

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 035**

51 Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2014** **E 14182945 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.06.2018** **EP 2990416**

54 Título: **Receptor de antígeno universal que expresa células inmunes para direccionamiento de antígenos múltiples diversos, procedimiento para fabricación del mismo y utilización del mismo para tratamiento de cáncer, infecciones y enfermedades autoinmunes**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2018

73 Titular/es:

GEMOAB MONOCLONALS GMBH (100.0%)
Tatzberg 47
01307 Dresden, DE

72 Inventor/es:

BACHMANN, MICHAEL y
EHNINGER, ARMIN

74 Agente/Representante:

ARPE FERNÁNDEZ, Manuel

Observaciones:

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

ES 2 688 035 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

Receptor de antígeno universal que expresa células inmunes para direccionamiento de antígenos múltiples diversos, procedimiento para fabricación del mismo y utilización del mismo para tratamiento de cáncer, infecciones y enfermedades autoinmunes

Ámbito técnico

[0001] La presente invención se refiere a terapias basadas en células inmunes y a procedimientos para utilizar los agentes terapéuticos en el tratamiento de cáncer, infecciones y enfermedades autoinmunes.

Antecedentes de la invención

[0002] Los receptores de antígenos quiméricos (CAR) son receptores artificiales que consisten en una porción de unión que proporciona la especificidad de antígeno y una o varias cadenas de señalización derivada/s de receptores inmunitarios (Cartellieri y col, J.Biomed.Bio-Technol IOD:.. 10.1155 / 2010/956304 (2010)). Estos dos dominios CAR principales están conectados por una cadena peptídica de enlace que incluye un dominio de transmembrana, que ancla el CAR en la membrana plasmática celular. Las células inmunes, en particular los linfocitos T y NK, pueden modificarse genéticamente para expresar los CAR insertados en su membrana plasmática. Si dicha célula inmune modificada CAR encuentra otras células o estructuras tisulares que expresan o están guarnecidas con la diana apropiada de la porción de unión a CAR, tras la unión de la porción de unión CAR al antígeno diana, la célula inmune modificada con CAR se retícula a la diana. La reticulación conduce a una inducción de trayectoria de señal a través de las cadenas de señalización CAR, que cambiarán las propiedades biológicas de la célula inmune injertada CAR. Por ejemplo, la activación de CAR en células T efectoras CD4+ y CD8+, activará las funciones efectoras típicas, como la secreción de compuestos líticos y citoquinas que eventualmente conducirán a la aniquilación de la célula diana respectiva. La transferencia adoptiva de células inmunes diseñadas con receptores de antígenos quiméricos (CAR por sus siglas en inglés) se considera actualmente como una opción terapéutica muy prometedora para el tratamiento de enfermedades malignas, infecciosas o auto-inmunes incurables. Primeros ensayos clínicos demostraron tanto la seguridad y la viabilidad de esta estrategia de tratamiento (Lamers y col. J.Clin.Oncol 24 e20 - e22 (2006), Kershaw y col., Clin.Cancer Res 12 6106 a 6115 (2006)). En ensayos en curso recientes, la mayoría de los pacientes que padecían tumores en etapa tardía de origen de células B mostraron una respuesta completa o al menos parcial a un tratamiento con células T autólogas equipadas con un CAR específico de CD19, que duró varios meses (Brentjens y col., Blood 118 4817 - 4828 (2011), Sci.Transl.Med 20 (5) IDO (identificador de objeto digital): 10.1126 / translmed.3005930 sci- (2013), Kalos y col 2011 Sci.Transl.Med 3 (95) IDO: 10.1126 / scitranslmed.3002842, Grupp y col., N.Engl.J. Med. 368: 1509 - 1518 (2013)).

[0003] Sin embargo, la tecnología CAR convencional viene acompañada de una serie de cuestiones críticas que deben resolverse antes de que esta modalidad de tratamiento pueda aplicarse ampliamente para tratamientos clínicos. En primer lugar, se deben abordar varios problemas de seguridad. Hasta ahora, las respuestas inmunitarias de las células T diseñadas con CAR convencionales son difíciles de controlar después de infundirla en el paciente. La expresión del gen diana especialmente inesperada en el tejido sano puede provocar una reacción inmunitaria rápida y severa de las células T diseñadas contra las células sanas, que pueden causar efectos secundarios (Lamers y col., J.Clin.Oncol. 24 e20 - e22 (2006), Morgan y col. Mol.Ther. 18: p.843 - 851 (2010). Otro inconveniente de la tecnología CAR convencional es la restricción de redireccionado a un antígeno único de células T diseñadas. Este enfoque mono-terapéutico implica el riesgo de desarrollo de variantes tumorales de elusión, que han perdido el antígeno diana durante el tratamiento. La aparición de variantes tumorales de elusión bajo la terapia convencional de células T CAR después de varios meses ya fue observada en ensayos clínicos (Grupp y col., N.Engl.J. Med. 368: 1509 - 1518 (2013)).

[0004] El documento WO 2013074916 A1 describe células T genéticamente modificadas, portantes de un receptor de antígeno quimérico (CAR) y que han sido manipuladas para alterar su receptor de células T o la función de antígeno de leucocito humano. El dominio de unión a antígeno de la célula T de CAR está dirigido hacia un antígeno asociado a tumor.

[0005] El documento WO 2013126712 A1 describe células T genéticamente modificadas, portantes de un receptor de antígeno quimérico (CAR) cuya unión a antígeno media una interacción directa con una célula tumoral

[0006] Arndt y col. (Leukemia (2014), 28, 59-69) describen un sistema de direccionamiento modular, consistente en una porción de unión a célula diana y una porción de unión de célula efectora separada. Ambos componentes están conectados a través de una interacción scFv epítipo. El epítipo se deriva de la proteína humana La.

[0007] El documento WO 2012082841 A2 revela células T que expresan receptor de antígeno quimérico anti marcador universal y procedimientos para tratamiento de enfermedades relacionadas con células, por ejemplo cáncer.

[0008] Además, el documento WO 2013044225 A1 da a conocer un receptor inmune universal expresado por células T, para el direccionamiento a antígenos diversos y múltiples.

[0009] Ambos procedimientos describen la utilización de células T modificadas que expresan receptores inmunitarios anti-marcador universales. Estas células T pueden redirigirse a antígenos de superficie celular

relacionados con enfermedad aplicando adicionalmente módulos que unen estos antígenos de superficie y que portan el marcador respectivo.

[0010] El problema que surge de los procedimientos mencionados anteriormente es que un redireccionamiento de las células T genéticamente modificadas utilizando marcadores exógenos es probable que sea inmunogénica, lo que pondrá a los pacientes en peligro y afectará negativamente a la eficacia del tratamiento. Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar una célula inmune genéticamente modificada que permita un redireccionamiento contra diversas enfermedades de una manera segura y eficaz utilizando marcadores endógenos basados en proteínas nucleares. Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un procedimiento de tratamiento de diversos trastornos relacionados con células, en el que la duración y la intensidad del tratamiento son ajustables de una manera sencilla.

Sumario de la invención

[0011] La presente invención proporciona un sistema modular de receptor de antígeno quimérico anti-marcador universal, (UniCAR) que permite un redireccionamiento de las células inmunes injertadas UniCAR contra múltiples antígenos. El sistema utiliza una plataforma de terapia génica para generar células inmunes capaces de reconocer varios antígenos y que tiene amplias y valiosas implicaciones clínicas para la utilización de terapias basadas en células inmunes, en particular terapias basadas en células T y NK.

[0012] En un primer aspecto, la presente invención proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno de quimérico universal, en el que el receptor comprende tres dominios, donde el primer dominio es un dominio de unión a marcador, el segundo dominio es una cadena de péptido de enlace que incluye una bisagra extracelular y un dominio transmembrana y en el que el tercer dominio es un dominio de transducción de señal, donde el dominio de unión a marcador se une a un marcador derivado de cualquier proteína nuclear humana, donde el marcador es un epítipo lineal corto de la proteína nuclear La humana (E5B9) y en el que el dominio de unión a marcador es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno derivado de anticuerpo del mismo y en el que el dominio de unión a marcador se une al respectivo epítipo de La (5B9). Otros marcadores útiles son las secuencias peptídicas de antígenos nucleares, a las que no se puede acceder y ni unirse mediante el dominio de unión a marcador correspondiente en el contexto de la proteína nativa bajo condiciones fisiológicas. Además, la secuencia peptídica no debería ser la diana de auto-anticuerpos en pacientes autoinmunes, por lo que es poco probable que el marcador sea inmunogénico en el contexto del receptor quimérico universal. Un cuarto dominio opcional es un conector de péptido corto en la porción extracelular de UniCARs, que forma un epítipo lineal para un anticuerpo monoclonal (mAB) que se une específicamente al cuarto dominio. Este dominio adicional no es necesario para la funcionalidad del sistema UniCAR, pero puede agregar un beneficio clínico adicional a la invención. Preferiblemente, la presente invención proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno quimérico universal según la presente invención, donde la secuencia de ácido nucleico codifica una proteína de fusión quimérica artificial y donde la secuencia de ácido nucleico se proporciona como ADNc.

[0013] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un módulo diana para utilizar en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmune mediada por receptor antigénico quimérico universal en un mamífero compuesto por una porción de unión específica para una determinada proteína de superficie o complejo proteico de célula humana y un marcador, en donde el marcador es un epítipo lineal corto de la proteína nuclear La humana (E5B9).

[0014] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica un módulo diana para su utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por receptor antigénico quimérico universal en un mamífero de acuerdo con la presente invención. Preferiblemente, la presente invención proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana de acuerdo con la presente invención, en donde el nucleico aislado se proporciona como ADNc.

[0015] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una célula que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal de acuerdo con la presente invención que comprende tres dominios, en donde el primer dominio es un dominio de unión a marcador, el segundo dominio es una cadena de péptido de unión incluyendo una bisagra extracelular y un dominio transmembrana y el tercer dominio es un dominio de transducción de señal y en donde el dominio de unión a marcador se une al epítipo lineal corto E5B9 de la proteína nuclear La humana. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal según la presente invención, en el que dicho receptor de antígeno quimérico universal comprende tres dominios, donde el primer dominio es un dominio de unión a marcador, el segundo dominio es una cadena peptídica de enlace que incluye una bisagra extracelular y un dominio transmembrana y siendo el tercer dominio un dominio de transducción de señal, donde el dominio de unión a marcador se une al epítipo lineal corto E5B9 de la proteína nuclear humana. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un kit que comprende un vector de acuerdo con la presente invención que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal según la presente invención y un módulo diana como se definió anteriormente y/o un vector que codifica una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana como se definió anteriormente. También se describe una composición farmacéutica que contiene células de acuerdo con la invención y módulos

diana como se describe en este documento en asociación con un agente de dilución o vehículo farmacológicamente aceptable. Preferiblemente, la composición farmacéutica está presente en una forma adecuada para administración intravenosa.

[0016] Preferiblemente, la composición comprende células comprendiendo un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal de acuerdo con la presente invención y módulos diana como se describe en este documento. La composición farmacéutica comprende diversas formas de administración. Las composiciones farmacológicas se administran preferiblemente por vía parenteral, de manera particularmente preferida por vía intravenosa. La composición farmacéutica parenteral puede existir en una forma de administración que es adecuada para inyectar. Las composiciones particularmente preferidas son, por lo tanto, soluciones, emulsiones o suspensiones de la célula y el módulo diana que están presentes en un agente o vehículo de dilución farmacológicamente aceptable.

[0017] Como vehículo se utilizan, preferiblemente agua, agua tamponada, solución salina al 0,4%, glicina al 0,3% y disolventes similares. Las soluciones están esterilizadas. Las composiciones farmacológicas se esterilizan mediante técnicas convencionales bien conocidas. Las composiciones contienen preferiblemente excipientes farmacológicamente aceptables, por ejemplo, los que se requieren para proporcionar condiciones fisiológicas y/o para aumentar la estabilidad del anticuerpo, tales como agentes para ajustar el valor del pH y agentes tampón, agentes para ajustar la toxicidad y similares, preferiblemente seleccionados entre acetato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y lactato de sodio. Las concentraciones de los anticuerpos de acuerdo con la invención en estas formulaciones, dependiendo de la aplicación, son variables; preferiblemente son menores del 0,01% en peso, preferiblemente menores del 0,1% en peso, más preferiblemente entre el 1 y el 5% en peso y se seleccionan principalmente a partir de volúmenes de fluido, viscosidad etc., o de acuerdo con el modo de administración respectivo.

[0018] Las composiciones farmacológicas deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una solución, una micro-emulsión, una dispersión, en liposomas o en otras estructuras ordenadas que son adecuadas para este fin y que conocen los expertos.

[0019] Las células de la invención y el módulo diana se introducen preferiblemente en una composición que es adecuada para administración parenteral. Preferiblemente, la composición farmacéutica es una solución tamponada inyectable que contiene entre 0,1 y 500 mg/ml de anticuerpo, especialmente preferido entre 0,1 y 250 mg/ml de anticuerpo, en particular junto con 1 a 500 mMol/l (mM) de un tampón. La solución inyectable puede estar presente en forma líquida. El tampón puede ser preferiblemente histidina (preferiblemente de 1 a 50 mM, especialmente preferido de 5 a 10 mM) a un valor de pH de 5,0 a 7,0 (especialmente preferido a un pH de 6,0).

[0020] Otros tampones adecuados abarcan, pero no se limitan explícitamente a, succinato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio o fosfato de potasio. Preferiblemente, se usa cloruro de sodio entre 0 a 300 mM, especialmente preferido 150 mM, para una forma de administración líquida. En formas de administración líquida, se usan preferiblemente estabilizadores, especialmente preferidos entre 1 a 50 mM de L-metionina (preferiblemente entre 5 y 10 mM). Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende el anticuerpo en una cantidad de dosificación de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg por administración. Cantidades de dosificación especialmente preferidas contienen 1 mg/kg de peso corporal.

[0021] En un aspecto adicional, la invención proporciona las células de acuerdo con la presente invención que comprenden un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal de acuerdo con la presente invención y módulos diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por receptor de antígeno quimérico universal en un mamífero. Preferiblemente, la invención proporciona las células según la presente invención que comprenden un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico universal de acuerdo con la presente invención y módulos diana como se describe en la presente memoria para utilizar como medicación, más preferiblemente como medicamento para el tratamiento de cáncer o una enfermedad autoinmune. Una enfermedad autoinmune surge de una respuesta inmunitaria anormal del cuerpo contra sustancias y tejidos normalmente presentes en el cuerpo (autoinmunidad). También se describe la utilización de las células de la invención y los módulos diana para preparar un medicamento para uso terapéutico y/o diagnóstico en caso de cáncer o una enfermedad autoinmune. También se describe un procedimiento para el tratamiento de un ser humano que padece cáncer o una enfermedad autoinmunitaria mediante la administración de las células y los módulos diana de la invención. Para aplicaciones terapéuticas, se administra a un paciente una composición farmacéutica estéril que contiene una cantidad farmacológicamente efectiva de las células y el módulo diana de la invención para tratar las enfermedades mencionadas anteriormente.

[0022] La invención se explicará con más detalle con la ayuda de las siguientes figuras y realizaciones sin limitarse la invención a ellas.

Descripción detallada de las figuras

[0023]

La figura 1 representa una ilustración esquemática del receptor de antígeno quimérico universal (UniCAR), La figura 2 muestra una ilustración esquemática de la plataforma del receptor universal de antígenos quiméricos (UniCAR) para el redireccionamiento de células inmunes específicas de antígeno, La figura 3 muestra un mapa esquemático del vector lentiviral pLVX-EF1 α -IRES-ZsGreen1, La figura 4 muestra un mapa esquemático del plásmido de empaquetamiento lentiviral psPAX2, La figura 5 muestra un mapa esquemático del plásmido pMD2.G de envoltura.

La figura 6 representa diagramas que muestran la expresión de superficie de UniCAR detectada mediante la utilización de un anticuerpo monoclonal dirigido contra el 4^o dominio opcional.

La figura 7 muestra diagramas de funciones efectoras de células T diseñadas UniCAR frente a células tumorales que expresan el antígeno de células madre de próstata y el antígeno de membrana de próstata.

5 La figura 8 muestra diagramas de curvas de concentración-respuesta para diferentes módulos diana,

La figura 9 muestra diagramas de las funciones efectoras de las células T diseñadas UniCAR frente a la leucemia mieloide aguda,

La figura 10 representa diagramas que muestran la redirección de células T injertadas UniCAR contra dos antígenos simultáneamente y

10 La figura 11 representa diagramas que muestran la farmacocinética in vivo del módulo diana α CD123-CD33 bi-específico.

Descripción detallada de la invención

15 Células efectoras

[0024] Las células efectoras utilizadas en los procedimientos de la presente invención pueden ser autólogas, singénicas o alogénicas, dependiendo la selección de la enfermedad a tratar y los medios disponibles para hacerlo. Las poblaciones adecuadas de células efectoras que pueden usarse en los procedimientos incluyen cualquier célula inmune con actividad citolítica, fagocítica o inmunosupresora, tales como células T, que incluyen células T reguladoras, células NK y macrófagos. En un aspecto, las células efectoras son de un cierto antecedente HLA y se utilizan en un sistema autólogo o alogénico. Las células efectoras se pueden aislar de cualquier fuente, incluyendo un explante tumoral del sujeto que está siendo tratado o células intratumorales del sujeto que se está tratando. A continuación, el término "célula efectora" se refiere a cualquier tipo de células inmunes mencionadas anteriormente genéticamente alteradas para expresar UniCAR en su superficie celular.

25

Receptor de antígeno quimérico universal (UniCAR)

[0025] The UniCAR expressed by effector cells used in the methods of the present invention allows for a modular, highly flexible and tightly controllable retargeting of UniCAR expressing immune cells in an antigen-specific manner. The sole requirements for the UniCARs used in the methods are (i) that the UniCAR has binding specificity for a particular tag that can be conjugated to a target module, which in turn binds to a cellular surface protein or an extracellular structure, and (ii) that immune cells can be engineered to express the UniCAR. El UniCAR expresado por las células efectoras utilizadas en los procedimientos de la presente invención permite un redireccionamiento modular, altamente flexible y estrechamente controlable de las células inmunes que expresan UniCAR de una manera específica de antígeno. Los únicos requisitos para los UniCAR utilizados en los procedimientos son (i) que el UniCAR tenga especificidad de unión para un marcador particular que pueda conjugarse con un módulo diana, que a su vez se une a una proteína de superficie celular o a una estructura extracelular, y (ii) que las células inmunes se pueden diseñar para expresar el UniCAR.

35

[0026] El UniCAR comprende tres dominios (figura 1). El primer dominio es el dominio de unión a marcador. Este dominio está típicamente presente en el extremo terminal amino del polipéptido que comprende el UniCAR. La localización del dominio de unión a marcador en el extremo amino permite acceso libre del dominio de unión a marcador al módulo diana marcado que está unido a la célula diana. El dominio de unión a marcador típicamente es, pero sin limitarse a, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. La identidad del anticuerpo o fragmento solo está limitada por la identidad del marcador del módulo diana marcado. El marcador es un epítipo lineal corto de la proteína nuclear humana La (E5B9). El anticuerpo puede obtenerse de cualquier especie de animal, aunque preferiblemente de un mamífero tal como un humano, un simio, un ratón, una rata, un conejo, una cobaya, un caballo, una vaca, una oveja, una cabra, un cerdo, un perro o un gato. Preferiblemente, los anticuerpos son anticuerpos humanos o humanizados. Tampoco existe una limitación en la clase particular de anticuerpo que puede usarse, incluidos los anticuerpos IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE. Los fragmentos de anticuerpo incluyen un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), anticuerpos de cadena sencilla, fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fab y fragmentos producidos por una biblioteca de expresión Fab, con la única limitación de que los fragmentos de anticuerpo conserven la capacidad de unirse al marcador seleccionado. Los anticuerpos también pueden ser anticuerpos policlonales, monoclonales o quiméricos, como cuando una región de unión a antígeno (por ejemplo, F(ab')₂ o región hipervariable) de un anticuerpo no humano se transfiere a la región de un anticuerpo humano por técnicas de ADN recombinante para producir una molécula sustancialmente humana. Los fragmentos de unión a antígeno, tales como scFv, se pueden preparar a partir de los mismos. Los anticuerpos para seleccionar un marcador pueden producirse por inmunización de diversos huéspedes, que incluyen, entre otros, cabras, conejos, ratas, ratones, humanos, mediante inyección con una proteína particular o cualquier porción, fragmento u oligopéptido que retenga las propiedades inmunogénicas de la proteína.

50

55

60

[0027] Dependiendo de la especie huésped, se pueden usar diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica. Dichos adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, toxinas lábiles a calor detoxificadas de E. coli, geles minerales de Freund, tales como hidróxido de aluminio, y sustancias tensioactivas tales como lisolecitina, polioles pluriónicos, polianiones, péptidos, emulsiones oleosas, hemocianina de lapa californiana, y dinitrofenol. También son adyuvantes potencialmente útiles BCG (Bacillus Calmette-Guerin) y Corynebacterium parvum. Los anticuerpos y fragmentos de los mismos se pueden preparar usando cualquier técnica que proporcione la

65

producción de moléculas de anticuerpo, tales como líneas continuas de cultivo celular para la producción de anticuerpos monoclonales. Tales técnicas incluyen, pero no se limitan a, la técnica de hibridoma descrita originalmente por Koehler y Milstein (Nature 256: 495-497 (1975)), la técnica de hibridoma de células B humanas (Kosbor y col., Immunol Today 4:72 (1983), Cote y col., Proc Natl. Acad. Sci 80: 2026-2030 (1983)), y la técnica de hibridoma EBV (Cole y col., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss Inc, Nueva York NY, páginas 77-96 (1985)). También se pueden utilizar técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos", es decir, el empalme de genes de anticuerpos de ratón con genes de anticuerpos humanos para obtener una molécula con especificidad de antígeno y actividad biológica apropiadas (Morrison y col., Proc Natl. Acad. Sci. 81: 6851 - 6855 (1984); Neuberger y col., Nature 312: 604 - 608 (1984), Takeda y col., Nature 314: 452 - 454 (1985)). Alternativamente, las técnicas descritas para la producción de anticuerpos de cadena sencilla pueden adaptarse para producir anticuerpos de cadena sencilla específicos de marcador.

[0028] En un aspecto, el dominio de unión a marcador es un fragmento variable de cadena sencilla (scFv). Un scFv comprende las regiones variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL) de un anticuerpo, unidas típicamente a través de un péptido corto de diez hasta aproximadamente 25 aminoácidos. El conector puede conectar el terminal-N de la VH con el terminal-C de la VL, o viceversa.

[0029] Como se indicó anteriormente, la especificidad de unión del dominio de unión a marcador dependerá de la identidad del marcador que está conjugada con la proteína que se usa para unir las estructuras diana.

[0030] De acuerdo con la presente invención, el marcador es un epítipo lineal corto de la proteína nuclear humana La (E5B9), el dominio de unión a marcador puede constituir un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno derivado de anticuerpo, por ejemplo un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que se une al epítipo de La (5B9) respectivo. El uso del epítipo anti-La 5B9 en el sistema UniCAR es ventajoso debido al hecho de que el epítipo anti-La scFv no interacciona con la proteína La nativa unida a la superficie de las células en condiciones fisiológicas normales. Por lo tanto, la interacción no deseada de células inmunes que expresan UniCAR, por ejemplo, células T o NK, con epítipo 5B9 en La nativa, es imposible. Esto conduce a minimizar el riesgo de toxicidades fuera de sitio en diana incontroladas por UniCAR que expresa células inmunes como la liberación de niveles tóxicos de citocinas, a las que se hace referencia como tormentas de citocinas o síndrome de liberación de citocinas (CRS). Se confirmó la reactividad del *mAB* respectivo con proteína La desnaturalizada en una Western blot (electrotransferencia), pero no con la proteína de La nativa en un experimento de inmunoprecipitación (figura 3). Además, aunque el síndrome de Sjogren y los pacientes con lupus eritematoso sistémico generan autoanticuerpos contra una variedad de epítopos La, no se han identificado autoanticuerpos contra E5B9, lo que sugiere que este epítipo no es inmunogénico (Yiannaki y col., Clin Exp Immunol., 112 (1): 152 - 8 (1998)).

[0031] El segundo dominio del UniCAR es una bisagra extracelular y un dominio transmembrana (TM). El dominio de bisagra permite que el UniCAR sobresalga de la superficie de la célula efectora para una unión óptima a su marcador. El dominio TM ancla el UniCAR en la membrana celular de la célula efectora. Los dominios de bisagra y los TM ejemplares incluyen, pero no se limitan a, las regiones bisagra y de transmembrana de la molécula CD28 humana, la cadena CD8a, receptores de células NK como el grupo asesino natural 2D (NKG2D) o partes de la región constante de un anticuerpo como así como combinaciones de varios dominios de bisagra y TM.

[0032] El tercer dominio, cuando está presente, es el dominio de transducción de señal. Este dominio transmite una señal celular en la célula efectora portadora de UniCAR tras el reticulado de la célula efectora a una célula o estructura extracelular. El reticulado entre la célula efectora y la célula diana está mediado y depende de la presencia de (i) un módulo diana que se une a su porción de unión particular en la célula diana o estructura extracelular diana y soporta un marcador y (ii) el UniCAR expresado en la superficie de la célula efectora puede reconocer y unirse al marcador incluido en el módulo diana. La activación de células efectoras incluye la inducción de citoquinas o quimiocinas, así como la activación de la actividad citolítica, fagocítica o supresora de la célula efectora. Los dominios de transducción de señales de células efectoras ejemplares incluyen, pero sin limitarse a, las regiones citoplasmáticas de CD28, CD137 (41BB), CD134 (OX40), DAP10 y CD27, que sirven para mejorar la supervivencia y proliferación de células T; receptores inhibitorios como muerte celular programada 1 (PD-1) y antígeno linfocítico citotóxico 4 (CTLA-4), así como regiones citoplasmáticas de las cadenas CD3 (por ejemplo, CD3zeta), receptores Fc y DAP12 que inducen activación de células T y NK. En el UniCAR se pueden incluir uno o más dominios de transducción de señal, tales como dos, tres, cuatro o más dominios activadores o co-estimulantes de las células inmunes.

[0033] En una realización adicional, el UniCAR comprende un cuarto dominio que es un conector de péptido corto en la porción extracelular de UniCAR (figura 1). Se requiere, por su funcionalidad, que este cuarto dominio forme un epítipo lineal que permita la unión de un anticuerpo monoclonal específico con una afinidad razonable. En el cuarto dominio se pueden incluir uno o más epítopos lineales y se pueden localizar como conector en el dominio de unión a marcador, entre el dominio de unión a marcador y el conector extracelular o una parte integral del dominio de la bisagra extracelular. Con la ayuda del cuarto dominio opcional, las células inmunes injertadas UniCAR pueden estimularse específicamente, de modo que las células inmunes injertadas UniCAR proliferan de forma preferencial y persisten más tiempo en comparación con las células inmunes sin injertar in vitro o in vivo. El cuarto dominio también se puede usar para purificar células inmunes injertadas UniCAR de poblaciones de células mixtas. También se puede usar para amortiguar la respuesta inmunitaria mediada por células inmunes injertadas UniCAR y para eliminar las células inmunes de UniCAR injertadas in vivo.

[0034] Para permitir la expresión en la superficie celular de una célula efectora, un péptido de señal (a veces también denominado secuencia de señal, señal de direccionamiento o péptido líder) se coloca delante del dominio de unión a marcador en el extremo terminal-N de la secuencia de ácido nucleico UniCAR. Los péptidos de señal apuntan a las proteínas hacia la trayectoria secretora, ya sea de forma co-translacional o pos-translacional. Para

este propósito, pueden utilizarse péptidos señal de proteínas de diversas especies, sin embargo, preferentemente se usan péptidos líder de proteínas como CD28, CD8alfa, IL-2 o la cadena pesada o ligera de anticuerpos de origen humano para evitar reacciones inmunogénicas.

5 Módulos diana

[0035] Los módulos diana para utilizar en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por receptor de antígeno quimérico universal en un mamífero, están compuestos de una porción de unión específica para una cierta proteína o complejo de proteína de superficie de célula humana y un marcador, siendo el marcador un epítipo lineal corto E5B9 de la proteína nuclear humana La. Los módulos diana se administran a un sujeto antes de, o concurrentemente con, o después de la administración de las células efectoras que expresan UniCAR. Alternativamente, las células efectoras que expresan UniCAR pueden guarnecerse con módulos diana antes de la infusión en el receptor. La porción de unión de los módulos diana incluye, pero no se limita a, anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a antígenos de superficie como CD2, CD3, CD4, CD8, CD10, CD19, CD20, CD22, CD23, CD33, CD38, CD44, CD52, CD99, CD123, CD274 y TIM-3, miembros de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (erb1, erb2, erb3, erb4 y mutantes de los mismos), miembros de la familia del receptor de efrina (EphA1-10, EphB1-6), los llamados antígenos protáticos específicos (por ejemplo, antígeno prostático de células madre PSCA, antígeno prostático específico de membrana PSMA), antígenos embrionarios (por ejemplo, antígeno carcinoembrionario CEA, receptor de acetilcolina fetal), miembros de la familia del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR 1-3), molécula de adhesión de célula epitelial EpCAM, alfafetoproteína AFP, miembros de la familia de proteínas mucinas (por ejemplo, MUC1, MUC16), receptor de hormona foliculo estimulante (FSHR), antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), proteína de unión a folato FBP, receptor α -folato, ligandos del receptor NKG2D, miembros de la familia de glicoproteínas del epitelio (por ejemplo EGP-2, EGP-4), diasialogangliósidos (por ejemplo, GD2, GD3), miembros de la familia de anhidrasa carbónica (por ejemplo, CAIX) y miembros de la familia del antígeno carbohidrato (por ejemplo, Ley), que incluyen mutantes de las proteínas y familias proteicas mencionadas. Además, la porción de unión de módulos diana incluye, pero no se limita a, anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a antígenos citoplasmáticos o nucleares como el antígeno La / SSB, miembros de la familia Rho de GTPasas, miembros de las proteínas del grupo de alta movilidad y otros. Asimismo, la porción de unión de un módulo diana puede estar compuesta de las cadenas alfa y beta o gamma y delta de un receptor de célula T (TCR) o fragmentos de las mismas. Dichas porciones de unión derivados de TCR reconocen y se unen a péptidos presentados por complejos de proteína de clase de antígeno leucocitario humano (HLA) I y II. Los ejemplos son, pero no se limitan a, TCR específicos para péptidos derivados de proteínas como la familia EGFR, survivina, familia de proteínas de caja de gran motilidad (SOX) de tipo sry, antígenos asociados a melanoma (por ejemplo, antígeno autoinmuno génico de cáncer/testículo NY-ESO- 1, miembros de la familia de antígenos de melanoma A MAGEA, el antígeno expresado preferentemente en melanoma PRAME) y antígenos asociados a leucemia (por ejemplo, gen de tumor de Wilms, 1 WT1). La porción de unión de módulos diana también puede comprender ligandos para proteínas y complejos proteínicos, además referidos como receptores. Tales ligandos se pueden unir a, pero no se limitan a, receptores de citoquina (por ejemplo, receptor de IL-13), ligandos del receptor NKG2D, ligandos a los miembros de la familia EGFR o TCR auto-reactivos.

[0036] Las porciones de unión de los módulos diana pueden comprender especificidad de antígeno único (monoespecífico), dos, tres o más especificidades de antígeno (bi- y multi-específicos). Los ejemplos de especificidades de antígenos bispecíficos y multispecíficos incluyen, entre otros, módulos diana que se unen a antígenos PSCA y PSMA, antígenos CD19 y CD20, antígenos CD19, CD20 y CD22, antígenos CD33 y CD123, CD33 y CD99, CD33 y TIM -3, erb-1 y -2, PSCA y erb-2 y otras combinaciones. Las porciones de unión de módulos diana también pueden comprender unión monovalente así como sitios de unión bivalente y multivalente. Los ejemplos de estrategias de direccionamiento bivalente y multivalente incluyen, pero no se limitan a, módulos diana que incorporan dos scFv que reconocen diferentes epítopos de PSCA, CD19 y CD33, y combinaciones de ligando scFv que reconocen diferentes epítopos del receptor erb1.

[0037] Los módulos diana también pueden llevar ligandos adicionales, que no están implicados en la unión al antígeno diana, más adelante denominados cargas útiles. Dichas cargas útiles pueden comprender, pero no se limitan a, ligandos co-estimulatorios o citoquinas fusionadas al terminal N o C del módulo diana, en particular el dominio extracelular de CD28, CD137 (41BB), CD134 (OX40) y CD27, así como IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17 y IL-21, que estimulan diferentes tipos de células inmunes. Otras cargas útiles pueden ser radio-nucléidos o compuestos químicos que inducen la muerte celular en la diana y las células vecinas.

55 Procedimiento

[0038] Un procedimiento para estimular una respuesta inmunitaria mediada por receptor antigénico quimérico universal en un mamífero, comprendiendo el procedimiento:

60 - administrar a un mamífero una cantidad efectiva de una célula efectora genéticamente modificada para expresar un receptor de antígeno quimérico universal, en donde el receptor de antígeno quimérico universal comprende tres dominios, en donde el primer dominio es un dominio de unión a marcador, el segundo dominio es una bisagra extracelular y un dominio transmembrana y el tercer dominio es un dominio de transducción de señal, en el que el dominio de unión a marcador se une a un marcador, en el que el marcador es un epítipo E5B9 lineal corto de la proteína nuclear humana La y

- administrar un módulo diana compuesto por un porción de unión específica para una determinada proteína o complejo proteico de superficie de célula humana y un marcador, en el que el marcador es un epítipo E5B9 lineal corto de la proteína nuclear humana La,

en el que los módulos diana se administran a un sujeto antes, o en concurrencia con, o después de la administración de las células efectoras que expresan el receptor antigénico quimérico universal.

[0039] En una realización preferida, las células efectoras y el módulo diana se administran a seres humanos.

[0040] Producción de células efectoras de UniCAR.

[0041] En una realización de la invención, las células inmunes pueden modificarse genéticamente para expresar UniCAR mediante diversos procedimientos. En general, un vector de polinucleótido que codifica el UniCAR y todos los elementos necesarios para asegurar su expresión en la célula inmune genéticamente modificada se transfiere a la célula. La transferencia del vector se puede realizar por, pero sin limitarse a, electroporación o transfección de ácidos nucleídos o la ayuda de sistemas de vectores virales, tales como, entre otros, adeno, adeno-asociado, retro, espumoso o transferencia de genes virales lentiviral.

[0042] En una realización adicional, la transferencia de gen lentiviral se puede aplicar para la expresión estable de UniCAR en células inmunes construyendo primero un vector lentiviral que codifica para un UniCAR seleccionado. Un vector lentiviral ejemplar incluye, pero sin limitarse a, el vector pLVX-EF1alpha UniCAR 28/ζ (Clontech, Takara Bio Group) como se muestra en la figura 3, en el que las partes lentivirales del vector se derivan del *virus de inmunodeficiencia humana* (VIH).

[0043] Para la aplicación descrita, la parte MSC/IRES/ZxGreen1 fue reemplazada por el constructo UniCAR. En relación a la figura 3 se utiliza la abreviatura siguiente:

5' LTR: repetición terminal largo 5', PBS: sitio de unión a cebador, Ψ: señal de empaquetamiento, RRE: elemento de respuesta Rev, cPPT/CTS: secuencia central de polipurina / secuencia de terminación central, PEF1α: promotor alfa de factor de elongación humana 1, MCS: sitio de clonación múltiple, IRES: sitio interno de entrada de ribosoma, ZsGreen1: codón humano optimizado, WPRE: elemento regulador pos-transcripcional del virus de la hepatitis Woodchuck, 3'LTR: repetición terminal larga 3', pUC: origen de replicación, Amp^r: gen resistente a ampicilina; β-lactamasa.

[0044] Las partículas lentivirales se producen típicamente mediante transfección transitoria de células embrionarias de riñón humano (HEK) 293T (ACC 635) con el plásmido de vector lentiviral que codifica UniCAR y cotransfección con un antígeno específico de grupo (gag) y plásmido que codifica polimerasa (pol) (por ejemplo psPAX2, plásmido addgen 12260) como se representa en la figura 4 más un plásmido que codifica para una envoltura (por ejemplo pMD2.G, plásmido addgen 12259) como se muestra en la figura 5. Después de la transfección, el plásmido de empaquetamiento expresa proteínas Gag y Pol del VIH-1. Las abreviaturas utilizadas en la figura 4 son las siguientes: CMVenh: potenciador y promotor de CMV, SD: donante de empalme, SA: aceptor de empalme, Gag: antígeno específico de grupo, Pro: proteína precursora que codifica la proteína de proteasa, Pol: proteína que codifica la transcriptasa inversa e integrasa, RRE: elemento de respuesta rev, Amp: ampicilina.

[0045] El plásmido MD2.G (figura 5) codifica la glicoproteína del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G). La proteína VSV-G se usa para vectores lentivirales para transducir una amplia gama de células de mamífero. Las abreviaturas utilizadas en la figura 5 son las siguientes: CMV: potenciador y promotor de CMV, beta-globina intron: intrón de beta-globina, pA de beta-globina: parte final poli-adenosina de beta-globina.

[0046] Para este propósito se pueden utilizar diversas envolturas de diferentes especies de virus. Los vectores lentivirales pueden hacer pseudotipo exitosamente, pero sin limitarse a, con las glicoproteínas de envoltura (Env) del virus de la leucemia murina antrópica (MLV) o la proteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), una envoltura modificada del virus espumoso prototípico (PFV) o variantes de glicoproteínas de envoltura química derivadas del virus de la leucemia del mono gibbon (GaLV) y MLV. Los sobrenadantes de las células HEK293T, transfectadas pueden recolectarse de 24 h a 96 h después de la transfección y las partículas de virus pueden, pero no necesariamente deben, concentrarse a partir del sobrenadante mediante ultra-centrifugación u otros procedimientos. Para la transducción lentiviral de células inmunes se pueden aplicar varios protocolos establecidos. En un aspecto, las células mono-nucleares de sangre periférica (PBMC) o las células T aisladas pueden activarse con *mAB* específico para el complejo CD3, por ejemplo clonar OKT3 o UCHT1, dado en solución o recubierto con placas de cultivo de células plásticas o perlas magnéticas. La activación de PBMC o células T aisladas se puede potenciar aún más estimulando vías co-estimuladoras con *mABs* o ligandos específicos para CD27, CD28, CD134 o CD137, ya sea solos o en varias combinaciones, y el suministro de citocinas recombinantes exógenas tales como, pero sin limitarse a, interleuquina (IL) -2, IL-7, IL-12, IL-15 e IL-21. Partículas de virus concentradas o sin concentrar se añaden a cultivos de PBMC o de células T 24 h a 96 h después de la administración inicial de anticuerpos de CD3 activadores y/o citocinas recombinantes como dosis únicas o múltiples. La transducción estable de células T puede determinarse mediante citometría de flujo después de la tinción con módulos diana conteniendo marcador para la expresión superficial de UniCARs o *mABs* dirigidos contra el cuarto dominio de UniCAR desde tercer día 3 en adelante después de la administración final del sobrenadante del virus. Las células T transducidas UniCAR pueden reproducirse in vitro cultivándolas bajo suministro de citocinas recombinantes y activando *mabs* anti-CD3.

[0047] En caso que el UniCAR contenga el cuarto dominio opcional, una secuencia peptídica que forma un epítipo lineal para un *mAB*, las células inmunes genéticamente modificadas para expresar UniCAR pueden reproducirse específicamente in vitro mediante el recubrimiento de un *mAB* o fragmentos de anticuerpo del mismo que se unen al cuarto dominio UniCAR a la superficie de los platos de cultivo o a las perlas de cualquier tipo, que se añaden al cultivo celular en una proporción definida de, pero no limitada a, 1 perla a 1 a 4 células efectoras injertadas UniCAR. La unión de *mABs* recubiertos superficialmente al dominio peptídico de UniCAR induce la reticulación de

UniCARs expresados en superficie celular y formación de una sinapsis inmunitaria, lo que conduce a la activación de vías de señal activadas específicamente por el dominio de señal de UniCAR. Dependiendo de las vías de señal inducidas, esto puede conducir a mejorar la proliferación y la resistencia sostenida contra muerte celular inducida por activación de las células inmunes que llevan UniCAR y, por lo tanto, el enriquecimiento de las células inmunes genéticamente modificadas de UniCAR en una población mixta.

[0048] El cuarto dominio opcional, una secuencia peptídica que forma un epítipo lineal para un *mAB*, se puede utilizar además para enriquecer y purificar las células inmunes que expresan UniCAR de poblaciones mixtas. El enriquecimiento y la purificación se pueden realizar con la ayuda de un *mAB* o fragmentos de anticuerpo del mismo que se unen al cuarto dominio UniCAR para marcar las células que expresan UniCAR para clasificación celular o para unir transitoriamente la célula inmune que expresa UniCAR a partículas pequeñas, que pueden utilizarse para aislamiento de célula. En un aspecto, las células inmunes injertadas de UniCAR se incuban con el *mAB* que reconoce el cuarto dominio. A continuación, se agregan perlas magnéticas, que se conjugan con anticuerpos o fragmentos de los mismos dirigidos contra las cadenas pesadas y livianas específicas de especie e isotipo de la unión de *mAB* al cuarto dominio opcional. Por lo tanto, las células inmunes y las perlas magnéticas que expresan UniCAR están unidas y se pueden atrapar y separar de otras células inmunes en un campo magnético.

[0049] En una realización adicional de la invención, el cuarto dominio opcional puede utilizarse para la detección de la expresión de superficie de UniCAR como se muestra en la figura 6. La figura 6 (A) representa que la expresión de superficie de UniCAR puede detectarse usando un anticuerpo monoclonal dirigido contra el 4º dominio opcional y posteriormente tiñendo con un anticuerpo secundario anti-especie fluorocromo conjugado. El cuarto dominio opcional puede usarse adicionalmente para purificar hasta alta pureza las células T injertadas de UniCAR como se representa en la figura 6) en la

[0050] Administración de células inmunes de UniCAR.

[0051] Las poblaciones de células inmunes que expresan UniCAR pueden formularse para administración a un sujeto usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

[0052] Las formulaciones que comprenden poblaciones de células inmunes que expresan UniCAR, pueden incluir excipiente(s) farmacológicamente aceptable(s). Los excipientes incluidos en las formulaciones tendrán diferentes propósitos dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza del dominio de unión a marcador que comprende los UniCAR, la población de células inmunes utilizadas y el modo de administración. Ejemplos de excipientes utilizados generalmente incluyen, sin limitarse a: solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua para infección, glicerol, etanol y combinaciones de los mismos, agentes estabilizantes, agentes solubilizantes y tensioactivos, tampones y conservantes, agentes de tonicidad, agentes de carga y agentes lubricantes. Las formulaciones que comprenden poblaciones de células inmunes que expresan UniCAR se habrán preparado y cultivado típicamente con ausencia de cualquier componente no humano, tal como suero animal (por ejemplo, albúmina de suero bovino).

[0053] Una formulación puede incluir una población o más de una, tal como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más poblaciones de células inmunes que expresan UniCAR. Las diferentes poblaciones de células inmunes injertadas de UniCAR pueden variar en función de la identidad del dominio de unión a marcador, la identidad del dominio de transducción de señal, la identidad de las subpoblaciones, el modo de generación y cultivo o una combinación de los mismos. Por ejemplo, una formulación puede comprender poblaciones de células T y NK que expresan UniCAR que reconocen y se unen a una, o más de una, tal como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más proteínas marcadas diferentes.

[0054] Las formulaciones que comprenden la(s) población(es) de células inmunes de UniCAR pueden administrarse a un sujeto usando modos y técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Los modos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, inyección intravenosa. Otros modos incluyen, sin limitación, intratumoral, intradérmico, subcutáneo (s.c., s.q., sub-Q, Hipo), intramuscular (i.m.), intraperitoneal (i.p.), intra-arterial, intramedular, intracardiaca, intra-articular (articulación), intrasinovial (área del líquido articular), intracraneal, intra-espinal e intratecal (fluidos espinales). Se puede usar cualquier dispositivo conocido útil para inyección o infusión parenteral de las formulaciones para efectuar tal administración. Las inyecciones se pueden realizar como inyecciones a granel o inyecciones de flujo continuo.

[0055] Las formulaciones que comprenden la(s) población(es) de las células inmunes que expresan UniCAR que se administran a un sujeto comprenden varias células inmunes que expresan UniCAR que son eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de la indicación o enfermedad específica. Por lo tanto, las poblaciones terapéuticamente efectivas de las células inmunes que expresan UniCAR se administran a los sujetos cuando se practican los procedimientos de la presente invención. El número de células inmunes que expresan UniCAR administradas a un sujeto variará entre amplios límites, dependiendo de la ubicación, fuente, identidad, extensión y gravedad de la enfermedad, la edad y el estado del individuo a tratar, etc. Un médico en última instancia, determina las dosis apropiadas para ser utilizada. En caso de eventos adversos, las células inmunes injertadas de UniCAR pueden disminuirse de un individuo mediante la administración de un *mAB* dirigido contra el dominio peptídico (cuarto dominio) de UniCAR formando un epítipo lineal para el anticuerpo respectivo.

Producción del módulo diana

[0056] Los módulos diana comprenden dos dominios, una porción de unión específica a una determinada proteína de superficie celular humana o complejo proteico y un marcador, contra el cual se dirige el dominio de unión a marcador de UniCAR. Los módulos diana pueden fabricarse mediante técnicas conocidas por los expertos en la

técnica. Estas técnicas incluyen, pero sin limitarse a, expresión recombinante en células procariotas o eucariotas o síntesis artificial de cadenas polipeptídicas.

[0057] En un aspecto, un módulo diana puede expresarse en células de ovario de hámster (CHO, ACC-110), que son adecuadas para sintetizar una gran cantidad de proteínas recombinantes en sus formas biológicamente activas.

Una secuencia de ácido nucleico que codifica un módulo diana puede transferirse a células CHO mediante técnicas establecidas de ingeniería genética, como, pero sin limitarse a, transfección con ácido nucleico desnudo, electroporación o transferencia génica viral. Se pueden seleccionar clones de una sola célula altamente productivos a partir de líneas parentales usando, por ejemplo, el sistema de selección de dihidrofolato reductasa (DHFR). En este sistema, mutantes de células CHO deficientes en DHFR (por ejemplo, sublínea CHO DXB11 o DG44) se modifican genéticamente por co-transfección de una copia funcional del gen DHFR en adición a la secuencia de ácido nucleico que codifica un módulo diana. La selección clonal se realiza luego mediante crecimiento en medios desprovistos de glicina, hipoxantina y timidina. Clones altamente productivos pueden seleccionarse adicionalmente cultivando las células en niveles altos de metotrexato (MTX), un análogo de ácido fólico que bloquea la actividad DHFR. Como las células modificadas genéticamente deben hacer frente a la disminución de la actividad DHFR, que no puede ser rescatada por la mera presencia de una única copia del DHFR, en estas condiciones se favorecen los clones con copias amplificadas del gen DHFR. El enlace genético entre DHFR y el gen de interés asegura que el transgén también se amplifica conjuntamente, mejorando así las posibilidades de asegurar un clon celular de alta producción. Los clones celulares seleccionados se cultivan en buenas condiciones de fabricación preferentemente en ausencia de cualquier tipo de suero animal. Los módulos diana se pueden aislar a partir de sobrenadantes de cultivo celular mediante procedimientos de purificación de proteína preparativa establecidos que incluyen etapas preliminares como precipitación o ultra-centrifugación y diversas técnicas de purificación como, pero sin limitarse a, exclusión por tamaño o cromatografía de intercambio iónico. En un aspecto, la secuencia de ácido nucleico de un módulo diana porta una secuencia codificante de seis a ocho aminoácidos de histidina sucesivos que forman un marcador de polihistidina. La polihistidina se une fuertemente a los iones metálicos divalentes, tales como níquel y cobalto. El sobrenadante del cultivo celular se puede pasar a través de una columna que contiene iones de níquel inmovilizados que se unen al marcador de polihistidina, mientras que todas las proteínas no marcadas pasan a través de la columna. El módulo diana puede eluirse con imidazol, que compite con el marcador de polihistidina por unirse a la columna, o mediante una disminución en el pH, lo que disminuye la afinidad del marcador por la resina.

Administración del módulo diana

[0058] Se puede formular un o más módulos, tal como dos, tres, cuatro o más módulos diana para la administración a un sujeto usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

[0059] Las formulaciones que contienen uno o más módulos diana pueden incluir excipiente(s) farmacológicamente aceptable(s). Los excipientes incluidos en las formulaciones tendrán diferentes propósitos dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza de los módulos diana y el modo de administración. Ejemplos de excipientes utilizados generalmente incluyen, sin limitarse a: solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua para infección, glicerol, etanol y combinaciones de los mismos, agentes estabilizantes, agentes solubilizantes y tensioactivos, tampones y conservantes, agentes de tonicidad, agentes de carga, y agentes lubricantes. Las formulaciones que comprenden módulos diana típicamente se habrán preparado y cultivado en ausencia de cualquier componente no humano, tal como suero animal (por ejemplo, albúmina de suero bovino).

[0060] Una formulación puede incluir uno o más módulos diana o, por ejemplo dos, tres, cuatro, cinco, seis o más módulos diana. Los módulos diana pueden variar en función de la identidad de la porción de unión, la identidad del marcador, el modo de generación o una combinación de los mismos. Por ejemplo, una formulación puede comprender módulos diana que reconocen y se unen a una, o más de una, tal como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más proteínas de superficie de células humanas diferentes, complejos proteínicos o estructuras de matriz extracelular.

[0061] Las formulaciones que comprenden la(s) población(es) de células inmunes que expresan UniCAR pueden incubarse ex vivo con una formulación que incluye uno o más módulos diana, para guarnecer las células inmunes que expresan UniCAR con módulos diana antes de la administración a un sujeto. Alternativamente, las formulaciones que incluyen uno o más módulos diana pueden administrarse directamente a un sujeto o se puede elegir una combinación de ambas estrategias. La ruta y la dosis variarán entre amplios límites, dependiendo de la ubicación, fuente, identidad, extensión y gravedad de la enfermedad, la edad y el estado del individuo a tratar, etc. Un médico finalmente determinará las rutas de aplicación y las dosis apropiadas para ser utilizada.

[0062] En una realización, las células T modificadas genéticamente UniCAR pueden redirigirse específicamente contra células tumorales que expresan PSCA y/o PSMA como se detecta con frecuencia en biopsias, por ejemplo de tumores de próstata, vejiga, páncreas y mama (figura 7). Las células T humanas fueron objeto de transducción simuladamente (barras blancas) o transducidas con vectores lentivirales que codifican UniCAR conteniendo un dominio de señalización dual CD28/CD3zeta (barras negras) o que carecen de cualquier dominio de señalización (barras sombreadas) o que expresan solo proteína marcadora EGFP (barras a franjas). La lisis específica de las células tumorales de próstata (PC3) modificadas genéticamente para expresar ya el antígeno de células madre de la próstata (PC3-PSCA) o el antígeno de la membrana prostática (PC3-PSMA) en presencia de células T humanas diseñadas y módulos diana se analizaron en un ensayo de liberación de Cr 51. Las células T se incubaron a una relación efector a diana (e:t) de 5:1 o 1:1 con

células diana PC3 cargadas con 51 Cr. Los módulos diana (TM) específicos para PSCA (α PSCA TM) o PSMA (α PSMA TM) se añadieron a una concentración de 15 nmol. Después de 20 h, se midió la lisis celular objetivo de cultivo (liberación de cromo). Las gráficas muestran media y d.s. (desviación estándar) de experimentos con tres donantes de células T individuales (figura 7A). Del mismo modo, se demostraron las capacidades de destrucción de células T diseñadas por UniCAR frente a células madre tumorales LNCap-4-2B que expresan antígeno PSCA y PSMA en presencia de PSCA o PSMA TM (1 nMol) mediante ensayos de liberación de 51 Cr en la indicada relación e:t. La media y d.s. de experimentos con tres donantes de células T individuales se muestran (figura 7B). El experimento de la figura 7B se repitió para una relación e:t más baja de 1:2, añadiendo 1nMol de TM específico de PSCA o de PSMA o combinando ambos TM a una concentración total de 1 nmol. La lisis específica determinada por la liberación de Cr 51 se midió después de 24 h y 48 h. La media y la d.s de experimentos con tres donantes sanos de células T individuales se muestra (figura 7C). Este experimento demuestra que la combinación de dos TM diferentes mejora las habilidades de destrucción de las células T redirigidas de UniCAR contra las células tumorales en comparación con una estrategia de re-direccionado de antígeno único, incluso si la cantidad total de ambos TM en la muestra de doble direccionado es igual a la cantidad total de cada TM en la muestra de control de re-direccionado de antígeno único (figura 7C). Además, las células T humanas armadas con las citocinas inflamatorias y proliferativas secretas de UniCAR se reticulan con células tumorales que expresan antígeno en presencia de la TM correspondiente (figura 7D). Se incubaron células T humanas con células PC3 que expresan antígeno PSCA o PSMA en presencia o ausencia de TM específicas para PSCA o PSMA. Después de 24 h, se recogió el sobrenadante exento de células de cultivo y posteriormente se analizó la liberación de citocinas específicas de células T usando kits ELISA disponibles comercialmente. El análisis estadístico para las figuras 7C, D se realizó utilizando ANOVA no paramétrico de una vía (Ensayo Kruskal-Wallis) y ensayo de comparación múltiple de Dunn post hoc (**p < 0.01).

[0063] En una realización adicional, la figura 8 muestra curvas de concentración-respuesta para células T humanas genéticamente modificadas UniCAR en presencia de módulos diana que se unen a diversos antígenos en la superficie de células tumorales de diferentes orígenes. Las células T humanas fueron objeto de transducción con vectores lentivirales que codifican el UniCAR conteniendo un dominio dual de señalización CD28/CD3zeta. Las células T injertadas con UniCAR se incubaron en una relación e:t de 5:1 con células diana PC3 cargadas con 51Cr modificadas genéticamente para expresar antígeno PSCA o PSMA. Los módulos diana (TM) específicos para PSCA (TM α PSCA) o PSMA (TM α PSMA) se añadieron en concentraciones crecientes (figura 7A). Se determinó que la mitad de la dosis efectiva máxima (EC50) era de aproximadamente 12 pMol para ambos TM. Se realizaron experimentos adicionales como en la figura 7A, pero se eligió una relación e:t de 1:1 y como células tumorales diana se utilizó la línea celular de leucemia mieloide aguda MOLM-13. Se añadieron TM específicos para el antígeno CD33 (TM α CD33) o el antígeno CD123 (TM α CD123) en concentraciones crecientes y se determinaron valores de EC50 de 137 pMol para TM α CD33 y 45 pMol para TM α CD123. Estos experimentos demuestran que las células T injertadas de UniCAR son efectivas a concentraciones muy bajas de TM, que son 10 a 100 veces menores en valores de EC50 determinados experimentalmente para fármacos de anticuerpos monoclonales aprobados para terapia de cáncer (por ejemplo, Herter y col., Mol Cancer Ther 12 (10): 2031-2042 (2013)).

[0064] En una realización adicional, la figura 9 demuestra que las células T diseñadas de UniCAR pueden matar de forma eficaz blastos de leucemia mieloide aguda (AML). Las células T humanas fueron transducidas simuladamente (peso, rombos) o fueron transducidas con vectores lentivirales que codificaban el U-CAR conteniendo un dominio dual de señalización CD28/CD3zeta (CAR 28/ ζ , círculos abiertos y cerrados) o que carecían de cualquier dominio de señalización (CAR STOP, triángulo apuntando hacia arriba) o expresando solo proteína marcadora EGFP (vc, triángulo apuntando hacia abajo). Las células T se incubaron con 2×10^4 Alexa eFluor 674 marcadas con células diana de 3 líneas celulares AML (MOLM-13, MV4-11, OCI-AML3) en presencia (+) o ausencia (-) de 0,1 nMol de módulos diana (TM) específico de CD33 (TM α CD33, panel superior) o específico de CD123 (TM α CD123 panel inferior) en una relación e:t de 1:1 durante 24 h (figura 9A). El número de células vivas, yoduro de propidio (PI) negativas, excepto células diana Alexa eFluor 674 positivas se determinaron mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant®. El número de células diana leucémicas vivas se normalizó a una muestra de control con células diana pero sin células T. Este experimento demuestra que las células T injertadas UniCAR rompen eficazmente los blastos de AML después del reticulado con el TM correspondiente independientemente de la densidad del antígeno, que para CD33 es alta en MOLM-13, intermedia en MV4-1,1 y baja en OCI-AML3 mientras que densidad de antígeno para CD123 se encuentra en orden inverso en las 3 líneas celulares. Además, los blastos AML son eliminados mediante células T injertadas de UniCAR sobre la reticulación mediada por TM, incluso a bajas relaciones e:t como se encuentran típicamente en muestras de pacientes (figura 9B). La configuración experimental fue similar a la figura 9A, pero se eligió una baja relación e:t de 1:5. El número de células T negativas PI vivas y células diana se determinó mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant® en los instantes temporales indicados. El número de células diana leucémicas vivas se normalizó a una muestra de control con células diana pero sin células T (figura 9B). Tras la activación a través de la señalización mediada por CAR, las células T injertadas UniCAR comienzan a proliferar como se muestra en la figura 9C. La configuración experimental fue como se describió para la figura 9B y los números de células T se determinaron mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant®. La expansión de las células T se calculó como la relación de células T presentes en las muestras después de 144 h (d6) respecto del número sembrado al inicio del experimento (d0). El análisis estadístico para las figuras 8A y B se realizó usando ANOVA no paramétrico de una vía (prueba de Kruskal-Wallis) y prueba de comparación múltiple de Dunn post-hoc. Para la figura 9A, se indican resultados estadísticos

significativos, para la figura 9B, los resultados se dan en la tabla por debajo de la figura (ns = no significativo, * p <0,05, ** p <0.01, *** p <0.001).

[0065] En una realización adicional, la figura 10 muestra el re-direccionamiento de células T injertadas con UniCARs simultáneamente contra dos antígenos. Debido a su naturaleza modular, la tecnología UniCAR permite un re-direccionamiento de las células inmunes injertadas UniCAR (por ejemplo, células T) contra dos antígenos de manera simultánea o consecutiva utilizando dos TM individuales (TM 1 + TM 2, figura 10A lado izquierdo) o TM combinados bi-específicos (TM1-2, figura 10A lado derecho) dispuestos como constructos en tándem de cadena sencilla bi-específicos (figura 10A). La utilización de un TM bi-específico dirigido a dos antígenos puede ser incluso más eficaz que usar una combinación de dos TM específicos de antígeno único, como lo demuestran las curvas de concentración-respuesta para el re-direccionamiento combinado de CD33 y CD123 de células T injertadas UniCAR contra líneas celulares de AML (figura 10B). Las células T humanas fueron transducidas con un vector lentiviral que codifica el UniCAR conteniendo un dominio dual de señalización CD28/CD3zeta. Las células T injertadas UniCAR se incubaron en una relación e:t de 1:1 con MOLM-13 etiquetado con Cr51 (media de experimentos con células T de 4 donantes humanos sanos diferentes, triángulos) y OCI-AML3 (media de experimentos con células T de 2 diferentes donantes humanos sanos, círculos abiertos) durante 24 horas. Se añadieron módulos diana (TM) específicos para CD33 (TM α CD33), CD123 (TM α CD123) o TM CD33 - CD123 bi-específico (TM α CD123} - CD33) a concentraciones crecientes. Se determinó que los valores de EC50 eran:

TM α CD33 + α CD123: EC50 MOLM-13 = 70,2 pMol, EC50 OCI-AML3 = 80,2 pMol. TM α CD33- α CD123: EC50 MOLM-13 = 2,9 pMol, EC50 OCI-AML3 = 11,7 pMol. A continuación podría demostrarse que las células T injertadas UniCAR tanto de donantes humanos sanos como de pacientes con AML pueden redirigirse con éxito contra líneas de AML así como contra blastos de AML aislados de pacientes en crisis blástica (figuras 10C, D, E, F). Las células T humanas fueron transducidas simuladamente (círculos cerrados de las figuras 10C, D, barras abiertas en las figuras 10E, F) o fueron transducidas con vectores lentivirales que codifican UniCAR conteniendo un dominio de señalización dual CD28/CD3zeta (triángulos en las figuras 10C, D, barras negras en las figuras 10E, F) o que carecen de cualquier dominio de señalización (rombos en las figuras 10C, D, barras grises en E, F). La eliminación altamente eficaz de células AML está mediada por las células T injertadas UniCAR en presencia de la combinación de TM α CD33 y TM α CD123 o el TM de direccionamiento dual α CD123-CD33, pero no en ausencia de los TM, demostrando nuevamente que para redirección específica de antígeno de células T injertadas UniCAR, la reticulación a través de un TM es indispensable (figuras 10C, D, E). Las células T se incubaron con 2×10^4 Alexa eFluor 674 marcadas con células diana de 3 líneas celulares AML (MOLM-13, MV4-11, OCI-AML3) en presencia (+) o ausencia (-) de una cantidad total de 100 pMol de TM en una relación e:t de 1:5 para 144h. Los TM se actualizaron después de 48 h. Se determinó el número de células diana vivas positivas pero negativas a Alexa eFluor 674 mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant® y se comparó con muestras de control con células diana pero sin ninguna célula T (figura 10C, círculos abiertos). La expansión de las células T se calculó como la proporción de células T presentes en las muestras después de 144 h (d6) con respecto al número sembrado al inicio del experimento (d0) en la figura 10D. Se muestran los resultados de experimentos con 6 donantes, indicándose media y SD (desviación estándar). Estos resultados demuestran convincentemente que la activación a través de la señalización UniCAR sobre la reticulación mediada por TM no solo conduce a la destrucción de células diana, sino que además las células T injertadas de UniCAR reciben un estímulo proliferativo mediante la cadena de señalización UniCAR combinada CD28/CD3 ζ y comienzan a dividirse. A continuación, las células T genéticamente modificadas de donantes sanos se incubaron con 5×10^4 células leucémicas Alexa eFluor 674 etiquetadas de pacientes con AML en presencia (+) o ausencia (-) de TM 0,5 nMol a una relación e:t de 1:1 (figura 10E). Número de células positivas Alexa eFluor 674 positivas se determinó mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant® después de 24 h (panel izquierdo) y 48 h (panel derecho). El número de células diana leucémicas vivas se normalizó a una muestra de control con células diana pero sin células T. Los resultados de 5 experimentos de emparejamiento de la figura 9E demuestran que las células T diseñadas UniCAR son capaces de lisis de la AML de los pacientes a lo largo del tiempo. También podría demostrarse que las células T genéticamente modificadas UniCAR de un paciente con AML pueden atacar y llevar a cabo lisis de las células AML mediante la adición de TML específicas de antígeno. Las células T modificadas se incubaron con 2×10^4 de Alexa eFluor 674 marcadas con células diana de 3 líneas celulares AML (MOLM-13, MV4-11, OCI-AML3) durante 24 h en presencia (+) o ausencia (-) de la cantidad total de 0,5 nMol de TM en una relación e:t de 1:1. Se determinó el número de células diana vivas positivas excepto Alexa eFluor 674 negativas mediante citometría de flujo usando un analizador MACSQuant®.

[0066] En una realización adicional, la figura 11 representa diagramas que muestran la fármaco-cinética *in vivo* del módulo diana α CD123-CD33 bi-específico. Se inyectaron ratones NSG (NOD/SCID IL2Ry^{-/-}) con 250 mg/g de peso corporal de TM α CD123-CD33 ya por vía intravenosa (i.v. en la figura 11A) ya intra-peritoneal (i.p. en la figura 11B) y se tomaron muestras de suero en el momento indicado. Se usó un ELISA de captura para determinar la concentración de TM en las muestras. El resultado muestra la media y la desviación estándar (n = 3). El deterioro a mitad de vida se determinó para inyección i.v., usando un modelo de deterioro exponencial de una fase (software GraphPad Prism).

[0067] En una realización adicional, se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno quimérico universal de acuerdo con SEQ. ID 1. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IL-2m humano de acuerdo con SEQ. ID 2, una cadena pesada de la región variable anti - La 5B9 humanizada de acuerdo con SEQ. ID 3, una cadena ligera de región variable anti-La 5B9 humanizada de

acuerdo con SEQ. ID 4, un epítipo de La 7B6 según la SEQ. ID 5, un CD28 humano de acuerdo con SEQ. ID 6 a 8, incluyendo una parte extracelular de CD28 humana con motivo de unión mutado de acuerdo con SEQ. ID 6, un dominio transmembrana CD28 según la SEQ. ID 7, y una parte intracelular de CD28 humano incluyendo un motivo de internalización mutado de acuerdo con SEQ. ID 8 y un dominio intracelular CD3zeta humano según SEQ. ID 9.

5 **[0068]** El producto de la expresión proteica de la secuencia de ácido nucleico aislada de acuerdo con SEQ. ID 1 se puede obtener en SEQ. ID 27. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada de región variable de anti-La 5B9 humanizada según SEQ. ID3 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 33, mientras que la cadena ligera de la región variable anti-La 5B9 humanizada de acuerdo con SEQ. ID 4 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 34.

10 **[0069]** La secuencia de ácido nucleico del epítipo humano de La 7B6 según la SEQ. ID 5 codifica para un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 35.

[0070] En una realización adicional de la invención, en la SEQ. ID 10, se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana con una porción de unión a antígenos específicos de próstata PSCA. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IgGkappa de acuerdo con SEQ. ID 11, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-PSCA de acuerdo con SEQ. ID 12, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-PSCA de acuerdo con SEQ. ID 13, un epítipo La 5B9 según la SEQ. ID 14, un marcador Myc de acuerdo con SEQ. ID 15 y un marcador His según la SEQ. ID 16.

15 **[0071]** El producto de la expresión proteica del ácido nucleico según la SEQ. ID 10 se puede obtener a partir de SEQ. ID La secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera humanizada de un scFv anti-PSCA de acuerdo con SEQ. ID 12 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 36, mientras que la cadena pesada humanizada de un scFv anti-PSCA según la SEQ. ID 13 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 37. El epítipo de La 5B9 de acuerdo con SEQ. ID 14 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 44.

20 **[0072]** En una realización adicional de la invención, en la SEQ. ID 17 se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana con una porción de unión a antígenos específicos de próstata PSMA. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IgGkappa de acuerdo con SEQ. ID 11, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-PSMA de acuerdo con SEQ. ID 18, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-PSMA de acuerdo con SEQ. ID 19, un epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID 14, un marcador Myc de acuerdo con SEQ. ID 15 y un marcador His según la SEQ. ID 16.

25 **[0073]** El producto de la expresión proteica del ácido nucleico según la SEQ. ID 17 se puede obtener a partir de SEQ. ID 29. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada humanizada de un scFv anti-PSMA de acuerdo con SEQ. ID18 codifica para un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 38, mientras que la cadena ligera humanizada de un scFv anti-PSMA según la SEQ. ID 19 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 39. El epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID 14 codifica a una proteína de acuerdo con SEQ. ID 44.

30 **[0074]** En una realización adicional de la invención, en la SEQ. ID 20 se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana con una porción de unión a antígeno anti-CD33. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IgGkappa de acuerdo con SEQ. ID 11, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 21, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 22, un epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID, 14 un marcador Myc según SEQ. ID 15 y un marcador His según SEQ. ID 16.

35 **[0075]** El producto de expresión proteica del ácido nucleico según la SEQ. ID 20 se puede obtener a partir de SEQ. ID 30. La secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 21 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 40, mientras que la cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 22 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 41. El epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID 14 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 44.

40 **[0076]** En una realización adicional de la invención, en la SEQ. IDv23, se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana con una porción de unión para antígeno anti-CD123. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IgGkappa de acuerdo con SEQ. ID 11, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 24, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 25, un epítipo de La 5B9 según SEQ. ID 14, un marcador Myc de acuerdo con SEQ. ID 15 y un marcador His según SEQ. ID 16.

45 **[0077]** El producto de la expresión proteica del ácido nucleico según la SEQ. ID 23 se puede obtener de SEQ. ID 31. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD123 según la SEQ. ID 24 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 42, mientras que la cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 25 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 43. El epítipo de La 5B9 según SEQ. ID 14 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 44.

50 **[0078]** En una realización adicional de la invención, en la SEQ. ID 26, se proporciona una secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un módulo diana con una porción de unión para antígeno anti-CD123-anti-CD33. La secuencia de ácido nucleico aislada que codifica un péptido líder IgGkappa de acuerdo con SEQ. ID 11, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 24, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 25, un epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID 14, una cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 22, una cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 21, un marcador Myc de acuerdo con SEQ. ID 15 y un marcador His según SEQ. ID 16.

55 **[0079]** El producto de expresión proteica del ácido nucleico según la SEQ. ID 26 se puede obtener a partir de SEQ. ID 32. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD123 según SEQ. ID 24 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 42, mientras que la cadena ligera humanizada de un scFv

anti-CD123 de acuerdo con SEQ. ID 25 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 43. El epítipo de La 5B9 según la SEQ. ID 14 codifica una proteína de acuerdo con SEQ. ID 44. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 22 codifica un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 41, mientras que la cadena ligera humanizada de un scFv anti-CD33 de acuerdo con SEQ. ID 21 codifica para un dominio de proteína de acuerdo con SEQ. ID 40.

5

Listado de secuencias

[0080]

<110> GEMoaB Monoclonals GmbH

5 <120> Antígeno quimérico universal que expresa células inmunes para direccionamiento de antígenos múltiples diferentes y procedimiento fabricarlo y utilización del mismo para tratamiento de cáncer, infecciones y enfermedades autoinmunes

<130> 01281P0002EP

<160> 44

<170> Versión 3.5 PatentIn

10 <210> 1

<211> 2685

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia ADN quimérico ratón/humano

<400>1

```

atgcgccgca tgcagctgct gcttctgatc gctctgagcc tggctcttgt gaccaactct      60
gaattccagg tgcagctggt gcagagcgga gccgaggtga agaagcctgg agcctctgtg      120
aagtgagct  gcaaggcttc tggctacacc ttcaccact  actacatcta ctgggtgaga      180
caggctcccg gacagggcct ggagtggatg ggaggcgtga accccagcaa cggaggcacc      240
cacttcaacg agaagttcaa gtctcgcgtg accatgacc  gcgacaccag catctctacc      300
gcttacatgg agctgagccg cctgcgctct gatgataccg ctgtgtacta ctgcgctcgc      360
agcgagtacg attacggact gggcttcgcc tactggggcc agggaaccct ggtgaccgtg      420
agctctggag gcggaggcag cggaggcggc ggatctggag gcggaggaag cgatatcgtg      480
atgaccagtg ctctgatag cctggctgtg agcctgggcg agagagctac catcaactgc      540
aagagcagcc agagcctgct gaactctcgc acccctaaga actaccttgc ttggtaccag      600
cagaagcctg gacagccccc taagctgctg atctactggg cttctaccgg caagagcggc      660
gtgcccgaca gattctctgg cagcggaaag ggcaccgatt tcaccctgac catcagcagc      720
ctgcaggctg aggacgtggc cgtgtactac tgcaagcagt cttacaacct gctgaccttc      780
ggaggcggaa ccaaggtgga gatcaaggct gccgctctgg agaaggaggc cctgaagaag      840
atcatcgagg atcagcagga ggctctgaac aagtgggctg ccgctgggcc cggaggaggc      900
ggcagcaaga tcctggtcaa acagtcccct atgctggtcg cttacgacaa cgccgttaat      960
ctgagttgca aatatagtta caacctgttt agccgggaat ttcgcgcatc tctccacaag     1020
ggactggatt ctgcggttga ggtttgtgtg gtctatggca attatagcca gcaactgcaa     1080
gtgtacagca aaacaggctt taactgcgac gggaaactcg ggaacgaatc agtgaccttc     1140
tatctgcaga acctgtacgt taaccaaaca gatatttact tctgcaagat agaggtgatg     1200

```

ES 2 688 035 T3

gctccaccgc cagcactgga taacgagaag tccaatggaa ccatcattca cgtcaagggg 1260
aagcatctgt gtccttcccc gttgttccct gggccgagca aacccttttg ggtgcttgtg 1320
gtagttggcg gggatttggc ctgctattcc cttctcgtaa ctgtggcctt catcatcttc 1380
tgggtcagat ctaagaggtc taggggaggc catagcgact acatgaacat gacaccagg 1440
cggcctggcc cactcgcaa aactaccag ccatacgcac caccaagaga ctttgccgca 1500
tatcggagtg gtggcgccgg gtcaggaggt ggagctagcg gtggaggagg ttccttctct 1560
aggtcagctg atgctccccg ctatcagcaa ggtcagaacc agctctacaa tgagctgaat 1620
ctgggacgtc gggaggagta cgacgtgctg gataaacgaa gaggacgca tcccagatg 1680
gggtggaagc ctaggcgcaa gaatccccag gaaggcctct acaatgaact gcagaaagac 1740
aagatggccg aagcctacag cgagattggc atgaaagggg agcgacggag aggaaagggg 1800
catgacgggt tgtatcaggg tctttccact gcgacaaagg atacctatgg ggctctgcac 1860
atgcaagcac tgccacctag aggatccggc tcgagcggtg agggcagagg aagtcttcta 1920
acatgcggtg acgtggagga gaatccccgc ccaccggtcg ccaccatggt gagcaagggc 1980
gaggagctgt tcaccggggg ggtgcccatc ctggtcgagc tggacggcga cgtaaagggc 2040
cacaagttca gcgtgtccgg cgagggcgag ggcgatgcca cctacggcaa gctgaccctg 2100
aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc gtgccctggc ccaccctcgt gaccaccctg 2160
acctacggcg tgcagtgctt cagccgctac cccgaccaca tgaagcagca cgacttcttc 2220
aagtccgcca tgcccgaagg ctacgtccag gagcgcacca tcttcttcaa ggacgacggc 2280
aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag 2340
ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac 2400
tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc gacaagcaga agaacggcat caaggtgaac 2460
ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag 2520
aacaccccc a tcggcgacgg ccccgctgctg ctgcccgaca accactacct gagcaccag 2580
tccgccctga gcaaagacc caacgagaag cgcgatcaca tggctctgct ggagttcgtg 2640
accgcccgg ggatcactct cggcatggac gagctgtaca agtaa 2685

<210> 2

<211> 60

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 2

atgcccgcga tgcagctgct gcttctgac gctctgagcc tggctctgt gaccaactct 60

<210> 3

10 <211> 360

<212> ADN

<213> ratón

ES 2 688 035 T3

| | | | |
|----|--------------------|---|-----|
| | <400> 3 | | |
| | | caggtgcagc tgggtgcagag cggagccgag gtgaagaagc ctggagcctc tgtgaaggtg | 60 |
| | | agctgcaagg cttctggcta caccttcacc cactactaca tctactgggt gagacaggct | 120 |
| | | cccgacagc gcctggagt gatgggagc gtgaaccca gcaacggag caccacttc | 180 |
| | | aacgagaagt tcaagtctcg cgtgaccatg acccgcgaca ccagcatctc taccgcttac | 240 |
| | | atggagctga gccgcctgcg ctctgatgat accgctgtgt actactgcg tgcagcagc | 300 |
| | | tacgattacg gactgggctt cgcctactgg ggccagggaa ccctggtgac cgtgagctct | 360 |
| | <210> 4 | | |
| | <211> 336 | | |
| 5 | <212> ADN | | |
| | <213> ratón | | |
| | <400> 4 | | |
| | | gatatcgtga tgaccagtc tcctgatagc ctggctgtga gcctgggcca gagagctacc | 60 |
| | | atcaactgca agagcagcca gagcctgctg aactctcgca cccctaagaa ctaccttgc | 120 |
| | | tggtagcagc agaagcctgg acagccccct aagctgctga tctactgggc ttctaccgc | 180 |
| | | aagagcggcg tgcccagacag attctctggc agcgggaagcg gcaccgattt caccctgacc | 240 |
| | | atcagcagcc tgcaggctga ggacgtggcc gtgtactact gcaagcagtc ttacaacctg | 300 |
| | | ctgaccttcg gaggcggaac caaggtggag atcaag | 336 |
| | <210> 5 | | |
| 10 | <211> 60 | | |
| | <212> ADN | | |
| | <213> Homo sapiens | | |
| | <400> 5 | | |
| 15 | | ctggagaagg aggccctgaa gaagatcatc gaggatcagc aggaggctct gaacaagtgg | 60 |
| | <210> 6 | | |
| | <211> 399 | | |
| | <212> ADN | | |
| | <213> Homo sapiens | | |
| 20 | <400> 6 | | |
| | | aagatcctgg tcaaacagtc ccctatgctg gtcgcttacg acaacgccgt taatctgagt | 60 |
| | | tgcaaatata gttacaacct gtttagccgg gaatttcgcg catctctcca caagggactg | 120 |
| | | gattctgcgg ttgaggtttg tgtggtctat ggcaattata gccagcaact gcaagtgtac | 180 |
| | | agcaaacag gctttaactg cgacgggaaa ctcggaacg aatcagtgac cttctatctg | 240 |
| | | cagaacctgt acgttaacca aacagatatt tacttctgca agatagaggt gatggctcca | 300 |
| | | ccgccagcac tggataacga gaagtccaat ggaaccatca ttcacgtcaa ggggaagcat | 360 |
| | | ctgtgtcctt ccccgttggt ccctgggccc agcaaacc | 399 |
| | <210> 7 | | |
| | <211> 81 | | |
| | <212> ADN | | |
| 25 | <213> Homo sapiens | | |
| | <400> 7 | | |

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|---|-----|
| | ttttgggtgc ttgtggtagt tggcggggta ttggcctgct attcccttct cgtaactgtg | 60 |
| | gccttcatca tcttctgggt c | 81 |
| | <210> 8 | |
| | <211> 123 | |
| | <212> ADN | |
| 5 | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 8 | |
| | agatctaaga ggtctagggg cgggcatagc gactacatga acatgacacc caggcggcct | 60 |
| | ggccccactc gcaaacta ccagccatac gcaccaccaa gagactttgc cgcatatcgg | 120 |
| | agt | 123 |
| | <210> 9 | |
| | <211> 327 | |
| 10 | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 9 | |
| | ttctctaggt cagctgatgc tcccgcctat cagcaaggtc agaaccagct ctacaatgag | 60 |
| | ctgaatctgg gacgtcggga ggagtacgac gtgctggata aacgaagagg acgcatccc | 120 |
| | gagatgggtg ggaagcctag gcgcaagaat ccccaggaag gcctctacaa tgaactgcag | 180 |
| | aaagacaaga tggccgaagc ctacagcgag attggcatga aaggggagcg acggagagga | 240 |
| | aagggacatg acgggttgta tcagggcttt tccactgcga caaaggatac ctatggggct | 300 |
| | ctgcacatgc aagcactgcc acctaga | 327 |
| | <210> 10 | |
| 15 | <211> 981 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Secuencia artificial | |
| | <220> | |
| | <223> Secuencia ADN quimérico ratón/humano | |
| 20 | <400> 10 | |
| | atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt | 60 |
| | gacgcggccc agccggccgg atccgatatc cagatgactc aaagtcctag ttccctgtct | 120 |
| | gcatcagtgg gagaccgggt gaccattaca tgcggtacat cccaagacat caataattat | 180 |
| | ctcaactggt atcagcagaa gccaggcaaa gttcctaagt tattaatcta ctacacatcc | 240 |

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|--|-----|
| | aggctgcatt cgggggtgcc ctcccgcttt tcgggctccg ggtcgggaac cgactttacc | 300 |
| | ctaaccatat cttccctgca gcctgaagac gttgcaacgt actattgtca gcagtcaaag | 360 |
| | acattacat ggacatttg tggtgggacg caactcactg tacttggtgg aggtggcagt | 420 |
| | ggtggaggag ggagcggagc aagtgccgct ggaggcggag gttcaggcgg tggtggaagc | 480 |
| | caggtgcagc tagtggagtc cgggtggcggc ctctgtaagc cgggcggatc gctgcgcctt | 540 |
| | tcatgtgccg catcaggatt cacattctcc agttactcta tgtcatggat tcggcaggca | 600 |
| | cctggcaagg gattggaatg ggtctcgtac attaatgatt caggtggaag tacattctat | 660 |
| | ccggacacgg ttaaaggtag atttaccatc agccgtgata acgcgaagaa tagcttgtac | 720 |
| | ttacagatga atagcctgcg tgcagaggat actgctgtat attattgcbc tcgacgtatg | 780 |
| | tattatggca atagtcactg gcactttgac gtctggggcc agggcacgac agttactgtc | 840 |
| | tcttcgggag gaggaggatc cgcggccgct aaaccctac ctgaagtgac tgatgagtat | 900 |
| | gctcgaggag ggcccgaaca aaaactcatc tcagaagagg atctgaatag cgccgtcgac | 960 |
| | catcatcatc atcatcattg a | 981 |
| | <210> 11 | |
| | <211> 63 | |
| | <212> ADN | |
| 5 | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 11 | |
| | atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt | 60 |
| | gac | 63 |
| | <210> 12 | |
| | <211> 321 | |
| 10 | <212> ADN | |
| | <213> ratón | |
| | <400> 12 | |
| | gatatccaga tgactcaaag tcctagttcc ctgtctgcat cagtgggaga ccgggtgacc | 60 |
| | attacatgcg gtacatccca agacatcaat aattatctca actggtatca gcagaagcca | 120 |
| | ggcaaagttc ctaagttatt aatctactac acatccaggc tgcattccgg ggtgcctcc | 180 |
| | cgcttttcgg gctccgggtc ggaaccgac tttaccctaa ccatatcttc cctgcagcct | 240 |
| | gaagacgttg caacgtacta ttgtcagcag tcaaagacat taccatggac atttgggtgt | 300 |
| | gggacgcaac tcactgtact t | 321 |
| | <210> 13 | |
| 15 | <211> 366 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> ratón | |
| | <400> 13 | |

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|---|-----|
| | caggtgcagc tagtggagtc cggtgggcggc ctcgttaagc cgggocggatc gctgcgcctt | 60 |
| | tcatgtgccg catcaggatt cacattctcc agttactcta tgtcatggat tcggcaggca | 120 |
| | cctggcaagg gattggaatg ggtctcgtac attaatgatt caggtggaag tacattctat | 180 |
| | ccggacacgg ttaaaggtag atttaccatc agccgtgata acgcgaagaa tagcttgtac | 240 |
| | ttacagatga atagcctgcg tgcagaggat actgctgtat attattgcbc tcgacgtatg | 300 |
| | tattatggca atagtcactg gcactttgac gtctggggcc agggcacgac agttactgtc | 360 |
| | tcttcg | 366 |
| | <210> 14 | |
| | <211> 30 | |
| | <212> ADN | |
| 5 | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 14 | |
| | aaaccctac ctgaagtgac tgatgagat 30 | |
| | <210> 15 | |
| | <211> 30 | |
| 10 | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 15 | |
| | gaacaaaaac tcatctcaga agaggatctg 30 | |
| | <210> 16 | |
| 15 | <211> 18 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 16 | |
| | catcatcatc atcatcat 18 | |
| 20 | <210> 17 | |
| | <211> 909 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Secuencia artificial | |
| | <220> | |
| 25 | <223> constructo ADN quimérico humano/ratón | |
| | <400> 17 | |
| | atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt | 60 |
| | gacgcggccc agccggccga ggtgcagctg cagcagtcag gacctgaact ggtgaagcct | 120 |
| | gggacttcag tgaggatata ctgcaagact tctggataca cattcactga atataccata | 180 |
| | cactgggtga agcagagcca tggaaagagc cttgagtgga ttggaaacat caatcctaac | 240 |
| | aatggtggta ccacctacaa tcagaagttc gaggacaagg ccacattgac tgtagacaag | 300 |
| | tcctccagta cagcctacat ggagctccgc agcctaacat ctgaggattc tgcagtctat | 360 |

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|--|-----|
| | tattgtgcag ctggttgga ctttgactac tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc | 420 |
| | tcaggtggag gtggatcag tggaggtgga tctggtggag gtggatctga cattgtgatg | 480 |
| | accagtctc acaaattcat gtccacatca gtaggagaca gggtcagcat catctgtaag | 540 |
| | gccagtcaag atgtgggtac tgctgtagac tggatcaac agaaaccagg acaatctcct | 600 |
| | aaactactga tttattgggc atccactcgg cacactggag tccctgatcg cttcacaggc | 660 |
| | agtggatctg ggacagactt cactctcacc attactaatg ttcagtctga agacttggca | 720 |
| | gattatttct gtcagcaata taacagctat cccctcacgt tccgtgctgg gaccatgctg | 780 |
| | gacctgaaag cggccgctaa acccctacct gaagtgactg atgagtatgc tcgaggaggg | 840 |
| | cccgaacaaa aactcatctc agaagaggat ctgaatagcg ccgtcgacca tcatcatcat | 900 |
| | catcattga | 909 |
| | <210> 18 | |
| | <211> 345 | |
| | <212> ADN | |
| 5 | <213> ratón | |
| | <400> 18 | |
| | gaggtgcagc tgcagcagtc aggacctgaa ctggtgaagc ctgggacttc agtgaggata | 60 |
| | tcctgcaaga cttctggata cacattcact gaatatacca tacactgggt gaagcagagc | 120 |
| | catggaaaga gccttgagtg gattggaaac atcaatccta acaatggtgg taccacctac | 180 |
| | aatcagaagt tcgaggacaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag tacagcctac | 240 |
| | atggagctcc gcagcctaac atctgaggat tctgcagtct attattgtgc agctggttgg | 300 |
| | aactttgact actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca | 345 |
| | <210> 19 | |
| | <211> 321 | |
| 10 | <212> ADN | |
| | <213> ratón | |
| | <400> 19 | |
| | gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc | 60 |
| | atcatctgta aggccagtca agatgtgggt actgctgtag actggtatca acagaaacca | 120 |
| | ggacaatctc ctaaactact gatttattgg gcatccactc ggcacactgg agtccctgat | 180 |
| | cgcttcacag gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccattactaa tgttcagtct | 240 |
| | gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tataacagct atcccctcac gttcgggtgct | 300 |
| | gggaccatgc tggacctgaa a | 321 |
| | <210> 20 | |
| 15 | <211> 972 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Secuencia artificial | |
| | <220> | |
| | <223> Secuencia ADN quimérico ratón/humano | |
| 20 | <400> 20 | |

ES 2 688 035 T3

atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggg 60
gacgcggccc agccggccgg atccgatata gttttaaccc aatcccctgc tagtctggcc 120
gtatccccag gccagagggc tactataacc tgcactgcaa gctcatctgt caactacatc 180
cattggtacc agcagaaacc tggacaaccg ccgaaacttc tgatatacga caccagcaag 240
gtcgcgtccg ggggtgcctgc tcgattcagc ggcagcggat caggactga cttcactttg 300
actatcaatc cagtggaagc gaacgatact gcgaactact actgccagca atggaggtcg 360
tacccttga catttgcca aggtactaaa ctagagataa aagggtggagg tggcagtggt 420
ggaggagga gccgagcaag tggcgccgga ggcggagggt caggcgggtg tggaaaccag 480
gtacaactgg tccaatctgg agccgaagtc aagaaaccag gagcttctgt gaaagtcagt 540
tgcaaggcgt ctgggtatac attcacagat tacgtagtac actgggtag gcaagctcct 600
ggtcaagggc ttgaatggat gggatatatt aatccgtaca acgacggaac aaaatataac 660
gagaagttta agggtagagt aactatgacc agggacacaa gcatcagtac agcgtatatg 720
gaactgagtc gtctccggtc tgatgacacc gctgtctatt attgtgcaag agattaccgt 780
tacgaggttt acggcatgga ctattggggc caaggcactc tcgttaccgt gtcaagcggg 840
ggaggaggat ccgcgcccg ctaaacccta cctgaagtga ctgatgagta tgctcgagga 900
gggcccgaac aaaaactcat ctcagaagag gatctgaata gcgccgtcga ccatcatcat 960
catcatcatt ga 972

<210> 21
<211> 318
<212> ADN
<213> ratón
<400> 21

5 gatatagttt taacccaatc ccctgctagt ctggccgtat cccagggcca gagggctact 60
ataacctgca ctgcaagctc atctgtcaac tacatccatt ggtaccagca gaaacctgga 120
caaccgccga aacttctgat atacgacacc agcaaggctc cgtccggggg gcttgctcga 180
ttcagcggca gcggatcagg tactgacttc actttgacta tcaatccagt ggaagcgaac 240
gatactgcga actactactg ccagcaatgg aggtcgtacc ccttgacatt tggccaaggt 300
actaaactag agataaaa 318

10 <210> 22
<211> 360
<212> ADN
<213> ratón
<400> 22

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|---|-----|
| | caggtacaac tggccaatc tggagccgaa gtcaagaaac caggagcttc tgtgaaagtc | 60 |
| | agttgcaagg cgtctgggta tacattcaca gattacgtag tacactgggt taggcaagct | 120 |
| | cctggccaag ggcttgaatg gatgggatat attaatccgt acaacgacgg acaaaaatat | 180 |
| | aacgagaagt ttaagggtag agtaactatg accagggaca caagcatcag tacagcgtat | 240 |
| | atggaactga gtcgtctccg gtctgatgac accgctgtct attattgtgc aagagattac | 300 |
| | cgttacgagg tttacggcat ggactattgg ggccaaggca ctctcggtac cgtgtcaagc | 360 |
| | <210> 23 | |
| | <211> 963 | |
| 5 | <212> ADN | |
| | <213> Secuencia artificial | |
| | <220> | |
| | <223> Secuencia ADN quimérico ratón/humano | |
| | <400> 23 | |
| | atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt | 60 |
| | gacgcggccc agccggccga agtgcagctg cagcagtctg gccccgagct ggtcaaacca | 120 |
| | ggcgccagcg tgaagatgag ctgcaaggcc agcggctaca ccttcaccga ctactacatg | 180 |
| | aagtgggtca agcagagcca cggcaagagc ctggaatgga tcggcgacat catccccagc | 240 |
| | aacggcgcca ccttctacaa ccagaagttc aagggaagg ccaccctgac cgtggacaga | 300 |
| | agcagcagca ccgcctacat gcacctgaac agcctgacca gcgaggacag cgccgtgtac | 360 |
| | tactgcacca gaagccatct gctgcgggce agttggttcg cttattgggg ccagggcacc | 420 |
| | ctggtcacag tgtctgccgc ctctggagga ggaggtagtg gcggaggtgg gtccggtggc | 480 |
| | ggtggctctg acttcgtgat gaccagagc cctagcagcc tgaccgtgac agccggcgag | 540 |
| | aaagtgacca tgagctgcaa gagcagccag agcctgctga actccggcaa ccagaagaac | 600 |
| | tacctgacct ggtatctgca gaagcccgga cagccccca agctgctgat ctactgggcc | 660 |
| | agcaccagag aaagcggcgt gccgataga ttcacaggca gcggcagcgg caccgacttc | 720 |
| | accctgacaa tcagcagcgt gcaggccgag gacctggccg tgtactattg ccagaacgac | 780 |
| | tacagctacc cctacacctt cggaggcggg accaagctgg aatcaaggg aggaggagga | 840 |
| | tccgcggccg ctaaaccctt acctgaagtg actgatgagt atgctcgagg agggcccga | 900 |
| | caaaaactca tctcagaaga ggatctgaat agcggcgtcg accatcatca tcatcatcat | 960 |
| | tga | 963 |
| 10 | <210> 24 | |
| | <211> 357 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> ratón | |
| | <400> 24 | |

ES 2 688 035 T3

| | | |
|----|--|-----|
| | gaagtgcagc tgcagcagtc tggccccgag ctggtcaaac caggcgccag cgtgaagatg | 60 |
| | agctgcaagg ccagcgggcta caccttcacc gactactaca tgaagtgggt caagcagagc | 120 |
| | cacggcaaga gcctggaatg gatcggcgac atcatcccca gcaacggcgc caccttctac | 180 |
| | aaccagaagt tcaagggcaa ggccaccctg accgtggaca gaagcagcag caccgcctac | 240 |
| | atgcacctga acagcctgac cagcgaggac agcgccgtgt actactgcac cagaagccat | 300 |
| | ctgctgcggg ccagttgggt cgcttattgg ggccagggca ccctggtcac agtgtct | 357 |
| | <210> 25 | |
| | <211> 339 | |
| | <212> ADN | |
| 5 | <213> ratón | |
| | <400> 25 | |
| | gacttcgtga tgaccagag ccctagcagc ctgaccgtga cagccggcga gaaagtgacc | 60 |
| | atgagctgca agagcagcca gagcctgctg aactccggca accagaagaa ctacctgacc | 120 |
| | tggtatctgc agaagcccgg acagccccc aagctgctga tctactgggc cagcaccaga | 180 |
| | gaaagcggcg tgcccgatag attcacaggc agcggcagcg gcaccgactt caccctgaca | 240 |
| | atcagcagcg tgcaggccga ggacctggcc gtgtactatt gccagaacga ctacagctac | 300 |
| | ccctacacct tcggaggcgg gaccaagctg gaaatcaag | 339 |
| | <210> 26 | |
| | <211> 1671 | |
| 10 | <212> ADN | |
| | <213> Secuencia artificial | |
| | <220> | |
| | <223> Secuencia ADN quimérico ratón/humano | |
| | <400> 26 | |

ES 2 688 035 T3

atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagc ttccactggc 60
 gacgcggccc agccggccga agtgcagctg cagcagtctg gccccgagct ggtcaaacca 120
 ggcgccagcg tgaagatgag ctgcaaggcc agcggctaca ccttcaccga ctactacatg 180
 aagtgggtca agcagagcca cggcaagagc ctggaatgga tcggcgacat catccccagc 240
 aacggcgcca ccttctacaa ccagaagttc aagggcaagg ccaccctgac cgtggacaga 300
 agcagcagca ccgcctacat gcacctgaac agcctgacca gcgaggacag cgccgtgtac 360
 tactgcacca gaagccatct gctgcggggc agttggttcg cttattgggg ccagggcacc 420
 ctggtcacag tgtctgccgc ctctggagga ggaggtagtg gcggaggtgg gtccgggtggc 480
 ggtggctctg acttcgtgat gaccagagc cctagcagcc tgaccgtgac agccggcgag 540
 aaagtacca tgagctgcaa gagcagccag agcctgctga actccggcaa ccagaagaac 600
 tacctgacct ggtatctgca gaagcccgga cagccccca agctgctgat ctactgggccc 660
 agcaccagag aaagcggcgt gcccgataga ttcacaggca gcggcagcgg caccgacttc 720
 accctgacaa tcagcagcgt gcaggccgag gacctggccg tgtactattg ccagaacgac 780
 tacagctacc cctacacctt cggaggcggg accaagctgg aaatcaaggc ggccgctaaa 840
 cccctacctg aagtgactga tgagtatgct cgaggacagg tacaactggt ccaatctgga 900
 gccgaagtca agaaaccagc agcttctgtg aaagtcaagt gcaaggcgtc tgggtataca 960
 ttcacagatt acgtagtaca ctgggtagg caagtcctg gtcaagggtc tgaatggatg 1020
 ggatatatta atccgtacaa cgacggaaca aaatataacg agaagttaa gggtagagta 1080
 actatgacca gggacacaag catcagtaca gcgtatatgg aactgagtcg tctccggtct 1140
 gatgacaccg ctgtctatta ttgtgcaaga gattaccgtt acgaggttta cggcatggac 1200
 tattggggcc aaggcactct cgttaccgtg tcaagcggcg gcggcggatc cggcgggtggc 1260
 ggttccggag gaggcggatc cgatatagtt ttaaccfaat ccctgctag tctggccgta 1320
 tccccaggcc agagggctac tataacctgc actgcaagct catctgtcaa ctacatccat 1380
 tggtagcagc agaaacctgg acaaccgccc aaacttctga tatacgacac cagcaaggtc 1440
 gcgtccgggg tgccctgctcg attcagcggc agcggatcag gtactgactt cactttgact 1500
 atcaatccag tggaagcga cgateactgc aactactact gccagcaatg gaggtcgtac 1560
 cccttgacat ttggccaagc tactaaacta gagataaaag ggcccgaaca aaaactcatc 1620
 tcagaagagg atctgaatag cgccgtcgac catcatcatc atcatcattg a 1671

<210> 27
 <211> 894
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

ES 2 688 035 T3

<220>

<223> proteína de fusión quimérica ratón/humano

<400> 27

Met Arg Arg Met Gln Leu Leu Leu Leu Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Glu Phe Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
35 40 45

Tyr Thr Phe Thr His Tyr Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

ES 2 688 035 T3

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr
65 70 75 80

His Phe Asn Glu Lys Phe Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Glu Tyr Asp Tyr Gly Leu Gly
115 120 125

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val
145 150 155 160

Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala
165 170 175

Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Pro
180 185 190

Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys
195 200 205

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val Pro Asp Arg
210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
225 230 235 240

Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln Ser Tyr Asn
245 250 255

Leu Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ala Ala Ala
260 265 270

Leu Glu Lys Glu Ala Leu Lys Lys Ile Ile Glu Asp Gln Gln Glu Ala
275 280 285

Leu Asn Lys Trp Ala Ala Ala Gly Pro Gly Gly Gly Gly Ser Lys Ile
290 295 300

Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr Asp Asn Ala Val Asn
305 310 315 320

ES 2 688 035 T3

Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser Arg Glu Phe Arg Ala
 325 330 335
 Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu Val Cys Val Val Tyr
 340 345 350
 Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser Lys Thr Gly Phe Asn
 355 360 365
 Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr Leu Gln Asn
 370 375 380
 Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile Glu Val Met
 385 390 395 400
 Ala Pro Pro Pro Ala Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile
 405 410 415
 His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
 420 425 430
 Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 435 440 445
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 450 455 460
 Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 465 470 475 480
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 485 490 495
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala
 500 505 510
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 515 520 525
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 530 535 540
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 545 550 555 560
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 565 570 575

ES 2 688 035 T3

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 580 585 590

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 595 600 605

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Gly Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 610 615 620

Pro Pro Arg Gly Ser Gly Ser Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu
 625 630 635 640

Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Pro Val Ala Thr Met
 645 650 655

Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val
 660 665 670

Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu
 675 680 685

Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys
 690 695 700

Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr Leu
 705 710 715 720

Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys Gln
 725 730 735

His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg
 740 745 750

Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val
 755 760 765

Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly Ile
 770 775 780

Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn
 785 790 795 800

Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly
 805 810 815

Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val

820

825

830

Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro
 835 840 845

Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser
 850 855 860

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val
 865 870 875 880

Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
 885 890

<210> 28

<211> 326

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de fusión quimérica ratón/humano

<400> 28

ES 2 688 035 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Gly Ser Asp Ile Gln Met
20 25 30

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
35 40 45

Ile Thr Cys Gly Thr Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr
50 55 60

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser
65 70 75 80

Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
85 90 95

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala
100 105 110

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly
115 120 125

Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Ala Ser Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 165 170 175

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 180 185 190

Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 195 200 205

Ser Tyr Ile Asn Asp Ser Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Thr Val
 210 215 220

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 225 230 235 240

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 245 250 255

Ala Arg Arg Met Tyr Tyr Gly Asn Ser His Trp His Phe Asp Val Trp
 260 265 270

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
 275 280 285

Ala Ala Lys Pro Leu Pro Glu Val Thr Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Gly
 290 295 300

Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp
 305 310 315 320

His His His His His His
 325

<210> 29

<211> 302

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de fusión quimérica ratón/humano

<400> 29

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

ES 2 688 035 T3

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Glu Val Gln Leu Gln Gln
 20 25 30
 Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr Ser Val Arg Ile Ser Cys
 35 40 45
 Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys
 50 55 60
 Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn
 65 70 75 80
 Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Lys Ala Thr Leu
 85 90 95
 Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu
 100 105 110
 Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe
 115 120 125
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
 145 150 155 160
 Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser
 165 170 175
 Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr
 180 185 190
 Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser
 195 200 205
 Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly
 210 215 220
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala
 225 230 235 240
 Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala
 245 250 255
 Gly Thr Met Leu Asp Leu Lys Ala Ala Ala Lys Pro Leu Pro Glu Val
 260 265 270

Thr Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Gly Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
275 280 285

Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His His His His His His
290 295 300

<210> 30

<211> 323

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo quimérico

<400> 30

ES 2 688 035 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Gly Ser Asp Ile Val Leu
20 25 30

Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly Gln Arg Ala Thr
35 40 45

Ile Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile His Trp Tyr Gln
50 55 60

Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys
65 70 75 80

Val Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
85 90 95

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asn Asp Thr Ala Asn
100 105 110

Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Ala Ser Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
145 150 155 160

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
165 170 175

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Val
 180 185 190

Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
 195 200 205

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 210 215 220

Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met
 225 230 235 240

Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 245 250 255

Arg Asp Tyr Arg Tyr Glu Val Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 260 265 270

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala Lys
 275 280 285

Pro Leu Pro Glu Val Thr Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Gly Pro Glu Gln
 290 295 300

Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His His His
 305 310 315 320

His His His

<210> 31

<211> 320

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de fusión quimérica ratón/humano

<400> 31

ES 2 688 035 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Glu Val Gln Leu Gln Gln
20 25 30

Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys
35 40 45

ES 2 688 035 T3

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Lys
 50 55 60

Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Ile Pro Ser
 65 70 75 80

Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
 85 90 95

Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Asn Ser Leu
 100 105 110

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Ser His Leu Leu
 115 120 125

Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 130 135 140

Ser Ala Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val
 165 170 175

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
 180 185 190

Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys
 195 200 205

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu
 210 215 220

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 225 230 235 240

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
 245 250 255

Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 260 265 270

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala Lys Pro Leu Pro
 275 280 285

Glu Val Thr Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Gly Pro Glu Gln Lys Leu Ile
 290 295 300

ES 2 688 035 T3

Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His His His His His His
305 310 315 320

<210> 32

<211> 556

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de fusion quimerica ratón/humano

<400> 32

ES 2 688 035 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Gln Pro Ala Glu Val Gln Leu Gln Gln
20 25 30

Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys
35 40 45

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Lys
50 55 60

Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Ile Pro Ser
65 70 75 80

Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
85 90 95

Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Asn Ser Leu
100 105 110

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Ser His Leu Leu
115 120 125

Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
130 135 140

Ser Ala Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val
165 170 175

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
180 185 190

ES 2 688 035 T3

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

Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln
 450 455 460

Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val
 465 470 475 480

Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 485 490 495

Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asn Asp Thr Ala Asn Tyr
 500 505 510

Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 515 520 525

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
 530 535 540

Leu Asn Ser Ala Val Asp His His His His His His
 545 550 555

<210> 33
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 33

5

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr
 20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr His Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Glu Tyr Asp Tyr Gly Leu Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

<210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 34

5

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Arg Thr Pro Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95

Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 35
 <211> 20
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 35

Leu Glu Lys Glu Ala Leu Lys Lys Ile Ile Glu Asp Gln Gln Glu Ala
 1 5 10 15

Leu Asn Lys Trp
 20

<210> 36
 <211> 107
 10 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 36

ES 2 688 035 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Thr Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 37
<211> 122
<212> PRT
<213> ratón
<400> 37

5

ES 2 688 035 T3

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Asn Asp Ser Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Met Tyr Tyr Gly Asn Ser His Trp His Phe Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 38
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 38

5

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15

Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
 20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Glu Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 39
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 39

5 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
 20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Met Leu Asp Leu Lys
100 105

<210> 40
<211> 106
<212> PRT
<213> ratón
<400> 40

5 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asn
65 70 75 80

Asp Thr Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> ratón
<400> 41

10 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

ES 2 688 035 T3

Val Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Arg Tyr Glu Val Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 42
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 42

5

ES 2 688 035 T3

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Tyr Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115

<210> 43
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 43

5

ES 2 688 035 T3

Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

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

Lys

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 44

Lys Pro Leu Pro Glu Val Thr Asp Glu Tyr
 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Ácido nucleico que codifica un receptor quimérico universal, en el que el receptor comprende tres dominio, donde
- 5 - el primer dominio es una dominio de unión a marcador,
 - el segundo dominio es una bisagra extracelular y un dominio de transmembrana y
 - el tercer dominio es un dominio de transducción de señal
 en el que el dominio de unión a marcador está unido a un marcador derivado de una proteína nuclear humana en el que el
 10 marcador es un epítipo lineal corto E5B9 de la proteína nuclear humana La y en el que el dominio de unión a marcador
 es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo y donde el dominio de unión a marcador está unido al
 epítipo La 5B9 respectivo.
2. Ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el fragmento de unión a antígeno es un scFv
 15 de epítipo anti-La codificado por SEQ. ID 3 y 4.
3. Ácido nucleico de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 o 2, donde la región de transmembrana y de
 bisagra se selecciona entre regiones de transmembrana y de bisagra de molécula CD28 humana, cadena
 CD8a, receptores de célula NK, grupo asesino natural NKG2D o partes la región constante de un anticuerpo
 20 así como combinaciones de diferentes dominios de transmembrana y de bisagra de los mismos.
4. Ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el dominio de transducción
 de señal se selecciona a partir de regiones citoplasmáticas de CD28, CD137 (41BB), CD134 (OX40), DAP10 y
 CD27, muerte células programada-1 (PD-1), antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) y regiones
 25 citoplasmáticas de cadenas CD3, activación de células DAP12 y T que inducen receptores Fc.
5. Ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el receptor comprende un cuarto dominio
 que es un segmento de enlace peptídico corto en la parte extracelular del receptor.
6. Ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 según la SEQ. ID 1.
7. Módulo diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria con
 mediación por un receptor de antígeno quimérico universal de un mamífero, compuesto de un fragmento de unión
 específico de una proteína de superficie celular humana o de un determinado complejo proteínico y un marcador,
 30 siendo el marcador el epítipo lineal corto E5B9 de la proteína nuclear humana La.
8. Módulo diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de respuesta inmunitaria mediada por un
 receptor de antígeno quimérico universal de mamífero según la reivindicación 7, en el que el fragmento de unión de
 módulos diana comprenden anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a antígenos de superficie CD2,
 CD3, CD4, CD8, CD10, CD19, CD20, CD22, CD23, CD33, CD38, CD44, CD52, CD99, CD123, CD274, TIM-3,
 40 miembros de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico y sus mutantes, miembros de familia de
 receptores de efrina, antígenos específicos de próstata PSCA o PSMA, antígenos embrionarios, miembros de la
 familia de factores de crecimiento endotelial vascular, la molécula de adhesión de célula epitelial EpCAM,
 alfafetoproteína AFP, miembros de la familia de proteínas mucínicas, el receptor hormonal estimulante de folículos,
 el antígeno asociado con el melanoma humano de alta masa molecular, la proteína de unión de folatos FBP,
 45 receptor a-folato, ligandos del receptor NKG2D, miembros de la familia de epitelios glicoproteínicos,
 disialogangliósidos, miembros de la familia de la anhidrasa carbónica, miembros de la familia de antígeno
 carbohidratos, miembros de la familia Rho de GTPasas, miembros proteínas del grupo de alta movilidad y mutantes
 de las mismas y en donde el fragmento de unión de módulos diana están compuestos por las cadenas alfa y beta o
 gamma y delta de un receptor de células T o fragmentos del mismo, en particular receptores derivados de
 50 receptores de células T auto-reactivos, en los que estos fragmentos de unión derivados de receptores de células T
 reconocen y se unen a los péptidos presentados por los complejos proteínicos de antígeno de leucocitos humanos
 de clase I y II.
9. Módulo diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por
 un receptor de antígeno quimérico universal de un mamífero según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el
 55 que el fragmento de unión de módulos diana comprende ligandos a proteínas y complejos proteínicos que se unen a
 receptores de citocinas, ligandos del receptor NKG2D o ligandos a miembros de la familia de EGFR.
10. Módulo diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada
 por un receptor de antígeno quimérico universal de un mamífero según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en
 60 el que el fragmento de unión de módulos diana comprende especificidades de antígeno bi- y multi-específicas,
 incluido la unión al antígeno PSCA y al antígeno PSMA, al antígeno CD19 y CD20, al antígeno CD19, CD20 y CD22,
 al antígeno CD33 y CD123, CD33 y CD99, CD33 y TIM-3, erb-1 y -2, PSCA y erb-2.
11. Módulo diana para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada
 por un receptor de antígeno quimérico universal de un mamífero de acuerdo con una cualquiera de las
 65

reivindicaciones 7 a 10, en el que el fragmento de unión de módulos diana comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen al antígeno La, preferiblemente de acuerdo con SEQ. ID 28, 29, 30, 31 y 32.

5 12. Ácido nucleico que codifica un módulo diana como el definido en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, preferiblemente con una secuencia de acuerdo con SEQ. ID. 10, 17, 20, 23 y 26, para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por un receptor de antígeno quimérico universal en un mamífero.

10 13. Célula o vector que comprende un ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

14. Célula según la reivindicación 13, en la que dicha célula se selecciona del grupo de células inmunes que comprende una célula T, una célula asesina natural, un linfocito T citotóxico y una célula T reguladora.

15 15. Kit que comprende:
un vector de acuerdo con la reivindicación 13 y
un módulo diana como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 y/o un vector que comprende un ácido nucleico como el definido en la reivindicación 12.

20 16. Célula según cualquiera de las reivindicaciones 13 o 14 y el módulo diana como se define en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para utilización en un procedimiento para la estimulación de una respuesta inmunitaria mediada por un receptor de antígeno quimérico universal en un mamífero.

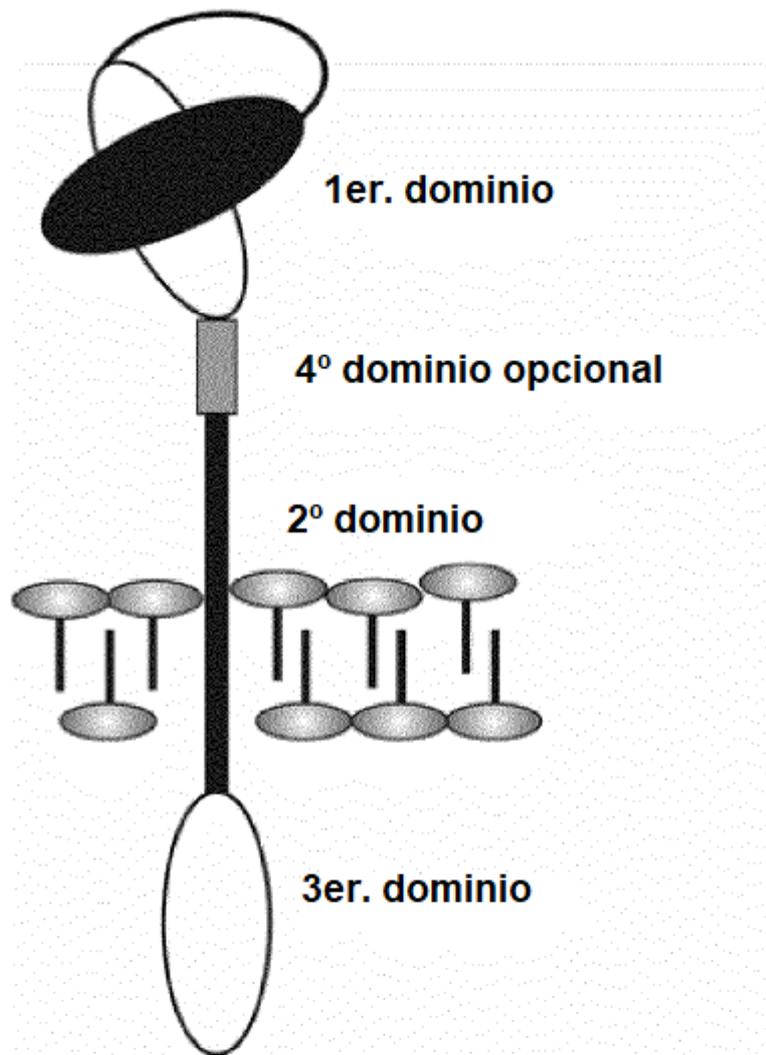


Fig. 1

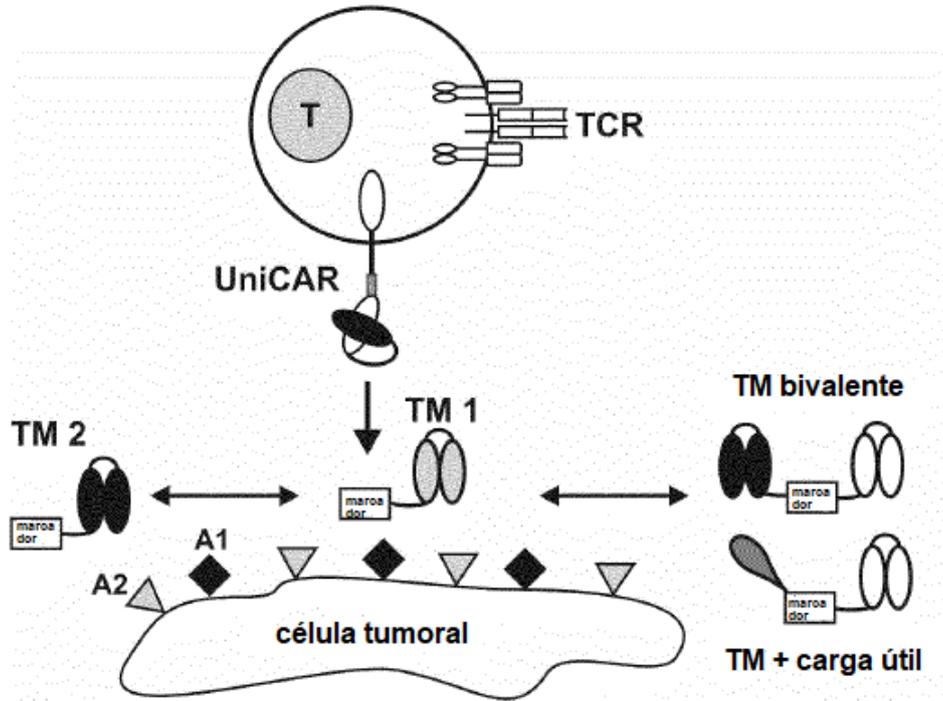


Fig. 2

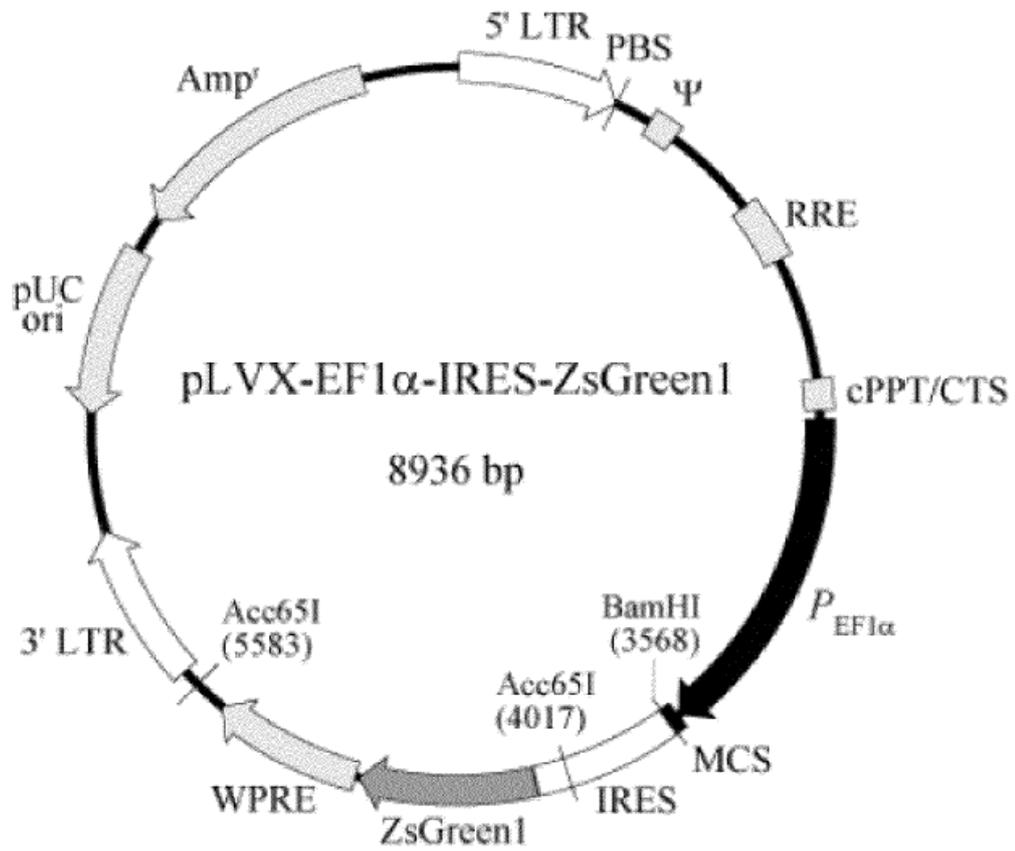


Fig.3

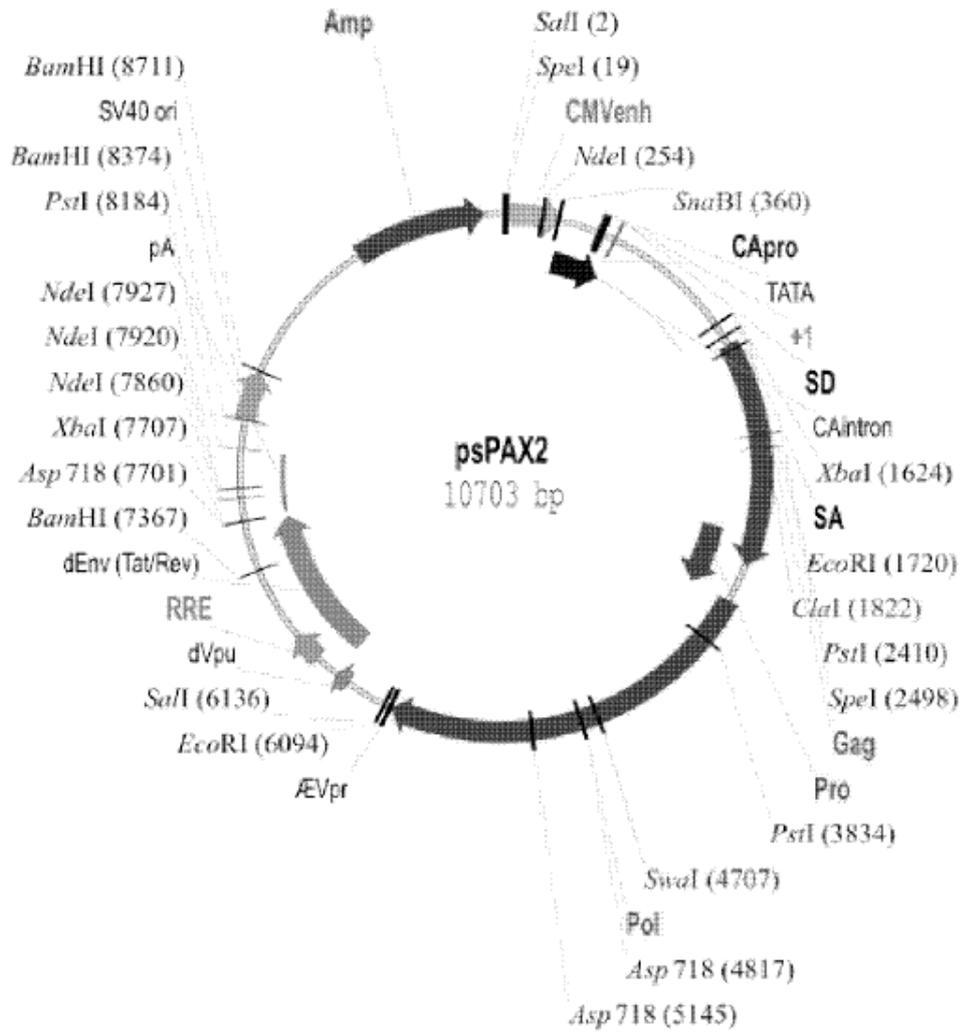


Fig. 4

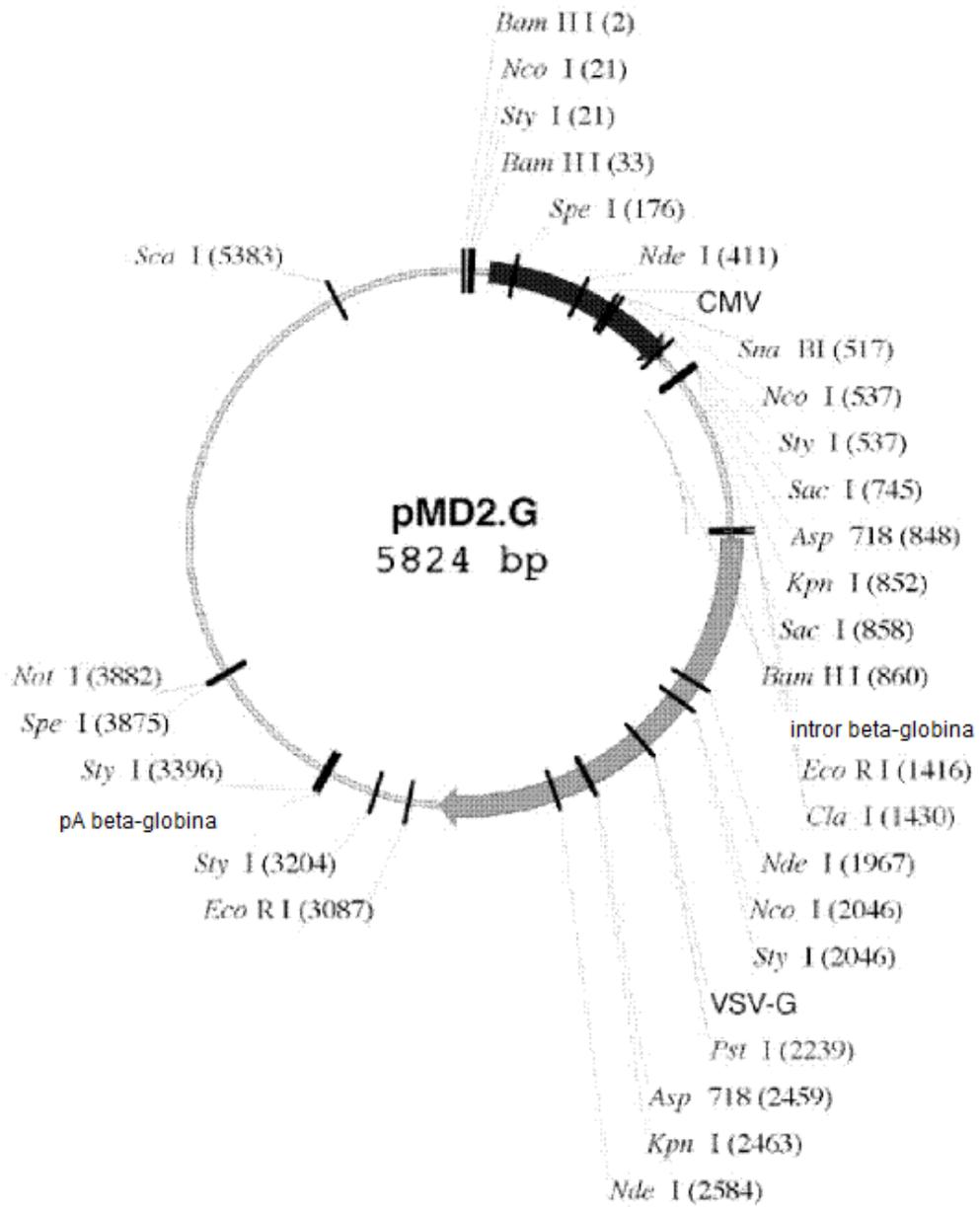


Fig. 5

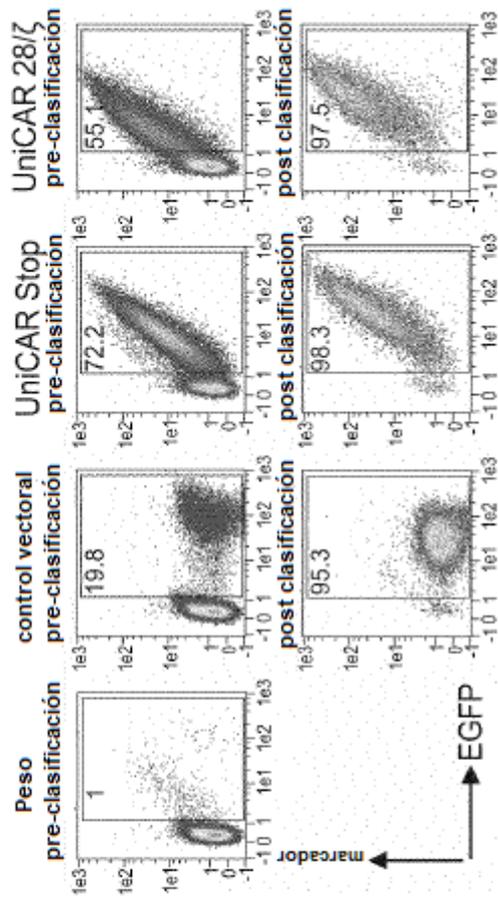


Fig. 6

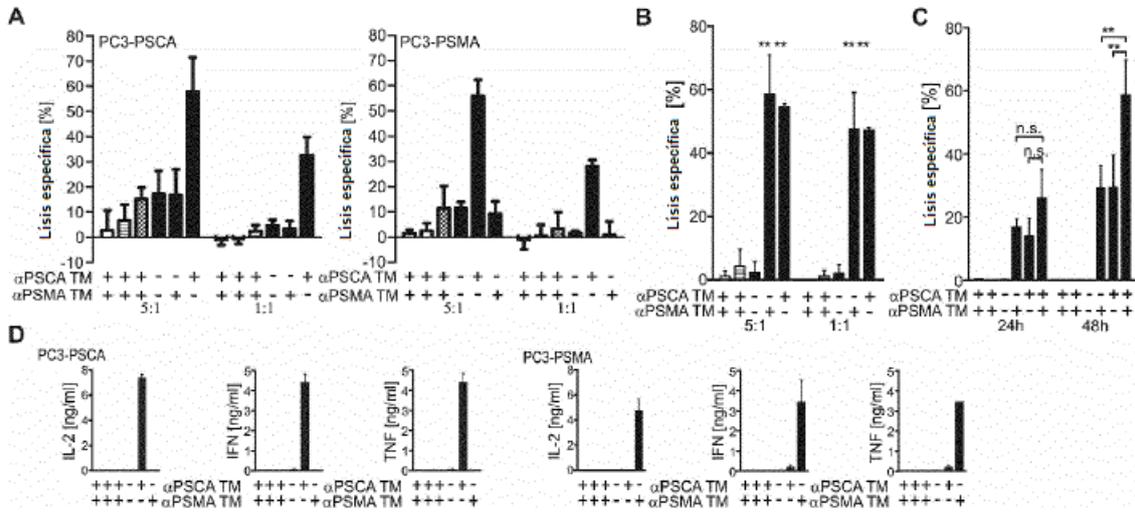


Fig. 7

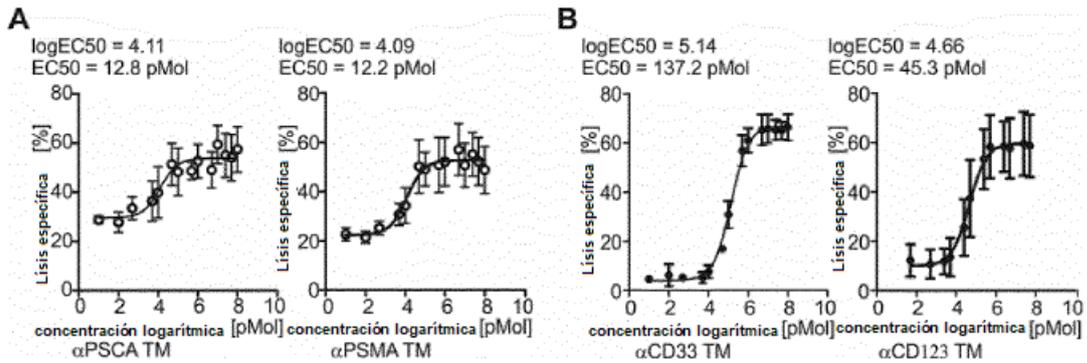


Fig. 8

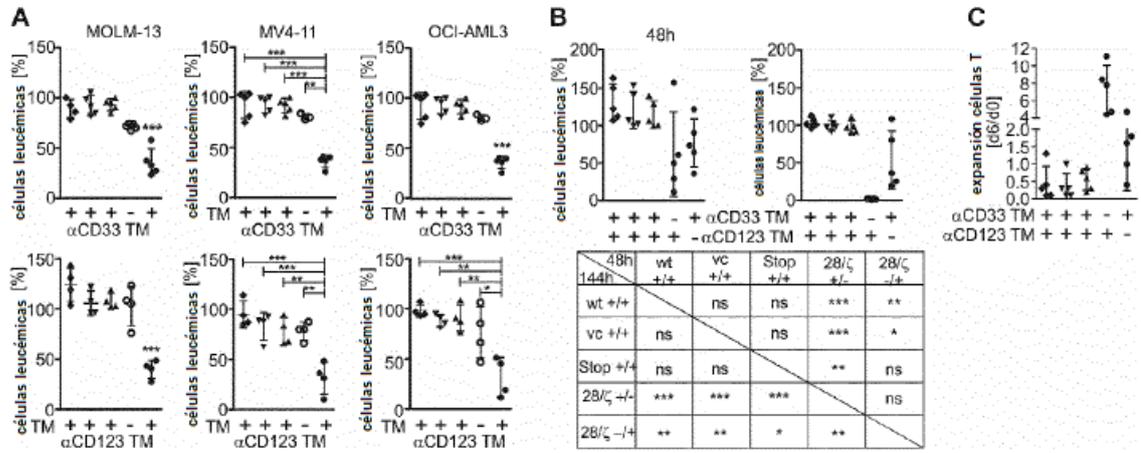


Fig. 9

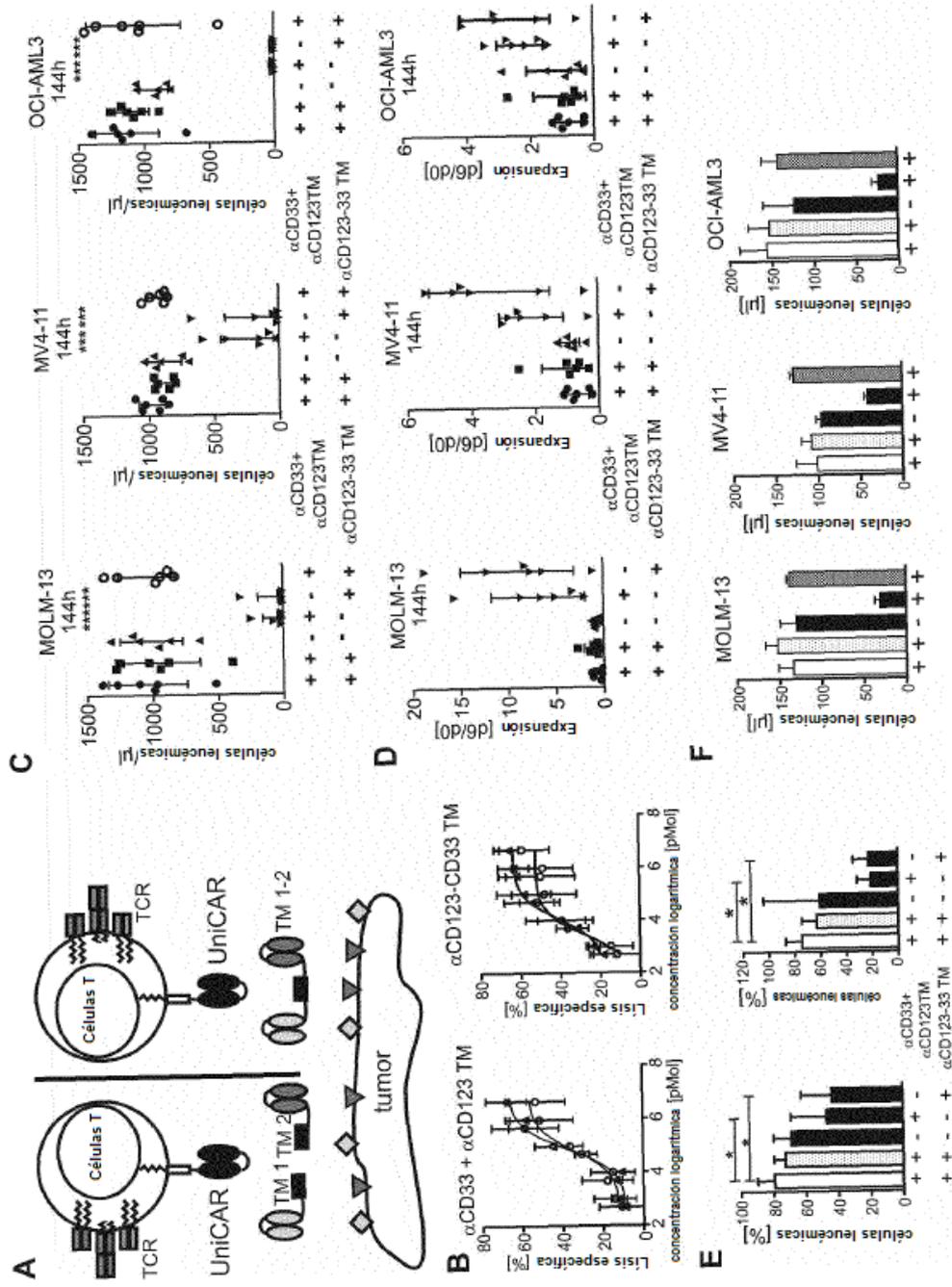


Fig. 10

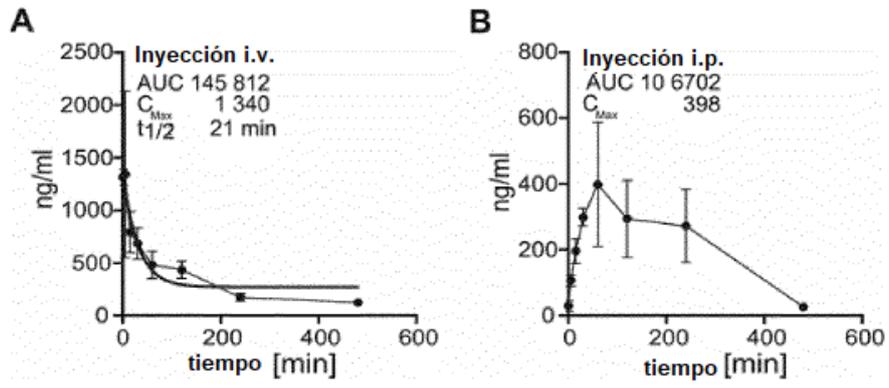


Fig. 11

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citada por el solicitante lo es solamente para utilidad del lector, no formando parte de los documentos de patente europeos. Aún cuando las referencias han sido cuidadosamente recopiladas, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad a este respecto.

5

Documentos de patente citado en la descripción

- WO 2013074916 A1 [0004]
- WO 2013126712 A1 [0005]
- WO 2012082841 A2 [0007]
- WO 2013044225 A1 [0008]

10

Bibliografía no de patentes citada en la descripción

- CARTELLIERI et al. *J.Biomed.Biotechnol.*, 2010 [0002]
- LAMERS et al. *J.Clin.Oncol.*, 2006, vol. 24, e20-e22 [0002] [0003]
- KERSHAW et al. *Clin.Cancer Res.*, 2006, vol. 12, 6106-6115 [0002]
- BRENTJENS et al. *Blood*, 2011, vol. 118, 4817-4828 [0002]
- *Sci.Transl.Med.*, 2013, vol. 20 (5 [0002]
- KALOS et al. *Sci.Transl.Med.*, 2011, vol. 3 (95 [0002]
- GRUPP et al. *N.Engl.J.Med.*, 2013, vol. 368, 1509-1518 [0002] [0003]
- MORGAN et al. *Mol.Ther.*, 2010, vol. 18, 843-851 [0003]
- ARNDT et al. *Leukemia*, 2014, vol. 28, 59-69 [0006]
- KOEHLER; MILSTEIN. *Nature*, 1975, vol. 256, 495-497 [0027]
- KOSBOR et al. *Immunol Today*, 1983, vol. 4 (72 [0027]
- COTE et al. *Proc Natl. Acad. Sci*, 1983, vol. 80, 2026-2030 [0027]
- COLE et al. *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*. Alan R. Liss Inc, 1985, 77-96 [0027]
- MORRISON et al. *Proc Natl. Acad. Sci*, 1984, vol. 81, 6851-6855 [0027]
- NEUBERGER et al. *Nature*, 1984, vol. 312, 604-608 [0027]
- TAKEDA et al. *Nature*, 1985, vol. 314, 452-454 [0027]
- YIANNAKI et al. *Clin Exp Immunol.*, 1998, vol. 112 (1), 152-8 [0030]
- HERTER et al. *Mol Cancer Ther*, 2013, vol. 12 (10), 2031-2042 [0063]