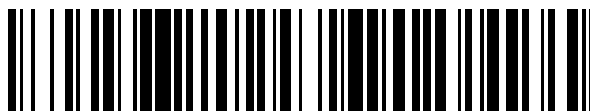


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 681**

51 Int. Cl.:

C07K 7/08	(2006.01) G01N 33/53	(2006.01)
C07K 14/435	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
G01N 33/563	(2006.01) G01N 33/536	(2006.01)
A61K 38/10	(2006.01) C07K 14/705	(2006.01)
C07K 16/28	(2006.01)	
G01N 33/574	(2006.01)	
A61K 38/17	(2006.01)	
C07K 16/30	(2006.01)	
G01N 33/577	(2006.01)	
A61K 39/395	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2008** **PCT/AU2008/001364**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2009** **WO09033233**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2008** **E 08800000 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017** **EP 2201026**

54 Título: **Novedosos epítomos P2X7**

30 Prioridad:

14.09.2007 AU 2007905018

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

26.06.2017

73 Titular/es:

BIOSCEPTRE (AUST) PTY LTD (100.0%)
11 Julius Avenue
North Ryde NSW 2113, AU

72 Inventor/es:

GIDLEY-BAIRD, ANGUS y
BARDEN, JULIAN, ALEXANDER

74 Agente/Representante:

ZEA CHECA, Bernabé

ES 2 619 681 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

Novedosos epítomos P2X7

5 Campo de la divulgación

La divulgación se refiere a receptores purinérgicos (P2X), a la generación de anticuerpos y al uso de anticuerpos e inmunógenos para la detección y el tratamiento de una enfermedad o afección, especialmente cáncer.

10 Antecedentes de la divulgación

Los receptores purinérgicos (P2X) son canales selectivos de cationes abiertos por ATP. Cada receptor está compuesto de tres subunidades proteicas o monómeros. Hasta la fecha, se han identificado siete genes diferentes que codifican monómeros P2X: P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6, P2X7.

Los receptores P2X7 son de particular interés ya que la expresión de estos receptores se entiende que está limitada a células que tienen potencial de experimentar muerte celular programada, tales como timocitos, células dendríticas, linfocitos, macrófagos y monocitos. Hay cierta expresión de receptores P2X7 en homeostasis normal, tal como en eritrocitos.

De forma interesante, un receptor P2X7 que contiene uno o más monómeros que tienen una isomerización cis en Pro210 (según la SEQ ID NO: 1 en la Figura 1) y que está desprovisto de la función de unión a ATP se ha descubierto en células que se entiende que son incapaces de experimentar muerte celular programada, tales como células pre-neoplásicas y células neoplásicas.

Anticuerpos generados por inmunización con un péptido que incluye Pro210 en cis se une a receptores P2X7 que están desprovistos de una función de unión a ATP. Sin embargo, no se unen a receptores P2X7 capaces de unirse a ATP. Por consiguiente, estos anticuerpos son útiles para detectar de forma selectiva muchas formas de carcinoma y cánceres hemopoyéticos y para el tratamiento de algunas de estas afecciones.

La región del receptor P2X7 que contiene Pro210 forma parte del dominio extracelular del receptor. Los anticuerpos creados contra otros epítomos en este dominio, incluyendo los que se unen a regiones que incluyen de Val71 a Val87 (según la SEQ ID NO: 1 en la Figura 1) y de Lys 137 a Cys152 (según la SEQ ID NO: 1 en la Figura 1) se ha descubierto que no son capaces de unirse selectivamente al receptor que está desprovisto de la función de unión a ATP. Por tanto, a diferencia de los anticuerpos dirigidos a la región que incluye Pro210, no se ha descubierto ningún otro anticuerpo hasta la fecha que sea capaz de discriminar entre receptores que se unen a ATP y que no se unen a ATP.

Existe la necesidad de reactivos para la detección de cáncer y, en este contexto, de nuevos anticuerpos capaces de discriminar entre receptores P2X7 que se unen a ATP y que no se unen a ATP. También existe la necesidad de nuevos agentes terapéuticos contra el cáncer, incluyendo anticuerpos e inmunógenos para proporcionar una respuesta antitumoral.

Cheewatrakoolpong et al., (Biochem. & Biophys. Res. Comm. (2005) 332(1): 17-27) describen la identificación y la caracterización de variantes de corte y empalme del canal de ATP P2X7 humano. Los números de acceso a UniProt Q4VKI1_Human y Q4VKI0_Human son secuencias del receptor P2X7 humano. Barden et al., (FEBS Letters (2003) 538: 159-162) describen la detección específica de receptores P2X7 humanos no funcionales en células HEK293 y en linfocitos-B. Worthington et al., (FEBS Letters (2002) 512: 43-46) describen mutaciones puntuales que confieren la pérdida función del receptor P2X7 humano inducida por ATP. El documento WO 02/057306 describe anticuerpos contra receptores P2X7 no funcionales y el diagnóstico y el tratamiento de cánceres y otras afecciones. El documento WO 2007/027957 describe reactivos para la detección de la fosforilación de proteínas en rutas de señalización de leucemia.

Descripción resumida de la divulgación

La invención se define por las reivindicaciones. Aquellos aspectos/casos de la presente divulgación que constituyen la presente invención se definen por las reivindicaciones.

En ciertos casos, se proporciona un péptido:

- que consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 2;
- que consiste en una secuencia dentro de la secuencia de la SEQ ID NO: 2, siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP;

- que consiste en una secuencia de la SEQ ID NO: 3, siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP; o

- 5 - que consiste en una secuencia dentro de la secuencia de la SEQ ID NO: 3, siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP.

En otros casos, se proporciona un anticuerpo o un fragmento del mismo:

10

- capaz de unirse a un péptido descrito anteriormente; o
- capaz de unirse a un epítipo que incluye uno o más restos de un péptido que tiene una secuencia de la SEQ ID NO: 2.

15

En otros casos, se proporciona un complejo inmunitario formado a partir de la unión de un anticuerpo o de un fragmento del mismo descrito anteriormente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, o a un péptido como se describe anteriormente.

- 20 En ciertos casos, se proporciona un método para determinar si una célula, tejido o fluido corporal extracelular incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, que incluye:

- poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un anticuerpo o con un fragmento del mismo en condiciones para formar un complejo inmunitario como se describe anteriormente, y

25

- detectar si se ha formado un complejo inmunitario,

en el cual la detección de un complejo inmunitario determina que una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo.

30

En otros casos, se proporciona un método para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, que incluye:

- 35 - poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un péptido como se describe anteriormente en condiciones para formar un complejo inmunitario entre el péptido y un anticuerpo en la célula, el tejido o el fluido corporal extracelular, y

- detectar si se ha formado un complejo inmunitario,

40

en el cual la detección de un complejo inmunitario determina que una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo.

- 45 En otros casos adicionales, se proporciona un kit o una composición para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, o un anticuerpo contra el mismo, que incluye:

- un péptido como se describe anteriormente; y/o

50

- un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente; y/o

- receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo; y opcionalmente

- 55 - un anticuerpo adicional para la unión al epítipo, al anticuerpo o al fragmento del mismo o el receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo;

- instrucciones por escrito para el uso del kit en un método descrito anteriormente.

- 60 En otros casos, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente, o un péptido como se describe anteriormente junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 65 En casos relacionados, se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad caracterizada por la expresión de un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, que incluye la etapa de

proporcionar un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente, o un péptido como se describe anteriormente a un individuo que requiere dicho tratamiento.

Descripción detallada de los casos

5

Para las siguientes descripciones, los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tendrán los significados habituales comprendidos por un experto en la materia, salvo que se defina específicamente de otro modo.

10 Los inventores han identificado un epítipo que se expresa exclusivamente en receptores P2X7 que no se unen a ATP (conocidos de otro modo como "receptores no funcionales"). El epítipo y los péptidos que incluyen el epítipo se ha descubierto que son útiles para generar anticuerpos y complejos inmunitarios que indican la presencia o la ausencia o la predisposición a una diversidad de enfermedades o afecciones incluyendo carcinoma.

15 Por tanto, en ciertos casos, se proporciona un péptido que consiste en la secuencia:

SEQ ID NO: 2: KYKKNVVEKRTLKVF

20 El péptido puede consistir en una secuencia dentro de la secuencia de la SEQ ID NO: 2 (Figura 2), en cuyo caso el péptido puede usarse como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP ("no funcional"), pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP ("funcional"). La expresión "que no se une a ATP" y "no funcional" en relación a P2X7 puede usarse de manera intercambiable en la memoria y en las reivindicaciones. Asimismo, la expresión "que se une a ATP" y "funcional" puede usarse de forma intercambiable en la memoria y en las reivindicaciones.

25

En general, un receptor que no se une a ATP significa un trímero o un multímero superior formado de al menos un monómero P2X7, estando el trímero o el multímero superior al menos sustancialmente desprovisto de actividad de unión a ATP. En ciertos casos, estos trímeros o multímeros superiores son sustancialmente incapaces de formar un poro en una membrana celular para la entrada de cationes calcio en el citoplasma celular.

30

Los métodos para cribar péptidos que pueden usarse como inmunógeno para generar un anticuerpo que sea capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP se describen en la presente memoria. Un ejemplo incluye el uso de eritrocitos en un ensayo de formación de rosetas. En este ensayo, se usa un anticuerpo que se une a receptores funcionales como control positivo en que se observan rosetas. Se determina un anticuerpo de ensayo que no se une a receptores funcionales sino logra formar rosetas. Se determina que se une a receptores no funcionales si se observa que se une a una línea celular que no expresa receptor funcional, incluyendo las analizadas en la presente memoria.

35

En estos casos, el péptido puede tener una longitud de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 restos.

40

En otros casos, el péptido consiste en una secuencia de la SEQ ID NO: 3 (Figura 3), siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP.

45 El péptido pueden consistir en una secuencia dentro de la secuencia de la SEQ ID NO: 3, siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP. Ejemplos de estos péptidos incluyen los que tienen una secuencia descrita en la Tabla 1 (numeración según la SEQ ID NO: 1):

50

Tabla 1

K281 a K297	Y298 a G314
T282 a Y298	Y299 a I315
T283 a Y299	K300 a R316
N284 a K300	E301 a F317
V285a E301	N302 a D318
S286 a N302	N303 a I319
L287 a N303	V304 a L320
Y288 a V304	E305 a V321
P289 a E305	K306 a F322
G290 a K306	R307 a G323
Y291 a R307	T308 a T324
N292 a T308	L309 a G325
F293 a L309	I310 a G326
R294 a I310	K311 a K327

Y295a K311	V312 a F328
A296a V312	F313 a D329
K297 a F313 (SEQ ID NO: 2)	

El péptido mostrado en la Tabla 1 puede tener una longitud de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 restos.

En otros casos, se proporciona un anticuerpo o un fragmento del mismo capaz de unirse a un péptido descrito anteriormente.

El anticuerpo puede producirse por inmunización con un péptido como se describe anteriormente. Un ejemplo de una inmunización adecuada se describe en el Ejemplo 1 a continuación.

- 10 El anticuerpo también puede producirse por inmunización con un receptor P2X7 que no se une a ATP, tal como un receptor que tiene una secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 1, o un fragmento del mismo que incluye las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 3 a 9 (mostradas en las Figuras 3 a 9).

En un caso, el receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo usado para la inmunización tiene Pro210 en isomerización *cis*.

El anticuerpo puede unirse a un epítipo que incluye uno o más restos de un péptido que tiene una secuencia de la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el anticuerpo se une a K297 o Y298 o Y299 o K300 o E301 o N302 o N303 o V304 o E305 o K306 o R307 o T308 o L309 o I310 o K311 o V312 o F313.

20 El epítipo puede incluir una secuencia de restos de un péptido que tiene una secuencia de la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el anticuerpo se une a una secuencia que incluye K297 y Y298, o Y298 y Y299, o Y299 y K300, o K300 y E301, o E301 y N302, o N302 y N303, o N303 y V304, o V304 y E305, o E305 y K306, o K306 y R307, o R307 y T308, o T308 y L309, o L309 y I310, o I310 y K311, o K311 y V312 o V312 y F313.

25 El anticuerpo que se une a uno o más de los restos anteriores también puede unirse a uno o más restos del dominio extracelular del receptor P2X7 que están localizados fuera de la región definida por la SEQ ID NO: 3. Por ejemplo, el uno o más restos localizados fuera de la región definida por la SEQ ID NO: 3 pueden estar localizados en una secuencia de restos de aminoácido de un receptor P2X7 que se une a ATP que define el sitio de unión a ATP del receptor P2X7 que se une a ATP.

En un caso, el uno o más restos localizados fuera de la secuencia de la SEQ ID NO: 3 pueden estar localizados en la secuencia de las SEQ ID NO: 10 a 12 (Figuras 10 a 12, respectivamente).

- 35 El anticuerpo puede ser un anticuerpo completo de cualquier isotipo. El anticuerpo puede ser uno obtenido de antisueros monoclonales o policlonales. El anticuerpo puede producirse por hibridoma o por expresión recombinante.

El anticuerpo puede ser quimérico, es decir, uno que contiene dominios variables humanos y dominios constantes no humanos. Alternativamente, puede estar humanizado, es decir, uno formado por injerto de CDR no humanas en una región flanqueante de anticuerpo humano. Adicionalmente, el anticuerpo puede ser completamente humano.

Los anticuerpos de la divulgación pueden modificarse con respecto a la función efectora, para potenciar, por ejemplo, la eficacia del anticuerpo en el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, puede introducirse uno o más restos de 45 cisteína en la región Fc, permitiendo de ese modo la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado puede tener capacidad mejorada de internalización y/o eliminación celular mediada por el complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) aumentadas. Los anticuerpos homodiméricos con actividad antitumoral potenciada también pueden prepararse usando reticulantes heterobifuncionales. Alternativamente, un anticuerpo puede modificarse por ingeniería para que tenga regiones Fc 50 dobles y pueda tener de ese modo capacidades potenciadas de lisis del complemento y ADCC.

Cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, el fragmento de anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un dAb, Fab, Fd, Fv, F(ab')₂, scFv y CDR.

- 55 El anticuerpo o el fragmento pueden proporcionarse en una fase sólida tal como una perla, superficie o recipiente de cultivo tisular.

El anticuerpo o el fragmento del mismo pueden proporcionarse con un marcador para la detección de la unión del anticuerpo o del fragmento del mismo al antígeno.

60 Los anticuerpos y fragmentos pueden marcarse para su uso en imágenes médicas. Dichos métodos implican unión química de un agente marcador o de imágenes, tal como un radioisótopo, que incluye ⁶⁷Cu, ⁹⁰Y, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I

I, 186 Re, 188Re, 211 At, 212 Bi, la administración del anticuerpo o del fragmento marcado a un sujeto en un vehículo aceptable, y la formación de imágenes del anticuerpo o del fragmento marcado *in vivo* en el sitio diana. Los anticuerpos o los fragmentos de los mismos radiomarcados pueden ser particularmente útiles en imágenes *in vivo* de cánceres descritos en la presente memoria.

5

Los anticuerpos pueden purificarse por métodos conocidos para los expertos en la materia. Los métodos de purificación incluyen, en otros, precipitación selectiva, cromatografía líquida, HPLC, electroforesis, cromatofluoreo y diversas técnicas de afinidad.

- 10 En algunos casos, los anticuerpos descritos en la presente memoria también pueden incluir formas multiméricas de anticuerpos. Por ejemplo, los anticuerpos de la descripción pueden adoptar la forma de dímeros, trímeros o multímeros de orden superior de anticuerpos de moléculas monoméricas de inmunoglobulina.

- La reticulación de anticuerpos puede hacerse a través de diversos métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la reticulación de anticuerpos puede conseguirse a través de agregación natural de anticuerpos, a través de técnicas de enlace químico o recombinante u otros métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las preparaciones purificadas de anticuerpo pueden formar espontáneamente agregados de proteínas que contienen homodímeros de anticuerpo, y otros multímeros de anticuerpo de orden superior. En un caso específico, la reticulación de anticuerpos usando un segundo anticuerpo para unirse a los anticuerpos de interés puede usarse para formar un homodímero.

- 20 El anticuerpo reticulante puede obtenerse de un animal diferente en comparación con el anticuerpo de interés. Por ejemplo, puede añadirse un anticuerpo de cabra anti-ratón (específico de Fab) a un anticuerpo monoclonal de ratón para formar un homodímero. Este anticuerpo reticulante bivalente reconoce la región Fab o Fc de los dos anticuerpos de interés que forman un homodímero.

- 25 Alternativamente, pueden formarse homodímeros de anticuerpo a través de técnicas de enlace químico conocidas en la técnica. Los reticulantes químicos pueden ser homo o heterobifuncionales y se unirán covalentemente con dos anticuerpos que forman un homodímero. En algunos casos, es deseable que el reticulante químico no interactúe con la región de unión a antígeno del anticuerpo ya que esto puede afectar a la función del anticuerpo. Como apreciarán los expertos en la materia, los anticuerpos pueden reticularse en la región Fab.

30

En un caso, se proporciona un complejo inmunitario formado por la unión de un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente a un receptor P2X7 que no se une a ATP (es decir, no funcional), un monómero o un fragmento del mismo. En un caso, se proporciona un complejo inmunitario formado por la unión de un anticuerpo o de un fragmento del mismo a un péptido descrito anteriormente.

35

En general, un complejo inmunitario conocido de otro modo como complejo de antígeno-anticuerpo es un producto que se forma por la unión de un anticuerpo a través de un sitio de unión de anticuerpo a un epítipo en un antígeno contra el que se ha creado el anticuerpo. El complejo puede consistir o no en más de un anticuerpo.

- 40 El complejo inmunitario es particularmente importante ya que la detección de este *in vitro* o *in vivo* es indicativa de la presencia de, o la predisposición a, una enfermedad o afección incluyendo pre-neoplasia y neoplasia. Estos métodos de detección se describen en más detalle a continuación.

- El receptor P2X7 que no se une a ATP, el monómero o el fragmento del mismo incluido en el complejo inmunitario puede tener Pro210 en isomerización *cis*.

45

El receptor P2X7 que no se une a ATP, el monómero o el fragmento del mismo incluido en el complejo inmunitario puede tener una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 4 a 9 o fragmentos de las mismas.

- 50 El receptor P2X7 que no se une a ATP, el monómero o el fragmento del mismo incluido en el complejo inmunitario puede tener un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 15 a 80 kDa.

El receptor P2X7 que no se une a ATP, el monómero o el fragmento del mismo incluido en el complejo inmunitario puede carecer de un dominio transmembrana.

55

El complejo inmunitario puede formarse por unión a un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo localizado sobre una membrana de superficie celular, en un citoplasma, en un núcleo o en fluido extracelular. El fluido extracelular puede ser sangre, plasma, suero, linfa, orina, semen, saliva, esputo, fluido ascítico, heces, secreciones uterinas y vaginales, bilis, fluido amniótico, fluido cefalorraquídeo y lavados orgánicos y tisulares.

60

El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo incluido en el complejo inmunitario puede unirse a una fase sólida, tal como una perla o una placa, de modo que el complejo inmunitario se una a una fase sólida cuando se forma. Alternativamente, el receptor P2X7 que no se une a ATP, el monómero o el fragmento del mismo incluido en el complejo inmunitario puede unirse a una fase sólida.

65

El anticuerpo puede marcarse para la detección de la formación del complejo inmunitario.

El complejo inmunitario puede incluir adicionalmente un anticuerpo o un fragmento del mismo, tal como un anticuerpo de captura para la captura del complejo inmunitario. El anticuerpo o el fragmento del mismo
5 adicionalmente pueden unirse al anticuerpo anti-receptor P2X7. Además, el anticuerpo o el fragmento del mismo adicionalmente puede unirse al receptor o al fragmento del mismo.

El anticuerpo o el fragmento del mismo adicionalmente puede unirse a una fase sólida tal como a una fase descrita anteriormente.

10 El anticuerpo adicionalmente puede marcarse para la detección de la formación del complejo inmunitario. Ejemplos de marcadores incluyen fluoróforos, colorantes, isótopos, etc.

En ciertos casos, se proporciona un método para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular
15 incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, que incluye:

- poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un anticuerpo o con un fragmento del mismo en condiciones para formar un complejo inmunitario como se describe anteriormente, y

20 - detectar si un complejo inmunitario se ha formado,

en el cual la detección de un complejo inmunitario determina que una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo.

25 En otros casos, se proporciona un uso de un anticuerpo o de un fragmento del mismo descrito anteriormente en la fabricación de un medio para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un receptor P2X7, un monómero o un fragmento del mismo.

En otros casos, se proporciona un método para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular
30 contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo, que incluye:

- poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un péptido como se describe anteriormente, en condiciones para formar un complejo inmunitario entre el péptido y un anticuerpo en la célula,
35 en el tejido o en el fluido corporal extracelular, y

- detectar si se ha formado un complejo inmunitario,

40 en el cual la detección de un complejo inmunitario determina que una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo.

En otros casos, se proporciona un uso de un péptido descrito anteriormente en la fabricación de un medio para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7
45 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo.

La presencia de una proteína dada, o el nivel de expresión de una proteína dada en una célula hospedadora, en un tejido o en un fluido corporal extracelular, puede detectarse por cualquiera de varios ensayos. Los ejemplos incluyen inmunoensayos, cromatografía y espectrometría de masas.

50 Los inmunoensayos, es decir, los ensayos que implican un elemento del sistema inmunitario, son particularmente preferidos. Estos ensayos pueden clasificarse, en general, en uno de:

(i) ensayos en que se usa antígeno purificado para detectar un anticuerpo en suero del hospedador. Por ejemplo,
55 el antígeno purificado se une a una fase sólida por adsorción o indirectamente a través de otra molécula y se aplica suero del hospedador seguido por otro anticuerpo para detectar la presencia o la ausencia del anticuerpo del hospedador;

(ii) ensayos en que se usa antígeno purificado para detectar células inmunitarias, tales como linfocitos T y B. Por ejemplo, se purifican glóbulos blancos periféricos de un hospedador y se cultivan con antígeno purificado. Después se detecta la presencia o la ausencia de uno o más factores que indican inmunidad. Otros ejemplos incluyen ensayos que miden la proliferación celular (ensayos de proliferación o de transformación de linfocitos) después de exposición a antígeno purificado, y ensayos que miden la muerte celular (incluyendo apoptosis) después de exposición a antígeno purificado;

65

(iii) ensayos en que se usa anticuerpo purificado específico para el antígeno para detectar el antígeno en el hospedador. Por ejemplo, el anticuerpo purificado se une a una fase sólida, después se aplica al tejido del hospedador seguido por otro anticuerpo específico para el antígeno a detectar. Hay muchos ejemplos de este enfoque incluyendo ELISA, RIA;

(iv) ensayos en que se usa un anticuerpo anti-idiotípico purificado para detectar el anticuerpo del hospedador. Por ejemplo, se adsorbe anticuerpo anti-idiotípico a la fase sólida, se añade suero del hospedador y se añade anticuerpo anti-Fc para que se una a cualquier anticuerpo del hospedador que se haya unido por el anticuerpo anti-idiotípico.

Los inmunoensayos pueden aplicarse *in vitro* o *in vivo*.

En un caso, la enfermedad es típicamente un cáncer tal como carcinoma, sarcoma, linfoma o leucemia. Los carcinomas que pueden detectarse incluyen, aunque sin limitación, cánceres de próstata, de mama, de piel, de pulmón, del cuello del útero, de útero, de estómago, de esófago, de vejiga y de colon.

Aunque puede usarse cualquier fluido corporal para detectar cualquiera de estas enfermedades, algunos fluidos corporales pueden ser más apropiados que otros para detectar ciertas enfermedades, por ejemplo, la orina puede ser más apropiada para detectar cáncer de próstata, y la sangre para detectar cánceres hemáticos tales como linfoma.

En otro caso, se proporciona un método para determinar si un individuo tiene un cáncer, que incluye las etapas de:

- poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un péptido como se describe anteriormente en condiciones para formar un complejo inmunitario entre el péptido y un anticuerpo en la célula, el tejido o el fluido corporal extracelular; o
- poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular con un anticuerpo o con un fragmento del mismo en condiciones para formar un complejo inmunitario como se describe anteriormente, y
- detectar si se ha formado un complejo inmunitario,

en el cual la detección de un complejo inmunitario determina que un individuo tiene un cáncer.

En un caso adicional, se proporciona el uso de un anticuerpo anti-receptor purinérgico (P2X) o un fragmento del mismo como se describe anteriormente, o un péptido como se describe anteriormente para determinar si un individuo tiene un cáncer.

En ciertos casos, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de mama invasivo, melanoma, adenocarcinoma del intestino, cáncer seroso de ovario, cáncer escamoso celular del cuello del útero, cáncer de endometrio, cáncer pulmonar microcítico, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células transicionales de la vejiga, tumor del estroma gastrointestinal, tumor del estroma del endometrio, cáncer de la pituitaria, mesotelioma, linfoma de Hodgkin y tiroides papilar.

En más casos adicionales, se proporciona un kit o composición para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular contiene un receptor P2X7 que no se une a ATP, a un monómero o a un fragmento del mismo, o un fragmento contra el mismo, que incluye:

- un péptido como se describe anteriormente; y/o
- un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente; y/o
- receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo; y opcionalmente
- un anticuerpo adicional para unirse al péptido, al anticuerpo o al fragmento del mismo o el receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo;
- instrucciones por escrito para el uso del kit en un método descrito anteriormente.

Se proporcionan kits que contienen los reactivos necesarios para realizar los ensayos de la presente divulgación. El kit puede incluir uno o más compartimentos, cada uno para recibir uno o más recipientes tales como: (a) un primer recipiente que comprende uno de los componentes de la presente divulgación descrita anteriormente; y (b) uno o más recipientes diferentes que comprenden uno o más de los siguientes: reactivos de lavado, reactivos capaces de detectar la presencia del anticuerpo o del péptido.

Los recipientes permiten transferir de forma eficaz reactivos de un compartimento a otro compartimento de modo que las muestras y los reactivos no se contaminen de forma cruzada, y los agentes o las soluciones de cada recipiente pueden añadirse de un modo cuantitativo de un compartimento a otro.

- 5 El kit típicamente contiene recipientes que pueden formarse a partir de una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico, y pueden incluir, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y tubos de ensayo. Una etiqueta típicamente acompaña al kit, e incluye cualquier material escrito o grabado, que puede ser una forma legible electrónica o por ordenador (por ejemplo, disco, disco óptico o casete) que proporciona instrucciones u otra información para el uso de los contenidos del kit. La etiqueta indica que la formulación se usa para diagnosticar o tratar el trastorno de

10 elección.

Un experto en la materia reconocerá fácilmente que los anticuerpos y los péptidos descritos de la presente divulgación pueden incorporarse fácilmente en uno de los formatos de kit establecidos que son bien conocidos en la técnica.

15

En otros casos, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente, o un péptido como se describe anteriormente, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 20 En la preparación de las composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos o los péptidos descritos en los contenidos de la presente memoria, puede usarse una diversidad de vehículos y excipientes y vías de administración, que serán evidentes para los expertos en la materia. La tecnología representativa de formulación se muestra en, inter alia, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1995) y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Ed, Kibbe, A.H. ed., Washington DC, American Pharmaceutical

25 Association (2000).

Las composiciones farmacéuticas, en general, comprenderán un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacológicamente eficaz de los anticuerpos o de los péptidos, o mezcla de anticuerpos o mezcla de péptidos, o sales adecuadas de los mismos.

30

La composición farmacéutica puede formularse como polvos, gránulos, soluciones, suspensiones, aerosoles, sólidos, píldoras, comprimidos, cápsulas, geles, cremas tópicas, supositorios, parches transdérmicos y otras formulaciones conocidas en la técnica.

- 35 Para los propósitos descritos en la presente memoria, las sales farmacéuticamente aceptables de los anticuerpos y de los péptidos pretenden incluir cualquier sal farmacéuticamente aceptable reconocida en la técnica que incluyen ácidos y/o bases orgánicas e inorgánicas. Los ejemplos de sales incluyen sodio, potasio, litio, amonio, calcio, así como aminas primarias, secundarias y terciarias, ésteres de hidrocarburos inferiores, tales como metilo, etilo y propilo. Otras sales incluyen ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido pirúvico, ácido

40 maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido salicílico, etc.

Como se usa en la presente memoria, "vehículo farmacéuticamente aceptable" comprende cualquier vehículo convencional farmacéuticamente aceptado conocido para los expertos en la materia en la formulación de composiciones farmacéuticas. Por tanto, los anticuerpos o los péptidos, por si mismos, tales como presentes como

- 45 sales farmacéuticamente aceptables, o como conjugados, pueden prepararse como formulaciones en diluyentes farmacéuticamente aceptables; por ejemplo, solución salina, solución salina tamponada con fosfato (PBS), etanol acuoso o soluciones de glucosa, manitol, dextrano, propilenglicol, aceites (por ejemplo, aceites vegetales, aceites animales, aceites sintéticos, etc.), celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato cálcico, gelatina, polisorbato 80 o como formulaciones sólidas en excipientes apropiados.

50

Las composiciones farmacéuticas a menudo comprenderán adicionalmente uno o más tampones (por ejemplo, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), carbohidratos (por ejemplo, glucosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito sódico, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, etc.), bacteriostáticos, agentes

- 55 quelantes tales como EDTA o glutatión, adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio), solutos que vuelven a la formulación isotónica, hipotónica o débilmente hipertónica con la sangre de un destinatario, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o conservantes. Alternativamente, las composiciones de la presente divulgación pueden formularse como un liofilizado.

- 60 Aunque puede emplearse cualquier vehículo adecuado conocido para los expertos en la materia en las composiciones de esta divulgación, el tipo de vehículo típicamente variará dependiendo del modo de administración. Las composiciones de anticuerpos y de péptidos pueden formularse para cualquier modo apropiado de administración, incluyendo, por ejemplo, oral, nasal, a la mucosa, intravenosa, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea e intramuscular.

65

Para administración parenteral, las composiciones pueden administrarse como dosificaciones inyectables de una solución o suspensión de la sustancia en un diluyente fisiológicamente aceptable con un vehículo farmacéutico que puede ser un líquido estéril tal como agua estéril libre de pirógenos, aceites, solución salina, glicerol, polietilenglicol o etanol. Adicionalmente, pueden estar presentes en las composiciones sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, tensioactivos, sustancias tamponantes del pH y similares.

Otros componentes de composiciones farmacéuticas son aquellos con origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, por ejemplo, soluciones no acuosas de aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de algodón, oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los anticuerpos y los péptidos pueden administrarse en forma de una inyección con depósito o preparación de implante que puede formularse de tal manera que permita una liberación sostenida del ingrediente activo. Una composición ejemplar comprende anticuerpo a 5 mg/ml, formulado en tampón acuoso que consiste en L-histidina 50 mM, NaCl 150 mM, ajustado a pH 6,0 con HCl.

Típicamente, las composiciones se preparan como inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas; formas sólidas o en polvo adecuadas para su reconstitución con vehículos adecuados, incluyendo, a modo de ejemplo y no de limitación, agua estéril libre de pirógenos, solución salina, soluciones tamponadas, solución de dextrosa, etc., antes de la inyección. La preparación también puede estar emulsionada o encapsulada en liposomas o micropartículas tales como polilactida, poliglicolida o copolímeros.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden presentarse en recipientes monodosis o multidosis, tales como ampollas o viales sellados. Dichos recipientes se sellan típicamente de tal manera que conserven la esterilidad y la estabilidad de la formulación hasta su uso. En general, las formulaciones pueden almacenarse como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, como se indica anteriormente.

Alternativamente, puede almacenarse una composición farmacéutica en un estado secado por congelación que requiere solamente la adición de un vehículo líquido estéril inmediatamente antes de su uso.

En casos relacionados, se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad caracterizada por la expresión de un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo, que incluye la etapa de proporcionar un anticuerpo o un fragmento del mismo como se describe anteriormente, o un péptido como se describe anteriormente a un individuo que requiere dicho tratamiento.

Los métodos para inmunomarcas células cancerosas usando anticuerpos o fragmentos de anticuerpos son bien conocidos en la técnica. La patente US n.º 6.306.393 describe el uso de anticuerpos anti-CD22 en inmunoterapia de neoplasias de células B, y la patente US n.º 6.329.503 describe inmunomarcas de células que expresan antígenos transmembrana en serpiente. Los anticuerpos descritos en la presente memoria (incluyendo anticuerpos monoclonales humanizados o humanos o fragmentos u otras modificaciones de los mismos, opcionalmente conjugados con agentes citotóxicos) pueden introducirse en un paciente de modo que el anticuerpo se una a las células cancerosas y medie la destrucción de las células y del tumor y/o inhiba el crecimiento de las células o del tumor.

Sin la intención de limitar la divulgación, los mecanismos por los cuales dichos anticuerpos pueden ejercer un efecto terapéutico pueden incluir citólisis mediada por el complemento, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) 1 que modula la función fisiológica del antígeno tumoral, inhibir la unión o las rutas de transducción de señales, modular la diferenciación de células tumorales, alterar los perfiles de factores de angiogénesis tumoral, modular la secreción de citoquinas inmunoestimuladoras o supresoras de tumores y factores de crecimiento, modular la adhesión celular y/o inducir la apoptosis.

Los anticuerpos también pueden conjugarse con agentes tóxicos o terapéuticos, tales como radioligandos o toxinas citosólicas, y también pueden usarse terapéuticamente para suministrar el agente tóxico o terapéutico directamente a las células tumorales.

Por "tratamiento" en la presente memoria se entiende tratamiento terapéutico o profiláctico, o una medida supresora para la enfermedad, trastorno o afección indeseable. El tratamiento abarca la administración de los presentes anticuerpos en una forma apropiada antes de la aparición de los síntomas de la enfermedad y/o después de las manifestaciones clínicas, u otras manifestaciones, de la enfermedad para reducir la gravedad de la enfermedad, detener la progresión de la enfermedad o eliminar la enfermedad. La prevención de la enfermedad incluye prolongar o retardar la aparición de los síntomas del trastorno o enfermedad, preferentemente en un sujeto con susceptibilidad aumentada a la enfermedad.

Las preparaciones terapéuticas pueden usar anticuerpos no modificados o anticuerpos conjugados con un compuesto terapéutico, tal como una toxina o una molécula citotóxica, dependiendo de la funcionalidad del anticuerpo. En general, cuando se usan anticuerpos no modificados, típicamente tendrán una región Fc funcional. Por "región Fc funcional" en la presente memoria se entiende una secuencia mínima para lograr la función biológica

de Fc, tal como unión a receptores de Fc, particularmente FcγR (por ejemplo, FcγR1, RIIA, RIIb, RIIIA, RIIIB).

Sin limitarse a teoría alguna, se cree que la región Fc puede afectar a la eficacia de anticuerpos monoclonales antitumorales por unión a células efectoras inmunitarias con receptores de Fc y modulando la citotoxicidad mediada por células, la endocitosis, la fagocitosis, la liberación de citoquinas inflamatorias, la citotoxicidad mediada por el complemento y la presentación de antígeno. A este respecto, los anticuerpos policlonales o mezclas de anticuerpos monoclonales serán ventajosos porque se unirán a diferentes epítopos y, por tanto, tendrán una densidad mayor de Fc sobre la superficie celular en comparación con el uso de un anticuerpo monoclonal individual. Por supuesto, para potenciar su eficacia en la reducción de las células diana, o cuando los anticuerpos no modificados no son terapéuticamente eficaces, pueden usarse anticuerpos conjugados con toxinas o con agentes citotóxicos.

Las composiciones de anticuerpo pueden usarse en solitario o en combinación con otros agentes terapéuticos para aumentar la eficacia de los tratamientos tradicionales o para abordar células anormales no abordadas por los anticuerpos. La combinación del método de terapia con anticuerpos con un régimen quimioterapéutico, de radiación o quirúrgico puede ser preferido en pacientes que no han recibido tratamiento quimioterapéutico, mientras que el tratamiento con la terapia de anticuerpos puede estar indicada para pacientes que han recibido una o más quimioterapias. Adicionalmente, la terapia con anticuerpos también puede posibilitar el uso de dosificaciones reducidas de quimioterapia concomitante, particularmente en pacientes que no toleran muy bien la toxicidad del agente quimioterapéutico. Además, el tratamiento de pacientes con cáncer con el anticuerpo con tumores resistentes a agentes quimioterapéuticos podría inducir la sensibilidad y receptividad a estos agentes en combinación.

En un aspecto, los anticuerpos se usan de forma complementaria con agentes citotóxicos terapéuticos, incluyendo, a modo de ejemplo y no de limitación, busulfán, tioguanina, idarrubicina, arabinósido de citosina, 6-mercaptopurina, doxorubicina, daunorrubicina, etopósido e hidroxiurea. Otros agentes útiles como complementos para terapia de anticuerpos son compuestos dirigidos específicamente a la molécula celular anormal encontrada en el estado patológico. Estos agentes serán específicos de la enfermedad. Por ejemplo, para tratar la leucemia mieloide crónica que surge de la actividad BCR-ABL, una clase de compuestos útiles es inhibidores de la actividad abl quinasa, tales como Imatinib, un inhibidor de la bcr-abl quinasa y oligonucleótidos antisentido contra bcr (por ejemplo, Oblimersen). Otros agentes incluyen, entre otros, interferón-alfa, anti-CD52 humanizado, inhibidor de desacetilasa FR901228 (depsipéptido), y similares.

La cantidad de las composiciones necesaria para conseguir un efecto terapéutico se determinará de forma empírica según procedimientos convencionales para el propósito particular. En general, para administrar las composiciones *ex vivo* o *in vivo* para propósitos terapéuticos, las composiciones se dan a una dosis farmacológicamente eficaz. Por "cantidad farmacológicamente eficaz" o "dosis farmacológicamente eficaz" es una cantidad suficiente para producir el efecto fisiológico deseado o cantidad capaz de conseguir el resultado deseado, particularmente para tratar o volver a tratar el trastorno o afección patológica, incluyendo reducir o eliminar uno o más síntomas o manifestaciones del trastorno o de la enfermedad.

Como ilustración, la administración de anticuerpos a un paciente que padece cáncer de próstata proporciona un beneficio terapéutico no solamente cuando se erradica o se mejora la enfermedad subyacente, sino también cuando el paciente presenta una disminución en la gravedad o en la duración de los síntomas asociados con la enfermedad. El beneficio terapéutico también incluye detener o ralentizar la progresión de la enfermedad o del trastorno subyacente, independientemente de si se logra mejora.

La cantidad administrada al hospedador variará dependiendo de lo que se esté administrando, del propósito de la administración, tal como profilaxis o terapia, del estado del hospedador, del modo de administración, de la cantidad de administraciones, del intervalo entre las administraciones y similares. Estas pueden determinarse empíricamente por los expertos en la materia y pueden ajustarse para el grado de respuesta terapéutica. Los factores a considerar en la determinación de una dosis apropiada incluyen, aunque sin limitación, tamaño y peso del sujeto, la edad y género del sujeto, la gravedad del síntoma, la fase de la enfermedad, el método de suministro del agente, la vida media de los agentes y la eficacia de los agentes. La fase de la enfermedad a considerar incluye si la enfermedad es aguda o crónica, en fase recidivante o remitente, y la progresividad de la enfermedad. Determinar las dosificaciones y los tiempos de administración para una cantidad terapéuticamente eficaz pertenece a las habilidades de los expertos en la materia.

Para cualquier composición de la presente divulgación, la dosis terapéuticamente eficaz se determina fácilmente por métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede estimarse una dosis eficaz inicial a partir de cultivo celular u otros ensayos *in vitro*. Por ejemplo, Sliwkowsky, MX et al., Semin. Oncol. 26. supl. 12) 60-70 (1999) describe mediciones *in vivo* de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Después puede formularse una dosis en modelos animales para generar una concentración en circulación o concentración tisular, incluyendo la de la CI50 determinada por los ensayos de cultivo celular.

Además, la toxicidad y la eficacia terapéutica, en general, se determinan por ensayos de cultivo celular y/o animales

experimentales, típicamente determinando una DL50 (dosis letal para el 50 % de la población de ensayo) y DE50 (eficacia terapéutica en el 50 % de la población de ensayo). La relación de la dosis de toxicidad y de eficacia terapéutica es índice terapéutico. Se prefieren composiciones, individualmente o en combinación, que muestran altos índices terapéuticos. La determinación de la cantidad eficaz pertenece a las habilidades de los expertos en la materia, particularmente dada la divulgación detallada proporcionada en la presente memoria. También se encuentran directrices en libros de referencia convencionales, por ejemplo, Fingl y Woodbury, General Principles In: The Pharmaceutical Basis of Therapeutics pág. 1-46 (1975), y las referencias citadas en el mismo.

Para conseguir una dosis de tolerancia inicial, se da consideración a la posibilidad de que los anticuerpos pueden ser inmunogénicos en seres humanos y en primates no humanos. La respuesta inmunitaria puede ser biológicamente significativa y puede alterar la eficacia terapéutica del anticuerpo incluso si el anticuerpo está compuesto parcial o principalmente de secuencias de inmunoglobulina humana tal como, por ejemplo, en el caso de un anticuerpo quimérico o humanizado. En ciertos casos, se administra una dosis alta inicial de anticuerpo de modo que se establezca un grado de tolerancia inmunológica para el anticuerpo terapéutico.

La dosis de tolerancia es suficiente para prevenir o reducir la inducción de una respuesta de anticuerpos a administración repetida del anticuerpo específico de células progenitoras comprometidas.

Los intervalos preferidos para la dosis de tolerancia son entre 10 mg/kg de peso corporal a 50 mg/kg de peso corporal, incluidos. Los intervalos más preferidos para la dosis de tolerancia son entre 20 y 40 mg/kg, incluidos. Los intervalos aún más preferidos para la dosis de tolerancia son entre 20 y 25 mg/kg, incluidos.

Dentro de estos regímenes terapéuticos, la dosis terapéuticamente eficaz de anticuerpos se administra preferentemente en el intervalo de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, incluidos. Las segundas dosis terapéuticamente eficaces más preferidas están en el intervalo de 0,2 a 5 mg/kg de peso corporal, incluidos. Dosis terapéuticamente eficaces aún más preferidas están en el intervalo de 0,5 a 2 mg/kg, incluidas. Dentro de casos alternativos, la dosis o las dosis terapéuticas posteriores pueden estar en la misma o en diferente formulación que la dosis de tolerancia y/o pueden administrarse por la misma vía o por una diferente que la dosis de tolerancia.

Para los propósitos de esta divulgación, los métodos de administración se eligen dependiendo de la afección que se esté tratando, la forma de los presentes anticuerpos y la composición farmacéutica.

La administración de las composiciones de anticuerpo puede hacerse de una diversidad de modos, incluyendo, aunque sin limitación, de forma continua, subcutánea, intravenosa, oral, tópica, transdérmica, intraperitoneal, intramuscular o intravesical. Por ejemplo, las formulaciones de micropartículas, microesferas y microencapsuladas son útiles para administraciones orales, intramusculares o subcutáneas. Los liposomas y las nanopartículas son adicionalmente adecuadas para administraciones intravenosas. La administración de las composiciones farmacéuticas puede ser a través de una única vía o de forma concurrente por varias vías. Por ejemplo, la administración intraperitoneal puede venir acompañada por inyecciones intravenosas. Preferentemente, las dosis terapéuticas se administran por vía intravenosa, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea.

Las composiciones pueden administrarse una vez o varias veces. En algunos casos, las composiciones pueden administrarse una vez al día, unas pocas o varias veces al día, o incluso múltiples veces al día, dependiendo de, entre otras cosas, la indicación que se esté tratando y el criterio del médico que prescribe.

La administración de las composiciones también puede conseguirse a través de métodos de liberación sostenida o de suministro a largo plazo, que son bien conocidos para los expertos en la materia. Por "liberación sostenida" o "liberación a largo plazo", como se usa en la presente memoria, se entiende que el sistema de suministro administra una cantidad farmacéuticamente terapéutica de los presentes compuestos durante más de un día, preferentemente más de una semana y mucho más preferentemente al menos aproximadamente de 30 días a 60 días, o más. Los sistemas de liberación a largo plazo pueden comprender sólidos o geles implantables que contienen los anticuerpos, tales como polímeros biodegradables descritos anteriormente; bombas, incluyendo bombas peristálticas y bombas con propelente de fluorocarburo; bombas osmóticas y mini-osmóticas; y similares.

El método de la divulgación contempla la administración de anticuerpos monoclonales individuales y cualquier anticuerpo que reconozca los antígenos particulares reconocidos por estos anticuerpos, así como combinaciones de diferentes mAb. Dos o más anticuerpos monoclonales pueden proporcionar un efecto mejorado en comparación con un anticuerpo individual. Alternativamente, una combinación de un anticuerpo con un anticuerpo que se una a un antígeno diferente puede proporcionar un efecto mejorado en comparación con un anticuerpo individual. Dichos cócteles de mAb pueden tener ciertas ventajas en la medida en que contienen mAb, que explotan diferentes mecanismos efectores o combinan mAb directamente citotóxicos con mAb que dependen de la funcionalidad de los efectores inmunitarios. Dichos mAb en combinación pueden mostrar efectos terapéuticos sinérgicos.

Se entenderá que la divulgación divulgada y definida en esta memoria se amplía a todas las combinaciones alternativas de dos o más de las características individuales mencionadas o evidentes a partir del texto o de los

dibujos. Todas estas combinaciones diferentes constituyen diversos aspectos alternativos de la divulgación.

Los siguientes protocolos se proporcionan como ejemplos no limitantes para el propósito de ilustración de la invención.

5

Ejemplos

Ejemplo 1

- 10 Se creó un anticuerpo anti-P2X₇ no funcional contra el péptido KYYKENNVEKRTLKVF (SEQ ID NO: 2) o Lys-Tyr-Tyr-Lys-Glu-Asn-Asn-Val-Glu-Lys-Arg-Thr-Leu-Ile-Lys-Val-Phe, que representa los aminoácidos 297-313 de la proteína P2X₇ humana. El péptido se sintetizó por química en fase sólida (Mimotopes Pty Ltd, Melbourne, Australia) hasta alta pureza (>95 %) juzgada por espectrometría de masas. Se unió un resto Cys (C) C-terminal a la secuencia y a este se unió el reticulante MCS (éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 6-maleimido-caproico) para conjugar el
- 15 péptido a proteínas vehículo incluyendo por separado toxoide diftérico, albúmina sérica bovina y ovoalbúmina por Mimotopes.

Ejemplo 2

- 20 Se inmunizaron conejos blancos hembra de Nueva Zelanda, con edades entre 10-12 semanas, según el siguiente programa.

En el día uno, cada conejo recibió 200 ug de epítipo P2X₇ conjugado con toxoide diftérico (peso total de antígeno ~500 ug del epítipo conjugado). Este péptido conjugado se suministró por Mimotopes Pty Ltd como una solución

25 estable.

El conjugado de epítopos se diluyó en PBS estéril hasta una concentración de 500 ug por 0,8 ml de PBS. A esto se añadió 0,1 ml de solución DEAE/dextrano/QUILA™ (2,5 mg de QUILA™ más 25 mg de DEAE/dextrano por ml de PBS) y 1,2 ml de montanide 15A50V. Esta solución se emulsionó usando jeringas luerloc de vidrio y acoplamiento

30 luerloc de orificio estrecho.

A los animales se les inyectó 2 ml de la emulsión con adyuvante de epítipo en múltiples sitios subcutáneos e intramusculares.

- 35 Lo anterior se repitió a las 6 semanas y a las 9 semanas después de las inyecciones iniciales. En la semana 10, a los conejos se les inyectó por vía intravenosa 1 ml de PBS estéril que contenía 50 ug de epítipo P2X₇ conjugado con DT. Cuatro días después, los conejos se mezclaron y se clasificó el suero que contenía el anticuerpo para futuro análisis y uso en inmunoensayos.

40 Ejemplo 3

Se usó el procedimiento del Ejemplo 2 excepto que se inyectó a ratones 20 ug de epítipo P2X₇ (~50 ug de conjugado con DT) en 0,2 ml de emulsión con adyuvante de epítipo.

- 45 Cuatro días después de la inyección intravenosa, se midieron los títulos de anticuerpo en sangre de ratón y se seleccionaron los ratones con el mayor título como donantes de bazo para fusiones de hibridoma.

Ejemplo 4

- 50 Los ratones seleccionados anteriormente se usaron como donantes de células esplénicas y estas células se fusionaron con células de mieloma SP20 de ratón para formar líneas celulares de hibridoma según la modificación en formato de placa de 96 pocillos del protocolo original descrito por Kohler y Milstein.

Las líneas celulares se seleccionaron por estabilidad y por producción del anticuerpo específico contra epítopos

55 P2X₇ particulares.

Ejemplo 5

Se seleccionó un anticuerpo monoclonal con afinidad adecuadamente alta por el epítipo diana para el estudio IHC.

- 60 Las características de unión del anticuerpo se ensayaron midiendo la interacción con el epítipo diana en un instrumento Biacore. Se consiguió un total de 550 unidades de resonancia de unión en el tiempo de carga de 60 segundos que muestra asociación lenta. Fue evidente una disociación muy lenta después del cese de la carga sin disminución medible de la unión sobre los posteriores 10 minutos.

65 Ejemplo 6

Se realizó la unión del anticuerpo monoclonal a células C11STH fijadas y permeabilizadas que expresan el receptor no funcional en un citómetro de flujo (Becton-Dickenson) usando marcador Alexa-488. El valor medio fue de 90,8 en comparación con los controles negativos de 1,9. También se evaluó la unión del anticuerpo monoclonal a los receptores sobre la superficie de células vivas no fijadas. El valor medio fue de 5,8 en comparación con 0,34 para el control negativo.

Ejemplo 7

Para células fijas, se usó tinción con anticuerpos fluorescentes convencionales y microscopía confocal. Las células fijadas en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina en placas de 48 pocillos se incubaron con suero normal de caballo al 20 % en solución salina tamponada con fosfato pH 7,5 (PBS) durante 20 minutos, se lavaron con PBS durante 5 minutos, después se incubaron con anticuerpo primario durante 30 minutos, se lavaron con PBS durante 5 minutos y finalmente se marcaron con anticuerpo secundario marcado de forma fluorescente (Jackson Immunologics) durante 30 minutos. Las células después se lavaron dos veces (2 x 5 minutos) con PBS antes de montar los cubreobjetos en los portaobjetos en glicerol al 50 % en PBS. Las células se visualizaron con un sistema de microscopía confocal de láser UV Leica TCS con el orificio ajustado a 1,0. Se usaron anticuerpos murinos de control de isotipo de forma rutinaria como controles negativos y mostraron ausencia de tinción. Las transferencias de Western de células HEK293 transfectadas con P2X₇ revelaron una única banda a aproximadamente 75 kDa que estaba ausente en células no transfectadas y en muestras de homogeneizados pre-tratados con el epítipo. Los extractos de proteínas celulares (30 ug) junto con los marcadores de peso molecular se fraccionaron en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico (8-16 %) (Novex). Las proteínas se electrotransfirieron a membrana Immobilon-P (Millipore). Las transferencias de Western se revelaron usando el sistema de quimioluminiscencia ECL (Amersham).

Ejemplo 8

Se examinó por inmunohistoquímica un total de 25 casos diferentes de cáncer de mama, 25 casos de cáncer de piel y 25 casos de cáncer de próstata. No hubo reactividad cruzada entre los receptores funcionales presentes en los glóbulos rojos y el anticuerpo de receptor no funcional (datos no mostrados).

Los ejemplos de tejido canceroso que incluyen cáncer de próstata, cáncer de mama representado por carcinoma ductal *in situ* y melanoma se tiñeron todos para P2X₇ no funcional. El epitelio en tejidos normales sin tumor adyacente estaba desprovisto del receptor mientras que todos los casos de cáncer se teñían para el receptor.

Asimismo, se descubrió que líneas de células cancerosas derivadas de estos y de otros tejidos expresaban los receptores. Los ejemplos ensayados y encontrados positivos incluyen ADDP, PC3, LNCap, MCF7, MDA-MB-235, MDA-MB-431, NCIH460, NCIH69, NCIH596, DU145, ACHN, 786-O, Hep3B2, C11STH y BT474. Se observaron patrones similares de expresión en xenoinjertos de tumor de ovario ADDP y pulmón NCIH69, respectivamente. Los receptores P2X₇ no funcionales se encontraron en la membrana plasmática con el consiguiente poco receptor citoplasmático residual en las fases más avanzadas de los cánceres. En contraste, tumores de grado inferior mostraban una preponderancia de células en que una gran proporción de los receptores permanecían intracelulares. Dicho transporte progresivo de receptores apoptóticos no funcionales a la membrana plasmática sobre el curso de la progresión de la enfermedad indica que las líneas de células cancerosas deben mostrar receptores P2X₇ no funcionales sobre la membrana plasmática en lugar de estar en gran medida intracelulares.

El tejido epitelial normal está desprovisto de los receptores no funcionales mientras que los tejidos cancerosos están todos marcados. Se examinaron diferentes cánceres de mama, incluyendo carcinomas tanto invasivos como lobulares y ductales *in situ*. Todos los tipos expresaban receptores no funcionales. Las células epiteliales en estos y en otros tejidos no cancerosos normales tales como intestino, vejiga, ovario, útero, cuello del útero, estómago y pulmón se descubrió que estaban desprovistas de receptores no funcionales.

Las áreas de tejido morfológicamente normal que rodea los tumores en próstata también expresaban los receptores, coherente con el efecto de campo en que las células tumorales influyen en el epitelio normal adyacente en conductos conectados alertando de ese modo a estas células de la presencia de un tumor en desarrollo. En respuesta, estas células empiezan a desplegar receptor, inicialmente en una localización completamente intracelular, pero finalmente sobre la membrana plasmática.

Además de las muestras de cáncer de mama, piel y próstata, otros ejemplos de cánceres de células epiteliales, todos los cuales expresaban P2X₇ no funcional incluían adenocarcinoma de intestino, cáncer de ovario invasivo, carcinoma escamocelular del cuello del útero, carcinoma de endometrio del útero, cáncer pulmonar microcítico, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células transicionales de la vejiga y mucosa de Barrett con adenocarcinoma.

También se examinaron cánceres humanos de origen en células no epiteliales. Se descubrió que todos expresaban los receptores P2X₇ no funcionales. Los ejemplos de cánceres mesenquimáticos incluyen tumor del estroma gastrointestinal y tumor del estroma del endometrio. Igualmente, otros tumores derivados de este tipo celular tales

como sarcoma de Ewing expresan los receptores, así como tumores cerebrales, tales como oligodendrogliomas y astrocitomas, y también carcinoma de la pituitaria. El mesotelioma, un cáncer derivado de células de la pleura, también expresa receptores no funcionales, así como tumores sólidos derivados de células hemáticas tales como linfomas de células del manto. Son ejemplos linfoma de Hodgkin y tiroides papilar.

5

La reactividad cruzada entre cánceres humanos y de otros mamíferos tales como próstata, mama y piel de perros y de gatos y melanoma en ratones se observó usando el mismo anticuerpo contra el receptor humano. Estas observaciones añaden peso a la conclusión de que la diana celular cancerosa es ubicua.

10 Ejemplo 9

Hay indicaciones de que la expresión del receptor se altera con el grado del tumor, lo que proporciona el potencial de diferenciar entre formas latentes y agresivas de cáncer. Ciertamente, los cánceres de próstata de grado bajo que crecen muy lentamente muestran un patrón de expresión de receptor que es casi completamente intracelular, mientras que casos de cáncer de próstata invasivo muestran mayor marcaje de membrana plasmática y células mioepiteliales junto con una densidad de receptor significativamente elevada.

15

El cáncer de próstata de grado bajo y clínicamente no importante puede diferenciarse del cáncer de próstata clínicamente importante por la aparición de las áreas adyacentes de epitelio normal. Los cánceres clínicamente importantes incluyen aquellos que probablemente se propagan al estroma de la próstata y metastatizan. El muestreo directo del tumor con biopsias con aguja guiada por ultrasonidos trans-rectal (TRUS) puede detectar un tumor clínicamente significativo, haciendo, por tanto, un diagnóstico directo. En casos en que el tumor existente se muestrea en una región que es de grado inferior (por ejemplo, Gleason 3+3) con otras áreas (por ejemplo, Gleason 3+4) omitidas, la tinción del receptor P2X₇ no funcional muestra que áreas de morfología normal también muestreadas en la próstata muestran niveles intensos de expresión del receptor y tinción mioepitelial, lo que indica la presencia de tejido que está metastatizando. Incluso casos en que el tumor está completamente omitido, tales como tumores confinados en el lóbulo apical fuera del alcance de las agujas, la presencia y el estado del tumor se detecta fácilmente ya que el efecto campo que emana desde el tumor hasta el epitelio adyacente alerta al patólogo de la presencia de tumor y del grado probable.

20

30 Ejemplo 10

El tejido displásico es difícil de diagnosticar y afecciones tales como mucosa de Barrett con displasia tienen que controlarse dado la propensión del tejido a transformarse en adenocarcinoma. La diferenciación entre tejido displásico que permanecerá benigno y tejido que está en riesgo extremo de transformación inminente de nuevo se centra en la presencia de tinción mioepitelial asociada que muestra una regulación positiva drástica de la expresión del receptor P2X₇ no funcional. Se observaron resultados similares para otras afecciones displásicas del intestino tales como colitis. En muestras tisulares de mucosa de Barrett con displasia no hubo tinción que indicara una afección benigna mientras que muestras con tinción mioepitelial intensa identificaban a un sujeto que tenía un adenocarcinoma asociado.

35

Casos prematuros de transformación neoplásica incluyendo neoplásica intraepitelial cervical (CIN) de grados 1-3 también mostraron niveles aumentados de expresión del receptor y casos tales como límite seroso de ovario se clasificaron como benignos (no teñidos) y aquellos que estaban en curso de transformarse (tinción epitelial intensa).

40

Los resultados anteriores indican que un epítipo que incluye uno o más aminoácidos de la secuencia KYYKENNVEKRTLKVF tiene expresión en una amplia selección de tejidos y células cancerosas epiteliales.

LISTADO DE SECUENCIAS

45

<110> Biosceptre International Limited

<120> Novedosos epítipos P2X₇

50

<130> M81454722:KAB

<150> 2007905018

<151> 07-09-2007

55

<160> 12

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

60

<211> 595

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

5

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

Lys Asn Asn Ile Asp Phe Pro Gly His Asn Tyr Thr Thr Arg Asn Ile
 195 200 205
 Leu Pro Gly Leu Asn Ile Thr Cys Thr Phe His Lys Thr Gln Asn Pro
 210 215 220
 Gln Cys Pro Ile Phe Arg Leu Gly Asp Ile Phe Arg Glu Thr Gly Asp
 225 230 235 240
 Asn Phe Ser Asp Val Ala Ile Gln Gly Gly Ile Met Gly Ile Glu Ile
 245 250 255
 Tyr Trp Asp Cys Asn Leu Asp Arg Trp Phe His His Cys Arg Pro Lys
 260 265 270
 Tyr Ser Phe Arg Arg Leu Asp Asp Lys Thr Thr Asn Val Ser Leu Tyr
 275 280 285
 Pro Gly Tyr Asn Phe Arg Tyr Ala Lys Tyr Tyr Lys Glu Asn Asn Val
 290 295 300
 Glu Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val Phe Gly Ile Arg Phe Asp Ile Leu
 305 310 315 320
 Val Phe Gly Thr Gly Gly Lys Phe Asp Ile Ile Gln Leu Val Val Tyr
 325 330 335
 Ile Gly Ser Thr Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Ala Ala Val Phe Ile Asp
 340 345 350
 Phe Leu Ile Asp Thr Tyr Ser Ser Asn Cys Cys Arg Ser His Ile Tyr
 355 360 365
 Pro Trp Cys Lys Cys Cys Gln Pro Cys Val Val Asn Glu Tyr Tyr Tyr
 370 375 380
 Arg Lys Lys Cys Glu Ser Ile Val Glu Pro Lys Pro Thr Leu Lys Tyr
 385 390 395 400
 Val Ser Phe Val Asp Glu Ser His Ile Arg Met Val Asn Gln Gln Leu
 405 410 415
 Leu Gly Arg Ser Leu Gln Asp Val Lys Gly Gln Glu Val Pro Arg Pro
 420 425 430
 Ala Met Asp Phe Thr Asp Leu Ser Arg Leu Pro Leu Ala Leu His Asp
 435 440 445
 Thr Pro Pro Ile Pro Gly Gln Pro Glu Glu Ile Gln Leu Leu Arg Lys
 450 455 460

Glu Ala Thr Pro Arg Ser Arg Asp Ser Pro Val Trp Cys Gln Cys Gly
465 470 475 480

Ser Cys Leu Pro Ser Gln Leu Pro Glu Ser His Arg Cys Leu Glu Glu
485 490 495

Leu Cys Cys Arg Lys Lys Pro Gly Ala Cys Ile Thr Thr Ser Glu Leu
500 505 510

Phe Arg Lys Leu Val Leu Ser Arg His Val Leu Gln Phe Leu Leu Leu
515 520 525

Tyr Gln Glu Pro Leu Leu Ala Leu Asp Val Asp Ser Thr Asn Ser Arg
530 535 540

Leu Arg His Cys Ala Tyr Arg Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Phe Gly Ser
545 550 555 560

Gln Asp Met Ala Asp Phe Ala Ile Leu Pro Ser Cys Cys Arg Trp Arg
565 570 575

Ile Arg Lys Glu Phe Pro Lys Ser Glu Gly Gln Tyr Ser Gly Phe Lys
580 585 590

Ser Pro Tyr
595

<210> 2
<211> 17
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Lys Tyr Tyr Lys Glu Asn Asn Val Glu Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val
1 5 10 15

10 Phe

<210> 3
<211> 49
<212> PRT
15 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Lys Thr Thr Asn Val Ser Leu Tyr Pro Gly Tyr Asn Phe Arg Tyr Ala
1 5 10 15

Lys Tyr Tyr Lys Glu Asn Asn Val Glu Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val
20 25 30

Phe Gly Ile Arg Phe Asp Ile Leu Val Phe Gly Thr Gly Gly Lys Phe
35 40 45

Asp

<210> 4
<211> 505
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

Met Thr Pro Gly Asp His Ser Trp Gly Asn Ser Phe Phe Val Met Thr
1 5 10 15

Asn Phe Leu Lys Thr Glu Gly Gln Glu Gln Arg Leu Cys Pro Glu Tyr
20 25 30

Pro Thr Arg Arg Thr Leu Cys Ser Ser Asp Arg Gly Cys Lys Lys Gly
35 40 45

Trp Met Asp Pro Gln Ser Lys Gly Ile Gln Thr Gly Arg Cys Val Val
50 55 60

His Glu Gly Asn Gln Lys Thr Cys Glu Val Ser Ala Trp Cys Pro Ile
65 70 75 80

Glu Ala Val Glu Glu Ala Pro Arg Pro Ala Leu Leu Asn Ser Ala Glu
85 90 95

Asn Phe Thr Val Leu Ile Lys Asn Asn Ile Asp Phe Pro Gly His Asn
100 105 110

Tyr Thr Thr Arg Asn Ile Leu Pro Gly Leu Asn Ile Thr Cys Thr Phe
115 120 125

His Lys Thr Gln Asn Pro Gln Cys Pro Ile Phe Arg Leu Gly Asp Ile
130 135 140

Phe Arg Glu Thr Gly Asp Asn Phe Ser Asp Val Ala Ile Gln Gly Gly
145 150 155 160

Ile Met Gly Ile Glu Ile Tyr Trp Asp Cys Asn Leu Asp Arg Trp Phe
165 170 175

His His Cys Arg Pro Lys Tyr Ser Phe Arg Arg Leu Asp Asp Lys Thr
180 185 190

Thr Asn Val Ser Leu Tyr Pro Gly Tyr Asn Phe Arg Tyr Ala Lys Tyr
195 200 205

Tyr Lys Glu Asn Asn Val Glu Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val Phe Gly

210	215	220
Ile Arg Phe Asp Ile	Leu Val Phe Gly Thr	Gly Gly Lys Phe Asp Ile
225	230	235
Ile Gln Leu Val Val Tyr Ile Gly Ser Thr	Leu Ser Tyr Phe Gly Leu	
	245	250
Ala Ala Val Phe Ile Asp Phe Leu Ile Asp Thr Tyr Ser Ser Asn Cys		
	260	265
Cys Arg Ser His Ile Tyr Pro Trp Cys Lys Cys Cys Gln Pro Cys Val		
	275	280
Val Asn Glu Tyr Tyr Tyr Arg Lys Lys Cys Glu Ser Ile Val Glu Pro		
	290	295
Lys Pro Thr Leu Lys Tyr Val Ser Phe Val Asp Glu Ser His Ile Arg		
305	310	315
Met Val Asn Gln Gln Leu Leu Gly Arg Ser Leu Gln Asp Val Lys Gly		
	325	330
Gln Glu Val Pro Arg Pro Ala Met Asp Phe Thr Asp Leu Ser Arg Leu		
	340	345
Pro Leu Ala Leu His Asp Thr Pro Pro Ile Pro Gly Gln Pro Glu Glu		
	355	360
Ile Gln Leu Leu Arg Lys Glu Ala Thr Pro Arg Ser Arg Asp Ser Pro		
	370	375
Val Trp Cys Gln Cys Gly Ser Cys Leu Pro Ser Gln Leu Pro Glu Ser		
385	390	395
His Arg Cys Leu Glu Glu Leu Cys Cys Arg Lys Lys Pro Gly Ala Cys		
	405	410
Ile Thr Thr Ser Glu Leu Phe Arg Lys Leu Val Leu Ser Arg His Val		
	420	425
Leu Gln Phe Leu Leu Leu Tyr Gln Glu Pro Leu Leu Ala Leu Asp Val		
	435	440
Asp Ser Thr Asn Ser Arg Leu Arg His Cys Ala Tyr Arg Cys Tyr Ala		
	450	455
Thr Trp Arg Phe Gly Ser Gln Asp Met Ala Asp Phe Ala Ile Leu Pro		
465	470	475
Ser Cys Cys Arg Trp Arg Ile Arg Lys Glu Phe Pro Lys Ser Glu Gly		

485

490

495

Gln Tyr Ser Gly Phe Lys Ser Pro Tyr
500 505

5 <210> 5
<211> 425
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 5

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

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

<210> 6
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 6

Met Pro Ala Cys Cys Ser Cys Ser Asp Val Phe Gln Tyr Glu Thr Asn
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Arg Ile Gln Ser Met Asn Tyr Gly Thr Ile Lys Trp Phe
 20 25 30

Phe His Val Ile Ile Phe Ser Tyr Val Cys Phe Ala Leu Val Ser Asp
 35 40 45
 Lys Leu Tyr Gln Arg Lys Glu Pro Val Ile Ser Ser Val His Thr Lys
 50 55 60
 Val Lys Gly Ile Ala Glu Val Lys Glu Glu Ile Val Glu Asn Gly Val
 65 70 75 80
 Lys Lys Leu Val His Ser Val Phe Asp Thr Ala Asp Tyr Thr Phe Pro
 85 90 95
 Leu Gln Gly Asn Ser Phe Phe Val Met Thr Asn Phe Leu Lys Thr Glu
 100 105 110
 Gly Gln Glu Gln Arg Leu Cys Pro Glu Tyr Pro Thr Arg Arg Thr Leu
 115 120 125
 Cys Ser Ser Asp Arg Gly Cys Lys Lys Gly Trp Met Asp Pro Gln Ser
 130 135 140
 Lys Gly Ile Gln Thr Gly Arg Cys Val Val His Glu Gly Asn Gln Lys
 145 150 155 160
 Thr Cys Glu Val Ser Ala Trp Cys Pro Ile Glu Ala Val Glu Glu Ala
 165 170 175
 Pro Arg Pro Ala Leu Leu Asn Ser Ala Glu Asn Phe Thr Val Leu Ile
 180 185 190
 Lys Asn Asn Ile Asp Phe Pro Gly His Asn Tyr Thr Thr Arg Asn Ile
 195 200 205
 Leu Pro Gly Leu Asn Ile Thr Cys Thr Phe His Lys Thr Gln Asn Pro
 210 215 220
 Gln Cys Pro Ile Phe Arg Leu Gly Asp Ile Phe Arg Glu Thr Gly Asp
 225 230 235 240
 Asn Phe Ser Asp Val Ala Ile Gln Gly Gly Ile Met Gly Ile Glu Ile
 245 250 255
 Tyr Trp Asp Cys Asn Leu Asp Arg Trp Phe His His Cys Arg Pro Lys
 260 265 270
 Tyr Ser Phe Arg Arg Leu Asp Asp Lys Thr Thr Asn Val Ser Leu Tyr
 275 280 285
 Pro Gly Tyr Asn Phe Arg Tyr Ala Lys Tyr Tyr Lys Glu Asn Asn Val
 290 295 300

Glu Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val Phe Gly Ile Arg Phe Asp Ile Leu
305 310 315 320

Val Phe Gly Thr Gly Gly Lys Phe Asp Ile Ile Gln Leu Val Val Tyr
325 330 335

Ile Gly Ser Thr Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Val Arg Asp Ser Glu Gly
340 345 350

Ser Asp

<210> 7
<211> 306
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 7

Met Trp Gln Phe Arg Tyr Ala Lys Tyr Tyr Lys Glu Asn Asn Val Glu
1 5 10 15

Lys Arg Thr Leu Ile Lys Val Phe Gly Ile Arg Phe Asp Ile Leu Val
20 25 30

Phe Gly Thr Gly Gly Lys Phe Asp Ile Ile Gln Leu Val Val Tyr Ile
35 40 45

Gly Ser Thr Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Ala Ala Val Phe Ile Asp Phe
50 55 60

Leu Ile Asp Thr Tyr Ser Ser Asn Cys Cys Arg Ser His Ile Tyr Pro
65 70 75 80

Trp Cys Lys Cys Cys Gln Pro Cys Val Val Asn Glu Tyr Tyr Tyr Arg
85 90 95

Lys Lys Cys Glu Ser Ile Val Glu Pro Lys Pro Thr Leu Lys Tyr Val
100 105 110

Ser Phe Val Asp Glu Ser His Ile Arg Met Val Asn Gln Gln Leu Leu
115 120 125

Gly Arg Ser Leu Gln Asp Val Lys Gly Gln Glu Val Pro Arg Pro Ala
130 135 140

Met Asp Phe Thr Asp Leu Ser Arg Leu Pro Leu Ala Leu His Asp Thr
145 150 155 160

Pro Pro Ile Pro Gly Gln Pro Glu Glu Ile Gln Leu Leu Arg Lys Glu
165 170 175

10

ES 2 619 681 T3

Ala Thr Pro Arg Ser Arg Asp Ser Pro Val Trp Cys Gln Cys Gly Ser
180 185 190

Cys Leu Pro Ser Gln Leu Pro Glu Ser His Arg Cys Leu Glu Glu Leu
195 200 205

Cys Cys Arg Lys Lys Pro Gly Ala Cys Ile Thr Thr Ser Glu Leu Phe
210 215 220

Arg Lys Leu Val Leu Ser Arg His Val Leu Gln Phe Leu Leu Leu Tyr
225 230 235 240

Gln Glu Pro Leu Leu Ala Leu Asp Val Asp Ser Thr Asn Ser Arg Leu
245 250 255

Arg His Cys Ala Tyr Arg Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Phe Gly Ser Gln
260 265 270

Asp Met Ala Asp Phe Ala Ile Leu Pro Ser Cys Cys Arg Trp Arg Ile
275 280 285

Arg Lys Glu Phe Pro Lys Ser Glu Gly Gln Tyr Ser Gly Phe Lys Ser
290 295 300

Pro Tyr
305

<210> 8
<211> 275
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 8

Met Pro Ala Cys Cys Ser Cys Ser Asp Val Phe Gln Tyr Glu Thr Asn
1 5 10 15

Lys Val Thr Arg Ile Gln Ser Met Asn Tyr Gly Thr Ile Lys Trp Phe
20 25 30

Phe His Val Ile Ile Phe Ser Tyr Val Cys Phe Ala Leu Val Ser Asp
35 40 45

Lys Leu Tyr Gln Arg Lys Glu Pro Val Ile Ser Ser Val His Thr Lys
50 55 60

Val Lys Gly Ile Ala Glu Val Lys Glu Glu Ile Val Glu Asn Gly Val
65 70 75 80

Lys Lys Leu Val His Ser Val Phe Asp Thr Ala Asp Tyr Thr Phe Pro
85 90 95

Leu Gln Gly Asn Ser Phe Phe Val Met Thr Asn Phe Leu Lys Thr Glu

	100		105		110
Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Leu
	115				
Cys	Ser	Ser	Asp	Arg	Gly
130					135
Lys	Gly	Ile	Gln	Thr	Gly
145					150
Thr	Cys	Glu	Val	Ser	Ala
				165	
Pro	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu
			180		
Lys	Asn	Asn	Ile	Asp	Phe
	195				
Tyr	Tyr	Lys	Glu	Asn	Asn
210					215
Gly	Ile	Arg	Phe	Asp	Ile
225					230
Ile	Ile	Gln	Leu	Val	Val
			245		
Leu	Val	Arg	Asp	Ser	Leu
			260		
Gly	Ser	Asp			
		275			

<210> 9
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 9

5

ES 2 619 681 T3

Met	Thr	Pro	Gly	Asp	His	Ser	Trp	Gly	Asn	Ser	Phe	Phe	Val	Met	Thr
1				5					10					15	
Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	Glu	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Leu	Cys	Pro	Glu	Tyr
			20					25					30		
Pro	Thr	Arg	Arg	Thr	Leu	Cys	Ser	Ser	Asp	Arg	Gly	Cys	Lys	Lys	Gly
		35					40					45			
Trp	Met	Asp	Pro	Gln	Ser	Lys	Gly	Ile	Gln	Thr	Gly	Arg	Cys	Val	Val
	50					55					60				

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

Ser Asp

<210> 10
<211> 258
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 10

Met Pro Ala Cys Cys Ser Cys Ser Asp Val Phe Gln Tyr Glu Thr Asn
1 5 10 15

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

Gln Cys

<210> 11
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 619 681 T3

<400> 11

```

Met Pro Ala Cys Cys Ser Cys Ser Asp Val Phe Gln Tyr Glu Thr Asn
1      5      10      15
Lys Val Thr Arg Ile Gln Ser Met Asn Tyr Gly Thr Ile Lys Trp Phe
20      25      30
Phe His Val Ile Ile Phe Ser Tyr Val Cys Phe Ala Leu Val Ser Asp
35      40      45
Lys Leu Tyr Gln Arg Lys Glu Pro Val Ile Ser Ser Val His Thr Lys
50      55      60
Val Lys Gly Ile Ala Glu Val Lys Glu Glu Ile Val Glu Asn Gly Val
65      70      75      80
Lys Lys Leu Val His Ser Val Phe Asp Thr Ala Asp Tyr Thr Phe Pro
85      90      95
Leu Gln Gly Asn Ser Phe Phe Val Met Thr Asn Phe Leu Lys Thr Glu
100      105      110
Gly Gln Glu Gln Arg Leu Cys Pro Glu Glu Phe Arg Pro Glu Gly Val
115      120      125

```

5 <210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 12

```

Gly His Asn Tyr Thr Thr Arg Asn Ile Leu Pro Gly Leu Asn Ile Thr
1      5      10      15
Cys

```

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en una secuencia dentro de la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 3, siendo dicho péptido útil como inmunógeno para generar un anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un receptor P2X7 que no se une a ATP, pero no a un receptor P2X7 que se une a ATP, en donde el péptido incluye la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2.
2. Un péptido según la reivindicación 1, en donde dicho péptido consiste en la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2.
3. Un péptido según la reivindicación 1, en donde dicho péptido consiste en la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 3.
4. Un anticuerpo aislado o purificado o un fragmento del mismo capaz de unirse a un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 2.
5. Un anticuerpo aislado o purificado o un fragmento del mismo según la reivindicación 4, en donde el fragmento de anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en Fab, Fd, Fv, F(ab')₂ y scFv.
6. Un complejo inmunitario que incluye la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 9 y un anticuerpo aislado o purificado o un fragmento del mismo según la reivindicación 4 ó 5, en donde el anticuerpo o el fragmento del mismo se une a la SEQ ID NO: 2 en cualquiera de las SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 9.
7. Un método para determinar si una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo, que incluye:
 - poner en contacto una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular *in vitro* con un anticuerpo o con un fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 4 o 5 en condiciones para formar un complejo inmunitario con un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo, y
 - detectar si se ha formado un complejo inmunitario,
 en donde la detección de un complejo inmunitario determina que una célula, un tejido o un fluido corporal extracelular incluye un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo.
8. Un método para determinar si un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo, que incluye:
 - poner en contacto un fluido corporal extracelular *in vitro* con un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en condiciones para formar un complejo inmunitario, y
 - detectar si se ha formado un complejo inmunitario entre el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo,
 en donde la detección de un complejo inmunitario determina que un fluido corporal extracelular contiene un anticuerpo contra un receptor P2X7 que no se une a ATP, un monómero o un fragmento del mismo.
9. Una composición farmacéutica que incluye un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 4 o 5, junto con un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
10. Una composición farmacéutica que incluye un péptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 junto con un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. Uso de un anticuerpo según la reivindicación 4 o 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
12. Un anticuerpo según la reivindicación 4 o 5 para su uso en el tratamiento del cáncer.

Figura 1: SEQ ID NO: 1

1 MPACCSCSDV FQYETNKVTR IQSMNYGTIK WFFHVIIFS Y VCFALVSDKL YQRKEPVISS
 61 VHTKVKGIAE VKEEIVENG V KKLVSFVDT ADYTFPLQGN SFFVMTNFLK TEGQEQR LCP
 121 EYPTRRTLCS SDRGCKKGWM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRPA
 181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRN ILP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD
 241 NFSDVAIQGG IMGIEIYWD C NLDRWFHHC R PKYSFRR LDD KTTNVS LYPG YNFRYAK YKY
 301 ENNVEKRTL I KVFGRFDIL VFGTGGKFDI IQLVVYIGST LSYFGLAAVF IDFLIDTYSS
 361 NCCRSHIYPW CKCCQPCVVN EYYYRKKCES IVEPKPTLKY VSFVDESHIR MVNQQLGRS
 421 LQDVKGQEV P RPAMDFTDLS RLPLALH DTP PIPGQPEEQ LLRKEATPRS RDSPVWCQCG
 481 SCLPSQLPES HRCLEELCCR KKP GACITTS ELFRKLVLSR HVLQFLLLYQ EPLLALDVDS
 541 TNSRLRH CAY R CYATWRFGS QDMADFA ILP SCCRWIRKE FPKSEGQYSG FKSPY

Figura 2: SEQ ID NO:2

KYYKENNVEKRTLIVF

Figura 3: SEQ ID NO:3

KTTNVSLYPGYNFRYAKYYKENNVEKRTLIVFGIRFDILVFGTGGKFD

Figura 4: SEQ ID NO:4

MTPGDHSWGN SFFVMTNFLK TEGQEQLCP

121 EYPTRTLCS SDRGCKKGMM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRPA

181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRNLP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD

241 NFSDVAIQGG IMGIEIYWDC NLDRWFHCR PKYSFRRLDD KTTNVSLYPG YNFRYAKYYK

301 ENNVEKRTLI KVFIRFDIL VFGTGGKFDI IQLVYIGST LSYFGLAAVF IDFLIDTYSS

361 NCCRSHIYPW CKCCQPCVN EYYRKKCES IVEPKPTLKY VSFVDESHIR MVNQQLGRS

421 LQDVKGQEV RPAMDFTDLS RLPLALHOTP PIPGQPEEQ LLRKEATPRS RDSPVWCQCG

481 SCLPSQLPES HRCLEELCCR KKPACITTS ELFRKLVLSR HVLQFLLLYQ EPLLALDVDS

541 TNSRLRHCAI RCYATWRFGS QDMADFAILP SCCRWIRKE FPKSEGQYSG FKSPY

Figura 5: SEQ ID NO:5

MDGPAEQRPA

181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRNILP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD

241 NFSDVAIQGG IMGIEIYWDC NLD RWFHCR PKYSFRRLDD KTTNVS LYPG YNFRYAKYYK

301 ENNVEKRTL I KVF GIRFDIL VFGTGGKFDI IQLVVYIGST LSYFGLAAVF IDFLIDTYSS

361 NCCRSHIYPW CKCCQPCVVN EYYRKKCES IVEPKPTLKY VSFVDESHIR MVNQQLGRS

421 LQDVKGQEV P RPAMDFTDLS RLPLALH DTP PIPGQPEEQ LLRKEATPRS RDSPVWCQCG

481 SCLPSQLPES HRCLEELCCR KKPGACITTS ELFRKLVLSR HVLQFLLLYQ EPLLALDVDS

541 TNSRLRH CAY RCYATWRFGS QDMADFAILP SCCRWIRKE FPKSEGQYSG FKSPY

Figura 6: SEQ ID NO:6

1 MPACCS CSDV FQYETNKVTR IQSMNYGTIK WFFHVIIFY VCFALVSDKL YQRKEPVISS

61 VHTKVKGIAE VKEEIVENG V KKL VHSVFD T ADYTFPLQGN SFFVMTN FLK TEGQEQR LCP

121 EYPTRTLCS SDRGCKKGWM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRPA

181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRNILP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD

241 NFSDVAIQGG IMGIEIYWDC NLD RWFHCR PKYSFRRLDD KTTNVS LYPG YNFRYAKYYK

301 ENNVEKRTL I KVF GIRFDIL VFGTGGKFDI IQLVVYIGST LSYFGLVRDS EGSD

Figura 7: SEQ ID NO:7

M WQFRYAKYYK

301 ENNVEKRTLI KVFGIRFDIL VFGTGGKFDI IQLVVIIGST LSYFGLAAVF IDFLIDTYSS

361 NCCRSHIYPW CKCCQPCVVN EYYRKKCES IVEPKPTLKY VSFVDESHIR MVNQQLGRS

421 LQDVKGQEVV RPAMDFTDLS RLPLALHDTF PIPGQPEEQ LLRKEATPRS RDSPVWCQCG

481 SCLPSQLPES HRCLEELCCR KKPACITTS ELFRKLVLSR HVLQFLLLYQ EPLLALDVDS

541 TNSRLRHAY RCYATWRFVS QDMADFAILP SCCRWIRKE FPKSEGQYSG FKSPY

Figura 8: SEQ ID NO:8

1 MPACCSCSDV FQYETNKVTR IQSMNYGTIK WFFHVIIFS Y VCFALVSDKL YQRKEPVISS

61 VHTKVKGIAE VKEEIVENG KKLVSFVDT ADYTFPLQGN SFFVMTNFK TEGQEQLCP

121 EYPTRRTLCS SDRGCKKGWM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRA

181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTT

241 YAKYYK

301 ENNVEKRTLI KVFGIRFDIL VFGTGGKFDI IQLVVIIGST LSYFGLVRDS LFHALGKWFG

361 EGSD

Figura 9: SEQ ID NO:9

61 MTPGDHSWGN SFFVMTNFLK TEGQEQLCP
 121 EYPTRRTLCS SDRGCKKGWM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRPA
 181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRNILP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD
 241 NFSDVAIQGG IMGIEIYDC NLDWFHCR PKYSFRLDD KTTNVSYPG YNFRYAKYYK
 301 ENNVEKRTLI KVFGRFDIL VFGTGGKFDI IQLVYIGST LSYFGLVRDS LFHALGKWFG
 361 EGSD

Figura 10: SEQ ID NO:10

1 MPACCSCSDV FQYETNKVTR IQSMNYGTIK WFFHVIIFY VCFALVSDKL YQRKEPVISS
 61 VHTKVKGIAE VKEEIVENG V KKLVSFVDT ADYTFPLQGN SFFVMTNFLK TEGQEQLCP
 121 EYPTRRTLCS SDRGCKKGWM DPQSKGIQTG RCVVHEGNQK TCEVSAWCPI EAVEEAPRPA
 181 LLNSAENFTV LIKNNIDFPG HNYTTRNILP GLNITCTFHK TQNPQCPIFR LGDIFRETGD
 241 NFSDVAIQIR QVLQKQC

Figura 11: SEQ ID NO:11

1 MPACCSCSDV FQYETNKVTR IQSMNYGTIK WFFHVIIFS Y VCFALVSDKL YQRKEPVISS
61 VHTKVKGIAE VKEEIVENG V KKLVHSVFD T ADYTFPLQGN SFFVMTNFLK TEGQEQLCP
121 EEF RPEGV

Figura 12: SEQ ID NO:12

GHNYTTRN ILPGLNITC

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- WO 02057306 A [0008]
- WO 2007027957 A [0008]
- US 6306393 B [0091]
- US 6329503 B [0091]
- WO 2007905018 A [0141]

Literatura diferente de patentes citada en la descripción

- CHEEWATRAKOOLPONG et al. *Biochem. & Biophys. Res. Comm.*, 2005, vol. 332 (1), 17-27 [0008]
- BARDEN et al. *FEBS Letters*, 2003, vol. 538, 159-162 [0008]
- WORTHINGTON et al. *FEBS Letters*, 2002, vol. 512, 43-46 [0008]
- Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Mack Publishing Co, 1995 [0078]
- Handbook of Pharmaceutical Excipients. American Pharmaceutical Association, 2000 [0078]
- SLIWKOWSKY, MX et al. *Semin. Oncol.*, 1999, vol. 26 (12), 60-70 [0102]
- FINGL; WOODBURY. General Principles. *The Pharmaceutical Basis of Therapeutics*, 1975, 1-46 [0103]