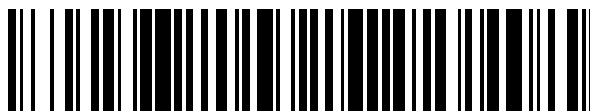


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 598 005**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 14/715 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2010** **PCT/US2010/045511**
87 Fecha y número de publicación internacional: **17.02.2011** **WO11020047**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2010** **E 10752466 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016** **EP 2464377**

54 Título: **Uso de IL-15 para aumentar la salida del timo y para tratar la linfopenia**

30 Prioridad:

14.08.2009 US 234152 P
14.08.2009 US 234155 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.01.2017

73 Titular/es:

THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (100.0%)
National Institutes Of Health Office of Technology Transfer 6011 Executive Boulevard, Suite 325 Rockville, MD 20852-3804, US

72 Inventor/es:

PAVLAKIS, GEORGE N.;
FELBER, BARBARA K.;
VALENTIN, ANTONIO y
BERGAMASCHI, CRISTINA

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 598 005 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

Uso de IL-15 para aumentar la salida del timo y para tratar la linfopenia

5 Campo de la invención

La presente invención reivindicada proporciona composiciones para estimular la maduración y exportación de células T desde el timo, por ejemplo a tejidos periféricos linfoides y no linfoides, poniendo en contacto el tejido del timo *in vivo* con interleucina (IL)-15.

La invención reivindicada proporciona adicionalmente la prevención, el alivio, la reducción y/o la inhibición de la linfopenia o la depleción de linfocitos en tejidos periféricos en un paciente en necesidad de ello mediante la administración de IL-15 al paciente.

15 Antecedentes de la invención

Actualmente hay dos citocinas de cadena gamma comunes, IL-2 y IL-7, aprobadas o consideradas para inmunoterapia del SIDA y de cáncer. Véase, Sportes, et al., (2008) J Exp Med 205:1701–1714; Levy, Y. (2009) J Clin Invest. 119(4):997–100785; y Rosenberg, et al., (2006) J Immunother 29:313–319. No existe experiencia clínica con la citocina de cadena gamma IL-15. Véase, Cheever, (2008) Immunological Reviews 222:357–368.

La IL-15 es una citocina no redundante importante para el desarrollo, supervivencia y proliferación de las células asesinas naturales (NK) y T CD8+. Comparte con la IL-2 el mismo receptor beta gamma de la IL-2 y tiene muchos efectos similares sobre los linfocitos, pero, al contrario que la IL-2, no es producida por los linfocitos sino por una plétora de otras células entre las que se incluyen, de forma importante, las células presentadoras de antígeno y los macrófagos, y las células estromales en varios tejidos. Los efectos biológicos de la IL-12 y la IL-15 a nivel del organismo son espectacularmente diferentes, como muestran los trabajos realizados con ratones defectivos: La falta de IL-15 produce defectos en el sistema inmunológico, mientras que la falta de IL-12 produce activación inmunológica y autoinmunidad grave. Véase, Waldmann, (2006) Nat Rev Immunol 6:595–601; y Ma, et al., (2006) Annu Rev Immunol 24:657–679. Ambas citocinas están bajo una estrecha y compleja regulación en todas las etapas de expresión y secreción. Las diferencias biológicas de la IL-12 y la IL-15 están determinadas por sus diferentes estados de producción, su fuerza de asociación con las proteínas del receptor de la membrana, denominado receptor alfa de IL-2 y receptor alfa de IL-15 (IL-15R α), respectivamente, y la regulación de estas moléculas receptoras adicionales. También se ha informado de que la IL-15 tiene un mecanismo de acción único *in vivo* entre las citocinas de la cadena gamma común: la IL-15 funciones en un complejo con IL-15R α y depende de la coexpresión por las mismas células de IL-15R α . Véase, Burkett, et al., (2004) J Exp Med 200:825–834; Burkett, et al., (2003) Proc Natl Acad Sci USA 100:4724–4729; Dubois, et al., (2002) Immunity 17:537–547; Sandau, et al., (2004) J Immunol 173:6537–6541; Schluns, et al., (2004) Blood 103:988–994; Rubinstein, et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103:9166–9171; Bergamaschi, et al., (2008) J Biol Chem 283:4189–4199. La IL-15 tiene papeles no redundantes en el desarrollo y la función de las células NK y los linfocitos intraepiteliales intestinales (IEL). Véase, Cooper, et al., (2001) Blood 97:3146–3151. Estimula la actividad citolítica, la secreción de citocinas, la proliferación y la supervivencia de las células NK. Véase, Fehniger, et al., (1999) J Immunol 162:4511–4520; Ross, et al., (1997) Blood 89:910–918; y Carson, et al., (1994) J Exp Med 180:1395–1403. La IL-15 tiene un efecto proliferativo y de supervivencia sobre las células T de memoria CD8+ y las células T CD8+ intactas. Véase, Tan, et al., (2002) J Exp Med 195:1523–1532; Zhang, et al., (1998) Immunity 8:591–599; Berard, et al., (2003) J Immunol 170:5018–5026; y Alves, et al., (2003) Blood 102:2541–2546.

En varios estudios se han evaluado los efectos de la administración de IL-15 *in vivo*. La proliferación de células T CD8+ de memoria se incrementó después de una única dosis de IL-15 en ratones normales. Véase, Zhang, et al., (1998) Immunity 8:591–599. La administración de IL-15 a ratones aumentó la actividad antitumoral después del trasplante singénico de médula ósea (TMO) y las respuestas primarias específicas de antígeno de células T CD8+ tras la vacunación con células dendríticas pulsadas con péptidos. Véase, Rubinstein, et al., (2002) J Immunol 169:4928–4935; Katsanis, et al., (1996) Transplantation 62:872–875. La IL-15 también mejoró la reconstitución inmune después de un trasplante alogénico de médula ósea. Véase, Alpdogan, et al., (2005) Blood 105:865–873; y Evans, et al., (1997) Cell Immunol 179:66–73. La capacidad de la IL-15 para estimular el crecimiento, la supervivencia y la activación de las poblaciones de linfocitos clave la convierten también en una candidata atractiva para apoyar el crecimiento *in vitro* e *in vivo* de las células para la terapia celular adoptiva. Véase, Rosenberg, et al., (2008) Nat Rev Cancer 8:299–308; y Berger, et al., (2008) J Clin Invest 118:294–305.

Los inventores han demostrado que la producción eficiente de IL-15 requiere la expresión de IL-15 y del receptor alfa de IL-15 (IL-15R α) en la misma célula. Véase, Bergamaschi, et al., (2008) J Biol Chem 283:4189–4199. La coproducción conduce a la asociación intracelular de IL-15 e IL-15R α en el retículo endoplásmico, la estabilización de ambas moléculas y el transporte eficiente a la superficie celular (Figura 1). Los inventores demostraron que una etapa crucial adicional es la rápida escisión y liberación del complejo IL-15/IL-15R α de la superficie celular, tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que da como resultado una forma soluble, sistémicamente activa de IL-15/IL-15R α , además del complejo bioactivo en la superficie celular. Véase, Dubois, et al., (2002) Immunity 17:537–547; Bergamaschi, et al.,

(2008) J Biol Chem 283:4189–4199; y Budagian, et al., (2004) J Biol Chem 279:40368–40375. Nuestros experimentos con IL-15 en complejo con un mutante de delección de IL-15R α que contiene solo el fragmento extracelular del receptor alfa soluble demostraron que este complejo es bioactivo *in vivo* en ausencia de cualquier forma unida a la membrana.

Por lo tanto, los inventores han propuesto que IL-15R α es parte de una citocina 3IL-15 heterodimérico, en lugar de funcionar como un receptor de citocinas. Estos resultados han sido apoyados por otros investigadores, y proporcionar la base para una mejor comprensión de la biología de la IL-15. Véase, Duitman, et al., (2008) Mol Cell Biol 28:4851–4861; Mortier, et al., (2008) J Exp Med 205:1213–1225. Los resultados también proporcionan la base molecular para explicar algunas observaciones interesantes, incluyendo el requisito de la producción de IL-15 e IL-15R α de las mismas células para la función apropiada *in vivo*. Véase, Sandau, et al., (2004) J Immunol 173:6537–6541; y Koka, et al., (2003) J Exp Med 197:977–984. Tales resultados están completamente explicados por el hallazgo de los inventores de que es necesaria la estabilización durante la coexpresión en la misma célula para niveles fisiológicos de la producción de IL-15. También se ha informado de que las células que expresan fisiológicamente IL-15 también expresan IL-15R α , en consonancia con la producción de IL-15 como un heterodímero en el cuerpo. Véase, Dubois, et al., (2002) Immunity 17:537–547; Giri, et al., (1995) J Leukoc Biol 57:763–766; y Ruckert, et al., (2003) Eur J Immunol 33:3493–3503. La interpretación de todos los datos disponibles hasta la fecha sugiere que la forma principal bioactiva de IL-15 se encuentra en un complejo con el receptor alfa, ya sea en la superficie de las células o en una forma circulante soluble. Queda por determinar si una sola cadena de IL-15 se produce en el cuerpo a niveles fisiológicamente relevantes y cuál es su función exacta.

Se ha informado anteriormente de que la secreción de IL-15 es ineficiente. Véase, Bamford, et al., (1998) J Immunol 160:4418–4426; Gaggero, et al., (1999) Eur J Immunol 29:1265–1274; Kurys, et al., (2000) J Biol Chem 275:30653–30659; Onu, et al., (1997) J Immunol 158:255–262; y Tagaya, et al., (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94:14444–14449. Los inventores tomaron un enfoque sistemático para el desarrollo de vectores de expresión de IL-15 que producen niveles altos de citocinas bioactivas basados en la observación de que muchas etapas reguladoras durante la expresión de genes crean cuellos de botella de la producción de IL-15. Véase, Jalah, et al., (2007) DNA Cell Biol 26:827–840; y Kutzler, et al., (2005) J Immunol 175:112–123. Los inventores mostraron que la combinación de dos enfoques, es decir optimización del ARNm (ARN/optimización por codones) de las secuencias de codificación de la IL-15 y la sustitución del péptido señal con otras señales secretoras eficientes dio como resultado una expresión mejorada sinérgicamente y la secreción de IL-15 bioactiva. Véase, Jalah, et al., (2007) DNA Cell Biol 26:827–840. Aprovechando la estabilización de la IL-15 mediante la coexpresión con IL-15R α descrito anteriormente, los inventores produjeron vectores optimizados de igual forma para IL-15R α y vectores de combinación que expresan ambas moléculas, así como combinaciones que solo producen la citocina heterodimérica soluble. La mejora final en la expresión de la IL-15 secretada fue de más de 1.000 veces en comparación con el ADNc de la IL-15 silvestre, determinado mediante experimentos *in vitro* e *in vivo*. Los inventores han producido vectores similares para IL-15/IL-15R α de ratón, macaco y ser humano.

Se conocen dos formas de interleucina-15 (IL-15), que contiene un péptido señal largo (LSP) o un péptido señal corto (SSP), respectivamente. Las dos formas se producen mediante ARNm sometidos a corte y empalme de forma alternativa y solo empalmados se diferencian en la longitud de sus péptidos señal, el péptido señal largo de 48 aa o el péptido señal corto de 21 aa (120, 121, 125–127). Véase, Onu, et al., (1997) J Immunol 158:255–262; Tagaya, et al., (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94:14444–14449; Meazza, et al., (1997) Eur J Immunol 27:1049–1054; Meazza, et al., (1996) Oncogene 12:2187–2192; y Nishimura, et al., (1998) J Immunol 160:936–942. Mientras que se secreta LSP IL-15, SSP IL-15 sigue siendo exclusivamente intracelular y su función no se conoce. Se ha propuesto que SSP IL-15 puede tener una función reguladora desde que se detectó tanto en el citoplasma como en el núcleo de las células transfectadas con ADN. La señal SSP afecta tanto a la estabilidad como a la localización de IL-15, ya que se detectaron niveles más bajos de la isoforma SSP cuando las dos isoformas se expresaron a partir de vectores similares. Véase, Onu, et al., (1997) J Immunol 158:255–262; Tagaya, et al., (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94:14444–14449; y Bergamaschi, et al., (2009) J Immunol, 5:3064–72.

En Bergamaschi, los inventores mostraron que, de forma similar a LSP IL-15, SSP IL-15 se estabiliza y se secreta de manera eficiente en la coexpresión de IL-15R α en la misma célula. Véase, Bergamaschi, et al., (2009) J Immunol, citado anteriormente. La coexpresión de SSP IL-15 e IL-15R α en ratones mostró un aumento de los niveles plasmáticos de SSP IL-15 bioactiva y la movilización y la expansión de las células NK y T. Por lo tanto, SSP IL-15 se secreta y se bioactiva cuando se produce como un heterodímero con IL-15R α de la misma célula. La estabilidad aparente de este complejo tanto *in vitro* como *in vivo* es menor en comparación con el complejo LSP IL-15/IL-15R α , según lo revelado mediante comparaciones directas. Esto se traduce en una menor producción de IL-15/IL-15R α bioactivo secretado. Por lo tanto, el corte y empalme alternativo puede proporcionar la célula con la capacidad para producir diferentes niveles de IL-15 bioactiva. Dado que ambas formas de IL-15 se pueden producir en la misma célula por corte y empalme alternativo, es posible un nivel adicional de regulación. Los inventores han demostrado que cuando se producen LSP IL-15 y SSP IL-15 en la misma célula, compiten por la unión a IL-15R α , lo que da como resultado niveles menores de IL-15 bioactiva. Por tanto, el SSP IL-15 coexpresado actúa como inhibidor competitivo de LSP IL-15. Esto sugiere que el uso de corte y empalme alternativo es un nivel adicional de control de la actividad de IL-15. La expresión de ambas formas de IL-15, SSP y LSP, parece estar conservada en muchos mamíferos, lo que sugiere que SSP puede ser importante para la expresión de una forma de IL-15 con una menor

magnitud y duración de los efectos biológicos. La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que SSP IL-15, que se produce en el timo, es importante para los efectos intratímicos sobre la diferenciación y la maduración de los linfocitos.

- 5 El documento WO 2007/084342 indica que divulga ácidos nucleicos mejorados para la expresión de IL-15 en células de mamífero. El documento US 2006/257361 indica que divulga híbridos de Fc-IL-15, que pueden o no incluir enlazadores peptídicos entre la IL-15 y la porción Fc, para los métodos de tratamiento de tumores o infecciones víricas. El documento US 2007/160578 indica que divulga métodos y composiciones para la expansión de las poblaciones de linfocitos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* utilizando complejos activadores de IL-15R α /IL-15. Jalah et al (2007) DNA and Cell Biology, 26, 827–840 indica que divulga vectores de expresión optimizadas para expresar IL-15. Williams et al (2007) Seminars in Immunology, 19, 318–330 se refiere a la reconstitución de células T después de la linfopenia de la quimioterapia o trasplante de células madre.

Breve resumen de la invención

- 15 La presente divulgación proporciona composiciones que estimulan la maduración de las células T en el timo y la salida o la migración de los linfocitos maduros y/o activados a partir de un órgano linfoide central para los tejidos periféricos mediante la administración de IL-15.

- 20 La invención reivindicada se basa, en parte, en el descubrimiento de que la IL-15 estimula la migración de las células T desde el timo y, posteriormente, a tejidos periféricos linfoides (por ejemplo, el bazo y los ganglios linfáticos) y no linfoides (por ejemplo, pulmón e hígado). En algunos casos, la maduración de los linfocitos en la médula ósea, por ejemplo, células B y células asesinas naturales (NK), y su migración a tejidos periféricos linfoides y no linfoides se estimula simultáneamente.

- 25 Específicamente, la invención reivindicada proporciona un heterodímero que comprende (i) una IL-15 y (ii) una proteína de fusión de IL-15R α -Fc que comprende un IL-15R α soluble que carece de la porción de anclaje transmembrana fusionada a una región Fc para su uso en un método de prevención o reducción de la linfopenia inducida por fármacos, que comprende administrar sistémicamente el heterodímero a un paciente humano tratado con un agente anticanceroso o que serán tratados con el agente anticanceroso a una dosis que mantiene los niveles suprafisiológicos en plasma de IL-15 durante un período prolongado de tiempo de aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días.

- 35 En un aspecto relacionado, la divulgación proporciona la estimulación de la migración de linfocitos desde un tejido linfoide central a uno o más tejidos periféricos en un sujeto que lo necesite mediante la administración al sujeto de IL-15.

- 40 En algunos casos, los linfocitos son células T y el tejido linfoide central es el timo. En algunos casos, los linfocitos son células B y/o células NK y el tejido linfoide central es la médula ósea.

- 45 En algunos casos, los linfocitos que migran desde los tejidos linfoides centrales son maduros pero no están activados. En algunos casos, los linfocitos que migran desde los tejidos linfoides centrales son maduros y sí están activados. En algunos casos, las células T que migran desde los timo son células T positivas (CD4+ o CD8+) maduras individuales. Las células T inducidas a abandonar el timo pueden estar activadas o no activadas.

- 50 La divulgación proporciona, adicionalmente, la prevención, tratamiento, alivio, reducción y/o inhibición de la linfopenia o la depleción de los linfocitos en los tejidos periféricos mediante la administración de IL-15. La presente divulgación proporciona, además, la estimulación de la repoblación de tejidos periféricos con depleción de linfocitos y la aceleración de la recuperación de la depleción de linfocitos de los tejidos periféricos mediante la administración de IL-15.

- 55 En consecuencia, en un aspecto, la divulgación proporciona la prevención, reducción o inhibición de la linfopenia o la depleción de linfocitos en los tejidos periféricos en un individuo en necesidad del mismo que comprende la administración sistémica de IL-15 al individuo.

- 60 En algunos casos, la linfopenia o depleción de linfocitos de los tejidos periféricos está inducida por fármacos. En la invención reivindicada, el individuo está recibiendo o recibirá fármacos contra el cáncer. En el presente documento también se divulgan individuos que están recibiendo fármacos antivirales o radioterapia que induce linfopenia o depleción de linfocitos de los tejidos periféricos.

- 65 En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra conjuntamente con un agente que causa la depleción de los linfocitos en los tejidos periféricos, por ejemplo, un agente anticanceroso o antiviral. En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra conjuntamente con radioterapia.

- En un aspecto relacionado, la divulgación proporciona la estimulación o aceleración de la repoblación de linfocitos en los tejidos periféricos en un individuo en necesidad del mismo que comprende la administración sistémica de IL-

15 al individuo.

En algunos casos, la administración sistémica de IL-15 evita o reduce la depleción o estimula o acelera la repoblación de una o más de las células T, células B o células NK. En algunos casos, la administración sistémica de IL-15 evita o reduce la depleción o estimula o acelera la repoblación de una o más de las células T CD4+ o las células T CD8+.

En algunas realizaciones, el sujeto o paciente es un mamífero. En la invención reivindicada, el sujeto o paciente es un ser humano.

En la invención reivindicada, el heterodímero se administra sistémicamente, incluyendo, sin limitaciones, las vías enteral (es decir, por vía oral) o parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intranasal, o por inhalación. En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra localmente, por ejemplo, por vía intratímica.

La administración sistémica es a una dosis que es suficiente para mantener la IL-15 a niveles suprafisiológicos. Por ejemplo, el ADN o proteína de IL-15 ADN se pueden administrar a una dosis suficiente para alcanzar los niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 1 a 1000 ng/ml, por ejemplo, los niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 10 a 1000 ng/ml. La IL-15 y el IL-15R α pueden liberarse en cantidades equimolares. Dicho intervalo de concentraciones en plasma de IL-15 se puede lograr, por ejemplo, después de la electroporación intramuscular de aproximadamente 0,1 mg de plásmido de ADN que expresa IL-15/IL-15R α por kg de peso corporal. Alternativamente, un complejo proteico de IL-15/IL-15R α se puede administrar a una dosis de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg. Los polipéptidos de IL-15/IL-15R α se pueden administrar, por ejemplo, por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa. Véase, por ejemplo, Rosati, et al., Vaccine (2008) 26:5223–5229.

La IL-15 se puede administrar como un polipéptido o como un polinucleótido que codifica IL-15. En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra conjuntamente con IL-15R α con IL-15R α , por ejemplo, como un heterodímero. El IL-15R α coadministrado de forma conjunta puede ser un polipéptido o un polinucleótido que codifica IL-15R α . El IL-15R α coadministrado puede estar en la misma forma u otra diferente de la IL-15. Por ejemplo, tanto la IL-15 como el IL-15R α pueden administrarse como polipéptidos o como uno o más polinucleótidos que codifican IL-15 y/o IL-15R α . Como alternativa, uno de la IL-15 y el IL-15R α se pueden administrar como un polipéptido y el otro como un polinucleótido que codifica cualquiera de IL-15 o IL-15R α . En algunos casos de la divulgación, el IL-15R α es un IL-15R α soluble. En algunos casos de la divulgación, el IL-15R α se puede administrar en forma de una proteína de fusión Fc o un polinucleótido que codifica una proteína de fusión Fc.

En algunas realizaciones, la IL-15 y el IL-15R α se administran al mismo tiempo como uno o más polinucleótidos que codifican IL-15 y/o IL-15R α . El polinucleótido que codifica IL-15 y el polinucleótido que codifica IL-15R α pueden estar en el mismo o en distintos vectores, por ejemplo, vectores plasmídicos individuales o múltiples. En algunos casos de la descripción, los polinucleótidos de IL-15 y de IL-15R α se expresan simultáneamente a partir de un vector plasmídico de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 19.

En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican uno o ambos de IL-15 e IL-15R α son secuencias de codificación de tipo silvestre. En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican uno o ambos de IL-15 e IL-15R α son secuencias de codificación de tipo silvestre.

En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican uno o ambos de IL-15 e IL-15R α están optimizados por codones para una expresión mejorada sobre las secuencias de codificación de tipo silvestre. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15 comparte una identidad de secuencia de al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con la SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15R α comparte una identidad de secuencia de al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con la SEQ ID NO:9 o SEQ ID NO:11.

Cuando se expresa a partir de un polinucleótido que codifica IL-15, la secuencia de codificación puede tener un péptido señal nativo o heterólogo. En algunas realizaciones, el péptido señal es un péptido señal de IL-15 nativa, por ejemplo, el péptido señal largo de IL-15 nativa o el péptido de señal corto de IL-15 nativa. En algunas realizaciones, el péptido señal es un péptido señal heterólogo, por ejemplo, un péptido señal del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el activador del plasminógeno tisular (tPA), la hormona del crecimiento o una inmunoglobulina.

En algunas realizaciones, el tejido periférico es un tejido linfóide periférico, incluyendo, sin limitaciones, el bazo, los ganglios linfáticos, los tejidos linfoides asociados a las mucosas (MALT), por ejemplo, las amígdalas, y/o los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), incluyendo las placas de Peyer.

En algunas realizaciones, el tejido periférico es un tejido periférico no linfóide, por ejemplo, pulmón, hígado, riñón, corazón, piel, etc.

Preferentemente, la IL-15 se administra sin un antígeno, es decir, no se administra conjuntamente con un antígeno.

En el presente documento también se describe un vector de ADN que codifica IL-15 e IL-15Rα para su uso en la estimulación de la movilización de los linfocitos a partir de tejido linfóide central y la migración a los tejidos periféricos.

En otro aspecto, la divulgación proporciona IL-15/IL-15Rα para su uso en la estimulación de la movilización de los linfocitos a partir de tejido linfóide central y la migración a los tejidos periféricos.

En el presente documento también se describe un vector de ADN que codifica IL-15 e IL-15Rα para su uso en la promoción de la maduración y la exportación de células T desde el timo a los tejidos periféricos, incluyendo tejidos periféricos linfoides y no linfoides.

En otro aspecto, la divulgación proporciona complejos polipeptídicos IL-15/IL-15Rα para su uso en la estimulación de la maduración y la exportación de células T desde el timo a los tejidos periféricos, incluyendo tejidos periféricos linfoides y no linfoides.

En el presente documento también se describe un vector de ADN que codifica IL-15 e IL-15Rα para su uso en la promoción de la repoblación de los linfocitos deplecionados en los tejidos periféricos y/o la prevención, la reducción y/o la inhibición de la linfopenia.

En otro aspecto, la divulgación proporciona complejos polipeptídicos de IL-15/IL-15Rα para su uso en la estimulación de la repoblación de los linfocitos deplecionados en los tejidos periféricos y/o la prevención, la reducción y/o la inhibición de la linfopenia.

En el presente documento también se describen líneas celulares estables que expresan los polipéptidos IL-15/IL-15Rα. La línea celular estable puede expresar IL-15/IL-15Rα en forma de una proteína de fusión o la línea celular estable puede producir IL-15 e IL-15Rα como moléculas diferentes. En algunos casos, las líneas celulares estables pueden producir delecciones de IL-15 e IL-15Rα secretado que carecen de la porción de anclaje transmembrana del receptor. En algunos casos, las líneas celulares estables pueden producir IL-15 y fusiones de IL-15Rα a una región Fc de inmunoglobulina. En algunos casos, las líneas celulares estables pueden producir fusiones de IL-15 y IL-15Rα a polipéptidos capaces de dirigir la unión de la fusión a la superficie celular de tipos específicos de células. En algunos casos, las líneas celulares estables pueden producir fusiones de IL-15 e IL-15Rα a polipéptidos capaces de dirigir la multimerización de la fusión.

Otras realizaciones son como se describe en el presente documento.

Definiciones

La expresión "tejido linfóide central" u "órgano linfóide central" se refiere a tejidos linfoides especializados donde se lleva a cabo la producción de nuevos linfocitos, o linfopoyesis. Por ejemplo, las células T se desarrollan y maduran en el timo o el tejido del timo. Las células B y las células asesinas naturales (NK) se desarrollan en el tejido de la médula ósea. Véase, por ejemplo, el capítulo 7 de Janeway, et al., Immunobiology, 2001, Garland Publishing, New York.

La expresión "tejido linfóide periférico" u "órgano linfóide periférico" se refiere a los tejidos periféricos de arquitectura altamente organizada, con zonas diferenciadas de las células B y las células T. Los linfocitos recién producidos salen de los tejidos linfoides centrales y se llevan en la sangre a los tejidos linfoides periféricos. Los tejidos u órganos linfoides periféricos de ejemplo incluyen el bazo, los ganglios linfáticos, los tejidos linfoides asociados a las mucosas (MALT), por ejemplo, las amígdalas, y los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), incluyendo las placas de Peyer.

La expresión "linfocito maduro" se refiere a un linfocito que está sometido a la selección y el desarrollo hasta la madurez en el tejido linfóide central suficiente para circular a los tejidos linfoides periféricos. Con respecto a las células T, una célula T madura se caracteriza por la expresión de cualquiera de CD4 o CD8, pero no ambos (es decir, son de positivo único), y la expresión de CD3. Con respecto a las células B, una célula B madura se caracteriza por un gen de cadena pesada de la inmunoglobulina reorganizada VDJ, el gen de la cadena ligera de inmunoglobulina reorganizada VJ y la expresión en la superficie de IgD y/o IgM. La célula B madura también puede expresar CD19 y el receptor de IL-7 en la superficie celular.

La expresión "linfocito activado" se refiere a linfocitos que han reconocido un antígeno unido a una molécula de MHC y la liberación simultánea de una señal coestimuladora por una célula presentadora de antígeno especializada. La activación de los linfocitos cambia la expresión de varias moléculas de la superficie celular.

Con respecto a las células T, las células T intactas en reposo expresan L-selectina y niveles bajos de otras moléculas de adhesión, tales como CD2 y LFA-1. Tras la activación de la célula T, la expresión de L-selectina se

pierde y, en cambio, se expresan cantidades aumentadas de la integrina VLA-4. Las células T activadas expresan también mayores densidades de las moléculas de adhesión CD2 y LFA-1, lo que aumenta la avidéz de la interacción de la célula T activada con posibles células diana, y mayores densidades de la molécula de adhesión CD44. Por último, la isoforma de la molécula CD45 expresada por células activadas cambia, mediante corte y empalme alternativo del transcrito de ARN del gen CD45, por lo que las células T activadas expresan la isoforma CD45RO que se asocia con el receptor de células T y CD4. Asimismo, con respecto a la producción de citocinas, las células T en reposo producen poco o nada de IL-2 y las subunidades β y γ del receptor de IL-2. Por el contrario, las células T activadas producen cantidades significativas de IL-2, junto con la cadena α del receptor de IL-2.

Con respecto a las células B, las células B activadas han sufrido un cambio de isotipo y secretan inmunoglobulina. Las células B intactas expresan los isotipos de las inmunoglobulinas IgM e IgD en la superficie celular. Por el contrario, las células B de memoria o activadas expresan y secretan isotipos de las inmunoglobulinas IgG, IgA o IgE.

Los términos "salida" o "migración" de un tejido linfoide central se refiere a la migración o a la exportación de linfocitos maduros de un tejido de linfocitos central en un tejido periférico, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides. La salida incluye la migración de las células T maduras desde el timo y la migración de células B y células NK maduras de la médula ósea.

Los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a retrasar el comienzo de, retardar o invertir el progreso de, o aliviar o prevenir la enfermedad o afección al que se aplica el término, o uno o más síntomas de tal enfermedad o afección.

Los términos "linfopenia" o "infocitopenia" o "leucopenia linfocítica" se refieren indistintamente a un número anormalmente pequeño de linfocitos en la sangre circulante o en la circulación periférica. Cuantitativamente, la linfopenia puede describirse mediante varios puntos de corte. En algunas realizaciones, un paciente sufre linfopenia cuando su recuento de linfocitos totales en sangre circulante desciende por debajo de aproximadamente $600/\text{mm}^3$. Un paciente que sufre linfopenia puede tener menos de aproximadamente 2.000/ μl linfocitos circulantes totales en el momento del nacimiento, menos de aproximadamente 4.500/ μl linfocitos totales circulantes aproximadamente a la edad de 9 meses, o menos de aproximadamente 1.000/ μl linfocitos totales circulantes en pacientes de más de aproximadamente 9 meses de edad (niños y adultos). La linfocitopenia tiene una amplia gama de posibles causas, incluyendo infecciones víricas (por ejemplo, infección por el VIH), bacterianas (por ejemplo, infección por tuberculosis activa) y fúngicas; insuficiencia crónica del ventrículo derecho del corazón, enfermedad de Hodgkin y cánceres del sistema linfático, leucemia, una fuga o rotura en el conducto torácico, efectos secundarios de medicamentos de prescripción médica, incluyendo agentes anticancerosos, agentes antivirales y glucocorticoides, malnutrición resultante de las dietas que tienen niveles bajos de proteínas, radioterapia, uremia, trastornos autoinmunes, síndromes de deficiencia inmunitaria, niveles de estrés altos y traumatismo. La linfopenia también puede ser de etiología desconocida (es decir, linfopenia idiopática). La circulación periférica de todos los tipos de linfocitos o subpoblaciones de linfocitos (por ejemplo, células T CD4+) puede estar deplecionada o ser anormalmente baja en un paciente que sufre linfopenia. Véase, por ejemplo, The Merck Manual, 18ª Edición, 2006, Merck & Co.

La expresión "interleucina-15 de mamífero nativo (IL-15)" se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico y de aminoácidos de interleucina-15 de origen natural de la IL-15 de una especie de mamífero. Los expertos en la técnica apreciarán que las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos de interleucina-15 están disponibles al público en las bases de datos de genes, por ejemplo, GenBank, a través del National Center for Biotechnological Information en la red mundial ncbi.nlm.nih.gov. Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos de IL-15 nativa de mamífero de ejemplo pueden proceder de, ser humano, primate, canino, felino, porcino, equino, bovino, ovino, roedor, murino, rata, hámster, cobaya, etc. Los números de acceso para las secuencias de ácido nucleico de IL-15 de mamífero nativa de ejemplo incluyen NM_172174,2 (preproteína humana); NM_172175 (humana); NM_000585,3 (preproteína humana); U19843 (macaco); DQ021912 (macaco); AB000555 (macaco); NM_214390 (porcino); DQ152967 (ovino); NM_174090 (bovino); NM_008357 (murino); NM_013129 (rata); DQ083522 (búfalo); XM_844053 (canino); DQ157452 (lagomorfo); y NM_001009207 (felino). Los números de acceso de las secuencias de aminoácido de IL-15 de mamífero nativa de ejemplo incluyen NP_000576,1 (preproteína humana); NP_751914 (preproteína humana); CAG46804 (humano); CAG46777 (humano); AAB60398 (macaco); AAY45895 (macaco); NP_999555 (porcino); NP_776515 (bovino); AAY83832 (búfalo); ABB02300 (ovino); XP_849146 (canino); NP_001009207 (felino); NP_037261 (rata); y NP_032383 (murino).

El término "interleucina-15" o "IL-15" se refiere a un polipéptido que tiene una identidad de secuencia de al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con una secuencia de aminoácidos de IL-15 nativa de mamífero o un nucleótido que codifica dicho polipéptido, es biológicamente activo, lo que significa que la proteína mutada ("muteína") tiene una funcionalidad similar (75 % o mayor) a la de una proteína IL-15 nativa en al menos un ensayo funcional. Funcionalmente, la IL-15 es una citocina que regula la activación y la proliferación de células T y las células asesinas naturales. La IL-15 y la IL-2 comparten muchas actividades biológicas, incluyendo la unión a CD 122, la subunidad del receptor IL-2 β /IL-15 β . El número de células de memoria CD8+ se controla mediante un equilibrio entre esta IL-15 e IL-2. La IL-15 induce la activación de las JAK cinasas, así como la fosforilación y activación de activadores de la transcripción STAT3, STAT5 y STAT6. La IL-15 también aumenta la expresión del inhibidor de la apoptosis BCL2L1/BCL-x(L), posiblemente mediante la actividad de activación de la transcripción de

STAT6 y, por tanto, evita la apoptosis. Se han notificado dos variantes de transcritos sometidos a corte y empalme alternativo del gen de IL-15 que codifica la misma proteína madura. Los ensayos funcionales de ejemplo de un polipéptido de IL-15 incluyen la proliferación de las células T (véase, por ejemplo, Montes, et al., Clin Exp Immunol (2005) 142:292), y la activación de células NK, macrófagos y neutrófilos. Los métodos para el aislamiento de determinadas subpoblaciones de células inmunitarias y la detección de la proliferación (es decir, incorporación de ³H-timidina) son bien conocidos en la técnica. Los ensayos de citotoxicidad celular mediada por células se pueden utilizar para medir la activación de células NK, macrófagos y neutrófilos. Los ensayos de citotoxicidad celular mediada por células, incluyendo la liberación de isótopos (⁵¹Cr), colorantes (por ejemplo, tetrazolio, rojo neutro) o enzimas, también son bien conocidos en la materia, con kits disponibles en el mercado (Oxford Biomedical Research, Oxford, M; Cambrex, Walkersville, MD; Invitrogen, Carlsbad, CA). También se ha demostrado que la IL-15 inhibe la apoptosis mediada por Fas (véase, Demirci y Li, Cell Mol Immunol (2004) 1:123). Los ensayos de apoptosis, incluyendo, por ejemplo, los ensayos de TUNEL y los ensayos de anexina V, son bien conocidos en la materia con los kits disponibles en el mercado (R&D Systems, Minneapolis, MN). Véase también, Coligan, et al., Current Methods in Immunology, 1991–2006, John Wiley & Sons.

La expresión "receptor alfa de la interleucina-15 de mamífero nativa (IL15Rα)" se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico y de aminoácidos del receptor alfa de interleucina-15 de origen natural del receptor alfa de la IL-15 de una especie de mamífero. Los expertos en la técnica apreciarán que las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos del receptor alfa interleucina-15 están disponibles al público en las bases de datos de genes, por ejemplo, GenBank, a través del National Center for Biotechnological Information en la red mundial ncbi.nlm.nih.gov. Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos del receptor alfa de la IL-15 nativa de mamífero de ejemplo pueden proceder de, ser humano, primate, canino, felino, porcino, equino, bovino, ovino, roedor, murino, rata, hámster, cobaya, etc. Los números de acceso para las secuencias de ácido nucleico de IL-15 de mamífero nativa de ejemplo incluyen NM_172200,1 (isoforma 2 humana); y NM_002189,2 (precursor de la isoforma 1 humana). Los números de acceso a las secuencias de aminoácidos de IL-15 nativa de mamífero de ejemplo incluyen NP_751950,1 (isoforma humana 2); y NP_002180,1 (precursor de la isoforma 1 humana).

El término "receptor alfa de la interleucina-15" o "IL15Rα" se refiere a un polipéptido que tiene una identidad de secuencia de al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con una secuencia de aminoácidos de IL15Rα nativo de mamífero o un nucleótido que codifica dicho polipéptido, es biológicamente activo, lo que significa que la proteína mutada ("muteína") tiene una funcionalidad similar (75 % o mayor) a la de una proteína de IL15Rα nativa en al menos un ensayo funcional. El IL15Rα es un receptor de citocinas que se une específicamente a IL15 con afinidad alta. Un ensayo funcional es la unión específica a una proteína de IL-15 nativa.

El término "receptor alfa de IL-15 soluble" o "sIL-15α" se refiere a las formas del receptor alfa de IL-15 que carecen de la porción de anclaje transmembrana del receptor y, por lo tanto, se pueden secretar fuera de la célula sin que estén anclados a la membrana plasmática. sIL-15α de ejemplo incluyen los aa 31–205 y los aa 31–185 del receptor alfa de la IL-15 nativa.

Una "fusión de IL-15Rα Fc" o un "IL-15Rα fusionado a una región Fc" como se usa en el presente documento se refiere a formas de IL-15Rα donde la proteína se fusiona a uno o más dominios de una región Fc de una inmunoglobulina, típicamente de una inmunoglobulina IgG. La región Fc comprende los dominios CH2 y CH3 de la cadena pesada y la región bisagra de IgG. La bisagra sirve como espaciador flexible entre las dos partes de la proteína de fusión de Fc, permitiendo que cada parte de la molécula funcione de forma independiente. En la materia se conoce el uso de fusiones Fc (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 7.754.855; 5.480.981; 5.808.029; Wo7/23614; Wo98/28427 y las referencias citadas en las mismas. Las proteínas de fusión Fc pueden incluir moléculas de Fc variantes (por ejemplo, como se describen en la patente de Estados Unidos n.º 7.732.570). Las proteínas de fusión Fc pueden ser solubles en el plasma o pueden asociarse a la superficie celular de células que tienen receptores específicos de Fc.

La expresión "ácido nucleico" se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma mono o bicatenaria. El término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos de nucleótidos conocidos o residuos o enlaces del esqueleto modificados, que son sintéticos, de origen natural y de origen no natural, que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia, y que se metabolizan de una manera similar a la los nucleótidos de referencia. Entre los ejemplos de tales análogos se incluyen, sin limitaciones, fosforotioatos, fosforamidatos, fosfonatos de metilo, fosfonatos de metilo quirales, ribonucleótidos-2-O-metilo, ácidos nucleicos peptídicos (PNA).

A menos que se indique lo contrario, una secuencia de ácido nucleico concreta también abarca implícitamente variantes de la misma modificadas de forma conservadora (p. ej., sustituciones de codones degeneradas) y secuencias complementarias, así como la secuencia que se indica explícitamente. Se pueden conseguir sustituciones de codones degeneradas generando secuencias donde la tercera posición de uno o más (o todos) codones seleccionados está sustituida con residuos de base mixta y/o desoxinosina (Batzer y col., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka y col., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossolini y col., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)). La expresión ácido nucleico se usa de forma intercambiable con gen, ADNc ARNm, oligonucleótido y polinucleótido.

Las sustituciones de codones degenerados para los aminoácidos de origen natural se encuentran en la tabla 1.

TABLA 1

1ª posición (extremo 5')	2ª posición				3ª posición (extremo 3')
	U(T)	C	A	G	
U(T)	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr TERMINACIÓN TERMINACIÓN	Cys Cys TERMINACIÓN Trp	U(T) C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U(T) C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U(T) C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U(T) C A G

- 5 Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad" en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son los mismos (es decir, una identidad de aproximadamente 70 %, preferentemente una identidad del 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o mayor sobre una región especificada (por ejemplo, de una secuencia de IL-15 o IL-15R α), cuando se comparan y se alinean para una correspondencia máxima sobre una ventana de comparación o región designada) medido usando algoritmos de comparación de secuencia BLAST o BLAST 2.0 con los parámetros por defecto descritos más adelante o mediante alineamiento manual e inspección visual (véase, por ejemplo, el sitio web de NCBI o similares). Por tanto, se dice que dichas secuencias son "sustancialmente idénticas". Esta definición también se refiere a la complementaria de una secuencia de ensayo o se puede aplicar a la misma. La definición también incluye secuencias que tienen delecciones y/o adiciones, así como aquellas que tienen sustituciones. Como se describe a continuación, los algoritmos preferidos pueden representar los huecos y similares. Preferentemente, existe identidad en una región que tiene una longitud de al menos aproximadamente 25, 50, 75, 100, 150, 200 aminoácidos o nucleótidos y, a menudo, en una región que tiene una longitud de 225, 250, 300, 350, 400, 450, 500 aminoácidos o nucleótidos o más sobre la longitud completa de las secuencias de aminoácidos o de ácido nucleico.

20 Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de ensayo (aquí, toda una secuencia completa de aminoácidos o ácido nucleico de IL-15 "nativa de mamífero"). Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias problema y de referencia se introducen en un ordenado, se designan las coordenadas de la subsecuencia, en caso necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Preferentemente, se pueden usar los parámetros por defecto del programa o parámetros alternativos. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidades de secuencia para las secuencias problema con respecto a la secuencia de referencia, en base a los parámetros del programa.

30 Un ejemplo preferente de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST, que se describen en Altschul et al., Nuc. Acids Res. 25:3389-3402 (1977) y Altschul y col., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990), respectivamente. El software BLAST está disponible públicamente a través del Centro Nacional de Información sobre Biotecnología en la red mundial en ncbi.nlm.nih.gov/. Se pueden usar ambos parámetros por defecto u otros parámetros no predeterminados. El programa BLASTN (para las secuencias de nucleótidos) usad como defecto una longitud de texto (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=4 y una comparación de ambas hebras. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa como parámetros por defecto una longitud de texto de 3, y una expectativa (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 (1989)) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M=5, N=4 y una comparación de ambas hebras.

40 El término "contenido de GC" se refiere al porcentaje de una secuencia de ácido nucleico compuesta por los residuos desoxirribonucleósidos, desoxiguanosina (G) y/o desoxicitidina (C) o los ribonucleótidos guanosina (G) y/citidina (C).

45 El término "unido operativamente" se refiere a un enlace funcional entre una primera secuencia de ácido nucleico y una segunda secuencia de ácido nucleico, de manera que la primera y la segunda secuencias de ácido nucleico se transcriben en una sola secuencia de ácido nucleico. Las secuencias de ácido nucleico unidas operativamente no

tienen que estar físicamente adyacentes una con otra. La expresión "unido operativamente" hace referencia a una unión funcional entre la secuencia de control de la expresión de ácido nucleico (tal como un promotor o matriz sitios de unión del factor de transcripción) y una secuencia de ácido nucleico transcribible, donde la secuencia de control de la expresión dirige la transcripción del ácido nucleico correspondiente a la secuencia transcribible.

En el presente documento se puede hacer referencia a los aminoácidos bien por sus símbolos de tres letras conocido o por el símbolo de una letra recomendados por la IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission. Asimismo, se puede hacer referencia a los nucleótidos por sus códigos de una sola letra aceptados habitualmente.

"Variantes modificadas de forma conservadora" como se usa en el presente documento se aplica a secuencias de aminoácidos. Un experto en la técnica reconocerá que sustituciones, deleciones o adiciones en una secuencia de ácido nucleico, péptido, polipéptido o proteína que alteren, añadan o delecionen un solo aminoácido o un porcentaje pequeño de aminoácidos en la secuencia codificada es una "variante modificada de forma conservadora" donde la alteración tiene como resultado la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. En la técnica son bien conocidas las tablas de sustituciones conservadoras que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares. Dichas variantes modificadas de forma conservadora son, además de y sin excluir, variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención.

Cada uno de los siguientes ocho grupos contiene aminoácidos que son sustituciones conservadoras uno de otro:

- 1) Alanina (A), Glicina (G);
- 2) Ácido aspártico (D), ácido glutámico (E);
- 3) Asparagina (N), Glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W);
- 7) Serina (S), Treonina (T); y
- 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, por ejemplo, Creighton, Proteins (1984)).

El término "mamífero" se refiere a cualquier animal dentro de la clasificación taxonómica de mamíferos. Un mamífero puede hacer referencia a un ser humano o a un primate no humano. Un mamífero puede hacer referencia a un animal doméstico, incluyendo, por ejemplo, canino, felino, roedor, lagomorfos, murinos, rattus, Cricetinae (hámsteres), etc. Un mamífero puede hacer referencia a un animal agrícola, incluyendo, por ejemplo, bovino, ovino, porcino, equino, etc.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" hace referencia a la dosis de un agente o agentes terapéuticos suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado sin producir efectos secundarios no deseados o estos son mínimos. Un médico experto puede determinar fácilmente una cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, mediante, en primer lugar, la administración de una dosis baja del agente o agentes farmacológicos y, después, aumentando gradualmente la dosis hasta conseguir el efecto terapéutico deseado sin efectos secundarios indeseados o con mínimos efectos secundarios.

La expresión "niveles suprafisiológicos" hace referencia a niveles de IL-15 en un tejido particular, por ejemplo, sangre, plasma, suero, timo, que están por encima de los niveles fisiológicos naturales. Los niveles suprafisiológicos de IL-15 en un tejido también se pueden lograr cuando se mantiene la concentración de IL-15 en dicho tejido por encima de los niveles presentes en la naturaleza durante un período prolongado de tiempo, por ejemplo, durante días o semanas consecutivos o durante la duración del tratamiento terapéutico. Por ejemplo, el ADN o proteína de IL-15 ADN se pueden administrar a una dosis suficiente para alcanzar los niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 1 a 1000 ng/ml, por ejemplo, los niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 10 a 1000 ng/ml. La IL-15 y el IL-15R α pueden liberarse en cantidades equimolares. Como alternativa, se puede administrar un complejo proteico de IL-15/IL-15R α a una dosis de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg.

El término "coadministrar" se refiere a la presencia de dos agentes farmacológicos, por ejemplo, IL-15 e IL-15R α , en que la sangre al mismo tiempo. Los dos agentes farmacológicos se pueden administrar simultáneamente o secuencialmente.

El término "que consiste esencialmente en" se refiere a la administración de los agentes farmacológicamente activos citados expresamente, por ejemplo, IL-15 e IL-15R α , y excluye los agentes farmacológicamente activos que no citan de forma expresa, por ejemplo, un antígeno. El término que consiste esencialmente en no excluye agentes farmacológicamente inactivos o inertes, por ejemplo, vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 ilustra un esquema de la estabilización mutua de IL-15 e IL-15 α .

La Figura 2 ilustra los efectos de la coadministración sistémica de polinucleótidos que expresan IL-15 e IL-15R α

sobre el peso del bazo (panel superior), el peso del timo (panel central) y el porcentaje de linfocitos en la médula ósea (panel inferior).

La Figura 3 ilustra los efectos de la coadministración sistémica de polinucleótidos que expresan IL-15 e IL-15R α sobre la maduración de las células T en el timo. Las células T CD4+CD8+ dobles positivas disminuyen con un aumento concomitante de las células T positivas simples con altos niveles de CD3 (es decir, células T CD4+ o CD8+).

La Figura 4 ilustra la migración de timocitos cargados con éster de succinimidilo carboxifluoresceína ("CFSE") en división al pulmón en ratones tratados con IL-15 y control sin tratar (paneles superiores). Los paneles inferiores muestran un aumento de expresión de CD122 (IL-2R β /IL-15R β) en los linfocitos, por ejemplo, células T totales y células CD4+ en el pulmón.

La Figura 5 ilustra la reconstitución de linfocitos en el tejido pulmonar de ratones defectivos (KO) para IL-15 tratados con ADN plasmídico que codifica IL-15/IL-15R α en comparación con los ratones KO control sin tratar.

La Figura 6 proporciona un esquema de la evolución temporal de un experimento de depleción linfocitaria.

La Figura 7 ilustra el peso del bazo con el tiempo después de la administración de ciclofosfamida (Cyp) y Cyp + IL-15/IL-15R α .

La Figura 8 ilustra el aumento en las células NK de pulmón después de la administración de Cyp.

Figura 9 ilustra el aumento en las células T de pulmón T en presencia de IL-15/IL-15R α .

La Figura 10 ilustra que las células T CD8+ se recuperan parcialmente después de la administración de IL-15/IL-15R α .

La Figura 11 ilustra el aumento de las células T CD8+ de pulmón en presencia de IL-15/IL-15R α como se refleja en el cambio de la relación de células T CD8+ y CD4+ después de la administración de IL-15.

La Figura 12 ilustra un análisis de células T en el bazo después de administración de Cyp y IL-15/IL-15R α .

La Figura 13 ilustra la recuperación completa de las células T de la médula ósea después de la administración de IL-15/IL-15R α .

La Figura 14 ilustra el protocolo de tratamiento con IL-15/IL-15R α para ratones linfopénicos usados en el Ejemplo 3.

La figura 15 ilustra que una sola administración de ADN que codifica IL-15/IL-15sR α es suficiente para la recuperación completa de las células NK en bazo y pulmón 5 días después de la inyección de ADN.

La Figura 16 ilustra que la administración de IL-15/IL-15sR α estimula la recuperación de las células T CD8 dentro de los 10 días después del tratamiento, sin afectar significativamente a la recuperación de las células T CD4.

La Figura 17 ilustra que los niveles altos de IL-15/IL-15sR α circulantes estimulan aumento transitorio de la relación T efectoras/T reguladoras después de la linfoblación.

La Figura 18 ilustra los niveles de IL-15 en suero después de la liberación hidrodinámica de vectores de ADN que expresan diferentes formas de IL-15.

La Figura 19 ilustra la expresión de CD25 en la superficie de las células T de bazo después de la liberación de ADN de IL-15/IL-15R α .

La Figura 20 ilustra la expresión de CD62L en la superficie de las células T de bazo después de la liberación de ADN de IL-15/IL-15R α .

La Figura 21 ilustra la expresión de CD44 en la superficie de las células T de bazo después de la liberación de ADN de IL-15/IL-15R α .

La Figura 22 ilustra un protocolo (Ejemplo 5) para la administración de IL-15/IL-15sR α purificados *in vivo*.

La Figura 23 ilustra que IL-15/IL-15R α purificada es bioactiva *in vivo*.

Descripción detallada

1. Introducción

La invención actualmente reivindicada se basa, en parte, en el sorprendente descubrimiento de que sometiendo el tejido tímico a niveles suprafisiológicos de IL-15 estimula la maduración de las células T en el timo de células T dobles positivas CD4+CD8+ en células T simples positivas (es decir, CD4+ o CD8+) con niveles altos de CD3, disminuye la frecuencia de timocitos apoptóticos y aumenta la migración de las células T maduras desde el timo a los tejidos periféricos, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides.

La invención actualmente reivindicada se basa además, en parte, en el sorprendente descubrimiento de que la administración sistémica de niveles suprafisiológicos de IL-15 estimula la maduración y la exportación de los linfocitos de los tejidos linfoides centrales (por ejemplo, en el timo y la médula ósea) a los tejidos periféricos, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides.

2. Métodos de estimulación de la maduración de los linfocitos en un órgano linfoide central y la migración de los linfocitos a los tejidos periféricos

La invención actualmente reivindicada proporciona la estimulación de la maduración de las células T en el timo, la disminución de la apoptosis de las células T en el timo y la estimulación de la migración o la salida de las células T maduras desde el timo, poniendo en contacto el tejido del timo con niveles suprafisiológicos de IL-15. En algunos casos de la divulgación, el tejido tímico puede ser *in vivo* o *in vitro*.

Cuando la IL-15 se administra *in vivo*, se proporciona a un sujeto o paciente o individuo en necesidad de la misma. El sujeto puede ser cualquier mamífero, tal como un primate no humano. En la invención reivindicada, el sujeto es un ser humano. Los sujetos que se beneficiarán de la presente divulgación tienen una deficiencia de timocitos maduros y/o en otros linfocitos en los tejidos periféricos, incluyendo tejidos periféricos linfoides y no linfoides. En algunos casos, el sujeto en la divulgación es inmunodeficiente o tiene linfopenia. En la invención reivindicada, el sujeto tiene una inmunodeficiencia inducida por el fármaco debido a medicamentos contra el cáncer. En el presente documento también se divulgan sujetos que tienen una inmunodeficiencia secundaria a una enfermedad, por ejemplo, infección por VIH. Los sujetos pueden tener una mutación genética que de lugar a una IL-15 no funcional o a una subunidad del receptor de IL-15 no funcional (por ejemplo, IL-15R α , IL-15R β , o IL-15R γ).

La exposición sostenida del tejido del timo a niveles suprafisiológicos de IL-15 estimula la maduración de células T doble positivas. La IL-15 estimula la diferenciación terminal de los timocitos en células T simples positivas que expresan bien CD4 o CD8. Las células T maduras pueden también expresar CD122 (también conocido como la subunidad beta del receptor de IL-2/IL-15). Las células T maduras pueden también expresar niveles altos de la proteína de superficie CD3. La maduración inducida por IL-15 de las células T también corresponde a una reducción en la frecuencia de células T inmaduras que sufren apoptosis. Poniendo en contacto el tejido del timo con niveles suprafisiológicos de IL-15, las células T doble positivas CD4+CD8+ y las células T con niveles bajos de CD3 se pueden eliminar sustancialmente a medida que las células maduran en células T simples positivas con niveles altos de CD3. Después de la exposición a niveles suprafisiológicos de IL-15, al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más de las células T son células T simples positivas CD4+ o CD8+ con niveles altos de CD3.

La maduración inducida por IL-15 de las células T en el tejido del timo también estimula la migración de las células T maduras a los tejidos periféricos, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides. Las células T maduras que salen del timo pueden o no pueden estar activadas. Por ejemplo, después de aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días de exposición a niveles suprafisiológicos de IL-15, el órgano del timo puede haber disminuido de tamaño, por ejemplo, en al menos aproximadamente 30 %, 40 %, 50 %, o más, debido a la salida del timo inducida por IL-15.

La administración sistémica de niveles suprafisiológicos de IL-15, por ejemplo, sostenida a lo largo de, por ejemplo, aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días, también estimula la maduración y la migración de linfocitos, incluyendo las células NK, de la médula ósea. Por ejemplo, después de aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días de exposición a niveles suprafisiológicos de IL-15, el porcentaje de linfocitos en la médula ósea puede haber disminuido, por ejemplo, en al menos aproximadamente 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, o más, debido a la salida de los linfocitos de la médula ósea inducida por IL-15.

Al mismo tiempo que el número de linfocitos disminuye en los tejidos linfoides centrales, es decir, en el timo y la médula ósea, el número de linfocitos en los tejidos linfoides periféricos, por ejemplo, el bazo, los ganglios linfáticos, los tejidos linfoides asociados a las mucosas (MALT), por ejemplo, las amígdalas, y/o los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), incluyendo las placas de Peyer, aumenta. Adicionalmente, el número de linfocitos en los tejidos no linfoides periféricos, incluyendo el pulmón, el hígado, el riñón, la piel, y otros tejidos, también se incrementa. En algunas realizaciones, la administración de niveles suprafisiológicos de IL-15 aumenta el número de linfocitos, incluyendo células T, células B y células NK, en la sangre.

3. Tratamiento de la linfopenia

Como se ha explicado anteriormente, en un aspecto, la divulgación se basa en el descubrimiento de que la administración sistémica de niveles suprafisiológicos de IL-15 estimula la maduración y la exportación de los linfocitos de los tejidos linfoides centrales (por ejemplo, en el timo y la médula ósea) a los tejidos periféricos, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides.

Por consiguiente, la divulgación proporciona la prevención, reducción e inhibición de la depleción de linfocitos, incluyendo células T, células B y células asesinas naturales (NK), en la circulación periférica o en los tejidos mediante la administración sistémica de IL-15 a un sujeto en necesidad del mismo. La presente divulgación también proporciona la aceleración de la recuperación y acortamiento del periodo de tiempo de depleción de linfocitos, incluyendo células T, células B y células asesinas naturales (NK), en la circulación periférica o en los tejidos mediante la administración sistémica de IL-15 a un sujeto en necesidad del mismo.

Como se divulga en el presente documento, los sujetos, pacientes o individuos pueden ser cualquier mamífero, tal como un primate no humano. En la invención reivindicada, el mamífero ser humano. En el presente documento también se divulgan casos los que el individuo es un mamífero doméstico (por ejemplo, un canino o felino), un mamífero de laboratorio (por ejemplo, un ratón, una rata, un conejo, un hámster), o un mamífero agrícola (por ejemplo, un bovino, un porcino, un ovino, un equino). Los sujetos que se beneficiarán de los presentes procedimientos o bien ya tienen o tendrán (como resultado de un ciclo de tratamiento de fármacos) una deficiencia de linfocitos maduros en la circulación periférica o en los tejidos, incluyendo los tejidos periféricos linfoides y no linfoides. En algunos casos, el sujeto es inmunodeficiente o tiene linfopenia. Para los fines de tratamiento, el paciente ya está sufriendo niveles anormalmente bajos de linfocitos circulantes. Para los fines de prevención, el paciente puede tener niveles normales de linfocitos periféricos y es probable que experimente depleción de linfocitos como resultado de un tratamiento quimioterapéutico.

Los patrones para el diagnóstico de la linfopenia se conocen en la materia y se lo puede realizar cualquier médico capacitado. En algunas realizaciones, el paciente tiene un recuento de linfocitos totales en sangre circulante que es inferior a aproximadamente $600/\text{mm}^3$. El paciente puede tener un recuento de linfocitos totales circulantes en sangre es menor que aproximadamente $2.000/\mu\text{l}$ de los linfocitos totales circulantes en el momento del nacimiento, menor que aproximadamente $4.500/\mu\text{l}$ de linfocitos totales circulantes aproximadamente a los 9 meses de edad o menor que aproximadamente $1.000/\mu\text{l}$ de linfocitos totales circulantes en pacientes mayores de aproximadamente 9 meses (niños y adultos). Véase, por ejemplo, The Merck Manual, 18ª Edición, 2006, Merck & Co.

El origen o la etiología de la depleción o los niveles anormalmente bajos de linfocitos pueden ser por cualquier razón. La linfocitopenia tiene una amplia gama de posibles causas, incluyendo infecciones víricas (por ejemplo, infección por el VIH), bacterianas (por ejemplo, infección por tuberculosis activa) y fúngicas; insuficiencia crónica del ventrículo derecho del corazón, enfermedad de Hodgkin y cánceres del sistema linfático, leucemia, una fuga o rotura en el conducto torácico, efectos secundarios de medicamentos de prescripción médica, incluyendo agentes anticancerosos, agentes antivirales y glucocorticoides, malnutrición resultante de las dietas que tienen niveles bajos de proteínas, radioterapia, uremia, trastornos autoinmunes, síndromes de deficiencia inmunitaria, niveles de estrés altos y traumatismo. La linfopenia también puede ser de etiología desconocida (es decir, linfopenia idiopática).

La depleción de linfocitos puede implicar linfocitos totales (por ejemplo, células T, células B y células NK, etc.), o puede implicar solamente una subpoblación de linfocitos totales (una o más de células T, células T CD4+, células T CD8+, células B, células NK).

Los pacientes que tienen una enfermedad que causa depleción de los linfocitos circulantes periféricos se describen en el presente documento. Por ejemplo, el paciente puede sufrir un cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkin y cánceres del sistema linfático, leucemia; una infección vírica, incluyendo el VIH o el virus de la hepatitis. En la invención reivindicada, el paciente está recibiendo un agente contra el cáncer, tal como quimioterapia, que causa depleción de linfocitos circulantes periféricos. Entre los ejemplos de agentes farmacológicos que pueden causar depleción de linfocitos se incluyen, sin limitaciones, vinblastina, fludarabina, aclarubicina, doxorubicina, exemestano, alefacept, alemtuzumab, cloranfenicol, pamidronato, idarubicina y ciclofosfamida. Los pacientes también podrían también recibir agentes antivíricos, agentes retrovirales o glucocorticoides.

En el presente documento se divulgan sujetos que tienen una mutación genética que da lugar a una IL-15 no funcional o a una subunidad del receptor de IL-15 no funcional (por ejemplo, IL-15R α , IL-15R β , o IL-15R γ).

4. IL-15

La IL-15 para su uso en la invención reivindicada puede ser cualquier IL-15 fisiológicamente activa (es decir, funcionales). La IL-15 se puede liberar como un polipéptido o un polinucleótido que codifica IL-15. La IL-15 puede ser de longitud completa o un fragmento fisiológicamente activo de la misma, por ejemplo, un fragmento de IL-15 que retiene la unión a IL-15R α y/o IL-15R β , o un fragmento de IL-15 que estimula la proliferación y/o maduración de células T. En algunas realizaciones, el polipéptido de IL-15 liberado o expresado tiene uno o más aminoácidos que

están sustituidos, añadidos o eliminados, al tiempo que conserva la actividad fisiológica de IL-15. En algunas realizaciones, la IL-15 liberada o expresada comparte una identidad de la secuencia de aminoácidos de al menos 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con una IL-15 de tipo silvestre, por ejemplo, SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica la IL-15 comparte una identidad de la secuencia de aminoácidos de, al menos, 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con una secuencia de codificación de IL-15 de tipo silvestre, SEQ ID NO: 1.

El polinucleótido que codifica IL-15 puede tener uno o más codones alterados para mejorar la expresión. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15 comparte una identidad de la secuencia de ácido nucleico de al menos 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con una de secuencia de codificación de IL-15 de tipo silvestre, por ejemplo, la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15 comparte una identidad de secuencia de ácido nucleico al menos la SEQ ID NO: 4. Los polinucleótidos que codifican IL-15 que tienen codones alterados para mejorar la expresión, por ejemplo en el documento WO 2007/084342 y en el documento WO 2004/059556.

El polinucleótido que codifica la IL-15 puede unirse operativamente a un polinucleótido que codifica una secuencia de péptido señal nativo, por ejemplo, la secuencia del péptido señal largo de la IL15(LSP) o la secuencia del péptido señal de IL-15 corto (SSP). En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal de IL-15 nativa se sustituye con una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal de una proteína heteróloga. La proteína heteróloga puede ser, por ejemplo, de activador del plasminógeno tisular (tPA), hormona del crecimiento, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) o una inmunoglobulina (por ejemplo, IgE). Un ejemplo de una fusión de GMCSF-IL-15 humana se proporciona en SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la IL-15 está unido operativamente a un ácido nucleico que codifica un elemento de exportación de ARN, por ejemplo un CTE o RTE_m26CTE.

En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra como un heterodímero con IL-15R α . Uno o ambos de IL-15 y IL-15R α se pueden administrar como un polipéptido. Uno o ambos de IL-15 y IL-15R α se pueden administrar como un polipéptido. En una realización, la IL-15 y IL-15R α se pueden administrar de forma conjunta como polipéptidos. En una realización, un polipéptido de IL-15 se administra de forma conjunta con un polinucleótido que codifica IL-15R α . En una realización, un polipéptido de IL-15R α se administra de forma conjunta con un polinucleótido que codifica IL-15.

En algunos caso de la divulgación, el IL-15R α administrado puede ser cualquier IL-15R α fisiológicamente activo (es decir, funcional). El IL-15R α se puede liberar como un polipéptido o un polinucleótido que codifica IL-15R α . El IL-15R α puede ser de longitud completa o un fragmento fisiológicamente activo del mismo, por ejemplo, un fragmento de IL-15R α que conserva la unión específica a IL-15. Además, el IL-15R α , por ejemplo, un fragmento que conserva la unión específica a IL-15 y carece de la región de anclaje transmembrana, puede fusionarse con una región Fc. En algunas realizaciones, el polipéptido de IL-15R α liberado o expresado tiene uno o más aminoácidos que están sustituidos, añadidos o eliminados, al tiempo que conserva la actividad fisiológica de IL-15R α . En algunas realizaciones, la IL-15 liberada o expresada comparte una identidad de la secuencia de aminoácidos de al menos 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con un IL-15R α , de tipo silvestre, por ejemplo, las SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 7. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15 comparte una identidad de la secuencia de ácido nucleico de al menos 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con una secuencia de codificación de IL-15 de tipo silvestre, por ejemplo, las SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8.

El polinucleótido que codifica IL-15R α puede tener uno o mas codones alterados para mejorar la expresión. En algunas realizaciones, el polinucleótido que codifica IL-15R α comparte una identidad de secuencia de ácido nucleico de al menos 90 %, 93 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con una secuencia de codificación de IL-15R α de tipo silvestre, por ejemplo, la SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11. Los polinucleótidos que codifican IL-15R α que tienen codones alterados para la mejora de la expresión se describen en, por ejemplo, el documento WO 2007/084342.

El polinucleótido que codifica IL-15R α puede estar unido operativamente al polinucleótido que codifica una secuencia del péptido señal nativo. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal de IL-15R α nativo se sustituye con una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal de una proteína heteróloga. La proteína heteróloga puede ser, por ejemplo, de activador del plasminógeno tisular (tPA), hormona del crecimiento, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) o una inmunoglobulina (por ejemplo, IgE). En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el IL-15R α está unido operativamente a un ácido nucleico que codifica un elemento de exportación de ARN, por ejemplo un CTE o RTE_m26CTE.

En la invención reivindicada, el IL-15R α está en forma de una proteína de fusión de Fc. Los ejemplos de secuencias polipeptídicas de sIL-15R α se muestran en las SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20. Típicamente, tales proteínas se secretan y pueden encontrarse solubles en el plasma, o pueden estar asociadas con la superficie de las células que expresan el receptor de Fc para la región Fc de la proteína de fusión. Diferentes fragmentos de IL-15R α se pueden fusionar a la región Fc. Dos ejemplos de fusiones funcionales se proporcionan como la SEQ ID NO: 17 y la SEQ ID NO: 20, que contienen 205 o 200 aminoácidos dentro de la región de IL-15R α . En algunas realizaciones, la región de

IL-15R α de la proteína de fusión puede liberarse mediante escisión proteolítica. En algunas realizaciones, la región funcional de IL-15R α de la proteína está unida a un polipéptido que es capaz de unirse a tipos específicos de células a través de receptores de la superficie. En algunas realizaciones, la proteína de fusión IL15–R α Fc comparte una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20.

En algunas realizaciones, un polinucleótido que codifica IL-15 se administra de forma conjunta con un polinucleótido que codifica IL-15R α . El polinucleótido que codifica IL-15 y el polinucleótido que codifica IL-15R α se pueden administrar en el mismo vector o en vectores separados. Preferentemente, el polinucleótido que codifica IL-15 se administra de forma conjunta con un polinucleótido que codifica IL-15R α están en el mismo vector. Un ejemplo de un plásmido que codifica una fusión IL-15R α -Fc tiene una secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 17 y un péptido señal de GM-CSF humano-IL-15 de la SEQ ID NO: 18 se proporciona en la SEQ ID NO: 16. Un segundo ejemplo de un plásmido que codifica una fusión IL-15R α -Fc tiene una secuencia polipeptídica de SEQ ID NO: 20 y un péptido señal de GM-CSF humano de IL-15 de la SEQ ID NO: 18 se proporciona en la SEQ ID NO: 19. En algunos casos de la divulgación, el vector administrado comparte una identidad de secuencia de ácido nucleico de al menos 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con un vector plasmídico seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO : 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, y SEQ ID NO: 19.

Un experto en la técnica entiende que los vectores de expresión, promotores, señales de poliadenilación, y péptidos secretores alternativos a los de los ejemplos de secuencias proporcionados en el presente documento pueden usarse para la expresión de IL-15 y el receptor alfa de IL-15 optimizados.

Para los fines de los presentes métodos, la IL-15 no se utiliza como un adyuvante para potenciar la respuesta inmunitaria contra un antígeno particular. Por lo tanto, en los presentes métodos, la IL-15 se administra sin un antígeno. Dicho de otra manera, la IL-15 no se administra de forma conjunta con un antígeno.

La IL-15 (y el IL-15R α) se administran a una dosis suficiente para alcanzar niveles suprafisiológicos de IL-15 por vía sistémica o en el tejido diana, por ejemplo, el timo, durante el período de tiempo deseado. El periodo de tiempo deseado puede ser días, semanas o más si es necesario. En algunas realizaciones, los niveles suprafisiológicos de IL-15 se mantienen durante toda la duración del tratamiento o hasta que se alcanza un punto final terapéutico deseado, por ejemplo, la repoblación de los tejidos periféricos con linfocitos. En algunas formas de realización, la IL-15 se administra una vez, como un bolo. En algunas formas de realización, la IL-15 se administra dos o más veces. Cuando se administra varias veces, la IL-15 se puede administrar a diaria, semanalmente, quincenalmente, mensualmente, o según sea necesario, para mantener los niveles suprafisiológicos de IL-15 por vía sistémica o en el tejido diana.

En realizaciones donde la IL-15 (y el IL-15R α) se administran como un polipéptido, las dosis típicas pueden variar de aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal hasta, e incluyendo, aproximadamente de 0,5 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la dosis de polipéptido es de aproximadamente 0,01, 0,02, 0,05, 0,08, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mg/kg de peso corporal.

En realizaciones donde la IL-15 (y el IL-15R α) se administran como un polinucleótido, las dosis son suficientes para alcanzar niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 1 a 1.000 ng/ml, por ejemplo, niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 10 a 1.000 ng/ml. Dicho intervalo de concentraciones en plasma se puede lograr, por ejemplo, después de la electroporación intramuscular de aproximadamente 0,1 mg de plásmido de ADN que expresa IL-15/IL-15R α por kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la dosis de ácido nucleico es de aproximadamente 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 mg/kg de peso corporal.

La IL-15 se puede administrar por una vía apropiada para efectuar los niveles suprafisiológicos sistémicos de IL-15 o los niveles suprafisiológicos de IL-15 en el tejido diana, por ejemplo, el timo. La IL-15 y el IL-15R α se pueden administrar a través de las mismas o diferentes vías. En algunos casos, la IL-15 (y el IL-15R α) se administran sistémicamente, incluyendo, sin limitaciones, las vías enteral (es decir, por vía oral) o parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intranasal, o por inhalación. En el presente documento también se describe la administración local de la IL-15 (y IL-15R α), por ejemplo, por vía intratímica o directamente en la médula ósea.

Para el tratamiento de la linfopenia, la administración sistémica de IL-15 estimula y acelera la repoblación de las poblaciones de linfocitos periféricos. Después de la administración de IL-15, los linfocitos o las subpoblaciones de linfocitos circulantes periféricamente pueden ser al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de los niveles considerados normales en un individuo sano. En algunas realizaciones, los linfocitos o las subpoblaciones de linfocitos están completamente repoblados a niveles normales. En algunas realizaciones, la repoblación de linfocitos es días o semanas más rápida en un individuo que recibió la administración de IL-15 en comparación con una persona que no recibió la administración de IL-15.

La administración sistémica de IL-15 también evita, reduce o inhibe la depleción de linfocitos en la circulación periférica, por ejemplo, causada por quimioterapia o radioterapia. Después de la administración de IL-15, los

linfocitos o subpoblaciones de linfocitos circulantes periféricamente se pueden mantener a niveles de al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de los niveles normales. En algunas realizaciones, los linfocitos o las subpoblaciones de linfocitos se mantienen a niveles normales.

En algunos casos de la divulgación, la IL-15 se administra de forma conjunta con un agente quimioterapéutico que causa o puede causar linfopenia o depleción de linfocitos en los tejidos periféricos. El agente quimioterapéutico puede ser un agente anticanceroso o un agente antiviral. En algunos casos, la IL-15 se administra después de un ciclo de tratamiento con un agente quimioterapéutico que causa o puede causar linfopenia o depleción de linfocitos en los tejidos periféricos. En algunos casos, la IL-15 también podría administrarse antes, durante o después de un ciclo de radioterapia.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención reivindicada.

Ejemplo 1: La administración sistémica de IL-15 estimula la maduración de las células T en el timo y la migración de las células T a los tejidos periféricos

El ADN de IL-15/IL-15R α se expresó por vía sistémica y localmente a varios niveles, tanto en ratones normales como en defectivos (KO) para IL-15 para entender mejor la biología de IL-15. Véase, Bergamaschi, et al., (2008) J Biol Chem 283:4189–4199. Los niveles suprafisiológicos de IL-15/IL-15R α en los ratones normales tienen efectos rápidos y profundos en muchos tejidos. Hay un aumento rápido y reversible del tamaño del bazo, mientras que el timo se hace más pequeño y el número de linfocitos de la médula ósea disminuyen (Figura 2). Previamente, los inventores han demostrado que el incremento del tamaño del bazo y de los ganglios linfáticos es proporcional a la cantidad de IL-15 en el plasma. Véase, Bergamaschi, et al., (2008) J Biol Chem 283:4189–4199. La cinética y la composición de los linfocitos en muchos tejidos se estudiaron usando 10 parámetros de citometría de flujo, así como la transferencia adoptiva de células y el marcaje *in vivo*. Los resultados de los investigadores ponen de relieve los fuertes efectos de la IL-15 en todas las etapas de desarrollo de los linfocitos, como también han sugerido muchos investigadores. Revisado en, por ejemplo, Boyman, et al., (2007) Curr Opin Immunol 19:320–326; Sprent, et al., (2008) Immunol Cell Biol 86:312–319; Sprent y Surh, (2003) Immunol Lett 85:145–149; Surh, et al., (2006) Immunol Rev 211:154–163; Surh y Sprent, (2005) Semin Immunol 17:183–191; y Surh y Sprent, (2008) Immunity 29:848–862. Sin embargo, antes de la presente invención, no se han aclarado los efectos de la IL-15 en el timo. Los resultados de los inventores indican que la IL-15 estimula la maduración de los timocitos dobles positivos CD4⁺ CD8⁺ en células T simples positivas con niveles altos de CD3 (Figura 3) y acelera su rápida migración a la periferia (Figura 4). Siete días después del marcaje *in situ* de los timocitos, IL-15/IL-15R α estimuló su migración al pulmón. En presencia de IL-15/IL-15R α , los linfocitos en el pulmón tienen mayores niveles de IL-2/IL-15R α (CD122, véase la Figura 4, parte inferior) que indican que están activados. Estos resultados son consistentes con la idea de que la IL-15 estimula no solo la salida acelerada del timo, sino también la migración a los tejidos periféricos y la activación de estos linfocitos.

Los resultados de los investigadores también muestran que, además de las células NK y T de memoria CD8⁺ que están profundamente afectadas, como era de esperar, todos los linfocitos, incluyendo las células CD4 y CD8 de memoria e intactas, y los linfocitos B también se ven afectadas para dividirse, migrar o estar activados. Esto es consistente con la expresión generalizada (pero no universal) del receptor betagamma de IL-2/IL-15. La jerarquía de la capacidad de respuesta de las subpoblaciones de linfocitos a la IL-15 refleja los niveles de CD122 (IL-2R β) en su superficie. Véase, Bergamaschi, et al., (2008) J Biol Chem 283:4189–4199.

Las observaciones de los inventores están apoyadas además por experimentos realizados en un modelo de KO en IL-15, para corregir los defectos de los linfocitos mediante la administración de ADN de plásmido que codifica el heterodímero IL-15/IL-15R α . Los ratones KO en IL-15 se caracterizan por una disminución en el recuento total de células T que afecta, preferentemente, a las células T CD8⁺, que están casi completamente ausentes en los tejidos periféricos. Los inventores han demostrado que IL-15/IL-15R α puede repoblar órganos no linfoides, tales como los pulmones, con linfocitos T CD4 y CD8 maduros. El aumento en las células T CD4 tras el tratamiento con IL-15/IL-15R α se multiplica por 10, mientras que el aumento de la población CD8⁺ es significativamente mayor, multiplicándose por 100 (Figura 5). Estos resultados subrayan la viabilidad de la utilización de ADN de IL-15/IL-15R α para corregir los defectos asociados con linfopenia (por ejemplo, causadas por la ausencia total de IL-15 o de otra etiología). El análisis de los linfocitos que migran en diferentes órganos, en presencia de IL-15 sugiere que muchos adquieren rápidamente un fenotipo de memoria en ausencia de reconocimiento del antígeno y que la IL-15 estimula la reentrada de algunos linfocitos en el timo. La cuestión de la reentrada de los linfocitos en el timo es objeto de controversia y el estudio de los efectos de la IL-15 pueden contribuir a la comprensión de este fenómeno. Véase, Sprent y Surh (2009) Immunol Cell Biol 87:46–49; Bosco, et al., (2009) Immunol Cell Biol 87:50–57; Agus, et al., (1991) J Exp Med 173:1039–1046. Los datos preliminares de los investigadores indican que la transferencia de los timocitos cargados con CFSE en ratones tiene como resultado la llegada al timo solo en los animales que recibieron IL-15.

Los inventores han descubierto que la IL-15 disminuye la frecuencia de los timocitos apoptóticos, principalmente mediante la estimulación de su diferenciación terminal en las células T simples positivas maduras. Los resultados de los inventores después de la inyección intratímica de CFSE indican que la IL-15 aumenta la salida del timo, como se refleja en la mayor frecuencia de células T marcadas con CFSE completamente maduras.

Los inventores han observado además que el mayor tamaño del bazo tras el tratamiento de IL-15 se debe, en parte, al aumento de la frecuencia de los linfocitos B, ya sea mediante proliferación local, migración de células B de otros compartimentos, o ambos. Además, durante los experimentos *in vivo* con esplenocitos marcadas con CFSE transferidos adoptivos se observó proliferación inducida por IL-15 tanto de células T CD4 intactas como de memoria. En contraste con las células T CD8+, que proliferan casi universalmente en presencia de IL-15, las respuestas de las células T CD4+ parecen estar restringidas a una subpoblación de células.

Ejemplo 2: Corrección de la linfopenia inducida por ciclofosfamida mediante la administración de ADN de IL-15/IL-15R α

Sumario

El presente ejemplo muestra la inversión de la linfopenia inducida por ciclofosfamida en ratones jóvenes normales mediante la administración sistémica de IL-15. Una o dos dosis elevadas de IL-15 se administraron dos (2) días (o dos (2) y doce (12) días) después de la ciclofosfamida mediante inyección de ADN hidrodinámico. Los resultados muestran que los ratones se recuperan más rápidamente de la linfopenia después de la administración de IL-15 en comparación con los ratones control con linfopenia inducida por ciclofosfamida que no recibieron IL-15. Los linfocitos se recuperaron más rápidamente en los tejidos periféricos después de la administración de IL-15. Las células NK fueron las primeras en recuperarse, mientras que las células T se recuperaron en aproximadamente un mes. En el curso de estos estudios, los inventores descubrieron que dos administraciones de IL-15 mejoraron la recuperación de las células T a través de una única administración de IL-15. Además, los niveles bajos y sostenidos de IL-15 proporcionan una repoblación más eficiente de los linfocitos a los tejidos periféricos en comparación con una sola dosis alta. Estos resultados demuestran que la IL-15 es útil en el tratamiento y/o prevención de la linfopenia.

Métodos

Administración de ciclofosfamida

Los ratones Balb/c hembras de seis a ocho semanas de edad se obtuvieron en Charles River Laboratory (Frederick, MD). La ciclofosfamida (Sigma) se disolvió en solución salina apirógena y se inyecta por vía intraperitoneal (i.p.) a una dosis de 200 mg/kg de peso corporal. Se realizaron dos tratamientos con ciclofosfamida los días -4 y -2.

Inyección de ADN

El día 0, se realizó una inyección hidrodinámica de cualquiera de un vector control o plásmido de expresión de IL-15 e IL-15R α en ratones tratados con ciclofosfamida. El ADN del vector vacío también se administró a los ratones no tratados con ciclofosfamida, como control. Brevemente, se inyectaron de 0,2 μ g a 2 μ g de ADN en 1,6 ml de solución estéril de NaCl al 0,9 % en ratones a través de la vena de la cola en un plazo de 7 segundos utilizando una aguja de calibre 27,5. Se produjeron plásmidos de ADN libre de endotoxina altamente purificados utilizando el kit Qiagen EndoFree Giga (Qiagen, Hilden).

Análisis de los linfocitos

Se sacrificó a los ratones en diferentes puntos de tiempo (días 2-26) después de la inyección de ADN y se recogieron suero, médula ósea, timo, bazo, hígado y pulmones para su análisis.

Para el aislamiento de linfocitos de médula ósea se recogieron los fémures izquierdos y derechos y se centrifugaron a 13.000 durante 5 minutos, se resuspendieron y se centrifugaron de nuevo (total de 3 veces). Las células recogidas se resuspendieron en RPMI que contenía 10 % de suero bovino fetal y las células viables se contaron usando colorante naranja de acridina (Molecular Probes)/bromuro de etidio (Fisher).

Para el aislamiento de esplenocitos o timocitos, se apretaron suavemente los bazos o los timos a través de un Cell Strainer (Thomas) de 100 μ m y se lavaron en medio RPMI (Gibco) para eliminar cualquier resto de los linfocitos del estroma de órganos. Después de la centrifugación, las células se resuspendieron en RPMI que contenía suero bovino fetal al 10 % y se contaron.

Para aislar los linfocitos de los hígados o los pulmones, los tejidos se desmenuzaron y se incubaron con 200 U/ml de colagenasa (Sigma) y 30 U/ml de ADNasa (Roche) durante 1 hora a 37 °C, a continuación, se recogieron las células individuales, se centrifugaron y se resuspendieron en RPMI completo con 10 % de suero bovino fetal.

Para la fenotipificación, las células se incubaron con la siguiente mezcla de anticuerpos anti-ratón directamente conjugados (BD Pharmingen): CD3–APC, CD4–PerCP, CD8–PECy7, CD44–APC, CD49b–FITC, CD19–PE, CD62L–PE. Las muestras de células marcadas se analizaron mediante citometría de flujo utilizando un citómetro de flujo LSR II (BD) y se analizaron utilizando el software FlowJo (Árbol Star, San Carlos, CA).

5 Los linfocitos de los diferentes grupos de ratones se contaron y se compararon. Se realizaron análisis estadísticos usando el programa Prism Software. Las comparaciones de los dos grupos se realizaron mediante la prueba t de Mann-Whitney no paramétrica. Los intervalos de confianza fueron 0,05, y todos los valores de p fueron de dos colas.

10 *Resultados*

Se usaron dos inyecciones de ciclofosfamida los días -4 y -2 para generar ratones con depleción de linfocitos. Al día 0 (y también, para algunos ratones el día 10) se inyectó el vector de expresión de ADN de IL-15/15R α en la vena de la cola, lo que generó niveles sistémicos altos de IL-15/15R α bioactiva, tal como se publicó (Bergamaschi, et al., J Biol Chem. (2008) 283(7):4189–99). Los efectos biológicos después de la inyección de ADN de 15R α IL-15/se compararon con la inyección de un ADN no productor (vector BV) como control negativo en los animales tratados con ciclofosfamida.

20 Se extrajeron diferentes tejidos, incluyendo los pulmones, el hígado, el bazo, el timo y la médula ósea de los ratones sacrificados los días 2-26 de la inyección de ADN y se estudiaron las poblaciones de linfocitos.

25 El tratamiento con ciclofosfamida tuvo fuertes efectos sobre los linfocitos, tal como se refleja en el aumento del peso del bazo de los animales tratados (Figura 7). Se sacrificó a cuatro animales por punto de tiempo y se controló el peso del bazo. Los dos grupos tratados con ciclofosfamida (CP + vector, tratados con un vector de ADN no productor; CP + IL-15) tenían un bazo más pequeño el día 2 después del tratamiento de ADN (4 días después de la ciclofosfamida). En este punto temprano y también el día 5, los animales tratados con IL-15 mostraron una diferencia estadísticamente significativa en el tamaño del bazo, lo que indica la recuperación acelerada por la IL-15.

30 Pulmón

Los inventores también analizaron el número de linfocitos y las subpoblaciones en diferentes tejidos para evaluar los efectos de la administración de IL-15/15R α . Estos experimentos se realizaron después de una o dos administraciones de ADN IL-15/15R α los días 0 y 10).

35 Los linfocitos del pulmón se evaluaron con el fin de determinar los efectos de IL-15/15R α en un lugar periférico, donde los linfocitos tienen que funcionar. Se sabe que la IL-15 afecta fuertemente a las células T CD8+ T y las células NK. Los niveles altos de IL-15 (que se logran con dos inyecciones de ADN 2 μ g los días 0 y 10), favorece la recuperación de linfocitos en el pulmón después del tratamiento con Cyp.

40 *Efectos sobre las células asesinas naturales (NK):*

45 Los ratones se trataron los días -4 y -2 y se inyectó el ADN el día 0. En dos grupos de ratones se inyectó ADN control negativo BV o ADN de IL-15/IL-15R α . Los animales tratados con IL-15/IL-15R α tenían una tendencia a números más altos de NK para todos los puntos de tiempo. Al día 14, la comparación de el grupo que recibió el vector vacío con el grupo de administración de 2x IL-15/IL-15R α (inyecciones de AD los días 0 y 10) mostraron que IL-15/15R α aumentó significativamente la recuperación de células NK de pulmón (p=0,03).

50 La población de linfocitos que se recupera primero es la de las células NK. En los experimentos de los inventores después del tratamiento con ciclofosfamida, las células NK se recuperaron parcialmente en ausencia de cualquier otra intervención. La administración de IL-15/15R α aceleró esta recuperación. La mejor recuperación se observó después de dos inyecciones de IL-15 los días 0 y 10. El examen al día 14 mostró un aumento significativo de NK por IL-15 en comparación con Cyp (p = 0,03). Véase la figura 8.

55 Efectos sobre las células T de pulmón

En contraste con las células NK, las células T de pulmón no se recuperan tan rápido. Los ratones se trataron y se analizaron como se ha indicado en lo que antecede. Las células T de pulmón T se enumeraron el día 14 después de la primera inyección de ADN. Se encontró que las células T totales aumentaron el día 14 después de dos administraciones IL-15/R α los días 0 y 10, en comparación con los animales tratados con Cyp. Véase la figura 9.

60 Las células T de pulmón también se distinguieron según la expresión de CD4 o CD8 y se compararon entre los diferentes grupos de ratones. Se descubrió que las células T CD8+ aumentaron preferentemente después de la administración de IL-15/15R α el día 14 (p = 0,0357). Además, los días 6 y 14 se incrementó la relación CD8/CD4, lo que demuestra la estimulación preferente de las células T CD8+ por la IL-15. La relación vuelve a la normalidad hacia el día 26, en el grupo que IL-15/15R α . Véanse las Figuras 10 y 11.

Bazo

En el bazo, también se descubrió que las células T se recuperaban más rápidamente después de dos inyecciones de IL-15/15R α ($p = 0,0357$). Similar a los resultados en el pulmón, dos dosis de IL-15/15R α (días 0 y 10) eran capaces de aumentar los linfocitos del bazo después de Cyp ($p = 0,03$). Véase la figura 12.

Médula ósea

El nivel alto sostenido de IL-15 (conseguido con dos inyecciones de ADN de 2 μ g los días 0 y 10) tuvo como resultado una recuperación de células T en la médula ósea hacia el día 14 después de la primera inyección de ADN (Figura 13). La IL-15 afectó a ambos compartimentos CD4 y CD8. El tratamiento con dos administraciones de IL-15/15R α dio lugar a altos niveles de células T en la médula ósea el día 14 en comparación con los animales tratados con Cyp.

Ejemplo 3: Efectos terapéuticos de la IL-15 en la linfopenia en dos cepas de ratón diferentes

Este ejemplo también empleó ratones Black6 para analizar los efectos terapéuticos de diversas formas de IL-15 en la linfopenia. Dos cepas de ratón diferentes, BALB/c y Black6 se utilizaron en estos experimentos. Ambas cepas mostraron reconstitución de linfocitos acelerada tras el tratamiento con IL-15/IL-15R α .

Tratamiento de ratones con depleción de linfocitos con ADN de IL-15

Se trató a los ratones Balb/c o Black6 de 6-8 semanas de edad por vía intraperitoneal con una dosis de 200 mg/kg de peso corporal de la ciclofosfamida (CYP, Figura 14). Se realizaron dos inyecciones de CYP el día -4 y el día -2. El día 0 y el día 5, se realizó una inyección hidrodinámica de cualquiera de un ADN de control o de ADN que expresa la molécula soluble de IL-15/IL-15sR α . El vector de control también se liberó en ratones no tratados con CYP como control. Se sacrificó a los ratones a diferentes puntos de tiempo: el día -1 para evaluar la depleción linfocitaria inducida por CYP los días 5, 10, 17 y 24 para seguir la reconstitución inmune en presencia o ausencia de IL-15 exógena. Se recogieron diferentes tejidos (bazo, timo, médula ósea, pulmón e hígado) y se analizaron para determinar la presencia de diferentes subpoblaciones de linfocitos. El análisis se realizó mediante citometría de flujo después de teñir las células con anticuerpos marcados con fluorescencia.

Para el análisis de flujo, las células aisladas se incubaron con los siguientes anticuerpos anti-ratón conjugados directamente (BD Pharmingen) en las combinaciones adecuadas de acuerdo con los objetivos del experimento:

CD3-APC o CD3-APC-Cy7, CD4-PerCp, CD8-Pacific Blue, CD44-APC, CD62L-PE, CD19-APC-Cy7 o CD19-PeCy7, CD49b-FITC, CD25-APC-Cy7, CD122-PE. Las células T se definieron como células CD3⁺ en la puerta de linfocitos; Las células NK se definieron como células CD3⁻CD49b⁺.

Para la identificación de la población de células T reguladoras (células T CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺), las células se fijaron y se permeabilizaron (eBioscience) y se incubaron con anticuerpo FoxP3-PeCy7 anti-ratón (eBioscience). Las células T efectoras se definieron como linfocitos CD3⁺FoxP3⁻. Por lo tanto, el término "T efectora" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a todas las células T, excepto las células T reguladora.

La Figura 15 muestra la reconstitución del compartimiento de células NK en el bazo y el pulmón después del tratamiento con CYP. Los ratones no tratados con CYP se utilizaron como control basal (cuadrados). Dos inyecciones de CYP dieron como resultado una reducción drástica del número absoluto de células NK, tanto en el bazo como el pulmón (día -1). Las células NK se recuperaron de forma espontánea entre el día 10 y el día 14 después de la inyección de ADN control (triángulos). Una administración única de ADN de IL-15/IL-15sR α fue capaz de estimular una recuperación completa de NK en un plazo de 5 días después de la inyección de ADN. La segunda inyección de ADN que expresa IL-15/IL-15sR α dio como resultado una expansión incluso mayor de las células NK, tanto en el bazo como en los pulmones (círculos).

La Figura 16 muestra la reconstitución del compartimiento de células T en el bazo y el pulmón después del tratamiento con CYP. Los ratones no tratados con CYP se utilizaron como control basal (cuadrados). Dos inyecciones de CYP dieron como resultado una reducción de 4 veces el nivel de células T esplénicas y una reducción de 10 veces el nivel de células T que residen en el pulmón (día -1). La recuperación espontánea de las células T parecía ser más lenta en comparación con la recuperación de las células NK y todavía estaba incompleta el día 24 después de la inyección de ADN control. La cinética de la recuperación espontánea de las células T CD8 y CD4 fue similar tanto en el bazo como en el pulmón (triángulos). Dos inyecciones de ADN que expresan IL-15/IL-15sR α fueron capaces de reconstituir completamente el número de células T en los 10 días posteriores a la administración de ADN tanto en el bazo como en el pulmón. La IL-15 estimuló principalmente la expansión de las células T CD8 que alcanzaron niveles normales el día 5 después de la inyección de ADN y se reforzaron sobre nivel normal el día 10 después de la inyección de ADN. La IL-15 no afectó significativamente la recuperación de células T CD4 y B.

Además, las células T que recuperaron la presencia de niveles altos de IL-15/IL- α muestran un aumento de la relación células T efectoras (T ef)/T reguladoras (T reg) y aumentaron la capacidad para secretar IFN gamma y mayor desgranulación después de la estimulación *in vitro*. La Figura 17 es un análisis de la relación de T ef/T reg después del tratamiento con CYP para la depleción de linfocitos y durante la fase de recuperación. La relación de T ef/T reg aumentó significativamente el día 10 después de la inyección de ADN de IL-15/15sR α .

Ejemplo 4: Liberación de ADN para IL-15 para tratar la linfopenia

En estos ejemplos, se evalúan tres combinaciones de vectores de ADN preferidas para la liberación terapéutica de IL-15 para el tratamiento de la linfopenia.

a. La liberación conjunta en las mismas células usando, preferentemente, los plásmidos de expresión que expresan IL-15 y, esencialmente, el IL-15R α de longitud completa, tales como las SEQ ID NO:13 y SEQ ID NO:14.

2 La liberación conjunta en las mismas células usando, preferentemente, los plásmidos de expresión que expresan IL-15 e IL-15R α soluble, tal como la SEQ ID NO:15.

3 La liberación conjunta en las mismas células usando, preferentemente, los plásmidos de expresión optimizados que expresan las fusiones de IL-15 e IL-15R α a la región constante de una molécula de inmunoglobulina (Fc), tales como las SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 19. La construcción de las proteínas de fusión de Fc se conoce en la materia. Tales construcciones se han utilizado en los experimentos *in vivo* en ratones para demostrar que la IL-15 y los heterodímeros de fusión IL15R α -Fc son activos *in vivo*.

La liberación del heterodímero IL-15/IL-15R α mediante el enfoque (1) anterior conduce a la expresión de IL-15/IL-15R α tanto unido a la membrana plasmática como secretados. La liberación mediante el enfoque (2) conduce al heterodímero IL-15/IL-15R α secretado exclusivamente. La liberación mediante el enfoque (3) conduce a un heterodímero bioactivo secretado, que después se une a las células que expresan el receptor del Ac de Fc en su superficie. Estas células pueden presentar el heterodímero IL-15/IL-15R α Fc a las células vecinas, lo que da lugar a la activación.

Los tres tipos de vectores se han analizado en ratones y se ha demostrado que producen niveles sistémicamente bioactivos de IL-15/IL-15R α (véase la figura 18, que muestra la expresión de los tres tipos de complejos). Debido a que la localización, tráfico y estabilidad de los diferentes tipos de complejos varían, los efectos biológicos sobre los linfocitos también son variables. La Figura 18 muestra la expresión de diferentes formas heterodiméricas de IL-15/IL-15R α en ratones mediante la inyección hidrodinámica de vectores de ADN. Se inyectó a los ratones en la vena de la cola (liberación hidrodinámica) 0,1 μ g de ADN que expresan las diferentes formas de IL-15/IL-15R α . Los niveles plasmáticos de IL-15 se midieron los días 1 y 2,5 mediante ELISA R&D Quantiglo. La medición de los niveles plasmáticos de IL-15 producida por los diferentes vectores mostró que se habían alcanzado los niveles plasmáticos más altos mediante el vector de ADN que produce la fusión IL-15/IL-15R α Fc. La estabilidad de las proteínas producidas también fue diferente, mostrando IL-15/IL-15R α Fc y IL-15/IL-15R α de longitud completa que muestra la mayor estabilidad. IL-15/sIL-15R α no asociado a las células fue menos estable.

En la tabla 2 se muestran las proporciones de CD4/CD8 medidas en el bazo y el pulmón de ratones tratados con diferentes formas heterodiméricas de IL-15/IL-15R α , 2 $\frac{1}{2}$ días después de la inyección hidrodinámica de 0,1 μ g de vector de ADN (véase la Figura 17).

VECTOR	Bazo	Pulmón
IL-15/IL-15R α (longitud completa)	1,36	0,8
IL-15/sIL-15R α (soluble)	0,81	0,24
Fusión de IL-15/IL-15R α Fc con Fc	0,63	0,52
Vector de ADN control	2	1,61

En estos experimentos, se descubrió que las diferentes moléculas tienen efectos diferenciales sobre los linfocitos. Por lo tanto, se pueden usar los diferentes complejos de IL-15 solos o en combinaciones para el tratamiento más beneficioso en condiciones específicas. Por ejemplo, la liberación de combinaciones del complejo IL-15/sR α soluble y el complejo de fusión IL-15/15R α Fc proporciona la oportunidad de liberar IL-15 tanto soluble como unida a célula (a través del receptor Fc) a diferentes niveles y proporciones.

Además de las diferentes proporciones de células CD4/CD8 (como se muestra en la Tabla 1), los diferentes heterodímeros de IL-15 también mostraron diferencias en los efectos sobre otros marcadores de superficie de linfocitos. La Figura 19 muestra que la expresión de IL-15/15R α Fc indujo niveles altos de CD25 (receptor alfa de IL-2) tanto en células T CD4 como T CD8, mientras que las otras formas de heterodímeros IL-15/IL-15R α no afectó a la expresión de CD25 fuertemente.

La Figura 20 muestra que IL-15/IL-15R α Fc incrementó los niveles de CD62L en la superficie de células T de bazo, mientras que las otras formas de IL-15/IL-15R α no afectó ni disminuyó los niveles promedio de CD62L sobre las

células T de bazo. Por el contrario, IL-15/IL-15RαFc fue menos eficaz en el aumento de CD44 en las células T de bazo en comparación con IL-15/IL-15Rα de longitud completa o IL-15/IL-15sRα (Figura 21).

Ejemplo 5. Liberación de proteínas

Como método alternativo para proporcionar IL-15, se puede usar la liberación de la proteína purificada. Se ha realizado purificación de proteínas a partir de líneas celulares que sobreproducen complejos de IL-15/IL-15Rα. Similar al ADN, se pueden usar diferentes formas del heterodímero solo o en combinaciones para la obtención de los efectos apropiados.

- 1 Liberación de IL-15/IL-15Rα soluble (s) purificada, tales como las SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 12.
- 2 Liberación de la proteína de IL-15/IL-15RαFc purificada (fusión con la región constante de una molécula de inmunoglobulina, tal como la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20).

La IL-15/sIL-15Rα se purificó mediante sobreproducción de células 293 humanas y se liberó en ratones con depleción de linfocitos. Los resultados mostraron que este heterodímero es bioactivo y que estimuló la proliferación de los linfocitos transferidos de forma adoptiva (células T, células NK, pero no células B).

Procedimiento experimental (Figura 22): Se trató a los ratones con ciclofosfamida (Cyp) y dos días más tarde se les administró 3 µg de proteína IL-15/s15Rα purificada mediante HPLC por vía intraperitoneal durante 6 días. Los esplenocitos se purificaron a partir de ratones Bl/6 jóvenes, se marcaron con CFSE y se inyectaron 10⁷ células por vía i.v. a los animales con depleción linfocitaria. A la proliferación de las células transferidas de forma adoptiva le siguió dilución de CFSE.

Por lo tanto, estos resultados indican que las diferentes formas del heterodímero IL-15/IL-15Rα tienen una estabilidad, interacciones en el cuerpo, procesamiento y estabilidad diferentes. Esto ofrece la oportunidad de explotar estas propiedades para el uso de estas citocinas para proporcionar el máximo beneficio. De acuerdo con ello, las diferentes formas se pueden combinar en diferentes relaciones y esquemas de administración. Las diferentes formas se pueden administrar ya sea simultáneamente o secuencialmente.

Las fusiones IL-15Rα – Fc previamente empleadas se han utilizado con diversos grados de eficacia. Los estudios ilustrados en la Figura 23 muestran que la fusión Fc utilizada tiene una semivida en plasma mayor en comparación con IL-15/s15Rα.

En los ejemplos de las secuencias, descritas en el presente documento, la fusión 205FC (SEQ ID NO:17) contiene el sitio de procesamiento natural que genera s15Rα de la forma unida a la membrana, mientras que la fusión 200FC (SEQ ID NO:20) no tiene un sitio de procesamiento intacto. Estos son ejemplos de fusiones de Fc que pueden procesarse de manera diferente para generar formas no asociadas a células después de la escisión entre la región 15Rα y la región constante del anticuerpo. Se pueden generar moléculas adicionales que tienen sitios de procesamiento para la escisión y se generan las formas de la citocina tanto asociadas con las células como solubles. En la materia se conocen métodos adicionales para la unión a las células, con excepción de la región Fc y también se pueden emplear.

Se entiende que los ejemplos y formas de realización descritos en la presente memoria descriptiva son con fines ilustrativos únicamente y que varias modificaciones o cambios a la luz de los mismos se sugerirán a personas expertas en la técnica y se deben incluir dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLOS DE SECUENCIAS

SEQ ID N° 1

Secuencia de ácido nucleico de IL-15 humana de tipo silvestre

```
ATGAGAATTTTCGAAACCACATTTGAGAAGTATTTCCATCCAGTGCTACTTGTGTTTACTTCT
AAACAGTCATTTTCTAACTGAAGCTGGCATTTCATGTCTTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGCGAG
GGCTTCCTAAACAGAAGCCAAGTGGGTGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAATTGAAGAT
CTTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACTTTATATACGGAAAGTGATGTTTCACCCCAGTTG
CAAAGTAACAGCAATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCTGGAG
ATGCAAGTATTCATGATACAGTAGAAAATCTGATCATCCTAGCAAACAACAGTTTGTCTTCT
AATGGGAATGTAACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAACTGGAGGAAAAAATATTAA
AGAATTTTTCAGAGTTTTGTACATATTGTCCAAATGTTTCATCAACACTTCTTGA
```

SEQ ID N° 2

Secuencia de aminoácidos de IL-15 humana de tipo silvestre

M R I S K P H L R S I S I Q C Y L C L L L
 N S H F L T E A G I H V F I L G C F S A G
 L P K T E A N W V N V I S D L K K I E D L
 I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K
 V T A M K C F L L E L Q V I S L E S G D A
 S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G
 N V T E S G C K E C E E L E E K N I K E F
 L Q S F V H I V Q M F I N T S •

SEQ ID N° 3

5 **Secuencia de ácido nucleico de IL-15 humana mejorada (opc. 1)**

ATGCGGATCTCGAAGCCGCACCTGCGGTCGATATCGATCCAGTGCTACCTGTGCCTGCTCCT
 GAACTCGCACTTCTCAGGAGGCCGGTATACACGTCTTCATCCTGGGCTGCTTCTCGGCGG
 GGCTGCCGAAGACGGAGGCCGAAGTGGGTGAACGTGATCTCGACCTGAAGAAGATCGAGGAC
 CTCATCCAGTCGATGCACATCGACGCGACGTGTACACGGAGTCGGACGTCCACCCGTCGTG
 CAAGGTACGGCGATGAAGTGCTTCTCCTGGAGCTCCAAGTCATCTCGCTCGAGTCGGGGG
 ACGCGTCGATCCACGACACGGTGGAGAACCTGATCATCCTGGCGAACAACCTCGCTGTCTCG
 AACGGGAACGTACGGAGTCGGGCTGCAAGGAGTGCGAGGAGCTGGAGGAGAAGAACATCAA
 GGAGTTCTGCAGTCGTTCTGTCACATCGTCCAGATGTTTCATCAACACGTCGTGA

SEQ ID N° 4

10 **Secuencia de ácido nucleico de IL-15 humana mejorada (opc. 2)**

ATGAGGATCAGCAAGCCCCACCTGAGGAGCATCAGCATCCAGTGCTACCTGTGCCTGCTGCT
 GAACAGCCACTTCTGACCGAGGCCGGTATACACGTGTTTCATCCTGGGCTGCTTTAGCGCCG
 GACTGCCCAAGACCGAGGCCAATTGGGTGAACGTGATCAGCGACCTGAAGAAGATCGAGGAC
 CTCATCCAGAGCATGCACATCGACGCCACCTGTACACCGAGAGCGATGTGCACCCAGCTG
 TAAGGTGACCGCCATGAAGTGCTTTCTGCTGGAGCTGCAAGTGATCAGCCTGGAGAGCGGCG
 ACGCCAGCATCCACGACACCGTGGAGAACCTGATCATCCTGGCCAACAACAGCCTGAGCAGC
 AACGGCAATGTGACCGAGAGCGGCTGTAAGGAGTGAGGAGCTGGAGGAGAAGAACATCAA
 GGAGTTTCTGCAGAGCTTCGTGCACATCGTGCAGATGTTTCATCAACACCAGCTGA

SEQ ID NO:5

15 **Receptor alfa de interleucina 15 de homo sapiens (IL15RA), variante 1 del transcrito, ARNm, n.º de acceso en GenBank NM_002189**

1 ccagagcag cgctcgccac ctccccccg cctgggcagc gctcgcccg ggagtcagc
 61 ggtgtcctgt ggagctgccg ccatggcccc gcggcgggcg cgcggctgcc ggaccctcgg
 121 tctcccgcg ctgctactgc tgctgtgtct ccggcgcccg gcgacgcgg gcatcacgtg
 181 cctccccccc atgtccgtgg aacacgcaga catctgggtc aagagctaca gcttgtactc
 241 cagggagcgg tacatttgta actctggttt caagcgtaaa gccggcacgt ccagcctgac
 301 ggagtgcgtg ttgaacaagg ccacgaatgt cgcctactgg acaaccccca gtctcaaatg
 361 cattagagac cctgcccctg ttacacaaag gccagcgcca ccctccacag taacgacggc
 421 aggggtgacc ccacagccag agagcctctc cccttctgga aaagagcccg cagcttcac
 481 tcccagctca aacaacacag cggccacaac agcagctatt gtcccggtc cccagctgat
 541 gccttcaaaa tcaccttcca caggaaccac agagataagc agtcatgagt cctcccacgg
 601 caccctctct cagacaacag ccaagaactg ggaactcaca gcatccgcct cccaccagcc
 661 gccaggtgtg tatccacagg gccacagcga caccactgtg gctatctcca cgtccactgt
 721 cctgctgtgt gggctgagcg ctgtgtctct cctggcatgc tacctcaagt caaggcaaac
 781 tcccccgctg gccagcgttg aaatggaagc catggaggct ctgccgtga cttgggggac
 841 cagcagcaga gatgaagact tggaaaactg ctctcaccac ctatgaaact cggggaaacc
 901 agcccagcta agtccggagt gaaggagcct ctctgcttta gctaaagacg actgagaaga
 961 ggtgcaagga agcggggtcc aggagcaagc tcaccaggcc tctcagaagt cccagcagga
 1021 tctcacggac tgccgggtcg gcgcctcctg cgcgaggag caggttctcc gcattcccat
 1081 gggcaccacc tgcctgcctg tcgtgccttg gaccagggc ccagcttccc aggagagacc
 1141 aaaggcttct gagcaggatt tttatttcat tacagtgtga gctgcctgga atacatgtgg
 1201 taatgaaata aaaaccctgc cccgaatctt ccgtccctca tcttaacttt cagttcacag
 1261 agaaaagtga catacccaaa gctctctgtc aattacaagg cttctcctgg cgtgggagac
 1321 gtctacaggg aagacaccag cgtttggggt tctaaccacc ctgtctccag ctgctctgca
 1381 cacatggaca gggacctggg aaaggtggga gagatgctga gccagcgaa tctctccat
 1441 tgaaggattc aggaagaaga aaactcaact cagtgcatt ttacgaatat atgcgtttat
 1501 atttatactt cctgtcttat tatatctata cattatatat tatttgattt ttgacattgt
 1561 acctgtgata aacaaaataa aacatctatt ttcaatattt ttaaatgca

SEQ ID NO:6**Precursor de la isoforma 1 del receptor alfa de la interleucina 15 [Homo sapiens] – n.º de acceso en GenBank NP_002180**

1 maprrargcr tlglpallll lllrppatrg itcpppmsve hadiwwksys lysreryicn
 61 sgfkrkagts sltecvinlka tnvahwttps lkciirdpalv hqrpappstv ttagvtpqpe
 121 slspsgkepa asspsnnta attaaivpgs qlmpskspst gtteisshe shgtpsqtta
 181 knweltasas hqppgvypqg hsdttvaist stvllcglsa vsllacylks rqtpplasve
 241 meamealpvt wgtssrdedl encshhl

SEQ ID NO:7**Receptor alfa de interleucina 15 de homo sapiens (IL15RA), variante 2 del transcrito, ARNm, n.º de acceso en GenBank NM_172200**

1 caggaattcg gcgaagtggc ggagctgggg ccccagcggg cgccgggggc cgccggagcc
 61 agcaggtggc gggggctgcg ctccgcccgg gccagagcgc accaggcagg tgcccgcgcc
 121 tccgcaccgc gccgacacct ccgcgggcac tcaccaggc cgccggtca caaccgagcg
 181 cagggccgcg gagggagacc aggaaagccg aaggcggagc agctggaggc gaccagcgcc
 241 gggcgaggtc aagtggatcc gagccgcaga gagggctgga gagagtctgc tctccgatga
 301 ctttgcccac tctcttcgca gtggggacac cggaccgagt gcacactgga ggtccagag
 361 cacgacgagc gcggaggacc gggaggctcc cgggcttgcg tgggcatcac gtgccctccc
 421 cccatgtccg tggaacacgc agacatctgg gtcaagagct acagcttgta ctccaggag
 481 cgtatcatctt gtaactctgg tttcaagcgt aaagccggca cgtccagcct gacggagtgc
 541 gtgttgaaaca aggccacgaa tgtcgcccac tggacaaccc ccagtctcaa atgcattaga
 601 gaccctgccc tggttcacca aaggccagcg ccaccctcca cagtaacgac ggcagggtg
 661 accccacagc cagagagcct ctccccttct ggaaaagagc ccgcagcttc atctcccag
 721 tcaaacacaa cagcggccac aacagcagct attgtcccgg gctcccagct gatgccttca
 781 aatcacctt ccacaggaac cacagagata agcagtcag agtcctccca cggcaccccc
 841 tctcagacaa cagccaagaa ctgggaactc acagcatccg cctcccacca gccgccaggt
 901 gtgtatccac agggccacag cgacaccact gtggctatct ccaggtccac tgtcctgctg
 961 tgtgggctga gcgctgtgtc tctcctggca tgctacctca agtcaaggca aactcccccg
 1021 ctggccagcg ttgaaatgga agccatggag gctctgcccg tgaactgggg gaccagcagc
 1081 agagatgaag acttggaata ctgctctcac cacctatgaa actcggggaa accagcccag
 1141 ctaagtccgg agtgaaggag cctctctgct ttagctaaag acgactgaga agaggtgcaa
 1201 ggaagcgggc tccaggagca agctcaccag gcctctcaga agtcccagca ggaatctcac
 1261 gactgccggg tcggcgccctc ctgcgcgagg gagcagggtc tccgattcc catgggcacc
 1321 acctgcctgc ctgtcgtgcc ttggaccagc ggcccagctt cccaggagag accaaaggct
 1381 tctgagcagg atttttattt cattacagtg tgagctgcct ggaatacatg tggtaatgaa
 1441 ataaaaaccc tgccccgaat cttccgtccc tcatcctaac tttcagttca cagagaaaag
 1501 tgacataccc aaagctctct gtcaattaca aggcttctcc tggcgtggga gacgtctaca
 1561 ggaagacac cagcgtttgg gcttctaacc accctgtctc cagctgctct gcacacatgg
 1621 acagggacct gggaaagggt ggagagatgc tgagccagc gaatcctctc cattgaagga
 1681 ttcaggaaga agaaaactca actcagtgcc attttacgaa tatatgcgtt tatatttata
 1741 cttccttgct tattatatct atacattata tattatttgt attttgacat tgtacctgt
 1801 ataacaacaa taaaacatct attttcaata tttttaaat gca

SEQ ID NO:8**Isoforma 2 del receptor alfa de la interleucina 15 [Homo sapiens] – n.º de acceso en GenBank NP_751950**

1 msvehadiwv ksyslysrer yionsgfkrk agtssltecv lnkatnvahw ttpslkciird
 61 palvhqrpap pstvttagvt qppe slspsg kepaassps nntaattaai vpgs qlmpsk
 121 spstgtteis shesshgtps qttaknwelt asashqppgv ypqghsdttv aiststvlc
 181 glsavsilac ylsrqtppl asvemeamea lpvtwgtssr dedlencshh l

SEQ ID NO:9**Receptor alfa de la interleucina 15 (IL-15) humana mejorada, variante 1 del transcrito (OPC)**

```

atggccccga ggcgggcccgc aggctgccgc accctcggtc tcccggcgct gctactgctc 60
ctgctgctcc ggcgcggggc gacgcggggc atcacgtgcc cccccccat gtcctgggag 120
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactccc gggagcggta catctgcaac 180
tcgggtttca agcggaaggc cggcacgtcc agcctgacgc agtgcgtggt gaacaaggcc 240
acgaatgtcg cccactggac gacccctcgc ctcaagtga tccgcgaccc ggccctggtt 300
caccagcggc ccgcgccacc ctccaccgta acgacggcgc gggtagcccc gcagccggag 360
agcctctccc cgctcggaag ggagcccgc gcgtcgtcgc ccagctcgaa caacacggcg 420
gccacaactg cagcgatcgt cccgggctcc cagctgatgc cgtcgaagtc gccgtccacg 480
ggaaccacgc agatcagcag tcatgagtc tcccacggca cccctcgc aacgacggcc 540
aagaactggg aactcacggc gtccgcctcc caccagccgc cgggggtgta tccgcaaggc 600
cacagcgaca ccacgggtgc gatctccacg tccacggctc tgctgtgtgg gctgagcgcg 660
gtgtcgctcc tggcgtgcta cctcaagtc aggcagactc cccgctggc cagcgttgag 720
atggaggcca tggaggctct gccggtgacg tgggggacca gcagcaggga tgaggacttg 780
gagaactgct cgcaccacct ataatga 807

```

SEQ ID NO:10

Receptor alfa de la interleucina 15 (IL-15) humana mejorada, variante 1 del transcrito (OPC)

5

```

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala
1           5           10           15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr
20           25           30
Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser
35           40           45
Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys
50           55           60
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
65           70           75           80
Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85           90           95
Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
100          105          110
Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
115          120          125
Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala
130          135          140
Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr
145          150          155          160
Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser
165          170          175
Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln
180          185          190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile
195          200          205
Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu
210          215          220
Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu
225          230          235          240
Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg
245          250          255
Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu
260          265

```


SEQ ID NO:11**Receptor alfa soluble de la interleucina 15 (IL-15) humana mejorada (IL-15sRa) (OPC)**

```

atggccccga ggcggggcgcg aggctgccc accctcggc tcccggcgct gctactgctc 60
ctgctgctcc ggcgcgcgcg gacgcggggc atcacgtgcc cccccccat gtccgtggag 120
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactccc gggagcggta catctgcaac 180
tcgggtttca agcgggaaggc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtggt gaacaaggcc 240
acgaatgtcg cccactggac gacccctcg ctcaagtga tccgcgaccc ggccctggtt 300
caccagcggc ccgcgccacc ctccaccgta acgacggcgg gggtagcccc gcagccggag 360
agcctctccc cgtcgggaaa ggagcccgcc gcgtcgtcgc ccagctcgaa caacacggcg 420
gccacaactg cagcgatcgt cccggggtcc cagctgatgc cgtcgaagtc gccgtccacg 480
ggaaccacgg agatcagcag tcatgagtcc tcccacggca cccctcgca aacgacggcc 540
aagaactggg aactcacggc gtccgcctcc caccagccgc cgggggtgta tccgcaaggc 600
cacagcgaca ccacgtaatg a 621

```

5

SEQ ID NO:12**Receptor alfa soluble de la interleucina 15 (IL-15) humana mejorada (IL-15sRa) (OPC)**

```

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

```

10

SEQ ID NO:13**Plásmido de expresión doble humano IL15Ra+IL15**

15

CCTGGCCATTGCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCA
ACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTC
ATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAAATTACGGTAAATGGCCCGCCTG
GCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACG
CCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCCACTTGGC
AGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGC
CCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTAC
GTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA
GCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGT
GGCACAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATG
GGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAT
CGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCC
TCCGCGGGCGCGCTCGAGGAATTCGCTAGCAAGAA**ATGGCCCCGAGGCGGGCGCGAGGCTG**
CCGGACCCTCGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTCCTGCTGCTCCGGCCCGGGCGACGCGGG
GCATCACGTGCCCCCCCCCATGTCCGTGGAGCACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGC
TTGTACTCCCGGGAGCGGTACATCTGCAACTCGGGTTTCAAGCGGAAGGCCGGCACGTCCAG
CCTGACGGAGTGCGTGTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCCTGGACGACCCCCCTCGCTCA
AGTGCATCCGCGACCCGGCCCTGGTTTACCAGCGGGCCGCGCCACCCTCCACCGTAACGACG
GCGGGGGTGACCCCGCAGCCGGAGAGCCTCTCCCCGTGGGAAAGGAGCCCGCGCGTCTGTC
GCCCAGCTCGAAACAACAGGCGGGCCACAACCTGCAGCGATCGTCCCGGGCTCCAGCTGATGC
CGTCGAAGTCGCCGTCCACGGGAACCACGGAGATCAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACC
CCCTCGAAACGACGGCCAAGAACTGGGAACCTACGGCGTCCGCCTCCACCAGCCGCGGGG
GGTGTATCCGCAAGGCCACAGCGACACCACGGTGGCGATCTCCACGTCCACGGTCTGCTGT
GTGGGCTGAGCGCGGTGTCGCTCCTGGCGTGCTACCTCAAGTCGAGGCAGACTCCCCGCTG
GCCAGCGTTGAGATGGAGGCCATGGAGGCTCTGCCGGTGACGTGGGGGACCAGCAGCAGGGA
TGAGGACTTGAGAACTGCTCGCACCACTATAATGAGAATTCACGCGTGGATCTGATATCG
GATCTGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCCTCCTTG
ACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCTAATAAAATGAGGAAATGCATCGCATTG
TCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATT
GGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGGTACCCAGGTGCTGAAG
AATTGACCCGGTTCTCTCTGGGCCAGAAAGAAGCAGGCACATCCCCTTCTCTGTGACACACC
CTGTCCACGCCCCCTGGTTCTTAGTTCCAGCCCCACTCATAGGACACTCATAGCTCAGGAGGG
CTCCGCCTTCAATCCCACCCGCTAAAGTACTTGGAGCGGTCTCTCCCTCCCTCATCAGCCCA
CCAAACCAAACCTAGCCTCCAAGAGTGGAAGAAATTAAGCAAGATAGGCTATTAAGTGCA
GAGGGAGAGAAAATGCCTCCAACATGTGAGGAAGTAATGAGAGAAATCATAGAATTTCTTCC
GCTTCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGCTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCA
CTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAG
CAAAAGGCCAGCAAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGG
CTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGAC
AGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGA
CCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCAA

TGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCA
CGAACCCCCCGTTTACGCCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACC
CGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGG
TATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGAC
AGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTT
GATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACG
CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTG
GAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGA
TCCTTTTAAATTAATAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCT
GACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATC
CATAGTTGCCGTGACTCGGGGGGGGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTTGCTG
ACTCATACCAGGCCCTGAATCGCCCCATCATCCAGCCAGAAAAGTGAGGGAGCCACGGTTGATG
AGAGCTTTGTTGTAGGTGGACCAGTTGGTGATTTTGAACTTTTGCTTTGCCACGGAACGGTCT
TGCCTTGTGCGGAAGATGCGTGATCTGATCCTTCAACTCAGCAAAAGTTCGATTTATTCAAC
AAAGCCGCCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAACCAATTAACCAATT
CTGATTAGAAAACTCATCGAGCATCAAAATGAACTGCAATTTATTTCATATCAGGATTATCA
ATACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCAGGCGAGTTCCA
TAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACCTA
TTAATTTCCCCCTCGTCAAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACTGAA
TCCGGTGAGAAATGGCAAAAGCTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAGCCATT
ACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAAACCGTTATTTCATTGCTGATTGCGCCTGAG
CGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGCAACCCGG
CGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATAC
CTGGAATGCTGTTTTTCCCGGGGATCGCAGTGTTGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTACGGA
TAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCATAAATTCGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCA
TCTGTAACATCATTTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTCTGGCGCATCGGG
CTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTAT
ACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCTCGAGCAAGACGTTTTCCCGT
TGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTGTTCA
TGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGGATCA
TCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAA
AATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATATAAGCTGCAAT
AAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCAATTTATGTTTTCAGGTTTCAGGGGGAGGTGTGGGA
GGTTTTTTTAAAGCAAGTAAAAACCTCTACAAATGTGGTATGGCTGATTATGATCGTCGAGGAT
CTGGATCCGTTAACCGATATCCGCGAATTCGGCGCGCCGGGCCCC**TCACGACGTGTTGATGAA**
CATCTGGACGATGTGCACGAACGACTGCAGGAACTCCTTGATGTTCTTCTCCTCCAGCTCCT
CGCACTCCTTGCAGCCCGACTCCGTGACGTTCCCGTTCGACGACAGCGAGTTGTTCCGCCAGG
ATGATCAGGTTCTCCACCGTGTGCTGGATCGACGCGTCCCCCGACTCGAGCGAGATGACTTG
GAGCTCCAGGAGGAAGCACTTCATCGCCGTGACCTTGACGACGGGTGGACGTCCGACTCCG
TGTACAGCGTCGCGTCGATGTGCATCGACTGGATGAGGTCTCGATCTTCTTCAGGTCCGAG
ATCAGGTTACCCAGTTTCGCTCCGTCTTCGGCAGCCCCGCCGAGAAGCAGCCAGGATGAA
GACGTGTATACCGGCTCCGTGAGGAAGTGCGAGTTTCAGGAGCAGGCACAGGTAGCACTGGA
TCGATATCGACCGCAGGTGCGGCTTCGAGATCCGCTTCTTGTGTCGACACTCGACAGATCCA
AACGCTCCTCCGACGTCCCCAGGCAGAATGGCGGTTCCCTAAACGAGCATTGCTTATATAGA
CCTCCCATTAGGCACGCCTACCGCCCATTTACGTCAATGGAACGCCCATTTGCGTCATTGCC
CCTCCCCATTGACGTCAATGGGGATGTACTTGGCAGCCATCGCGGGCCATTTACCGCCATTG
ACGTCAATGGGAGTACTGCCAATGTACCCTGGCGTACTTCCAATAGTAATGTACTTGCCAAG
TTACTATTAATAGATATTGATGTACTGCCAAGTGGGCCATTTACCGTCATTGACGTCAATAG
GGGGCGTGAGAACGATATGAATGGGCAATGAGCCATCCCATTTGACGTCAATGGTGGGTGGT
CCTATTGACGTCAATGGGCATTGAGCCAGGCGGGCCATTTACCGTAATTGACGTCAATGGGG
GAGGCGCCATATACGTCAATAGGACCGCCCATATGACGTCAATAGGAAAGACCATGAGGCCC
TTTCGTCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGAC

GGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGG
GTGTTGGCGGGTGTGCGGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTG
CACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGATTGGC
TATTGG

CCTGGCCATTGCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCA
 ACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTC
 ATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAAATTACGGTAAATGGCCCGCCTG
 GCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACG
 CCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGC
 AGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGC
 CCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTAC
 GTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA
 GCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGT
 GGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATG
 GCGGTAGGCGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAT
 CGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCC
 TCCGCGGGCGCGCTCGAGGAATTCGCTAGCAAGAA**ATGGCCCCGAGGCGGGCGCGAGGCTG**
CCGGACCCTCGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTCCTGCTGCTCCGGCCCGCGCGACGCGGG
GCATCACGTGCCCCGCCCCCATGTCCGTGGAGCACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGC
TTGTACTCCCCGGGAGCGGTACATCTGCAACTCGGGTTTTCAAGCGGAAGGCCGGCACGTCCAG
CCTGACGGAGTGCGTGTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCCTGGACGACCCCCCTCGCTCA
AGTGATCCGCGACCCGGCCCTGGTTTACCAGCGGGCCGCGCCACCCCTCCACCGTAACGACG
GCGGGGGTGACCCCGCAGCCGGAGAGCCTCTCCCCGTCGGGAAAGGAGCCCGCGCGTCTGTC
GCCCAGCTCGAAACAACAGGGCGGCCACAACCTGCAGCGATCGTCCCGGGCTCCAGCTGATGC
CGTCGAAGTCGCGTCCACGGGAACCACGGAGATCAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACC
CCCTCGCAAACGACGGCCAAGAACTGGGAACCTCACGGCGTCCGCCTCCACCAGCCGCGGG
GGTGTATCCGCAAGGCCACAGCGACACCACGGTGGCGATCTCCACGTCCACGGTCTGCTGT
GTGGGCTGAGCGCGGTGTCGCTCCTGGCGTGCTACCTCAAGTCGAGGCAGACTCCCCGCTG
GCCAGCGTTGAGATGGAGGCCATGGAGGCTCTGCCGGTGACGTGGGGGACCAGCAGCAGGGA
TGAGGACTTGAGAACTGCTCGCACCACTATAATGAGAATTCACGCGTGATCTGATATCG
 GATCTGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCCTTCTTG
 ACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCCTAATAAAATGAGGAAATGCATCGCATTG
 TCTGAGTAGGTGTCAATCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATT
 GGGAAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGGTACCCAGGTGCTGAAG
 AATTGACCCGGTTCTCTCCTGGGCCAGAAAGAAGCAGGCACATCCCCTTCTCTGTGACACACC
 CTGTCCACGCCCCCTGGTTCTTAGTTCCAGCCCCACTCATAGGACACTCATAGCTCAGGAGGG
 CTCCGCCTTCAATCCCACCCGCTAAAGTACTTGGAGCGGTCTCTCCCTCCCTCATCAGCCCA
 CCAAACCAAACCTAGCCTCCAAGAGTGGGAAGAAATTAAGCAAGATAGGCTATTAAGTGCA
 GAGGGAGAGAAAATGCCTCCAACATGTGAGGAAGTAATGAGAGAAATCATAGAATTTCTTCC
 GCTTCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCA
 CTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAG
 CAAAAGGCCAGCAAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGG
 CTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGAC
 AGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCTGTTCCGA
 CCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCAA
 TGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCA
 CGAACCCCCCGTTAGCCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACC
 CGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGG

TATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGAC
 AGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTT
 GATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACG
 CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTG
 GAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGA
 TCCTTTTAAATTAATAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCT
 GACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATC
 CATAGTTGCCGTGACTCGGGGGGGGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTTGCTG
 ACTCATACCAGGCCTGAATCGCCCCATCATCCAGCCAGAAAGTGAGGGAGCCACGGTTGATG
 AGAGCTTTGTTGTAGGTGGACCAGTTGGTGATTTTGAACCTTTGCTTTGCCACGGAACGGTC
 TGCGTTGTCGGGAAGATGCGTGATCTGATCCTTCAACTCAGCAAAAGTTCGATTTATTCAAC
 AAAGCCGCCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAACCAATTAACCAATT
 CTGATTAGAAAACTCATCGAGCATCAAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCA
 ATACCATATTTTGA AAAAGCCGTTTCTGTAAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCA
 TAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACCTA
 TTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGTTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACTGAA
 TCCGGTGAGAAATGGCAAAAGCTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAGCCATT
 ACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAAACCGTTATTCATTTCGTGATTGCGCCTGAG
 CGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGCAACCGG
 CGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATAC
 CTGGAATGCTGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGATTAACATGCATCATCAGGAGTACGGA
 TAAAATGCTTGATGGTTCGGAAGAGGCATAAATTCGCTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCA
 TCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTCTGGCGCATCGGG
 CTTCCCATACAATCGATAGATTGTGCGACCTGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCATTAT
 ACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGCCTCGAGCAAGACGTTTCCCGT
 TGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTGTTCA
 TGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGGATCA
 TCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAA
 AATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAAT
 AAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGGTGTGGGA
 GTTTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTATGGCTGATTATGATCTGTCGAGGAT
 CTGGATCTGGATCCGTTAACCGATATCCGCGAATTCCGGCGCGCCGGGCCCTC**ACGACGCTGTT**
GATGAACATCTGGACGATGTGCACGAACGACTGCAGGAACCTCCTTGATGTTCTTCTCCTCCA
GCTCCTCGCACTCCTTGACAGCCGACTCCGTGACGTTCCCGTTTCGACGACAGCGAGTTGTTT
GCCAGGATGATCAGGTTCTCCACCGTGTGCTGGATCGACGCGTCCCCGACTCGAGCGAGAT
GACTTGGAGCTCCAGGAGGAAGCACTTCATCGCCGTGACCTTGACGACGGGTGGACGTCCG
ACTCCGTGTACAGCGTCGCGTCGATGTGCATCGACTGGATGAGGTCTCGATCTTCTTCAGG
TCCGAGATCACGTTACCCAGTTTCTGGCTCCTCTTCTGAATCGGGCATGGATTTCTTGCT
GGCGGAAACGAAGACTGCTCCACACAGCAGCAGCACACAGCAGAGCCCTCTCTTCATTGCAT
CCATTTCTTGTGACAGATCCAAACGCTCCTCCGACGTCCCCAGGCAGAATGGCGGTTCCCT
 AAACGAGCATTGCTTATATAGACCTCCCATTAGGCACGCCTACCGCCATTTACGTCAATGG
 AACGCCCATTTGCGTCATTGCCCTCCCATTTGACGTCAATGGGGATGTACTTGGCAGCCAT
 CGCGGGCCATTTACCGCCATTGACGTCAATGGGAGTACTGCCAATGTACCCTGGCGTACTTC
 CAATAGTAATGTACTTGCCAAGTTACTATTAATAGATATTGATGTACTGCCAAGTGGGCCAT
 TTACCGTCATTGACGTCAATAGGGGGCGTGAGAACGGATATGAATGGGCAATGAGCCATCCC
 ATTGACGTCAATGGTGGGTGGTCTTATTGACGTCAATGGGCATTGAGCCAGGCGGGCCATTT
 ACCGTAATTGACGTCAATGGGGGAGGCGCCATATACGTCAATAGGACCGCCCATATGACGTC
 AATAGGAAAGACCATGAGGCCCTTTCGTCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCT
 GACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAA
 GCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTGGCGGGTGTGGGGCTGGCTTAACATATGCGGCATC
 AGAGCAGATTGTAAGTGCAGCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGA
 GAAATACCGCATCAGATTGGCTATTGG

SEQ ID NO:15

Plásmido de expresión doble IL15sRa(soluble)+IL15tPA6

CCTGGCCATTGCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCA
ACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTC
ATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTG
GCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACG
CCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGC
AGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGC
CCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTAC
GTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGATA
GCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATGACGTCAATGGGAGTTTGT
GGCACAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAATG
GGCGGTAGGCGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAT
CGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCC
TCCGCGGGCGCGCTCGAGGAATTCGCTAGCAAGAAATGGCCCCGAGGCGGGCGGAGGCTG
CCGGACCCTCGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTCCTGCTGCTCCGGCCGCCGGCGACGCGGG
GCATCACGTGCCCGCCCCCATGTCCGTGGAGCACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGC
TTGTACTCCCGGGAGCGGTACATCTGCAACTCGGGTTTCAAGCGGAAGGCCGGCACGTCCAG
CCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGACGACCCCTCGCTCA
AGTGCATCCGCGACCCGGCCCTGGTTCACCAGCGGCCCGCGCCACCCTCCACCGTAACGACG
GCGGGGGTGACCCCGCAGCCGGAGAGCCTCTCCCGTCCGGGAAAGGAGCCCGCGCGTCTGTC
GCCAGCTCGAACAACACGGCGGCCACAACCTGCAGCGATCGTCCCGGGTCTCCAGCTGATGC
CGTCGAAGTCGCGTCCACGGGAACCACGGAGATCAGCAGTCATGAGTCCCTCCACGGCACC
CCCTCGCAAACGACGGCCAAGAACTGGGAACCTACGGCGTCCGCTCCACAGCCGCCGGG
GGTGTATCCGCAAGGCCACAGCGACACCACGTAATGAGAATTTCGCGGATATCGGTTAACGGA
TCCAGATCTGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTC
CTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTTCTTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGC
ATTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAG
GATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGGTACCCAGGTGCT
GAAGAATTGACCCGGTTCTCTCTGGGCCAGAAAGAAGCAGGCACATCCCCTTCTCTGTGACA
CACCCTGTCCACGCCCTGGTCTTAGTTCCAGCCCCACTCATAGGACACTCATAGCTCAGG
AGGGCTCCGCCTTCAATCCCACCCGCTAAAGTACTTGGAGCGGTCTCTCCCTCCCTCATAG
CCCACCAAACCAACCTAGCCTCCAAGAGTGGGAAGAAATTAAGCAAGATAGGCTATTAAG
TGCAGAGGGAGAGAAAATGCCTCCAACATGTGAGGAAGTAATGAGAGAAATCATAGAATTTT
TTCCGCTTCTCTGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTTCCGCTGCGCCGAGCGGTATCAG
CTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAATG
TGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCTTGCTGGCGTTTTTCCA
TAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACC
CGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCTGTT
CCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTC
TCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTG
TGCACGAACCCCCCGTTACAGCCGACCGCTGCGCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCC
AACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGC
GAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAA
GGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGC
TCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGAT
TACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTC
AGTGAACGAAAACTACGTTAAGGGATTTTGGTTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACC
TAGATCCTTTTAAATTAATAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAACTTG
GTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTT

CATCCATAGTTGCCTGACTCGGGGGGGGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTT
 GCTGACTCATACAGGCCTGAATCGCCCCATCATCCAGCCAGAAAGTGAGGGAGCCACGGTT
 GATGAGAGCTTTGTTGTAGGTGGACCAGTTGGTGATTTTGAACCTTTGCTTTGCCACGGAAC
 GGTCTGCGTTGTGCGGAAGATGCGTGATCTGATCCTTCAACTCAGCAAAAAGTTCGATTTATT
 CAACAAAGCCGCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAACCAATTAACC
 AATTCTGATTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATT
 ATCAATACCATATTTTGAAGGCGCTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCAGGGCAGT
 TCCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAA
 CCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGAC
 TGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGCTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCACAGGGCCAGC
 CATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAACCGTTATTTCATTCGTGATTGCGCC
 TGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGCAA
 CCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTA
 ATACCTGGAATGCTGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTA
 CGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCATAAATCCGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCAT
 CTCATCTGTAACATCATTTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTCTGGCGCAT
 CGGGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTGCGACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCCAT
 TTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCTCGAGCAAGACGTTTC
 CCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTG
 TTCATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGG
 ATCATCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACACTAGAATGCAGTGA
 AAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTG
 CAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGGTGT
 GGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTATGGCTGATTATGATCGTCGA
 GGATCTGGATCTGGATCCGTTAACCGATATCCGCGAATTCGGCGCGCCGGGCCCT**CACGACG**
TGTTGATGAACATCTGGACGATGTGCACGAACGACTGCAGGAACTCCTTGATGTTCTTCTCC
TCCAGCTCCTCGCACTCCTTGACGCCCCGACTCCGTGACGTTCCCGTTTCGACGACAGCGAGTT
GTTCCGCCAGGATGATCAGGTTCTCCACCGTGTGCTGGATCGACGCGTCCCCGACTCGAGCG
AGATGACTTGGAGCTCCAGGAGGAAGCACTTCATCGCCGTGACCTTGACGACGCGGTGGACG
TCCGACTCCGTGTACAGCGTCGCGTCGATGTGCATCGACTGGATGAGGTCCTCGATCTTCTT
CAGGTCGAGATCAGTTACCCAGTTTCTGGCTCCTCTTCTGAATCGGGCATGGATTTCTT
GGCTGGGCGAAACGAAGACTGCTCCACACAGCAGCAGCACAGCAGGCCCTCTCTTCCATT
GCATCCATTTCTTGTGACAGATCCAAACGCTCCTCCGACGTCCCCAGGCAGAATGGCGGTT
 CCTAAACGAGCATTGCTTATATAGACCTCCCATTAGGCACGCCTACCGCCATTTACGTCA
 ATGGAACGCCCATTGCGTCATTGCCCTCCCATTTGACGTCAATGGGGATGTACTTGCGAG
 CCATCGCGGGCCATTTACCGCCATTGACGTCAATGGGAGTACTGCCAATGTACCCTGGCGTA
 CTTCCAATAGTAATGTACTTGCCAAGTTACTATTAATAGATATTGATGTACTGCCAAGTGGG
 CCATTTACCGTCATTGACGTCAATAGGGGGCGTGAGAACGGATATGAATGGGCAATGAGCCA
 TCCCATTGACGTCAATGGTGGGTGGTCCTATTGACGTCAATGGGCATTGAGCCAGGCGGGCC
 ATTTACCGTAATTGACGTCAATGGGGGAGGCGCCATATACGTCAATAGGACCGCCCATATGA
 CGTCAATAGGAAAGACCATGAGGCCCTTTCTGCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAC
 CTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAG
 ACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTGGCGGGTGTGCGGGCTGGCTTAACATGCGG
 CATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTA
 AGGAGAAAATACCGCATCAGATTGGCTATTGG

SEQ ID NO:16-

DPhuIL15sRa205FC+huGMIL15 La región en letra mayúscula en negrita es la región de codificación para la fusión receptor alfa de IL-15 205FC

cctggccattgcatacgttgtatccatatcataatatgtacatttatattggtcatgtcca
acattaccgccatgttgacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtc
attagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggccccgctg
gctgaccgccccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgaogtatgttcccatagtaacg
ccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtagtttacggtaaactgcccacttggc
agtacatcaagtgtatcatatgccaaagtaacgccccctattgacgtcaatgatggtaaatggc
ccgcttggcattatgccagttacatgacctatgggactttccctacttggcagttacatctac
gtatttagtcatcgctattaccatgggtgatgcggttttggcagttacatcaatgggctggata
gcggtttgactcacggggattttccaaagtctccacccccattgacgtcaatgggagtttgtttt
ggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtacaactccgccccattgacgcaaatg
ggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatatataagcagagctcggttagtgaacgctcagat
cgcttggagacgccatccacgctgttttgacctccatagaagacacggggacggatccagcc
tcgcggggcgcgctcgacgctagcaagaa**ATGGCCCCGAGGCGGGCGCGAGGCTGCCGGAC**
CCTCGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTCCTGCTGCTCCGGCCGCCGGCGACCGGGGCATCA
CGTGCCCGCCCCCATGTCCGTGGAGCACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTAC
TCCCGGGAGCGGTACATCTGCAACTCGGGTTTCAAGCGGAAGGCCCGGCACGTCCAGCCTGAC
GGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTGCGCCACTGGACGACCCCCCTCGCTCAAGTGCA
TCCGCGACCCGGCCCTGGTTTACCAGCGGCCCGCGCCACCCTCCACCCTAACGACGGCGGGG
GTGACCCCGCAGCCGGAGAGCCTCTCCCCGTGCGGAAAGGAGCCCGCCGCGTCTGCGCCAG
CTCGAACAACACGGCGGCCACAACCTGCAGCGATCGTCCCGGGCTCCCAGCTGATGCCGTCTGA
AGTCGCCCTCCACGGGAACACGGAGATCAGCAGTCATGAGTCCTCCACGGCACCCCTCG
CAAACGACGGCCAAGAACTGGGAACTCACGGCGTCCGCCTCCACAGCCCGCGGGGGTGT
TCCGCAAGGCCACAGCGACACCACGCCGAAGTCCTGCGACAAGACGCACAGTGCCTTCCCT
GCCCCGCGCCCCGAGTGTGTTGGGAGGTCCGAGCGTGTCTCTTCCCGCCCAAGCCGAAGGAC
ACGCTCATGATCTCGCGGACTCCCGAGGTACCTGCGTCTGGTAGACGTACGCCACGAGGA
CCCGGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTTGACGGCGTAGAGGTGCACAACCGGAAGACGAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTACAACCTCGACGTACCGAGTCGTGTGCGGTCTTGACCGTCTGACCCAG
GACTGGCTCAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTGCAACAAGGCGCTCCCTGCCCCGAT
CGAGAAGACGATCTCGAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTCTACACGCTCCCGC
CATCGCGGGACGAGCTGACGAAGAACCAGGTTTCCCTGACGTGCCTCGTCAAGGGCTTCTAC
CCATCGGACATCGCGGTGGAGTGGGAGAGCAACGGGCAGCCGGAGAACAACATCAAGACCAC
GCTCCGGTGTCTGACTCGGACGGGTCTGTTCTTCTTACTCGAAGCTGACCGTTCGACAAGA
GCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCGGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCAC
TACACCCAGAAGTCGCTCAGTCTGAGCCCGGGGAAGTAATGAgggatccgaattcgcggtat
cggttaacggatccagatctgtgtgcttctagttgccagccatctgttgtttgccccctcc
cccggtgcttcccttgacctggaaggtgccactcccactgtccttttccataaaaatgagga
aattgcatcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctggggggtgggggtggggcaggaca
gcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatgggt
accaggtgctgaagaattgacccggttccctcctggggccagaaagaagcaggcacatccct
tctctgtgacacacccctgtccacgcccctggttcttagttccagccccactcataggacact
catagctcaggagggtccgccttcaatcccacccgctaaagtaacttggagcggtctctccc
tcctcatcagcccacaaaccaaacctagcctccaagagtgggaagaaattaaagcaagat
aggctattaagtgcagaggggagagaaaatgcctccaacatgtgaggaagtaatgagagaaat
catagaatttcttccgcttccctcgctcactgactcgctgcgctcggtcggtcggtgcggcg
agcggtatcagctcactcaaaggcggtataacggttatccacagaatcaggggataacgcag
gaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcttgcgtg
gcgtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagag
gtggcgaaacccgacaggactataaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgctgc
gctctcctgttccgacctgcccgttacccgatacctgtccgcttctcccttcgggaagc
gtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcggtgtaggtcggtcgctccaa
gctgggctgtgtgcacgaaccccccggttcagcccgacccgtgcgcttctccggttaactatc
gtcttgagttccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacagg

attagcagagcgaggtatgttaggcggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacgg
ctacactagaagaacagtatatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaa
gagttggtagctcttgatccggcaaaacaaaccaccgctggtagcgggtgggttttttggttgc
aagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggg
gtctgacgctcagtggaacgaaaact

cacgtaagggattttgggtcatgagattatcaaaaaaggatcttcacctagatccttttaaat
taaaaaatgaagtttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaaacttggctctgacagttacca
atgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcggtcatccatagttgcct
gactcggggggggggggcgctgaggtctgcctcgtgaagaagggtgtgctgactcataccag
gcctgaatcgccccatcatccagccagaaagtgagggagccacggttgatgagagctttgtt
gtaggtggaccagttgggtgattttgaacttttgctttgccacggaacggtctgcggttgctgg
gaagatgcgtgatctgatccttcaactcagcaaaaagttcgatttattcaacaaagccgctg
ccggtcaagtcagcgtaagtgtctgcccagtggtacaaccaattaaccaattctgattagaaa
aactcatcgagcatcaaatgaaaactgcaatttattcatatcaggattatcaataccatattt
ttgaaaaagcggtttctgtaagtgaaggagaaaaactcaccgaggcagttccataggtggcaa
gatcctgggtatcgggtctgogattccgactcgtccaacatcaatacaacctattaatttcccc
tcgtcaaaaaataagggttatcaagtgagaaatcaccatgagtgacgactgaatccgggtgagaa
tggaacaaagcttatgcatttctttccagacttggtcaacaggccagccattacgctcgtcat
caaaatcactcgcacatcaaccaaaccggttattcattcgtgattgcgctgagcgcagacgaaat
acgcgatcgtctgttaaaaggacaattacaaacaggaatcgaaatgcaaccggcgaggaacac
tgccagcgcacatcaacaatatatttcacctgaatcaggatattcttctaataacctggatgctg
ttttcccggggatcgcagtggtgagtaacctgcatcatcaggagtagcgataaaatgcttg
atggctcggaagaggcataaaattccgctcagccagtttagtctgaccatctcatctgtaacatc
attggcaacgctacctttgccatggttcagaaacaactctggcgcatcgggcttcccatata
atcgatgattgtgcacctgattgcccagacattatcgcgagcccatttatacccatataaaa
tcagcatccatgttggaatttaatcgcgggcctcgagcaagacggtttcccggtgaaatgggt
cataaacaccccttgattactgtttatgtaagcagacagttttattgttcatgatgatata
ttttatcttgtgcaatgtaacatcagagattttgagacacaacgtggatcatccagacatga
taagatacattgatgagtttggaacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaatgctttatt
tgtgaaatttgatgctattgctttatttgtaaccattataagctgcaataaacaagttaa
caacaacaattgcattcattttatgtttcaggttcagggggaggtgtgggaggttttttaa
gcaagtaaaacctctacaaatgtggtatggctgattatgatcgtcgaggatctggatccgtt
aaccgatataccggaattcggcgcgccggggcccTCACGACGTGTTGATGAACATCTGGACGA
TGTGCACGAACGACTGCAGGAACCTCTTGATGTTCTTCTCCTCCAGCTCCTCGCACTCCTTG
CAGCCCGACTCCGTGACGTTCCCGTTTCGACGACAGCGAGTTGTTTCGCCAGGATGATCAGGTT
CTCCACCGTGTCTGATGACGCGTCCCCGACTCGAGCGAGATGACTTGGAGCTCCAGGA
GGAAGCACTTCATCGCCGTGACCTTGCACGACGGGTGGACGTCCGACTCCGTGTACAGCGTC
GCGTCGATGTGCATCGACTGGATGAGGTCTTCGATCTTCTTCAGGTCCGAGATCACGTTTAC
CCAGTTCGAGATGCTGCAGGCCACCGTCCCCAGGAGTAGCAGGCTCTGGAGCCACATttctt
gtcgacagatocaaacgctcctccgacgtccccaggcagaatggcggtttccctaaacgagca
ttgcttatatagacctccattagggcacgcctaccgcccatttacgtcaatggaacgcccac
ttgcgtcattgccccctcccatgacgtcaatggggatgtacttggcagccatcgcgggcca
tttaccgcccattgacgtcaatgggagtagtactgccaatgtaccctggcgtacttccaatagtaa
tgtacttgccaagttactattaatagatatgtgactgccaagtgggcccatttaccgtca
ttgacgtcaatagggggcgtagaacggatatgaatgggcaatgagccatcccattgacgtc
aatgggtgggtggctcattgacgtcaatgggcattgagccaggcgggccatttaccgtaatt
gacgtcaatgggggagggcgccatatacgtcaataggaccgcccataatgacgtcaataggtaa
gaccatgaggccctttcgtctcgcgctttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgc
agctcccggagacgggtcacagcttgctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtag
ggcgcgtagcgggtgttggcggggtgtcgggggtggcttaactatgcggcatcagagcagat

tgtactgagagtgaccatatgcggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaatacc
gcatcagattggctattgg

5 **SEQ ID NO:17-**
hulL15sRa205-Fe-La región subrayada es una secuencia de IL15sRa

M	A	P	R	R	A	R	G	C	R	T	L	G	L	P	A	L	L	L	L	L
L	L	R	P	P	A	T	R	G	I	T	C	P	P	P	M	S	V	E	H	A
D	I	W	V	K	S	Y	S	L	Y	S	R	E	R	Y	I	C	N	S	G	F
K	R	K	A	G	T	S	S	L	T	E	C	V	L	N	K	A	T	N	V	A
H	W	T	T	P	S	L	K	C	I	R	D	P	A	L	V	H	Q	R	P	A
P	P	S	T	V	T	T	A	G	V	T	P	Q	P	E	S	L	S	P	S	G
K	E	P	A	A	S	S	P	S	S	N	N	T	A	A	T	T	A	A	I	V
P	G	S	Q	L	M	P	S	K	S	P	S	T	G	T	T	E	I	S	S	H
E	S	S	H	G	T	P	S	Q	T	T	A	K	N	W	E	L	T	A	S	A
S	H	Q	P	P	G	V	Y	P	Q	G	H	S	D	T	T	P	K	S	C	D
K	T	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	L	G	G	P	S	V	F	L
F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P	E	V	T	C	V	V
V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	K	F	N	W	Y	V	D	G	V	E	V
H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	Q	Y	N	S	T	Y	R	V	V	S	V
L	T	V	L	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K	C	K	V	S	N	K
A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	Q	P	R	E	P	Q
V	Y	T	L	P	P	S	R	D	E	L	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L
V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N
N	Y	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	S	F	F	L	Y	S	K	L
T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F	S	C	S	V	M	H	E	A
L	H	N	H	Y	T	Q	K	S	L	S	L	S	P	G	K					

SEQ ID NO:18- huGMCSF-IL15

M	W	L	Q	S	L	L	L	L	G	T	V	A	C	S	I	S	N	W	V	N
V	I	S	D	L	K	K	I	E	D	L	I	Q	S	M	H	I	D	A	T	L
Y	T	E	S	D	V	H	P	S	C	K	V	T	A	M	K	C	F	L	L	E
L	Q	V	I	S	L	E	S	G	D	A	S	I	H	D	T	V	E	N	L	I
I	L	A	N	N	S	L	S	S	N	G	N	V	T	E	S	G	C	K	E	C
E	E	L	E	E	K	N	I	K	E	F	L	Q	S	F	V	H	I	V	Q	M
F	I	N	T	S																

5

SEQ ID NO:19-- DPhuL15sRa205FC+huGMIL15 La región en letra mayúscula en negrita es la región de codificación para la fusión receptor alfa de IL-15 200FC

cctggccattgcatacgttgtatccatatacataatatgtacattttatatattggctcatgtcca
acattaccgccaatggtgacattgattattgactagttattaatagtaatacaattacgggggc
attagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataacttaacggtaaatggcccgctg
gctgaccgccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtatggtcccatagtaacg
ccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtattttacggtaaaactgccacttggc
agtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgatggtaaatggc
ccgcttggcattatgccagttacatgaccttatgggactttcctacttggcagttacatctac
gtatttagtcatcgctattaccatgggtgatgcggtttttggcagttacatcaatgggcgtggata

10

gcggtttgactcacggggattttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgtttt
ggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaattg
ggcggttaggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagat
cgcctggagacgccaatccacgctgttttgacctccatagaagacaccgggaccgatccagcc
tccgcgggcgcgcgtcgacgctagcaagaa**ATGGCCCCGAGGCGGGCGCGAGGCTGCCGGAC**
CCTCGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTCCTGCTGCTCCGGCCGCCGGCGACGCGGGGCATCA
CGTGCCCGCCCCCATGTCCGTGGAGCACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTAC
TCCCGGGAGCGGTACATCTGCAACTCGGGTTTCAAGCGGAAGGCCGGCACGTCCAGCCTGAC
GGAGTGCGTGTGAACAAGGCCACGAATGTGCGCCACTGGACGACCCCCCTCGCTCAAGTGCA
TCCGCGACCCGGCCCTGGTTTACCAGCGGCCCGCGCCACCCTCCACCGTAACGACGGCGGGG
GTGACCCCGCAGCCGGAGAGCCTCTCCCCGTGCGGAAAGGAGCCCGCGCGTCTGCGCCAG
CTCGAACAAACAGGCGGCCACAACATGCAGCGATCGTCCCGGGCTCCAGCTGATGCCCTCGA
AGTCGCCCCCTCACGGGAACCCACGGAGATCAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACCCCCCTCG
CAAACGACGGCCAAGAACTGGGAACTCACGGCGTCCGCTCCACCAGCCGCCGGGGGTGTA
TCCGCAAGGCCCGAAGTCTTGCACAAGACGCACACGTGCCCTCCCTGCCCGGCGCCGAGC
TGCTGGGAGGTCCGAGCGTGTTCCTCTTCCCGCCCAAGCCGAAGGACACGCTCATGATCTCG
CGGACTCCCGAGGTACCTGCGTCTGTTAGACGTACGCCACGAGGACCCGGAGGTCAAGTT
CAACTGGTACGTTGACGGCGTAGAGGTGCACAACGCGAAGACGAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACAACTCGACGTACCGAGTCTGTGCGTCTGACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTCAACGGG
AAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTGAACAAGGCGTCCCTGCCCGATCGAGAAGACGATCTC
GAAGGCGAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTCTACACGCTCCCGCCATCGCGGGACGAGC
TGACGAAGAACCAGGTTTCCCTGACGTGCCTCGTCAAGGGCTTCTACCCATCGGACATCGCG
GTGGAGTGGGAGAGCAACGGGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCGGTGTCTGA
CTCGGACGGGTCTTCTCTCTACTCGAAGCTGACCGTGCACAAGAGCCGGTGGCAGCAGG
GCAACGTGTTCTCTGCTCGGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTACACCCAGAAGTCG
CTCAGTCTGAGCCCCGGGAAGTAATGAggatccgaattcgcgatatcggttaacggatcca
gatctgctgtgccttctagttgccagccatctgttgtttgccccctcccccgctgccttccctg
accctggaaggtgccactcccactgtccttttccataaaaaatgaggaaattgcatcgcatg
tctgagtaggtgtcattctattcttggggggtggggtggggcaggacagcaagggggaggatt
gggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatgggtaccaggtgctgaag
aattgaccggttccctccctgggcccagaaagaagcaggcacatcccttctctgtgacacacc
ctgtccacgccccgtgttcttagttccagccccactcataggacactcatagctcaggaggg
ctccgccttcaatcccacccgctaaagtaacttggagcggctctctccctccctcatcagccca
ccaaaccaaaccctagcctccaagagtgggaagaaattaaagcaagataggctattaagtgc
gagggagagaaaaatgcctccaacatgtgaggaagtaatgagagaaatcatagaatttcttcc
gcttccctcgctcactgactcgctgcgctcggtcggttcggctgcggcgagcgggtatcagctca
ctcaaaggcggtaataacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgag
caaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcttgcctggcggtttttccatagg
ctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgac
aggactataaaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgctgcgctctcctgttccga
ccctgcgcttacccgatacctgtccgccttttcccttcgggaagcgtggcgcttttctcat
agctcacgctgtaggtatctcagttcggtgtaggtcggttcgctccaagctgggctgtgtgca
cgaaccccccttcagcccgacgctgcgcttcccggttaactatcgctcttgagctccaacc
cggttaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgagg
tatgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaagaac
agtatttgggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctctt
gatccggcaaaacaaaccacgctggtgagcgggtgttttttggtttgcaagcagagattacg
cgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcccttggatcttttctacggggtctgacgctcagtg
gaacgaaaaactcacgttaagggttttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctaga
tccttttaaatataaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggctct
gacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcac
catagttgcctgactcggggggggggggcgctgaggtctgcctcgtgaagaaggtgttgctg

actcataccaggcctgaatcgccccatcatccagccagaaagtgagggagccacgggttgatg
 agagctttgttgtaggtggaccagttggtgattttgaacttttgctttgccacggaacggtc
 tgcgttgctcggaagatgctgtagctgatccctcaactcagcaaaagtgcattttattcaac
 aaagccgcccgtcccgtcaagtcagcgtaatgctctgccagtggttacaaccaattaaccaatt
 ctgattagaaaaactcatcgagcatcaaatgaaactgcaattttattcatatcaggattatca
 ataccatatattttgaaaaagccgtttctgtaatgaaggagaaaaactcaccgaggcagttcca
 taggatggcaagatcctggtatcgggtctgcgattccgactcgtccaacatcaatacaaccta
 ttaattttcccctcgtcaaaaataagggttatcaagtgagaaatcaccatgagtgacgactgaa
 tccggtgagaatggcaaaagcttatgcattttctttccagacttggttcaacaggccagccatt
 acgctcgtcatcaaaaatcactcgcacatcaacaaaccgttattcattcgtgattgcgccctgag
 cgagacgaaatacgcgatcgtggttaaaaggacaattacaaacaggaatcgaatgcaaccgg
 cgcaggaacactgccagcgcacatcaacaataattttcacctgaatcaggatattcttctaatac
 ctggaatgctggtttcccggggatcgcagtggtgagtaaccatgcacatcaggagtagcga
 taaaatgcttgatggtcggaagaggcataaattccgtcagccagtttagtctgaccatctca
 tctgtaacatcattggcaacgctacctttgccatggttcagaaacaactctggcgcacatcggg
 cttcccatacaatcgatagattgtcgcacctgattgcccagacattatcgcgagccatttat
 acccatataaatcagcatccatggttgaatttaatcgcggcctcgagcaagacgtttcccgt
 tgaatatggctcataaacaccccttgattactgtttatgtaagcagacagttttattgttca
 tgatgatataatttttatcttgtgcaatgtaacatcagagatttttgagacacaacgtggatca
 tccagacatgataagatacattgatgagtttggaacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaa
 aatgctttattttgtgaaattttgtgatgctattgctttattttgtaaccattataagctgcaat
 aaacaagttaacaacaacaattgcattcattttatgtttcagggttcagggggaggtgtggga
 ggttttttaaagcaagtaaaacctctacaaatgtggtatggctgattatgatcgtcgaggat
 ctggatccgttaaccgatataccgcgaattcggcgcgccggggcccTCACGACGTGTTGATGAA
 CATCTGGACGATGTGCACGAACGACTGCAGGAACCTCCTTGATGTTCTTCTCCTCCAGCTCCT
 CGACTCCTTGACGCCGACTCCGTGACGTTCCCGTTCGACGACAGCGAGTTGTTCCGCCAGG
 ATGATCAGGTTCTCCACCGTGTCTGGATCGACGCGTCCCCGACTCGAGCGAGATGACTTG
 GAGCTCCAGGAGGAAGCACTTCATCGCCGTGACCTTGACGACGCGGTGGACGTCGACTCCG
 TGTACAGCGTCGCGTCGATGTGCATCGACTGGATGAGGTCCTCGATCTTCTTCAGGTCCGAG
 ATCAGGTTACCCAGTTCGAGATGCTGCAGGCCACCGTCCCCAGGAGTAGCAGGCTCTGGAG
 CCACATttcttgtcgacagatccaaacgctcctccgacgtccccaggcagaatggcggttcc
 ctaaacgagcattgcttatatagacctccattaggcacgcctaccgcccatttacgtcaat
 ggaacgcccatttgctcattgccccctccccattgacgtcaatggggatgtacttggcagcc
 atcgcgggccatttaccgcccattgacgtcaatgggagtagtactgccaatgtaccctggcgtagt
 tccaataglaalglacttgccaagttactallaalagatatlgatgtactgccaagtgggccc
 atttaccgtcattgacgtcaatagggggcggtgagaacggatatgaatgggcaatgagccatc
 ccattgacgtcaatgggtgggtgggtcctattgacgtcaatgggcattgagccaggcgggccat
 ttaccgtaattgacgtcaatgggggaggcgccatatacgtcaataggaccgcccattatgacg
 tcaataggtaagaccatgaggccctttcgtctcgcgcgttttcggtgatgacggtgaaaacct
 ctgacacatgcagctcccggagacgggtcacagcttgtctgtaagcggatgccgggagcagac
 aagcccgtcagggcgcgctcagcgggtgttgcggggtgtcggggctggcttaactatgcggca
 tcagagcagattgtactgagagtgaccatatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaag
 gagaaaataccgcacatcagattggctattgg

SEQ ID NO:20--huIL15sRa200-Fc

M	A	P	R	R	A	R	G	C	R	T	L	G	L	P	A	L	L	L	L	L
L	L	R	P	P	A	T	R	G	I	T	C	P	P	P	M	S	V	E	H	A
D	I	W	V	K	S	Y	S	L	Y	S	R	E	R	Y	I	C	N	S	G	F
K	R	K	A	G	T	S	S	L	T	E	C	V	L	N	K	A	T	N	V	A
H	W	T	T	P	S	L	K	C	I	R	D	P	A	L	V	H	Q	R	P	A

P	P	S	T	V	T	T	A	G	V	T	P	Q	P	E	S	L	S	P	S	G
K	E	P	A	A	S	S	P	S	S	N	N	T	A	A	T	T	A	A	I	V
P	G	S	Q	L	M	P	S	K	S	P	S	T	G	T	T	E	I	S	S	H
E	S	S	H	G	T	P	S	Q	T	T	A	K	N	W	E	L	T	A	S	A
S	H	Q	P	P	G	V	Y	P	Q	G	P	K	S	C	D	K	T	H	T	C
P	P	C	P	A	P	E	L	L	G	G	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P
K	D	T	L	M	I	S	R	T	P	E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H
E	D	P	E	V	K	F	N	W	Y	V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T
K	P	R	E	E	Q	Y	N	S	T	Y	R	V	V	S	V	L	T	V	L	H
Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K	C	K	V	S	N	K	A	L	P	A	P
I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P
P	S	R	D	E	L	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y
P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T
P	P	V	L	D	S	D	G	S	F	F	L	Y	S	K	L	T	V	D	K	S
R	W	Q	Q	G	N	V	F	S	C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	H	Y
T	Q	K	S	L	S	L	S	P	G	K										

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Pavlakis, George N.
Felber, Barbara K.
Valentin, Antonio
Bergamaschi, Cristina
The Government of the United States of America as represented by The Secretary of the Department of Health
10 and Human Services

<120> Uso de IL-15 para aumentar la salida del timo y para tratar la linfopenia

<130> 015280-581100PC
15
<140> WO Aún no asignado
<141> Aún no asignado

<150> US 61/234.152
20 <151> 14-08-2009

<150> US 61/234.155
<151> 14-08-2009

25 <160> 20

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1
30 <211> 489
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
35 <223> Interleucina-15 de tipo silvestre humana (IL-15)

<400> 1

atgagaattt	cgaaaccaca	tttgagaagt	atttccatcc	agtgcactt	gtgtttactt	60
ctaaccagtc	attttctaac	tgaagctggc	attcatgtct	tcattttggg	ctgtttcagt	120
gcagggtctc	ctaaaacaga	agccaactgg	gtgaatgtaa	taagtgattt	gaaaaaaatt	180
gaagatctta	ttcaatctat	gcatattgat	gctactttat	atacggaag	tgatgttcac	240
cccagttgca	aagtaacagc	aatgaagtgc	tttctcttgg	agttacaagt	tatttcactt	300
gagtctggag	atgcaagtat	tcatgatata	gtagaaaatc	tgatcatcct	agcaacaac	360
agtttgtctt	ctaattggaa	tgtaacagaa	tctggatgca	aagaatgtga	ggaactggag	420
gaaaaaata	ttaaagaatt	tttgcagagt	tttgtacata	ttgtccaaat	gttcatcaac	480
acttcttga						489

<210> 2
 <211> 162
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <223> Interleucina-15 de tipo silvestre humana (IL-15)

<400> 2

```

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

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 65      70      75      80
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 85      90      95
Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
100      105      110
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
115      120      125
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
130      135      140
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
145      150      155      160
Thr Ser
    
```

<210> 3
 <211> 489
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Interleucina-15 humana sintética mejorada (IL-15) (opt1)

<400> 3

```

atgccgatct cgaagccgca cctgcggtcg atatcgatcc agtgctacct gtgcctgctc 60
ctgaactcgc acttcctcac ggaggccggt atacacgtct tcatcctggg ctgcttctcg 120
gcggggctgc cgaagacgga ggcgaactgg gtgaacgtga tctcggacct gaagaagatc 180
gaggacctca tccagtcgat gcacatcgac gcgacgctgt acacggagtc ggacgtccac 240
ccgtcgtgca aggtcacggc gatgaagtgc ttcctcctgg agtccaagt catctcgctc 300
gagtcggggg acgcgtcgat ccacgacacg gtggagaacc tgatcatcct ggcgaaacaac 360
tcgctgtcgt cgaacgggaa cgtcacggag tcgggctgca aggagtgcga ggagctggag 420
gagaagaaca tcaaggagtt cctgcagtcg ttcgtgcaca tcgtccagat gttcatcaac 480
acgtcgtga                                     489
    
```

<210> 4
 <211> 489
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Interleucina-15 humana sintética mejorada (IL-15) (opt2)

<400> 4

```

atgaggatca gcaagcccca cctgaggagc atcagcatcc agtgctacct gtgectgctg 60
ctgaacagcc acttcctgac cgaggccggg atacacgtgt tcatcctggg ctgctttagc 120
gccggactgc ccaagaccga ggccaattgg gtgaacgtga tcagcgacct gaagaagatc 180
gaggacctca tccagagcat gcacatcgac gccaccctgt acaccgagag cgatgtgcac 240
cccagctgta aggtgaccgc catgaagtgc tttctgctgg agctgcaagt gatcagcctg 300
gagagcggcg acgccagcat ccacgacacc gtggagaacc tgatcatcct ggccaacaac 360
agcctgagca gcaacggcaa tgtgaccgag agcggctgta aggagtgtga ggagctggag 420
gagaagaaca tcaaggagtt tctgcagagc ttctgtcaca tctgtcagat gttcatcaac 480
accagctga                                     489

```

5

<210> 5
 <211> 1610
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10

<220>
 <223> Receptor alfa de interleucina-15 humana (IL15RA), ADNc de variante 1 del transcrito

15

<220>
 <221> CDS
 <222> (83)..(886)
 <223> Receptor alfa de interleucina-15 (IL15RA), precursor de la isoforma 1

20

<400> 5

```

cccagagcag cgctcgccac ctccccccgg cctgggcagc gctcgcccgg ggagtccagc 60
ggtgtcctgt ggagctgccc ccatggcccc gggcgggcg cgcggtgccc ggaccctcgg 120
tctccccggg ctgctactgc tgctgctgct cggcgccggg gcgacgcggg gcatcacgtg 180
ccctcccccc atgtccgtgg aacacgcaga catctgggtc aagagctaca gcttgtactc 240
cagggagcgg tacatttgta actctggttt caagcgtaaa gccggcacgt ccagcctgac 300
ggagtgcgtg ttgaacaagg ccacgaatgt cgcccactgg acaaccccc gtctcaaatg 360
cattagagac cctgccctgg ttcaccaaag gccagcgcca cctccacag taacgacggc 420
aggggtgacc ccacagccag agagcctctc cccttctgga aaagagcccc cagcttcatc 480
tcccagctca aacaacacag cggccacaac agcagctatt gtccccgggt cccagctgat 540
gccttcaaaa tcaccttcca caggaaccac agagataagc agtcatgagt cctcccacgg 600
cacccctctc cagacaacag ccaagaactg ggaactcaca gcatccgctt cccaccagcc 660
gccaggtgtg tatccacagg gccacagcga caccactgtg gctatctcca cgtccactgt 720
cctgtgtgtg gggctgagcg ctgtgtctct cctggcatgc tacctcaagt caaggcaaac 780
tcccccgctg gccagcgttg aaatggaagc catggaggct ctgccggtga cttggggggac 840
cagcagcaga gatgaagact tggaaaactg ctctcaccac ctatgaaact cgggggaaacc 900
agcccagcta agtccggagt gaaggagcct ctctgcttta gctaaagaag actgagaaga 960
ggtgcaagga agcgggctcc aggagcaagc tcaccaggcc tctcagaagt cccagcagga 1020
tctcacggac tgccgggtcg gcgcctcctg cgcgaggag caggttctcc gcattcccat 1080
gggcaccacc tgccctgctg tctgtccttg gaccagggc ccagcttccc aggagagacc 1140
aaaggcttct gagcaggatt tttatttcat tacagtgtga gctgectgga atacatgtgg 1200
taatgaaata aaaaccctgc cccgaatctt ccgtccctca tcttaacttt cagttcacag 1260
agaaaagtga catacccaaa gctctctgtc aattacaagg cttctcctgg cgtgggagac 1320
gtctacaggg aagacaccag cgtttgggct tetaaccacc ctgtctccag ctgctctgca 1380
cacatggaca gggacctggg aaaggtggga gagatgctga gccagcgaa tectctccat 1440
tgaaggattc aggaagaaga aaactcaact cagtgccatt ttacgaatat atgcgtttat 1500
atttatactt ccttgtctat tatatctata cattatatat tatttgtatt ttgacattgt 1560
acottgtata aacaaaataa aacatctatt ttcaatattt ttaaaatgca 1610

```

25

<210> 6
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Receptor alfa de interleucina-15 humana (IL15RA), precursor de la isoforma 1

<400> 6

```

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

          180          185          190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile
          195          200          205
Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu
          210          215          220
Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu
225          230          235          240
Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg
          245          250          255
Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu
          260          265

```

5

<210> 7

<211> 1843

<212> ADN

10 <213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Receptor alfa de interleucina-15 humana (IL15RA), ADNc de variante 2 del transcrito

15

<220>

<221> CDS

<222> (424)..(1119)

<223> Receptor alfa de interleucina-15 (IL15RA), isoforma 2

20

<400> 7


```

caggaattcg gcgaagtggc ggagctgggg cccagcggg cgcgggggc cgcgggagcc 60
agcaggtggc gggggctgcg ctccgcccgg gccagagcgc accaggcagg tgcccgcgcc 120
tccgcaccgc ggcgacacct ccgcggggcac tcaccaggc cggccgctca caaccgagcg 180
cagggcccgcg gagggagacc aggaagccg aaggcggagc agctggaggc gaccagcgcc 240
gggcgaggtc aagtggatcc gagccgcaga gagggtgga gagagtctgc tctccgatga 300
ctttgcccac tctcttcgca gtggggacac cggaccgagt gcacactgga ggtcccagag 360
cacgacgagc ggcggaggacc gggaggctcc cgggcttgcg tgggcatcac gtgccctccc 420
cccatgtccg tggaacacgc agacatctgg gtcaagagct acagcttgta ctccagggag 480
cgggtacattt gtaactctgg tttcaagcgt aaagccggca cgtccagcct gacggagtgc 540
gtgttgaaca aggccacgaa tgtcgccac tggacaaccc ccagtctcaa atgcattaga 600
gacctgccc tggttcacca aaggccagcg ccacctcca cagtaacgac ggcaggggtg 660
accccacagc cagagagcct ctccccttct ggaaaagagc cgcagcttc atctcccagc 720
tcaaacaaca cagcgccac aacagcagc attgtcccg gctcccagct gatgccttca 780
aatcacctt ccacaggaac cacagagata agcagtcagt agtcctccca cggcaccccc 840
tctcagacaa cagccaagaa ctgggaactc acagcatccg cctcccacca gccgccaggt 900
gtgtatccac agggccacag cgacaccact gtggctatct ccacgtccac tgtcctgctg 960
tgtgggctga gcgctgtgtc tctcctggca tgctacctca agtcaaggca aactcccccg 1020
ctggccagcg ttgaaatgga agccatggag gctctgccgg tgacttgggg gaccagcagc 1080
agagatgaag acttggaana ctgctctcac cacctatgaa actcggggaa accagcccag 1140
ctaagtccgg agtgaaggag cctctctgct ttagctaaag acgactgaga agaggtgcaa 1200
ggaagcgggc tccaggagca agctcaccag gcctctcaga agtcccagca ggatctcacg 1260
gactgccggg tcggcgccctc ctgcgcgagg gagcaggttc tccgcattcc catgggcacc 1320
acctgcctgc ctgtcgtgcc ttggaccag ggcccagctt cccaggagag accaaaggct 1380
tctgagcagg atttttatct cattacagtg tgagctgcct ggaatacatg tggtaatgaa 1440
ataaaaaccc tgccccgaat ctcccgctcc tcatcctaac ttccagttca cagagaaaag 1500
tgacataccc aaagctctct gtcaattaca aggcttctcc tggcgtggga gacgtctaca 1560
gggaagacac cagcgttttg gcttctaacc accctgtctc cagctgctct gcacacatgg 1620
acagggacct gggaaagggt ggagagatgc tgagcccagc gaatcctctc cattgaagga 1680
ttcaggaaga agaaaactca actcagtgcc attttacgaa tatatgcgtt tatatttata 1740
cttccttgtc tattatatct atacattata tattatttgt attttgacat tgtaccttgt 1800
ataaacaana taaaacatct attttcaata tttttaaat gca 1843

```

<210> 8
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <223> Receptor alfa de interleucina-15 humana (IL15RA), isoforma 2

<400> 8

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

<210> 9
 <211> 807
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Receptor alfa de la interleucina-15 (IL-15) humana sintética mejorada (IL15Ra), variante 1 del transcrito (OPC)

<400> 9

atggccccga	ggcgggcgcg	aggctgccgg	accctcggtc	tcccggcgct	gctactgctc	60
ctgctgctcc	ggccgccggc	gacgcggggc	atcacgtgcc	cgccccccat	gtccgtggag	120
cacgcagaca	tctgggtcaa	gagctacagc	ttgtactccc	gggagcggta	catctgcaac	180
tccgggtttca	agcggaaaggc	cggcacgtcc	agcctgacgg	agtgcgtggt	gaacaaggcc	240
acgaatgtcg	cccactggac	gacccctcgc	ctcaagtga	tccgcgaccc	ggccctgggt	300
caccagcggc	ccgcgccacc	ctccaccgta	acgacggcgg	gggtgacccc	gcagccggag	360
agcctctccc	cgtcgggaaa	ggagcccggc	gcgtcgctcg	ccagctcgaa	caacacggcg	420
gccacaactg	cagcgatcgt	cccgggctcc	cagctgatgc	cgtcgaagtc	gccgtccacg	480
ggaaccacgg	agatcagcag	tcatgagtc	tcccacggca	ccccctcgca	aacgacggcc	540
aagaactggg	aactcacggc	gtccgcctcc	caccagccgc	cgggggtgta	tccgcaaggc	600
cacagcgaca	ccacggtggc	gatctccacg	tccacggtcc	tgctgtgtgg	gctgagcgcg	660
gtgtcgctcc	tggcgtgcta	cctcaagtcg	aggcagactc	ccccgctggc	cagcgttgag	720
atggaggcca	tggaggctct	gccggtgacg	tgggggacca	gcagcaggga	tgaggacttg	780
gagaactgct	cgcaccacct	ataatga				807

<210> 10
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Receptor alfa de la interleucina-15 (IL-15) humana sintética mejorada (IL15Ra), isoforma 1 (OPC)

5 <400> 10

```

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala
 1          5          10          15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr
          20          25          30
Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser
          35          40          45
Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys
          50          55          60
Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
65          70          75          80
Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
          85          90          95
Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr
          100          105          110
Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu
          115          120          125
Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala
          130          135          140
Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr
145          150          155          160
Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser
          165          170          175
Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln
          180          185          190
Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile
          195          200          205
Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu
          210          215          220
Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu
225          230          235          240
Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg
          245          250          255
Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu
          260          265

```

<210> 11

<211> 621

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Receptor alfa soluble de la interleucina-15 (IL-15) humana sintética mejorada (IL-15sRa) (OPC)

15

<400> 11

```

atggcccccga ggcggggcgcg aggctgccgg accctcggtc tcccggcgct gctactgctc 60
ctgctgctcc ggcgcggcgc gacgcggggc atcacgtgcc cggcccccac gtccgtggag 120
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactccc gggagcggta catctgcaac 180
tcgggtttca agcgggaaggc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcggtgt gaacaaggcc 240
acgaatgtcg cccactggac gacccctcg ctcaagtga tccgcgaccc ggcctggtt 300
caccagcggc ccgcgccacc ctccaccgta acgacggcgg gggtgacccc gcagccggag 360
agcctctccc cgtcgggaaa ggagcccgcc gcgtcgctgc ccagctcgaa caacacggcg 420
gccacaactg cagcgatcgt cccgggctcc cagctgatgc cgtcgaagtc gccgtccacg 480
ggaaccacgg agatcagcag tcatgagtc tcccacggca cccctcgca aacgacggcc 540
aagaactggg aactcacggc gtccgcctcc caccagccgc cgggggtgta tccgcaaggc 600
cacagcgaca ccacgtaatg a 621

```

<210> 12
 <211> 205
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Receptor alfa soluble de la interleucina-15 (IL-15) humana sintética mejorada (IL-15sRa) (OPC)
 <400> 12

```

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

```

<210> 13
 <211> 5958
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector plasmídico sintético de expresión dual de IL15Ra+IL15 humana
 <400> 13

```

cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60
caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120
ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc 180
cgcctggctg accgccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca 240
tagtaacgcc aataggaact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg 300
cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg 360
acggtaaatg gcccgctgg cattatgcc agtacatgac cttatgggac ttctctactt 420
ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggg gatgcggttt tggcagtaca 480
tcaatggcg tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac ccattgacg 540
tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact 600
ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag 660
ctcgtttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctccata 720
gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgcgtc gaggaattcg ctagcaagaa 780
atggccccga ggcgggcgcg aggctgcgag accctcggtc tcccggcgct gctactgctc 840
ctgctgctcc ggcgcgcgga gacgcggggc atcacgtgcc cgcccccat gtccgtggag 900
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactccc gggagcggta catctgcaac 960
tcgggtttca agcgaaggc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc 1020

```

acgaatgtcg	cccactggac	gacccctctcg	ctcaagtgc	tccgcgaccc	ggccctgggt	1080
caccagcggc	ccgogccacc	ctccaccgta	acgacggcgg	gggtgacccc	gcagccggag	1140
agcctctccc	cgtcgggaaa	ggagcccgc	gcgtcgtcgc	ccagctcgaa	caacacggcg	1200
gccacaactg	cagcgatcgt	cccgggtccc	cagctgatgc	cgtogaagtc	gccgtccacg	1260
ggaaccacgg	agatcagcag	tcatgagtc	tcccacggca	ccccctcgca	aacgacggcc	1320
aagaactggg	aactcacggc	gtccgcctcc	caccagecgc	cgggggtgta	tccgcaaggc	1380
cacagcgaca	ccacgggtggc	gatctccacg	tccacggctcc	tgtgtgtgtg	gctgagcgcg	1440
gtgtcgtccc	tggcgtgcta	cctcaagtgc	aggcagactc	ccccgctggc	cagcgttgag	1500
atggaggcca	tggaggctct	gccggtgacg	tgggggacca	gcagcaggga	tgaggacttg	1560
gagaactgct	cgcaccacct	ataatgagaa	ttcacgcgtg	gatctgatata	cggatctgct	1620
gtgccttcta	gttgccagcc	atctgttgtt	tgcctctccc	ccgtgccttc	cttgaccttg	1680
gaaggtgcca	ctcccactgt	cctttcctaa	taaaatgagg	aaattgcata	gcattgtctg	1740
agtaggtgtc	attctattct	gggggggtggg	gtggggcgagg	acagcaaggg	ggaggattgg	1800
gaagacaata	gcaggcatgc	tggggatgcg	gtgggtccta	tgggtaccca	ggtgctgaag	1860
aattgaacctg	gttctcctcg	ggccagaaag	agcaggcac	atccccctct	ctgtgacaca	1920
ccctgtccac	gcccctgggt	cttagttcca	gccccactca	taggacactc	atagctcagg	1980
agggctccgc	cttcaatccc	acccgctaaa	gtacttgagg	cggctctctcc	ctccctcctc	2040
agcccaccaa	accaaacccta	gcctccaaga	gtgggaagaa	attaaagcaa	gataggctat	2100
taagtgcaga	gggagagaaa	atgcctccaa	catgtgagga	agtaatgaga	gaaatcatag	2160
aattttcttc	gcttctctgc	tcactgactc	gctgcgctcg	gtcgttcggc	tgcggcgagc	2220
ggtatcagct	caetcaaagg	cggtataacg	gttatccaca	gaatcagggg	ataacgcgag	2280
aaagaacatg	tgagcaaaa	gccagcaaaa	ggccaggaa	cgtaaaaagg	ccgcgttgct	2340
ggcgtttttc	cataggctcc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gctcaagtca	2400
gaggtggcga	aaccgcagag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	2460
cgtgcgctct	cctgttccga	ccctgcgct	taccggatag	ctgtccgcct	ttctcccttc	2520
gggaagcgtg	gcgctttctc	aatgctcacg	ctgtagggtat	ctcagttcgg	tgtaggctcg	2580
tgcctccaag	ctgggctgtg	tgcacgaacc	ccccgttcag	cccgaccgct	gcgccttatc	2640
cgttaactat	cgtcttgagt	ccaaccoggt	aagacacgac	ttatcgccac	tggcagcagc	2700
cactggtaac	aggattagca	gagcgaggta	tgtaggcggg	gctacagagt	tcttgaagtg	2760
gtggcctaac	tacggctaca	ctagaaggac	agtatttggt	atctgcgctc	tgtgaagcc	2820
agttaccttc	ggaaaaagag	ttggtagctc	ttgatccggc	aaacaaacca	ccgtgggtag	2880
cgggtggttt	tttggttgca	agcagcagat	tacgcgcaga	aaaaaggat	ctcaagaaga	2940
tectttgatc	ttttctacgg	ggtctgacgc	tcagtggaac	gaaaaactcac	gtaagggat	3000
tttggctcatg	agattatcaa	aaaggatctt	cacctagatc	cttttaaat	aaaaatgaag	3060
ttttaaatca	atctaaagta	tatatgagta	aacttggtct	gacagttacc	aatgcttaat	3120
cagtgaaggca	cctatctcag	cgtctgtct	atttcgttca	tccatagttg	cctgactcgg	3180
gggggggggg	cgtgagggtc	tgcctcgtga	agaagggtgt	gctgactcat	accaggcctg	3240
aatcgcccca	tcatccagcc	agaaagttag	ggagccacgg	ttgatgagag	ctttgttgta	3300
ggtggaccag	ttggtgattt	tgaacttttg	ctttgccacg	gaacgggtctg	cgttgtcggg	3360
aagatgcgtg	atctgatcct	tcaactcagc	aaaagttcga	tttattcaac	aaagccgcgg	3420
tcccgtaacg	tcagcgtaat	gctctgccag	tgttacaacc	aattaaccaa	ttctgttag	3480
aaaaactcat	cgagcatcaa	atgaaactgc	aatttattca	tatcaggatt	atcaatacca	3540
tatttttgaa	aaagccgttt	ctgtaatgaa	ggagaaaact	caccgaggca	gttccatagg	3600
atggcaagat	cctgggtatcg	gtctgcgatt	ccgactcgtc	caacatcaat	acaacctatt	3660
aatttcccct	cgtcaaaaat	aaggttatca	agtgagaaat	caccatgagt	gacgactgaa	3720
tccggtgaga	atggcaaaag	cttatgcatt	tctttccaga	cttgttcaac	aggccagcaa	3780
ttacgcctcg	catcaaaatc	actcgcatac	accaaaccgt	tattcattcg	tgtttgcgcc	3840
tgagcgagac	gaaatacgcg	atcgctgtta	aaaggacaat	tacaaacagg	aatcgaatgc	3900
aaccggcgca	ggaacactgc	cagcgcatca	acaatatattt	cacctgaatc	aggatattct	3960
tctaatacct	ggaatgctgt	tttcccgggg	atcgagtggt	tgagtaacca	tgcatacatca	4020
ggagtacgga	taaaatgctt	gatggtcgga	agaggcataa	attccgtcag	ccagtttagt	4080
ctgaccatct	catctgtaac	atcattggca	acgctacctt	tgcctggtt	cagaaacaac	4140
tctggcgcat	cgggcttccc	atacaactga	tagattgtcg	cacctgattg	ccgcagatta	4200
tgcgagccc	atattataccc	atataaatca	gcattccatgt	tgggaatttaa	tgcgggcttc	4260
gagcaagacg	tttcccggtg	aatatggctc	ataacacccc	ttgtattact	gtttatgtaa	4320
gcagacagtt	ttattgttca	tgatgatata	tttttatctt	gtgcaatgta	acatcagaga	4380
ttttgagaca	caacgtggat	catccagaca	tgataagata	cattgatgag	tttggacaaa	4440
ccacaactag	aatgcagtga	aaaaaatgct	ttatttgtga	aatttgtgat	gctattgctt	4500
tatttgtaac	cattataagc	tgcataaacc	aagttaacaa	caacaattgc	attcatttta	4560
tgtttcaggt	tcagggggag	gtgtgggagg	tttttaaaag	caagtaaaac	ctctacaaat	4620
gtggtatggc	tgattatgat	cgtcgaggat	ctggatccgt	taaccgatat	ccgcgaattc	4680
ggcgcgccgg	gccctcacga	cgtgttgatg	aacatctgga	cgatgtgcac	gaacgactgc	4740
aggaactcct	tgatgttctt	ctcctccagc	tctctgcact	ccttgacgac	cgaactccgtg	4800
acgttcccgt	tcgacgacag	cgaagtgttc	gccaggatga	tcaggttctc	caccgtgtcg	4860
tggatcgacg	cgtccccga	ctcgagcgag	atgacttgga	gctccaggag	gaagcacttc	4920

```

atcgccgtga ccttgccacga cgggtggacg tccgactccg tgtacagcgt cgcgtcgatg 4980
tgcategact ggatgaggtc ctcgatcttc ttcagggtccg agatcacgtt caccagttc 5040
gcctccgtct tcggcagccc cgccgagaag cagcccagga tgaagacgtg tataccggcc 5100
tccgtgagga agtgcgagtt caggagcagg cacaggtagc actggatcga taccgaccgc 5160
aggtgcggct tcgagatccg catttcttgt cgacactcga cagatccaaa cgctcctccg 5220
acgtccccag gcagaatggc ggttccctaa acgagcattg cttatataga cctcccatta 5280
ggcacgccta ccgcccattt acgtcaatgg aacgcccatt tgcgtcattg cccctcccca 5340
ttgacgtcaa tggggatgta cttggcagcc atcgcgggcc atttaccgcc attgacgtca 5400
atgggagtac tgccaatgta ccctggcgta cttccaatag taatgtactt gccaaagttac 5460
tattaataga tattgatgta ctgccaagtg ggccatttac cgtcattgac gtcaataggg 5520
ggcgtgagaa cggatatgaa tgggcaatga gccatcccat tgacgtcaat ggtgggtggg 5580
cctattgacg tcaatgggca ttgagccagg cgggccattt accgtaattg acgtcaatgg 5640
gggagggcgc atatacgta ataggaccgc ccatatgacg tcaataggaa agaccatgag 5700
gccctttcgt ctgcgcggtt tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc 5760
ggagacggtc acagcttgtc tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc 5820
gtcagcgggt gttggcgggt gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt 5880
actgagagtg caccatatgc ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataaccg 5940
catcagattg gctattgg                                     5958

```

<210> 14
 <211> 5918
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector plasmídico sintético de expresión dual de IL15Ra+IL15tPA6 humana

<400> 14

cctggccatt	gcatacgttg	tatccatatc	ataatatgta	cattttatatt	ggctcatgtc	60
caacattacc	gccatgttga	cattgattat	tgactagtta	ttaatagtaa	tcaattacgg	120
ggtcattagt	tcatagccca	tatatggagt	tccgcgttac	ataacttacg	gtaaatggcc	180
cgcttgctg	accgcccac	gacccccgcc	cattgacgtc	aataatgacg	tatgttccca	240
tagtaacgcc	aatagggact	ttccattgac	gtcaatgggt	ggagtattta	cggtaaaactg	300
ccacttggc	agtacatcaa	gtgtatcata	tgccaagtac	gccccctatt	gacgtcaatg	360
acggtaaatg	gcccgccctgg	cattatgccc	agtacatgac	cttatgggac	tttccctactt	420
ggcagtacat	ctacgtatta	gtcatcgcta	ttaccatggg	gatgcgggtt	tggcagtaca	480
tcaatgggcg	tggatagcgg	tttgactcac	ggggatttcc	aagtctccac	cccattgacg	540
tcaatgggag	tttgttttgg	cacaaaaatc	aacgggactt	tccaaaatgt	cgtaacaact	600
ccgccccatt	gacgcaaagt	ggcggtaggc	gtgtacgggt	ggaggtctat	ataagcagag	660
ctcgtttagt	gaaccgtcag	atcgccctgga	gacgccatcc	acgctgtttt	gacctccata	720
gaagacaccg	ggaccgatcc	agcctccgcg	ggcgcgcgctc	gaggaattcg	ctagcaagaa	780
atggccccga	ggcgggcgcg	aggctgccgg	accctcggtc	tcccgggcgt	gctactgctc	840
ctgctgtcc	ggccgcccgc	gacgcggggc	atcacgtgcc	cgccccccat	gtccgtggag	900
cacgcagaca	tctgggtcaa	gagctacagc	ttgtactccc	gggagcggtg	catctgcaac	960
tgggttttca	agcgggaaggc	cggcacgtcc	agcctgacgg	agtgcgtgtt	gaacaaggcc	1020
acgaatgtcg	cccactggac	gacccccctcg	ctcaagtgca	tccgcgaccc	ggccctgggt	1080
caccagcggc	ccgcgccacc	ctccaccgta	acgacggcgg	gggtgacccc	gcagccggag	1140
agcctctccc	cgtcgggaaa	ggagcccgcc	gcgtcgtcgc	ccagctcgaa	caacacggcg	1200
gccacaactg	cagcgatcgt	cccgggctcc	cagctgatgc	cgtcgaaagtc	gccgtccacg	1260
ggaaccacgg	agatcagcag	tcatgagtcc	tcccacggca	ccccctcgca	aacgacggcc	1320
aagaactggg	aactcacggc	gtccgcctcc	caccagccgc	cgggggtgta	tccgcaaggc	1380
cacagcgaca	ccacggtggc	gatctccacg	tccacggtcc	tgctgtgtgg	gctgagcgcg	1440
gtgtcgctcc	tggcgtgcta	cctcaagtgc	aggcagactc	ccccgctggc	cagcgttgag	1500
atggaggcca	tggaggctct	gccggtgacg	tgggggacca	gcagcaggga	tgaggacttg	1560
gagaactgct	cgcaccacct	ataatgagaa	ttcacgcgtg	gatctgatat	cggatctgct	1620
gtgccttcta	gttgccagcc	atctgttgtt	tgccccctcc	ccgtgccttc	cttgaccctg	1680
gaaggtgcca	ctcccactgt	cctttcctaa	taaaatgagg	aaattgcac	gcattgtctg	1740
agtaggtgtc	attctattct	ggggggtggg	gtggggcagg	acagcaaggg	ggaggattgg	1800
gaagacaata	gcaggcatgc	tggggatgcg	gtgggctcta	tgggtaccca	ggtgctgaag	1860
aattgacccg	gttcctcctg	ggccagaaaag	aagcaggcac	atccccctct	ctgtgacaca	1920
ccctgtccac	gcccctgggt	cttagttcca	gccccactca	taggacactc	atagctcagg	1980
agggtccgc	cttcaatccc	acccgctaaa	gtacttggag	cggctctctcc	ctccctcatc	2040
agcccaacca	accaaacccta	gcctccaaga	gtgggaagaa	attaaagcaa	gataggctat	2100
taagtgcaga	gggagagaaa	atgcctccaa	catgtgagga	agtaatgaga	gaaatcatag	2160

aattttcttcc	gcttcctcgc	tcactgaactc	gctgcgctcg	gtcgttoggc	tggggcgagc	2220
ggtatcagct	cactcaaaag	cggtaatagc	ggtatccaca	gaatcagggg	ataacgcagg	2280
aaagaacatg	tgagcaaaaag	gccagcaaaa	ggccaggaac	cgtaaaaagg	ccgcgttgct	2340
ggcgtttttc	cataggctcc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gctcaagtca	2400
gaggtggcga	aaoccgacag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	2460
cgtgcgctct	cctgttccga	ccctgcgct	tacoggatac	ctgtccgcct	ttctcccttc	2520
gggaagcgtg	gcgctttctc	aatgctcacg	ctgtagggtat	ctcagttcgg	tgtagggtcgt	2580
tcgctccaag	ctgggctgtg	tgacgaacc	ccccgttcag	cccgaaccgt	gcgccttatc	2640
cggtaaactat	cgtcttgagt	ccaacccggt	aagacacgac	ttatcgccac	tggcagcagc	2700
cactggtaac	aggattagca	gagcgaggta	tgtaggcggt	gctacagagt	tcttgaagtg	2760
gtggcctaac	taoggctaca	ctagaaggac	agtatttggg	atctgcgctc	tgtgaagcc	2820
agttaccttc	ggaaaaagag	ttggtagctc	ttgatccggc	aaacaaacca	ccgctggtag	2880
cggtgggttt	tttgtttgca	agcagcagat	tacgcgcaga	aaaaaaggat	ctcaagaaga	2940
tcctttgatc	ttttctacgg	ggtctgacgc	tcagtggaaac	gaaaactcac	gttaagggat	3000
tttggtcatg	agattatcaa	aaaggatctt	cacctagatc	cttttaaatt	aaaaatgaag	3060
ttttaaatca	atctaaagta	tatatgagta	aacttggtct	gacagttaac	aatgcttaat	3120
cagtgggca	cctatctcag	cgatctgtct	atttcgttca	tccatagttg	cctgactcgg	3180
gggggggggg	cgctgaggtc	tgccctgtga	agaaggtgtt	gctgactcat	accaggcctg	3240
aatcgcccca	tcattccagcc	agaaagttag	ggagccacgg	ttgatgagag	ctttgttcta	3300
ggtggaccag	ttggtgattt	tgaacttttg	ctttgccacg	gaacggtctg	cgttgtcggg	3360
aagatgcgtg	atctgatact	tcaactcagc	aaaagttcga	tttattcaac	aaagccgccg	3420
tcocgtcaag	tcagcgtaat	gctctgccag	tgttacaacc	aattaacca	ttctgattag	3480
aaaaactcat	cgagcatcaa	atgaaactgc	aatttattca	tatcaggatt	atcaatacca	3540
tatttttgaa	aaagcogttt	ctgtaatgaa	ggagaaaact	caccgaggca	gttccatagg	3600
atggcaagat	cctgggtatcg	gtctgcgatt	ccgactcgtc	caacatcaat	acaacctatt	3660
aatttccctc	cgtcaaaaat	aaggttatca	agtgaagaat	caccatgagt	cagcagtgaa	3720
tcocgtgaga	catcaaaaag	cttatgcatt	tctttccaga	cttgttcaac	aggccagcca	3780
ttacgctcgt	catcaaaaatc	actcgcatca	accaaacctg	tattcatteg	tgattgcgcc	3840
tgagcgagac	gaaatacgcg	atcgctgtta	aaaggacaat	tacaaacagg	aatcgaatgc	3900
aaccggcgca	ggaacactgc	cagcgcatca	acaatatctt	cacctgaatc	aggatattct	3960
tctaatacct	ggaatgctgt	tttcccgggg	atcgagtggt	tgagtaacca	tgcatcatca	4020
ggagtacgga	taaaatgctt	gatggtcgga	agaggcataa	attccgtcag	ccagtttagt	4080
ctgacccatc	catctgtaac	atcattggca	acgctacctt	tgccatgttt	cagaacaac	4140
tctgcgcgat	cgggcttccc	atacaatcga	tagattgtcg	caoctgattg	cccgacatta	4200
tcgcgagccc	atttataccc	atataaatca	gcatccatgt	tggaatttaa	tcgcggcctc	4260
gagcaagacg	tttcccggtt	aatatggctc	ataacacccc	ttgtattact	gtttatgtaa	4320
gcagacagtt	ttattgttca	tgatgatata	tttttatctt	gtgcaatgta	acatcagaga	4380
ttttgagaca	caacgtggat	catccagaca	tgataagata	cattgatgag	tttggacaaa	4440
ccacaactag	aatgcagtga	aaaaaatgct	ttatttgtga	aatttgtgat	gctattgctt	4500
tattttgtaac	cattataagc	tgcaataaac	aagttaacaa	caacaattgc	attctattta	4560
tgtttcaggt	tcagggggag	gtgtgggagg	ttttttaaag	caagtaaaac	ctctacaaat	4620
gtggtatggc	tgattatgat	cgtcgaggat	ctggatctgg	atccgttaac	cgatatccgc	4680
gaattcggcg	cgccggggcc	tcacgacgtg	ttgatgaaca	tctggacgat	gtgcacgaac	4740
gactgcagga	actccttgat	gttcttctcc	tccagctcct	cgcactcctt	gcagcccagc	4800
tcogtgacgt	tcocgttcga	cgacagcgag	ttgttcgcca	ggatgatcag	gttctccacc	4860
gtgtcgtgga	tcgacgcgtc	ccccgactcg	agcgagatga	cttgagagctc	caggaggaag	4920
cacttcacgt	ccgtgacctt	gcacgacggg	tggacgtccg	actccgtgta	cagcgtcgcg	4980
tcgatgtgca	tcgactggat	gaggtcctcg	atcttcttca	ggtccgagat	cacgttcacc	5040
cagtttctgg	ctcctcttct	gaatcgggca	tggatttctt	ggctgggcca	aacgaagact	5100
gctccacaca	gcagcagcac	acagcagagc	cctctcttca	ttgcatccat	ttcttgcga	5160
cagatccaaa	cgctcctccg	acgtccccag	gcagaatggc	ggttccctaa	acgagcattg	5220
cttatataga	cctccatta	ggcacgccta	ccgcccattt	acgtcaatgg	aacgccatt	5280
tgcgtcattg	cccctcccca	ttgacgtcaa	tggggatgta	cttggcagcc	atcgcgggcc	5340
atttacgcgc	attgacgtca	atgggagtac	tgccaatgta	ccctggcgta	cttccaatag	5400
taatgtactt	gccaagttac	tattaataga	tattgatgta	ctgccaagtg	ggccatttac	5460
cgtoattgac	gtcaataggg	ggcgtgagaa	cggatatgaa	tgggcaatga	gccatcccat	5520
tgacgtcaat	ggtgggtggt	cctattgacg	tcaatgggca	ttgagccagg	cgggccattt	5580
accgtaattg	acgtcaatgg	gggaggcgcc	atatacgtca	ataggaccgc	ccatatgacg	5640
tcaataggaa	agaccatgag	gccctttcgt	ctcgcgcgtt	tcggtgatga	cgggtgaaac	5700
ctctgacaca	tgacgtccc	ggagacggtc	acagcttgte	tgtaaagcga	tgccggggagc	5760
agacaagccc	gtcagggcgc	gtcagcgggt	gttggcgggt	gtcggggctg	gcttaactat	5820
gcggcatcag	agcagattgt	actgagagtg	caccatattgc	ggtgtgaat	accgcacaga	5880
tgcgtaagga	gaaaataccg	catcagattg	gctattgg			5918

<210> 15
<211> 5736
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Vector plasmídico sintético de expresión dual de IL15sRa(soluble)+IL15tPA6 humana

10

<400> 15

```

cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60
caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120
ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc 180
cgcctggctg accgcccac gacccccgc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca 240
tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg 300
cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaaagtac gccccctatt gacgtcaatg 360
acggtaaatg gccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac ttccctactt 420
ggcagtacat ctacgtatta gtcatcgcta ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca 480
tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg 540
tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact 600
cgcgcccatc gacgcaaagt ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag 660
ctcgttttagt gaaccgtcag atcgccctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctccata 720
gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgcgtc gaggaattcg ctagcaagaa 780
atggccccga ggcgggcgcg aggctgcggg accctcggtc tcccggcgct gctactgctc 840
ctgctgctcc ggccgcgggc gacgcggggc atcacgtgcc cgcgcccatc gtccgtggag 900
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacgc ttgtactccc gggagcggta catctgaac 960
tcgggtttca acggaaggc cggcacgtcc agctgacgg agtgcggtgt gaacaaggcc 1020
acgaatgtcg cccactggac gacccccctc ctcaagtga tccgcgacct ggccctgggt 1080
caccagcggc ccgcgccacc ctccaccgta acgacggcg gggtagcccc gcagccggag 1140
agcctctccc cgtcgggaaa ggagcccgcc gcgtcgctgc ccagctcgaa caacacggcg 1200
gccacaactg cagcgatcgt cccgggctcc cagctgatgc cgtcgaagtc gccgtccacg 1260
ggaaccacgg agatcagcag tcatgagtc tcccacggca cccctcgca aacgacggcc 1320
aagaactggg aactcacggc gtccgcctcc caccagccgc cgggggtgta tccgcaaggc 1380
cacagcgaca ccacgtaatg agaattcgcg gatatcggtt aacggatcca gatctgctgt 1440
gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg cccctcccc gtgccttctc tgacctgga 1500
aggtgccact cccactgtcc ttctctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag 1560
taggtgtcat tctattctgg ggggtgggtt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga 1620
agacaatagc agcatgctg gggatgcggt gggctctatg ggtaccagg ggtgaagaa 1680
ttgacccggt tctcctggg ccagaaagaa gcaggcacat ccccttctct gtgacacacc 1740
ctgtccacgc cctggttct tagttccagc cccactcata ggacactcat agctcaggag 1800
ggctccgcct tcaatcccac ccgctaaagt actggagcg gtctctccct cctcatcag 1860
cccaccaaac caaacctagc ctccaagagt gggagaagaa taaagcaaga taggctatta 1920
agtgcagagg gagagaaaat gcctccaaca tgtgaggaag taatgagaga aatcatagaa 1980
tttcttcgac ttctcgtcct actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg 2040
tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacgggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa 2100
agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg 2160
cgtttttcca taggtccgc cccctgacg agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga 2220
ggtggcgaaa ccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agctccctcg 2280
tgcgctctcc tgttcgacc ctgcgctta ccggatacct gtccgccttt ccccttcgg 2340
gaagcgtggc gtttctcaa tgcacgct gtggtatct cagttcggtg catctcgttc 2400
gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 2460
gtaactatcg tcttgagtc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca 2520
ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtgg 2580
ggcctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 2640
ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg 2700
gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc 2760
ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt 2820
tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagt 2880
ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaa cttggtctga cagttaccaaa tgcttaatca 2940
gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcggttcac catagttgcc tgactcgggg 3000
ggggggggcg ctgaggtctg cctcgtgaag aaggtgttgc tgactcatac caggcctgaa 3060
tcgccccatc atccagccag aaagtgggg agccacggtt gatgagagct ttgttgtagg 3120
tggaccagtt ggtgattttg aacttttct ttgccacgga acggtctgcg ttgtcgggaa 3180
gatgcgtgat ctgatccttc aactcagcaa aagttcgatt tattcaacaa agccgcgctc 3240
ccgtcaagtc agcgtaatgc tctgccagt ttacaaccaa ttaaccaatt ctgattagaa 3300
aaactcatcg agcatcaaat gaaactgcaa ttatttcata tcaggattat caataccata 3360

```

```

tttttgaaaa agccggtttct gtaatgaagg agaaaactca ccgaggcagt tocataggat 3420
ggcaagatcc tgggtatcggc ctgcgattcc gactcgtcca acatcaatac aacctattaa 3480
tttccoctcg tcaaaaataa ggttatcaag tgagaaatca ccatgagtga cgactgaatc 3540
cgggtgagaat ggcaaaagct tatgcatttc tttccagact tgttcaacag gccagccatt 3600
acgctcgtca tcaaaatcac tcgcatcaac caaaccgtaa ttcatctgtg attgcgcctg 3660
agcgagacga aatacgcgat cgtgtttaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa 3720
ccggcgaggg aacactgcca gcgcatcaac aatattttca cctgaatcag gatattcttc 3780
taatacctgg aatgctgttt tcccggggat cgcagtgggt agtaaccatg catcatcagg 3840
agtacggata aaatgcttga tggtcggaag aggcataaat tccgtcagcc agtttagtct 3900
gaccatctca tctgtaacat cattggcaac gctacctttg ccatgtttca gaaacaactc 3960
tggcgcatcg ggcttcccat acaatcgata gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc 4020
gcgagcccat ttatacccat ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc ggggcctcga 4080
gcaagacggt tcccggtgaa tatggctcat aacacccctt gtattactgt ttatgtaagc 4140
agacagtttt attgttcatt atgatattt tttatcttgt gcaatgtaac atcagagatt 4200
ttgagacaca acgtggatca tccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc 4260
acaactagaa tgcagtgaag aaaatgcttt atttgtgaaa tttgtgatgc tattgcttta 4320
tttgtaacca ttataagctg caataaacia gtttaacaca acaattgcac ctattttatg 4380
tttcagggtc agggggagggt gtgggagggt ttttaaagca agtaaaacct ctacaaatgt 4440
ggtatggctg attatgatcg tcgaggatct ggatctggat ccgttaaccg atatccgcga 4500
attcggcgcg ccggggccctc acgacgtgtt gatgaacatc tggacgatgt gcaogaacga 4560
ctgcaggaaac tcttctgatgt tcttctctc cagctcctcg cactccttgc agcccgactc 4620
cgtgacgttc ccgttcgacg acagcgagtt gttcgccagg atgatcaggt tctccaccgt 4680
gtcgtggatc gacgcgtccc ccgactcgag cgagatgact tggagctcca ggagggaagca 4740
cttcatcgcc gtgaccttgc acgacgggtg gacgtccgac tccgtgtaca gcgtcgcgtc 4800
gatgtgcacg gactggatga ggtcctcgat cttcttcagg tccgagatca cgttcaccca 4860
gtttctggct cctcttctga atcgggcatg gatttccttg ctgggcgaaa cgaagactgc 4920
tccacacagc agcagcacac agcagagccc tctcttcatt gcatccattt cttgtcgaca 4980
tatccaaacg ctctccgac gtccccaggc agaatggcgg ttccctaacc gagcattgct 5040
tatatagacc tcccattagg cacgcctacc gccatttac gtcaatggaa cgcocatttg 5100
cgtcattgcc cctccccatt gacgtcaatg gggatgtact tggcagccat cgcgggccat 5160
ttacgcccat tgacgtcaat gggagtactg ccaatgtacc ctggcgact tccaatagta 5220
atgtacttgc caagttaacta ttaatagata ttgatgtact gccagtggg ccattttaccg 5280
tcattgacgt caataggggg cgtgagaacg gatatgaatg ggcaatgagc catcccattg 5340
acgtcaatgg tgggtgggtc tattgacgtc aatgggcatt gagccaggcg ggccatttac 5400
cgtaattgac gtcaatgggg gaggcgccat atacgtcaat aggaccgcc atatgacgtc 5460
aataggaaag accatgaggg cctttcgtct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct 5520
ctgacacatg cagctcccg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag 5580
acaagcccg cagggcgcg cagcggtgt tggcggtgt cggggctggc ttaactatgc 5640
ggcatcagag cagattgtac tgagagtgc ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg 5700
cgtaaggaga aaataccgca tcagattggc tattgg 5736

```

<210> 16

<211> 6369

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector plasmídico sintético de la proteína de fusión sIL-15Ralpha-Fc, DPhuIL15sRa205FC+huGMIL15

<400> 16

```

cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60
caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120
ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc 180
cgcctggctg accgcccac gaccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttcca 240
tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg 300
cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg 360
atggtaaatg gcccgctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt 420
ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcgggtt tggcagtaca 480
tcaatgggag tggatagcgg ttgactcac ggggatttcc aagtctccac ccattgacg 540
tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact 600
ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag 660
ctcgtttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgcoatcc acgtgtttt gacctcata 720
gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgcgtc gacgctagca agaaatggc 780
ccgaggcggg cgcgaggctg ccggaccctc ggtctcccgg cgctgctact gtcctgctg 840

```

ctccggccgc	cggcgacgcg	gggcatcacg	tgcgcgcgc	ccatgtccgt	ggagcacgca	900
gacatctggg	tcaagagcta	cagcttgtag	tcccgaggagc	ggtacatctg	caactcgggt	960
ttcaagcgga	aggccggcac	gtccagcctg	acggagtgcg	tgttgaacaa	ggccacgaat	1020
gtcgccact	ggagcagccc	ctcgctcaag	tgcattccgcg	accggccct	ggttcaccag	1080
cgcccgccgc	caccctccac	cgtaacgacg	gggggggtga	ccccgcagcc	ggagagcctc	1140
tccccgtcgg	gaaaggagcc	cgccgcgtcg	tgcgccagct	cgaacaacac	ggcgccaca	1200
actgcagcga	tcggtccggg	ctcccagctg	atgccgtcga	agtcgcgcgtc	cacgggaacc	1260
acggagatca	gcagtcattga	gtcctccccc	ggcaccctct	cgcaaacgac	ggccaagaac	1320
tgggaactca	cggcggtccgc	ctcccaccag	ccgcgggggg	tgtatccgca	aggccacagc	1380
gacaccacgc	cgaagtcctg	cgacaagacg	cacacgtgcc	ctccctgcc	ggcgcccgag	1440
ctgctgggag	gtccgagcgt	gttctctctc	ccgcaccaagc	cgaaggacac	gctcatgatc	1500
tgcgggactc	ccgaggtcac	ctgcgtcgtg	gtagacgtca	gccacgagga	cccggagggtc	1560
aagttcaact	ggtacgttga	cggcgtagag	gtgcacaacg	cgaagacgaa	gcccggggag	1620
gagcagtaca	actcgacgta	ccgagtcgtg	tccggtcctga	ccgtcctgca	ccaggactgg	1680
ctcaacggga	aggagtacaa	gtgcaagggtg	togaacaagg	cgctccctgc	cccgatcgag	1740
aagacgatct	cgaaggcgaa	gggcccagcc	agggtctacac	aggtctacac	gctcccgcca	1800
tgcggggacg	agctgacgaa	gaaccaggtt	tccctgacgt	gcctcgtcaa	gggcttctac	1860
ccatcgga	tgcgggtgga	gtgggagagc	aacggggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	1920
acgcctccgg	tgcctcgactc	ggacgggtcg	ttcttctctc	actcgaagct	gaccgtcgac	1980
aagagccggg	ggcagcaggg	caacgtgttc	tccctgctcgg	tgatgcacga	ggccctccac	2040
aaccactaca	cccagaagtc	gctcagttctg	agcccgggga	agtaatgagg	atccgaattc	2100
gcggatatcg	gttaacggat	ccagatctgt	tgtgcttctc	agttgccagc	catctgttgt	2160
ttgccccctc	cccggtgcctt	ccttgacctc	ggaagggtgc	actccactg	tcctttccta	2220
ataaaatgag	gaaattgcat	cgcatgtgtc	gagtaggtgt	cattctattc	tggggggtgg	2280
ggtggggcag	gacagcaagg	gggaggattg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	2340
ggtgggctct	atgggtaccc	aggtgctgaa	gaattgaccc	ggttccctct	gggccagaaa	2400
gaagcaggca	catccccctc	tctgtgacac	accctgtcca	cgccccgtgt	tcttagttcc	2460
agccccactc	ataggacact	catagctcag	gagggctccg	ccttcaatcc	cacccgtaa	2520
agtaacttga	cggtgtctctc	cctccctcat	cagccacca	aaccacacct	agcctccaag	2580
agtgggaaga	aattaaagca	agataggcta	ttaagtgcag	agggagagaa	aatgcctcca	2640
acatgtgagg	aagtaatgag	agaaatcata	gaatttcttc	cgcttctctg	ctcactgact	2700
cgctgcgctc	ggtcgttcgg	ctgcggcgag	cggtatcagc	tcaactcaag	gcggtatatac	2760
ggttatccac	agaatcaggg	gataacgcag	gaaagaacat	gtgagcaaaa	ggccagcaaa	2820
aggccaggaa	cagtaaaaag	gccgcgttgc	tggcggtttt	ccataggctc	cgccccctg	2880
acgagcatca	caaaaatcga	cgctcaagtc	agaggtggcg	aaacccgaca	ggactataaa	2940
gataccaggc	gtttccccct	ggaagctccc	tctgtgcgtc	tccctgttcg	accctgcgc	3000
ttaccggata	cctgtccggc	tttctccctt	cggaagcgt	ggcgctttct	catagctcac	3060
gctgtaggta	tctcagttcg	gtgtaggctg	ttcgctccaa	gctgggctgt	gtgcacgaac	3120
cccccgttca	gcccgcaccg	tgcgccttat	ccggttaacta	tctgtcttgag	tccaacccgg	3180
taagacacga	cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgagggt	3240
atgtaggcca	tgttacagag	ttcttgaaat	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	3300
cagtatttgg	tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	ggttgtagct	3360
cttgatccgg	caaacaaacc	accgctggta	gcgggtgggtt	ttttgtttgc	aagcagcaga	3420
ttacgcgcag	aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	3480
ctcagtgga	cgaaaactca	cgtaaggga	ttttggtcat	gagattatca	aaaaggatct	3540
tcacctagat	ccttttaaat	taaaaaatgaa	gttttaaatc	aatctaaagt	atatatgagt	3600
aaacttggtc	tgacagttac	caatgcttaa	tcagtgaggc	acctatctca	gcgatctgtc	3660
tatttcgttc	atccatagtt	gcctgactcg	gggggggggg	gcgctgaggt	ctgcctcgctg	3720
aagaagggtg	tgtgactca	taccaggcct	gaatcgcccc	atcatccagc	cagaaagtga	3780
gggagccacg	ggtgatgaga	gctttgttgt	aggtggacca	ggtggtgatt	ttgaactttt	3840
gctttgccac	ggaacgggtc	gcgttgctcg	gaagatgcgt	gatctgatcc	ttcaactcag	3900
caaaagtctg	atttattcaa	caaagccgcc	gtcccgctcaa	gtcagcgtaa	tgtctcgcca	3960
gtgttacaac	caattaacca	attctgatta	gaaaaactca	tcgagcatca	aatgaaactg	4020
caatttatct	atatcaggat	tatcaatacc	atatttttga	aaaagccggt	tctgtaataga	4080
aggagaaaac	tcaccgaggc	agttccatag	gatggcaaga	tccctggtatc	ggtctgcgat	4140
tccgactcgt	ccaacatcaa	tacaacctat	taatttcccc	tctgcaaaaa	taaggttatc	4200
aagtgagaaa	tcaccatgag	tgcgactga	atccgggtgag	aatggcaaaa	gcttatgcac	4260
ttctttccag	acttgttcaa	caggccagcc	attacgctcg	tcatcaaaaat	cactcgcactc	4320
aaccaaaacc	ttattcattc	gtgattgcgc	ctgagcgaga	cgaataacgc	gatcgctgtt	4380
aaaaggacaa	ttacaacag	gaatcgaatg	caaccggcgc	aggaacactg	ccagcgcttc	4440
aacaataatt	tcacotgaat	caggatattc	ttctaatacc	tgggaatgctg	ttttcccggg	4500
gatcgacgtg	gtgagtaacc	atgcatcatc	aggagtacgg	ataaaatgct	tgatggctcg	4560
aagaggcata	aattccgtca	gccagtttag	tctgaccatc	tcatctgtaa	catcattggc	4620
aacgctacct	ttgccatgtt	tcagaaacaa	ctctggcgca	tccgggcttc	catataatcg	4680
atagattgtc	gcacctgatt	gcccgcacatt	atcgcgagcc	catttatatac	catataaatc	4740

```

agcatccatg ttggaattta atcgcggcct cgagcaagac gtttcccggt gaatatggct 4800
cataaacccc cttgtattac tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgatat 4860
atttttatct tgtgcaatgt aacatcagag attttgagac acaacgtgga tcatccagac 4920
atgataagat acattgatga gtttggacaa accacaacta gaatgcagtg aaaaaaatgc 4980
tttatttggtg aaatttgtga tgctattgct ttatttgtaa ccattataag ctgcaataaa 5040
caagttaaca acaacaattg cattcatttt atgtttcagg ttcaggggga ggtgtgggag 5100
gttttttaaa gcaagtaaaa cctctacaaa tgtggtatgg ctgattatga tcgtcgagga 5160
tctggatccg ttaaccgata tccgcgaatt cggcgcgcgc ggccctcacg acgtgttgat 5220
gaacatctgg acgatgtgca cgaacgactg caggaactcc ttgatgttct tctcctccag 5280
ctcctcgcac tcttgcagc ccgactccgt gacgttcccg ttcgacgaca gcgagttggt 5340
cgccaggatg atcaggttct ccaccgtgtc gtggatcgac gcgtcccccg actcgagcga 5400
gatgacttgg agctccagga ggaagcactt catcgccgtg accttgcaac acgggtggac 5460
gtccgactcc gtgtacagcg tcgcgtcgat gtgcatcgac tggatgaggt cctcgatctt 5520
cttcaggtec gagatcacgt tcacccagtt cgagatgctg caggccaccg tccccaggag 5580
tagcaggotc tggagccaca tttcttgtcg acagatccaa acgctcctcc gacgtcccca 5640
ggcagaatgg cggttcccta aacgagcatt gcttatatag acctcccatt aggcacgcct 5700
accgcccatt tacgtcaatg gaacgcccatt ttgcgtcatt gccctcccc attgacgtca 5760
atggggatgt acttggcagc catcgcgggc catttacgcg cattgacgtc aatgggagta 5820
ctgccaatgt accotggcgt acttccaata gtaatgtact tgccaagtta ctattaatag 5880
atattgatgt actgccaagt gggccattta ccgtcattga cgtcaatagg gggcgtgaga 5940
acggatatga atgggcaatg agccatccca ttgacgtcaa tgggtgggtgg tctattgac 6000
gtcaatgggc attgagccag gcgggcccatt taccgtaatt gacgtcaatg ggggaggcgc 6060
catatacgtc aataggaccg cccatatgac gtcaataggt aagaccatga ggccctttcg 6120
tctcgcgcggt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacgggt 6180
cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg 6240
tggtggcggg tgcgggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt 6300
gcaccatatg cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcagatt 6360
ggctattgg

```

<210> 17
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Proteína de fusión sintética sIL-15Ralpha-Fc, huIL15sRa205-Fc

<400> 17

Met	Ala	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Gly	Cys	Arg	Thr	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala		
1				5				10						15			
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Arg	Pro	Pro	Ala	Thr	Arg	Gly	Ile	Thr		
			20					25					30				
Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser		
		35					40					45					
Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys		
	50					55					60						
Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala		
65					70					75					80		
Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp		
				85					90					95			
Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Thr	Thr		
			100					105					110				
Ala	Gly	Val	Thr	Pro	Gln	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Glu		
		115					120					125					
Pro	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala		
		130				135					140						
Ala	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr		
145					150					155					160		
Gly	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr	Pro	Ser		
				165					170					175			
Gln	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	His	Gln		
			180				185						190				
Pro	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Thr	Pro	Lys	Ser		
		195					200						205				
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu		
	210					215					220						
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu		
225					230					235					240		
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
			245						250					255			
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu		
			260					265					270				
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr		
		275					280					285					
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
	290					295					300						
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro		
305					310					315					320		
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
				325					330					335			
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
			340					345					350				
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
		355					360					365					
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
	370					375					380						
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr		
385					390					395					400		
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val		
				405					410					415			
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu		
			420					425					430				
Ser	Pro	Gly	Lys														
			435														

<210> 18
<211> 131

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Proteína de fusión GMCSF-IL15 sintética humana, huGMCSF-IL15

<400> 18

```

Met Trp Leu Gln Ser Leu Leu Leu Leu Gly Thr Val Ala Cys Ser Ile
 1      5      10
Ser Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu
 20      25      30
Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val
 35      40      45
His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu
 50      55      60
Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val
 65      70      75      80
Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn
 85      90      95
Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn
100      105      110
Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile
115      120      125
Asn Thr Ser
130

```

10

<210> 19

<211> 6354

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Vector plasmídico sintético de la proteína de fusión IL-15Ralpha-Fc, AG256DPhuL15sRA200FC+huGMIL15 huGMCSF-IL15

20

<400> 19

cctggccatt	gcatacgttg	tatccatata	ataatatgta	catttatatt	ggctcatgtc	60
caacattacc	gccatgttga	cattgattat	tgactagtta	ttaatagtaa	tcaattacgg	120
ggtcattagt	tcatagccca	tatatggagt	tccgcgttac	ataacttacg	gtaaatggcc	180
cgctggctg	accgccaac	gaccccgcc	cattgacgtc	aataatgacg	tatgttccca	240
tagtaacgcc	aatagggact	ttccattgac	gtcaatgggt	ggagtattta	cggtaaactg	300
cccacttggc	agtacatcaa	gtgtatcata	tgccaagtac	gccccctatt	gacgtcaatg	360
atggtaaagt	gcccgcctgg	cattatgccc	agtacatgac	cttatgggac	tttcctactt	420
ggcagtacat	ctacgtatta	gtcatcgcta	ttaccatggg	gatgcgggtt	tggcagtaca	480
tcaatgggag	tggatagcgg	tttgactcac	ggggatttcc	aagtctccac	cccattgacg	540
tcaatgggag	tttgttttgg	caccaaatac	aacgggactt	tccaaaatgt	cgtaacaact	600
ccgccccatt	gacgcaaagt	ggcggtaggc	gtgtacgggt	ggagggtctat	ataagcagag	660
ctcgtttagt	gaaccgtcag	atcgccctga	gacgccatcc	acgctgtttt	gacctccata	720
gaagacaccg	ggaccgatcc	agcctccgcg	ggcgcgcgctc	gacgctagca	agaaatggcc	780
ccgaggcggg	cgcgaggctg	ccggaccctc	ggcttcccgg	cgctgctact	gctcctgctg	840
ctccggcccg	cggcgacgcg	gggcatcacg	tgcccgcccc	ccatgtccgt	ggagcacgca	900
gacatctggg	tcaagagcta	cagcttgtac	tccggggagc	ggtacatctg	caactcgggt	960
ttcaagcggg	aggccggcac	gtccagcctg	acggagtgcg	tgttgaacaa	ggccacgaat	1020
gtcgcccaact	ggacgacccc	ctcgctcaag	tgcatccgcg	acccggccct	gggtcaccag	1080
cggccccgcg	caccctccac	cgtaacgacg	gcggggggtga	ccccgcagcc	ggagagcctc	1140
tccccgtcgg	gaaaggagcc	cgccgcgtcg	tgcgccagct	cgaacaacac	ggcgccacac	1200
actgcagcga	tcgctccggg	ctcccagctg	atgccgtcga	agtcgcccgc	cacgggaacc	1260
acggagatca	gcagtcatga	gtcctcccac	ggcaccacct	cgcaaacgac	ggccaagaac	1320
tgggaactca	cggcgctccg	ctcccaccag	ccgcccgggg	tgtatccgca	aggcccgaag	1380
tccctgcgaca	agacgcacac	gtgcctccc	tgcccggcgc	ccgagctgct	gggagggtccg	1440
agcgtgttcc	tcttcccgc	caagccgaag	gacacgctca	tgatctcgcg	gactcccag	1500
gtcacctgcg	tcggtgtaga	cgtcagccac	gaggaccggg	aggtaaggt	caactggtag	1560
gttgacggcg	tacaggtgca	caacgcgaag	acgaagccgc	gggaggagca	gtacaactcg	1620
acgtaccgag	tcggttcggg	cctgaccgtc	ctgcaccagg	actgggtcaa	cggggaaggag	1680
tacaagtgca	agggtgcgaa	caaggcgctc	cctgccccga	tcgagaagac	gatctcgaag	1740
gcgaagggcc	agcccaggga	gccccagggtc	tacacgctcc	cgccatcgcg	ggacgagctg	1800
acgaagaacc	agggtttccct	gacgtgcctc	gtcaaggggt	tctaccatc	ggacatcgcg	1860
gtggagtggg	agagcaacgg	gcagccggag	aacaactaca	agaccacgcc	tccgggtgctc	1920
gactcggacg	ggctcgttctt	cctctactcg	aagctgaccg	tgcacaagag	ccggtggcag	1980
cagggcaacg	tgttctcctg	ctcgggtgatg	cacgaggccc	tccacaacca	ctacaccacg	2040
aagtcgctca	gtctgagccc	ggggaagtaa	tgaggatccg	aattcgcgga	tatcggttaa	2100
cggatccaga	tctgctgtgc	cttctagtgt	ccagccatct	gttgtttgcc	cctccccctg	2160
gccttccctg	acccctggaag	gtgccactcc	cactgtcctt	tcctaataaa	atgaggaaat	2220
tgcatcgcat	tgtctgagta	gggtcatttc	tattctgggg	gggtgggtgg	ggcaggacag	2280
caagggggag	gattgggaag	acaatagcag	gcattgctggg	gatgcgggtg	ggtctatggg	2340
taccagggtg	ctgaagaatt	gacccgggtc	ctcctggggc	agaaagaagc	aggcacatcc	2400
ccttctctgt	gacacaccct	gtccacgccc	ctggttctta	gttccagccc	cactcatagg	2460
acactcatag	ctcaggaggg	ctccgccttc	aatcccaccc	gctaaagtac	ttggagcggg	2520
ctctccctcc	ctcatcagcc	caccaaacca	aacctagcct	ccaagagtgg	gaagaaatta	2580
aagcaagata	ggctattaag	tgacagggga	gagaaaatgc	ctccaacatg	tgagggaagta	2640
atgagagaaa	tcatagaatt	tcttccgctt	cctcgtcac	tgactcgctg	cgctcgggtc	2700
ttcggtgcg	gcgagcggta	tcagctcact	caaaggcggg	aatacggtta	tccacagaat	2760
caggggataa	cgcaggaaag	aacatgtgag	caaaaggcca	gcaaaaggcc	aggaaccgta	2820
aaaaggccgc	gttgctggcg	tttttccata	ggctccgccc	ccctgacgag	catcacaaaa	2880
atcgacgctc	aagtcagagg	tggcgaaacc	cgacaggact	ataaagatac	caggcggttc	2940
cccctggaag	ctccctcgtg	cgtctcctg	ttccgacct	gccgcttacc	ggatacctgt	3000
ccgcctttct	cccttcggga	agcgtggcgc	tttctcatag	ctcacgctgt	aggatatctca	3060
gttcgggtgta	ggctcgttcgc	tccaagctgg	gctgtgtgca	cgaaccccc	gttcagcccg	3120
accgctgcgc	cttatccggg	aactatcgct	ttgagtccaa	cccggttaaga	cacgacttat	3180
cgccactggc	agcagccact	ggtaacagga	ttagcagagc	gaggtatgta	ggcggtgcta	3240
cagagttctt	gaagtgggtg	cctaactacg	gctacactag	aagaacagta	tttgggtatct	3300
gcgctctgct	gaagccagtt	accttcggaa	aaagagttgg	tagctcttga	tccggcaaac	3360
aaaccaccgc	tggtagcggg	ggtttttttg	tttgcaagca	gcagattacg	cgcagaaaaa	3420
aaggatctca	agaagatcct	ttgatctttt	ctacgggggc	tgacgctcag	tggaaacgaaa	3480

```

actcacgtta agggattttg gtcacgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt 3540
taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctctgaca 3600
gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcaccca 3660
tagttgcctg actcgggggg ggggggcgct gaggtctgcc tcgtgaagaa ggtgttgctg 3720
actcatacca ggccctgaatc gccccatcat ccagccagaa agtgaggag ccacggttga 3780
tgagagcttt gttgtaggtg gaccagttgg tgattttgaa cttttgcttt gccacggaac 3840
ggtctgcgtt gtcgggaaga tgcgtgatct gatccttcaa ctcagcaaaa gttcagattta 3900
ttcaacaaag ccgcctccc gtcaagtcag cgtaatgctc tgccagtgtt acaaccaatt 3960
aaccaattct gattagaaaa actcatcgag catcaaatga aactgcaatt tattcatatc 4020
aggattatca ataccatatt tttgaaaaag ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc 4080
gaggcagttc cataggatgg caagatcctg gtatcggctc gcgattccga ctcgtccaac 4140
atcaatacaa cctattaatt tcccctcgtc aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc 4200
atgagtgcag actgaatccg gtgagaatgg caaaagctta tgcatttctt tccagacttg 4260
ttcaacaggc cagccattac gctcgtcatc aaaatcactc gcacaaacca aaccgttatt 4320
cattcgtgat tgcgcctgag cgagacgaaa tacgcgatcg ctgttaaaag gacaattaca 4380
aacaggaatc gaatgcaacc ggcgcaggaa cactgccagc gcacaaacca tattttcacc 4440
tgaatcagga tattcttcta atacctggaa tgctgttttc ccggggatcg cagtgggtgag 4500
taaccatgca tcatcaggag tacggataaa atgcttgatg gtcggaagag gcataaattc 4560
cgtcagccag tttagtctga ccatctcatc tgtaacatca ttggcaacgc tacctttgcc 4620
atgtttcaga aacaactctg gcgcacggg cttcccatac aatcgataga ttgtcgcacc 4680
tgattgcccg acattatcgc gagcccatit ataccatata aaatcagcat ccatgttgga 4740
atttaatcgc ggcctcgagc aagacgtttc ccgttgaata tggctcataa cacccttgt 4800
attactgttt atgtaagcag acagttttat tgttcatgat gatataatit tatcttgtgc 4860
aatgtaacat cagagatttt gagacacaac gtggatcatc cagacatgat aagatacatt 4920
gatgagtttg gacaaaccac aactagaatg cagtgaaaaa aatgctttat ttgtgaaatt 4980
tgtgatgcta ttgctttatt tgtaaccatt ataagctgca ataaacaagt taacaacaac 5040
taattgcattc attttatgtt tcaggttcag ggggaggtgt gggaggtttt ttaagcaag 5100
taaaacctct acaaatgtgg tatggctgtc gatgatctgg atccgttaac 5160
cgatatccgc gaattcggcg cgccggggcc tcacgacgtg ttgatgaaca tctggacgat 5220
gtgcacgaac gactgcagga actccttgat gttcttctcc tccagctcct cgcactcctt 5280
gcagcccgac tccgtgacgt tcccggttca cgacagcgag ttgttcgcca ggatgatcag 5340
gttctccacc gtgtcgtgga tcgacgcgtc ccccgactcg agcgagatga cttggagctc 5400
caggaggaag cacttcatcg ccgtgacctt gcacgacggg tggacgtccg actccgtgta 5460
cagcgtcgcg tcgatgtgca tcgactggat gaggtcctcg atcttcttca ggtccgagat 5520
cacgttcacc cagttcgaga tgctgcaggc caccgtcccc aggagtagca ggctctggag 5580
ccacatttct tgtcgacaga tccaaacgct cctccgacgt ccccgagcag aatggcggtt 5640
ccctaaacga gcattgotta tatagacctc ccattaggca cgcctaccgc ccatttacgt 5700
caatggaacg cccatttgog tcattgcccc tcccattga cgtcaatggg gatgtacttg 5760
gcagccactc cgggocattt accgccattg acgtcaatgg gagtactgcc aatgtaccct 5820
ggcgtacttc caatagtaat gtacttgcca agttactatt aatagatatt gatgtactgc 5880
caagtgggce atttaccgtc attgacgtca atagggggcg tgagaacgga tatgaatggg 5940
caatgagcca tcccattgac gtcaatggtg ggtggtccta ttgacgtcaa tgggcattga 6000
gccaggcggg ccatttaccg taattgacgt caatggggga ggcgccatat acgtcaatag 6060
gaccgcccac atgacgtcaa taggtaagac catgaggccc tttcgtctcg cgcgtttcgg 6120
tgatgacggt gaaaacctct gacacatgca gctcccgag acggtcacag cttgtctgta 6180
agcggatgcc gggagcagac aagcccgtca gggcgcgtca gcgggtgttg gcggtgtcg 6240
gggctggctt aactatgcgg catcagagca gattgtactg agagtgcacc atatgcggtg 6300
tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa ataccgcatc agattggcta ttgg 6354

```

<210> 20
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Proteína de fusión sIL-15Ralpha-Fc sintética, huLL15sRa200-Fc

<400> 20

Met	Ala	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Gly	Cys	Arg	Thr	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala		
1				5					10					15			
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Arg	Pro	Pro	Ala	Thr	Arg	Gly	Ile	Thr		
			20					25					30				
Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser		
		35					40					45					
Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys		
	50					55					60						
Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala		
65					70					75					80		
Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp		
				85				90						95			
Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Thr	Thr		
			100					105					110				
Ala	Gly	Val	Thr	Pro	Gln	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Glu		
	115						120						125				
Pro	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala		
	130					135					140						
Ala	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr		
145					150					155					160		
Gly	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr	Pro	Ser		
				165					170					175			
Gln	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	His	Gln		
			180					185					190				
Pro	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His		
	195						200					205					
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val		
	210				215						220						
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr		
225					230					235					240		
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu		
				245				250					255				
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys		
			260					265					270				
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser		
			275				280					285					
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys		
	290					295					300						
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile		
305					310					315					320		
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro		
				325					330					335			
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu		
			340					345					350				
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn		
		355					360					365					
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser		
						375					380						
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg		
385					390					395					400		
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu		
				405					410					415			
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
			420					425					430				

REIVINDICACIONES

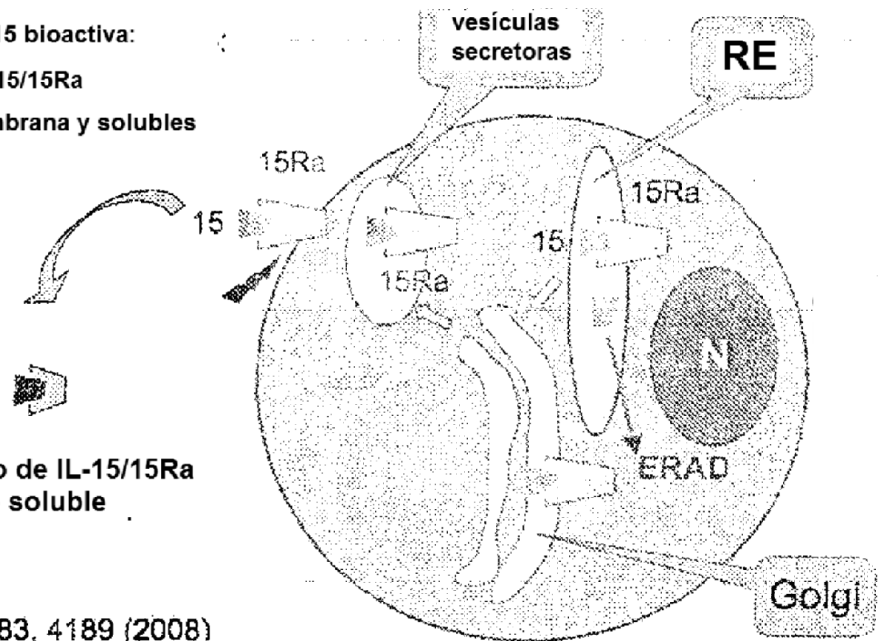
1. Un heterodímero que comprende (i) una IL-15 y (ii) una proteína de fusión de IL-15R α -Fc que comprende un IL-15R α soluble que carece de la porción de anclaje transmembrana fusionada a una región Fc para su uso en un método de prevención o reducción de la linfopenia inducida por fármacos, que comprende administrar sistémicamente el heterodímero a un paciente humano tratado con un agente anticanceroso o que serán tratados con el agente anticanceroso a una dosis que mantiene los niveles suprafisiológicos en plasma de IL-15 durante un período prolongado de tiempo de aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días.
2. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de la reivindicación 1, donde la proteína de fusión IL-15R α -Fc comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de la secuencia de aminoácidos de al menos 95 % con la secuencia de la proteína de fusión IL-15R α -Fc de la SEQ ID NO: 17 o la SEQ ID NO: 20.
3. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de la reivindicación 1 o 2, donde el heterodímero se administra por vía subcutánea.
4. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de la reivindicación 1, 2 o 3, donde el agente anticanceroso es un agente quimioterapéutico que induce linfopenia.
5. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de la reivindicación 4, donde el heterodímero se administra de forma conjunta por vía subcutánea.
6. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de la reivindicación 1, 2, 3 o 4, donde el heterodímero se administra después de un ciclo de tratamiento con el agente anticanceroso.
7. El heterodímero que comprende la IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde los niveles suprafisiológicos IL-15 se mantienen durante un período de tiempo que estimula la migración de las células T maduras a los tejidos periféricos.
8. El heterodímero que comprende la IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde los niveles suprafisiológicos de IL-15 se mantienen durante un período de tiempo que estimula la repoblación de linfocitos en los tejidos periféricos.
9. El heterodímero que comprende la IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el heterodímero se administra a una dosis suficiente para alcanzar los niveles plasmáticos de IL-15 de aproximadamente 1 a 1.000 ng/ml.
10. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 9, donde el heterodímero se libera como un complejo polipeptídico.
11. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el heterodímero se libera como ácido nucleico, donde la IL-15 se expresa de forma conjunta a partir de un único vector con un polinucleótido que codifica la proteína de fusión IL-15R α -Fc.
12. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el heterodímero se libera como ácido nucleico, donde la IL-15 se expresa de forma conjunta a partir de vectores con un polinucleótido que codifica la proteína de fusión IL-15R α -Fc.
13. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de 11 o 12, donde el ácido nucleico que codifica IL-15 y/o el ácido nucleico que codifica la proteína de fusión IL-15R α -Fc codifica un péptido señal heterólogo.
14. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde la proteína de fusión IL-15R α -Fc comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 20.
15. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 14, donde el heterodímero se administra dos o más veces.
16. El heterodímero que comprende IL-15 y la proteína de fusión IL-15R α -Fc para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 15, donde el heterodímero no se administra de forma conjunta con un antígeno.

Figura 1

Estabilización mutua de IL-15 e IL-15Ra

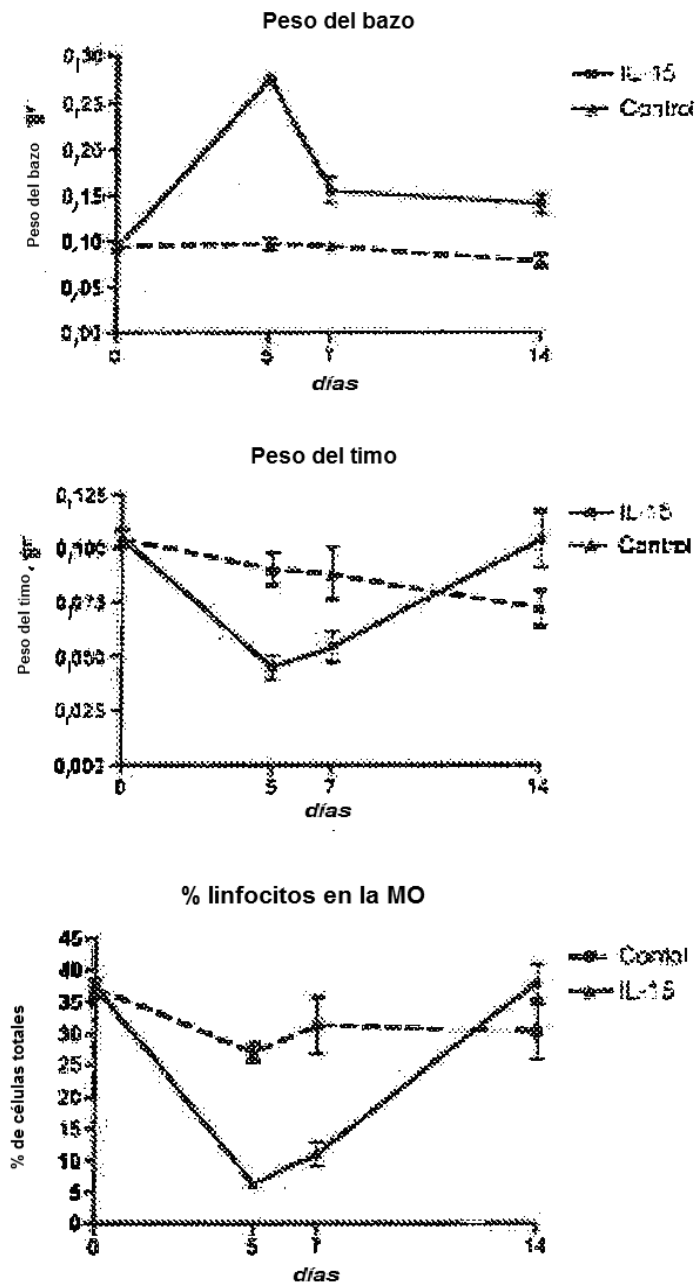
Dos formas de IL-15 bioactiva:
complejos de IL-15/15Ra
asociados a membrana y solubles

Complejo de IL-15/15Ra
bioactivo soluble



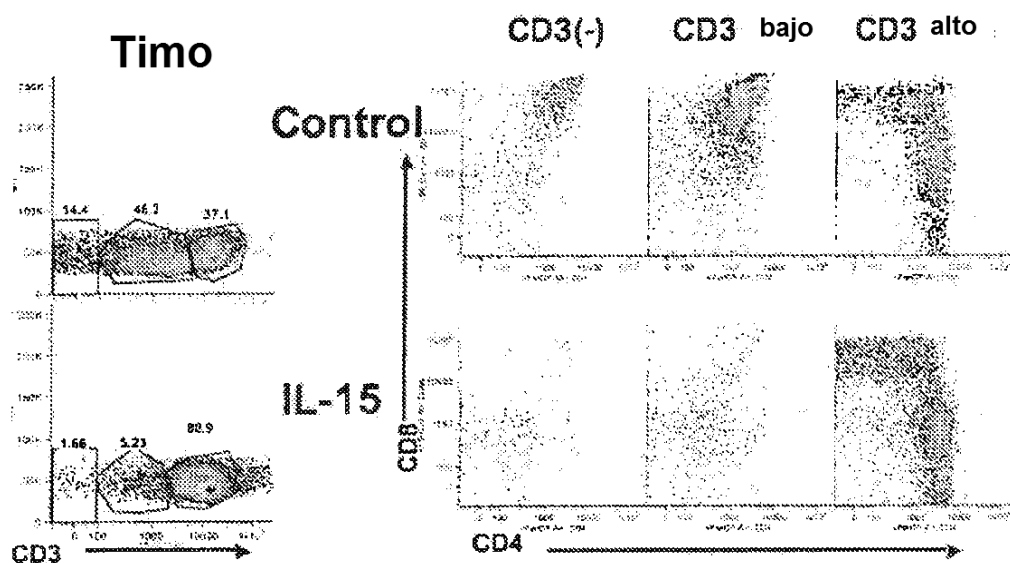
Bergamaschi JBC, 283, 4189 (2008)

Figura 2



Efectos de la IL-15 sobre el bazo, el timo, la MO

Figura 3



Efectos de IL-15 sobre el timo. Las células dobles positivas se han eliminado.

Figura 4

Migración de los timocitos cargados con CFSE en división al pulmón de ratones tratados con IL-15 y control

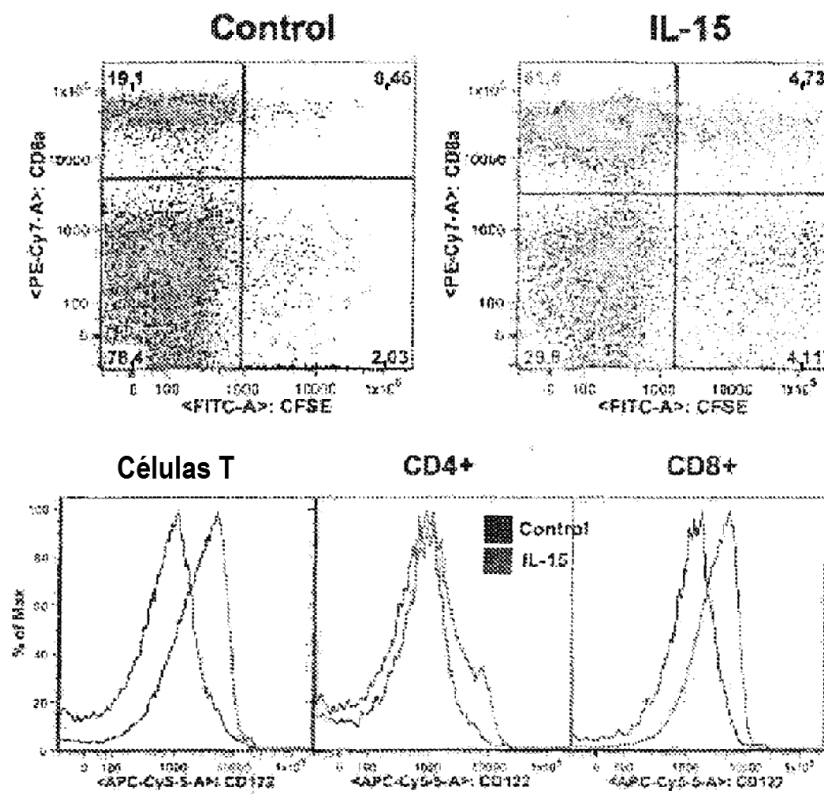


Figura 5

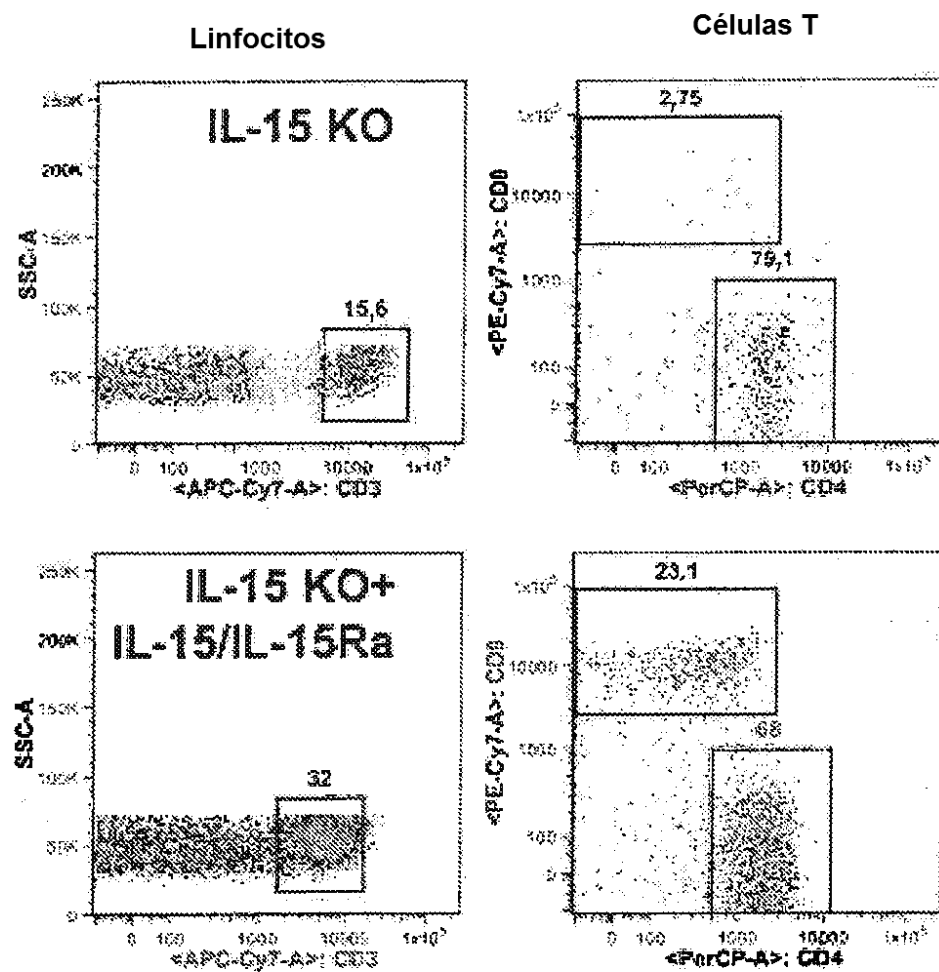


Figura 6

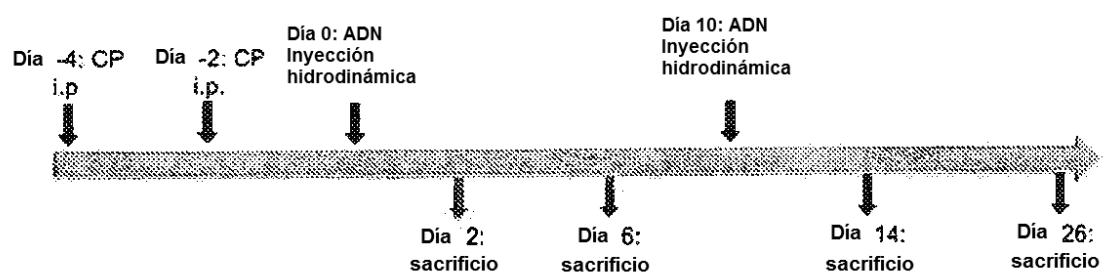


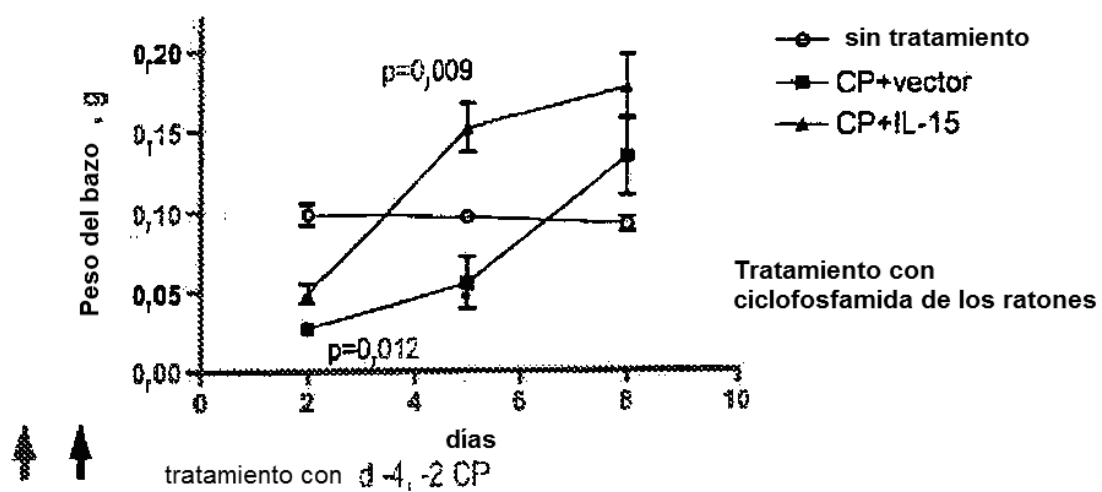
Figura 7

Figura 8

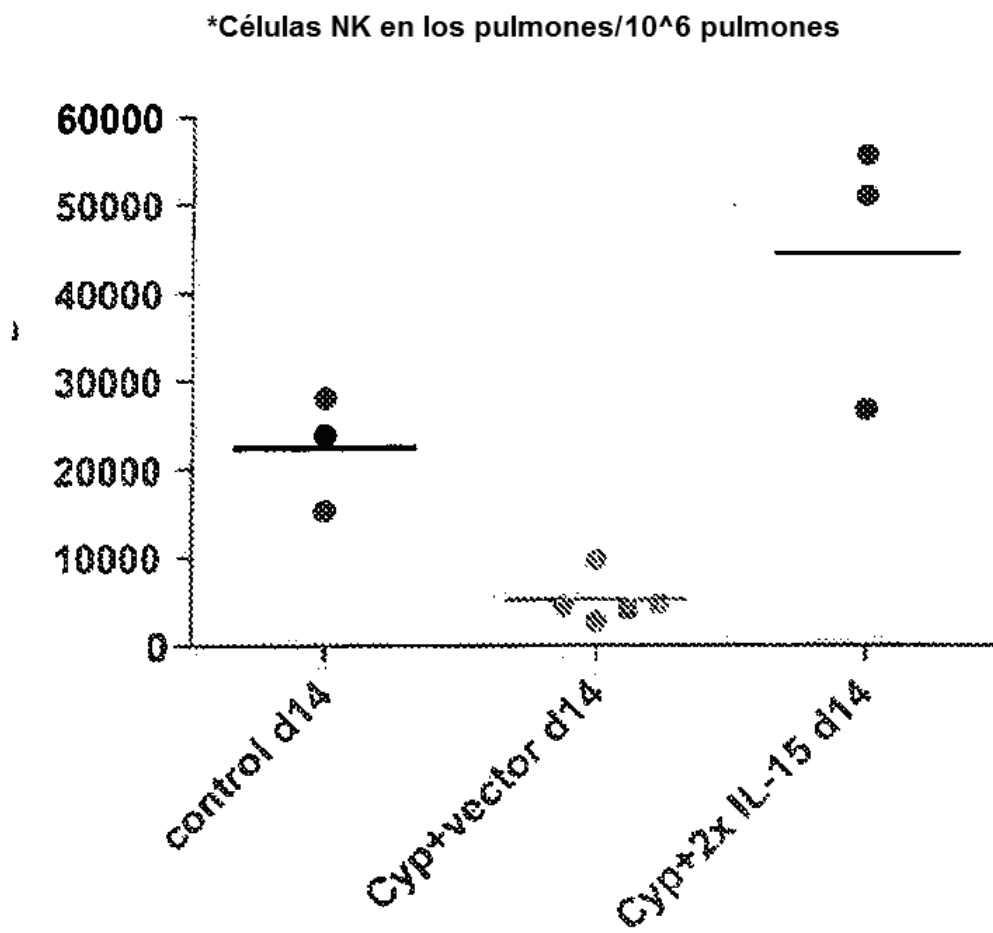


Figura 9

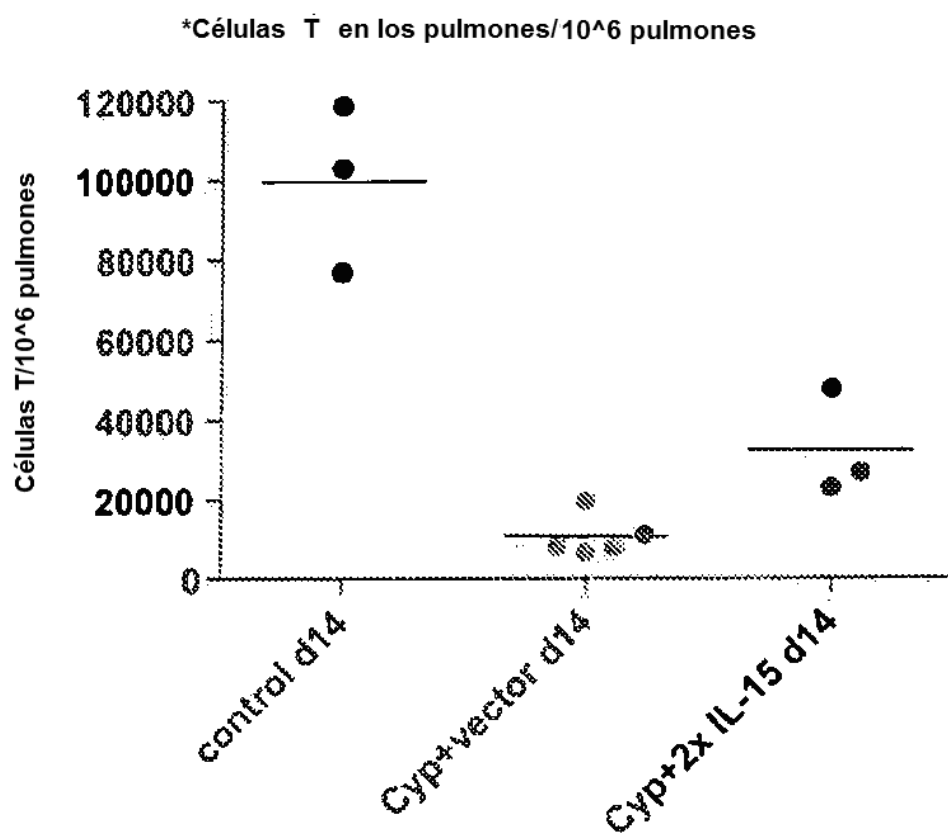


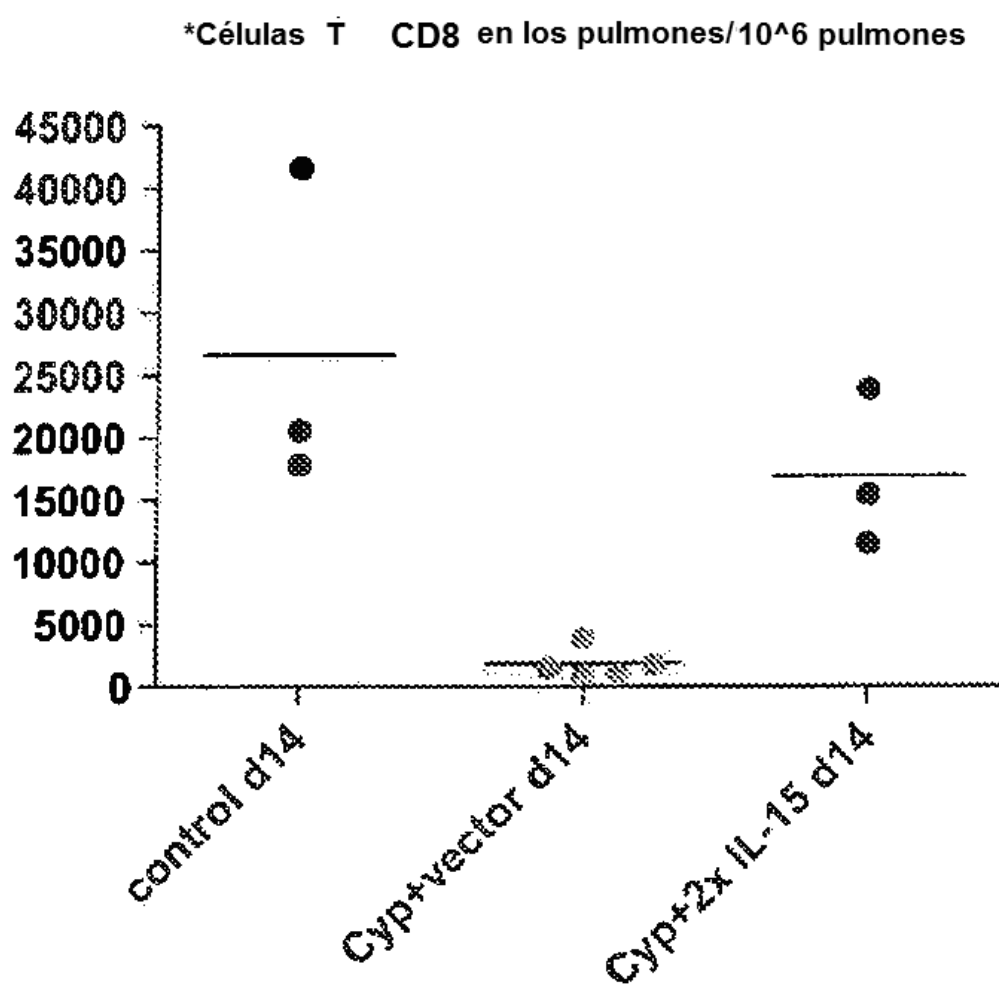
Figura 10

Figura 11

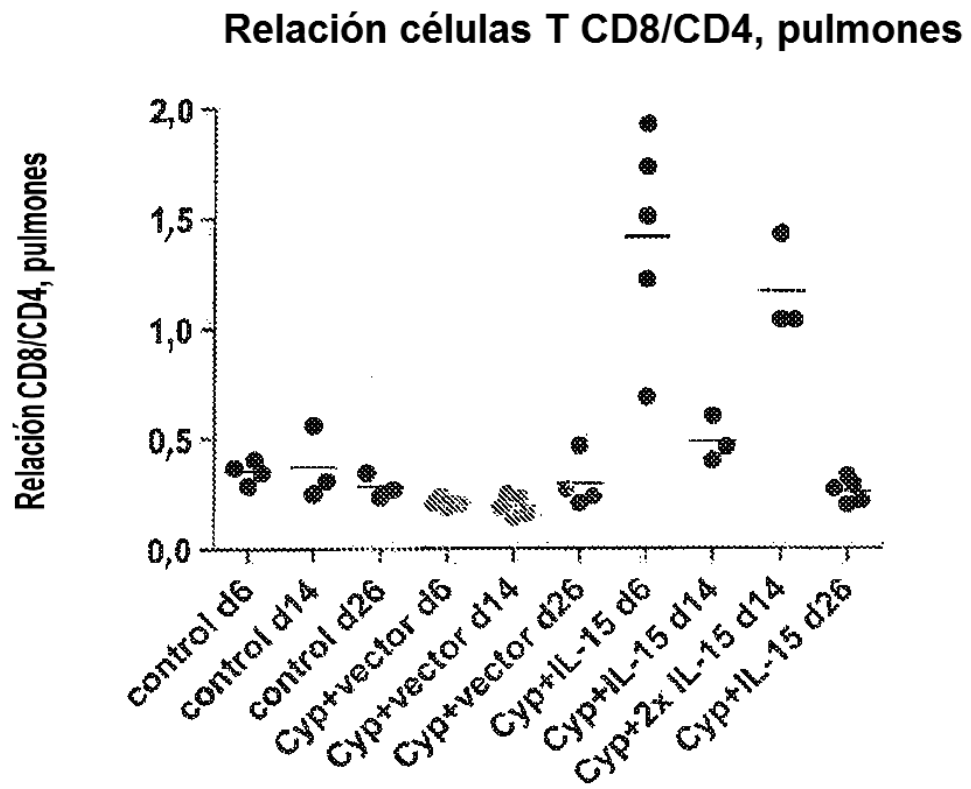


Figura 12

células T/10⁶ esplenocitos

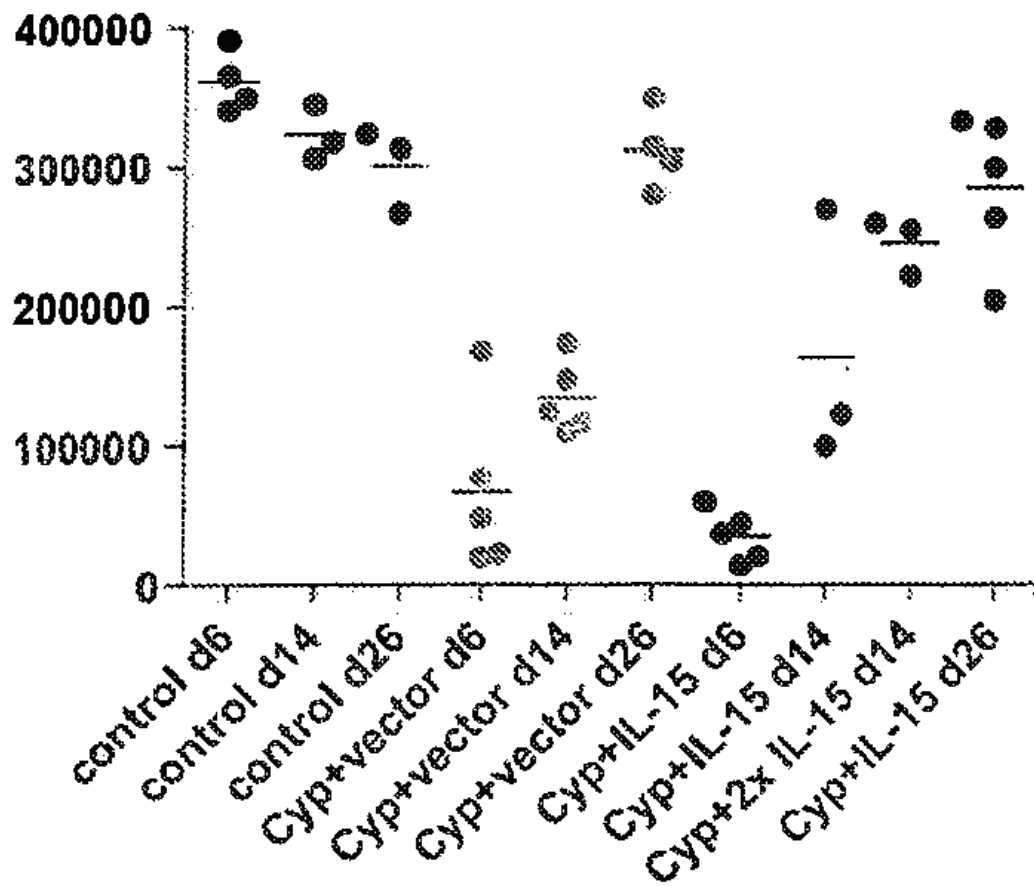


Figura 13

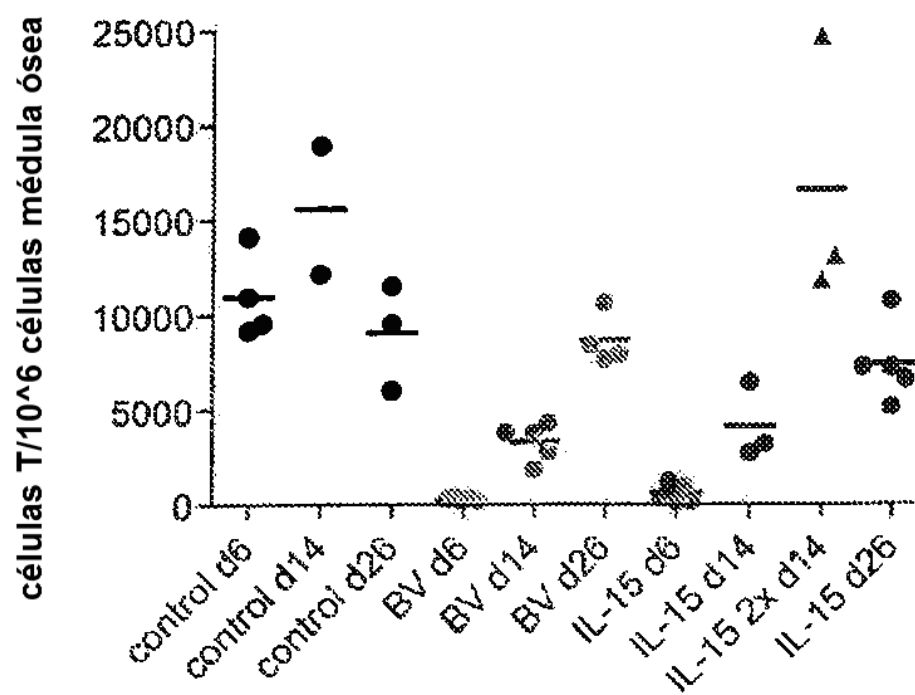


Figura 14

Tratamiento con IL-15/Ra de ratones linfopénicos (tratados con ciclofosfamida)

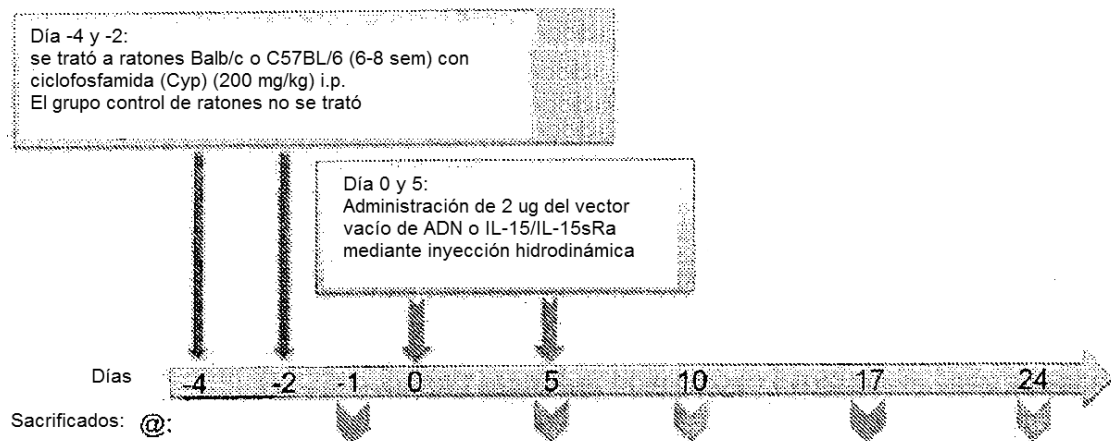
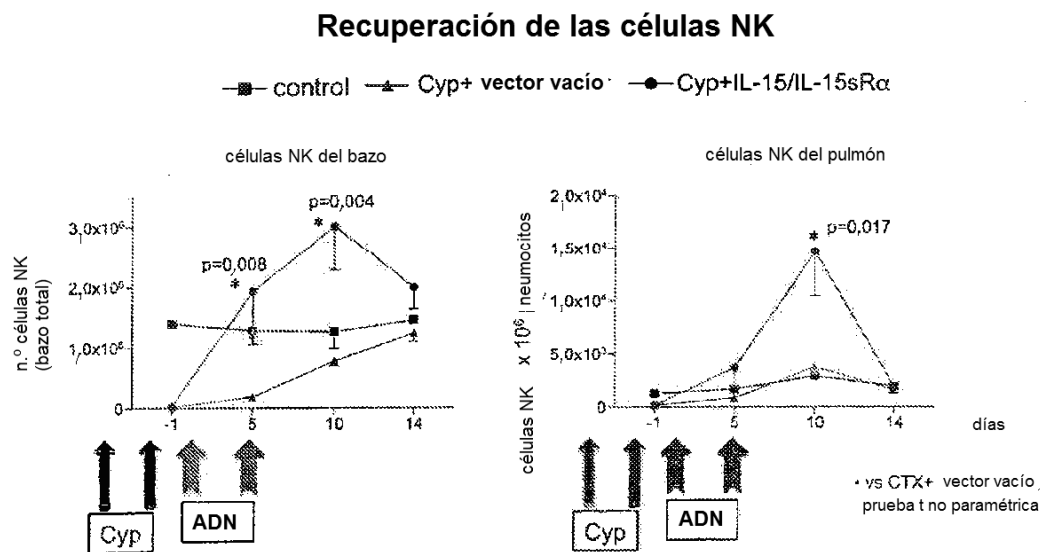
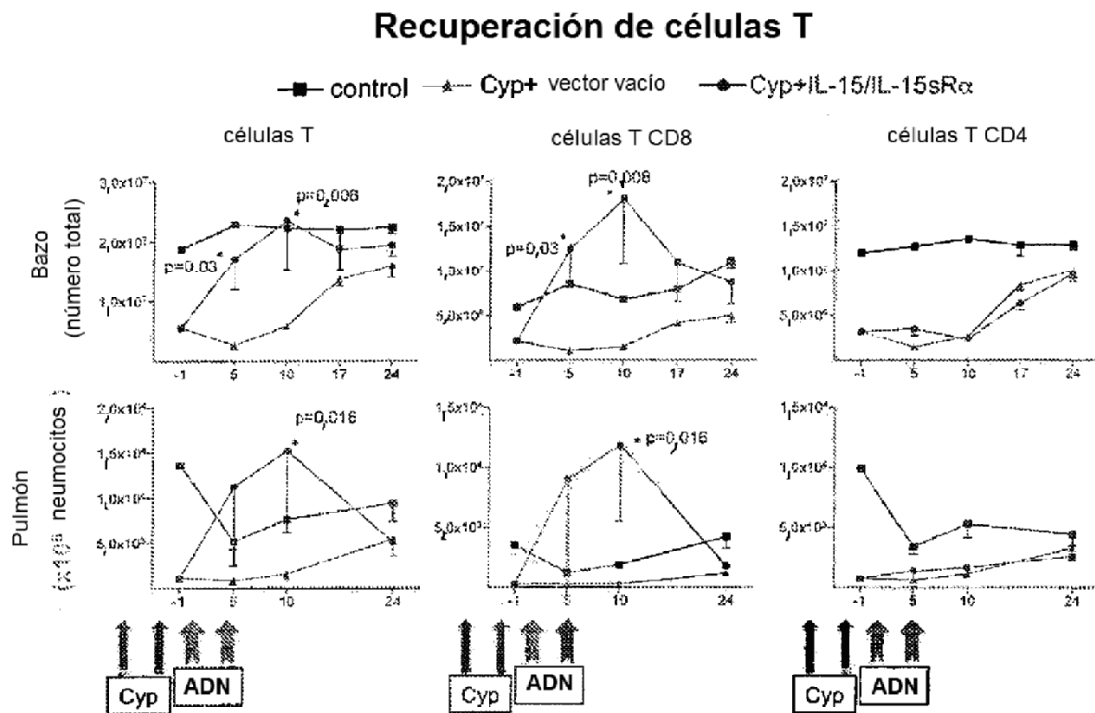


Figura 15



Administración única de ADN que codifica IL-15/IL-15sRa es suficiente para la recuperación completa de las células NK en bazo y pulmones 5 días tras inyección de ADN

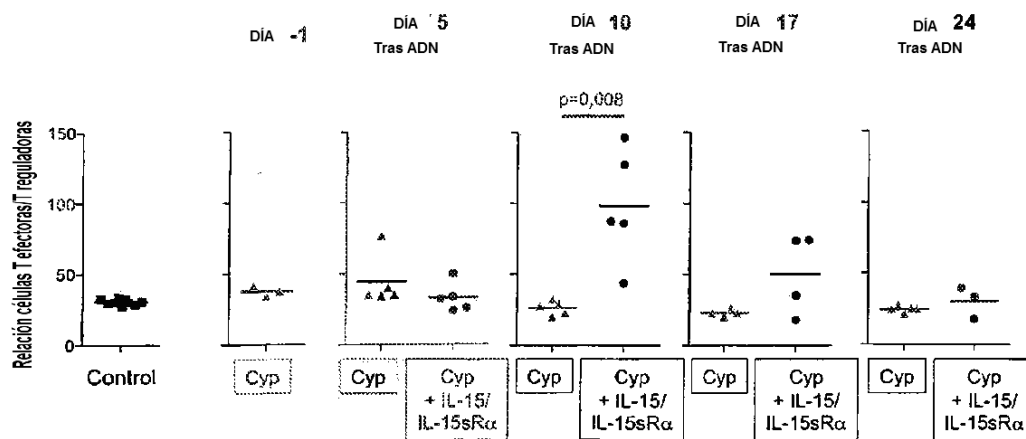
Figura 16



La administración de IL-15/IL15sRa estimula la recuperación de las células T CD8 en 10 días después del tratamiento, sin que afecte significativamente a la recuperación de células T CD4

Figura 17

Relación células T efectoras/T reguladoras tras ablación linfocitaria



• Los niveles altos de IL-15/IL-15sRa estimulan un incremento transitorio de la relación células T efectoras/T reguladoras

Figura 18

Liberación hidrodinámica de vectores de ADN que expresan
diferentes formas de IL-15

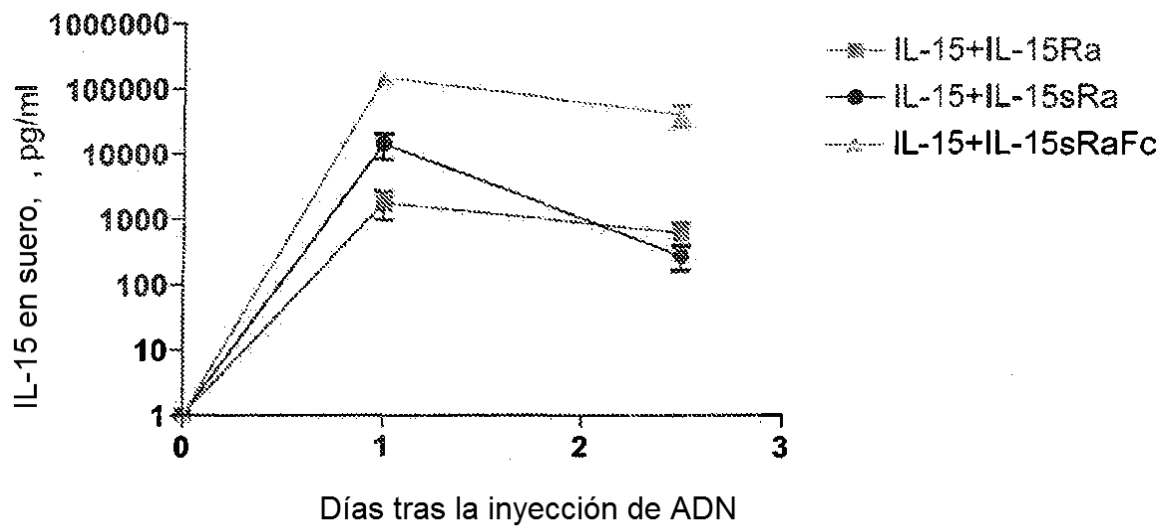


Figura 19

Expresión CD25 en células T de bazo tras la liberación de ADN de IL-15/15Ra

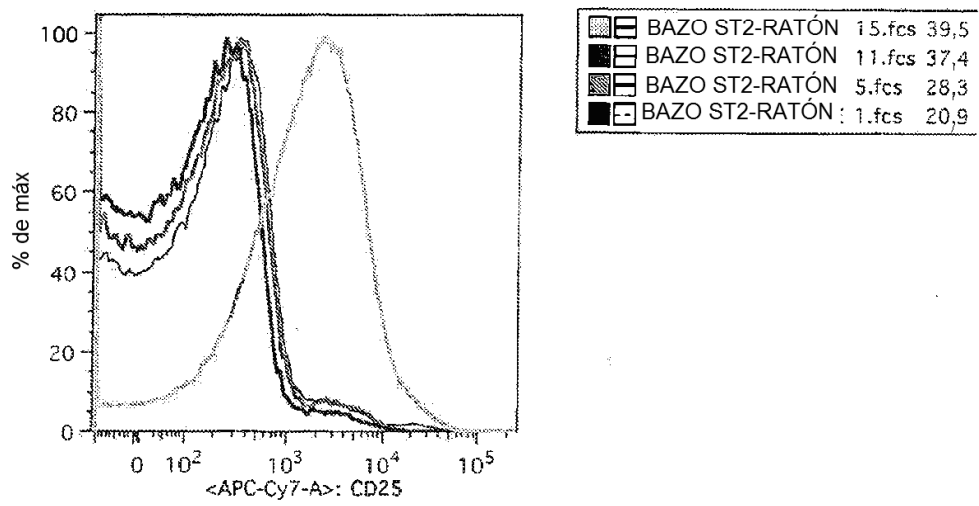


Figura 20

**Expresión de CD62L en la superficie de células T de bazo
tras la liberación de ADN de IL-15/15RA**

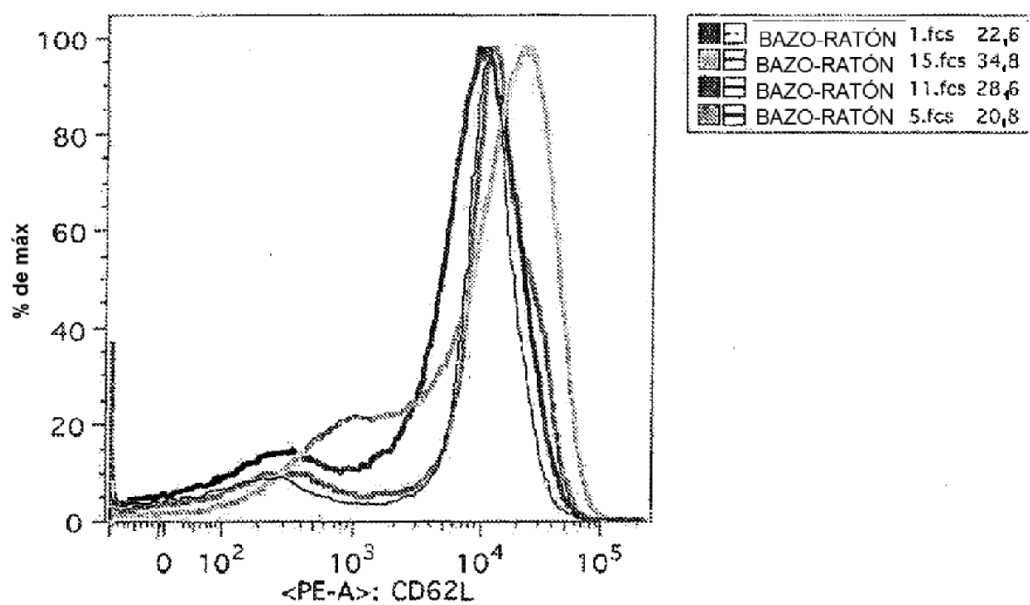


Figura 21

**Expresión de CD44 sobre la superficie de las células T de bazo
tras la liberación de ADN de IL-15/15Ra**

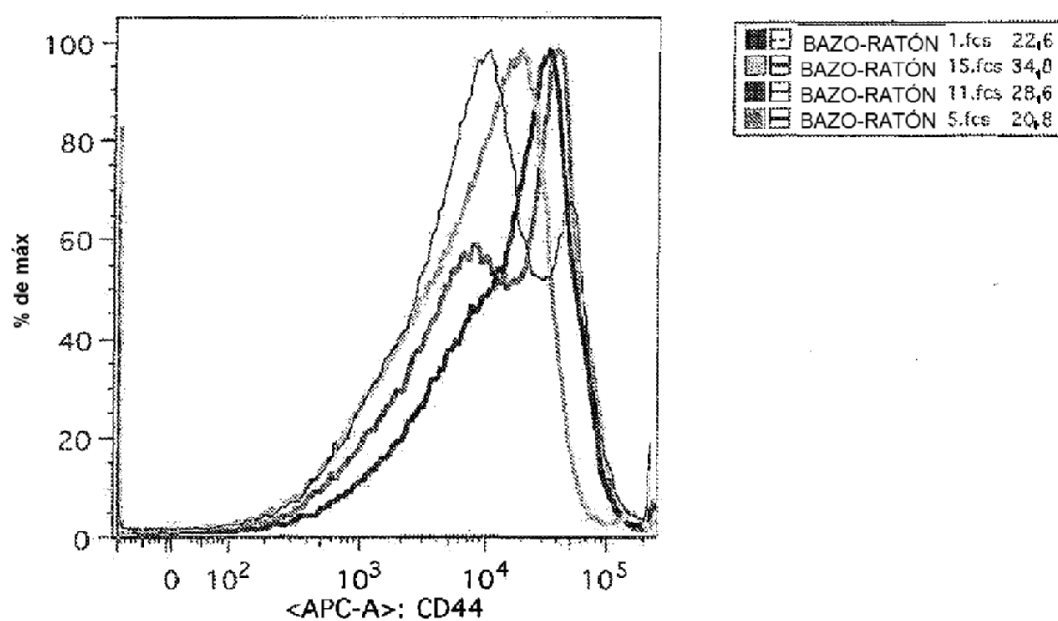


Figura 22

IL-15/IL15sRa purificada es bioactiva in vivo

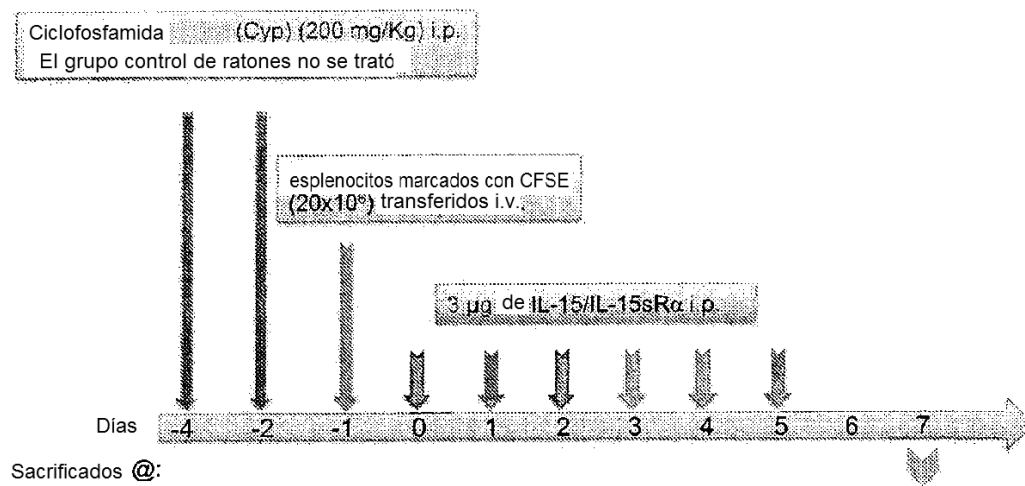


Figura 23

IL-15/IL15sRa purificada es bioactiva in vivo

