agonista de un gen Mxi-1 y un polipéptido Mxi-1, o una combinación de los mismos. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen y/o polipéptido Mxi-1 regulan negativamente la expresión de un gen MYC y/o un polipéptido codificado por un gen MYC.

En algunas realizaciones, un indicio de que un individuo sobreexpresa MYC o que un polipéptido Myc está activo en exceso es el desarrollo de un trastorno autoinmunitario. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmunitario es Enfermedad de Castleman, lupus, esclerosis múltiple, esclerodermia pigmentosa, Síndrome Linfoproliferativo Autoinmunitario (ALPS), miastenia grave, diabetes, asma, artritis reumatoide, vitíligo, síndrome de diGeorge, enfermedad de Grave, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis, orquitis, esclerodermia pigmentosa, uveítis, Enfermedad Linfoproliferativa Post-Trasplante (PTLD), Linfadenopatía Asociada con Enfermedad Autoinmunitaria (ADAL), rechazo de un trasplante de órganos, rechazo de un trasplante de tejidos, o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, un indicio de que un individuo infraexpresa MYC o que un polipéptido Myc está mínimamente activo o inactivo es un aumento en el número de linfocitos B y/o linfocitos T anérgicos. En ciertos casos, la expresión de IgM, IgMa, IgMb, B220, CD21/35, CD23, CD24 (HSA), CD40, CD69, CD80 y/o CD86 (B7-2) está regulada negativamente en linfocitos B anérgicos en comparación con linfocitos B no anérgicos. En ciertos casos, la inversión (por ejemplo parcial o completa) de la anergia da como resultado un aumento de la expresión de IgM, IgMa, IgMb, B220, CD21/35, CD23, CD24 (HSA), CD40, CD69, CD80 y/o CD86 (B7-2).

En algunas realizaciones, un método para tratar un trastorno caracterizado por la expresión aberrante de un gen MYC o actividad aberrante de un polipéptido Myc comprende identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B. En algunas realizaciones, un método para tratar un trastorno caracterizado por la expresión aberrante de un gen MYC o actividad aberrante de un polipéptido Myc comprende identificar un agente que aumenta la viabilidad de una célula dependiente de factor en ausencia de un factor de crecimiento requerido. En algunas realizaciones, un método para tratar un trastorno caracterizado por expresión aberrante de un gen MYC o actividad aberrante de un polipéptido Myc comprende identificar un agente que reduce la viabilidad de una célula dependiente de factor cuando la célula dependiente de factor se pone en contacto con el factor de crecimiento necesario. En algunas realizaciones, un método para tratar un trastorno caracterizado por expresión aberrante de un gen MYC o actividad aberrante de un polipéptido Myc comprende identificar un agente que induce la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo, una secuencia de caja E). En algunas realizaciones, un método para tratar un trastorno caracterizado por expresión aberrante de un gen MYC o actividad aberrante de un polipéptido Myc comprende identificar un agente que inhibe la expresión de un gen indicador bajo el control de un promotor sensible a MYC (por ejemplo, una secuencia de caja E).

MYC exógeno

Se desvela en el presente documento, en ciertas realizaciones, un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; y (b) una secuencia de MYC. En algunas realizaciones, el péptido de fusión es un péptido de Fórmula (I):

secuencia peptídica transportadora – secuencia de MYC

En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; y (b) una secuencia de MYC y (c) una o más moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia de MYC. En algunas realizaciones, el péptido de fusión es un péptido de Fórmula (II):

secuencia peptídica transportadora–X–secuencia de MYC

en la que -X- es una molécula que une la secuencia peptídica transportadora y la secuencia de MYC. En algunas realizaciones, -X- es un aminoácido. En algunas realizaciones, -X- es al menos un aminoácido.

Como se usa en el presente documento, un “péptido transportador” significa una secuencia peptídica que promueve la penetración de péptidos en células y tejidos. En algunas realizaciones, un péptido transportador es TAT. En algunas realizaciones, un péptido transportador es TAT_[48-57]. En algunas realizaciones, un péptido transportador es TAT_[57-48].

Como se usa en el presente documento, una “secuencia de MYC” es una secuencia peptídica de aminoácidos de MYC. En algunas realizaciones, el polipéptido Myc es una secuencia polipeptídica de Myc completa. En algunas realizaciones, el polipéptido Myc es una secuencia polipeptídica de Myc parcial. En algunas realizaciones, el MYC es c-MYC. En algunas realizaciones, la secuencia polipeptídica de Myc comprende SEC ID N°: 1

MDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENF
 YQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTP
 FSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVQNQSFICDPDDETFIK
 NIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCST
 SSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPLNDSSSPKSCASQDSSAFSPSSDS
 LLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEEIDVVSVEKRQ
 APGKRSESGSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPSTRKD
 YPAAKRVKLDSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHNVLERQ
 RRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVLKATAYILSVQAEQKL
 ISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLE.

5 En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT, y (b) c-MYC. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT_[48-57], y (b) c-MYC. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT_[57-48], y (b) c-MYC.

10 En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT, y (b) un aminoácido enlazador y (c) c-MYC. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT_[48-57], y (b) un aminoácido enlazador y (c) c-MYC. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende (a) TAT_[57-48], y (b) un aminoácido enlazador y (c) c-MYC.

15 En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende además al menos una secuencia de aminoácidos que facilita la purificación de la proteína de fusión. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador proteico. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador de polihistidina. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador epitópico. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador de polihistidina y un marcador epitópico. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador de 6-histidina y un marcador epitópico de V5.

25 En algunas realizaciones, un marcador de histidina es un marcador de 6-histidina. En algunas realizaciones, el marcador de histidina comprende la secuencia HHHHHH. En algunas realizaciones, se añade un marcador de histidina a una proteína de fusión desvelada en el presente documento por cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, una secuencia polipeptídica de TAT-Myc se clona en un vector de expresión que codifica un marcador poliHis. En algunas realizaciones, se añade un marcador de polihistidina por PCR (es decir, los cebadores de PCR comprenden una secuencia de polihistidina).

30 En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende además al menos un marcador proteico. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende un marcador epitópico. En algunas realizaciones, un péptido de fusión desvelado en el presente documento comprende además un marcador epitópico V5. En algunas realizaciones, el marcador V5 comprende los aminoácidos: GKPIPPLLGLDST. En algunas realizaciones, el marcador V5 comprende los aminoácidos:
 35 IPNPLLGLD. En algunas realizaciones, se añade un marcador V5 a una proteína de fusión desvelada en el presente documento por cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, se clona una secuencia polipeptídica de TAT-Myc en un vector de expresión que codifica un marcador V5. En algunas realizaciones, se añade un marcador V5 por PCR (es decir, los cebadores de PCR comprenden una secuencia V5).

40 En algunas realizaciones, los aminoácidos están en la formación D. En algunas realizaciones, los aminoácidos están en la formación L. En algunas realizaciones, una primera pluralidad de aminoácidos está en la formación D y una segunda pluralidad de aminoácidos está en la formación L.

45 En algunas realizaciones, el Agente de Aumento de MYC comprende SEC ID N° 2:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQ
 PYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSRG
 LCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQS
 FICDPDDETFIKNIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSP
 NPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPLNDSSSPKSCAS
 QDSSAFSPSSDLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEE
 EIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPSAGGHKPPHSPLVLKRCHVSTHQH
 NYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqisnnrkctsprssdteenv
 KRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVILKKATA
 YILSVQAEEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLEGKPIP
 NPLLGLDSTRTGHHHHH.

Construcción de un péptido MYC-TAT

5 En algunas realizaciones, un péptido de fusión MYC-TAT desvelado en el presente documento se construye por cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido de fusión MYC-TAT se genera por PCR. En algunas realizaciones, un cebador directo para una secuencia de MYC humana comprende una secuencia de 9 aminoácidos N-terminal en fase del dominio de transducción de proteína TAT (es decir, RKKRRQRRR). En algunas realizaciones, un cebador inverso para una secuencia de MYC humana se diseña para retirar el codón de terminación. En algunas realizaciones, el producto de PCR se clona en cualquier vector de expresión adecuado (en lo sucesivo en el presente documento, p-TAT-MYC). En algunas realizaciones, el vector de expresión comprende un marcador de polihistidina y un marcador V5.

Ensayos para la identificación de agentes

15 *Inversión de anergia*

20 Se desvela en el presente documento, en ciertas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B. En ciertos casos, un agente que invierte anergia en un linfocito B aumenta una respuesta inmunitaria y/o aumenta la viabilidad de una célula. En ciertos casos, un agente que invierte anergia en un linfocito B regula positivamente MYC (por ejemplo, un gen MYC y/o un polipéptido Myc).

25 En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende (a) poner en contacto una pluralidad de linfocitos B anérgicos con un agente; y (b) después del contacto de la pluralidad de las células con el agente, detectar y/o medir el nivel de expresión de uno o más marcadores de superficie celular (por ejemplo, marcadores de superficie celular cuya presencia es indicativa de una célula no anérgica) en el cultivo celular. En algunas realizaciones, el marcador de superficie celular es IgM, IgMa, IgMb, B220, CD21/35, CD23, CD24 (HSA), CD40, CD69, CD80 y/o CD86 (B7-2).

30 En ciertos casos, la expresión de IgM, IgMa, IgMb, B220, CD21/35, CD23, CD24 (HSA), CD40, CD69, CD80 y/o CD86 (B7-2) se regula negativamente en linfocitos B anérgicos en comparación con linfocitos B no anérgicos. En ciertos casos, la inversión (por ejemplo parcial o completa) de la anergia da como resultado un aumento en la expresión de IgM, IgMa, IgMb, B220, CD21/35, CD23, CD24 (HSA), CD40, CD69, CD80 y/o CD86 (B7-2).

35 En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende identificar un agente como un agonista de una respuesta inmunitaria si la expresión de un marcador de superficie celular está regulada positivamente (por ejemplo en comparación con un linfocito B anérgico que no ha entrado en contacto con un agente). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada positivamente en linfocitos B activados (en comparación con el patrón de expresión en linfocitos B anérgicos) en aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada positivamente en linfocitos B activados (en comparación con el patrón de expresión en linfocitos B anérgicos) en aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulado positivamente en linfocitos B activados (en comparación con el patrón de expresión

en linfocitos B anérgicos) en aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada positivamente en linfocitos B activados (en comparación con el patrón de expresión en linfocitos B anérgicos) en aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulado positivamente en linfocitos B activados (en comparación con el patrón de expresión en linfocitos B anérgicos) en aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, un método para identificar agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende identificar un agente como un antagonista de una respuesta inmunitaria si la expresión de un marcador de superficie celular está regulada negativamente (por ejemplo en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada negativamente (por ejemplo, en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada negativamente (por ejemplo, en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulado negativamente (por ejemplo, en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada negativamente (por ejemplo, en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, la expresión de un marcador de superficie celular está regulada negativamente (por ejemplo, en comparación con un linfocito B no anérgico que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende además comparar (1) el nivel de expresión del marcador de superficie celular observado en una pluralidad de linfocitos B anérgicos después de entrar en contacto la pluralidad de células con el agente con (2) el nivel de marcador de superficie celular observado en un control. En algunas realizaciones, el control es una pluralidad de linfocitos B anérgicos que no han entrado en contacto con un agente.

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende obtener un linfocito B anérgico de cualquier fuente adecuada (por ejemplo, un ser humano, una ratón, una rata, o cualquier mamífero). En algunas realizaciones, un método para identificar un agente invierte la anergia en un linfocito B comprende obtener un linfocito B anérgico de ratones transgénicos con el fenotipo BCR^{HEL}/sHEL. En ciertos casos, los ratones BCR^{HEL} expresan un receptor de linfocitos B maduro (BCR) para el antígeno lisozima de huevo de gallina (HEL). En ciertos casos, el HEL BCR es el BCR dominante en los linfocitos B de los ratones transgénicos. En ciertos casos, los ratones sHEL expresan de forma ubicua un transgén para la forma soluble de HEL. En ciertos casos, la expresión del transgén de HEL está unida operativamente con un promotor de metalotioneína. En ciertos casos, la exposición a HEL soluble induce anergia en linfocitos B. La Solicitud de Patente de Estados Unidos Pub. N.º 2008/0070256 desvela métodos para construir los modelos murinos analizados anteriormente. En algunas realizaciones, los linfocitos B anérgicos se obtienen del bazo, el timo, la médula ósea, ganglios linfáticos o combinaciones de los mismos de los ratones transgénicos.

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende detectar y/o medir el nivel de expresión de uno o más marcadores de superficie celular (por ejemplo CD86). En algunas realizaciones, detectar y/o medir el nivel de expresión de uno o más marcadores de superficie celular comprende (a) poner en contacto una pluralidad de linfocitos B anérgicos (por ejemplo un control, o una pluralidad de linfocitos B anérgicos después del contacto con un agente) con anticuerpos para un marcador de superficie celular (por ejemplo, anticuerpos para CD86); (b) lavar el cultivo celular (por ejemplo aclarar) con tampón (por ejemplo tampón de FACS) después del contacto con los anticuerpos; y (c) detectar y/o medir la cantidad de complejo de marcador de superficie celular/anticuerpo. En algunas realizaciones, los anticuerpos se obtienen de un

proveedor comercial. En algunas realizaciones, los anticuerpos se generan de forma interna. Para métodos para generar anticuerpos, véase Kohler *et al.*, Nature, 256: 495 (1975); Patente de Estados Unidos N.º 4.816.567; o Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (Academic Press, 1986); Ward *et al.*, Nature 341: 544-546 (1989); Huse *et al.*, Science 246: 1275-1281 (1989); McCafferty *et al.*, Nature 348: 552-554 (1990); Clackson *et al.*, Nature, 352: 624-628 (1991) Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991). En algunas realizaciones, el cultivo celular se incuba en hielo durante el contacto con los anticuerpos. En algunas realizaciones, el anticuerpo está marcado de forma isotópica, radiomarcado, marcado con fluoróforo o biotinilado. En algunas realizaciones, el fluoróforo es fluoresceína. En ciertos casos, el complejo de marcador de superficie celular/anticuerpo es detectable y/o medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo HPLC, microscopía de fluorescencia, microscopía confocal, exploradores de micromatrices, Resonancia de Plasmón Superficial, espectroscopía de infrarrojos o autorradiografía).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende detectar y/o medir el nivel de expresión de IgM. En algunas realizaciones, la detección y/o medición del nivel de expresión de IgM comprende (a) poner en contacto un cultivo celular (por ejemplo, un control, o una pluralidad de linfocitos B anérgicos después del contacto con un agente) con un antígeno (por ejemplo HEL) durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que el antígeno se una con un IgM; (b) lavar el cultivo celular (por ejemplo, aclarar) con tampón (por ejemplo tampón FACS) después de poner en contacto el cultivo con el antígeno; y (c) detectar y/o medir la cantidad de antígeno y/o complejo de antígeno/IgM. En algunas realizaciones, el antígeno está biotinilado. En algunas realizaciones, el cultivo celular se incuba adicionalmente con un marcador que tiene una afinidad por biotina (el "Marcador de Biotina"). En algunas realizaciones, el Marcador de Biotina es avidina o estreptavidina. En algunas realizaciones, el Marcador de Biotina está marcado de forma isotópica, radiomarcado, marcado con fluoróforos. En algunas realizaciones, el fluoróforo es ficoeritrina. En ciertos casos, el complejo de IgM/antígeno/Marcador de Biotina es detectable y/o medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, HPLC, microscopía de fluorescencia, microscopía confocal, exploradores de micromatrices, Resonancia de Plasmón Superficial, espectroscopía de infrarrojos o autorradiografía).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que invierte la anergia en un linfocito B comprende detectar y/o medir el nivel de expresión de IgM. En algunas realizaciones, la detección y/o medición del nivel de expresión de IgM comprende (a) poner en contacto un cultivo celular (por ejemplo, un control, o una pluralidad de linfocitos B anérgicos después del contacto con un agente) con un antígeno (por ejemplo HEL) durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que el antígeno se una con el IgM; (b) lavar el cultivo celular (por ejemplo, aclarar) con tampón (por ejemplo tampón FACS) después de entrar en contacto el cultivo con el antígeno; y (c) detectar y/o medir la cantidad de antígeno y/o complejo de antígeno/IgM. En algunas realizaciones, el cultivo se pone en contacto con diluciones de anticuerpos para el antígeno (por ejemplo durante un periodo tiempo suficiente para permitir que los anticuerpos se unan con el antígeno). En algunas realizaciones, el cultivo celular se incuba en hielo durante el contacto con los anticuerpos. En algunas realizaciones, el cultivo celular se lava (por ejemplo se aclara) con tampón (por ejemplo tampón FACS) después del contacto con los anticuerpos. En algunas realizaciones, el anticuerpo está marcado de forma isotópica, radiomarcado, marcado con fluoróforo o biotinilado. En algunas realizaciones, el fluoróforo es fluoresceína. En ciertos casos, el complejo de antígeno/anticuerpo y/o IgM/antígeno/anticuerpo es detectable y/o medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, HPLC, microscopía de fluorescencia, microscopía confocal, exploradores de micromatrices, Resonancia de Plasmón Superficial, espectroscopía de infrarrojos o autorradiografía).

En algunas realizaciones, el método comprende además detectar la presencia y/o medir la cantidad del anticuerpo marcado, o de un complejo formado entre el anticuerpo y el antígeno HEL. En ciertos casos, el complejo de antígeno HEL/anticuerpo es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, HPLC, microscopía de fluorescencia, microscopía confocal, exploradores de micromatrices, Resonancia de Plasmón Superficial, espectroscopía de infrarrojos o autorradiografía).

Modulación de la función de citocinas

Se desvela en el presente documento, en ciertas realizaciones, un método para identificar un agente que induce (por ejemplo, activa, aumenta o complementa) una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el método comprende identificar un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas (el "Agente de Complementación de Citocinas"). En ciertos casos, un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas en una célula dependiente de factor aumenta una respuesta inmunitaria y/o aumenta la viabilidad de una célula. En ciertos casos, un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas en una célula dependiente de factor regula positivamente MYC (por ejemplo un gen MYC y/o un polipéptido Myc).

En algunas realizaciones, el método comprende (a) poner en contacto una pluralidad de células dependientes de factor con un agente; y (b) después del contacto de la célula con el agente, detectar y/o medir el nivel de expansión del cultivo celular.

En algunas realizaciones, el método comprende además identificar un agente como un agente de complementación de citocinas si, después del contacto con el agente, el cultivo celular se expande (por ejemplo en comparación con

un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente). En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se expande (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se expande (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se expande (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se expande (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se expande (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas comprende además comparar (1) el nivel de expansión observado en una pluralidad de células dependientes de factores después de entrar en contacto la pluralidad de células con un agente con (2) el nivel de expansión de un control. En algunas realizaciones, el control es una pluralidad de células dependientes de factores que no han entrado en contacto con un agente.

En algunas realizaciones, poner en contacto una célula dependiente de factor con un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas da como resultado la regulación positiva de la expresión de MYC. En ciertos casos, la regulación positiva de MYC da como resultado células dependientes de factor que no requieren una citocina para su viabilidad. En ciertos casos, la regulación positiva de MYC da como resultado células dependientes de factor que proliferan en ausencia de una citocina. En ciertos casos, la regulación positiva de MYC da como resultado células dependientes de factor que no experimentan apoptosis en ausencia de una citocina.

En algunas realizaciones, las células dependientes de factor son células linfoides (es decir, derivadas de células del sistema linfático). En algunas realizaciones, las células dependientes de factor son, como ejemplo no limitante, IL-2^{-/-}, IL-3^{-/-}, IL-4^{-/-}, IL-5^{-/-}, IL-6^{-/-}, IL-7^{-/-}, IL-8^{-/-}, IL-9^{-/-}, IL-10^{-/-}, IL-11^{-/-}, IL-12^{-/-}, o cualquier combinación de las mismas. En algunas realizaciones, las células dependientes de factor derivan de una línea celular seleccionada de, como ejemplo no limitante: 2D6; 2E8; 10B10; ATH8; B13; BAF/3; BALM-4; BCL1; CT.4S; CT6; CTL44; CTLL-2; D1; D10; D36; Da; DS-1; Ea3.17; EL4; FL5.12; HT-2; IC-2; Kitt225; KT-3; L4; L138.8A; LBRM-33; LyD9; MC/9; MLA-144; Mono Mac 6; Nb2; NKC3; PB-1; Pno; PT-18; Ramos; Sez627; T10; T88; T1165; TALL-103; TF-1; TMD2; TS1; UT-7; XG-1; Y16; o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, las células derivan de las líneas celulares de CTLL-2; o BAF/3.

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, métodos para identificar un agente que inhibe y/o interfiere con la función de citocinas (el "Agente de Interferencia con Citocinas"). En ciertos casos, un Agente de Interferencia con Citocinas reduce una respuesta inmunitaria y/o reduce la viabilidad de una célula. En algunas realizaciones, el método comprende (a) poner en contacto una pluralidad de células dependientes de factor con un factor de crecimiento requerido de modo que el cultivo celular se expanda; (b) poner en contacto la pluralidad de células dependientes de factor con un agente; y (c) después del contacto de la pluralidad de células dependientes de factor con el agente, detectar y/o medir el nivel de expansión del cultivo celular.

En algunas realizaciones, el método comprende además identificar un agente como agente de interferencia de citocinas si, después del contacto con el agente, el cultivo celular se contrae (por ejemplo en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente). En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se contrae (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 10 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se contrae (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 30 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se contrae (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 %).

88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se contrae (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 70 % a aproximadamente 100 %). En algunas realizaciones, después del contacto con el agente el cultivo celular se contrae (en comparación con un cultivo celular que no ha entrado en contacto con un agente) en aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 % (por ejemplo al menos 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o cualquier otro porcentaje de aproximadamente 80 % a aproximadamente 100 %).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que reemplaza y/o aumenta la función de citocinas comprende además comparar (1) el nivel de expansión observado en una pluralidad de células dependientes de factor después de poner en contacto la pluralidad de células con un agente con (2) el nivel de expansión de un control. En algunas realizaciones, el control es una pluralidad de células dependientes de factor que no han entrado en contacto con un agente.

En algunas realizaciones, poner en contacto una célula dependiente de factor con un agente que inhibe y/o interfiere con la función de citocinas da como resultado la regulación negativa de la expresión de MYC. En ciertos casos, la regulación negativa de MYC da como resultado células dependientes de factores que requieren una citocina para su viabilidad. En ciertos casos, la regulación negativa de MYC da como resultado células dependientes de factor que no proliferan en ausencia de una citocina. En ciertos casos, la regulación negativa de MYC da como resultado células dependientes de factor que experimentan apoptosis en ausencia de una citocina.

En algunas realizaciones, las células dependientes de factor son células linfoides (es decir, derivadas de células del sistema linfático). En algunas realizaciones, las células dependientes de factor son, como ejemplo no limitante, IL-2^{-/-}, IL-3^{-/-}, IL-4^{-/-}, IL-5^{-/-}, IL-6^{-/-}, IL-7^{-/-}, IL-8^{-/-}, IL-9^{-/-}, IL-10^{-/-}, IL-11^{-/-}, IL-12^{-/-}, o cualquier combinación de las mismas. En algunas realizaciones, las células dependientes de factor derivan de una línea celular seleccionada de, como ejemplo no limitante: 2D6; 2E8; 10B10; ATH8; B13; BAF/3; BALM-4; BCL1; CT.4S; CT6; CTL44; CTLL-2; D1; D10; D36;Da; DS-1; Ea3.17; EL4; FL5.12; HT-2; IC-2; Kitt225; KT-3; L4; L138.8A; LBRM-33; LyD9; MC/9; MLA-144; Mono Mac 6; Nb2; NKC3; PB-1; Pno; PT-18; Ramos; Sez627; T10; T88; T1165; TALL-103; TF-1; TMD2; TS1; UT-7; XG-1; Y16; o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, las células derivan de líneas celulares CTLL-2; o BAF/3.

Ensayo indicador

Se desvela en el presente documento, en ciertas realizaciones, un método para identificar un agente que induce (por ejemplo, activa, aumenta o complementa) una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el método comprende identificar un agente que modula la función de un factor de transcripción codificado por MYC. En algunas realizaciones, el método comprende (a) transformar una pluralidad de células en un cultivo celular con una construcción indicadora, en el que la construcción indicadora es un plásmido que comprende un gen indicador, y en el que la expresión del gen indicador está unida operativamente con una o más secuencias de caja E; (b) poner en contacto la pluralidad de células transformadas con la construcción indicadora con un agente; y (c) después de poner en contacto el cultivo con un agente, detectar y/o medir el nivel de expresión del gen indicador. En algunas realizaciones, la construcción indicadora se obtiene de cualquier manera adecuada (por ejemplo obtenida de un proveedor o fabricada de forma interna). Para métodos adecuadas para fabricar una construcción indicadora y transformar células con una construcción indicadora véase Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición (Sambrook *et al.*, 1989) y Molecular Cloning: A Laboratory Manual, tercera edición (Sambrook y Russel, 2001), denominadas en su conjunto en el presente documento "Sambrook"; Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel *et al.*, eds., 1987, incluyendo los suplementos hasta 2001); Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2000).

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente que modula la función de un factor de transcripción codificado por MYC comprende además comparar (1) el nivel de expresión del gen indicador en una pluralidad de células transformadas con la construcción indicadora después del contacto con un agente con (2) el nivel del nivel de expresión del gen indicador en un control.

En algunas realizaciones, las células son células eucariotas. En algunas realizaciones, las células eucariotas son células humanas. En algunas realizaciones, las células son células linfoides humanas. En algunas realizaciones, las células linfoides son linfocitos B.

En algunas realizaciones, la construcción indicadora comprende una o más secuencias de caja E cadena arriba de un gen indicador. En algunas realizaciones, la o las secuencias de caja E están codificadas en una secuencia promotora sensible a myc y/o está cadena arriba del promotor sensible a myc. Como se usa en el presente documento, "secuencia promotora" significa una secuencia de nucleótidos cadena arriba de un gen que permite que una ARN polimerasa transcriba el gen. Como se usa en el presente documento, "promotor sensible a myc" significa

una secuencia promotora con la que puede unirse un factor de transcripción codificado por MYC. En algunas realizaciones, el promotor sensible a myc es el promotor de ornitina descarboxilasa.

5 En algunas realizaciones, el gen indicador es un gen de β -galactosidasa, un gen de β -lactamasa, un gen de peroxidasa de rábano rústico, un gen de fosfatasa alcalina, un gen de timidina quinasa, un gen de xantina fosforribotransferasa, un gen de tirosinasa, un gen de citosina desaminasa, un gen de resistencia a antibióticos o un gen que tiene un producto de expresión fluorescente. En algunas realizaciones, el gen que tiene un producto de expresión fluorescente es un gen de luciferasa, o un gen de polipéptido verde fluorescente (GFP).

10 En algunas realizaciones, el método para identificar un agente que modula la función de un factor de transcripción codificado por MYC comprende además detectar la expresión de y/o medir la cantidad de expresión del gen indicador. En ciertos casos, la expresión del gen indicador es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, microscopía de fluorescencia).

15 En algunas realizaciones, el cultivo celular comprende además suero. En algunas realizaciones, el suero es suero bovino fetal (FBS); suero bovino; suero de caballo; suero humano; suero de pollo; suero de cabra; suero porcino; suero de conejo; suero de oveja; un reemplazo de suero (por ejemplo Reemplazado de Suero 1 (Sigma-Aldrich)); o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el cultivo celular comprende además medios. En algunas realizaciones, el medio es, como ejemplo no limitante, solución salina tamponada con fosfato; Sales Equilibradas de Earle; Sales Equilibradas de Hanks; Sales de Tyrode; derivados de los mismos; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el factor de crecimiento es, como ejemplo no limitante, una citocina, factor de crecimiento epidérmico, o factor de crecimiento derivado de plaquetas. En algunas realizaciones, la citocina es, como ejemplo no limitante, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12 o IL-13. En ciertos casos, la elección del factor de crecimiento se determina basándose en el tipo de célula usado en el método.

25 En algunas realizaciones, el método comprende además poner en contacto la pluralidad de células con un estimulante mitógeno. En algunas realizaciones, el estimulante mitógeno es, como ejemplo no limitante, un antígeno, o un anticuerpo mitógeno. En algunas realizaciones, el antígeno es, como ejemplo no limitante, fitohemaglutinina (PHA), concanavalina A (conA), lipopolisacárido (LPS), mitógeno de *Phytolacca americana* (PWM) o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el anticuerpo mitógeno es, como ejemplo no limitante, un anti-IgM, un anti-CD40, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el anti-IgM es anti-IgM-F(ab')₂. En algunas realizaciones, el anti-CD40 es IgM anti-CD40.

Validación *in vitro* de agentes

35 En algunas realizaciones, cualquiera de los métodos descritos en el presente documento comprende además validar *in vitro* un agente (por ejemplo un agente identificado según cualquier método descrito en el presente documento) como un regulador de una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, un método para validar *in vitro* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria comprende (a) poner en contacto el agente con un cultivo de activación de linfocitos T primario; (b) teñir el cultivo con respecto a marcadores de activación; y (c) teñir el cultivo 24 horas después de contacto con el agente. En ciertos casos, la viabilidad celular es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo, microscopía de fluorescencia, citometría de flujo, FACS). En ciertos casos, un agente que regula positivamente una respuesta inmunitaria provocará un aumento en los marcadores de activación en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente). En ciertos casos, un agente que regula negativamente una respuesta inmunitaria provocará una reducción en los marcadores de activación en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente).

50 En algunas realizaciones, cualquiera de los métodos descritos en el presente documento comprende además validar *in vitro* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, un método para validar *in vitro* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria comprende (a) poner en contacto el agente con un cultivo de activación de linfocitos T primario; (b) teñir el cultivo con CFSE (carboxifluoresceína succinimidil éster); y (c) teñir el cultivo 72 horas después del contacto con el agente. En ciertos casos, el CFSE indica proliferación celular. En ciertos casos, una célula incorpora el CFSE. En ciertos casos, una parte (es decir la mitad) del CFSE en una célula se transfiere a una célula descendiente después de la división. En ciertos casos, la cantidad de CFSE en la célula se reduce con cada división. En ciertos casos, la viabilidad celular es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo microscopía de fluorescencia, citometría de flujo, FACS). En ciertos casos, un agente que regula positivamente una respuesta inmunitaria provocará un aumento en la proliferación celular en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente). En ciertos casos, un agente que regula negativamente una respuesta inmunitaria provocará una reducción de la proliferación celular en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente).

65 En algunas realizaciones, cualquiera de los métodos descritos en el presente documento comprende además validar *in vitro* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, un método para validar *in vitro* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria comprende (a) poner en contacto el agente con un cultivo de activación de linfocitos T primario; (b) teñir el cultivo con 7AAD (8-amino-actinomicina D); y (c) teñir el cultivo 72 horas después del contacto con el agente. En ciertos casos, 7-AAD indica la viabilidad celular. En ciertos

casos, 7-AAD teñirá células con membranas deterioradas (es decir células inviables). En ciertos casos, 7-AAD no teñirá células con membranas no deterioradas (es decir, células viables). En ciertos casos, la viabilidad celular es detectable y medible de cualquier manera adecuada (por ejemplo microscopía de fluorescencia, citometría de flujo, FACS). En ciertos casos, un agente que regula positivamente una respuesta inmunitaria provocará un aumento en la viabilidad celular en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente). En ciertos casos, un agente que regula negativamente una respuesta inmunitaria provocará una reducción en la viabilidad celular en comparación con un control (o el cultivo antes del contacto con el agente).

Validación in vivo de agentes

En algunas realizaciones, cualquiera de los métodos descritos en el presente documento comprende además validar *in vivo* un agente (por ejemplo un agente identificado según cualquier método descrito en el presente documento) como un regulador de una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, un método para validar *in vivo* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria comprende (a) inmunizar a un mamífero (por ejemplo un ratón, una rata, un conejo) contra un antígeno (por ejemplo OVA, NP-KHL) administrando el antígeno a un ratón; (b) administrar el agente al ratón antes, durante o después de la administración del antígeno; (c) obtener una muestra biológica (por ejemplo, sangre, linfa, o suero) del ratón después de la administración del antígeno y agente; y (d) detectar o medir una respuesta inmunitaria (por ejemplo la velocidad de proliferación de linfocitos B y/o linfocitos T de memoria). En algunas realizaciones, una respuesta inmunitaria se detecta o se mide detectando y midiendo la producción de anticuerpos después de la inmunización. En algunas realizaciones, la producción de anticuerpos se ensaya una vez al día cada día durante una semana después de la inmunización y después una vez a la semana a continuación. En algunas realizaciones, una respuesta inmunitaria se detecta o se mide detectando y midiendo la proliferación de linfocitos T tras la reestimulación con el antígeno. En algunas realizaciones, la proliferación de linfocitos T se ensaya una semana después de la inmunización. En ciertos casos, un agente que regula positivamente una respuesta inmunitaria primaria provocará un aumento en la producción de anticuerpos y proliferación de linfocitos T en comparación con un control (es decir un ratón al que no se le ha administrado el agente). En ciertos casos, un agente que regula negativamente una respuesta inmunitaria negativa primaria provocará una reducción en la producción de anticuerpo y proliferación de linfocitos T en comparación con un control (es decir un ratón al que no se le ha administrado el agente).

En algunas realizaciones, cualquiera de los métodos descritos en el presente documento comprende además validar *in vivo* un agente (por ejemplo, un agente identificado según cualquier método descrito en el presente documento) como un regulador de una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, un método para validar *in vivo* un agente como un regulador de una respuesta inmunitaria comprende (a) inmunizar a un ratón contra un antígeno (por ejemplo, péptidos OVA, NP-KHL) administrando el antígeno al ratón; (b) administrar el agente al ratón, antes, durante o después de la administración del antígeno; (c) exponer el ratón al antígeno 3 a 6 meses después de la inoculación; (d) obtener una muestra biológica (por ejemplo sangre, linfa o suero) del ratón después de la exposición; y (d) detectar o medir una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, una respuesta inmunitaria se detecta o se mide detectando y midiendo la producción de anticuerpos después de la inmunización. En algunas realizaciones, la producción de anticuerpos se ensaya una vez al día cada día durante una semana después de la exposición y después una vez a la semana en lo sucesivo. En algunas realizaciones, una respuesta inmunitaria se detecta o se mide detectando y midiendo la proliferación de linfocitos T tras la reestimulación con el antígeno. En algunas realizaciones, la proliferación de linfocitos T se ensaya una vez a la semana después de la exposición. En ciertos casos, un agente que regula positivamente una segunda respuesta inmunitaria provocará una respuesta inmunitaria acelerada (es decir, un aumento de la velocidad de producción de anticuerpos y proliferación de linfocitos T) después de exposición al antígeno en comparación con un control (es decir un ratón al que no se le ha administrado el agente). En ciertos casos, un agente que regula negativamente una respuesta inmunitaria secundaria provocará una respuesta inmunitaria desacelerada (es decir, una velocidad reducida de producción de anticuerpos y proliferación de linfocitos T) después de exposición al antígeno en comparación con un control (es decir un ratón al que no se le ha administrado el agente).

Agentes

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, agentes que modulan una respuesta inmunitaria (por ejemplo agentes que invierten la anergia, agentes que modulan la función de citocinas y/o agentes que modulan la función de un factor de transcripción codificado por MYC). En ciertas realizaciones, el agente es útil en la administración a un individuo que lo necesite. En realizaciones específicas, el agente es cualquier agente identificado por cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento. En algunas realizaciones, el agente es cualquier agente que module una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el agente es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el agente es ARNi. En algunas realizaciones, el agente es un agonista de MYC (por ejemplo un gen MYC y/o un polipéptido Myc). En algunas realizaciones, el agente es un antagonista de MYC (por ejemplo un gen MYC y/o un polipéptido de Myc).

En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para invertir la anergia en un linfocito B. En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para modular la

viabilidad de células dependientes de factores. En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para inducir expresión de un gen indicador.

5 En algunas realizaciones, la modulación de la respuesta inmunitaria comprende la modulación de la viabilidad de un linfocito. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T CD4+. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria.

10 En algunas realizaciones, la viabilidad de un linfocito después del contacto con el agente es de más de 1 a aproximadamente 10 veces mayor que la viabilidad de un linfocito que no ha entrado en contacto con el agente. En algunas realizaciones, el agente provoca la regulación positiva de un gen MYC en un linfocito. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vivo*. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una vida útil extendida para el linfocito T. En ciertos casos, la vida útil extendida de un linfocito T de memoria da como resultado una mayor concentración de linfocitos T de memoria en un cuerpo. En ciertos casos, la mayor concentración de linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una reducción de los linfocitos T anérgicos. En ciertos casos, la reducción de los linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una reducción del tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En ciertos casos, la reducción en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno.

25 En algunas realizaciones, el agente se administra antes, durante o después de la administración de una vacuna a un individuo. En algunas realizaciones, el agente estimula el sistema inmunitario y aumenta la respuesta del sistema inmunitario a una vacuna. En algunas realizaciones, el agente aumenta una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el agente actúa de forma sinérgica con la vacuna. En algunas realizaciones, el agente es un adyuvante de vacuna.

30 En algunas realizaciones, una vacuna comprende microorganismos muertos, microorganismos atenuados, toxoides, subunidades del patógeno, ácidos nucleicos o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna para hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas, rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; gripe; trastorno meningocócico; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna para cáncer (por ejemplo linfoma no de Hodgkin de linfocitos B folicular), cáncer de próstata, mieloma múltiple, cáncer de riñón, melanoma cutáneo, melanoma ocular y otros tumores sólidos, carcinomas y sarcomas). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer es una vacuna específica de paciente (por ejemplo, la vacuna comprende las células tumorales propias de un paciente). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende antígeno específico de próstata (PSA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende sialil Tn (STn). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende proteínas de choque térmico (HSP) (por ejemplo, gp96). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende moléculas de gangliósido (por ejemplo, GM2, GD2 y GD3). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende antígeno carcinoembrionario (CEA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende MART-1 (también conocida Melan-A). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende tirosinasa. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna de ADN.

45 En algunas realizaciones, comprende un resto antigénico. En algunas realizaciones el resto antigénico es un toxoide, un péptido, una secuencia de ácido nucleico, un polisacárido, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones el resto antigénico deriva de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas, rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; meningococos; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el resto antigénico deriva de una célula neoplásica. En algunas realizaciones, el resto antigénico es un ácido nucleico o un polímero de ácidos nucleicos.

55 En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado un aumento de la viabilidad y por lo tanto la concentración de linfocitos T de memoria contra ese antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado activación acelerada del linfocito T por el antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado una reducción en linfocitos T tolerantes al antígeno.

60 En algunas realizaciones, la viabilidad de un linfocito al que se le ha administrado el agente es de más de 1 a aproximadamente 25 veces menor que la viabilidad de un linfocito al que no se le ha administrado el agente. En algunas realizaciones, el agente provoca la regulación negativa de un gen MYC en un linfocito. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vitro*. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado una vida útil reducida para el linfocito T. En ciertos casos, la vida reducida de un linfocito T de

memoria da como resultado una menor concentración de linfocitos T de memoria en un cuerpo. En ciertos casos, la menor concentración de linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada al antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en linfocitos T anérgicos. En ciertos casos, el aumento en linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada al antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En ciertos casos, el aumento del tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada al antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión.

En algunas realizaciones, el agente se administra a un individuo con un trastorno autoinmunitario. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmunitario es enfermedad de Castleman, lupus, esclerosis múltiple, esclerodermia pigmentosa, Síndrome Linfoproliferativo Autoinmunitario (ALPS), miastenia grave, diabetes, asma, artritis reumatoide, vitiligo, síndrome de diGeorge, enfermedad de Grave, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis, orquitis, esclerodermia pigmentosa, uveítis, Enfermedad Linfoproliferativa Post-Trasplante (PTLD), o Linfadenopatía Asociada con Enfermedad Autoinmunitaria (ADAL). En ciertos casos, la regulación negativa de una respuesta inmunitaria en un individuo con un trastorno autoinmunitario alivia y/o previene una respuesta inmunitaria contra autoantígenos por el sistema inmunitario del sujeto.

En algunas realizaciones, el agente se administra a un individuo que ha recibido un trasplante de órgano, o un trasplante de médula ósea. En determinados casos, la regulación negativa de una respuesta inmunitaria en un individuo que ha recibido un trasplante de órgano o de médula ósea alivia y/o previene una respuesta inmunitaria contra el órgano o la médula ósea trasplantado por el sistema inmunitario del sujeto.

Composiciones farmacéuticas

En el presente documento se desvelan, en ciertas realizaciones, composiciones que modulan el sistema inmunitario en un individuo que lo necesite, en las que la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente identificado por cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento. En algunas realizaciones, el agente es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el agente es ARNi. En algunas realizaciones, el agente es una molécula biológica (por ejemplo, un péptido, un péptido de fusión). En algunas realizaciones, el agente es un péptido de fusión desvelado en el presente documento. En algunas realizaciones, el agente es un péptido de fusión que comprende (a) una secuencia peptídica transportadora; y (b) una secuencia de MYC. En algunas realizaciones, el agente es un péptido de fusión de Fórmula (I):

secuencia peptídica transportadora - secuencia de MYC.

En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para invertir la energía en un linfocito B. En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para modular la viabilidad de células dependientes de factor. En algunas realizaciones, el agente se identifica como un agente que modula la viabilidad de una célula basándose en la capacidad del agente para inducir la expresión de un gen indicador.

En algunas realizaciones, la modulación de la respuesta inmunitaria comprende la modulación de la viabilidad de un linfocito. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T CD4+. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria.

En algunas realizaciones, la viabilidad de un linfocito después del contacto con el agente es más de 1 a aproximadamente 10 veces mayor que la viabilidad de un linfocito que no ha entrado en contacto con el agente. En algunas realizaciones, el agente provoca la regulación positiva de un gen MYC en un linfocito. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vivo*. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una vida útil extendida para el linfocito T. En ciertos casos, la vida útil extendida de un linfocito T de memoria da como resultado una mayor concentración de linfocitos T de memoria en un cuerpo. En ciertos casos, la mayor concentración de linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una reducción en los linfocitos T anérgicos. En ciertos casos, la reducción en los linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de un gen MYC da como resultado una reducción en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En ciertos casos, la reducción en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria acelerada al antígeno.

En algunas realizaciones, el agente se administra antes, durante o después de la administración de una vacuna a un individuo. En algunas realizaciones, el agente estimula el sistema inmunitario y aumenta la respuesta del sistema

inmunitario a una vacuna. En algunas realizaciones, el agente aumenta una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el agente actúa de forma sinérgica con la vacuna. En algunas realizaciones, el agente es un adyuvante de vacuna.

5 En algunas realizaciones, una vacuna comprende microorganismos muertos, microorganismos atenuados, toxoides, subunidades del patógeno, ácidos nucleico o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna para hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe, virus de varicela zóster; rotavirus; gripe; enfermedad meningocócica; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la vacuna
10 es una vacuna para un cáncer (por ejemplo linfoma no de Hodgkin de linfocitos B Folicular, cáncer de próstata, mieloma múltiple, cáncer de riñón, melanoma cutáneo y melanoma ocular). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer es una vacuna específica de paciente (por ejemplo, la vacuna comprende las células tumorales propias de un paciente). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende antígeno específico de próstata (PSA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende sialil Tn (STn). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende proteínas de choque térmico (HSP) (por ejemplo, gp96). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende moléculas de gangliósido (por ejemplo, GM2, GD2 y GD3). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende antígeno carcinoembrionario (CEA). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende MART-1 (también conocida como Melan-A). En algunas realizaciones, una vacuna de cáncer comprende tirosinasa. En algunas realizaciones, la vacuna es una vacuna de ADN.

20 En algunas realizaciones, comprende un resto antigénico. En algunas realizaciones el resto antigénico es un toxoide, un péptido, una secuencia de ácido nucleico, un polisacárido, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones el resto antigénico deriva de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; meningococos; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos.
25 En algunas realizaciones, el resto antigénico deriva de una célula neoplásica. En algunas realizaciones, el resto antigénico es un ácido nucleico o un polímero de ácidos nucleicos.

30 En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado un aumento en la viabilidad y por lo tanto la concentración de linfocitos T de memoria contra ese antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado activación acelerada del linfocito T por el antígeno. En ciertos casos, la regulación positiva de una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe vacunación contra un antígeno da como resultado una reducción en linfocitos T tolerantes al antígeno.

35 En algunas realizaciones, la viabilidad de un linfocito al que se ha administrado el agente es de más de 1 a aproximadamente 25 veces menor que la viabilidad de un linfocito al que no se ha administrado el agente. En algunas realizaciones, el agente provoca la regulación negativa de un gen MYC en un linfocito. En algunas realizaciones, la modulación sucede *in vitro*. En algunas realizaciones, el linfocito es un linfocito T. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T de memoria. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado una vida reducida para el linfocito T. En ciertos casos, la vida útil reducida de un linfocito T de memoria da como resultado una menor concentración de linfocitos T de memoria en un cuerpo. En ciertos casos, la menor concentración de linfocitos T de memoria da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada a antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en los linfocitos T anérgicos. En ciertos casos, el aumento en linfocitos T anérgicos da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada a antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión. En ciertos casos, la regulación negativa de un gen MYC da como resultado un aumento en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno. En ciertos casos, el aumento en el tiempo que tarda un linfocito T en activarse en respuesta a un antígeno da como resultado una respuesta inmunitaria primaria desacelerada a antígeno, tratamiento de un trastorno autoinmunitario y/o inmunosupresión.

50 En algunas realizaciones, el agente se administra a un individuo con un trastorno autoinmunitario. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmunitario es enfermedad de Castleman, lupus, esclerosis múltiple, esclerodermia pigmentosa, Síndrome Linfoproliferativo Autoinmunitario (ALPS), miastenia grave, diabetes, asma, artritis reumatoide, vitíligo, síndrome de diGeorge, enfermedad de Grave, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis, orquitis, esclerodermia pigmentosa, uveítis, Enfermedad Linfoproliferativa Post-Trasplante (PTLD), o Linfadenopatía Asociada con Enfermedad Autoinmunitaria (ADAL). En ciertos casos, la regulación negativa de una respuesta inmunitaria en un individuo con un trastorno autoinmunitario alivia y/o previene una
55 respuesta inmunitaria contra autoantígenos por el sistema inmunitario del sujeto.

60 En algunas realizaciones, el agente se administra a un individuo que ha recibido un trasplante de órgano, o un trasplante de médula ósea. En ciertos casos, la regulación negativa de una respuesta inmunitaria en un individuo que ha recibido un trasplante de órgano o de médula ósea alivia y/o previene una respuesta inmunitaria contra el
65 órgano o la médula ósea trasplantados por el sistema inmunitario del sujeto.

Formulaciones de Composiciones Farmacéuticas

En algunas realizaciones, se formulan composiciones farmacéuticas de una manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables incluyendo, por ejemplo, excipientes y adyuvantes que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que son adecuadas para su uso farmacéutico. En ciertas realizaciones, la formulación apropiada depende de la vía de administración seleccionada. Se encuentra un sumario de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Decimonovena Ed. (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Séptima Ed. (Lippincott Williams y Wilkins 1999).

Una composición farmacéutica, como se usa en el presente documento, se refiere a una mezcla de un compuesto descrito en el presente documento, con otros componentes químicos, tales como vehículos, estabilizantes, diluyentes, agentes de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. En ciertos casos, la composición farmacéutica facilita la administración de un compuesto a un individuo o una célula. En ciertas realizaciones de la práctica de los métodos de tratamiento o uso proporcionado en el presente documento, se administran cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos descritos en el presente documento en una composición farmacéutica a un individuo que tenga un trastorno, una enfermedad o afección para tratar. En realizaciones específicas, el individuo es un ser humano. Como se analiza en el presente documento, los compuestos terapéuticos descritos en el presente documento se utilizan individualmente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento se administran a un individuo de cualquier manera, incluyendo uno o más de múltiples vías de administración, tales como, como ejemplo no limitante, vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica, rectal o transdérmica. Las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, dispersiones líquidas acuosas, dispersiones autoemulsionantes, soluciones sólidas, dispersiones liposómicas, aerosoles, formas de dosificación sólida, polvos, formulaciones de liberación inmediata, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, comprimidos, cápsulas, píldoras, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación extendida, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas y formulaciones de liberación controlada e inmediata mixtas.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto descrito en el presente documento se fabrican opcionalmente de una manera convencional, tal como, solamente como ejemplo, por medio de mezclado convencional, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o procesos de compresión.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica descrita en el presente documento incluye uno o más agentes descritos en el presente documento, como un principio activo en forma de ácido libre o base libre, o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento se utilizan como un *N*-óxido o en una forma cristalina o amorfa (es decir, un polimorfo). En ciertas realizaciones, se utiliza un metabolito activo o profármaco de un compuesto descrito en el presente documento. En algunas situaciones, un compuesto descrito en el presente documento existe como tautómeros. Todos los tautómeros se incluyen dentro del alcance de los compuestos presentados en el presente documento. En ciertas realizaciones, un compuesto descrito en el presente documento existe en una forma no solvatada o solvatada, en el que las formas solvatadas comprenden cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua, etanol y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en el presente documento también se consideran desveladas en el presente documento.

Un "vehículo" incluye, en algunas realizaciones, un excipiente farmacéuticamente aceptable y se selecciona basándose en la compatibilidad con compuestos desvelados en el presente documento, tales como compuestos de cualquiera de las Fórmulas I-V, y las propiedades de perfil de liberación de la forma de dosificación deseada. Los materiales vehículo ejemplares incluyen, por ejemplo, aglutinantes, agentes de suspensión, agentes disgregantes, agentes de carga, tensioactivos, solubilizantes, estabilizantes, lubricantes, agentes humectantes, diluyentes y similares. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Decimonovena Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Séptimo Ed. (Lippincott Williams y Wilkins 1999).

Además, en algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se formulan como una forma de dosificación. Como tal, en algunas realizaciones, se proporciona en el presente documento una forma de dosificación que comprende un compuesto descrito en el presente documento, por ejemplo, un compuesto de cualquiera de las Fórmulas I-V, adecuado para administración a un individuo. En ciertas realizaciones, las formas de dosificación adecuadas incluyen, como ejemplo no limitante, dispersiones orales

acuosas, líquidos, geles, jarabes, elixires, pastas, suspensiones, formas de dosificación oral sólida, aerosoles, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, formulaciones efervescentes, formulaciones liofilizadas, comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación extendida, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas y formulaciones de liberación inmediata y liberación controlada mixtas.

Las formas de dosificación sólida farmacéuticas descritas en el presente documento opcionalmente incluyen un compuesto terapéutico adicional descrito en el presente documento y uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables tales como un vehículo, aglutinante, agente de carga, agente de suspensión, agente saporífero, agente edulcorante, agente disgregante, agente de dispersión, tensioactivo, lubricante, colorante, diluyente, solubilizante, agente humectante, plastificante, estabilizante, potenciador de la penetración, agente humectante, agente antiespumante, antioxidante, conservantes compatibles o una o más combinaciones de los mismos. En algunos aspectos, usando procedimientos de recubrimiento convencionales, tales como los descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª Edición (2000), se proporciona un recubrimiento en película alrededor de la formulación del compuesto de cualquiera de las Fórmulas I-V. En una realización, un compuesto descrito en el presente documento está en forma de una partícula y algunas otras de o todas partículas del compuesto están recubiertas. En ciertas realizaciones, algunas o todas de las partículas de un compuesto descrito en el presente documento están microencapsuladas. En algunas realizaciones, las partículas del compuesto descrito en el presente documento no están microencapsuladas y no están recubiertas.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento está en formas de dosificación unitarias adecuadas para administración individual de dosificaciones precisas. En forma de dosificación unitaria, la formulación se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de uno o más compuestos. En algunas realizaciones, la dosificación unitaria está en forma de un envase que contiene cantidades discretas de la formulación. Son ejemplos no limitantes comprimidos o cápsulas envasados, y polvos en viales o ampollas. Las composiciones de suspensiones acuosas se envasan opcionalmente en recipientes de una única dosis que no pueden volverse a cerrar. En algunas realizaciones, se usan recipientes de dosis múltiple que pueden volverse a cerrar. En ciertos casos, los recipientes de dosis múltiple comprenden un conservante en la composición. Solamente como ejemplo, se presentan formulaciones para inyección parenteral en forma de dosificación unitaria, que incluye, pero sin limitación, ampollas, o en recipientes multidosis, con un conservante añadido.

En algunas realizaciones, los agentes y las composiciones descritos en el presente documento se administran antes, durante o después de la administración de una vacuna. En algunas realizaciones, los agentes y composiciones descritos en el presente documento se incorporan en una vacuna. En algunas realizaciones, los agentes y las composiciones estimulan el sistema inmunitario y aumentan la respuesta del sistema inmunitario a una vacuna. En algunas realizaciones, los agentes y las composiciones aumentan una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, los agentes y las composiciones actúan de forma significativa con la vacuna. En algunas realizaciones, los agentes y las composiciones son adyuvantes de vacuna. En algunas realizaciones, la formulación de vacuna comprende un antígeno o resto antigénico (por ejemplo una proteína o un polisacárido de *B. pertussis*, *C. tetani*, *E. coli*, *C. diphtheriae*, *P. aeruginosa*, *V. cholerae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *N. gonorrhoea*) y el agente. En algunas realizaciones, la vacuna comprende además un vehículo (por ejemplo, agua, solución salina, PBS), un conservante (por ejemplo timerosal, 2-fenoxi etanol, fenol, cloruro de bencetonio), un estabilizante (por ejemplo lactosa, glutamato monosódico), un antibiótico, un antioxidante, un agente de control de pH o combinaciones de los mismos.

Formulaciones tópicas

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se administra por vía tópica (es decir, el polipéptido se administra a la superficie de la piel). En algunas realizaciones, se administra un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) por vía tópica en el sitio de una inyección de vacuna. En ciertos casos, aparece un depósito de antígeno localizado (es decir, un depósito tisular formado por adyuvantes de vacuna (por ejemplo, emulsiones de agua en aceite o sales de aluminio) que da como resultado la liberación lenta y uniforme de un antígeno) durante la vacunación con los enfoques actuales. En algunas realizaciones, la regulación positiva transitoria de MYC en las células linfoides residentes en la piel, cerca del sitio del depósito de antígeno, conduce una respuesta inmunitaria más robusta, y produce una respuesta más amplia en el contexto de tolerancia relajada a autoantígenos.

Se utiliza cualquier formulación adecuada. En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión de MYC se formula como una solución, una crema o una loción, un gel, una pomada, una espuma, una microemulsión o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión de MYC se formula para suministro mediante un parche transdérmico.

Se utiliza cualquier método adecuado de administración tópica (por ejemplo, electroporación, sonoforesis, suministro químico, abrasión cutánea). En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión de MYC se formula para suministro químico (es decir, una sustancia química (por ejemplo PEG, etanol, glicerol monolaurato, dodecil sulfato sódico, fosfatidil colina o urea) se usa para facilitar la penetración de un agente activo a través de la piel). En algunas

realizaciones, el polipéptido de fusión de MYC se formula para suministro mediante electroporación (es decir, la permeabilización de una barrera (por ejemplo, la piel) mediante aplicación de una corriente eléctrica). En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión de MYC se formula para suministro mediante sonoforesis (es decir, la permeabilización de una barrera (por ejemplo, la piel) mediante aplicación de ultrasonidos).

5

Cremas y lociones

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como una crema. En ciertos casos, las cremas son formulaciones semisólidas (por ejemplo, sólido blando o líquido espeso) que incluyen un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) dispersado en una emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite.

10

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como una loción. En ciertos casos, las lociones son emulsiones fluidas (por ejemplo, emulsiones de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite).

15

En algunas realizaciones, el componente hidrófobo de una loción y/o una crema deriva de un animal (por ejemplo, lanolina, aceite de hígado de bacalao y ámbar gris), una planta (por ejemplo, aceite de cártamo, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de lacha, aceite de semilla de palma, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de colza, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de pino, aceite de sésamo o aceite de semilla de girasol) petróleo (por ejemplo, aceite mineral o vaselina), o una combinación de los mismos.

20

Pomadas

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como una pomada. En ciertos casos, las pomadas son preparaciones semisólidas que se ablandan o se funden a temperatura corporal.

25

Pastas

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como una pasta. En ciertos casos, las pastas contienen al menos 20 % de sólidos. En ciertos casos, las pastas son pomadas que no fluyen a temperatura corporal.

30

Geles

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como un gel. En ciertos casos, los geles son sistemas semisólidos (o semirrígido) que consisten en dispersiones de moléculas orgánicas grandes dispersadas en un líquido. En ciertos casos, los geles son solubles en agua y se retiran usando agua caliente o solución salina.

35

Barritas

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula como una barrita. En ciertos casos, las barritas son formas de dosificación sólida que se funden a temperatura corporal. En algunas realizaciones, una barrita comprende una cera, un polímero, una resina, sólidos secos fusionados en una masa firme y/o cristales fusionados. En algunas realizaciones, una formulación típica de un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) está en forma de un lapicero hemostático (es decir, una barrita preparada (1) calentando cristales hasta que pierden su agua de cristalización y se funden, y (2) vertiendo los cristales fundidos en moldes y permitiendo que se endurezcan). En algunas realizaciones, una formulación tópica de un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC), está en forma de barrita en la que la barrita comprende una cera (por ejemplo, la acera se funde y se vierte en moldes apropiados en los que se solidifican en forma de barrita).

40

45

En algunas realizaciones, una formulación tópica de un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) está en forma de barrita en la que la barrita comprende una base de fusión (es decir, una base que se ablanda a temperatura corporal). Los ejemplos de bases de fusión incluyen, pero sin limitación, ceras, aceites, polímeros y geles. En algunas realizaciones, una formulación tópica de un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) está en forma de barrita en la que la barrita comprende una base húmeda (es decir, una base que se activa por la adición de humedad).

50

Parches

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula para administración mediante un parche. En algunas realizaciones, una formulación tópica desvelada en el presente documento se disuelve y/o se dispersa en un polímero o un adhesivo. En algunas

55

60

realizaciones, un parche desvelado en el presente documento se construye para suministro continuo, pulsátil o bajo demanda de un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC).

Apósitos

5 En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula para administración mediante un apósito. Los apósitos incluyen, pero sin limitación, gasas, vendajes de película transparente, hidrogeles, vendajes de espuma de poliuretano, hidrocoloideos y alginatos.

10 Excipientes dermatológicos

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula con un potenciador de la penetración. Los potenciadores de la penetración incluye, pero sin limitación, lauril sulfato sódico, laurato sódico, polioxietilen-20-cetil éter, lauril-éter-9, dodecilsulfato sódico, dioctilo sulfosuccinato sódico, polioxietilen-9-lauril éter (PLE), Tween 80, nonilfenoxipolietileno (NP-POE), polisorbatos, glicocolato sódico, desoxicolato sódico, taurocolato sódico, taurodihidrofusidato sódico, glicodihidrofusidato sódico, ácido oleico, ácido caprílico, mono- y diglicéridos, ácidos láuricos, acilcolinas, ácidos caprílicos, acilcarnitinas, capratos sódicos, EDTA, ácido cítrico, salicilatos, DMSO, decilmetil sulfóxido, etanol, isopropanol, propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, propanodiol, y dietilenglicol monoetil éter.

20 En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula con un agente gelificante (o espesante). En algunas realizaciones, una formulación tópica desvelada en el presente documento comprende además de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 5 %, más preferentemente de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 3 %, y más preferentemente de aproximadamente 0,25 % a aproximadamente 2 %, de un agente gelificante. En ciertas realizaciones, la viscosidad de una formulación tópica desvelada en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 100 a aproximadamente 500.000 cP, de aproximadamente 100 cP a aproximadamente 1.000 cP, de aproximadamente 500 cP a aproximadamente 1.500 cP, de aproximadamente 1.000 cP a aproximadamente 3.000 cP, de aproximadamente 2.000 cP a aproximadamente 8.000 cP, de aproximadamente 4.000 cP a aproximadamente 10.000 cP, de aproximadamente 10.000 cP a aproximadamente 50.000 cP.

Los agentes gelificantes adecuados para su uso en la preparación de la formulación tópica en gel incluyen, pero sin limitación, celulosas, derivados de celulosa, éteres de celulosa (por ejemplo, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa), goma guar, 35 goma xantana, goma de algarrobo, alginatos (por ejemplo, ácido alginico), silicatos, almidón, tragacanto, polímeros de carboxivinilo, carragenina, parafina, vaselina, acacia (goma arábica), agar, silicato de magnesio de aluminio, alginato sódico, estearato sódico, fucus, bentonita, carbómero, carragenina, carbopol, xantano, celulosa, celulosa microcristalina (MCC), ceratonia, *Chondrus*, dextrosa, furcellarano, gelatina, goma ghatti, goma guar, hectorita, lactosa, sacarosa, maltodextrina, manitol, sorbitol, miel, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón 40 de patata, gelatina, goma *Sterculia*, polietilenglicol (por ejemplo PEG 200-4500), goma de tragacanto, etil celulosa, etilhidroxietil celulosa, etilmetil celulosa, metil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxietilmetil celulosa, hidroxipropil celulosa, poli(hidroxietil metacrilato), oxipoligelatina, pectina, poligelina, povidona, propilencarbonato, copolímero de metil vinil éter/anhídrido maleico (PVM/MA), poli(metoxietil metacrilato), poli(metoxietoxietil metacrilato), hidroxipropil 45 celulosa, hidroxipropilmetil celulosa (HPMC), carboximetilcelulosa sódica (CMC), dióxido de silicio, polivinilpirrolidona (PVP: povidona), o combinaciones de las mismas.

En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de MYC desvelado en el presente documento (por ejemplo, TAT-MYC) se formula con un emoliente. Los emolientes incluyen, pero sin limitación, ésteres de aceite de ricino, ésteres 50 de manteca de cacao, ésteres de aceite cártamo, ésteres de aceite de semilla de algodón, ésteres de aceite de maíz, ésteres de aceite de oliva, ésteres de aceite de hígado de bacalao, ésteres de aceite de almendras, ésteres de aceite de aguacate, ésteres de aceite de palma, ésteres de aceite de sésamo, ésteres de escualeno, ésteres de aceite de kukui, ésteres de aceite de soja, monoglicéridos acetilados, gliceril monoestearato etoxilado, hexil laurato, isohexil laurato, isohexil palmitato, isopropil palmitato, metil palmitato, deciloleato, isodecil oleato, hexadecil 55 estearato, decil estearato, isopropilo isoestearato, metil isoestereato, diisopropil adipato, diisohexil adipato, dihexildecil adipato, diisopropil sebacato, lauril lactato, miristil lactato, y cetil lactato, oleil miristato, oleil estearato y oleil oleato, ácido pelargónico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido isoesteárico, ácido hidroxiesteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido ricinoleico, ácido araquídico, ácido behénico, ácido erúrico, alcohol láurico, alcohol miristílico, alcohol cetílico, alcohol hexadecílico, alcohol estearílico, alcohol isoestearílico, alcohol hidroxiestearílico, alcohol oleílico, alcohol ricinoleílico, alcohol behenílico, alcohol eurcílico, alcohol 2-octil 60 dodecanílico, lanolina y derivados de lanolina, cera de abejas, espermaceti, miristil miristato, estearil estearato, cera de carnauba, cera de candelilla, lecitina y colesterol.

Combinaciones

65 En algunas realizaciones, es apropiado administrar al menos un agente terapéutico descrito en el presente documento en combinación con otro agente terapéutico. O, solamente como ejemplo, el beneficio experimentado por

un paciente aumenta administrando uno de los compuestos descritos en el presente documento con otro agente terapéutico (que también incluye un régimen terapéutico) que también tiene beneficios terapéuticos. En cualquier caso, independientemente del trastorno, la enfermedad o la afección que se trate, el beneficio general experimentado por el paciente es, en algunas realizaciones, la suma de los dos agentes terapéuticos o en otras realizaciones, el paciente experimenta un beneficio sinérgico.

En algunas realizaciones, la elección particular de compuestos depende del diagnóstico de los médicos a cargo y su valoración de la condición del paciente y el protocolo de tratamiento apropiado. Los compuestos se administran opcionalmente concurrentemente (por ejemplo, simultáneamente, esencialmente simultáneamente o dentro del mismo protocolo de tratamiento) o secuencialmente, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad, el trastorno o la afección, la condición del paciente, y la elección real de compuestos usados. En ciertos casos, la determinación del orden de administración, y el número de repeticiones de administración de cada agente terapéutico durante un protocolo de tratamiento se basa en una evaluación del trastorno que se trata y la condición del paciente.

En algunas realizaciones, las dosificaciones terapéuticamente eficaces varían cuando los fármacos se usan en combinaciones del tratamiento. Se describen en la bibliografía métodos para determinar experimentalmente las dosificaciones terapéuticamente eficaces de fármacos y otros agentes para su uso en regímenes de tratamientos de combinación. Por ejemplo, el uso de dosificación metronómica, es decir, proporcionando dosis más frecuentes, menores para minimizar los efectos secundarios tóxicos, se ha descrito exhaustivamente en la bibliografía. El tratamiento de combinación incluye además tratamientos periódicos que comienzan y terminan en diversos tiempos para ayudar al control clínico del paciente.

En algunas realizaciones de las terapias de combinación descritas en el presente documento, las dosificaciones de los compuestos co-administrados varían dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, del fármaco específico empleado, del trastorno o afección que se trate y así sucesivamente. Además, cuando se co-administra con uno o más agentes biológicos, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra opcionalmente bien simultáneamente con el agente o los agentes biológicos, o bien secuencialmente. En ciertos casos, si se administra secuencialmente, el médico a cargo decidirá sobre la secuencia apropiada de compuesto terapéutico descrito en el presente documento en combinación con el agente terapéutico adicional.

Los agentes terapéuticos múltiples (al menos uno de los cuales es un compuesto terapéutico descrito en el presente documento) se administran opcionalmente en cualquier orden o incluso simultáneamente. Si se administran simultáneamente, los múltiples agentes terapéuticos se proporcionan opcionalmente en una única forma unificada, o en múltiples formas (solamente como ejemplo, bien como una píldora individual o bien como dos píldoras separadas). En ciertos casos, uno de los agentes terapéuticos se proporciona opcionalmente en múltiples dosis. En otros casos, ambos se proporcionan opcionalmente como múltiples dosis. Si no son simultáneas, el tiempo entre las múltiples dosis es cualquier tiempo adecuado, por ejemplo, de más de cero semanas a menos de cuatro semanas. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se utiliza para conseguir remisión (parcial o completa) de un cáncer, tras lo cual el agente terapéutico descrito en el presente documento (por ejemplo, un compuesto de una cualquiera de Fórmulas I-V) se administra posteriormente. Además, los métodos de combinación, las composiciones y las formulaciones no están limitados al uso de solamente dos agentes; también se prevé el uso de múltiples combinaciones terapéuticas (incluyendo dos o más compuestos terapéuticos descritos en el presente documento).

En algunas realizaciones, un régimen de dosificación para tratar, prevenir o aliviar la afección o las afecciones para las que se busca alivio, se modifica según una diversidad de factores. Estos factores incluyen el trastorno que padece el sujeto, así como la edad, el peso, el sexo, la dieta y la condición médica del sujeto. Por lo tanto, en diversas realizaciones, el régimen de dosificación empleado de hecho varía y se desvía de los regímenes de dosificación expuestos en el presente documento.

En algunas realizaciones, los agentes farmacéuticos que componen la terapia de combinación desvelada en el presente documento se proporcionan en una forma de dosificación combinada o en formas de dosificación separadas para administración sustancialmente simultánea. En ciertas realizaciones, los agentes farmacéuticos que componen la terapia de combinación se administran secuencialmente, administrándose uno de los compuestos terapéuticos por un régimen que necesita administración de dos etapas. En algunas realizaciones, el régimen de administración de dos etapas necesita administración secuencial de los agentes o administración separada de los agentes separados. En ciertas realizaciones, el periodo de tiempo entre las múltiples etapas de administración varía, como ejemplo no limitante, de algunos minutos a varias horas, dependiendo de las propiedades de cada agente farmacéutico, tales como potencia, solubilidad, biodisponibilidad, semivida en plasma y perfil cinético del agente farmacéutico.

Además, los compuestos descritos en el presente documento también se usan opcionalmente en combinación con procedimientos que proporcionan beneficio adicional o sinérgico al paciente. Solamente como ejemplo, se espera que los pacientes encuentren beneficio terapéutico y/o profiláctico en los métodos descritos en el presente documento, en los que la composición farmacéutica de un compuesto desvelado en el presente documento y/o combinaciones con otros productos terapéuticos se combinan con ensayos genéticos para determinar si ese individuo es un portador de un gen una mutación génica que se sabe que está correlacionado con ciertos trastornos

o afecciones. En ciertas realizaciones, se consigue beneficio profiláctico administrando un compuesto terapéutico descrito en el presente documento a un individuo cuyo trastorno proliferativo (por ejemplo, cáncer) está en remisión (por ejemplo, parcial o completa).

5 En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento y las terapias de combinación se administran antes, durante o después de la aparición de un trastorno o una afección. La temporización de la administración de la composición que contiene un compuesto se modifica opcionalmente para ajustarse a las necesidades del individuo tratado. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, los compuestos se usan como un
10 profiláctico y se administran continuamente a sujetos con una propensión a desarrollar afecciones o trastornos para evitar la aparición de trastorno o la afección. En algunas realizaciones, los compuestos y las composiciones se administran a un individuo durante o tan pronto como sea posible después de la aparición de los síntomas. La administración de los compuestos se inicia opcionalmente en las primeras 48 horas desde la aparición de los síntomas, en las primeras 6 horas de la aparición de los síntomas, o en las primeras 3 horas desde la aparición de los síntomas. La administración inicial se consigue por cualquier vía práctica, tal como, por ejemplo, una inyección intravenosa, una inyección de embolada, infusión durante 5 minutos a aproximadamente 5 horas, una píldora, una
15 cápsula, parche transdérmico, suministro bucal y similares, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el compuesto debería administrarse tan pronto como sea posible después de que se detecte o se sospeche la aparición de un trastorno o una afección, y durante un periodo de tiempo necesario para el tratamiento del trastorno, tal como, por ejemplo, de más de 1 mes a aproximadamente 3 meses. La duración del tratamiento se modifica opcionalmente para cada sujeto basándose en criterios conocidos. En realizaciones ejemplares, el compuesto o una formulación que contiene el compuesto se administra durante al menos 2 semanas, entre más de 20 1 mes y aproximadamente 5 años, o de más de 1 mes a aproximadamente 3 años.

En algunas realizaciones, se combinan agentes terapéuticos con o se utilizan en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos en cualquier combinación: inhibidores selectivos de Akt; inhibidores de PI3K; inhibidores de polipéptido quinasa C (PKC); inhibidores de farnesiltransferasa; inhibidores de retículo sarco/endoplásmico Ca²⁺ ATPasa; inhibidores de polipéptido quinasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina (CaM); inhibidores de quinasa dependiente de ciclina; PPD (p-fenilendiamina); D609 (tricyclodecan-9-il xantogenato); PP1 (4-amino-5-(4-metilfenil)-7-(t-butil)pirazolo[3,4-d]-pirimidina); AG-879 (alfa-Ciano-(3,5-di-t-butil-4-hidroxi)tiocinamida); BAY 11-7082 ((E)-3-(4-metilfenilsulfonil)-2-propenonitrilo); taspigargina o RK-682 (ácido 3-hexadecanoil-5-hidroximetil-tetrónico).

Los inmunosupresores incluyen, como ejemplo no limitante, Sirolimus (rapamicina), ciclosporina, FK506, cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, tirfosfina 8, metotrexato, piceatannol, genisteína, tacrolimus, rapamicina, ciclofosfamida, azatioprina, mercaptopurina, micofenolato y FTY720.

Los inhibidores selectivos de Akt incluyen, como ejemplo no limitante, SH4 (1L-6-hidroximetil-quiuro-inositol 2-R-2-O-metil-3-O-octadecilcarbonato); SH-5 (D-3-desoxi-2-O-metil-mio inositol 1-(R)-2-metoxi-3-(octadeciloxi) propilhidrógeno fosfato); y SH-6 (D-2,3-didesoxi-mio inositol 1-(R)-2-metoxi-3-(octadeciloxi) propilhidrógeno fosfato).

Los inhibidores de PI3K incluyen, como ejemplo no limitante, wortmannina; LY294002 (2-(4-morfolinil)-8-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona); D000 (Upstate, Milton Keynes, Reino Unido); y D121 (3-fenil-2-(9H-purin-6-ilsulfanilmetil)-3H-quinazolin-4-ona).

Como ejemplo no limitante, los inhibidores de proteína quinasa C (PKC) incluyen Ro-318220 (3-[1-[3-(amidinotio)propil]-1H-indol-3-il]-3-(1-metil-1H-indol-3-il) maleimida metano sulfonato); G66976 (12-(2-cianoetil)-6,7,12,13-tetrahydro-13-metil-5-oxo-5H-indolo(2,3-a)pirrolo(3,4-c)-carbazol); estaurosporina; rottlerina; calfastina C; GF 109203X (3-[1-(dimetilaminopropil)indol-3-il]-4-(indol-3-il)maleimido clorhidrato); hipericina; esfingosina; miltefosina; palmitoil-DL-carnitina Cl; rottlerina; y 2,2',3,3',4,4'-hexahidroxi-1,1'-bifenil-6,6'-dimentol dimetiléter.

Como ejemplo no limitante, los inhibidores de farnesiltransferasa incluyen L-744,832 (C₂₆H₄₅N₃O₆S₂ 2HCl); o Sarasar (SCH66336 o lonafarnib).

Como ejemplo no limitante, los inhibidores de polipéptido quinasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina (CaM) incluyen: ácido 2-hidroxi-5-(2,5-dihidroxibenzilamino) benzoico; KN-62 (1-[N,O-bis(5-isoquinolinsulfonil)-N-metil-L-tirosil]-4-fenilpiperazina); KN-93 (2-[N-(2-hidroxietil)]-N-(4-metoxibencenosulfonil)amino-N-(4-clorocinnamyl)-N-metilbenzilamina); o estaurosporina (AM-2282).

Como ejemplo no limitante, los inhibidores de quinasa dependiente de ciclina incluyen: roscovitina (Seliciclib o CYC202); purvalanol A; o indirubina.

Métodos de dosificación y regímenes de tratamiento

En algunas realizaciones, un agente y/o una composición descrito en el presente documento se usa en la preparación de vacunas para inmunización contra patógenos (por ejemplo, hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; gripe; enfermedad

- meningocócica; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano) en el que una regulación positiva de una respuesta inmunitaria sería beneficiosa para dicho tratamiento. En algunas realizaciones, un agente descrito en el presente documento se incorpora en la formulación de una vacuna. En algunas realizaciones, un agente descrito en el presente documento es un adyuvante de vacuna. En algunas realizaciones, el volumen de una formulación de vacuna para inyección es de aproximadamente 50 μ l a aproximadamente 5 ml. En algunas realizaciones, el volumen de una formulación de vacuna para inyección es de aproximadamente 100 μ l a aproximadamente 3,5 ml. En algunas realizaciones, el volumen de una formulación de vacuna para inyección es de aproximadamente 200 μ l a aproximadamente 2 ml. En algunas realizaciones, el volumen de una formulación de vacuna para inyección es de aproximadamente 350 μ l a aproximadamente 1 ml. En algunas realizaciones, el volumen de una formulación de vacuna para inyección es de aproximadamente 500 μ l. El volumen de la vacuna se determina por el método de administración. En ciertos casos, la vacuna se administra como una inyección subcutánea o intradérmica. En ciertos casos, la vacuna se administra como inyección intramuscular. En algunas realizaciones, la vacuna se administra como 1 dosis. En algunas realizaciones, la vacuna se administra en múltiples dosis (por ejemplo en inyecciones de refuerzo).
- En algunas realizaciones, un agente y/o una composición descrita en el presente documento se usan en la preparación de medicamentos para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de trastornos que se beneficiarían, al menos en parte, de una regulación negativa de una respuesta inmunitaria (por ejemplo trastornos autoinmunitarios, rechazo de trasplantes).
- En algunas realizaciones, un agente y/o una composición descrita en el presente documento se usa en un método para tratar un trastorno (por ejemplo hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria, tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; gripe; enfermedad meningocócica; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano y un cáncer) en el que una regulación positiva de una respuesta inmunitaria sería beneficiosa para dicho tratamiento. En algunas realizaciones, un agente y/o composición descritos en el presente documento se usa en un método de tratamiento profiláctico y/o terapéutico de un trastorno que se beneficiaría, al menos en parte, de una regulación negativa de una respuesta inmunitaria (por ejemplo trastornos autoinmunitarios, rechazo de trasplantes).
- En ciertos casos en los que la condición del paciente no mejora, según la valoración del médico la administración de un agente o una composición descrito en el presente documento se administra opcionalmente de forma crónica, es decir, durante un periodo de tiempo prolongado, incluyendo durante toda la vida del paciente para aliviar o controlar o limitar de otro modo los síntomas del trastorno del paciente.
- En caso de que el estado del paciente mejore, según la valoración del médico la administración de un agente o una composición descrito en el presente documento se proporciona opcionalmente de forma continua; como alternativa, la dosis del fármaco que se administra se reduce temporalmente o se suspende temporalmente durante un cierto periodo de tiempo (es decir, un "descanso del medicamento"). La duración del descanso del medicamento opcionalmente varía entre 2 días y 1 año, incluyendo solamente como ejemplo, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 12 días, 15 días, 20 días, 28 días, 35 días, 50 días, 70 días, 100 días, 120 días, 150 días, 180 días, 200 días, 250 días, 280 días, 300 días, 320 días, 350 días o 365 días. La reducción de la dosis durante un descanso del medicamento incluye del 10 % al 100 % incluyendo, solamente como ejemplo, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 %.
- Una vez que se ha producido mejora de las condiciones del paciente, se administra si es necesaria una dosis de mantenimiento. Posteriormente, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, se reducen, en función de los síntomas, hasta un nivel al que se mantenga la enfermedad, el trastorno o la afección mejorados. En algunas realizaciones, los pacientes requieren tratamiento intermitente a largo plazo tras cualquier reaparición de los síntomas.
- En algunas realizaciones, los agentes o las composiciones descritos en el presente documento están en formas de dosificación unitarias adecuadas para administración individual de dosificaciones precisas. En forma de dosificación unitaria, la formulación se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de un agente o una composición descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la dosificación unitaria está en forma de un envase que contiene cantidades discretas de la formulación. Son ejemplos no limitantes comprimidos o cápsulas envasados, y polvos en viales o ampollas. En algunas realizaciones, las composiciones de suspensión acuosas se envasan en recipientes de una única dosis que no pueden volverse a cerrar. Como alternativa, se usan recipientes de múltiples dosis que pueden volverse a cerrar, en cuyo caso es típico incluir un conservante en la composición. Solamente como ejemplo, se presentan formulaciones para inyección parenteral en forma de dosificación unitaria, que incluyen, pero sin limitación ampollas, o en recipientes de multidosis, con un conservante añadido.
- Las dosificaciones diarias apropiadas para un agente o una composición descrita en el presente documento son de aproximadamente 0,01 a 10,0 mg/kg por peso corporal. En algunas realizaciones, las dosificaciones diarias apropiadas para un agente o una composición descrita en el presente documento son de aproximadamente 0,05 a 7,5 mg/kg por peso corporal. En algunas realizaciones, las dosificaciones diarias apropiadas para un agente o una

composición descrita en el presente documento son de aproximadamente 0,1 a 5,0 mg/kg por peso corporal. En algunas realizaciones, las dosificaciones diarias apropiadas para un agente o una composición descrita en el presente documento son de aproximadamente 0,25 a 2,5 mg/kg por peso corporal. En algunas realizaciones, las dosificaciones diarias apropiadas para un agente o una composición descrita en el presente documento son de aproximadamente 0,5 a 1,0 mg/kg por peso corporal. Un dosificación diaria indicada en el mamífero mayor, incluyendo, pero sin limitación, seres humanos, está en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, administrada convenientemente en dosis divididas, incluyendo, pero sin limitación, hasta cuatro veces al día o en forma de liberación prolongada. Las formas de dosificación unitaria adecuadas para administración oral incluyen de más de 1 a 50 mg de principio activo. Los intervalos anteriores son meras sugerencias, ya que el número de variables con respecto al régimen de tratamiento de un individuo es grande, y son habituales variaciones considerables de estos valores recomendados. Dichas dosificaciones se alteran opcionalmente dependiendo de varias variables, sin limitarse a la actividad del agente o la composición descrita en el presente documento usado, el trastorno o afección para tratar, el modo de administración, los requisitos del sujeto individual, la gravedad del trastorno o afección que se trate, y el criterio del practicante.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos regímenes terapéuticos se determinan opcionalmente en cultivos celulares o animales experimentales, incluyendo, pero sin limitación, la determinación de la DL50 (la dosis letal al 50 % de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, que se expresa como la relación entre DL50 y DE50. Se prefiere un agente o composiciones descritas en el presente documento que muestren índices terapéuticos altos. Los datos obtenidos de ensayos de cultivo celular y estudios animales se usan opcionalmente en la formulación de un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de dicho agente o composición descrita en el presente documento queda preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluye la DE50 con toxicidad mínima. La dosificación varía opcionalmente dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos son solamente para fines ilustrativos y son realizaciones no limitantes. Son posibles muchas modificaciones, equivalentes y variaciones de la presente invención a la luz de las enseñanzas anteriores, por lo tanto, debe entenderse que dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, la invención puede practicarse de una manera distinta a la descrita específicamente.

Ejemplo 1 - Ensayo usando una construcción indicadora

Se transforma una pluralidad de células con una construcción indicadora. La construcción indicadora tiene FLuc bajo control de un promotor ODC. Las células se dividen en 96 alícuotas usando una placa de 96 pocillos convencional. A cada pocillo se administra una molécula pequeña diferente. La molécula pequeña se incuba con las células durante 6 horas. El nivel de expresión de la luciferasa se determina usando microscopía fluorescente. Los agentes que inducen la expresión del gen de luciferasa se validan *in vitro*.

Ejemplo 2 – Construcción de un péptido de fusión TAT-MYC

Construcción de p-TAT-MYC

Se preparó plásmido pTAT-Myc-V5-6xHis por amplificación por PCR de las regiones codificantes de MYC humano usando un cebador directo que contiene una secuencia de 9 aminoácidos N-terminal en fase del dominio de transducción de proteína TAT de VIH-1 (RKKRRQRRR), y un cebador inverso que retira el codón de terminación. El producto de PCR se clonó después en el vector pET101/D-Topo (Invitrogen), que incluye un epítipo V5 C-terminal y marcador de purificación de histidina 6x.

Cepa bacteriana usada para expresión de proteínas

Se crearon células BL-21 RARE transformando la cepa de *E. coli* BL-21 Star™ (Invitrogen) con pRARE (CamR), aislado de células BL21 Rosetta (Novagen), que expresan ARNt para los codones AGG, AGA, AUA, CUA, CCC, GGA.

Inducción y purificación de proteínas

Se transformó pTAT-Myc-V5-6xHis en células BL21 RARE y se cultivaron en una placa TB/Amp/Cam a 37 °C durante una noche. Se usó una colonia aislada para inocular un cultivo de partida de 5 ml de TB/Amp/Cam y se cultivó a 37 °C durante una noche. Se inoculó 1 litro de caldo de cultivo TB/Amp/Cam con el cultivo de partida de 5 ml y se dejó crecer hasta una DO600 de 0,5, y se indujo con IPTG 0,5 mM a 37 °C durante 3 horas.

Las células bacterianas se sedimentaron por centrifugación y el sedimento celular se resuspendió en tampón de lisis (urea 8 M, NaH₂PO₄ 100 mM, Tris 10 mM pH hasta 8,0) y se lisó a temperatura ambiente durante una noche en un agitador. El lisado se clarificó por centrifugación a 29.000 x g durante 30 min y el sobrenadante se aplicó a una columna de afinidad de nitrilotriacetato de níquel (Qiagen) usando flujo gravitatorio. La columna se lavó con 25

volúmenes de tampón de lisis que contenía imidazol 10 mM seguido de elución con tampón de lisis que contenía imidazol 100 mM.

La proteína se concentró usando un dispositivo de filtro de centrifuga Amicon Ultra (10.000 PCPM) y se dializó por etapas en tampón de diálisis (NaH₂PO₄ 50 mM, Tris 5 mM pH 7,0 NaCl 450 mM, glicerol al 5 %, DTT 1 mM). La diálisis fue de la siguiente manera: 2 horas en tampón de diálisis que contenía urea 4 M, 2 horas en tampón con urea 2 M, después 2 horas en tampón de diálisis solamente. La pureza y el tamaño de las proteínas se verificaron usando electroforesis de SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie o transferencia de western con anticuerpos anti-V5 (1:5000; Invitrogen) o anti-c-Myc (N-262,1:2000; Santa Cruz Biotechnology).

La concentración de proteínas se midió por ensayo de proteínas de Bradford (Sigma) en comparación con una curva patrón de albúmina de suero bovina.

Ejemplo3 – Efecto del péptido de fusión TAT-Myc en respuestas inmunitarias

El péptido de fusión TAT-MYC se evalúa *in vitro* como un regulador de una respuesta inmunitaria. Un cultivo de activación de linfocitos T primario se incubaba con el péptido de fusión TAT-MYC durante 72 horas. El cultivo se tiñe después con CFSE. Después de la tinción con CFSE, el cultivo se analiza por FACS.

Ejemplo 4 – Efecto del péptido de fusión TAT-Myc en respuestas inmunitarias

El péptido de fusión TAT-MYC se evalúa *in vivo* como un regulador de una respuesta inmunitaria. Un ratón se inmuniza contra NP-KHL administrando NP-KHL al ratón. Inmediatamente después de la inmunización contra el antígeno, el péptido de fusión TAT-MYC se administra al ratón. Veinticuatro horas después de la inmunización se toma suero del ratón. El suero se analiza con respecto a anticuerpos. Como alternativa, el péptido de fusión TAT-MYC se administra simultáneamente con inmunización, o antes de la inmunización.

Ejemplo 5 – Efecto de IM TAT-MYC como un adyuvante de vacuna

Este será un estudio controlado por placebo, aleatorio, con doble ocultación. Se diseña para evaluar la memoria inmunológica después de la administración de una vacuna de gripe y un péptido de fusión TAT-MYC.

Los participantes se dividen en dos grupos. Al grupo I se le administrará una vacuna de gripe y solución salina. Al grupo II se le administrará una vacuna de gripe y el péptido de fusión TAT-MYC.

Objetivo primario

Evaluar los efectos inmunológicos de un péptido de fusión TAT-MYC administrado por inyección intramuscular (IM) a individuos que reciben una vacuna de gripe.

Objetivos secundarios

- Evaluar la seguridad y tolerabilidad de un péptido de fusión TAT-MYC administrado por inyección intramuscular a individuos que reciben una vacuna de gripe.

Metodología

El Día = 0, se administran tanto al Grupo I como al Grupo II una única dosis de la misma vacuna de gripe. Los sujetos se supervisan durante 2 horas con respecto a efectos secundarios negativos.

Se administran a todos los individuos en el Grupo I que no muestran efectos secundarios negativos 20 µl de solución salina por inyección IM.

Se administran a todos los individuos en el Grupo II que no muestran efectos secundarios negativos 20 µl del péptido de fusión TAT-MYC por inyección IM.

Se extrae sangre de todos los individuos el Día = 1. Se determinan y registran los recuentos de linfocitos T.

El Día = 20, todos los individuos se exponen a antígenos de cepas de gripe relevantes. Se extrae sangre de todos los individuos 1 hora después de la exposición, 6 horas después de la exposición, 12 horas después de la exposición y 24 horas después de la exposición. Se determinan los niveles de linfocitos T.

Ejemplo 6 – Efectos de TAT-MYC tópico como un adyuvante de vacuna

Este será un estudio controlado por placebo, aleatorio, con doble ocultación. Se diseña para evaluar la memoria inmunológica después de la administración de una vacuna de gripe y un péptido de fusión TAT-MYC.

Los participantes se dividen en dos grupos. Al Grupo I se le administrará una vacuna de gripe y solución salina. Al Grupo II se le administrará una vacuna de gripe y el péptido de fusión TAT-MYC.

5 *Objetivo primario*

Evaluar los efectos inmunológicos de un péptido de fusión TAT-MYC administrado por vía tópica a individuos que reciben una vacuna de gripe.

10 *Objetivos secundarios*

- Evaluar la seguridad y la tolerabilidad de un péptido de fusión TAT-MYC administrado por vía tópica a individuos que reciben una vacuna de gripe.

15 *Metodología*

El Día = 0, se administra tanto al Grupo I como al Grupo II una única dosis de la misma vacuna de gripe. Los sujetos se supervisan durante 2 horas con respecto a efectos secundarios negativos.

20 Se proporciona a todos los individuos del Grupo I que no muestran efectos secundarios negativos una aplicación de la loción de placebo. Se enseña a los individuos a aplicar la loción a la piel en el sitio de la vacunación.

Se proporciona a todos los individuos del Grupo II que no muestran efectos secundarios negativos una aplicación de la loción de TAT-MYC. Se enseña a los individuos a aplicar la loción a la piel en el sitio de la vacunación.

25 Se extrae sangre de todos los individuos el Día = 1. Se determinan y registran los recuentos de linfocitos T.

El Día = 20, todos los individuos se exponen a antígenos de cepas de gripe relevantes. Se extrae sangre para todos los individuos 1 hora después de la exposición, 6 horas después de la exposición, 12 horas después de la exposición y 24 horas después de la exposición. Se determinan los niveles de linfocitos T.

30 *Ejemplo 7 – Efecto en la AR de un agente que regula negativamente la expresión de MYC*

Objetivo primario

35 Evaluar las concentraciones en suero mínimas de estado estacionario de un agente que reduce la expresión de MYC como se identifica por un método desvelado en el presente documento (en lo sucesivo en el presente documento, "Agente X") después de dosificación subcutánea semanal en sujetos con artritis reumatoide (AR) activa.

40 *Objetos secundarios*

- Evaluar la seguridad y tolerabilidad del Agente X administrado por vía subcutánea a individuos con AR; evaluar la inmunogenicidad del Agente X administrado por vía subcutánea en individuos con AR; y examinar el efecto de la administración subcutánea del Agente X en los niveles en suero del factor reumatoide (FR) en individuos con AR.

45 *Metodología*

Este será un estudio de múltiples dosis, de grupos paralelos, controlado por placebo, aleatorio, con doble ocultación. Se diseñará para evaluar las concentraciones en suero mínimas de estado estacionario del Agente X después de la administración subcutánea en sujetos con AR.

50 Los sujetos se seleccionarán aleatoriamente según un esquema de selección aleatoria generado por ordenador, en una relación 3:1, para recibir bien Agente X o bien placebo en 1 de 5 grupos paralelos basándose en el peso corporal obtenido en una visita de exploración.

55 El Día 1, los sujetos recibirán una única inyección IV (dosis de carga) de Agente X o placebo, basándose en su gama de pesos. Se administrará Agente X o placebo por vía intravenosa durante aproximadamente 30 minutos usando una bomba de infusión calibrada, de velocidad constante, antes de comenzar el tratamiento subcutáneo. Aproximadamente 1 hora después de completar la infusión IV, los sujetos recibirán su dosis subcutánea asignada de Agente X o placebo extraída de un vial o usando una jeringa pre-cargada. El Agente X o el placebo se administrarán por personal del sitio de estudio clínico semanalmente por vía subcutánea, a la misma dosis que la dosis subcutánea del Día 1 para un total de 12 inyecciones subcutáneas.

65 Los sujetos se supervisarán con respecto a acontecimientos adversos (AA) durante el transcurso del estudio. Se realizarán exámenes físicos, mediciones de signos vitales y evaluaciones de laboratorio clínico en momentos seleccionados a lo largo del estudio. Se recogerán muestras de sangre para análisis de PK el Día 1 antes de y al final de la infusión IV. Además, se recogerán muestras de sangre antes de cada dosis SC semanal de agente X los

5 días 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, y 78 para evaluación de concentraciones $C_{mín}$ de estado estacionario. También se recogerá una única muestra de sangre los Días 72, 74, 75 y 76 para evaluación de $C_{máx}$, $T_{máx}$ y AUC(TAU) de estado estacionario, donde TAU = 7 días, y al alta del estudio (Día 85). Se obtendrán muestras de sangre para la evaluación de la inmunogenicidad antes de la administración de agente X los días 1, 15, 29, 43, 57, 71 y 85. Se obtendrán muestras de sangre para la determinación de RF antes de la dosificación los Días, 1, 8, 15, 29, 57 y 85.

10 Los sujetos que completan las 12 semanas de dosificación subcutánea de Agente X o placebo son seleccionables para entrar en una extensión a largo plazo (LTE). Para sujetos que entran en la LTE, la primera dosis de Agente X se administrará el Día 85.

Número de sujetos

15 Entre 48 y 72 sujetos deben seleccionarse aleatoriamente para estudiar el tratamiento.

Diagnóstico y criterios para inclusión

20 Serán seleccionables para la participación en este estudio mujeres u hombres con AR activa de más de 18 años de edad. Los sujetos deben cumplir los criterios de clasificación del Colegio Americano de Reumatología (ACR) (anteriormente Asociación Americana de Reumatismo (ARA)), para AR y tener trastorno activo. Los sujetos deben haber tenido AR durante al menos 1 año desde el momento del diagnóstico inicial.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de vacuna, que comprende:

- 5 (a) un resto antigénico derivado de un patógeno;
- (b) un péptido de fusión que comprende:
 - (i) una secuencia peptídica transportadora que promueve la penetración de péptidos en células y tejidos; y
 - (ii) una secuencia polipeptídica de MYC; y
- 10 (c) un excipiente farmacológicamente aceptable.

2. La composición de vacuna según la reivindicación 1, en la que el péptido de fusión tiene Fórmula (I):

15 secuencia peptídica transportadora – secuencia polipeptídica MYC.

3. La composición de vacuna según la reivindicación 1, en la que el péptido de fusión comprende además una o más moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia polipeptídica MYC.

20 4. La composición de vacuna según la reivindicación 3, en la que el péptido de fusión tiene Fórmula (II):

secuencia peptídica transportadora-X-secuencia polipeptídica MYC, en la que -X- es una molécula que une la secuencia peptídica transportadora y la secuencia polipeptídica MYC, opcionalmente en la que en X hay al menos un aminoácido.

25 5. La composición de vacuna según la reivindicación 1, en la que el péptido de fusión tiene la siguiente secuencia:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED
 IWKKFELLTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFMRKKRRQRRRMDFFRVVENQPPATMPLNV
 SFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKKFELLTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLR
 GDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDETFIKNIHQDCMWSGFSAAKLVSEKLASYQAARKD
 SGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLAAASECIDPSVFPYPLNDSSSPKSCASQDSSAFSPSSDLLSSTESSPQGSPEPL
 VLHEETPPTSSDSEEEQEDEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPST

 RKDYPAAKRVKLDsvrVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPK
 VVILKKATAYILSVQAEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLEGKPIP NPLLGLDSTRTGHHHHHH.

30 6. La composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el resto antigénico es un patógeno, un toxoide, un péptido, una secuencia de ácido nucleico, un polisacárido, o una combinación de los mismos.

35 7. La composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el resto antigénico deriva de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; meningococo; neumonía; viruela; cólera; peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos.

40 8. La composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, formulada para administración tópica.

9. Un péptido de fusión para su uso en el aumento de una respuesta inmunitaria en un individuo, comprendiendo el péptido de fusión:

- 45 (a) una secuencia peptídica transportadora que promueve la penetración de péptidos en una secuencia de células y tejidos y
- (b) una secuencia polipeptídica MYC; en la que el péptido de fusión se administra antes, después o durante la administración de una vacuna, en la que la vacuna se selecciona del grupo que consiste en: vacuna de hepatitis A; vacuna de hepatitis B; vacuna de polio; vacuna de sarampión; vacuna de paperas; vacuna de rubéola; vacuna de difteria, vacuna de tos ferina; vacuna de tétanos; vacuna de gripe, vacuna de virus de varicela zóster; vacuna de rotavirus; vacuna meningocócica; vacuna de neumonía; vacuna de viruela; vacuna de cólera; vacuna de peste
- 50

bubónica; vacuna de fiebre amarilla; vacuna de tuberculosis; vacuna de papilomavirus humano; una vacuna de cáncer; o combinaciones de las mismas.

5 10. El péptido de fusión de la reivindicación 9, en el que el péptido de fusión tiene la Fórmula (I):
secuencia peptídica transportadora – secuencia polipeptídica MYC.

10 11. El péptido de fusión de la reivindicación 9, en el que el péptido de fusión comprende además una o más moléculas que unen la secuencia peptídica transportadora y la secuencia polipeptídica MYC.

15 12. El péptido de fusión de la reivindicación 11, en el que el péptido de fusión tiene la Fórmula (II):
secuencia peptídica transportadora-X-secuencia polipeptídica MYC,
en la que -X- es una molécula que une la secuencia peptídica transportadora y la secuencia de MYC, opcionalmente
en la que en X hay al menos un aminoácido.

13. El péptido de fusión de la reivindicación 9, en el que el péptido de fusión tiene la siguiente secuencia:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQSELQPPAPSED
IWKKFELLPTPLSPRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNIIIQDCMWSGFSAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVPYPLNDSS
SPKSCASQDSSAFSPSSDSLLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDVSRVLRQISNNRCKTSPRSSDTEENVKRRTH
NVLERQRRNELKRSSFALRDQIPELENNEKAPKVILKATAYILSVQAEEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGEL
NSKLEGKPIPPLLGLDSTRTGHHHHH.

20 14. El péptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en el que la vacuna comprende un resto antigénico derivado de una célula neoplásica.

25 15. El péptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en el que la vacuna comprende un toxoide como un resto antigénico, o en el que la vacuna comprende un resto antigénico derivado de un patógeno seleccionado de: hepatitis A; hepatitis B; polio; sarampión; paperas; rubéola; difteria; tos ferina; tétanos; gripe; virus de varicela zóster; rotavirus; meningococo; neumonía, viruela, cólera, peste bubónica; fiebre amarilla; tuberculosis; papilomavirus humano; o combinaciones de los mismos.