

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 184**

51 Int. Cl.:

A61K 38/43 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.01.2013 PCT/EP2013/050048**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2013 WO13102641**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2013 E 13700266 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.07.2017 EP 2800580**

54 Título: **Péptidos para su uso en el tratamiento y diagnóstico de cánceres positivos a IDH1 R132H**

30 Prioridad:

05.01.2012 EP 12150298

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.11.2017

73 Titular/es:

**DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM
(50.0%)
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg, DE y
RUPRECHT-KARLS-UNIVERSITÄT HEIDELBERG
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**PLATTEN, MICHAEL;
SCHUMACHER, THERESA y
WICK, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 642 184 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

Péptidos para su uso en el tratamiento y diagnóstico de cánceres positivos a IDH1 R132H

La presente invención se refiere al campo de la terapia y diagnóstico de los tumores. Específicamente, se refiere a un péptido que comprende al menos 8 aminoácidos de longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la Isocitrato deshidrogenasa Tipo I (IDH1) humana, en la que dicho péptido tiene al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en la posición correspondiente a la posición 132, para su uso en la prevención y/o tratamiento de un cáncer. Se contempla adicionalmente un medicamento que comprende dicho péptido. Además, la invención se refiere a un procedimiento para diagnosticar un cáncer que se caracteriza porque tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células cancerosas que da como resultado la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R132H que comprende las etapas de poner en contacto una muestra de sangre de un sujeto sospechoso de padecer dicho tumor con un péptido que comprende al menos 10 aminoácidos de longitud que están presentes como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1, en la que dicho péptido tiene al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en una posición correspondiente a la posición 132 durante un tiempo y en condiciones que permitan la unión específica de un componente del sistema inmunitario al péptido, y determinar si se ha producido o no la unión de dicho componente del sistema inmunitario al péptido, en el que el cáncer se diagnostica si se ha determinado la existencia de la unión. Se proporciona también por la invención un kit y un dispositivo para llevar a cabo dicho procedimiento.

Las mutaciones en el gen que codifica la Isocitrato deshidrogenasa (IDH1) dependiente de NADP⁺ citosólico apareció como un hallazgo insospechado en el análisis de secuencia del glioblastoma (GBM) (Parsons 2008, Science 321(5897):1807-12). Estudios recientes han informado de mutaciones en el gen de IDH1 que dan como resultado un intercambio en la posición 132 en aproximadamente el 70 % de los gliomas anaplásicos y del 12 % de los glioblastomas (Balls 2008, Acta Neuropathol. 116(6):597-602, Yan 2009, N Engl J Med. 360(8):765-73, Watanabe 2009, Am J Pathol. 174(4):1149-53, De Carli 2009, N Engl J Med. 360(21):2248, Ducray 2009, N Engl J Med. 360(21):2248, Hartmann 2009, Acta Neuropathol. 118(4):469-74, Ichimura 2009, Neuro Oncol. 11(4):341-7, Sanson 2009, J Clin Oncol. 27(25):4150-4).

La Isocitrato deshidrogenasa cataliza la descarboxilación oxidativa del Isocitrato a alfa-cetoglutarato utilizando la reducción de NADP⁺ a NADPH. Las mutaciones afectan al aminoácido arginina en la posición 132 de la secuencia de aminoácidos, que pertenece a una región conservada evolutivamente localizada en el sitio de unión del Isocitrato. Las mutaciones que se informaban siempre eran heterocigotas y las alteraciones que sugerían una inactivación proteica, tales como un sitio de corte o empalme o mutaciones sin sentido, no se detectaron, por lo tanto daban pie a especulaciones sobre una naturaleza activadora de la mutación. Sin embargo, la medición de la actividad enzimática demostraba un efecto inactivador de la mutación (Yan 2009, N Engl J Med. 360 (8):765-73). Sin embargo, el papel de la IDH1 en el desarrollo y/o la progresión del cáncer siguen sin aclararse.

Las mutaciones de la IDH1 se producen con alta frecuencia en los gliomas difusos de grado II y III de la OMS. El 93 % de todas las mutaciones de la IDH1 se caracterizan por un intercambio de aminoácidos R132H (Hartmann 2009, Acta Neuropathol. 118(4):469-74).

Las terapias eficaces contra los tipos de cáncer mencionados anteriormente y otros, que se acompañan por IDH1 R132H serían muy deseables ya que estos cánceres son muy a menudo cánceres agresivos con un pronóstico de resultado malo.

Las medidas de diagnóstico actuales para los tipos de cáncer mencionados anteriormente y, en particular, los medios de diagnóstico para determinar si el cáncer se acompaña por una mutación IDH1 R132H, se basan fundamentalmente en estrategias de secuenciación del ADN genómico o procedimientos de tinción inmunohistoquímica (véase, por ejemplo, el documento EP 2 256 214 A2). Ambas técnicas, sin embargo, necesitan muestras tisulares apropiadas del tejido canceroso que se pueden obtener, solamente, mediante una biopsia molesta y potencialmente peligrosa. Por lo tanto, una medida de diagnóstico fiable y eficaz para estos tipos de cáncer también sería deseable.

El problema técnico en que se basa la presente invención se puede ver como la provisión de medios y procedimientos terapéuticos y diagnósticos que satisfagan las necesidades mencionadas anteriormente. El problema técnico se resuelve mediante las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y en el presente documento posteriormente.

La presente invención, por lo tanto, se refiere a un péptido que comprende al menos 8 aminoácidos de longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la Isocitrato deshidrogenasa Tipo 1 (IDH1) humana, en la que dicho péptido tiene al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en la posición correspondiente con la posición 132, para su uso en la prevención y/o tratamiento del cáncer. La invención se define en las reivindicaciones. El término "péptido" como se utiliza en el presente documento se refiere a una molécula orgánica pequeña en la que los aminoácidos están unidos covalentemente por enlaces peptídicos. Al contrario que los polipéptidos (proteínas), los péptidos simplemente consisten en de 2 a aproximadamente 100 aminoácidos. Los péptidos, debido a su pequeño tamaño, son habitualmente moléculas biodisponibles, es decir, pueden entrar en la

- mayoría de los tejidos de un organismo e incluso pueden entrar en las células. El péptido de acuerdo con la presente invención comprende al menos 8 aminoácidos de longitud. Por lo tanto, el péptido puede consistir esencialmente en desde al menos 8 a aproximadamente 100 aminoácidos, preferentemente, desde al menos 8 a aproximadamente 50 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 40 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 35 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 30 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 25 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 20 aminoácidos, desde al menos 8 a aproximadamente 15 aminoácidos o desde al menos 8 a al menos 10 aminoácidos de longitud. El término "aproximadamente" como se utiliza en este contexto se refiere a un número de aminoácidos, que difiere del número precisado por +/- uno, es decir, un aminoácido más o un aminoácido menos. Preferentemente, se pretende el número precisado.
- La expresión "Isocitrato deshidrogenasa Tipo 1" o "IDH1" como se utiliza en el presente documento se refiere a una enzima que está implicada fisiológicamente en el ciclo del ácido cítrico en el que cataliza la descarboxilación oxidativa del Isocitrato por la que se produce alfa-cetoglutarato y CO₂. La reacción necesita la conversión de NAD⁺ a NADH. Otra isoforma de la enzima que se prefiere de acuerdo con la invención cataliza la misma reacción en el citosol así como en la mitocondria y/o peroxisomas utilizando el NADP⁺ como cofactor mejor que el NAD⁺. Como se hace referencia a la IDH1 en el presente documento, preferentemente es la IDH1 humana que tiene una secuencia de aminoácidos como la que se desvela en Kim et al. (Kim 1995, Biochem J 308(Pt1): 63-68) o como están disponibles con los números de registro de NC-BI/Genbank CAG46496.1, GI: 49456351; CAG38738.1, GI: 49168486; CAG38553.1, GI: 49065470; o AAH12846.1, GI: 15277488. Sin embargo, el término engloba también variantes de dicha IDH1 humana que se caracteriza por la secuencia de aminoácidos específica mencionada anteriormente. Dichas variantes pueden ser ortólogos, parálogos u homólogos, en general. Como se hace referencia a una variante en el presente documento, tiene una secuencia de aminoácidos que se diferencia de la secuencia de aminoácidos específica a la que se hace referencia anteriormente por la sustitución, adición y/o eliminación de al menos un aminoácido. Preferentemente, dicha secuencia de aminoácidos variante es al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica en su longitud completa con la secuencia de aminoácidos específica mencionada anteriormente. Preferentemente, el grado de identidad se puede determinar comparando dos secuencias óptimamente alineadas en una ventana de comparación, donde el fragmento de secuencia de aminoácido de la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (por ejemplo, huecos o protuberancias) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para el alineamiento óptimo. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que existen aminoácidos idénticos en ambas secuencias para dar el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para dar el porcentaje de identidad de secuencia. El alineamiento óptimo de secuencias para la comparación se tiene que llevar a cabo mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman Add. APL. Math. 2:482 (1981), por el algoritmo de homología de alineamiento de Needleman y Wunsch J. Mol. Biol. 48:443 (1970), por el procedimiento de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85: 2444 (1988), por programas computarizados de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST, PASTA, y TFASTA del Paquete de Software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante inspección visual. Debido a que las dos secuencias se han identificado por comparación, se emplean preferentemente GAP y BESTFIT para determinar su alineamiento óptimo y, por lo tanto, el grado de identidad. Preferentemente, se utilizan los valores por defecto 5.00 para el peso de los huecos y 0.30 para el peso de la longitud de huecos. Preferentemente, la variante tiene las actividades enzimáticas a las que se ha hecho referencia anteriormente y esencialmente las mismas propiedades inmunológicas que la IDH1 humana a la que se ha hecho referencia anteriormente.
- El péptido de la invención comprenderá al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en la posición correspondiente con la posición 132. Preferentemente, el péptido puede comprender en al menos los 8 aminoácidos que están presentes como la secuencia de aminoácidos contigua de la IDH1 humana un intercambio de R por H como único intercambio en la posición correspondiente a la posición 132 de la IDH1 humana como se ha especificado en otro sitio del presente documento. Sin embargo, el péptido puede comprender intercambios adicionales, preferentemente uno o dos intercambios adicionales o incluso más.
- Preferentemente, al menos están presentes 8 de los aminoácidos del péptido de la invención como la secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1 humana. En consecuencia, el péptido de la presente invención puede consistir esencialmente en una secuencia de aminoácidos derivada de la IDH1 humana o puede consistir en la secuencia de aminoácidos que comprende un tramo de 8 o más aminoácidos derivados de la IDH1 humana y otro tramo de aminoácidos que no están presentes en la IDH1 humana.
- Preferentemente, el péptido de la invención consiste en entre 8 y 40 aminoácidos de longitud, el péptido consiste en entre 8 a 35 aminoácidos, entre 8 a 30 aminoácidos, entre 8 a 25 aminoácidos, entre 8 a 20 aminoácidos, entre 8 a 15 aminoácidos o entre 8 a 10 aminoácidos de longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1 humana.
- El número de aminoácidos preciso para el péptido en general así como el número de aminoácidos derivados de la secuencia de aminoácidos de la IDH1 humana puede determinarlos un experto dependiendo del uso previsto. En este contexto, el experto es bien consciente del hecho de que la respuesta inmunitaria puede optimizarse variando la longitud total del péptido o la longitud del tramo de aminoácidos contiguos de la IDH1 diana.

Preferentemente, el péptido de la presente invención comprende o consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos que se selecciona de entre el grupo que consiste en:

- a) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 118 a 132 (SEQ ID NO: 1);
- b) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 120 a 134 (SEQ ID NO: 2);
- c) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 122 a 136 (SEQ ID NO: 3);
- d) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 124 a 138 (SEQ ID NO: 4);
- e) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 126 a 140 (SEQ ID NO: 5);
- f) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 128 a 142 (SEQ ID NO: 6);
- g) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 130 a 144 (SEQ ID NO: 7);
- h) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 132 a 146 (SEQ ID NO: 8); y
- i) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 123 a 142 (SEQ ID NO: 9).

El término “cáncer” como se utiliza en el presente documento se refiere a una neoplasia maligna que da como resultado el crecimiento no deseado, la invasión, y en ciertas condiciones la metástasis de células alteradas en un organismo. Las células que dan lugar al cáncer están alteradas genéticamente y habitualmente han perdido la capacidad para controlar la división celular, el comportamiento de migración celular, estado de diferenciación, y/o la maquinaria de muerte celular. La mayoría de los cánceres forman un tumor excepto algunos cánceres hematopoyéticos, tales como la leucemia, que no. Preferentemente, dicho cáncer es un cáncer caracterizado por que tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células cancerosas que da como resultado en la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R132H. Si un cáncer tiene una mutación en al menos algunas de las células cancerosas como se ha especificado anteriormente puede determinarlo un experto por técnicas basadas en PCR y/o detección basada en la secuenciación. Además, también se pueden aplicar los procedimientos de la invención a los que se hace referencia en cualquier sitio del presente documento.

Más preferentemente, dicho cáncer es un tumor y, preferentemente, es un glioma. Se ha informado de que los gliomas comprenden frecuentemente células o incluso consisten en células que comprenden la mutación de IDH1 mencionada anteriormente. Más preferentemente, dicho glioma es un astrocitoma, oligodendroglioma, oligoastrocitoma, glioblastoma, o gliosarcoma OMS II u OMS III.

Además, preferentemente, el cáncer al que se hace referencia en el presente documento es, también preferentemente, una leucemia mieloide aguda, un síndrome mielodisplásico, o un tumor neuroepitelial disembrionario. Los síntomas que acompañan los tipos de cáncer mencionados anteriormente se conocen bien en la técnica y puede determinarlos un experto sin más preámbulos. Los detalles de los tipos de cáncer pueden encontrarse en libros de texto de medicina, por ejemplo, Pschyrembl o Stedman.

El término “prevenir” como se utiliza en el presente documento se refiere a la prevención del desarrollo de una enfermedad a la que se hace referencia en el presente documento. Dicha prevención se consigue preferentemente durante cierta ventana de tiempo de la administración del péptido de la invención. Preferentemente, dicha ventana de tiempo es al menos de 1 año, al menos 2 años, al menos 5 años, a 10 años o más hasta la esperanza de vida restante completa del sujeto que recibió el tratamiento preventivo al que se ha hecho referencia anteriormente. Se entenderá que un tratamiento preventivo al que se hace referencia en el presente documento, no será, con toda probabilidad, satisfactorio en todos los sujetos que reciben el tratamiento. Sin embargo, se prevé que el tratamiento preventivo es eficaz en al menos una parte estadísticamente significativa de los sujetos que son tratados. Si una parte estadísticamente significativa, por ejemplo, de una cohorte de sujetos, puede prevenirse satisfactoriamente, se puede determinar, preferentemente, por ensayos estadísticos tratados en otra parte del presente documento con más detalle.

El término “tratar” como se utiliza en el presente documento se refiere a la mejoría y/o la cura de una enfermedad a la que se hace referencia en el presente documento, evitar la progresión de la enfermedad o al menos una mejora de al menos un síntoma asociado con dicha enfermedad. Se entenderá que un tratamiento al que se hace referencia en el presente documento, no será satisfactorio, con toda probabilidad, en todos los sujetos que reciben el tratamiento. Sin embargo, se prevé que el tratamiento es eficaz para al menos una parte estadísticamente significativa de los sujetos que son tratados. Si una parte estadísticamente significativamente, por ejemplo, de una cohorte de sujetos, puede tratarse satisfactoriamente, se puede determinar preferentemente, por ensayos estadísticos tratados en otra parte del presente documento con más detalle.

El péptido de acuerdo con la presente invención se proporcionará para su uso en el tratamiento y/o la prevención del

cáncer, es decir, se fabricará un medicamento, por ejemplo, comprendido en una composición farmacéutica. Los detalles de dicho medicamento o composición farmacéutica se encuentran en otro sitio del presente documento. El péptido para utilizarse de acuerdo con la presente invención también se puede aplicar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención del cáncer. En consecuencia, la invención también contempla un procedimiento para el tratamiento y/o prevención del cáncer en un sujeto que lo padece que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz del péptido como se define en el presente documento.

Ventajosamente, se ha descubierto en los estudios en los que se basa la presente invención que el péptido de la presente invención se puede utilizar para producir una respuesta inmunitaria contra la IDH1 R132H mutante específicamente. En consecuencia, las células cancerosas que expresan la IDH1 mutada serán atacadas por respuestas celulares y humorales del sistema inmunitario que darán como resultado una forma eficaz de tratamiento y/o prevención específicos para los tipos de cáncer a los que se hace referencia en el presente documento que se sabe que están asociados con la mutación de IDH1 mencionada anteriormente.

Las explicaciones y comentarios que se han hecho anteriormente en el presente documento se aplican mutatis mutandis en las realizaciones de la invención descritas a continuación.

La presente invención se refiere a un medicamento que comprende el péptido de la invención y, preferentemente, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término "medicamento" como se utiliza en el presente documento, en un aspecto, se refiere a una composición farmacéutica que contiene el péptido al que se hace referencia anteriormente como compuesto farmacéuticamente activo, en el que la composición farmacéutica se puede utilizar para terapia humana o no humana de distintas enfermedades o trastornos en una dosis terapéuticamente eficaz. El péptido, preferentemente, puede estar presente en forma líquida o liofilizada. El medicamento, preferentemente, es para su administración tópica o sistémica. Convencionalmente, un medicamento se administrará por vía intramuscular o subcutánea. Sin embargo, dependiendo de la naturaleza y el modo de acción de un compuesto, el medicamento se puede administrar también por otras vías. El péptido es el principio activo de la composición, y, preferentemente, se administra en formas de dosificación convencionales preparadas combinando el fármaco con vehículos farmacéuticos convencionales de acuerdo con procedimientos convencionales.

Un vehículo tiene que ser aceptable en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no sea perjudicial para el receptor del mismo. El vehículo farmacéutico empleado puede incluir un sólido, gel o un líquido. Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato magnésico, ácido esteárico y similares. Ejemplos de vehículos líquidos son solución salina tampón de fosfato, jarabe, aceite, agua, emulsiones, distintos tipos de agentes humectantes, y similares. De manera similar, el vehículo o disolvente puede incluir un material de retraso en el tiempo bien conocido en la técnica tal como el monoestearato de glicerilo, o diestearato de glicerilo solo o con una cera. Dichos vehículos adecuados comprenden los que se han mencionado anteriormente y otros bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.

Un disolvente se selecciona de manera que no afecte la actividad biológica de la combinación. Ejemplos de dichos diluyentes son el agua destilada, solución salina fisiológica, soluciones de Ringer, solución de dextrosa, y solución de Hank. Además, la composición farmacéutica o formulación puede incluir también otros vehículos, adyuvantes, o estabilizantes no tóxicos, no terapéuticos, no inmunogénicos y similares.

Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a una cantidad del péptido que se va a utilizar en un medicamento de la presente invención que evita, mejora o trata los síntomas que acompañan una enfermedad o afección a la que se hace referencia en la presente memoria descriptiva. La eficacia terapéutica y toxicidad del compuesto se puede determinar por procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, la DE50 (dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población) y la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y tóxicos es el índice terapéutico, y se puede expresar como la relación, DL50/DE50. El régimen de dosificación lo determinará el médico encargado y otros factores clínicos. Como se conoce bien en la técnica médica, las dosificaciones para un paciente cualquiera depende de muchos factores, que incluyen el tamaño, superficie de área corporal, edad del paciente, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, tiempo y vía de administración, salud general, y otros fármacos que se administren al mismo tiempo. El progreso se tiene que controlar mediante evaluaciones periódicas. El medicamento al que se hace referencia en el presente documento se administra al menos una vez con el fin de tratar o mejorar o prevenir una enfermedad o condición enumerada en la presente memoria descriptiva. Sin embargo, dicho medicamento se puede administrar más de una vez. Los medicamentos específicos se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprende al menos un principio activo al que se ha hecho referencia anteriormente en el presente documento mezclado o asociado de otra manera con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Para fabricar las composiciones farmacéuticas específicas, los principios activos habitualmente se mezclarán con un vehículo o diluyente. Las formulaciones resultantes se tienen que adaptar al modo de administración. Las recomendaciones de dosificación serán indicadas en las prescripciones o instrucciones para el usuario con el fin de anticipar ajustes de dosis dependiendo del receptor que se considere.

El medicamento de acuerdo con la presente invención también puede comprender fármacos además del antagonista de la presente invención, que se añaden al medicamento durante su formulación.

Finalmente, se tiene que entender que la formulación de un medicamento tiene lugar en las condiciones GMP convencionales o similares con el fin de asegurar, la calidad, seguridad farmacéutica, y la eficacia del medicamento.

- 5 La presente invención también se refiere a un procedimiento para el diagnóstico del cáncer que se caracteriza por que tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células cancerosas lo que da como resultado la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R132H que comprende las etapas de:

- 10 a) poner en contacto una muestra de sangre de un sujeto sospechoso de padecer dicho cáncer con un péptido que comprende al menos 10 aminoácidos de longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1, en el que dicho péptido tiene al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en una posición correspondiente a la posición 132 durante un tiempo y en condiciones que permitan la unión específica de un componente del sistema inmunitario al péptido; y
b) determinar si se ha producido o no la unión de dicho componente del sistema inmunitario al péptido, en el que el cáncer se diagnostica si se ha determinado la existencia de la unión.

- 15 El procedimiento de la presente invención se va a llevar a cabo en una muestra aislada de un sujeto, es decir, es un procedimiento ex vivo. Además, el procedimiento puede ayudarse por medios automáticos sea completamente o al menos en partes. Por ejemplo, las etapas a) y b) se pueden llevar a cabo mediante un dispositivo como se especifica en otro sitio del presente documento. Además, las etapas de diagnóstico actuales pueden establecerse mediante un programa de computadora adecuado que basándose en la existencia de la unión indique el diagnóstico del cáncer en un formato de resultado adecuado.

- 20 El término “diagnóstico” como se utiliza en el presente documento significa la evaluación de si un sujeto padece un cáncer, o no. Como entenderán los expertos en la técnica, dicha evaluación habitualmente no pretende ser correcta para todos (es decir, el 100 %) de los sujetos que se van a identificar. El término, sin embargo, necesita que una parte estadísticamente significativa de los sujetos se puedan identificar (por ejemplo, una cohorte en un estudio de la cohorte). El experto en la técnica puede determinar si una parte es estadísticamente significativa sin más preámbulos utilizando distintas herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo, la determinación de los intervalos de confianza, la determinación del valor de p, el t-test de Student, el ensayo de Mann-Whitney, etc. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos del 90 %, al menos del 95 %, al menos del 97 %, al menos del 98 %, o al menos del 99 %. Los valores de p son, preferentemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,001. Más preferentemente, al menos del 60 %, al menos del 70 %, al menos del 80 % o al menos del 90 % de los sujetos de una población pueden identificarse apropiadamente mediante el procedimiento de la presente invención. El diagnóstico de acuerdo con la presente invención incluye las aplicaciones del procedimiento en el control, confirmación, y sub-clasificación del cáncer relevante.

- 35 Además, el diagnóstico incluye también el establecimiento de un pronóstico para un sujeto. Un sujeto que se diagnostica que padece un cáncer de acuerdo con el procedimiento de la presente invención tendrá células cancerosas que expresan el polipéptido IDH1 R132H. La presencia de dicha IDH1 mutante es un indicador predictivo de un resultado posiblemente malo en los sujetos. Por lo tanto, el procedimiento de la presente invención también se puede aplicar en estrategias de estratificación del riesgo y, por lo tanto, para determinar la cantidad de cuidados intensivos y hospitalización que serán necesarios para un sujeto individual que padece cáncer.

La expresión “muestra de sangre” como se utiliza en el presente documento se refiere a una muestra de sangre completa o una fracción de la misma. Las fracciones de sangre completa pueden ser fracciones que comprenden células tales como leucocitos o fracciones que esencialmente están libres de células, tal como plasma o suero.

- 45 La expresión “componente del sistema inmunitario” como se utiliza en el presente documento se refiere a componentes no celulares del sistema inmunitario.

- Los componentes no celulares de acuerdo con la presente invención engloban los que son capaces de unirse específicamente a un péptido antigénico. Por lo tanto, preferentemente, dicho componente del sistema inmunitario es un anticuerpo comprendido en la muestra de sangre. Un anticuerpo al que se hace referencia en este contexto, preferentemente, es un anticuerpo que existe en la sangre de un sujeto y que se une específicamente a los péptidos de la IDH1 a la que se hace referencia en el presente documento de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. Los anticuerpos que pueden existir en la sangre de un sujeto, preferentemente, son anticuerpos del isotipo IgG o IgM.

- 55 Si se va a determinar un componente no celular del sistema inmunitario de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, dicho péptido que se va a aplicar el procedimiento, preferentemente, consiste en entre 10 y 20 aminoácidos en longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1 humana y comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de entre el grupo que consiste en:

- a) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 118 a 132 (SEQ ID NO: 1);

- b) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 120 a 134 (SEQ ID NO: 2);
- c) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 122 a 136 (SEQ ID NO: 3);
- d) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 124 a 138 (SEQ ID NO: 4);
- e) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 126 a 140 (SEQ ID NO: 5);
- f) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 128 a 142 (SEQ ID NO: 6);
- g) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 130 a 144 (SEQ ID NO: 7); y
- h) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 132 a 146 (SEQ ID NO: 8).

El componente celular al que se hace referencia de acuerdo con la presente invención como componente del sistema inmunitario es una célula del sistema inmunitario que es capaz de unirse específicamente a un péptido antigénico. Las células del sistema inmunitario capaces de unirse específicamente a un péptido antigénico, preferentemente, son linfocitos T, linfocitos B, o células dendríticas. Más preferentemente, el componente del sistema inmunitario es un linfocito y, más preferentemente, un linfocito T positivo a CD4, un linfocito T positivo a CD8, o un linfocito B comprendido en la muestra de sangre.

Si se va a determinar un componente celular del sistema inmunitario de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, dicho péptido que se va a aplicar en el procedimiento, preferentemente, consiste entre 10 y 20 aminoácidos de longitud que están presentes como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1 humana y comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de entre el grupo que consiste en:

- a) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 118 a 132 (SEQ ID NO: 1);
- b) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 120 a 134 (SEQ ID NO: 2);
- c) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 122 a 136 (SEQ ID NO: 3);
- d) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 124 a 138 (SEQ ID NO: 4);
- e) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 126 a 140 (SEQ ID NO: 5);
- f) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 128 a 142 (SEQ ID NO: 6);
- g) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 130 a 144 (SEQ ID NO: 7);
- h) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 132 a 146 (SEQ ID NO: 8);
- i) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 123 a 132 (SEQ ID NO: 10);
- j) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 124 a 133 (SEQ ID NO: 11);
- k) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 125 a 134 (SEQ ID NO: 12);
- l) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 126 a 135 (SEQ ID NO: 13);
- m) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 127 a 136 (SEQ ID NO: 14);
- n) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 128 a 137 (SEQ ID NO: 15);
- o) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 129 a 138 (SEQ ID NO: 16);
- p) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 130 a 139 (SEQ ID NO: 17);
- q) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 131 a 140 (SEQ ID NO: 18); y
- r) una secuencia de aminoácidos que consiste en los aminoácidos 132 a 141 (SEQ ID NO: 19).

El término "sujeto" como se utiliza en el presente documento se refiere a animales, preferentemente mamíferos, y más preferentemente, seres humanos. Preferentemente, el procedimiento de la presente invención se aplicará a sujetos sospechosos de padecer cualquiera de los tipos de cáncer mencionados anteriormente a la luz de síntomas clínicamente aparentes o sujetos sospechosos de padecer dicho cáncer debido al aumento de una predisposición potencial.

Los péptidos adecuados comprenden al menos 10 aminoácidos de longitud que están presentes como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1, en la que dichos péptidos tienen al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en una posición correspondiente con la posición 132 se especifican en otra parte del presente documento. Los péptidos específicamente preferidos se han detallado anteriormente.

Poner en contacto la muestra, como se hace referencia en el presente documento se refiere a poner en contacto físico el péptido y la muestra permitiendo de esta manera la unión específica de un componente del sistema inmunitario comprendido en la muestra, o no, con el péptido. Se entenderá que poner en contacto como significa en el presente documento se lleva a cabo durante un tiempo y en condiciones suficientes para permitir que el componente se una específicamente al péptido. Dependiendo de la naturaleza de la muestra, pueden ser necesarias unas etapas de pre-tratamiento de manera que el componente tenga acceso y se pueda unir específicamente al péptido. Además, dependiendo del tipo de muestra, la manipulación puede ser diferente. Por ejemplo, si el componente del sistema inmunitario es un componente no celular como se ha especificado en otro sitio del presente documento, se puede obtener primero el suero o plasma de una muestra de sangre completa. Si el componente es un componente celular, puede ser necesaria la concentración y/o separación de las células apropiadas. Preferentemente, el péptido que se va a poner en contacto con la muestra de sangre está inmovilizado en un soporte sólido. Preferentemente, la inmovilización permite llevar a cabo etapas de lavado que retiren la muestra de sangre tras la puesta en contacto con el fin de mejorar la sensibilidad y/o especificidad de la detección y con el fin de eliminar el ruido de fondo. Además, dicha etapa de puesta en contacto se puede llevar a cabo de manera automática, preferentemente, en una unidad de análisis de un dispositivo como se especifica en otro sitio del presente documento. Sin embargo, también preferentemente, los componentes del sistema inmunitario presentes en una muestra de sangre se pueden inmovilizar y ponerlos en contacto con, por ejemplo, una solución

que comprende el péptido.

Se entenderá que al ponerse en contacto, se necesita determinar si se ha producido o no la unión de dicho componente del sistema inmunitario al péptido. La determinación de la unión del componente al péptido como se utiliza en el presente documento se puede conseguir por procedimientos de detección adecuados que permitan la detección de si se ha formado un complejo del componente y el péptido o si el componente está presente, por ejemplo tras el lavado, en forma inmovilizada en un soporte sólido debido a la unión con el péptido. En el primer caso, se puede utilizar un agente de detección del complejo del componente del sistema inmunitario y el péptido. En el segundo caso, se puede utilizar cualquier agente de detección del componente del sistema inmunitario. Si el componente del sistema inmunitario se inmoviliza primero y se pone en contacto posteriormente con el péptido, se puede utilizar un procedimiento que permita la detección de si se ha formado un complejo del componente y el péptido o se puede acoplar el propio péptido con un marcador detectable.

Los agentes de detección que se pueden utilizar en el procedimiento de la presente invención para la detección de un complejo del componente y el péptido o para el componente, incluyen anticuerpos, aptámeros, o cualquier otra molécula, que permita la unión específica. El agente de detección, preferentemente, está acoplado a un marcador detectable tal como un isótopo radioactivo (por ejemplo, isótopos radioactivos de yoduro de tecnecio), agentes fluorescentes o quimioluminiscentes (por ejemplo, FITC, rodamina), una enzima, que sea capaz de generar una señal detectable al convertir un sustrato (por ejemplo peroxidasa de rábano rusticano, luciferasa de luciérnaga, o beta galactosidasa), una proteína fluorescente (por ejemplo una proteína fluorescente verde, azul, o roja). Los marcadores detectables adecuados se conocen bien en la técnica. Además, el agente de detección puede ser un agente compuesto en el que un primer agente que es el que se une específicamente al componente o el complejo es capaz de atraer a uno o más agentes adicionales acoplados a un marcador detectable. Dicho agente puede ser biotina. En tal caso se puede utilizar un agente acoplado a avidina o estreptavidina que al unirse a la biotina unida al componente o complejo funcionará como un marcador detectable. Los marcadores detectables adecuados en dicho caso son los que se hace referencia anteriormente, más preferentemente, se utilizará una enzima como marcador detectable en dicho caso. Además, se puede utilizar un anticuerpo de detección que detecte el complejo o el componente. Dicho anticuerpo de detección se acoplará a un marcador detectable como se ha descrito anteriormente. Por lo tanto, en el último caso, el anticuerpo de detección al unirse al componente o el complejo generará una señal detectable. El principio de detección mediante anticuerpos se conoce bien en la técnica y se aplica de manera rutinaria. La detección de agentes mencionada anteriormente se puede aplicar mutatis mutandis para la detección del péptido, que se aplica y se une específicamente a componentes del sistema inmunitario inmovilizados.

Dependiendo del tipo de marcador detectable, se pueden aplicar diferentes procedimientos de detección utilizando un sistema lector para la señal que se genera por el marcador detectable. Dichos sistemas incluyen dispositivos lectores de la señal automáticos, tales como un lector de ELISA o RIA, para la detección manual o automática de la señal detectable. Además, el sistema de lectura puede determinar información adicional de la muestra, por ejemplo, un lector de señal automático puede determinar además biomarcadores adicionales comprendidos en la muestra.

El diagnóstico se establece o al menos se puede conseguir una ayuda para el diagnóstico del procedimiento de la invención si se determina la unión específica del péptido y el componente del sistema inmunitario.

Ventajosamente, se ha demostrado en los estudios en que se basa la presente invención que la IDH1 R132H mutante si está presente en las células cancerosas de lugar a una respuesta inmunitaria que da como resultado una respuesta inmunitaria humoral así como una respuesta inmunitaria celular. En consecuencia, se encuentran anticuerpos así como componentes celulares del sistema inmunitario, dirigidos específicamente contra la IDH1 R132H mutante y, en particular, los epítomos peptídicos que comprenden dicha mutación, en la sangre de pacientes que padecen un cáncer positivo a IDH1 R132H, tales como el glioma. Basándose en estos hallazgos, el procedimiento de la presente invención permite el diagnóstico basado en la sangre de ciertos tipos de cánceres malignos tales como el glioma y preferentemente, el astrocitoma OMS I o OMS II, oligodendroglioma, oligoastrocitoma, glioblastoma, gliosarcoma, o leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásico o tumores neuroepiteliales disembioplásicos. Además, el procedimiento de la invención permite clasificar el cáncer como un cáncer positivo a IDH1 R132H y, por lo tanto, como un estadio o clase particular maligno de cánceres que tienen un pronóstico peor. Debido a que el procedimiento utiliza como material de muestra la sangre, se pueden evitar las molestas y caras biopsias que se utilizan actualmente para el diagnóstico, por ejemplo, de los gliomas a los que se hace referencia anteriormente. El procedimiento también permita la inclusión en las estrategias clínicas de exploración de rutina.

En una realización preferida del procedimiento de la presente invención, dicho procedimiento comprende además la etapa de recomendar una terapia anti-cáncer basándose en el diagnóstico obtenido en la etapa b).

El término "recomendar" como se utiliza en el presente documento se refiere a hacer una recomendación para una terapia anti-cáncer o excluir (es decir, no recomendar) una cierta terapia anti-cáncer para un sujeto. Dicha recomendación se proveerá opcionalmente junto con otra información, por ejemplo, la información de las investigaciones histopatológicas, como base para que el clínico aplique una cierta terapia anti-cáncer para un sujeto individual, o no. Basándose en el diagnóstico establecido en la etapa b) del procedimiento de la presente invención,

es decir, el diagnóstico de “cáncer” o “no cáncer”, se hará una recomendación de una terapia anti-cáncer. Se entenderá que solo en los casos en los que se ha establecido el diagnóstico de “cáncer” por el procedimiento de la presente invención, se hará la recomendación de una terapia anti-cáncer. En los casos en los que se establezca como diagnóstico “no cáncer” basándose en el procedimiento de la presente invención, la recomendación sería abstenerse de una terapia anti-cáncer. Como se ha expuesto anteriormente, también se puede utilizar una información adicional del sujeto del que se origina la muestra para mejorar la recomendación. En un aspecto, se puede recomendar una terapia anti-cáncer combinada, por ejemplo, con diferentes fármacos anti-tumorales, si el procedimiento de la presente invención identifica células cancerosas, más si unas células cancerosas adicionales no identificadas por el procedimiento de la presente invención se detectan en el cáncer investigado, por ejemplo, por análisis histopatológicos.

La expresión “terapia anti-cáncer” como se utiliza en el presente documento engloba terapias, que son terapias basadas en cirugía, terapias basadas en radiación, terapias basadas en fármacos o combinaciones de las mismas. Dicha terapia anti-cáncer basada en fármacos es m preferentemente, terapias basadas en temolozomida o nitrosourea.

La presente invención se refiere, además, a un dispositivo para diagnosticar el cáncer que se caracteriza porque tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células cancerosas que da como resultado la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R132H, comprendiendo dicho dispositivo:

- a) una unidad de análisis que comprende un péptido que comprende al menos 8 aminoácidos de longitud que están presentes como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1, en el que dicho péptido tiene al menos un intercambio de R por H en una posición correspondiente a la posición 132 dispuesto para la detección de un componente del sistema inmunitario en una muestra de un sujeto; y
- b) una unidad de evaluación que comprende un detector capaz de detectar la unión específica del componente del sistema inmunitario a dicho péptido, en el que dicho detector genera una señal de salida que incida que se ha producido la unión específica, o no.

El término “dispositivo” como se utiliza en el presente documento se refiere a un sistema que comprende al menos la unidad de análisis mencionada anteriormente y la unidad de evaluación unida operativamente entre ellas. Cómo se unirán las unidades del dispositivo de manera operativa dependerá del tipo de unidades incluidas en el dispositivo. Por ejemplo, cuando las unidades para el análisis automático de una muestra se aplican, los datos obtenidos por dicha unidad de análisis de operación automática pueden procesarse, por ejemplo, mediante un programa de computadora con el fin de obtener los resultados deseados por la unidad de evaluación. Preferentemente, las unidades están compuestas por un único aparato en dicho caso. La unidad de análisis puede comprender el péptido en forma inmovilizada en un soporte sólido. Dicha unidad de análisis es particularmente útil para muestras líquidas. La muestra que se va a investigar con el dispositivo de la presente invención es preferentemente una muestra de sangre como se ha especificado en otra parte del presente documento. El péptido está comprendido preferentemente en forma inmovilizada en una zona de detección de la unidad de análisis de manera que se pueda aplicar una solución tal como una muestra de sangre. Además, la unidad de análisis puede comprender viales internos o externos para el lavado o la detección de las soluciones que pueda ser necesario aplicar a la zona de detección tras poner en contacto los péptidos con la muestra con el fin de que se permita una detección apropiada del componente del sistema inmunitario a los péptidos inmovilizados. La unidad de análisis también comprenderá un detector capaz de medir si se produce la unión de un componente del sistema inmunitario a los péptidos inmovilizados en la zona de detección. Los detectores adecuados pueden ser incluidos por el experto dependiendo del tipo de reacción de detección que se utilice para la medición de la unión del componente del sistema inmunitario a los péptidos inmovilizados. La unidad de evaluación, preferentemente, es una computadora o dispositivo de procesamiento de datos que comprende reglas implementadas, es decir, un algoritmo, para la evaluación de la unión determinada por la unidad de análisis evaluando de esta manera la unión en unión significativa o no significativa basándose en el tipo, fuerza de la señal. Para las muestras, que se han evaluado que muestran una unión no significativa se establecerá el diagnóstico de “no cáncer” y, preferentemente se indica en un formato de salida adecuado. Si se obtiene una unión significativa como resultado de la evaluación, se establecerá el diagnóstico de cáncer y, preferentemente, se indica en un formato de resultado adecuado.

Finalmente, la presente invención se refiere a un kit para el diagnóstico del cáncer que se caracteriza porque tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células cancerosas que da como resultado la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R132H, comprendiendo dicho kit instrucciones para llevar a cabo dicho procedimiento y un péptido que comprende al menos 10 aminoácidos de longitud que está presente como una secuencia de aminoácidos contigua en la IDH1, en el que dicho péptido tiene al menos un intercambio de aminoácidos de R por H en la posición correspondiente a la posición 132.

El término “kit” como se utiliza en el presente documento se refiere a una colección de los anticuerpos e instrucciones mencionados anteriormente proporcionados en una manera lista para su uso para diagnosticar el cáncer en una muestra. El péptido y las instrucciones, preferentemente se proporcionan en un único envase. Preferentemente, el kit comprende también componentes adicionales, que son necesarios para llevar a cabo el diagnóstico. Dichos componentes pueden ser agentes auxiliares, que sean necesarios para la detección de la unión del péptido, agentes para el pre-tratamiento de la muestra que se va a analizar o referencias de calibración.

Figuras

Figura 1: Respuesta inmunitaria restringida al MHC natural clase II contra IDH1 R132H en un paciente con un glioma mutado con IDH1 R132H. Ensayo ELISpot (a la izquierda) de la sangre periférica estimulada con el péptido IDH de tipo silvestre (ts) o mutado. Una mezcla de péptidos y la fitohemaglutinina (PHA) funcionaban como controles. Citometría de flujo (a la derecha) que analiza la expresión en la superficie celular de CD4 y CD8 en linfocitos T expandidos tras la estimulación con el péptido IDH1 R132H.

Figura 2: Epítomos IDH1 R132H inmunogénicos restringidos al MHC clase II en ratones humanizados MHC clase II. La respuesta inmunitaria periférica en ratones transgénicos desprovistos del MHC clase I y II de ratón pero transgénicos para A2 y DR1 humanos tras la inmunización con los péptidos IDH1 R132H 123-142 (panel 2), 124-138 (panel 2), 122-136 (panel 3) o falsamente inmunizados (panel 4) y re-estimulación ex vivo con las secuencias peptídicas IDH1 R132H indicadas. Los péptidos IDH1 123-142 de tipo silvestre, DMSO y un péptido de mielina inmunogénico restringido al MHC clase II (MOG) funcionaban como controles.

Figura 3: Respuesta de anticuerpos específicos de IDH1 R132H en ratones humanizados MHC clase II. Respuesta de anticuerpos IgG específicos de IDH1 R132H en el suero de ratones transgénicos desprovistos del MHC clase I y II pero transgénicos para A2 y DR1 humanos tras la inmunización con péptidos IDH1 R132H 123-142 (azul oscuro), 124-138 (verde), 122-136 (azul claro) o falsamente inmunizados (rojo) y la unión a las secuencias peptídicas IDH1 R132H indicadas. Los péptidos IDH de tipo silvestre 122-136 y 126-140, DMSO y un péptido de mielina inmunogénico restringido a MHC clase II (MOG) funcionaban como controles.

Figura 4: Respuesta de anticuerpos específica de IDH1 R132H natural en pacientes con gliomas mutados con IDH1 R132H. Respuesta de anticuerpos IgG específicos de IDH1 R132H natural contra los péptidos IDH1 R132H 126-140 en el suero de pacientes con gliomas con IDH1 mutada, gliomas IDH1 de tipo silvestre (ts), gliomas con estado IDH1 desconocido o controles sanos. La información del haplotipo del MHC clase II y el tipo de tumor se indica cuando está disponible.

Figura 5: Especificidad de epítopo de la respuesta de anticuerpos específica de IDH1 R132H en pacientes con gliomas mutados con IDH1 R132H. Respuesta de anticuerpos IgG específicos de IDH1 R132H natural contra el tipo silvestre indicado (ts) o péptidos (RH) IDH1 R132H en el suero de cinco pacientes con IDH1 R132H (codificados por color) con gliomas con IDH1 mutada.

Figura 6: La vacunación con el péptido IDH1 R132H induce respuestas Th1 y CTL

Se inmunizaron ratones A2.DR1 con 100 µg de péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ en Montanide ISA51, 300 mg de GM-CSF y 50 µl de crema Aldara (Imiquimod al 5 %) y se reforzaron tras 14 días sin GM-CSF. Los ratones de control se trataron de la misma manera sin el péptido. Tras 14 días adicionales, se extirparon los bazo y ganglios linfáticos para el análisis. A) las células de ganglios linfáticos se estimularon con 10 µg/ml de los péptidos IDH1 R132H, IDH1 ts, péptido de control negativo (MOG), con solo el vehículo o con 200 µg/ml de lisado proteico de células GL261 tratadas con IFNγ, que sobre-expresaban IDH ts o IDH1 R132H durante 38 h. Se midió la producción de IFNγ se midió por ELISpot. A la izquierda, vacunación con IDH1 R132H; derecha, vacunación con el control de vacunación. B) Se confirmó la respuesta de linfocitos T IFNγ en esplenocitos que se estimularon como en (A) y con 20 ng/ml de PMA y 1 µg/ml de ionomicina como control positivo durante 72 h. Los sobrenadantes se recolectaron y se cuantificó el IFNγ colorimétrico por triplicado en un ELISA revestido con anti-IFNγ utilizando una curva de referencia con anti-IFNγ biotinilado, estreptavidina-HRP y TMB. C) Los esplenocitos que producen IFNγ se analizaron por medio de citometría de flujo citocina. Se estimularon los esplenocitos ex vivo con IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ o el vehículo de control, se re-estimularon con 20 ng/ml de PMA y 1 µg/ml de ionomicina durante 5 h que incluyen el inhibidor de transporte de Golgi 5 µg/ml Brefeldin A par la inhibición de la secreción. Se tiñeron los marcadores de superficie CD3, CD4 y CD8, y para la tinción intracelular se permeabilizaron y fijaron y se tiñó el IFNγ. Las células se analizaron en un citómetro de flujo. Paneles superiores, ratones vacunados con IDH1 R132H; paneles inferiores, ratón vacunado con vehículo de control. Se muestran los resultados representativos de un ratón.

Figura 7: La vacunación con el péptido IDH1 R132H no induce respuestas de citocinas de Th1 ni Th17

Se inmunizaron ratones A2.DR1 con 100 µg de péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ en Montanide ISA51, 300 mg de GM-CSF y 50 µl de crema Aldara (Imiquimod al 5 %) y se reforzaron tras 14 días sin GM-CSF. Los ratones de control se trataron de la misma manera sin el péptido. Tras 14 días adicionales, se extirparon los bazo y ganglios linfáticos para el análisis. A) Los esplenocitos se estimularon con 10 µg/ml de los péptidos IDH1 R132H, IDH1 ts, péptido de control negativo (MOG), con solo el vehículo o con 20 ng/ml de PMA y 1 µg/ml de ionomicina como control positivo durante 72 h. Los sobrenadantes se recolectaron y se cuantificaron las citocinas colorimétricamente por triplicado en un ELISA revestido con anti-citocinas utilizando una curva de referencia con anticuerpo anti-citocinas biotinilado, estreptavidina-HRP y TMB. B) Los esplenocitos que producían IFNγ se analizaron por medio de citometría de flujo de la citocina. Se estimularon los esplenocitos ex vivo con IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ o el vehículo de control, se re-estimularon con 20 ng/ml de PMA y 1 µg/ml de ionomicina durante 5 h que incluía el inhibidor de transporte al Golgi 5 µg/ml Brefeldin A para la inhibición de la secreción. Se tiñeron

los marcadores de superficie CD3, CD4 y CD25, y para la tinción intracelular se permeabilizaron y fijaron y se tiñeron la IL4, IL17, y FoxP3. Las células se analizaron en un citómetro de flujo. Paneles superiores, ratones vacunados con IDH1 R132H; paneles inferiores, ratón vacunado con vehículo de control. Izquierda: Th2 y Th17; derecha: Treg. Se muestran los resultados representativos de un ratón.

Figura 8: La vacunación con el péptido IDH1 R132H induce la producción de IgG

Se inmunizaron ratones A2.DR1 con 100 µg de péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ en Montanide ISA51, 300 mg de GM-CSF y 50 µl de crema Aldara (Imiquimod al 5 %) y se reforzaron tras 14 días sin GM-CSF. Los ratones de control (DMSO) se trataron de la misma manera sin el péptido. Tras 14 días adicionales, se les extrajo sangre de la vena submandibular para la obtención de suero. El suero de los vacunados con IDH1 R132H y los ratones vacunados con el vehículo de control se ensayaron en cuanto a la IgG total unida a IDH1 (A) y los subtipos de IgG (B) en un ELISA revestido con el péptido IDH1 R132H o IDH1 ts utilizando anticuerpo anti-IgG acoplado con HRP y TMB.

Figura 9: La línea celular de linfocitos T CD4 es dependiente de DR MHC clase II y específica de la mutación

Se inmunizaron ratones A2.DR1 con 100 µg de péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ en Montanide ISA51, 300 mg de GM-CSF y 50 µl de crema Aldara (Imiquimod al 5 %) y se reforzaron tras 14 días sin GM-CSF. Los ratones de control se trataron de la misma manera sin el péptido. Tras 14 días adicionales, se extirparon los bazo y se estimularon con 10 µg/ml de IDH1 R132H. Para generar una línea celular de linfocitos T específica de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, las células se re-estimularon cada 4 semanas con esplenocitos isogénicos radiados cargados con 2 µg/ml de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ y ConA y se analizaron tras 3 re-estimulaciones. A) Se generaron 10⁵ blastos de linfocitos B a partir de los esplenocitos isogénicos durante 3 días con 2 µg/ml de LPS y 7 µg/ml de dextran sulfato, cargados con 0,1 o 1,0 µg/ml (A) IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, IDH1 ts₁₂₃₋₁₄₂, péptido de control (MOG), o con el vehículo y se utilizaron para la estimulación de 250 células de la línea celular de linfocitos T CD4+. B) La estimulación con los blastos de linfocitos B cargados con 0,1 µg/ml (A) IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, se inhibió con 0,2 µg/ml de anticuerpos bloqueantes de HLA-A o HLA-DR. La producción de IFNγ se midió tras 38 h por ELISpot. *** p<0,005. C) La expresión de CD4 por los linfocitos T específicos de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ se confirmó por tinción de los marcadores de superficie CD3, CD4, y CD25 y citometría de flujo. D) Los linfocitos T específicos de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ se estimularon durante 5 h con 20 ng/ml de PMA y 1 µg/ml de ionomicina que incluía el inhibidor de transporte de Golgi 5 µg/ml Brefeldin A para la inhibición de la secreción. Los marcadores de superficie CD3, CDD4, y CD25 se tiñeron y para la tinción intracelular se permeabilizaron y fijaron y se tiñeron el IFNγ, IL4, IL17, y FoxP3. Las células se analizaron en un citómetro de flujo. E) Los linfocitos T específicos de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ se estimularon con DC isogénico (linfocitos T: DC 1:5), que se habían generado en la médula ósea con 20 ng/ml GM-CSF durante 5 días, cargados con 4 µg/ml de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂. Para la tinción de citocinas intracelulares, las células se trataron con 5 µg/ml de Brefeldin A para la inhibición de la secreción y se tiñeron para la citometría de flujo como en (D).

Figura 10: Clon de linfocito T CD4 que es dependiente de DR MHC clase II y específico de mutación

Se generaron clones de célula única a partir de la línea celular de linfocitos T CD4+ específica de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ y se re-estimularon cada 4 semanas con esplenocitos isogénicos radiados cargados con 2 µg/ml de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ y ConA. A) Se generaron 10⁵ blastos de linfocitos B a partir de los esplenocitos isogénicos durante 3 días con 2 µg/ml de LPS y 7 µg/ml de dextran sulfato, cargados con 0,1 o 1,0 µg/ml (A) de los péptidos IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, IDH1 ts₁₂₃₋₁₄₂, control negativo (MOG) o con el vehículo y se utilizaron para la estimulación de 2500 células del clon de linfocito T CD4+. B) La estimulación con blastos de linfocitos B cargados con 0,1 µg/ml (A) de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ se inhibió con 0,2 µg/ml de anticuerpos bloqueantes de HLA-A o HLA-DR. La producción de IFNγ se midió tras 38 h por ELISpot. ** p<0,01; *** p<0,005.

Figura 11: La respuesta de IFNγ específica de IDH1 R132H en pacientes con GBM está mediada por Th-1

A) Se aislaron 10⁷ PBMC de la sangre periférica de un paciente de GBM IDH1 R132H+ y se estimularon durante 6 h con 40 µg/ml de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, péptido de control negativo MOG o 1 µg/ml de Enterotoxina B de Staphylococcus (SEB) como control positivo, y se aislaron las células que producían IFNγ mediante un ensayo de captura. Las células se marcaron con anticuerpo anti-IFNγ como reactivo de captura para capturar el IFNγ secretado en la superficie celular durante un periodo de secreción de 45 min. Las células se marcaron con un anticuerpo específico de IFNγ acoplado a PE y microperlas anti-PE y se ordenaron magnéticamente. Las productoras de IFNγ se tiñeron con los marcadores de superficie CD3, CD4, y CD8 por citometría de flujo, se utilizaron células negativas a IFNγ (APC) como controles. B) Se estimularon 5*10⁵ PBMC del mismo paciente con 20 µg/ml IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, IDH1 ts₁₂₃₋₁₄₂ o péptido de control negativo (MOG) durante 38 h y se midió la producción de IFNγ por ELISpot. ** p<0,01. C) Se tiñeron linfocitos T infiltrados en el tumor CD3+ en tejido tumoral del mismo paciente (a la izquierda) y de un paciente con glioma anaplásico (A□III).

Figura 12: Respuesta humoral y celular contra IDH1 R132H en pacientes de glioma IDH1 R132H+

A) Los sueros de pacientes de glioma IDH1 R132H+ e IDH1 ts se ensayaron en cuanto a IgG específica de IDH1 R132H con un ELISA del péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂. La placa se revistió con 1 µg del péptido IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ por pocillo, se bloqueó con un 3 % de FBS y se incubó el suero para la unión de la IgG al péptido. Se detectó la IgG colorimétricamente con un anticuerpo anti-IgG humana acoplado a HRP y TMB.

Para el control negativo, se revisitó con el péptido MOG. Se muestran los valores respecto al péptido MOG. Los datos son de un total de 50 pacientes, de los cuales 13 eran IDH1 R132H, 23 eran IDH1 ts, y 12 tenían un estatus de IDH1 desconocido. B) Se aislaron 5×10^5 PBMC de la sangre periférica de un paciente de glioma IDH1 R132H+ y se estimularon durante 38 h con 20 $\mu\text{g/ml}$ de IDH1 ts₁₂₃₋₁₄₂ o IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂ y se trataron con un anticuerpo bloqueante de HLA-DR. La producción de IFN γ se cuantificó con ELISpot. ** $p < 0,01$.

Figura 13: Establecimiento de la tinción del ensayo de captura de IFN γ IDH1 R132H y estrategia de regulación

A) Se aislaron 10^7 PBMC de la sangre periférica de pacientes con glioma IDH1 R132H+ y se estimularon durante 6 h con 40 $\mu\text{g/ml}$ de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, control negativo MOG o 1 $\mu\text{g/ml}$ de Enterotoxina B de Staphylococcus (SEB) como control positivo, y se aislaron las células productoras de IFN γ mediante el ensayo de captura. Las células se marcaron como anticuerpo anti-IFN γ acoplado a PE como reactivo de captura para capturar el IFN γ secretado en la superficie celular durante un periodo de secreción de 45 min. Las células se marcaron con anticuerpo específico de IFN γ y anti-microperlas PE y se ordenaron magnéticamente. Las células productoras de IFN γ y células negativas a IFN γ (APC) se tiñeron con marcadores de superficie CD3, CD4, y CD8 y las células muertas se marcaron con PI por citometría de flujo.

Figura 14: Ausencia de linfocitos T de respuesta a IFN γ específico de IDH1 R132H en pacientes con glioma

Se aislaron 10^7 PBMC de la sangre periférica de pacientes con glioma IDH1 R132H+ y se estimularon durante 6 h con 40 $\mu\text{g/ml}$ de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, control negativo MOG o 1 $\mu\text{g/ml}$ de Enterotoxina B de Staphylococcus (SEB) como control positivo, y se aislaron las células productoras de IFN γ mediante el ensayo de captura. Las células se marcaron como anticuerpo anti-IFN γ acoplado a PE como reactivo de captura para capturar el IFN γ secretado en la superficie celular durante un periodo de secreción de 45 min. Las células se marcaron con anticuerpo específico de IFN γ y anti-microperlas PE y se ordenaron magnéticamente. Las células productoras de IFN γ y células negativas a IFN γ (APC) se tiñeron con marcadores de superficie CD3, CD4, y CD8 y las células muertas se marcaron con PI por citometría de flujo. A) Paciente 010275, B) Paciente 270284, C) Paciente 080572.

Figura 15: Presencia de linfocitos T de respuesta a IFN γ específico de IDH1 R132H en pacientes con glioma

Se aislaron 10^7 PBMC de la sangre periférica de pacientes con glioma IDH1 R132H+ y se estimularon durante 6 h con 40 $\mu\text{g/ml}$ de IDH1 R132H₁₂₃₋₁₄₂, control negativo MOG o 1 $\mu\text{g/ml}$ de Enterotoxina B de Staphylococcus (SEB) como control positivo, y se aislaron las células productoras de IFN γ mediante el ensayo de captura. Las células se marcaron como anticuerpo anti-IFN γ acoplado a PE como reactivo de captura para capturar el IFN γ secretado en la superficie celular durante un periodo de secreción de 45 min. Las células se marcaron con anticuerpo específico de IFN γ y anti-microperlas PE y se ordenaron magnéticamente. Las células productoras de IFN γ y células negativas a IFN γ (APC) se tiñeron con marcadores de superficie CD3, CD4, y CD8 y las células muertas se marcaron con PI por citometría de flujo. A) Paciente 170185, B) Paciente 150161.

Ejemplos

Los siguientes Ejemplos simplemente ilustrarán la invención. No se considerará, en absoluto, que limitan el ámbito de la invención.

Ejemplo 1: Identificación de una respuesta de linfocitos T CD4+ anti IDH1 R132H restringida a MHCII y producción de anticuerpos en ratones humanizados MHCII vacunados con IDH1 R132H.

Se ensayó la respuesta inmunitaria periférica a IDH1 R132H en ratones transgénicos desprovistos del MHC clase I y II pero transgénicos para A2 y DR1 humanos para imitar la presentación de antígenos en un contexto de clase I y clase II humano. Estos experimentos (Fig. 2) revelaron que tras la inmunización con los péptidos IDH1 R132H 123-142, 124-138 y 122-136, y la re-estimulación ex vivo con varios péptidos específicos de mutación, que (a) los péptidos 123-142 y 122-136 mutados eran inmunogénicos pero el 124-138 no. La inmunogenicidad específica de 123-142 se recapituló cuando se analizaba la respuesta de anticuerpos en ratones humanizados vacunados. Estos experimentos indicaban, que tras la inmunización se generaban anticuerpos específicos de la mutación de la IDH1 (Fig. 3).

Ejemplo 2: Inmunogenicidad de IDH1 R132H 123-142 en pacientes con gliomas mutados con IDH1 R132H.

La inmunogenicidad de IDH1 R132H 123-142 también se presentaba en pacientes con gliomas mutados con IDH1 R132H en los que se detectó una respuesta de linfocitos T CD4 naturales (Fig. 1) y eran evidentes los anticuerpos específicos de IDH1 R132H naturales en pacientes con gliomas mutados con IDH1 R132H pero no en los controles sanos de gliomas con IDH1 de tipo silvestre (Fig. 4). Estos anticuerpos parecían tener principalmente la misma especificidad por epítipo con una preferencia para 122-136 y 126-140 (Fig. 5).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Deutsches Krebsforschungszentrum
Ruprecht Karls Universität Heidelberg

<120> Medios y métodos para tratar o diagnosticar cánceres positivos a la IDH1 R132H mutante

<130> D31256WOEP

5 <160> 19

<170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

15 <400> 1

Pro	Arg	Leu	Val	Ser	Gly	Trp	Val	Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Gly	His
1				5				10					15	

<210> 2

20 <211> 15

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Leu	Val	Ser	Gly	Trp	Val	Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Gly	His	His	Ala
1				5				10						15

25

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

30 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Ser	Gly	Trp	Val	Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Gly	His	His	Ala	Tyr	Gly
1				5				10						15

35

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

40 <213> *Homo sapiens*

<400> 4

Trp	Val	Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Gly	His	His	Ala	Tyr	Gly	Asp	Gln
1				5				10						15

45

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

50 <400> 5

Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Gly	His	His	Ala	Tyr	Gly	Asp	Gln	Tyr	Arg
1				5				10						15

<210> 6

ES 2 642 184 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 6
 Ile Ile Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr Arg Ala Thr
 1 5 10 15
 <210> 7
 10 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 7
 15 Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr Arg Ala Thr Asp Phe
 1 5 10 15
 <210> 8
 20 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 8
 His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr Arg Ala Thr Asp Phe Val Val
 1 5 10 15
 25 <210> 9
 <211> 20
 <212> PRT
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 9
 Gly Trp Val Lys Pro Ile Ile Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln
 1 5 10 15
 Tyr Arg Ala Thr
 20
 35 <210> 10
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 10
 Gly Trp Val Lys Pro Ile Ile Ile Gly His
 1 5 10
 45 <210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 11

ES 2 642 184 T3

		Trp Val Lys Pro Ile Ile Ile Gly His His
		1 5 10
5	<210> 12	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 12	
10		Val Lys Pro Ile Ile Ile Gly His His Ala
		1 5 10
	<210> 13	
	<211> 10	
15	<212> PRT	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 13	
20		Lys Pro Ile Ile Ile Gly His His Ala Tyr
		1 5 10
	<210> 14	
	<211> 10	
	<212> PRT	
25	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 14	
30		Pro Ile Ile Ile Gly His His Ala Tyr Gly
		1 5 10
	<210> 15	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 15	
40		Ile Ile Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp
		1 5 10
	<210> 16	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 16	
45		Ile Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln
		1 5 10
	<210> 17	
	<211> 10	
50	<212> PRT	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 642 184 T3

<400> 17

```
Ile Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr
1          5          10
```

5 <210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 18

```
Gly His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr Arg
1          5          10
```

15 <210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 19

```
His His Ala Tyr Gly Asp Gln Tyr Arg Ala
1          5          10
```

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en los aminoácidos 122 a 136 (SEQ ID NO: 3); los aminoácidos 126 a 140 (SEQ ID NO: 5); los aminoácidos 124 a 138 (SEQ ID NO: 4); y los aminoácidos 123-142 (SEQ ID NO: 9) para su uso en la prevención y/o tratamiento del cáncer que comprende células cancerosas que expresan un polipéptido IDH1 que comprende la secuencia de dicho péptido.
2. El péptido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho cáncer es glioma, leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásico o tumores neuroepiteliales disembrionarios.
3. Un medicamento que comprende el péptido que se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, y un vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en la prevención y/o tratamiento del cáncer de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.
4. Un procedimiento para diagnosticar un cáncer **caracterizado porque** tiene una mutación en el genoma de al menos algunas células tumorales que da como resultado la expresión de una IDH1 mutante que tiene la mutación R123H que comprende las etapas de:
 - (a) poner en contacto una muestra de sangre de un sujeto sospechoso de padecer dicho cáncer con un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 durante un tiempo y en condiciones que permitan la unión específica de un componente del sistema inmunitario con el péptido; y
 - (b) determinar si se ha producido, o no, la unión de dicho componente del sistema inmunitario al péptido, en el que el cáncer se diagnostica si se ha determinado la existencia de la unión.
5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que dicho componente del sistema inmunitario es un anticuerpo comprendido en la muestra de sangre.
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5, en el que dicho cáncer es glioma, preferentemente astrocitoma OMS II u OMS III, oligodendroglioma, oligoastrocitoma, glioblastoma, o gliosarcoma, o es leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásico o tumores neuroepiteliales disembrionarios.
7. El uso de un kit que comprende un péptido de acuerdo con la reivindicación 1, para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 para diagnosticar el cáncer.

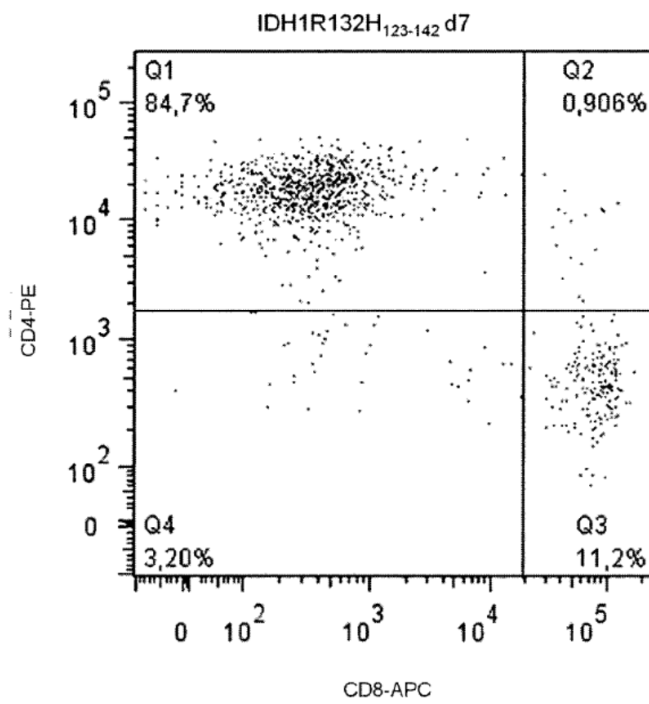
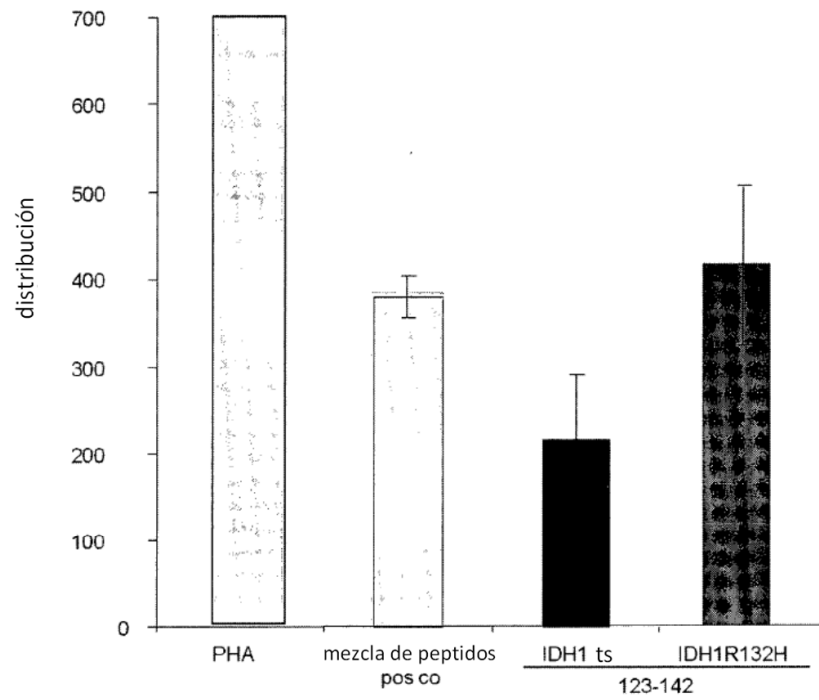


Fig. 1

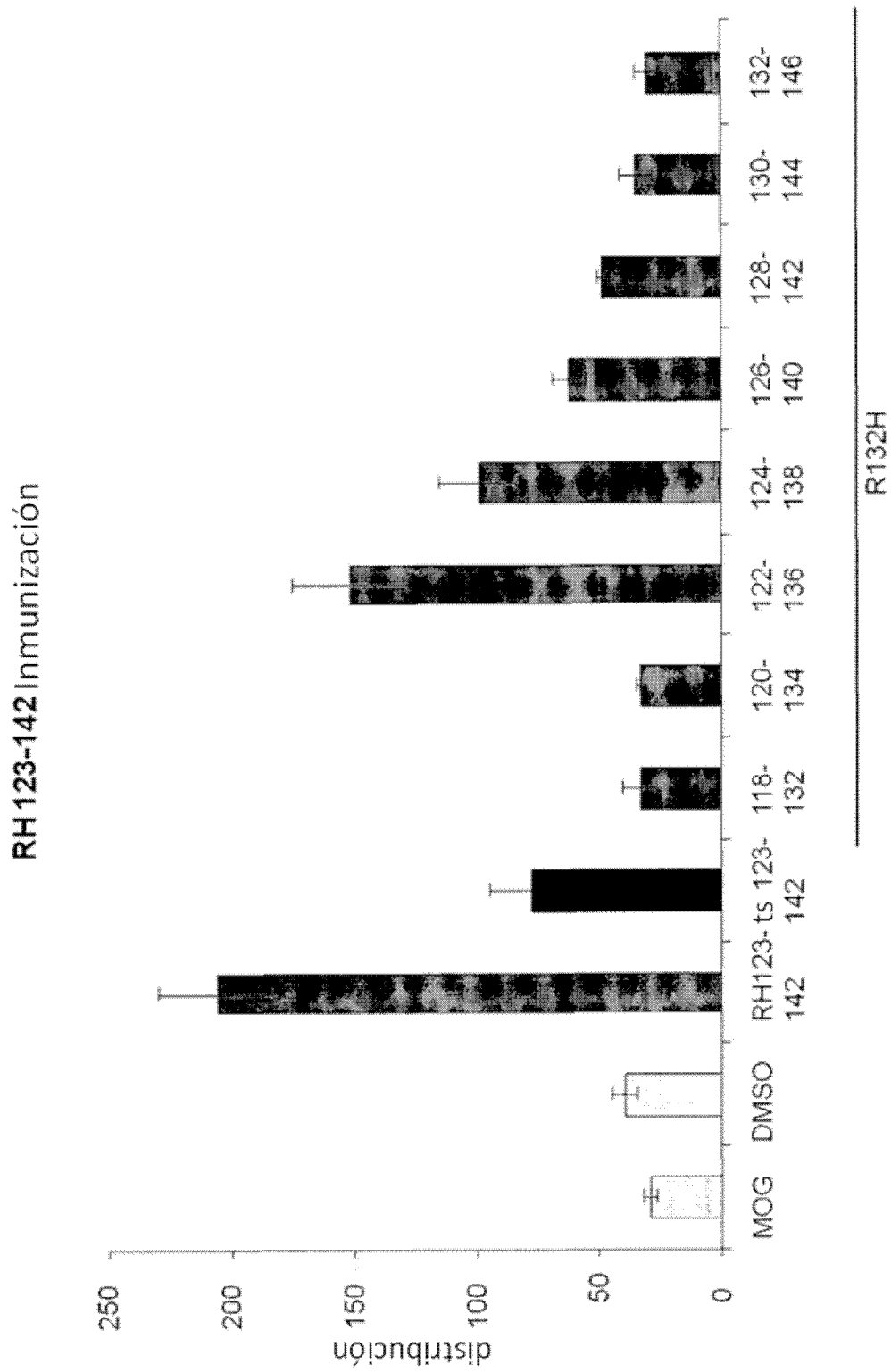


Fig. 2(I)

RH 124-138 Inmunización

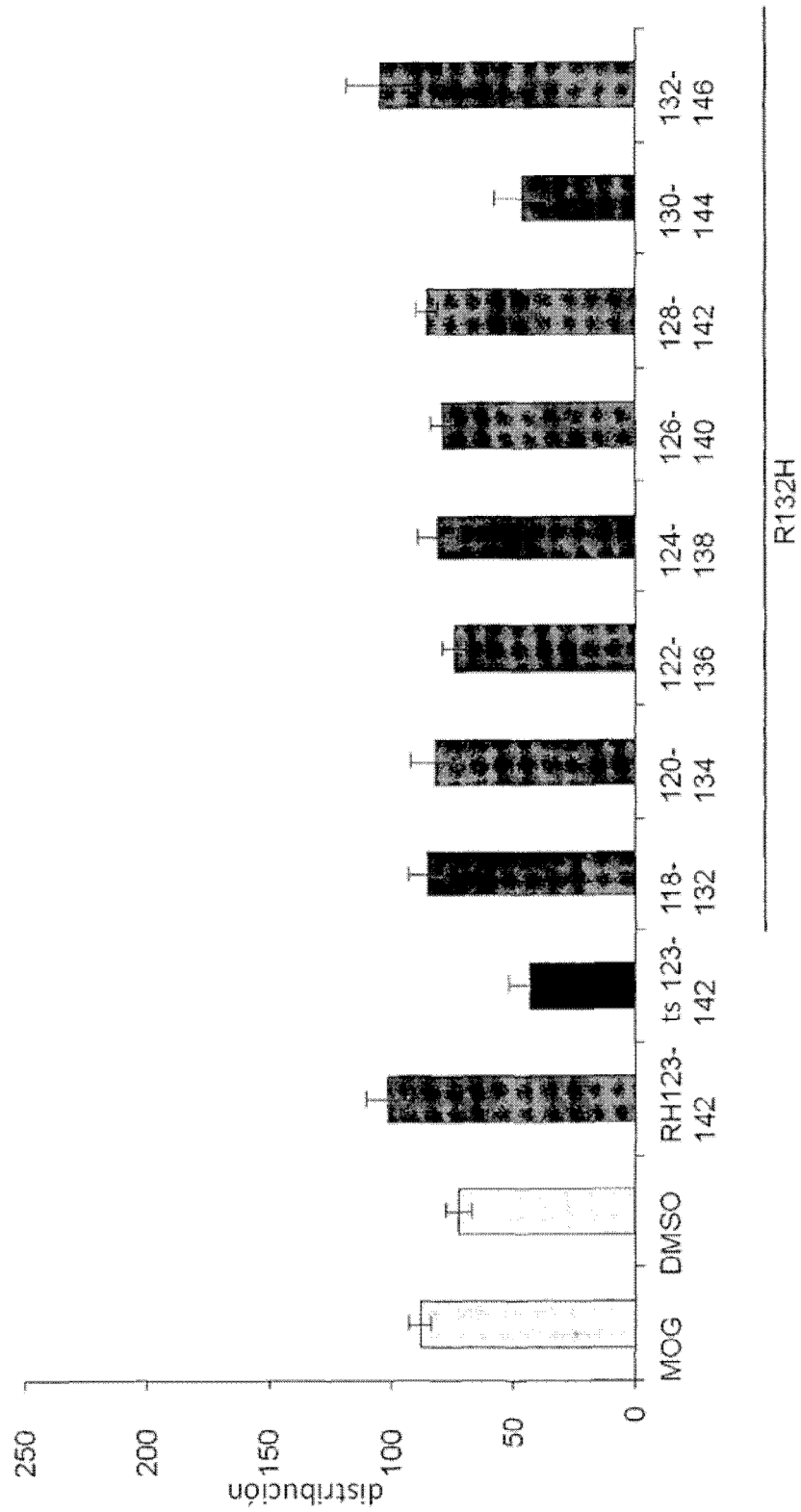


Fig. 2(2)

RH 122-136 Inmunización

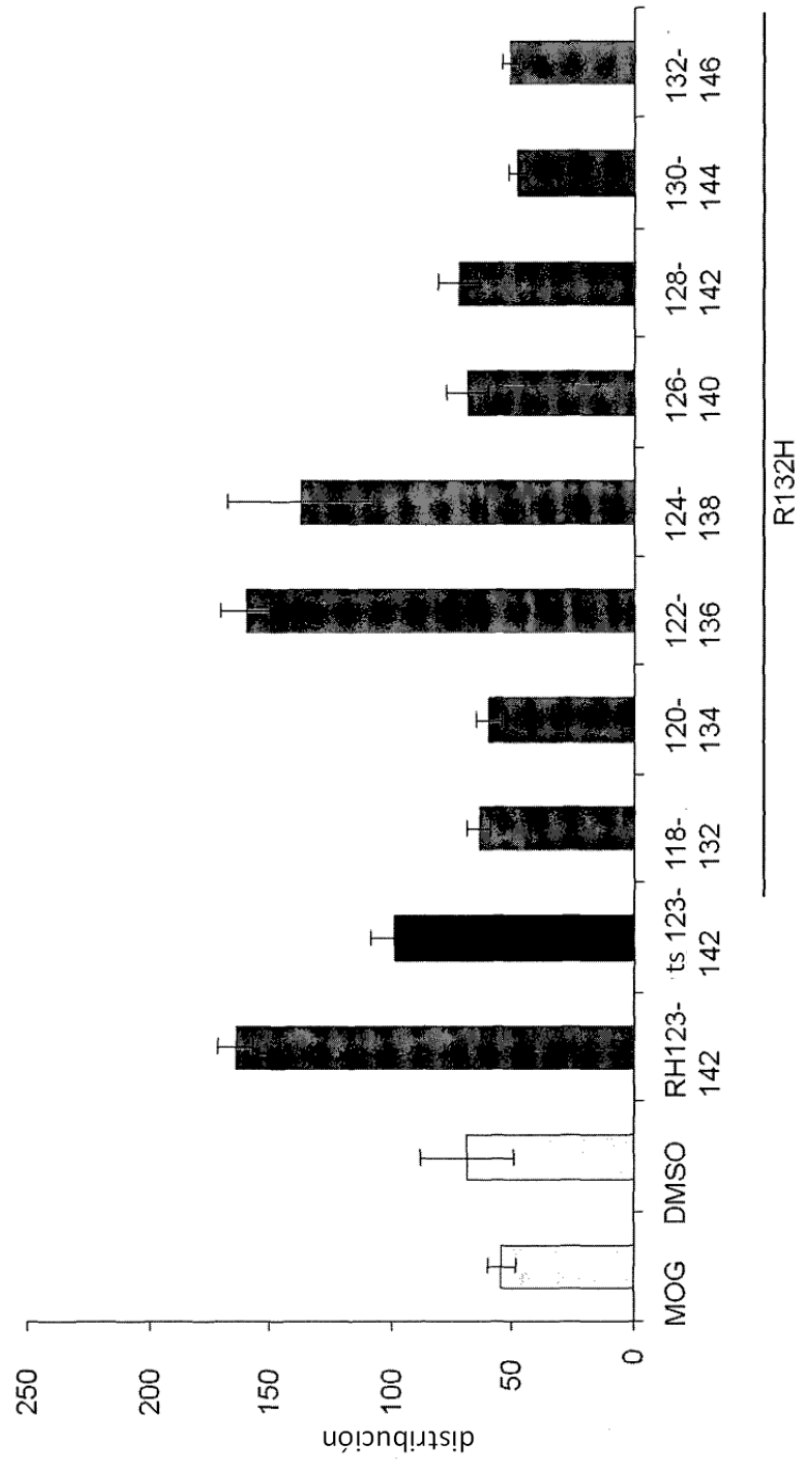


Fig. 2(3)

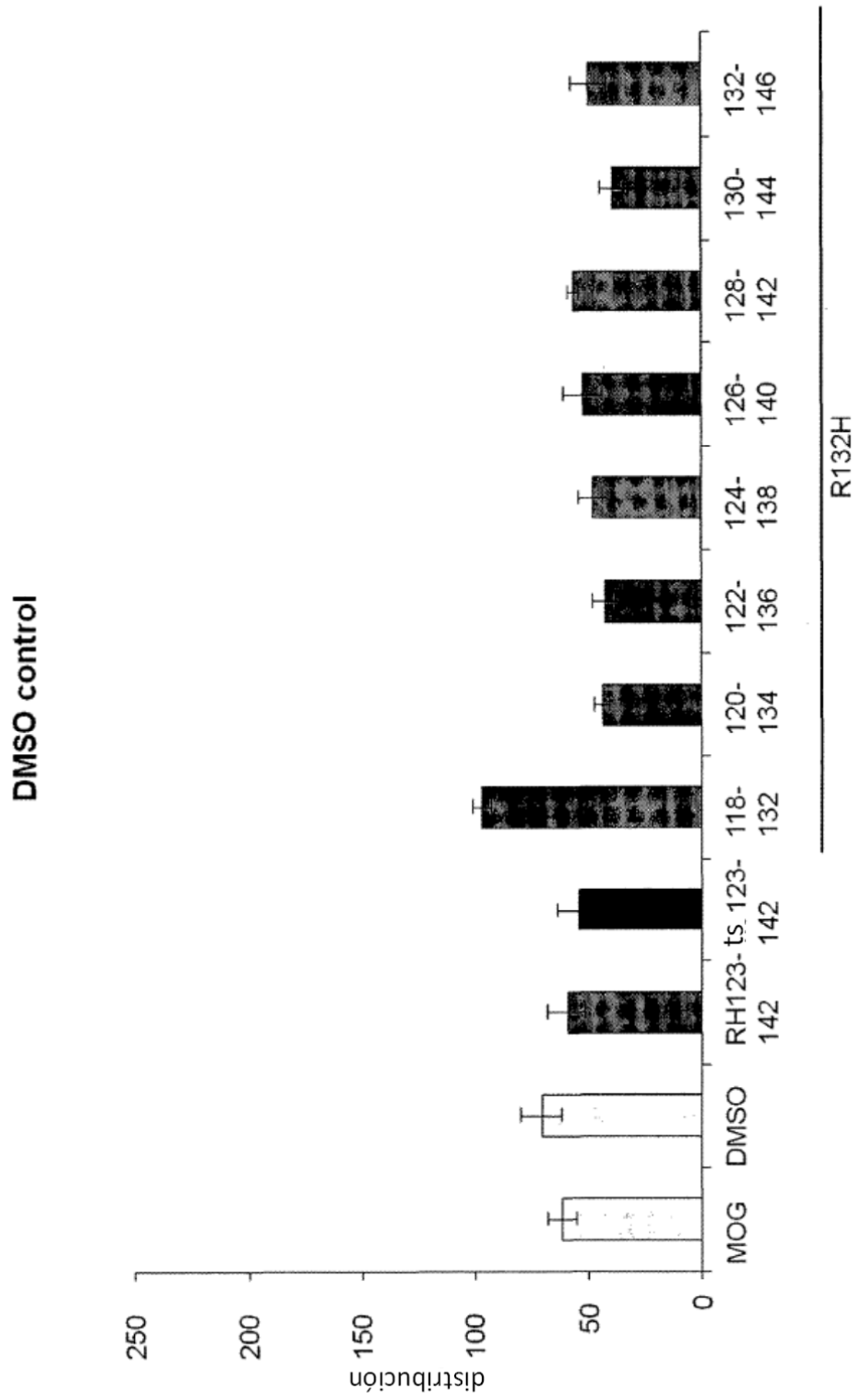


Fig. 2(4)

Fig. 3

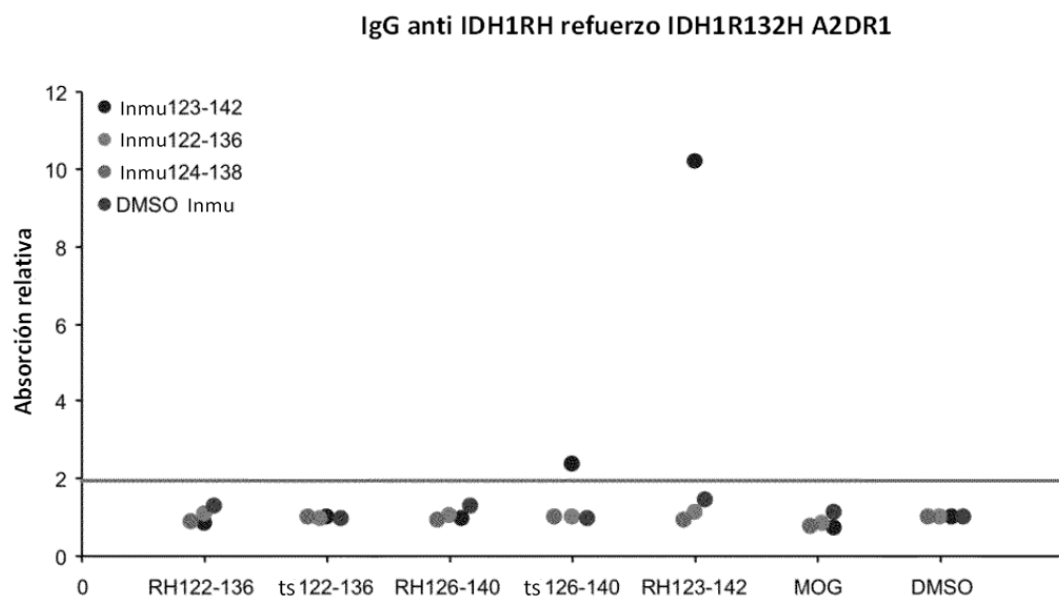


Fig. 4

ID donante	Haplotipo MHC	Estatus IDH1	Tipo de glioma	IgG anti-IDH1 (15meros)
patTS060462	A*0301;2402 DRB1*1001;15	R132H	GBM	-
patTL260870	nd	?	GBM	RH ₁₂₂₋₁₃₆
patJP270454	nd	R132H	OA °II	RH ₁₂₆₋₁₄₀
patAW041083	nd	?	OA °II	-
patWG060257	nd	?	A °II	RH ₁₂₆₋₁₄₀
patBS080462	nd	R132H	O °II	RH ₁₂₂₋₁₃₆
patMA200158	nd	R132H	A °III	RH ₁₂₂₋₁₃₆
patSG080572	nd	R132H	A °II	RH ₁₂₆₋₁₄₀
AH	A*02;26 DRB1*07;15	-	-	-
TL	A*11;31 DRB1*03;04	-	-	-
TS	A*11;24 DRB1*01;13	-	-	-
pacientes de glioma	n.a.	R132H	°II – °IV	15,4 % (4/26)
		ts		0,0 % (0/20)
		?		18,2 % (2/11)
donantes sanos	distintos	ts	-	0 % (0/5)

Fig. 5

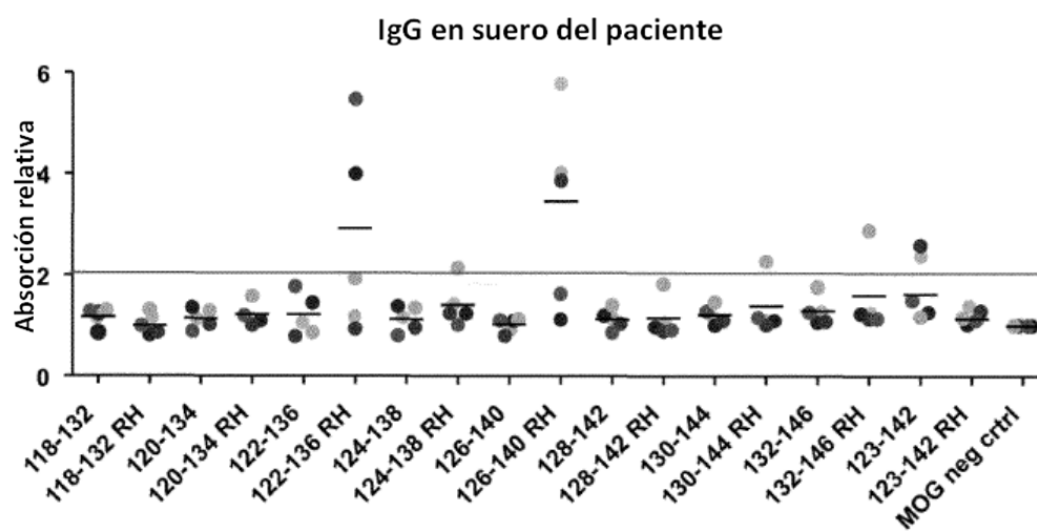


Fig. 6A

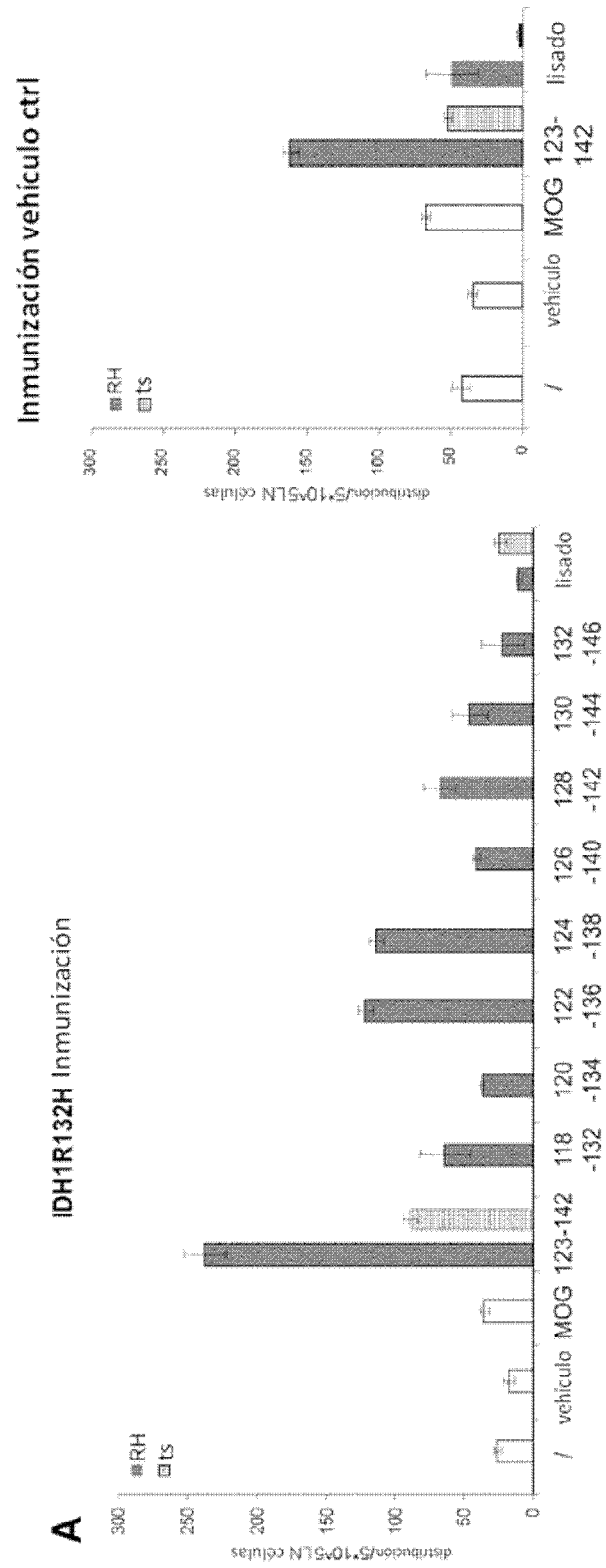


Fig. 6B

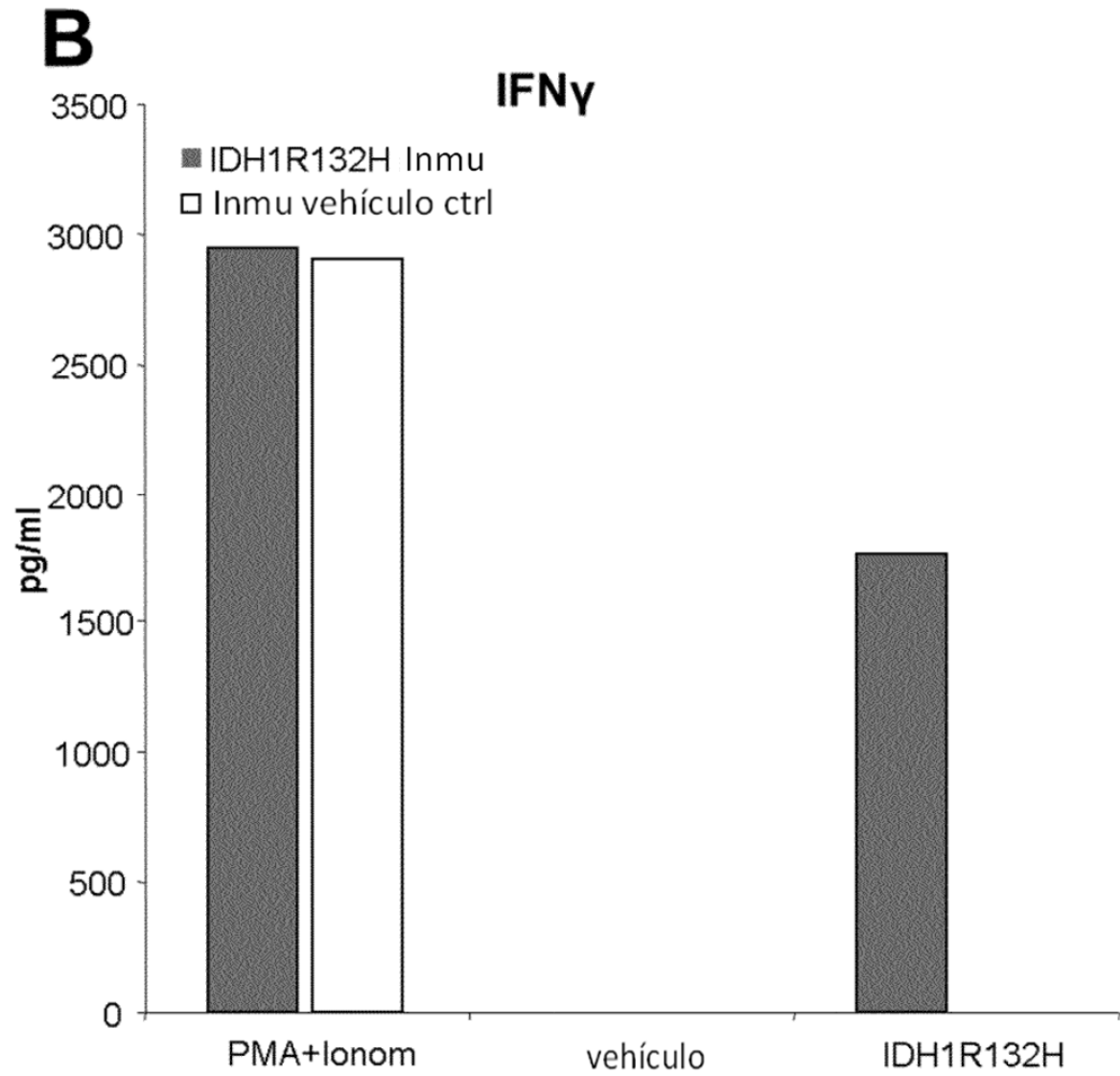


Fig. 6C

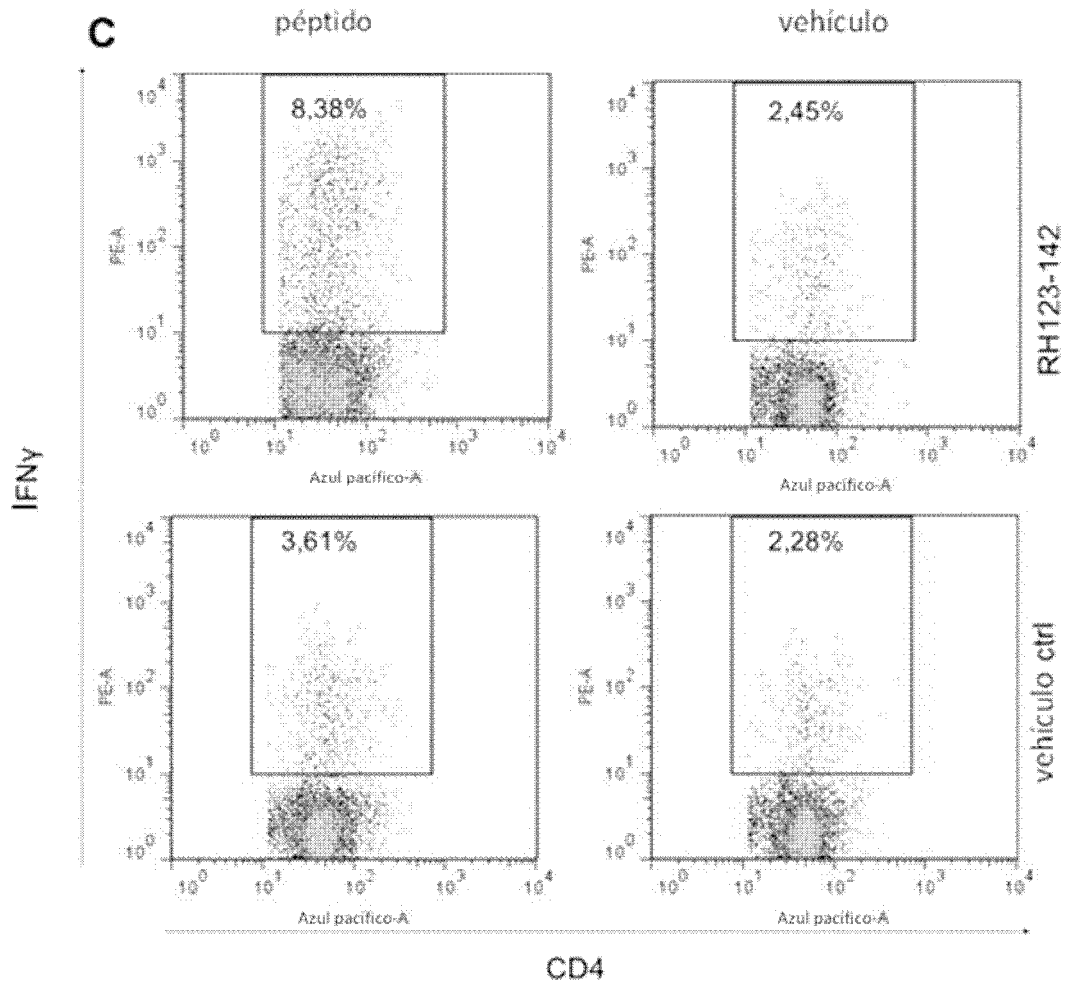


Fig. 6C (continuación)

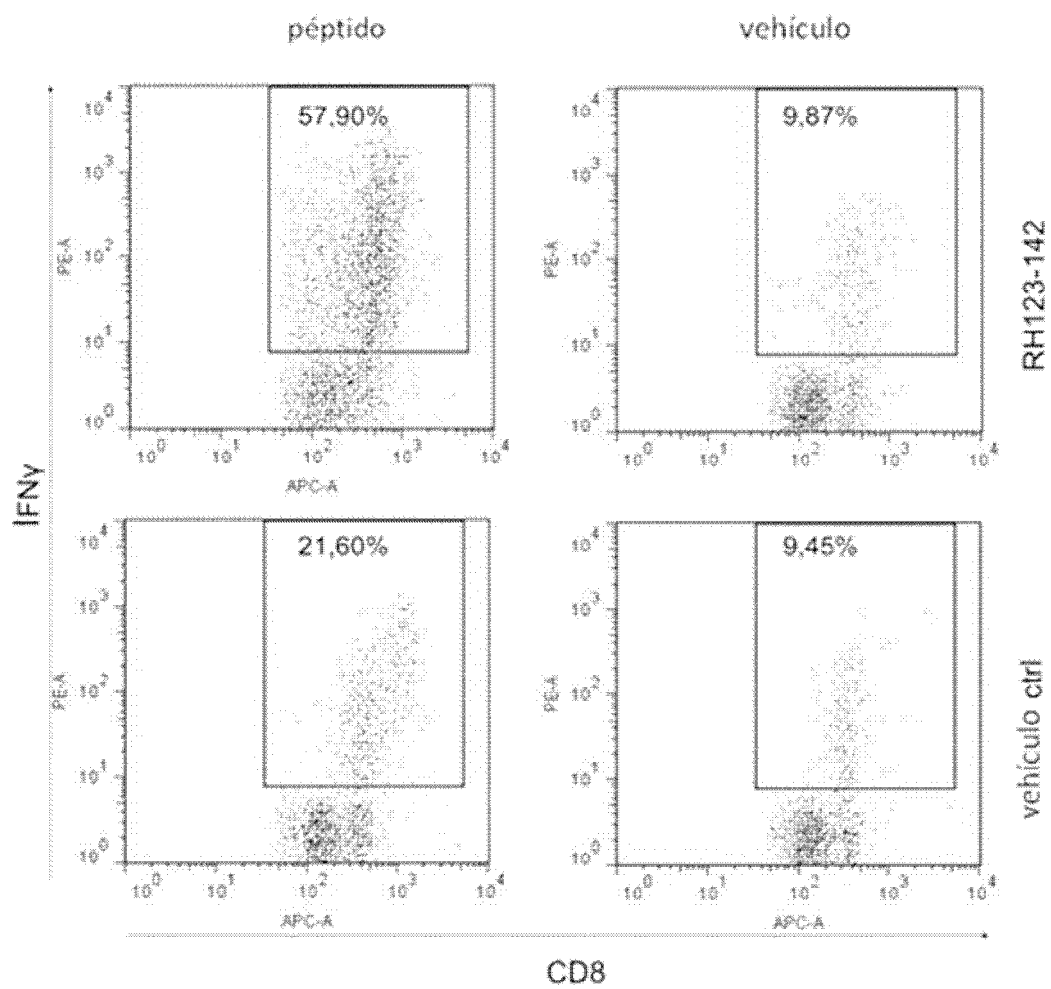


Fig. 7A

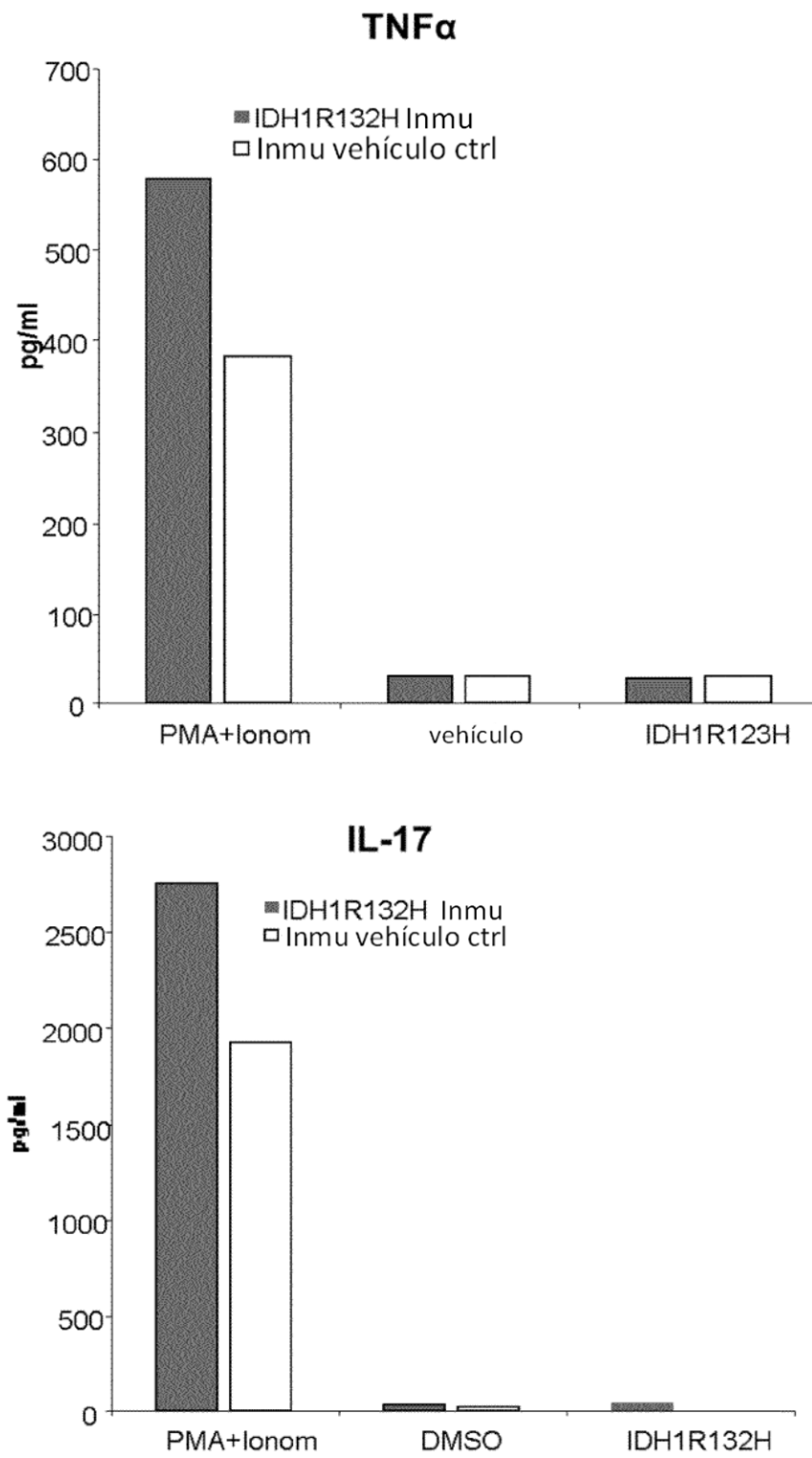
A

Fig. 7B

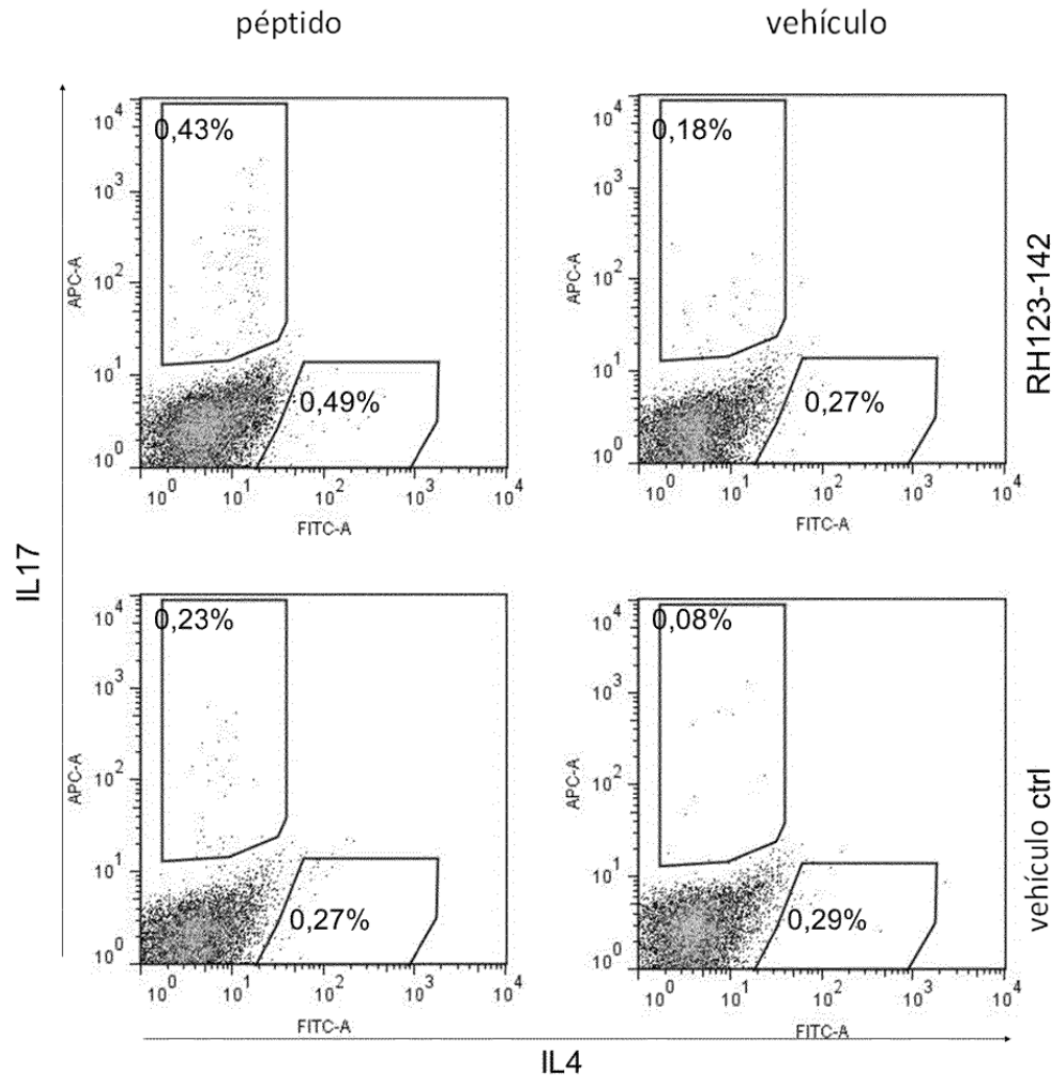


Fig. 7B (continuación)

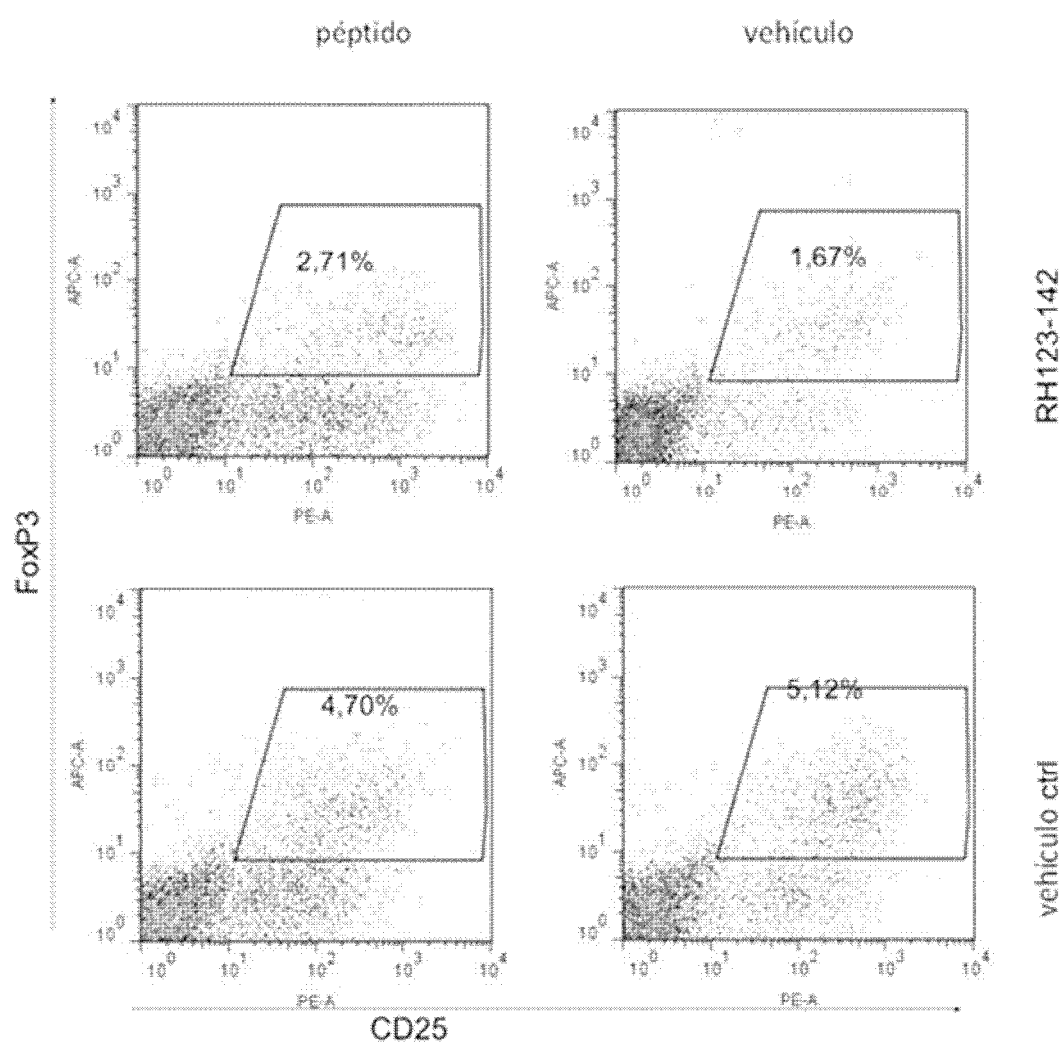


Fig. 8A

A

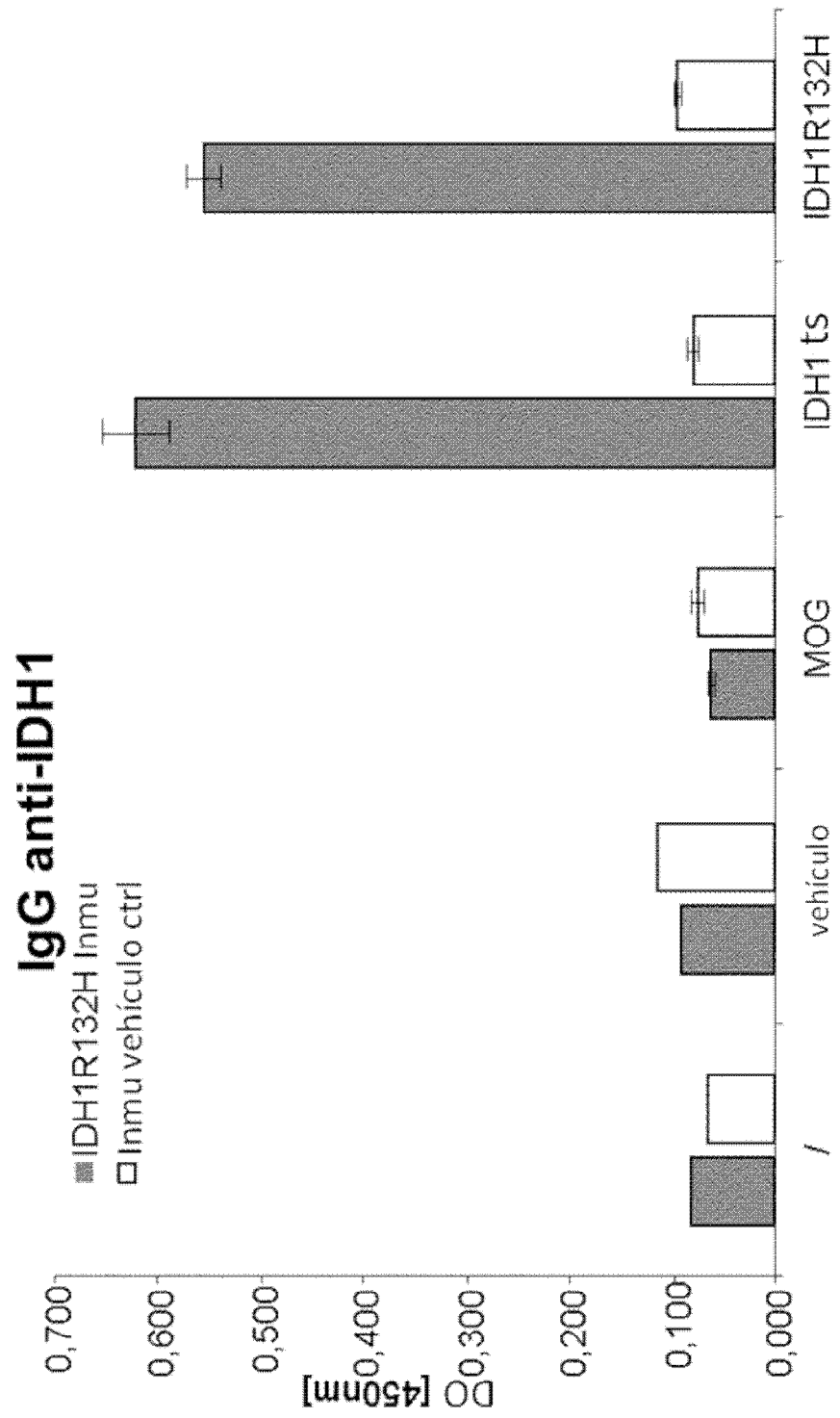


Fig. 8B

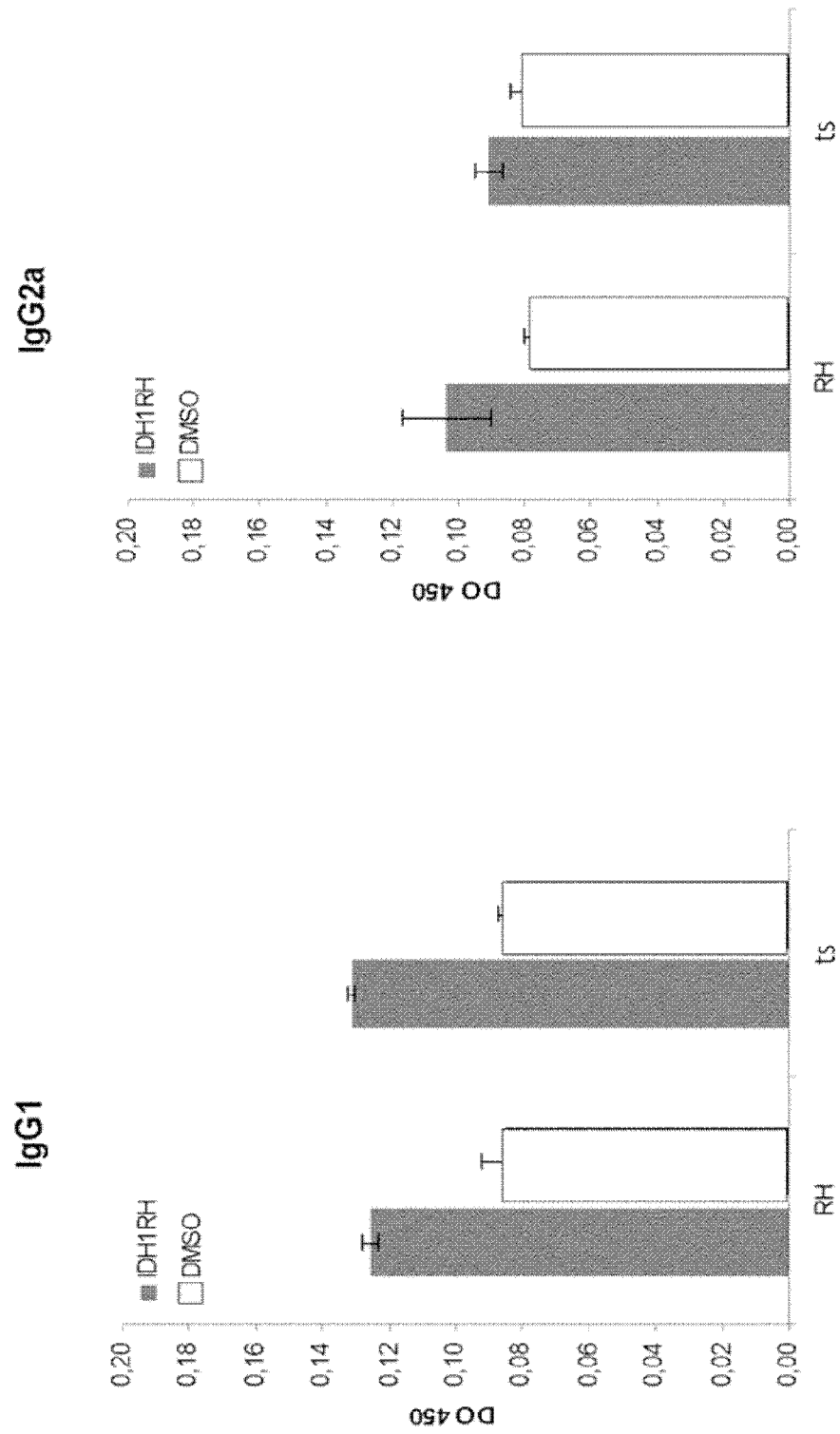


Fig. 8B (continuación)

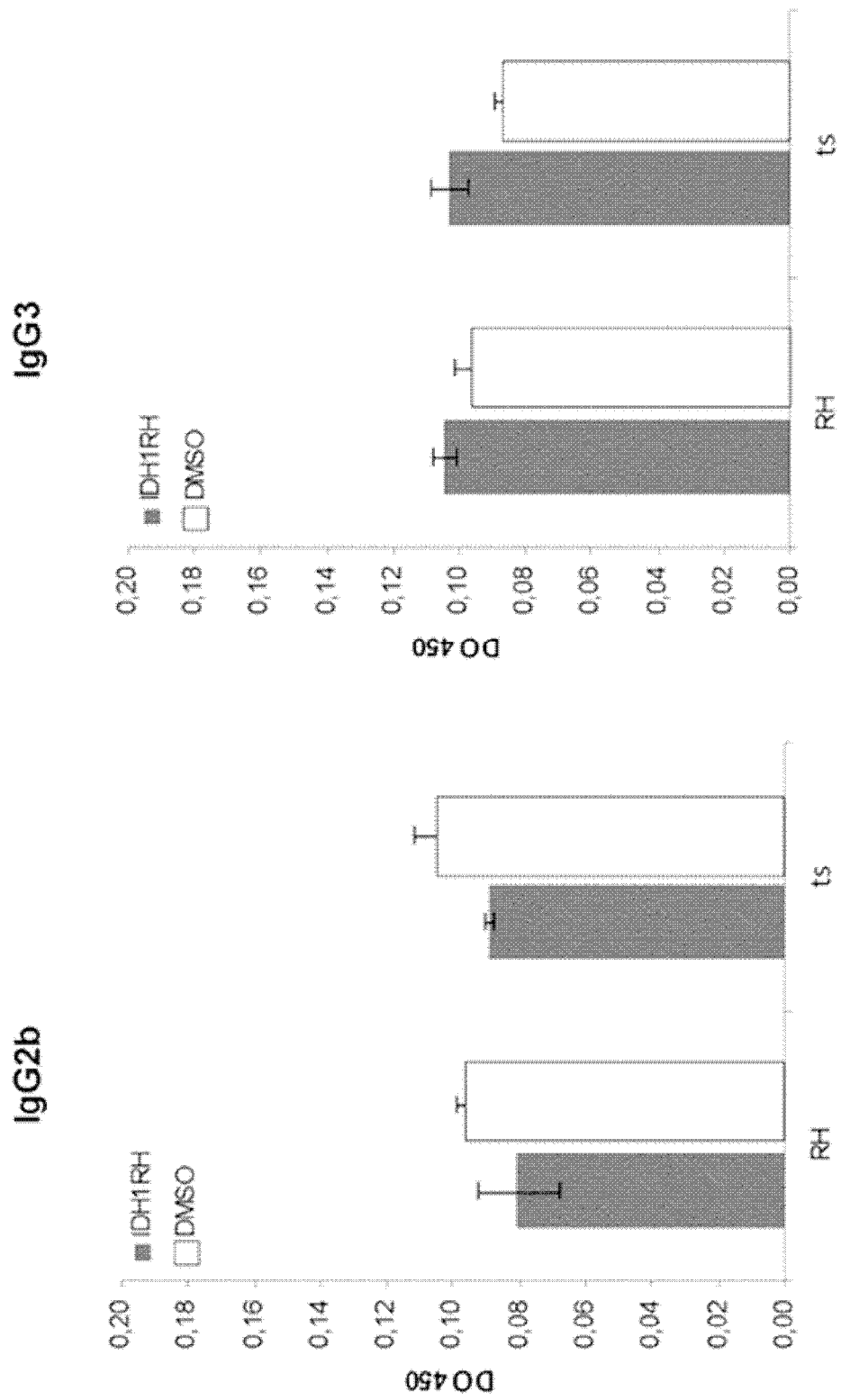


Fig. 8B (continuación)

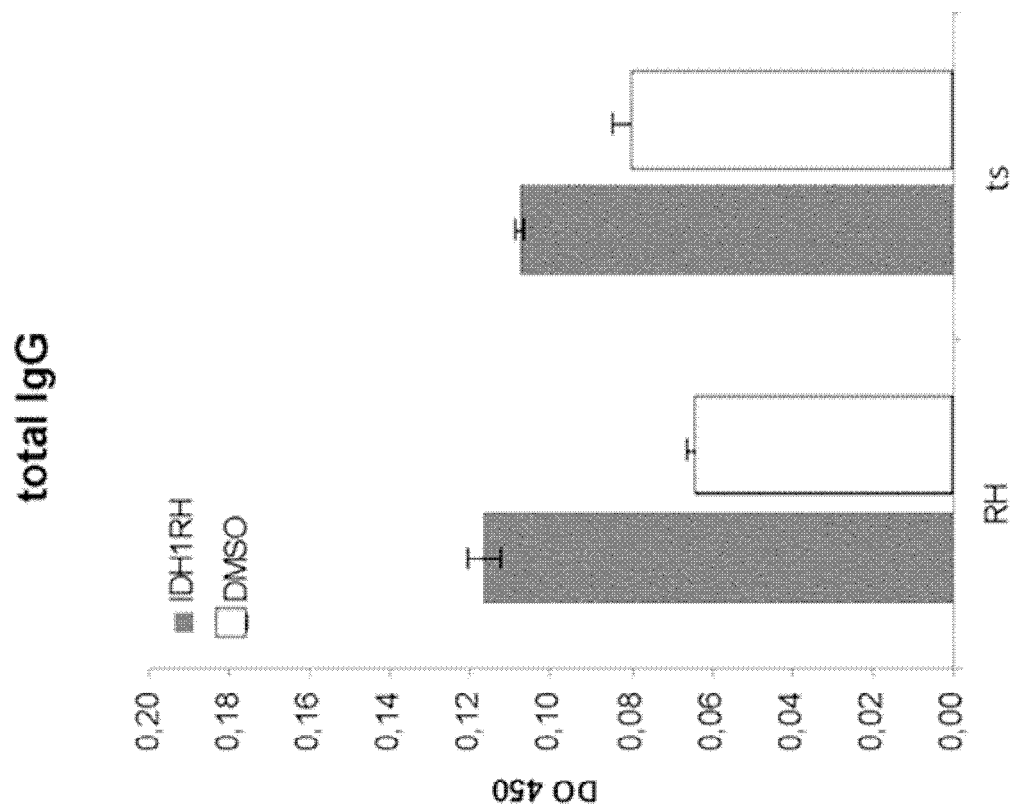


Fig. 9A

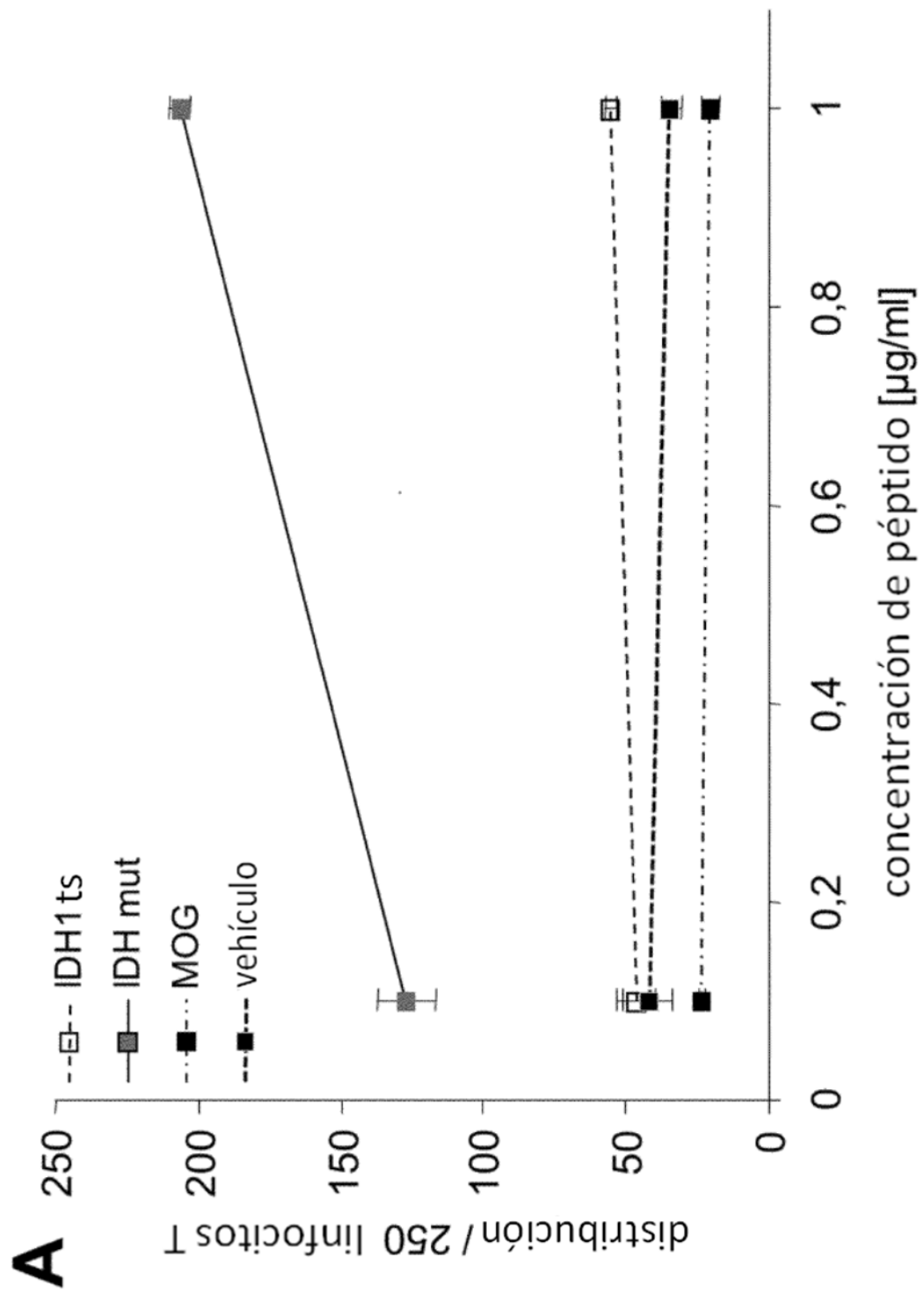
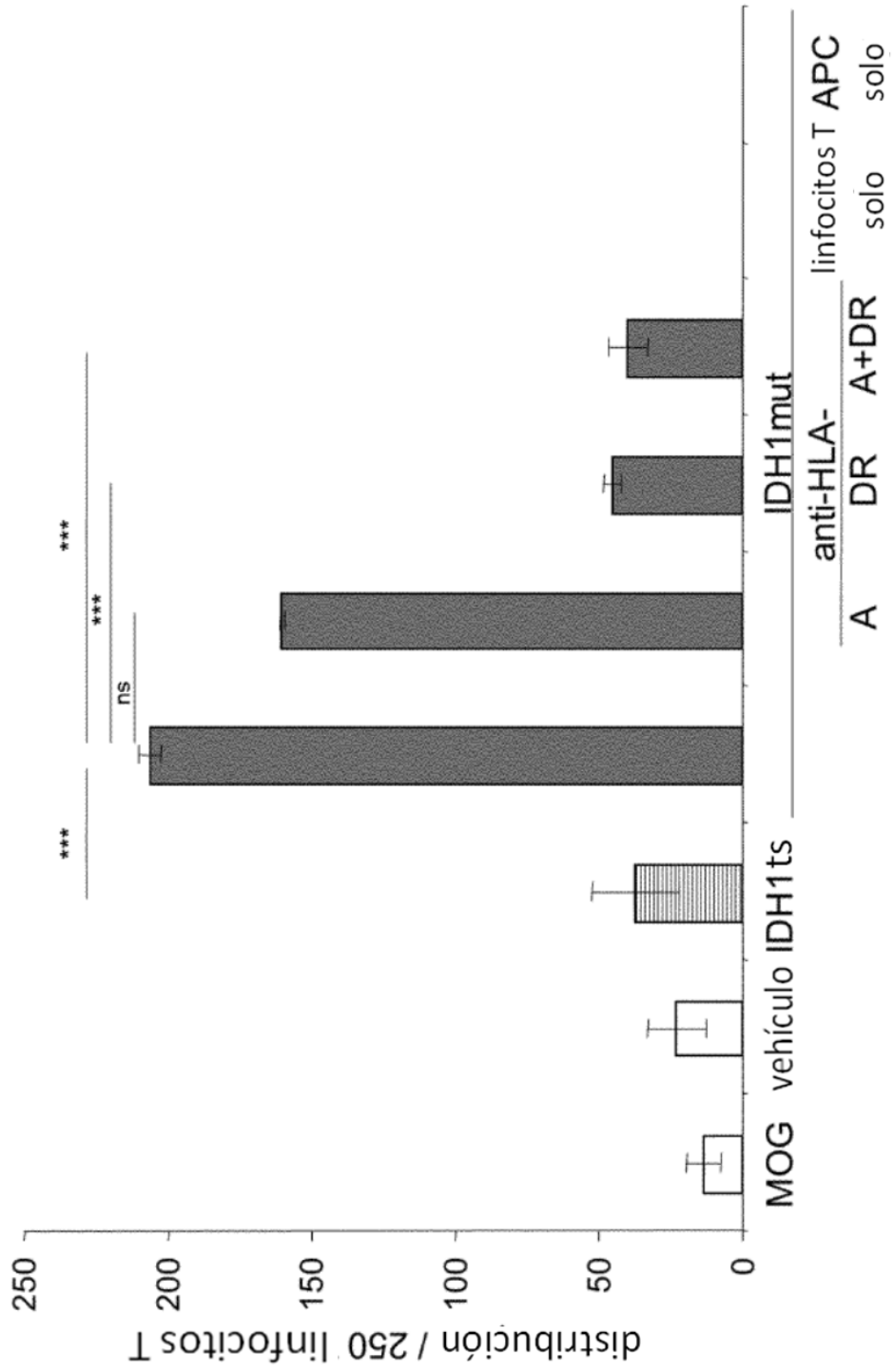


Fig. 9B

B



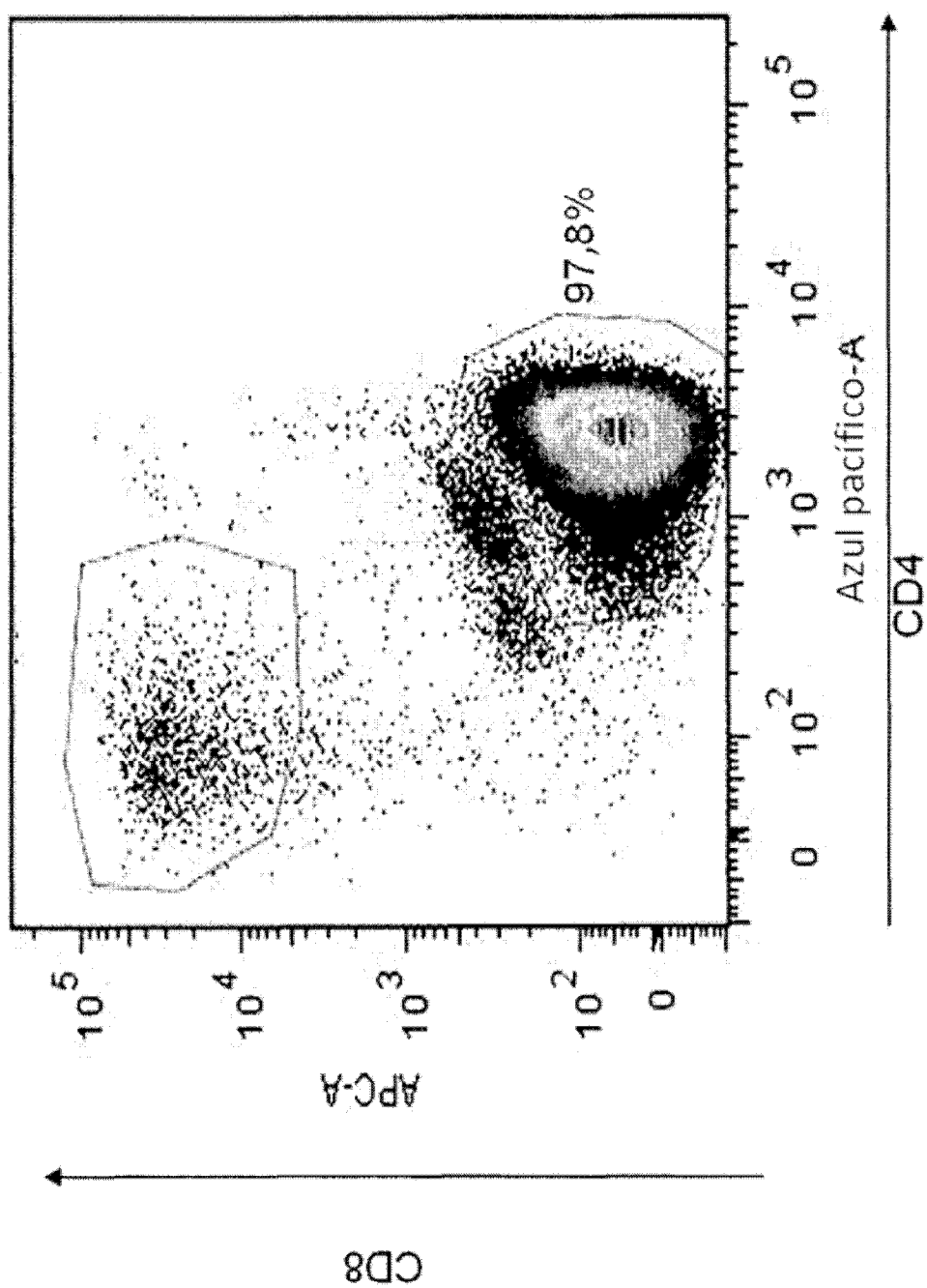


Fig. 9C

Fig. 9D

D

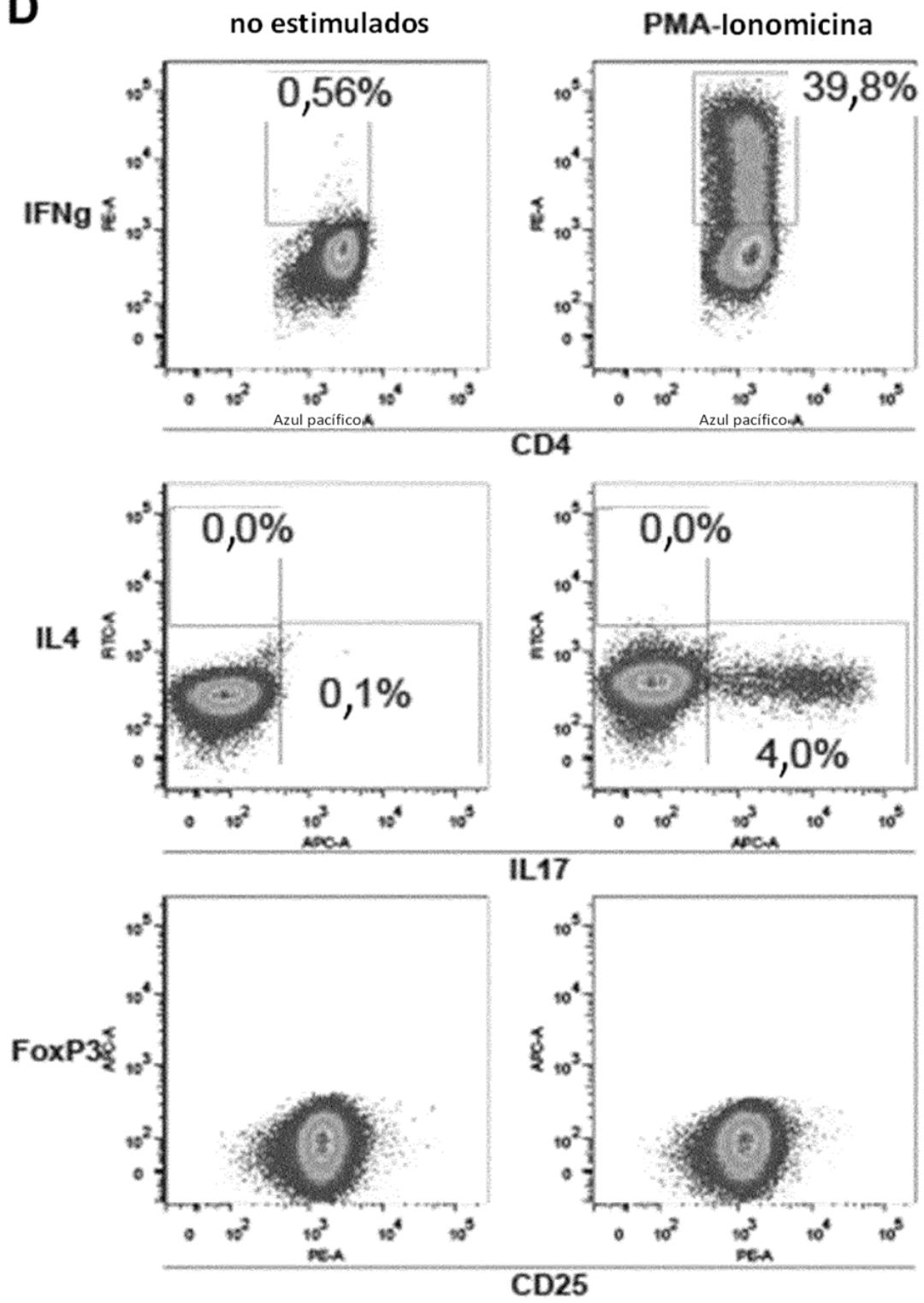


Fig. 9E

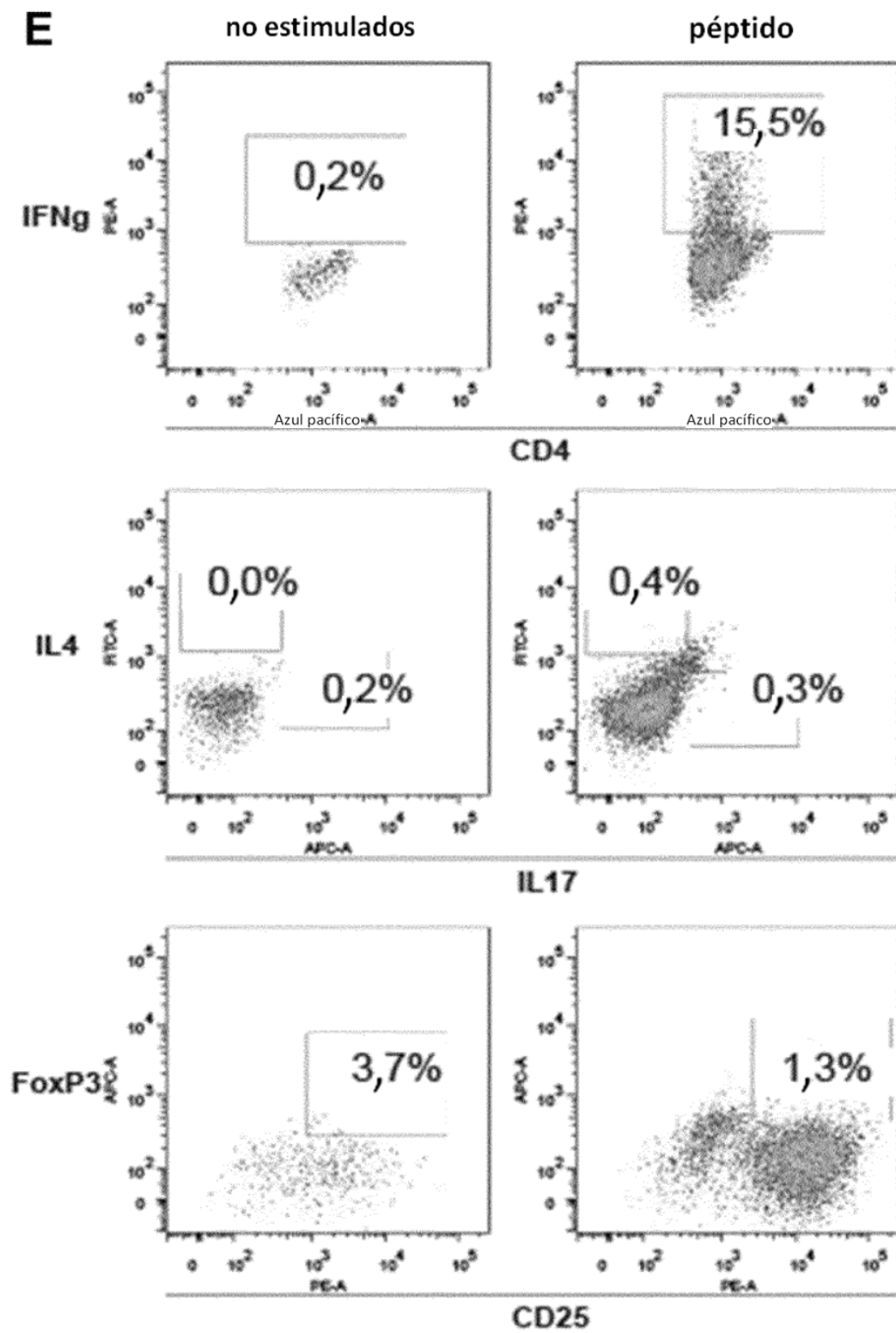


Fig. 10A

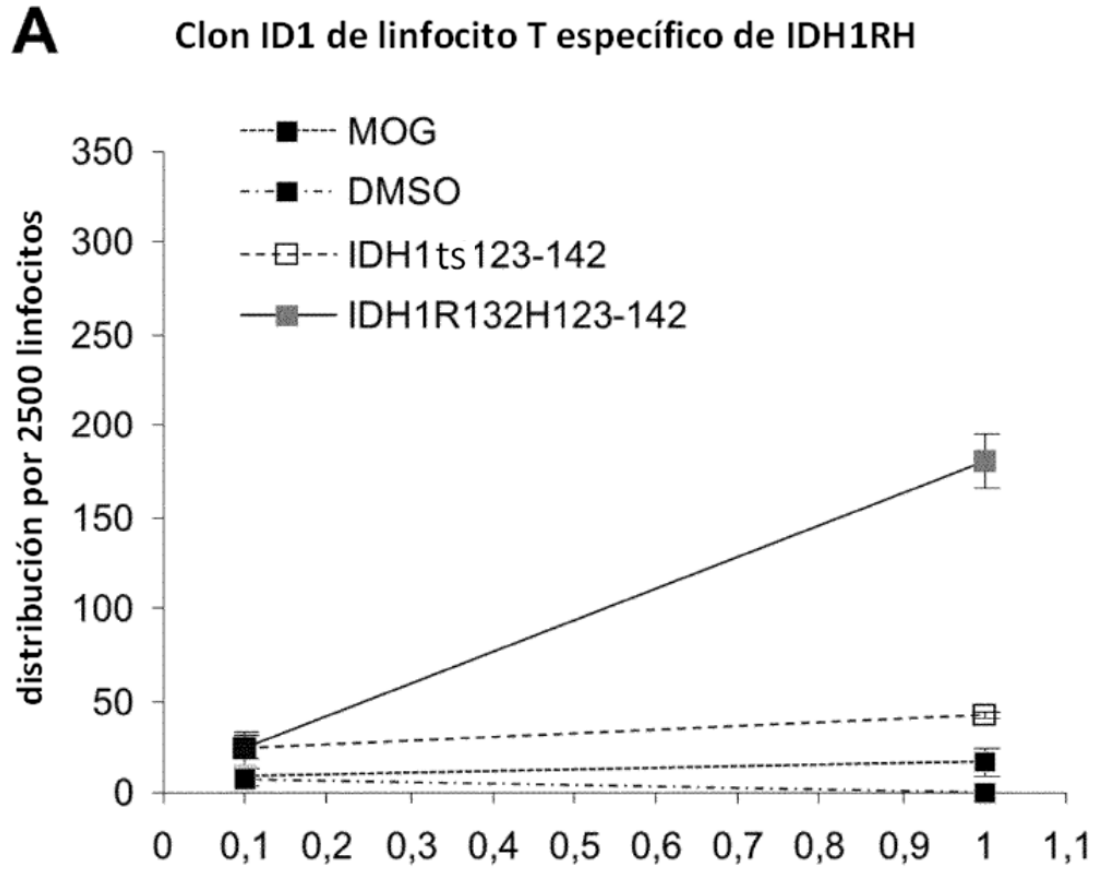


Fig. 10B

B

Clon ID1 de linfocitos T

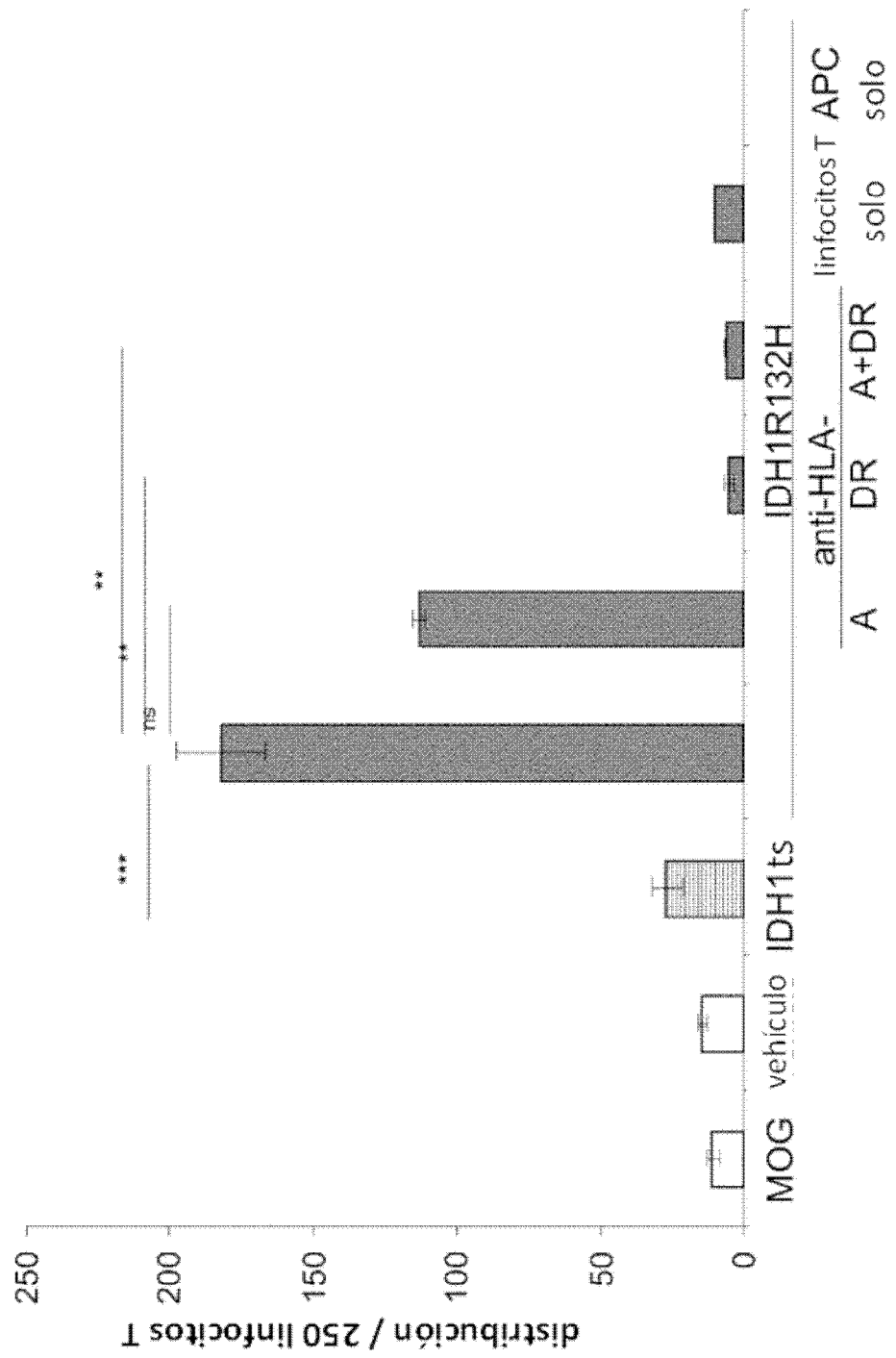


Fig. 11A

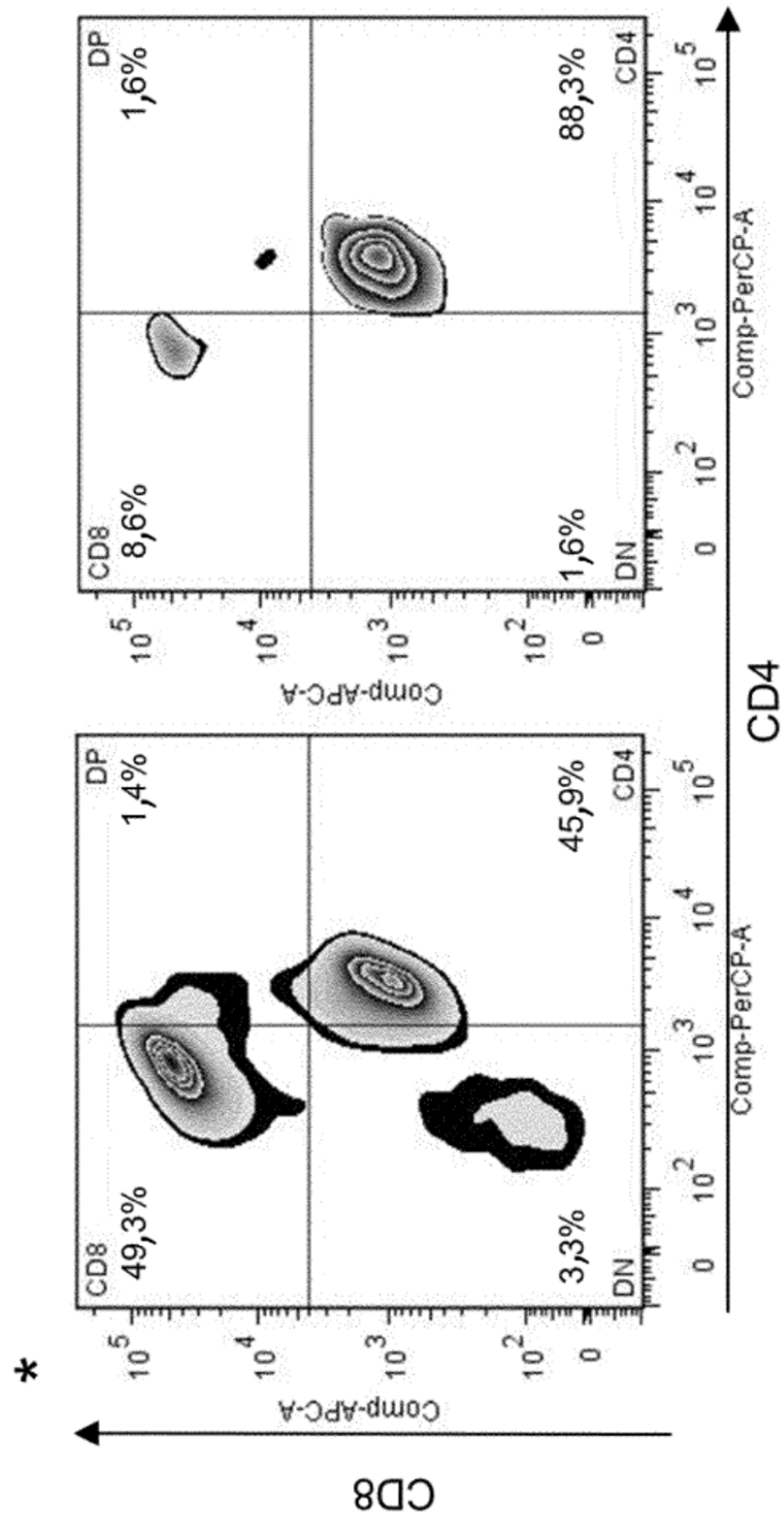


Fig. 11B

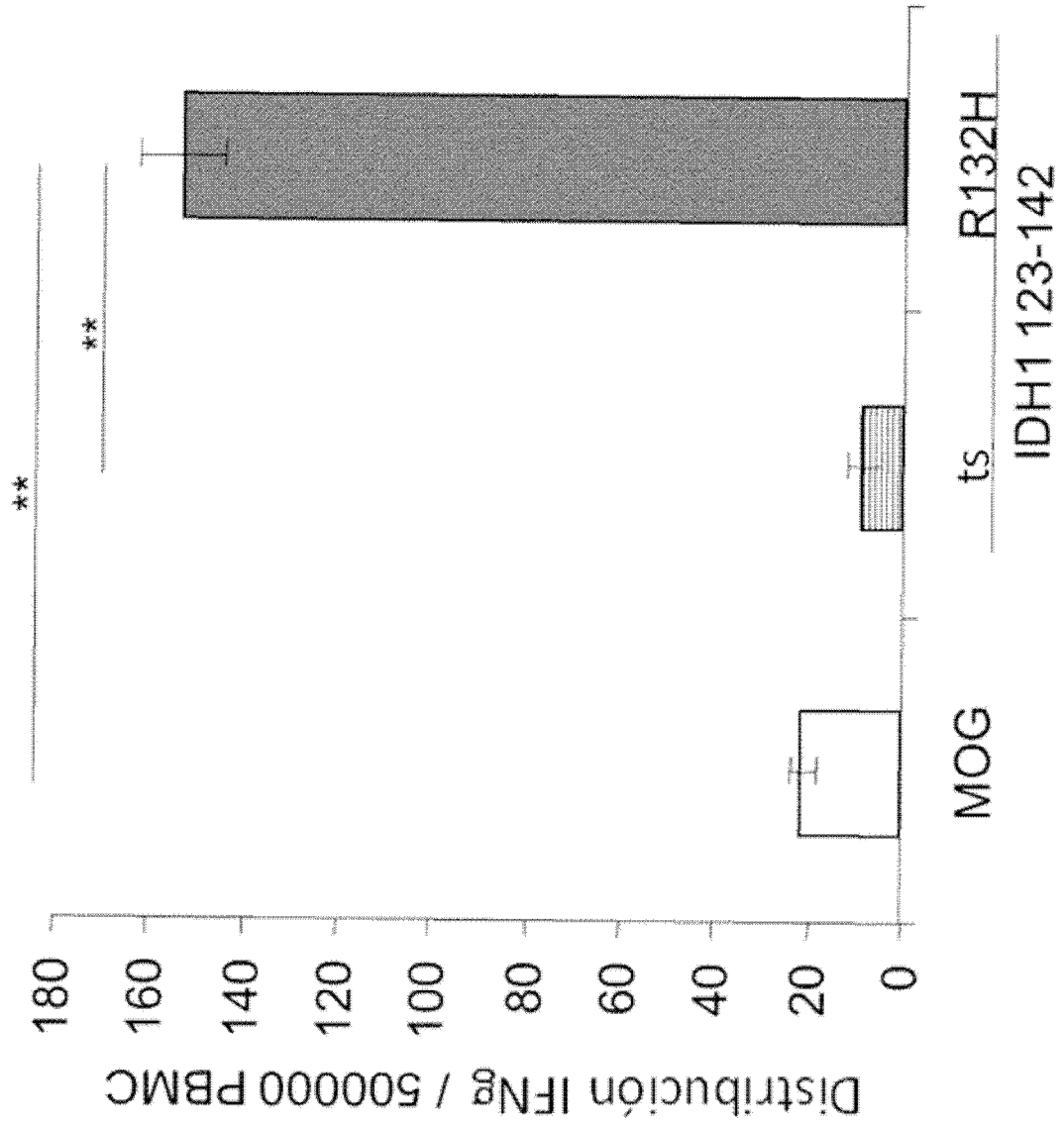
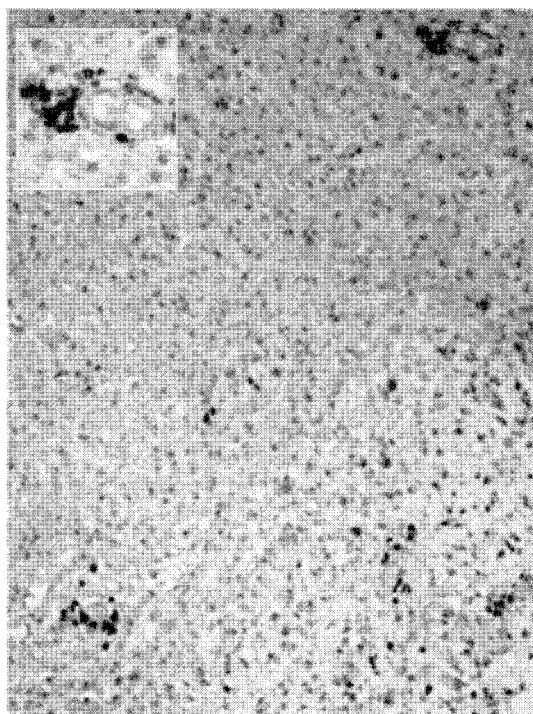
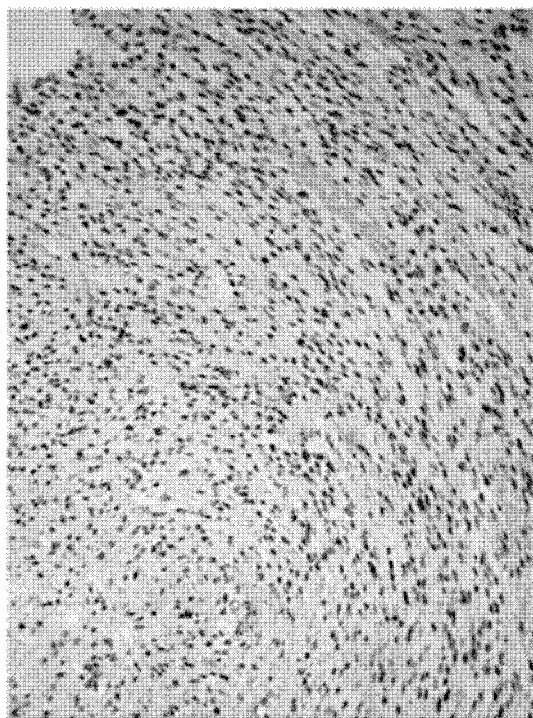


Fig. 1C

Infiltración de linfocitos T en el tumor

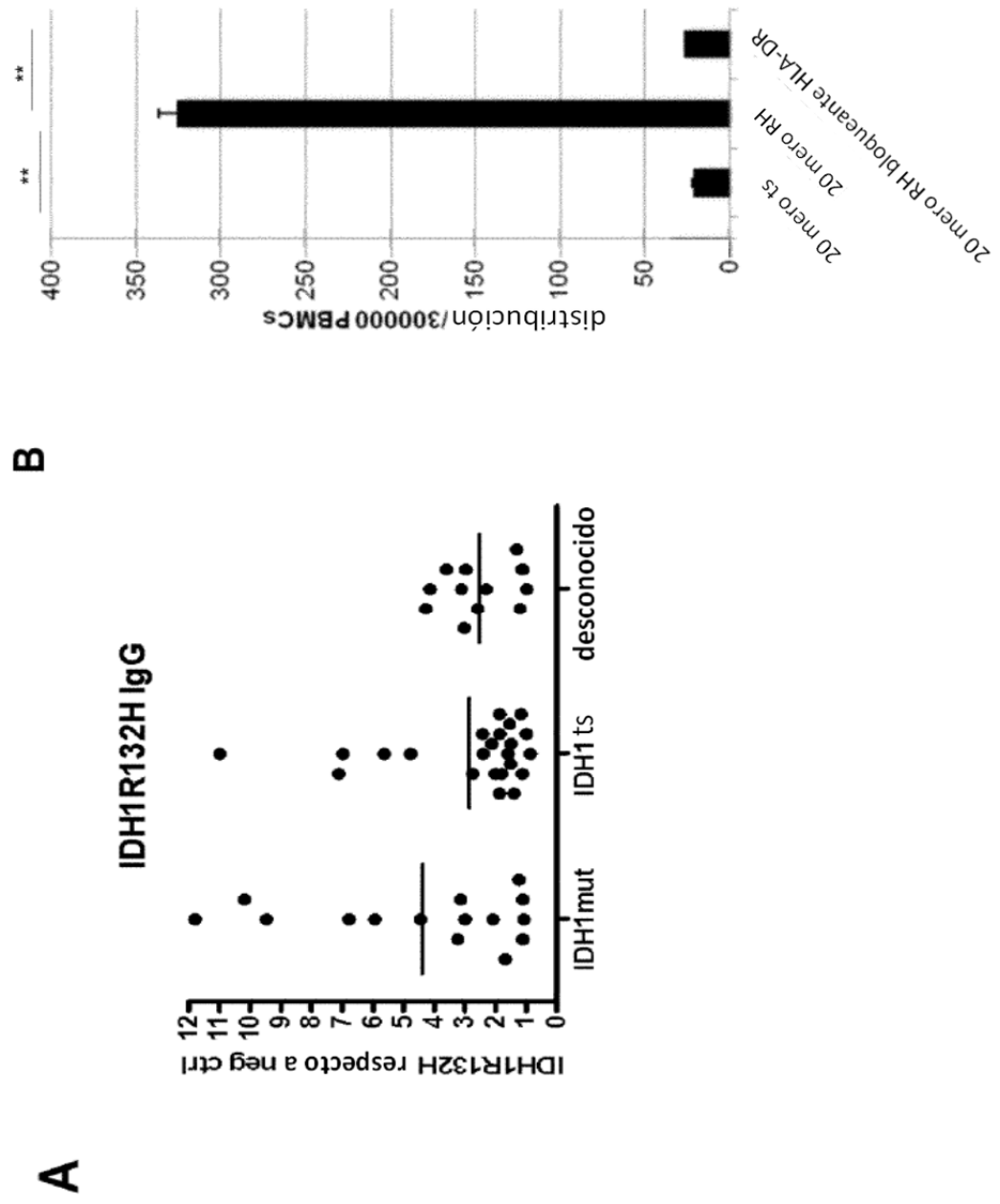


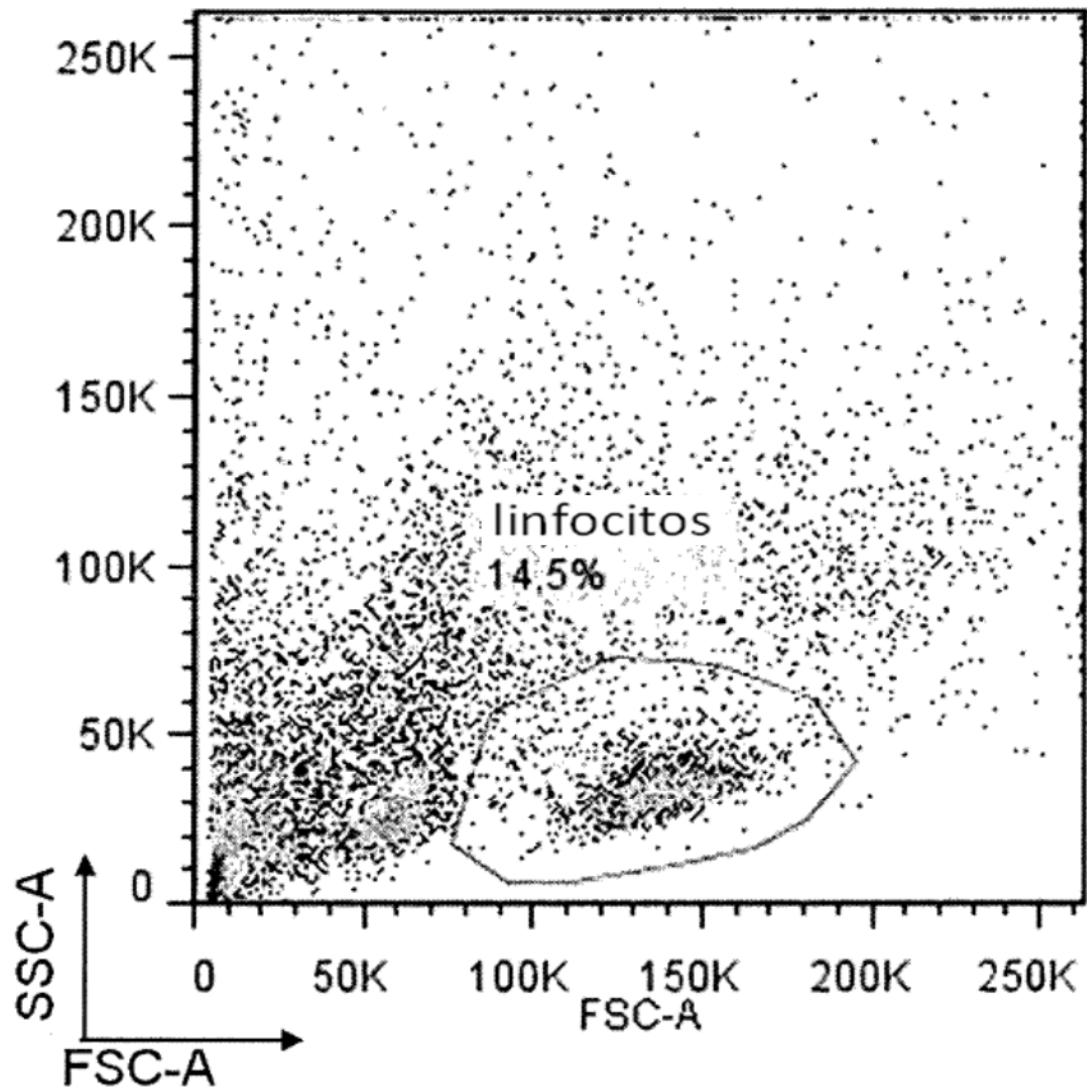
GBM IDH1R132H



A°III

Fig. 12





péptido 6 h_todos CD. fcs
No regulado
12059

Fig. 13(1)

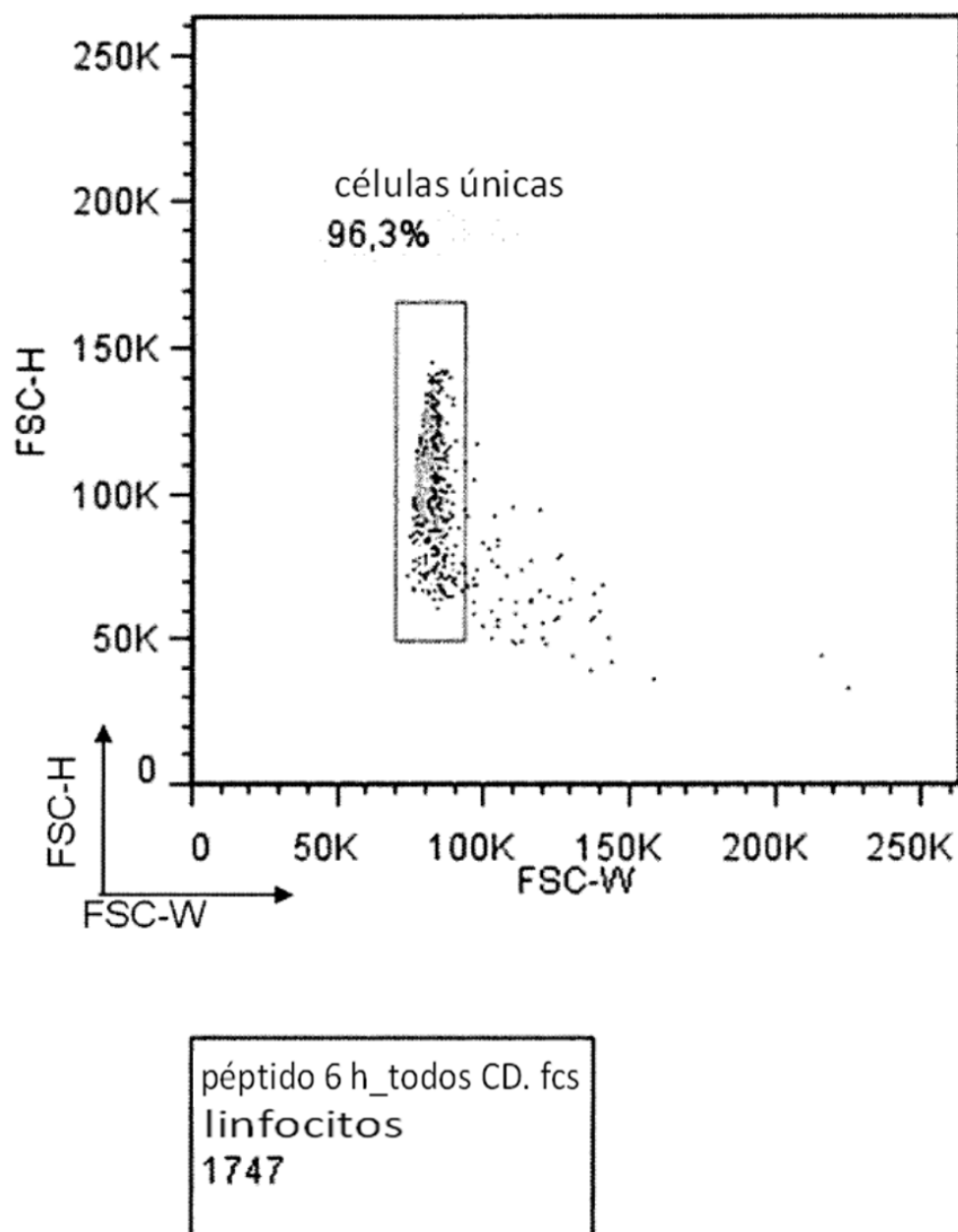


Fig. 13(2)

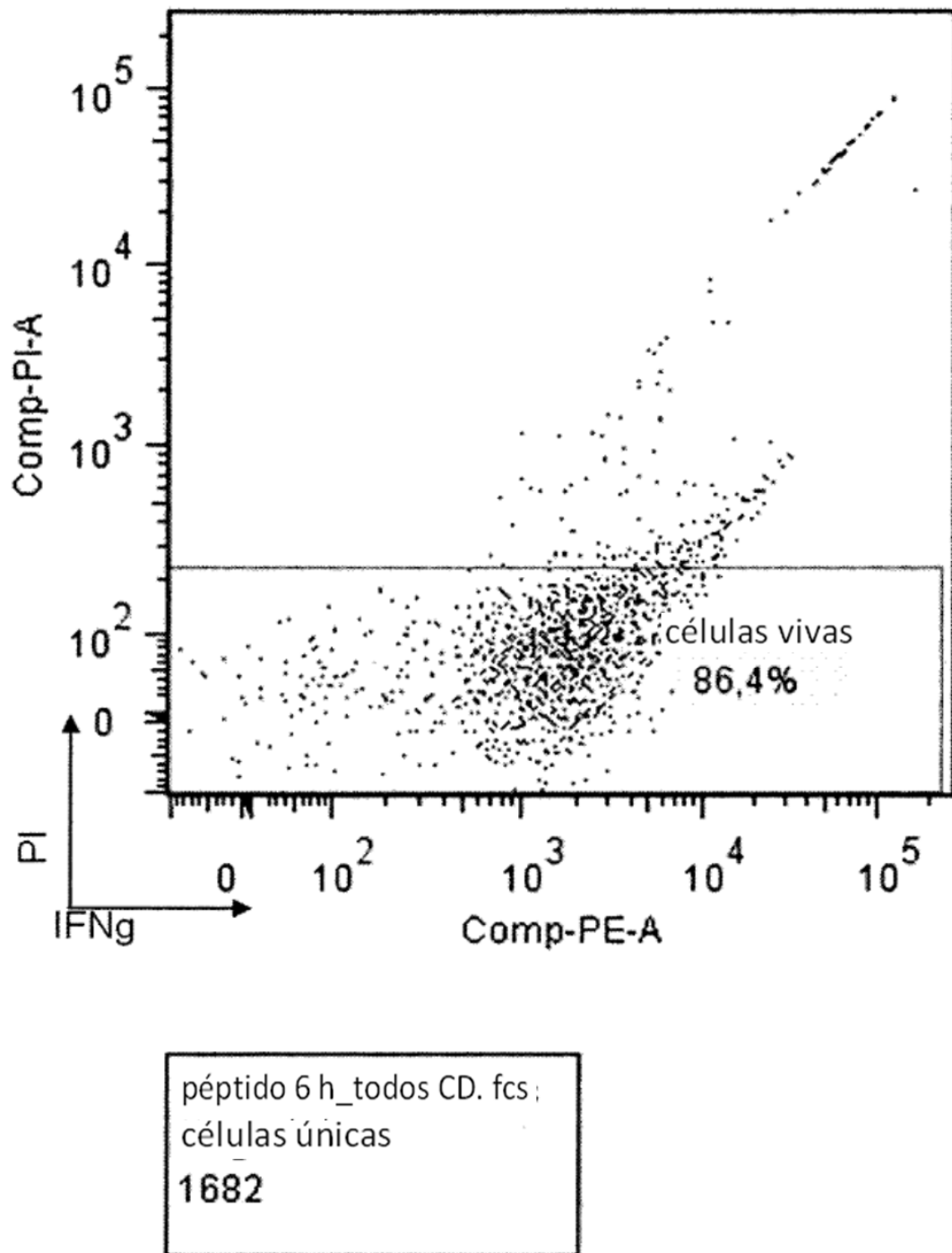


Fig. 13(3)

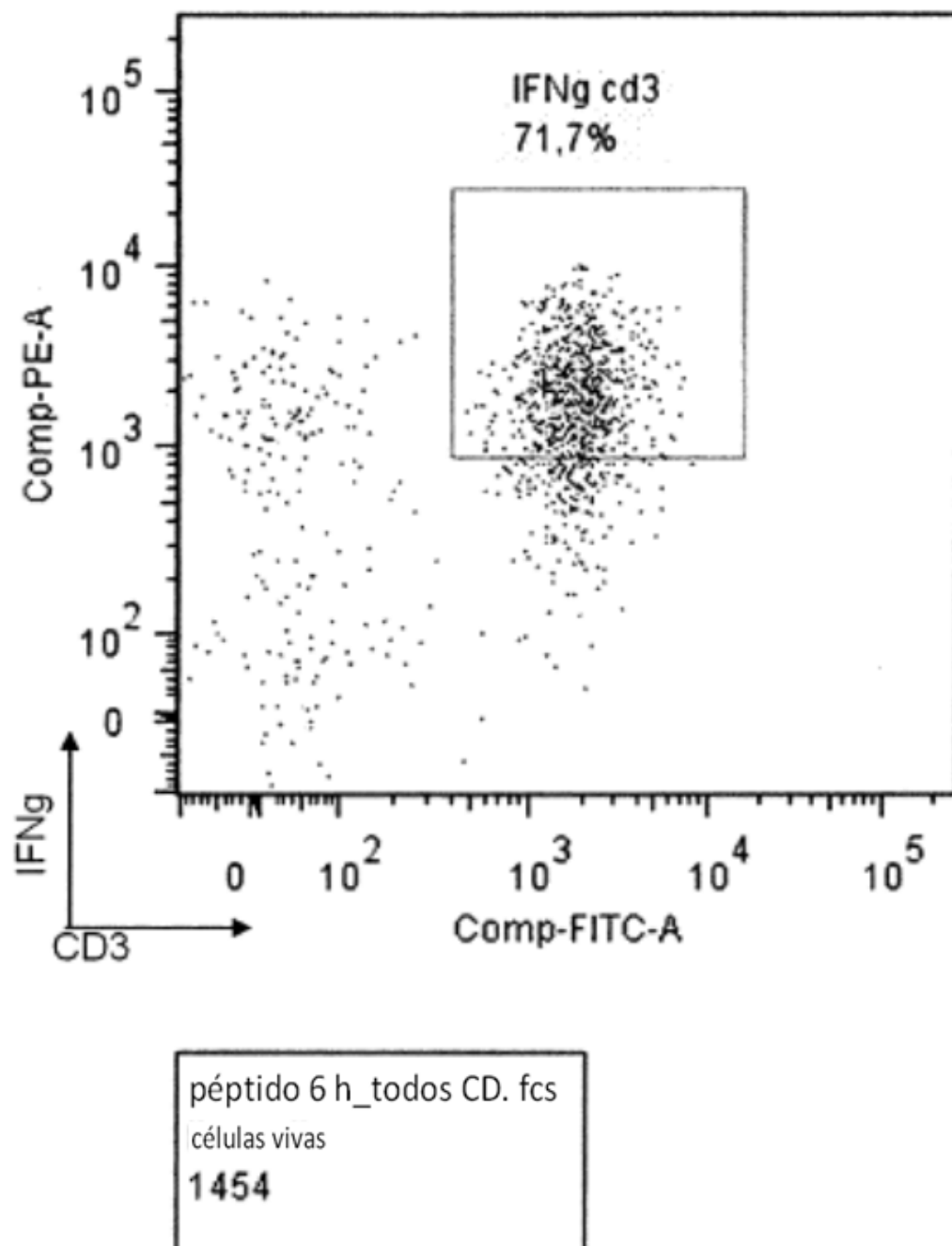
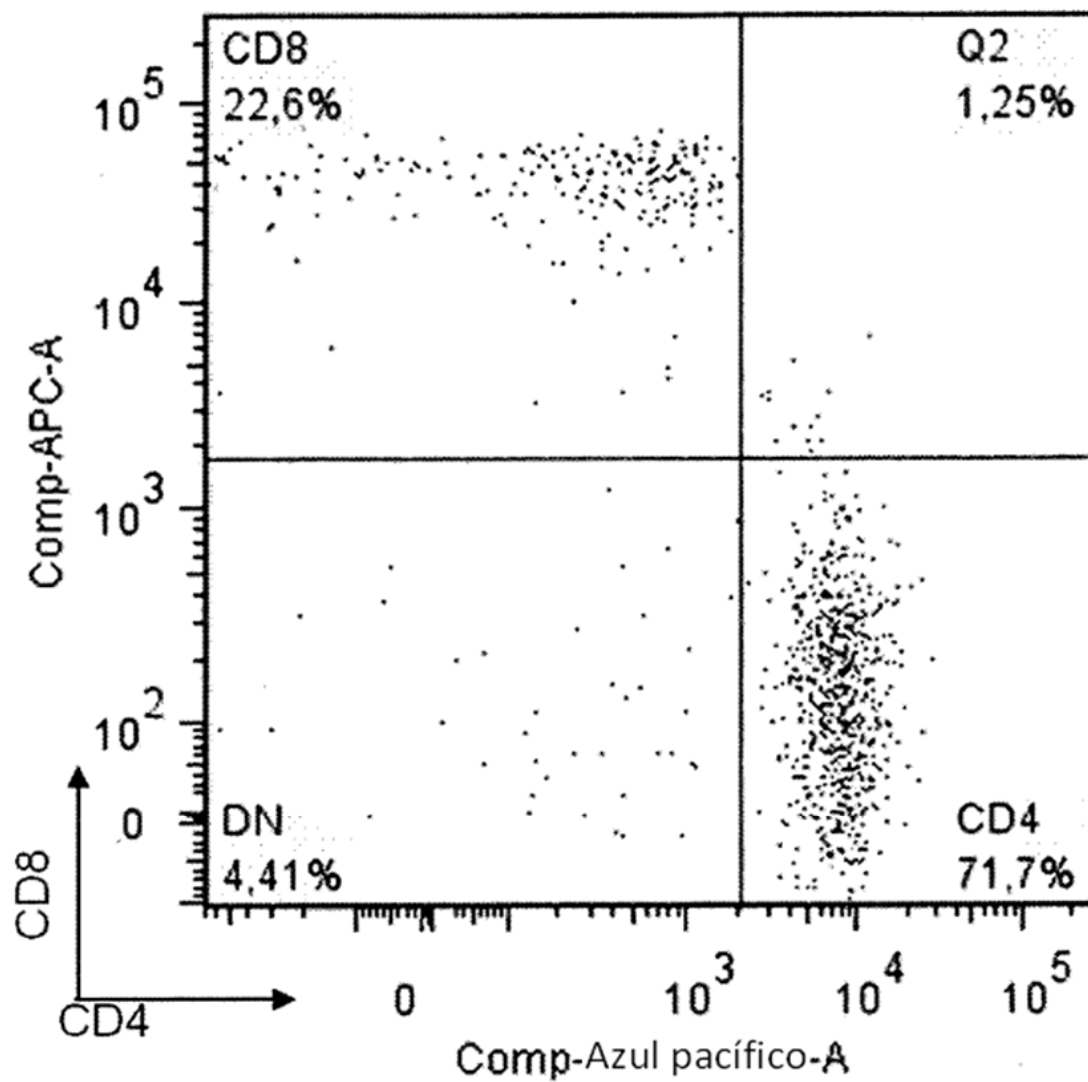


Fig. 13(4)



péptido 6 h_todos CD. fcs
IFNg cd3
1043

Fig. 13(5)

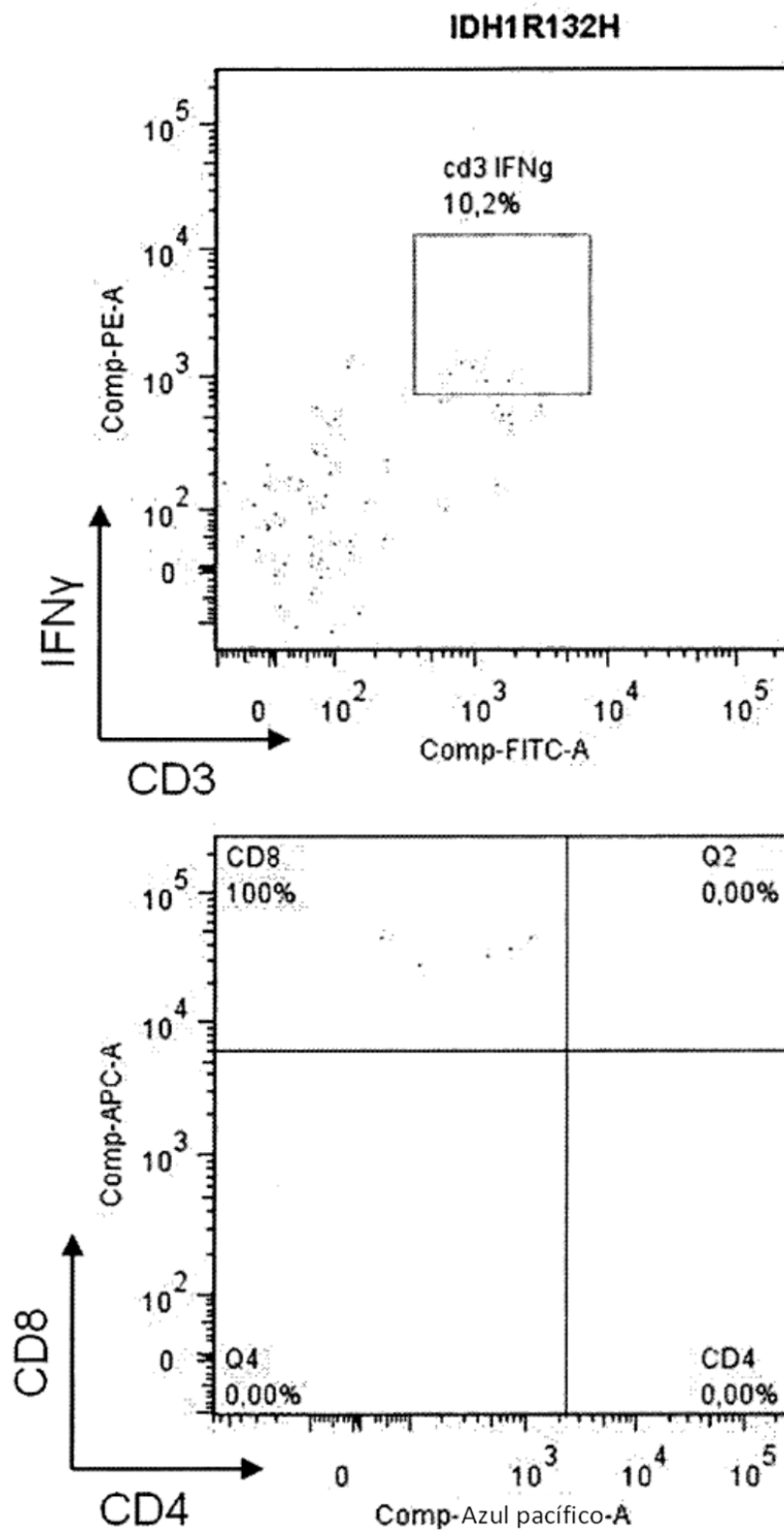


Fig. 14 A(1)

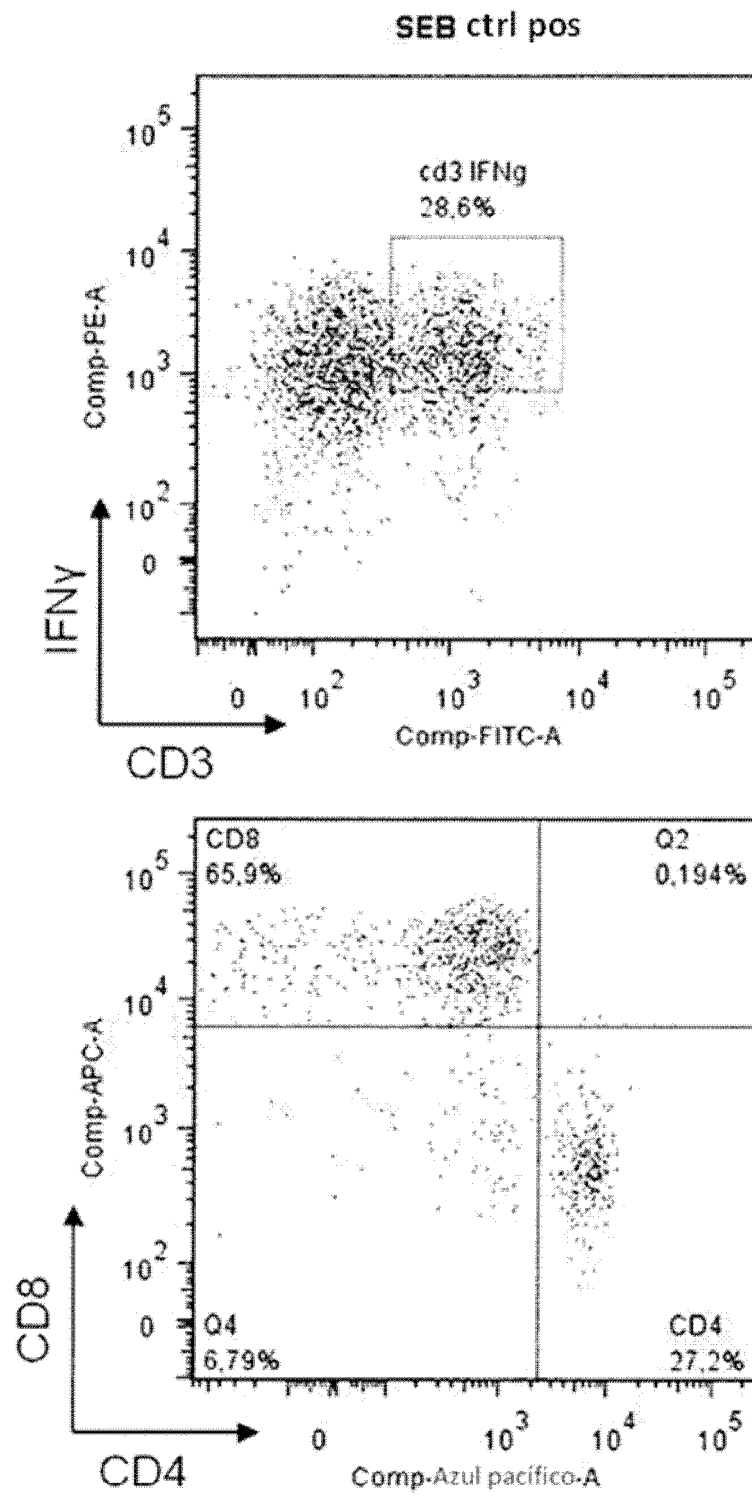


Fig. 14 A(2)

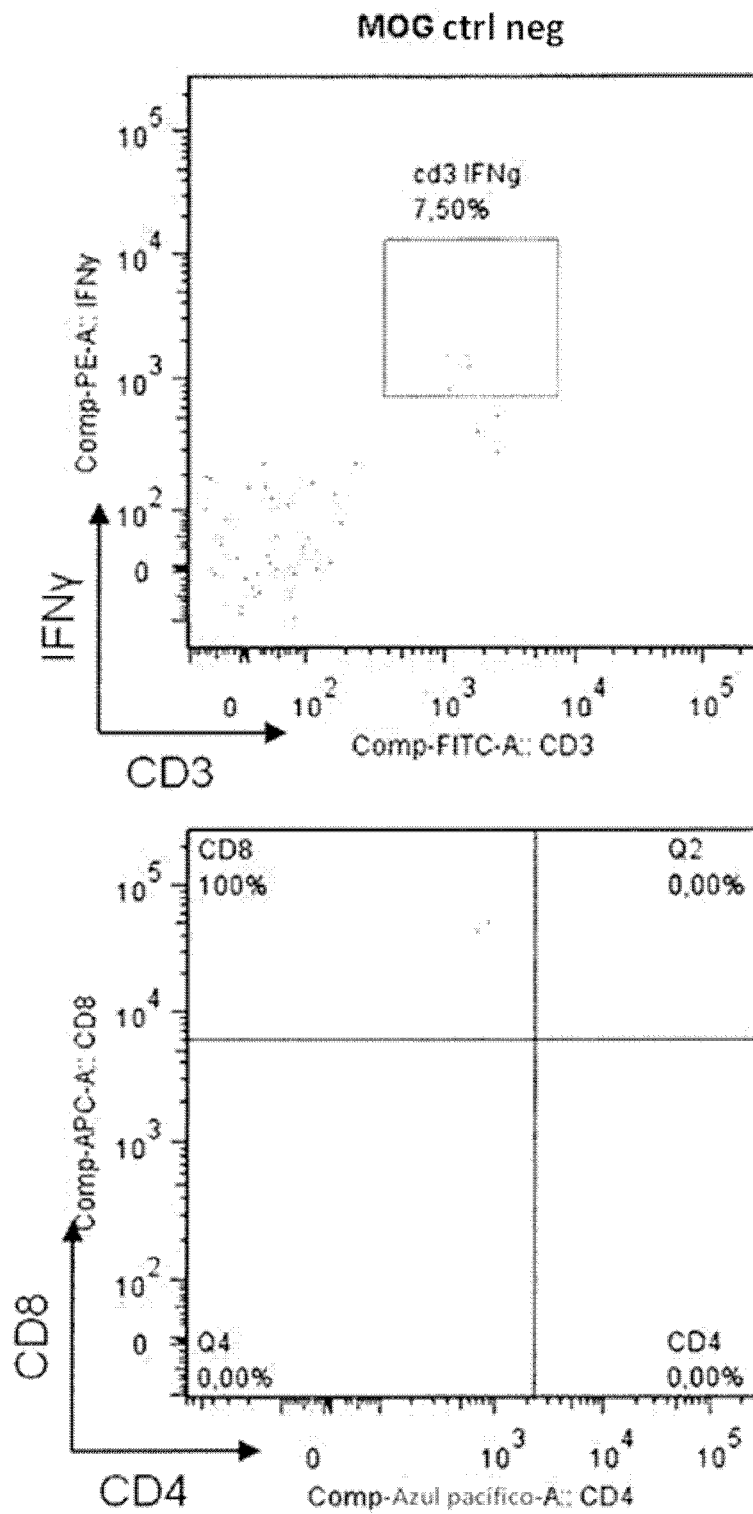


Fig. 14 A(3)

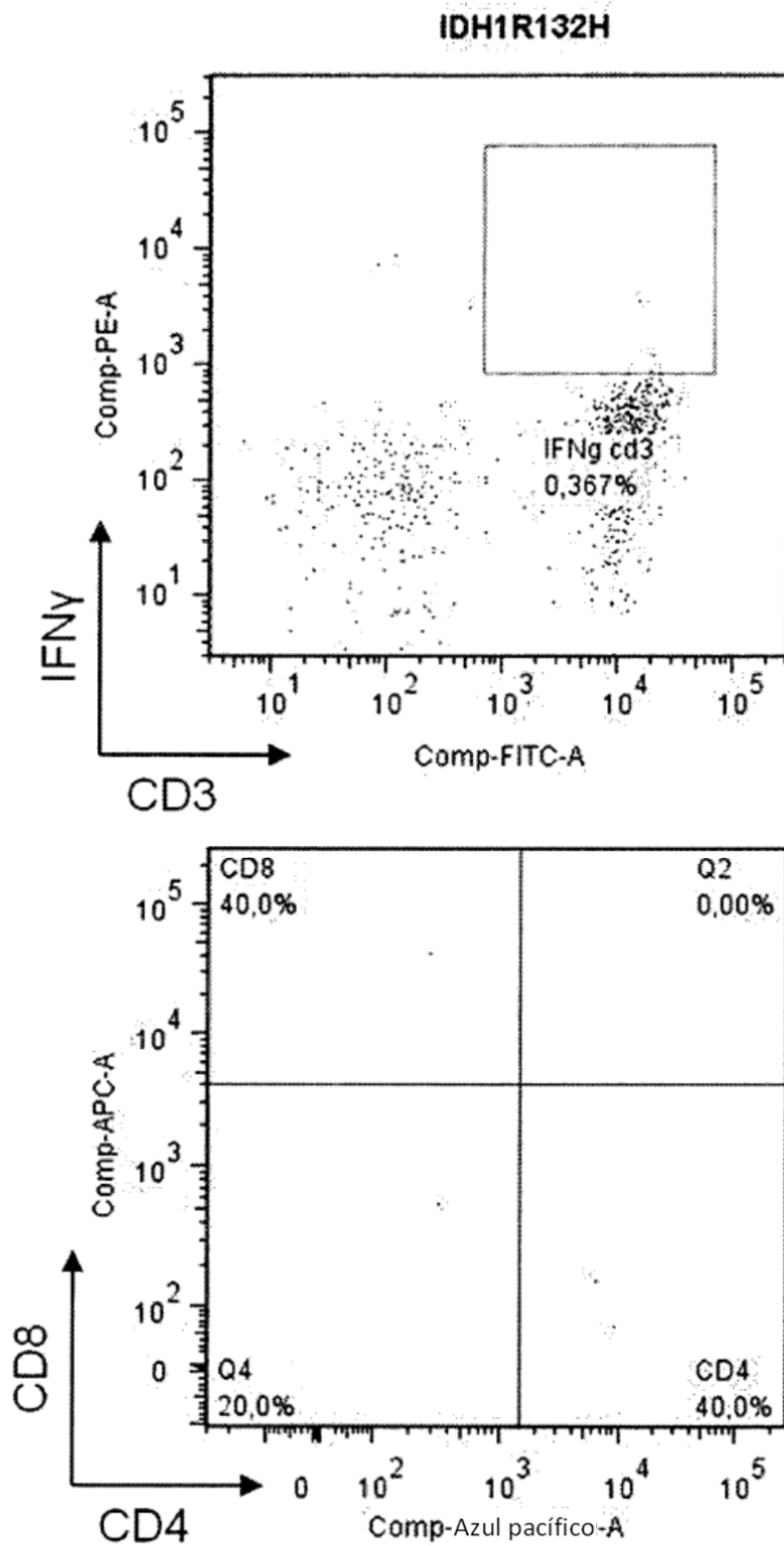


Fig. 14 B(1)

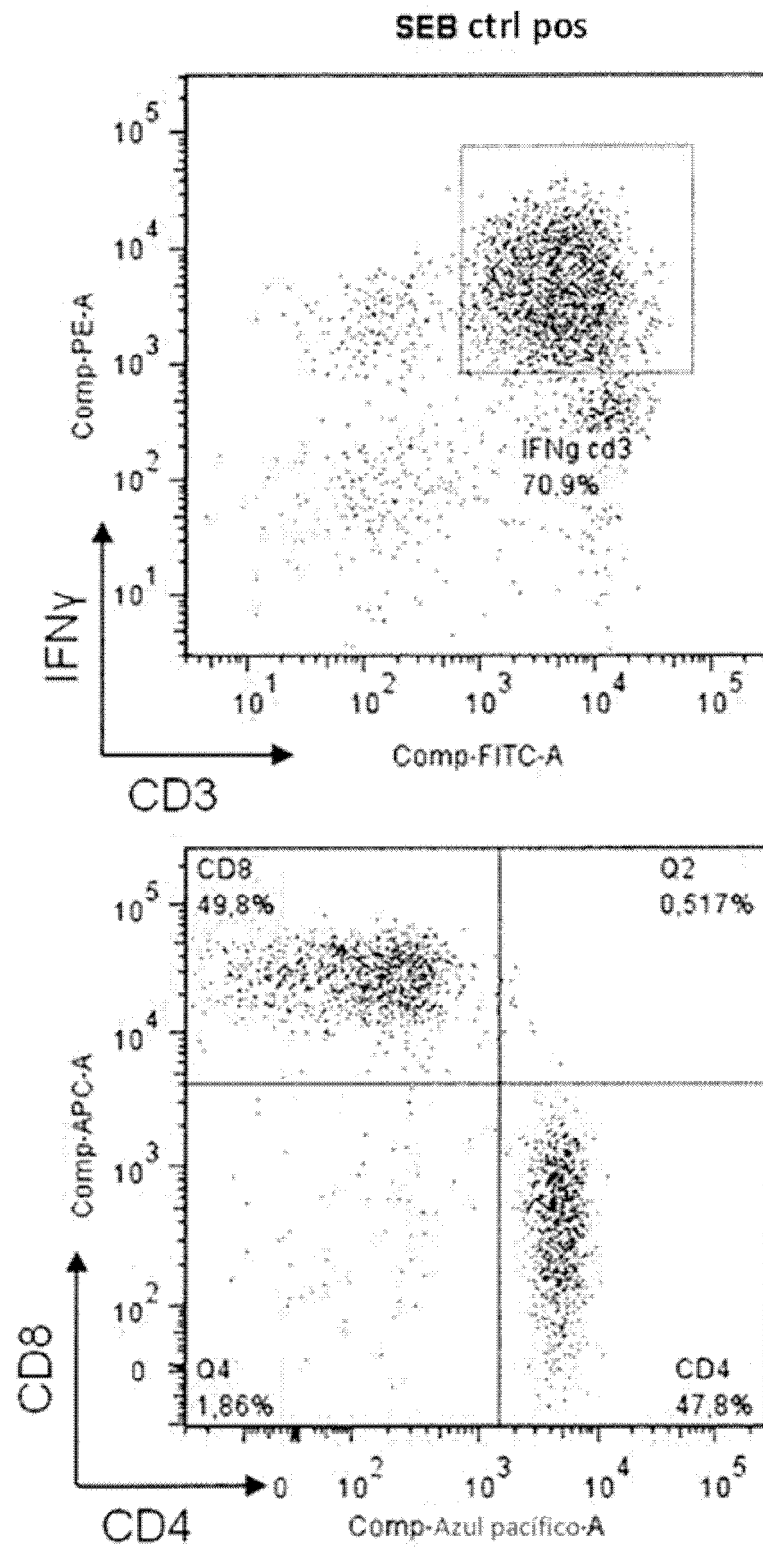


Fig. 14 B(2)

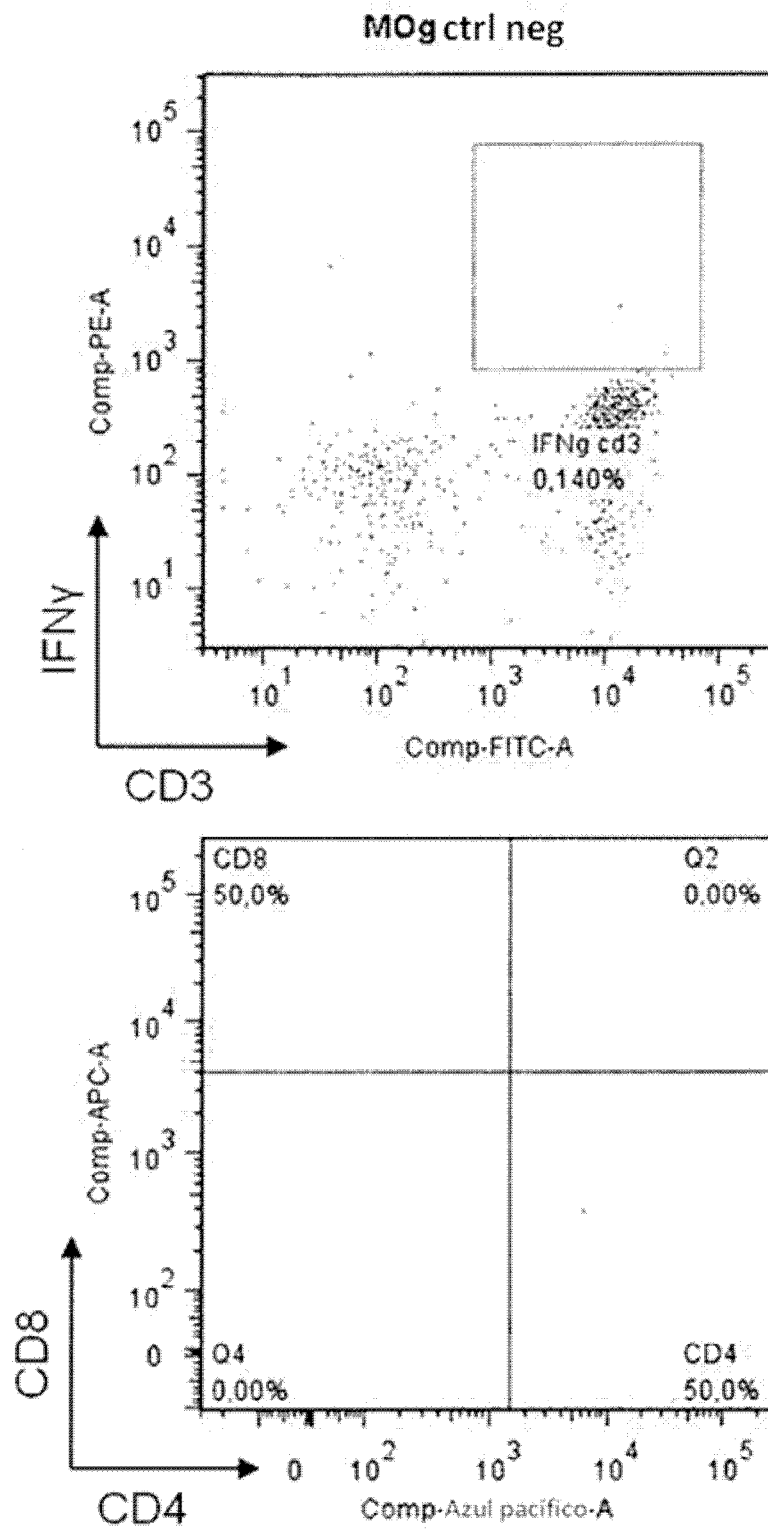


Fig. 14 B(3)

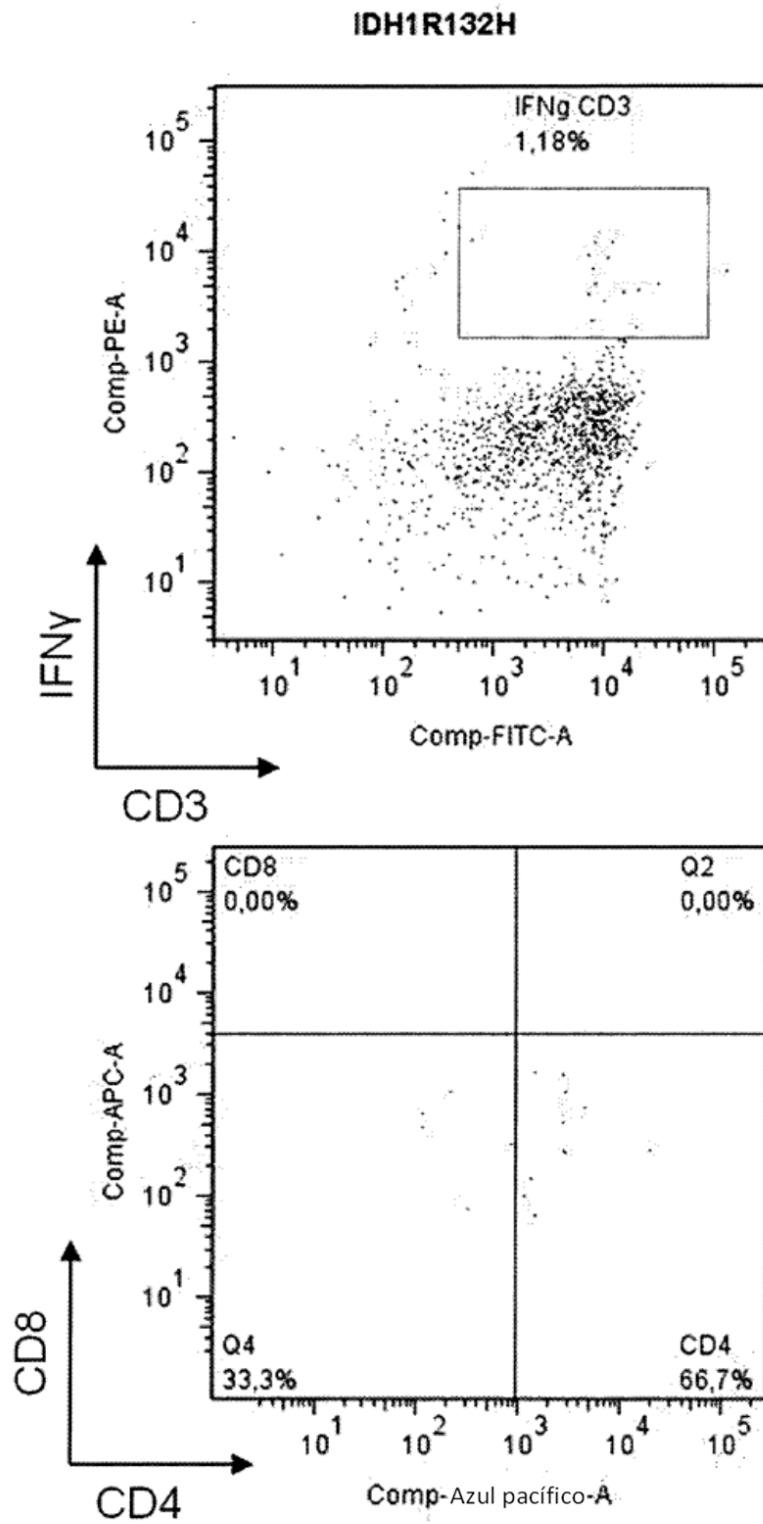


Fig. 14 C(1)

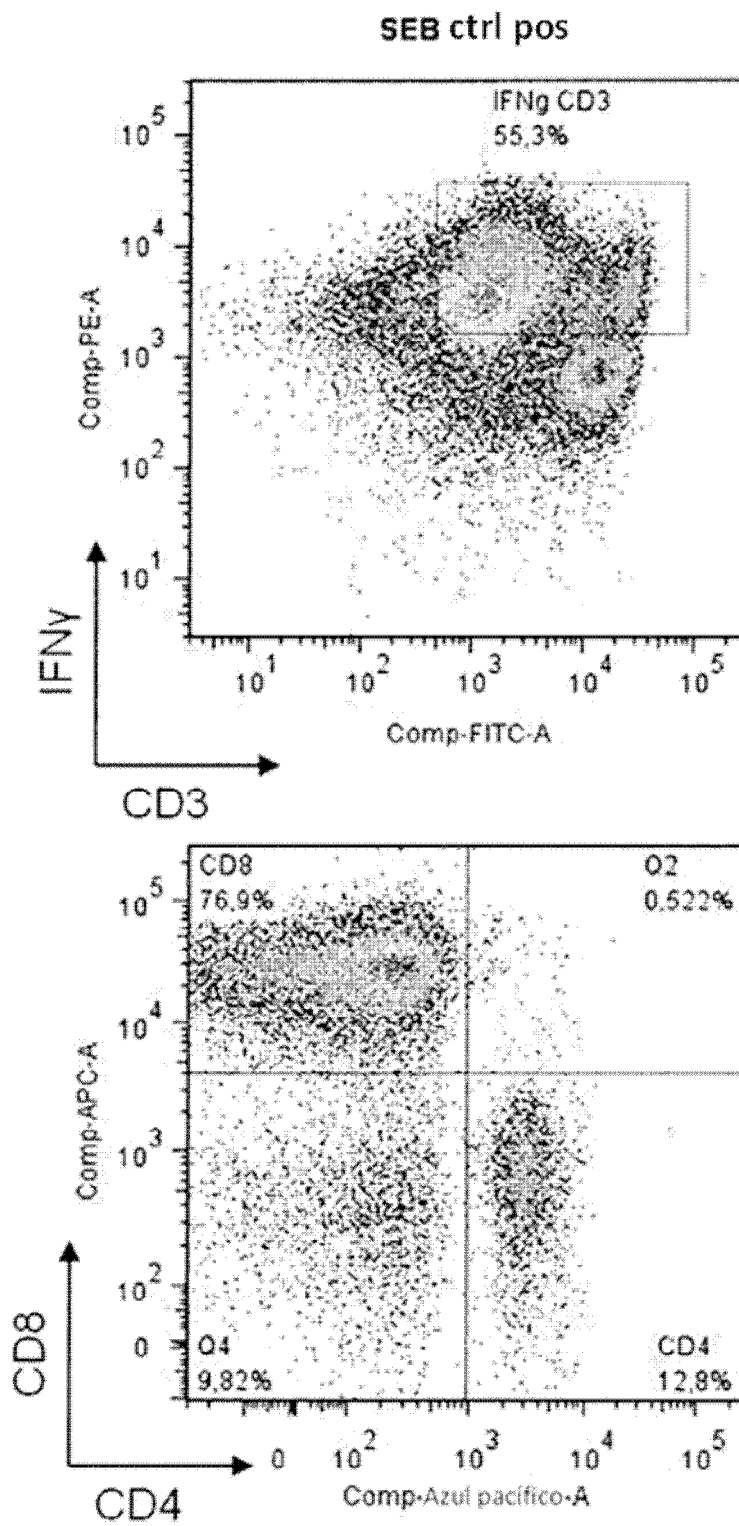


Fig. 14 C(2)

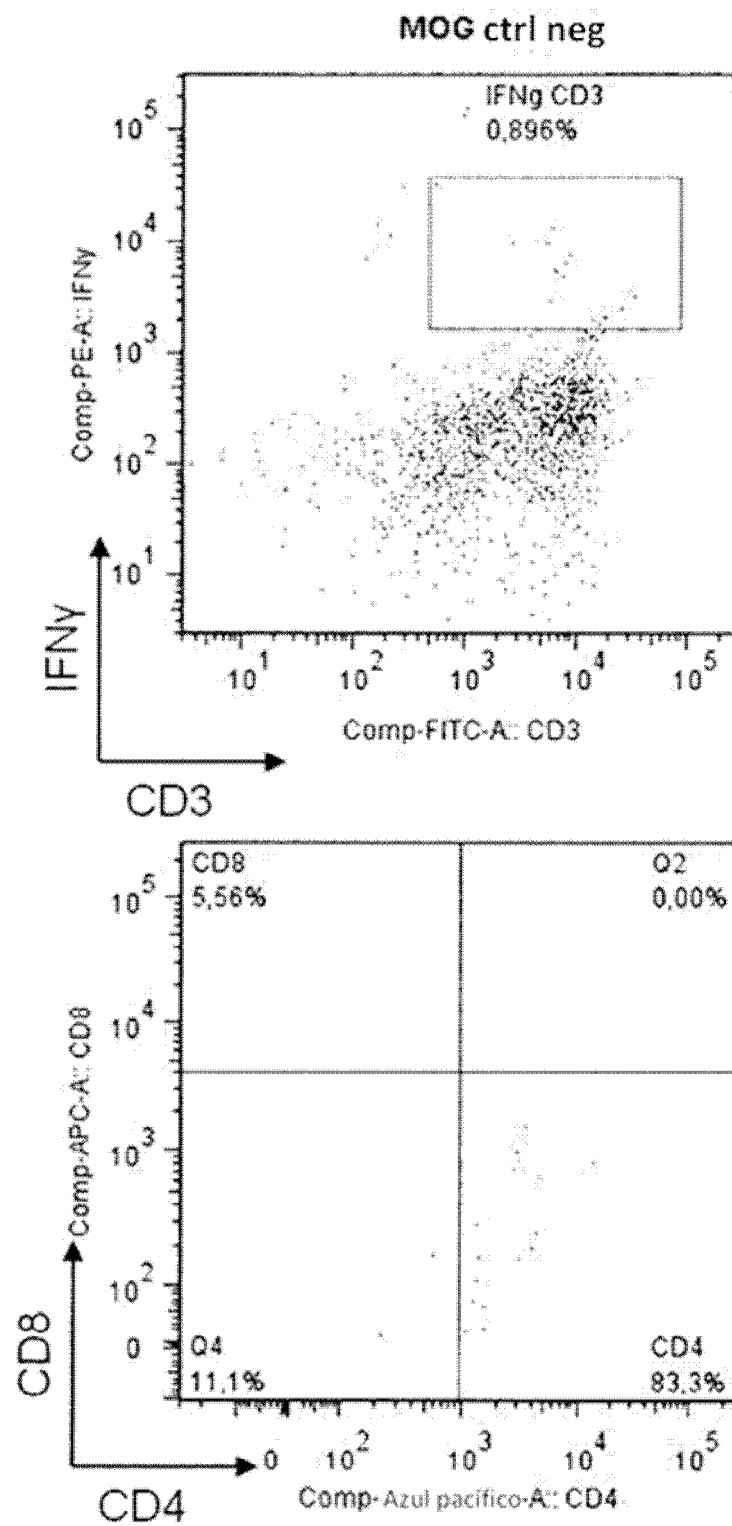


Fig. 14 C(3)

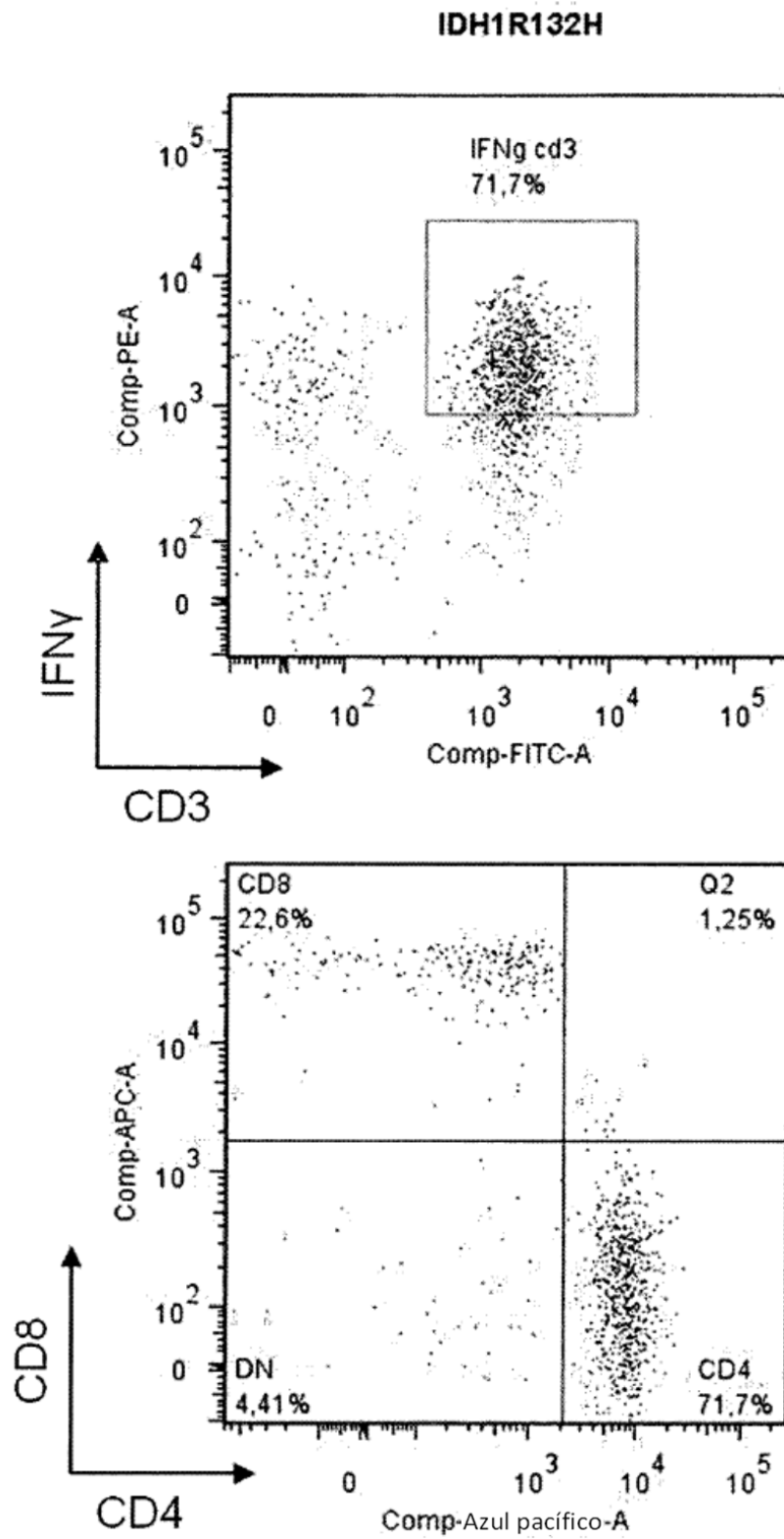


Fig. 15 A(1)

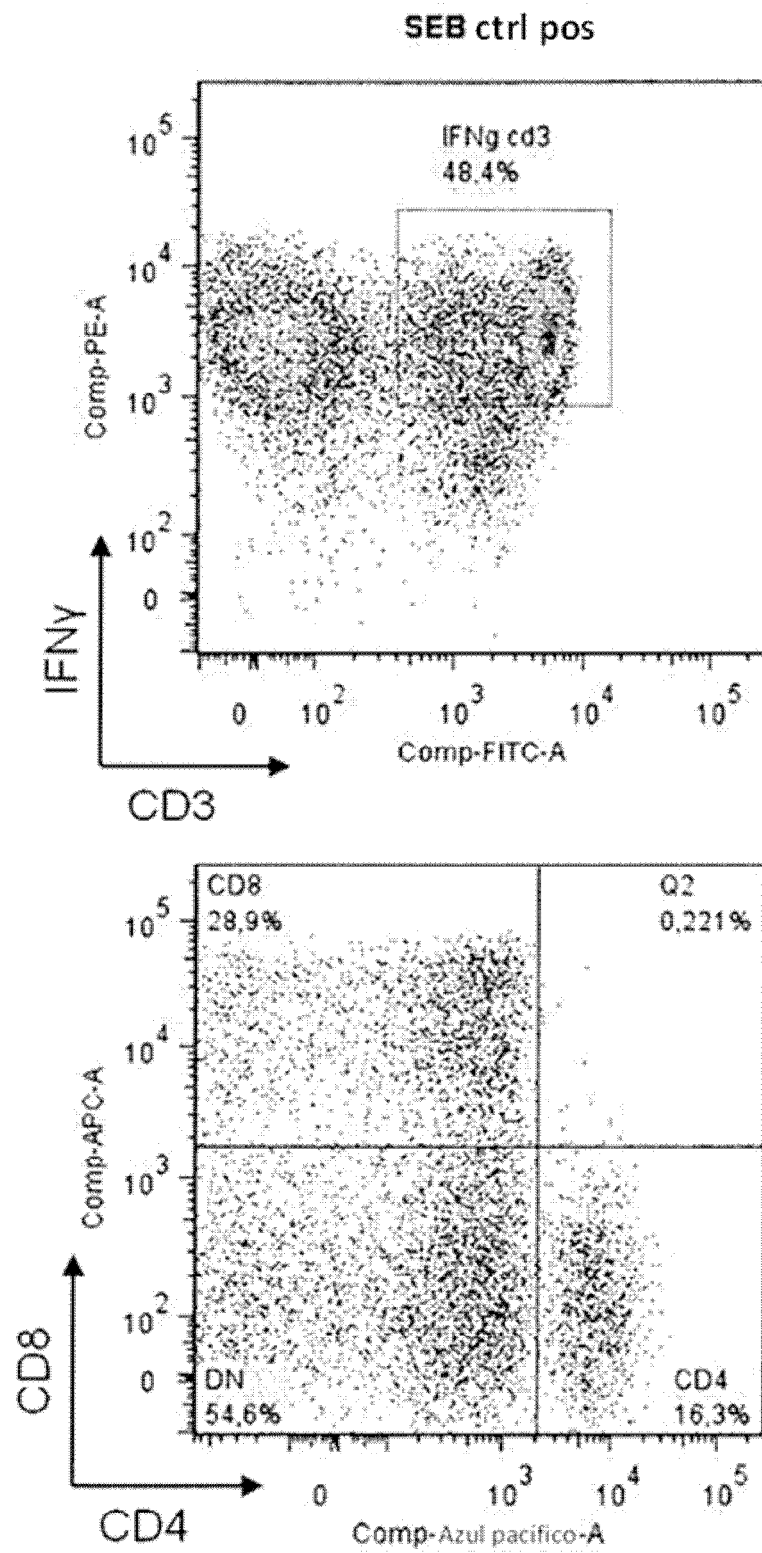


Fig. 15 A(2)

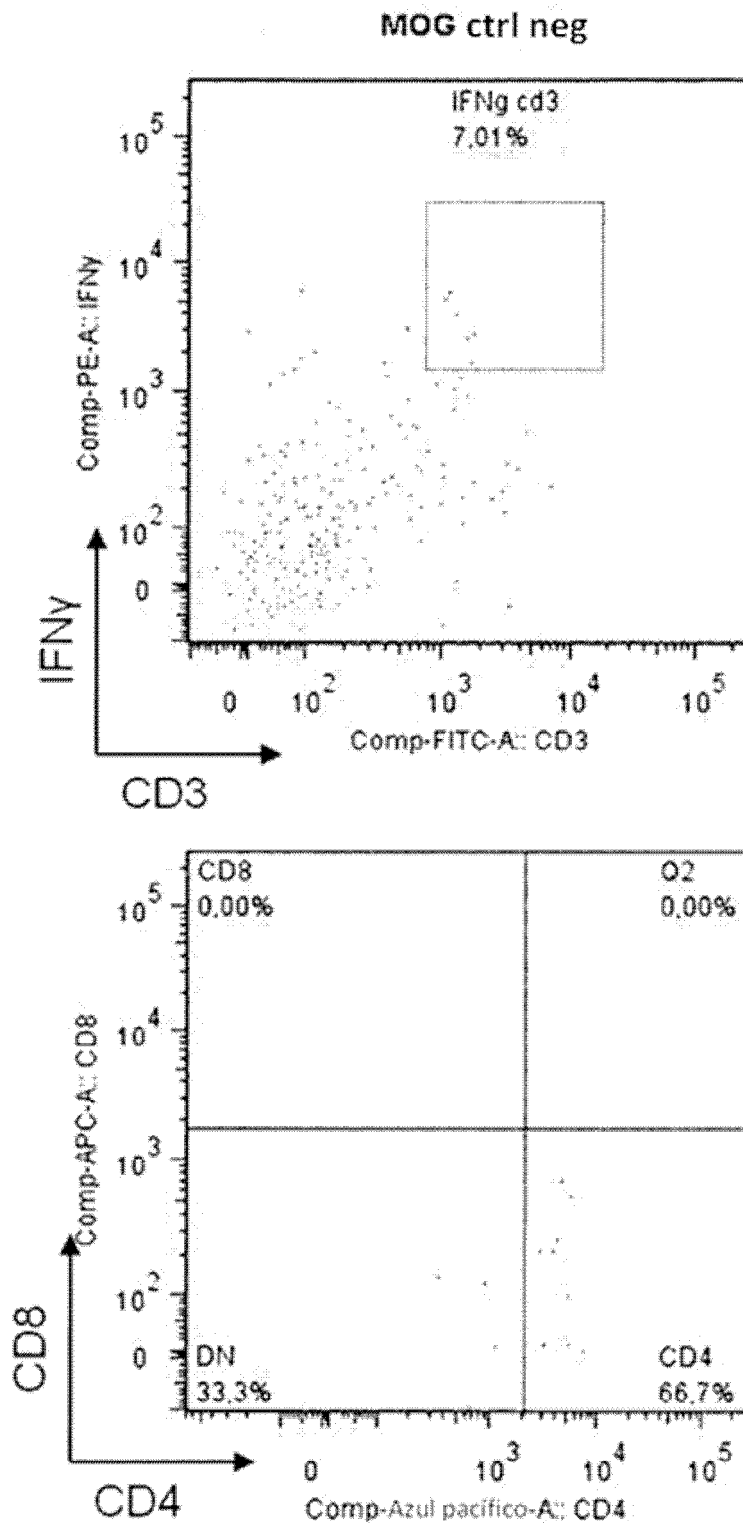


Fig. 15 A(3)

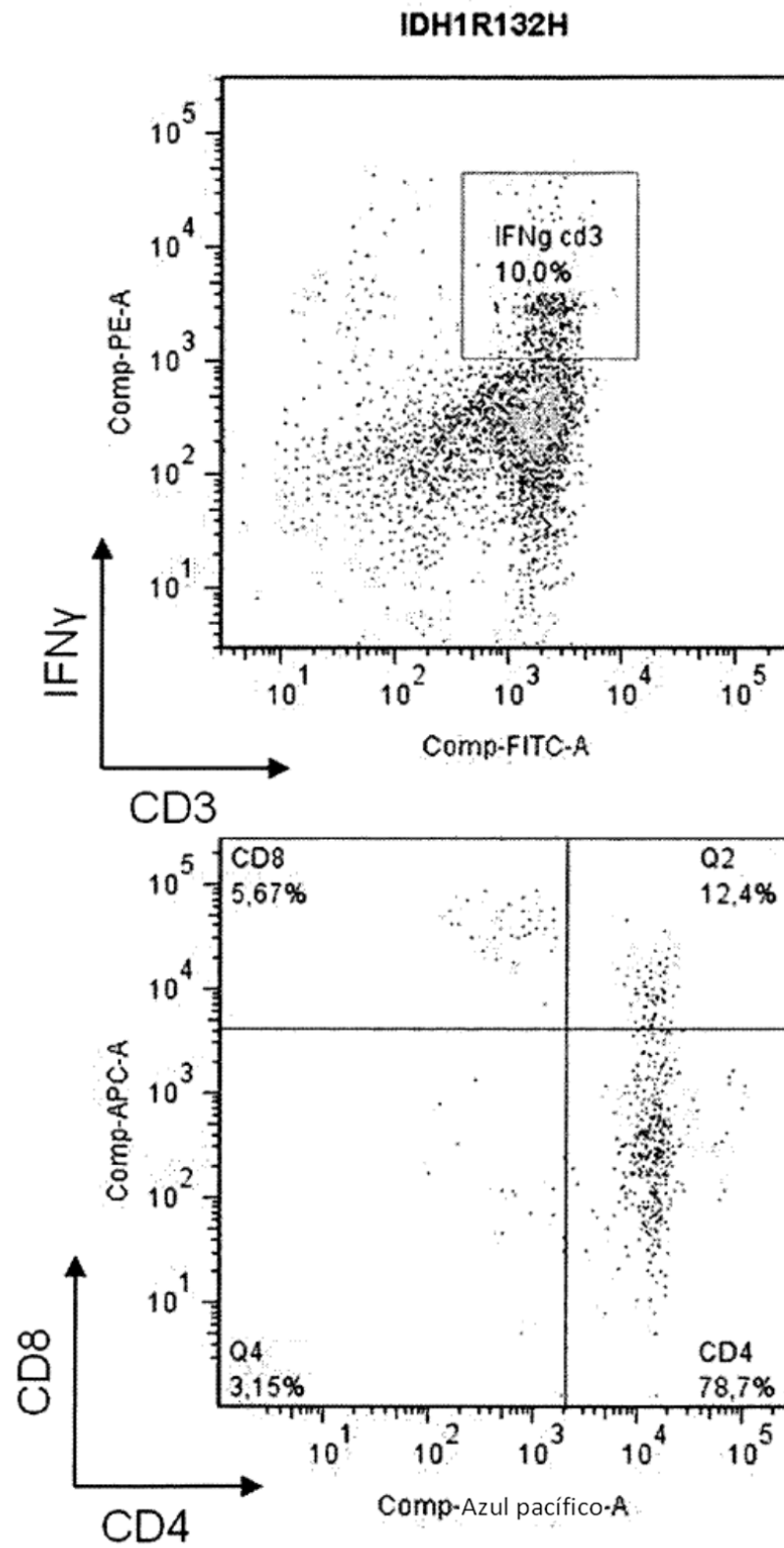


Fig. 15 B(1)

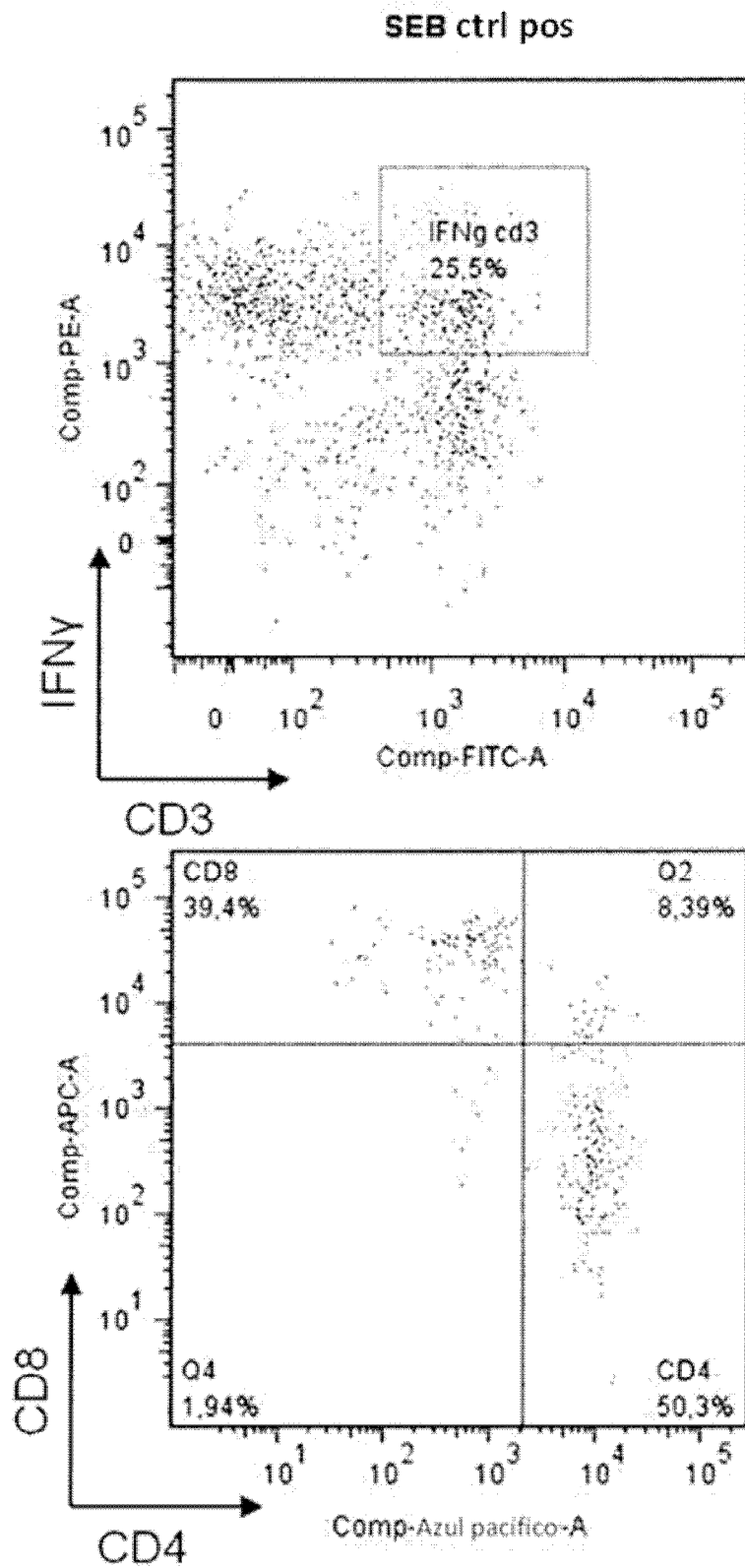


Fig. 15 B(2)

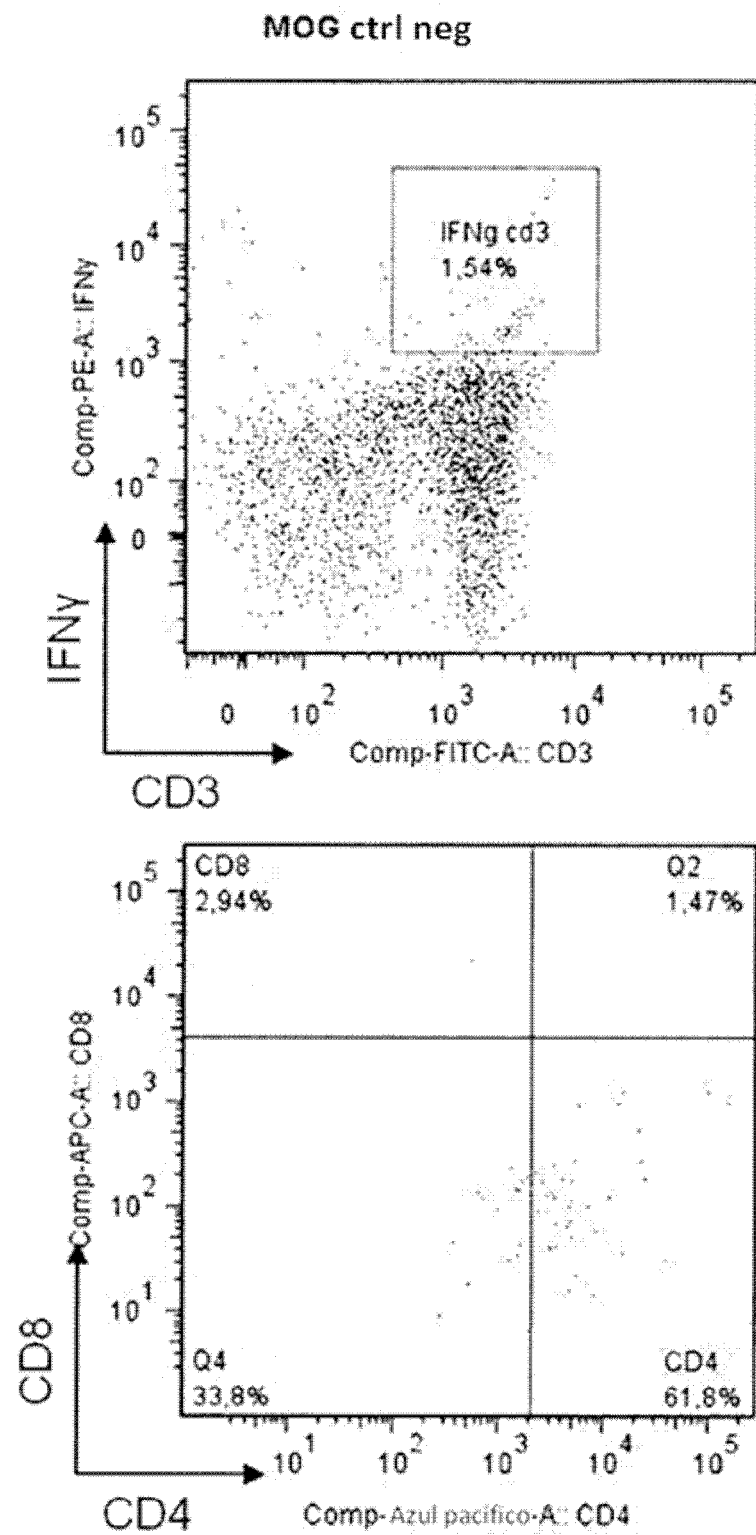


Fig. 15 B(3)